



Achtergrondinformatie over het ontstaan van virulentere populaties van het witte aardappelcysteeltje *Globodera pallida*

Leendert Molendijk,
Wageningen University & Research, Praktijkonderzoek AGV , Lelystad
Loes den Nijs NVWA, Wageningen
Frans Janssen NVWA, Wageningen

NVWA nummer OS2016348

Mei 2017

Inleiding

Deze notitie is bedoeld voor diegenen die meer willen weten over het fenomeen virulentie ontwikkeling binnen *Globodera pallida*. Er is sprake van een virulentere populatie als de vermeerdering van een populatie op een bepaald resistent ras sterker is dan je op basis van het resistentiecijfer van het ras zou mogen verwachten.

Aanleiding voor deze notitie is de melding van de virulentere 'Emsland populatie' en de aanwezigheid van *G. pallida* populaties in Noord Oost Nederland die net als de Emsland populatie sterker vermeerderen op *pallida*-resistente rassen dan verwacht. Onderstaande is grotendeels gebaseerd op de brochure 'Beheersing van aardappelmoehed in de akkerbouw' (WUR PAGV, DLV, HLB, 2011) uitgebracht in het kader van het actieplan aaltjesbeheersing, aangevuld met actuele informatie.

Oorspronkelijk zijn de aardappelcysteeltjes afkomstig uit het Andes gebergte in Zuid Amerika. Ze zijn met wild aardappel materiaal meegekomen en hebben zich rond 1850 in Europa gevestigd. In 1941 werd de soort voor het eerst in Nederland gevonden. In de Andes komt een grote genetische variatie aan aaltjespopulaties voor. In de negentiende eeuw zijn slechts enkele van deze populaties naar Europa getransporteerd waardoor het genetisch spectrum van de Europese populaties in vergelijking met die in Zuid Amerika zeer smal is.

AM-resistentie

Zowel bij vatbare als bij resistente rassen dringen de jonge aaltjes (juvenielen) de wortel van de aardappelplant binnen. Het verschil is echter dat bij resistente rassen geen goede voedingscel ontstaat. De juvenielen ontwikkelen zich alleen tot vrouwtje als de voedingscel goed functioneert. Bij een slechte voedingscel kunnen de juvenielen wel overleven, maar ze ontwikkelen zich tot mannetje. Bij een resistent ras ontwikkelen zich geen vrouwtjes, dus komen er geen nieuwe eieren.

De populatie aardappelcysteeltjes kan zich dan ook niet vermeerderen op een volledig resistent ras. Sterker nog, de populatie neemt af doordat juvenielen wel uit hun rustfase worden gelokt maar geen nieuwe cysten vormen. Door de teelt van een volledig resistent ras worden echter niet alle cysten leeg gelokt. Dat komt doordat een aardappelgewas de bouwvoor nooit volledig doorwortelt. Daardoor is de maximale reductie bij de teelt van een volledig resistent aardappelras maximaal 80%.

Aardappelcysteaaltjes worden onderverdeeld in twee soorten: *Globodera rostochiensis* (Ro) en *Globodera pallida* (Pa) en komen over de hele wereld voor. Beide soorten bestaan weer uit verschillende groepen: pathotypen genoemd. Deze onderverdeling komt tot stand op basis van hun vermeerderingsgedrag op bepaalde rassen of geniteurs (differentials). Resistentie van een ras kan per pathotype verschillen. Binnen Europa worden van oudsher voor *G. rostochiensis* vijf pathotypen onderscheiden, aangeduid met een nummer of een letter; Ro1 (A), Ro2(B), Ro3(C), Ro4 en Ro5. In Nederland komt Ro1 het meest voor en Ro4 en Ro5 het minst.

Ook voor *G. pallida* is er variatie tussen de populaties maar zijn er eigenlijk geen duidelijk te onderscheiden pathotypen hoewel er wel over Pa2(D) en Pa3(E) gesproken wordt. Het is een glijdende schaal van weinig virulente tot zeer virulente populaties waarbij ergens in het midden Pa2 overgaat in Pa3. Pa2 en Pa3 zijn dus geen goed te onderscheiden afzonderlijke groepen. Pa1 is in Nederland nog nooit gevonden.

Formeel erkent Europa anno 2017 alleen Pa1 en Ro1 als duidelijk af te zonderen pathotypen en worden de overige als in elkaar overlopende populaties gezien. Het lettersysteem wordt in officiële stukken niet meer gebruikt maar wordt in de praktijk nog vaak gebezigd.

Globodera rostochiensis

Voor de bestrijding van *Globodera rostochiensis* zijn zowel resistente consumptie- als zetmeelaardappelrassen beschikbaar. De meeste van deze rassen doen in cultuur- en gebruikswaarde niet onder voor de vatbare rassen. Ze worden dan ook breed ingezet. De rassen verschillen wel van elkaar in de mate waarin ze een aantasting door het aardappelcysteaaltje kunnen verdragen (tolerantie). Tolerantie en resistentie zijn twee los van elkaar staande eigenschappen van een ras.

De resistentie tegen *G. rostochiensis* in rassen, verder Ro-resistentie genoemd, is in het overgrote deel van de rassen gebaseerd op één gen en werkt absoluut. Dat wil zeggen dat de afname van de aaltjespopulatie niet afhangt van de populatiedichtheid. De afname van de populatie aaltjes is altijd rond de 80%.

Voorwaarde is wel dat het gewas ongestoord kan groeien. Ook een resistent ras ondervindt namelijk schade. De juvenielen dringen namelijk wel het wortelstelsel binnen en richten daar schade aan. Het in één keer saneren van zware besmettingen door de teelt van resistente rassen is vanwege slechte groei van de aardappelen dan ook niet mogelijk. Er zijn inmiddels ook enkele rassen met partiele resistentie tegen *G. rostochiensis*. Hier is de resistentie tegen *G. rostochiensis* op meer dan één gen gebaseerd. Zie de uitleg hieronder bij *G. pallida*.

Een ander aandachtspunt is de aanwezigheid van Ro2/3 populaties in Nederland. Hoewel de meest voorkomende *G. rostochiensis* soort in Nederland de Ro1 is, komt ook de Ro 2/3 steeds meer voor. Dit wordt mede veroorzaakt door nieuwe aardappelrassen die alleen resistentie bezitten tegen Ro1. In het verleden moesten Ro resistente rassen, resistent zijn tegen alle Ro pathotypen. Dit is een aantal jaar geleden losgelaten en er zijn inmiddels ook rassen op de markt die alleen resistent zijn tegen Ro1. Wanneer er een onverwachte toename van de aaltjespopulatie optreedt na de teelt van een Ro1 resistent ras is dit mogelijk het gevolg van een Ro 2/3 besmetting die de kans heeft gekregen zich te ontwikkelen.

Globodera pallida

In tegenstelling tot de Ro-resistentie, is de resistentie tegen *G. pallida* (Pa-resistentie) gebaseerd op meerdere genen. De mate van resistentie van een ras hangt af van de resistentiegenen dat een ras heeft meegekregen en de in de populatie aanwezige

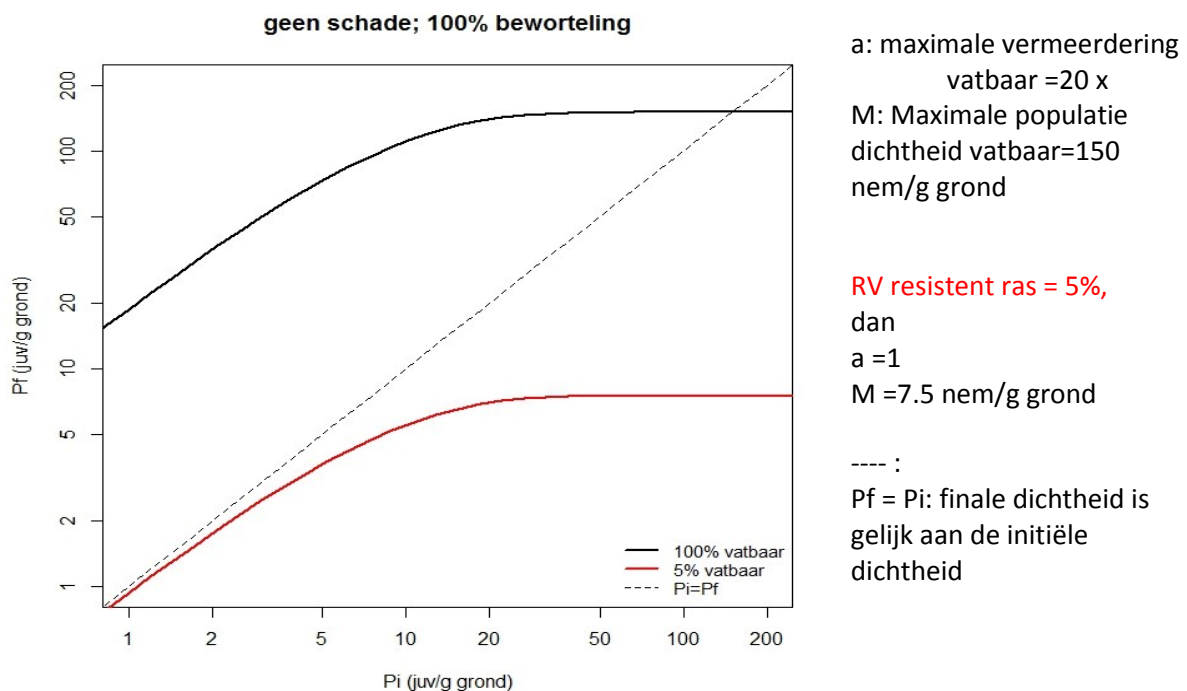
virulentiegenen. Belangrijk is dat de Pa-resistentie niet absoluut is, maar partieel. Dit wil zeggen dat er altijd een aantal jonge aaltjes (juvenielen) van *G. pallida* toch kans ziet om bij een resistent ras een voedingscel te vormen en zich te ontwikkelen tot volwassen vrouwtjes. Dit aantal is echter (veel) minder dan bij een vatbaar ras.

Hoeveel vermeerdering op een Pa-resistent ras optreedt, hangt af van de mate van resistentie tegen de betreffende aaltjespopulatie en de begindichtheid. Het kan dus voorkomen dat een ras de ene *G. pallida*-populatie reduceert, terwijl de andere *G. pallida*-populatie zich op hetzelfde ras wel vermeerderd.

Elk aardappelras vermeerderd aardappelpysteaaltjes tot een begrensde populatie dichtheid (cysten per ml grond). Hoe vaak een ras ook achter elkaar geteeld wordt, in principe zal de populatie niet verder toenemen dan tot deze zogenoemde maximale of evenwichtsdichtheid (zie figuur). Bij partieel resistente rassen is die evenwichtsdichtheid lager dan bij vatbare rassen. Dit en de natuurlijke sterfte in de niet aardappel jaren zorgt er dan voor dat de populatie onder de schadedrempel zakt.

Relatieve vatbaarheid

Hoe sterk aardappelpysteaaltjes zich vermeerderen, verschilt per jaar, ras en perceel. De vermeerdering hangt ook af van de dichtheid van de aaltjes aan het begin van het seizoen. Hoe lager deze 'begindichtheid', des te sterker de populatie zich kan vermeerderen. Hierdoor is het onmogelijk om met één vast vermeerderingsgetal de mate van resistentie weer te geven. Om toch een cijfer te kunnen geven aan de mate van partiële resistentie, wordt gewerkt met het begrip 'relatieve vatbaarheid' (RV)



Figuur: Relatie tussen de begindichtheid P_i en einddichtheid P_f voor een vatbaar ras (100%) en een partieel resistent ras (5% vatbaar). M is de maximale dichtheid of evenwichtsdichtheid. a is de maximale vermeerdering bij lage dichtheden

De lijnen van het vatbare en resistente ras lopen bij ongestoorde groei parallel. Bij het vaststellen van de RV wordt de maximale aaltjesvermeerdering van een ras vergeleken met de maximale vermeerdering van een volledig vatbaar ras. De vermeerdering

wordt bij beide rassen vastgesteld bij een zeer lage begindichtheid. Het vatbare ras Desiree is het referentie ras; de maximale vermeerdering (a) van dat ras is 100 procent. De

maximale vermeerdering van het resistente ras is dus een getal tussen 0 en 100 procent. Bij uitzondering komen er ook rassen voor die sterker vermeerderen dan Desiree. Deze rassen hebben dus een RV hoger dan 100%

De vermeerdering op een partieel resistent ras met bijvoorbeeld een RV van 5% zal een twintigste zijn van de vermeerdering op een vatbaar ras. Concreet: stel dat een volledig vatbaar ras als Desiree een vermeerdering van 15 keer oplevert, dan zal het resistente ras met een RV van 10 procent een vermeerdering van 1,5 keer opleveren.

Het eindresultaat van de teelt van resistente rassen is dat de eindbesmetting nooit boven een bepaalde grens uit stijgt. In de figuur blijft de maximale dichtheid van het resistente ras met een RV van 5% hangen op een maximum van 7.5 juveniel per gram grond wat 5% is van de maximale dichtheid op het vatbare ras.

Relatieve Vatbaarheid (RV) = $a_{\text{resistent}} / a_{\text{vatbaar}} = M_{\text{resistent}} / M_{\text{vatbaar}}$.

Uitselectie, het principe

Wanneer binnen een aaltjespopulatie individuen zijn die het resistentiemechanisme van resistente rassen kunnen omzeilen, dan zal dit deel van de populatie zich wel (goed) kunnen vermeerderen. De rest van de populatie sterft uit of vermeerdert zich minder goed. De aaltjes die de resistentie weten te omzeilen, worden virulent genoemd. Wanneer in een populatie virulente individuen voorkomen, zullen er bij herhaalde teelt van het resistente ras steeds meer nakomelingen van dit virulente type komen. De populatie zal daardoor weer toenemen. In de praktijk zegt men dan dat de resistentie is doorbroken.

Vaak wordt gedacht dat er dan een mutatie zou hebben plaatsgevonden. Mutaties komen bij ondergrondse organismen echter hoogst zelden voor omdat vooral UV en hitte schokken oorzaken van mutatie zijn. Deze invloeden zijn ondergronds zeer beperkt. Het gaat om selectie van al in de populatie aanwezige virulente aaltjes die eerder vanuit Zuid-Amerika zijn geïmporteerd.

Wanneer een resistent ras op een perceel tegenvallende bestrijdingseffecten laat zien, moet een dergelijke populatie goed in de gaten worden gehouden. Of het uitselecteren van een virulente populatie snel of langzaam gaat, hangt vooral af van het percentage van de populatie dat al virulent is. Wanneer er geen virulente individuen zijn, sterft de hele populatie onder een volledig resistent ras uit. Is het aantal virulente individuen zeer beperkt, dan duurt het vele teelten voordat de populatie toeneemt.

Langzame selectie

Het oplopen van de virulentie door de teelt van resistente rassen verloopt in vergelijking met bovengrondse schimmels langzaam.

Een belangrijke oorzaak hiervan is dat de mannetjes die op het resistente ras ontstaan, voor een groot deel geen resistentie doorbrekende genen hebben. Op een resistent ras kan geen goede voedingscel ontstaan, waardoor zich geen vrouwtjes ontwikkelen maar alleen mannetjes. De jonge aaltjes (juvenielen) die wel resistentie doorbrekende genen hebben, kunnen zich ontwikkelen tot vrouwtjes. Deze vrouwtjes worden echter bevrucht door de mannetjes, die voor een groot deel niet-virulent zijn. Een groot deel van de nakomelingschap van een virulent vrouwtje is daarom weer niet-virulent.

Een tweede belangrijke oorzaak van traagheid is dat niet alle cysten in één seizoen leeg gelokt worden. Hierdoor zijn er altijd oude cysten met levende inhoud aanwezig die nog niet-virulente individuen inbrengen die gaan concurreren.

Het afwisselen met minder resistente of volledig vatbare rassen vertraagt het selectieproces niet wezenlijk. In tegenstelling tot schimmels en insecten hebben aaltjes met virulentie genen verder geen concurrentie nadelen t.o.v. hun avirulente soort genoten. Het eventuele effect van verminderde selectiedruk door de teelt van vatbare rassen weegt zeker niet op tegen de nadelen van de hoge populatieniveaus die ontstaan na de teelt van het vatbare ras. Om schade bij de volgende teelt te voorkomen is vanwege het hoge besmettingsniveau dat het vatbare ras heeft achter gelaten een bestrijdingsmaatregel noodzakelijk. Het afwisselen van resistente rassen met verschillende genetische herkomst is mogelijk wel nuttig om het selectieproces te vertragen. Hierbij wordt ervan uitgegaan dat rassen met verschillende genetische herkomst verschillende genen bevatten die de uitselectie verschillende kanten op sturen waardoor vertraging in het uitselectieproces optreedt. Er zijn echter steeds meer aanwijzingen dat de beschikbare rassen hun pallida resistentie ontleen aan een zeer beperkt aantal dezelfde genen. In Zuid Amerika zijn er overigens *Globodera pallida* populaties waarvoor onze resistente rassen 100% vatbaar zijn. We moeten daarom beducht zijn voor nieuwe introducties.

Uitselectie in de praktijk

Melding van een virulente populatie in Duitsland; de 'Emsland' populatie

Landwirtschaftskammer Hannover is verantwoordelijk voor de jaarlijkse aanleg van 10-15 AM proefvelden in het Duitse zetmeelaardappel gebied. Doel is het effect van de in de praktijk gebruikte zetmeel aardappelrassen op met *Globodera pallida* besmette percelen na te gaan. In 2012 werd op een proefveld een afwijkende vermeerdering gevonden op een aantal *G. pallida* resistente rassen. De gevonden eindbesmettingen lagen ver boven de niveaus die na de teelt van resistente rassen verwacht mogen worden. Via PCR is deze populatie gediagnosticeerd als zuiver *G. pallida*. Het perceel zit in een 1:2 rotatie waarin driemaal Festien is geteeld. De geschiedenis van voor 2002 is niet achterhaald. Deze veldpopulatie is door Dr. Niere van het Julius Kühn instituut te Braunschweig, in een vergelijkend pot experiment getoetst op een aantal aardappelrassen. De Relatieve Vatbaarheid van Seresta lag op deze 'Emslander' populatie boven de 20% terwijl die niet hoger dan 2% zou mogen zijn. Deze 2% is het officiële resistentie niveau gemeten in de formele EU resistentietoets met de Pa3 toetspopulatie (Chavornay). Ook op het ras Innovator laat deze Emsland populatie een sterke vermeerdering zien. Dit onderzoek is gepubliceerd in 2014:

Journal für Kulturpflanzen 66. 2014

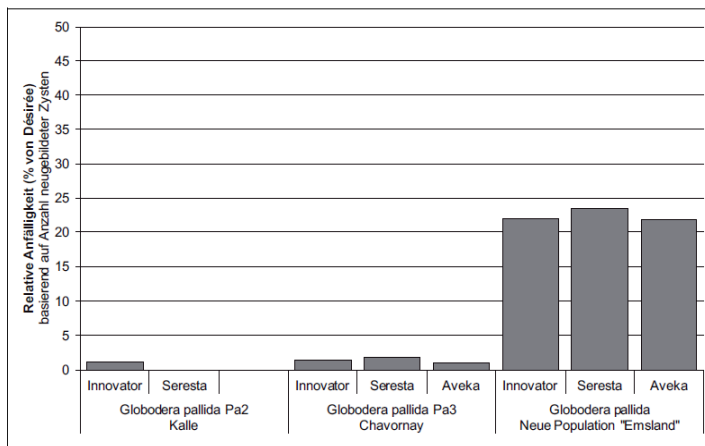
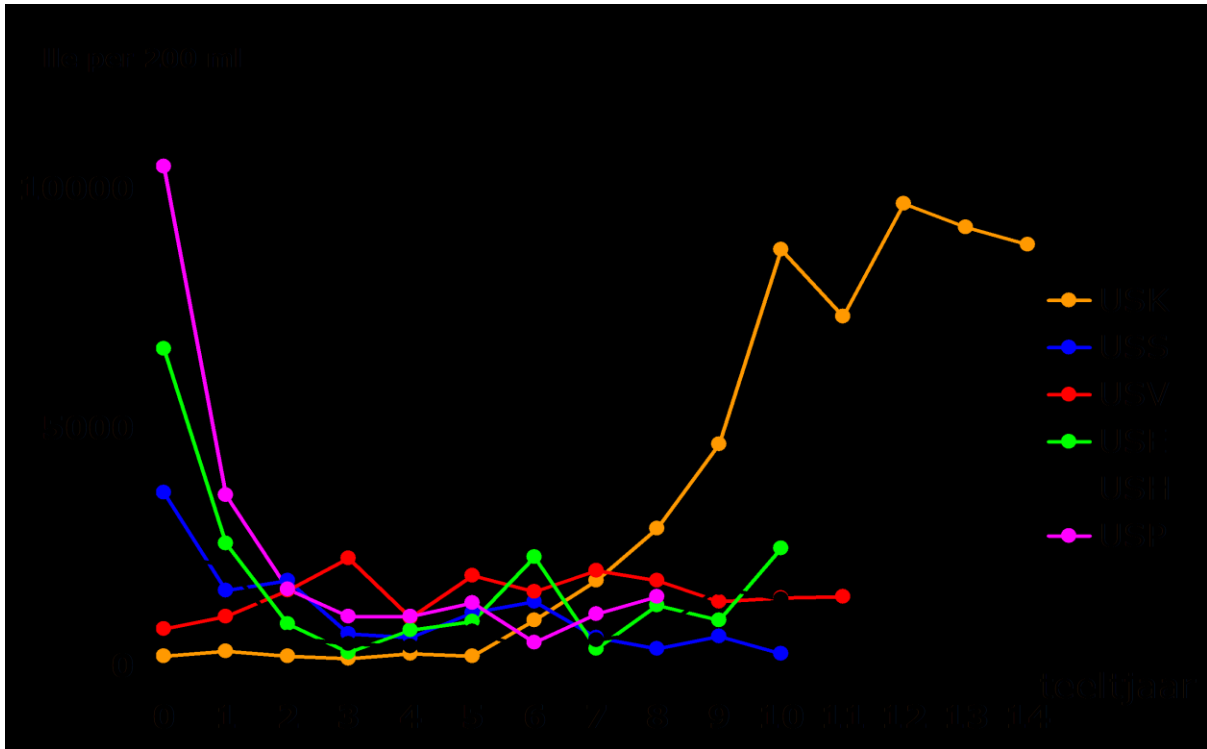


Abb. 1. Vergleich der relativen Anfälligkeit der Kartoffelsorten 'Innovator', 'Seresta' und 'Aveka' für die *Globodera pallida* Populationen „Kalle“, „Chavornay“ und den neu in Deutschland aufgetretenen Virulenztyp „Emsland“ ('Désirée' = 100%).

Björn NIERE (Julius Kühn-Institut, Institut für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit),
Stefan KRÜSSEL (Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Pflanzenschutzamt),
Karsten OSMERS (Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Bezirksstelle Emsland)

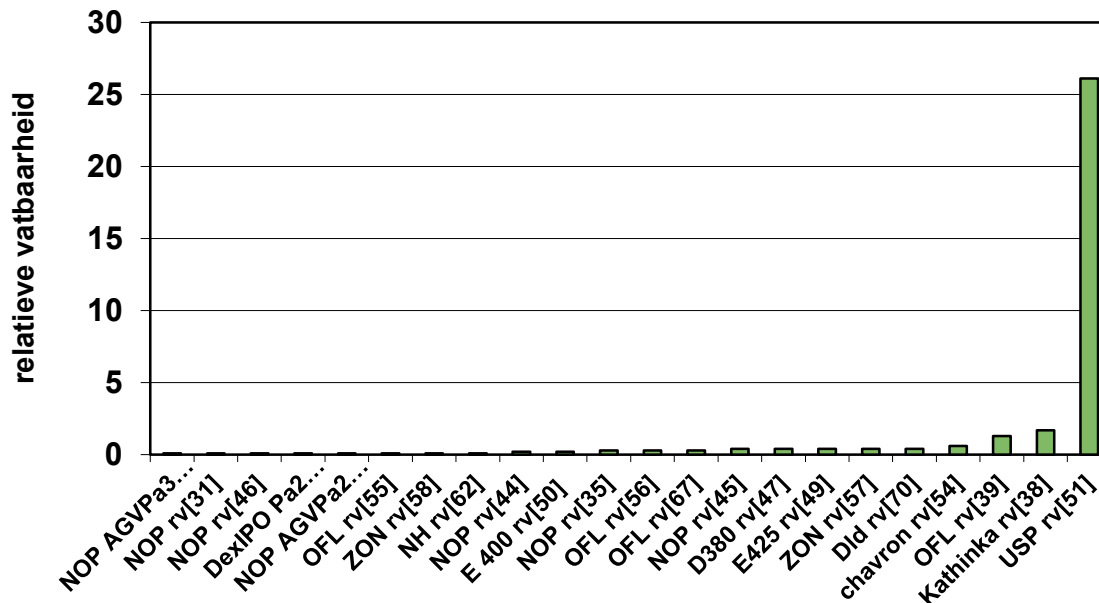
Virulentere populaties in Nederland

Midden jaren 90 werd door het HLB ism WUR PAGV/PRI selectie in een daarop gerichte proef aangetoond. Op de WUR PAGV proefboerderij Kooyenburg te Rolde werd in de zesde één op één Seresta teelt de eerste toename van de populatie gemeten. Deze populatie heeft de naam USK (Uit Selectie Kooyenburg) gekregen. De populatie afkomstig van een ander proefveld, met de code USP (code voor Uit Selectie teler P) werd na de veldperiode in potten verder beselecteerd en liep op tot dezelfde eindbesmettingen als USK. De RV van beide populaties liep op tot ruim 25% terwijl deze niet hoger dan 2% zou mogen zijn op basis van de officiële toetsing met populatie E400. E400 was de officiële Nederlandse Pa3 toetspopulatie. De virulente populaties USP en USK zijn toentertijd aan de kwekers beschikbaar gesteld.



Figuur: Einddichtheid gemeten als levende larven en eieren (Ile) per 200 ml grond bij een continue teelt van Seresta op 6 uitselectie proefvelden. Proefveld Kooyenburg (USK) werd 14 jaar in het veld gevolgd.

Relatieve Vatbaarheid van Seresta voor verdachte *G. pallida* veld populaties, verzameld in 2006-8, Seresta in vergelijking met Desiree (RV 100%)



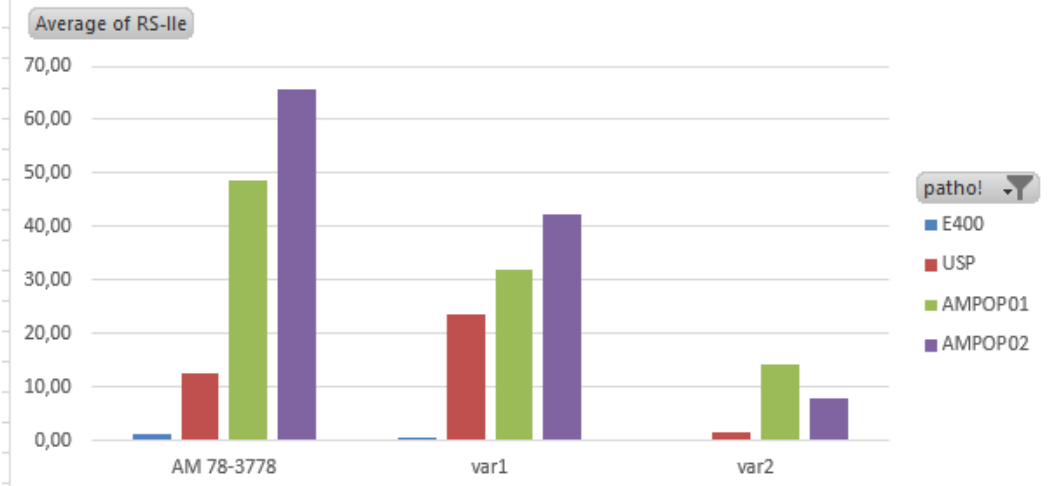
In 2009 werd in opdracht van de NVWA een virulentietoets (spoeltoets) uitgevoerd op veldpopulaties waar op aanwijzingen van telers en adviseurs 'iets mee aan de hand zou zijn', (bovenstaande figuur).

Van de ruim 50 getoetste verdachte veld populaties was er in die periode geen die daadwerkelijk virulenter was dan de EU PA3 toetspopulatie Chavornay (54). De USP toonde in deze toets dezelfde mate van virulentie als in de eerdere experimenten.

In Nederland rees in 2012 het vermoeden dat er ook in Noord Oost Nederland verdachte populaties met verhoogde virulentie aanwezig waren. Via spoeltoetsen uitgevoerd door Averis is dit inmiddels bevestigd. De NVWA heeft hier in september 2016 via een posterpresentatie op het congres van de European Society of Nematologists te Braga in Portugal kennis van gegeven (onderstaand figuur).

Onderstaande figuur geeft de resultaten van de test uit 2015. De AM 78-3778 is de PA3 resistente geniteur waarop amper vermeerdering zou moeten optreden. USP heeft op deze geniteur een RV van 10% in plaats van de verwachte 2%. De twee getoetste veldpopulaties zijn ruimschoots virulenter dan de USP. Ook in Nederland komen in het veld dus populaties voor met het virulentieniveau van de Duitse Emsland populatie .

Average of RS-Ile	E400	USP	AMPOP01	AMPOP02
AM 78-3778	1,17	12,74	48,79	65,64
var1	0,51	23,65	31,82	42,45
var2	0,00	1,64	14,42	8,00
	0,56	11,31	31,68	38,70



Figuur: Relatie Vatbaarheid van de Pa3 resistente geniteur AM 78-3778 en twee Pa3 resistente rassen (var 1, var2) voor de *G. pallida* populaties E400 (Nederlandse standaard Pa3), USP (uitselectie populatie P) en twee veld populaties.

Betekenis voor de aardappelteelt

Voor de zetmeelaardappelteelt, met zijn nauwe teeltfrequentie van 1:2, betekent dit dat bij verdere uitselectie op percelen ter plekke of verspreiding van de virulentere populaties door het gebied, steeds meer percelen schadelijke besmettingsniveaus zullen opbouwen waardoor er bestrijdingsmaatregelen zullen moeten worden genomen zo mogelijk in combinatie met de teelt van tolerante rassen. In deze regio is er urgentie om snel een nieuwe generatie *G. pallida* resistente rassen beschikbaar te krijgen die de virulentere populaties onder controle kunnen krijgen.

In de consumptieaardappelteelt is de uitselectie met een 1:4 teelt en minder frequente inzet van hoog resistente rassen, geringer geweest dan in het zetmeelaardappel gebied. Het kan niet worden uitgesloten dat er toch al virulentere populaties zijn ontstaan en/of dat deze vanuit Noordoost Nederland zijn geïmporteerd met aanhangende grond aan machines en plantgoed. Wanneer de virulentie van populaties op resistente rassen boven de 25% komt, lukt het ook binnen een 1:4 niet meer om schadevrij te telen. Wanneer de RV oploopt naar 70% zoals in bovenstaande figuur gemeten voor AM78-3778 dan is zelfs een 1:6 niet meer schadevrij. Kortom ook voor de consumptie is er behoefte aan tolerante rassen en rassen met nieuwe resistentie.

Voor de pootgoedteelt is het niet mogelijk om met deze virulentere populaties onder detectieniveau te blijven. Onze positie als pootgoedleverancier komt hiermee onder druk. Wanneer dit type populaties door Europa verspreid raken dan zal dit effect hebben op de totale aardappelproductie ongeacht het teeltdoel.

We hebben er daarom groot belang bij virulentere populaties vroegtijdig te detecteren en verspreiding zoveel mogelijk te vertragen.

Slotsom

Zoals in de jaren 90 al aangetoond, zijn er in de Nederlandse *G. pallida* populaties virulentiegenen aanwezig en bestaat er daarmee het risico op uitselectie.

In Noordoost Nederland is het risico op het selecteren van virulentere populaties groot omdat in dit gebied inmiddels 15 jaar hoog resistente rassen als Seresta en Festien worden geteeld in een hoge teeltfrequentie (1:2). De uitgeselecteerde virulente populaties verspreiden zich vervolgens met aanhangende grond door het gebied en zullen de komende decennia de overhand krijgen. Het is dan ook van het grootste belang dat de verspreiding maximaal wordt vertraagd om de kwekers de tijd te geven met alternatieve nieuwe resistente rassen op de markt te komen. Voor zetmeel zal de ontwikkelingstijd van deze nieuwe rassen korter zijn dan voor consumptie en pootgoed.

Daarnaast is het van belang zowel binnen NON als in de rest van het land een goed monitoring systeem te organiseren om virulente populaties vroegtijdig op te sporen en vervolgens maatregelen te nemen om verspreiding maximaal te beperken.

Monitoring en beheersing van virulente populaties vallen buiten de scope van dit achtergronddocument