‘Bonte percelen’ vertellen hun verhaal

Microbiële onderdrukking van aardappelcysteaaltjes

Robbert van Himbeeck[1], Egbert Schepel[2] & Johannes Helder[1]

[1]Laboratorium voor Nematologie, Wageningen University, Wageningen
[2]HLB, Wijster

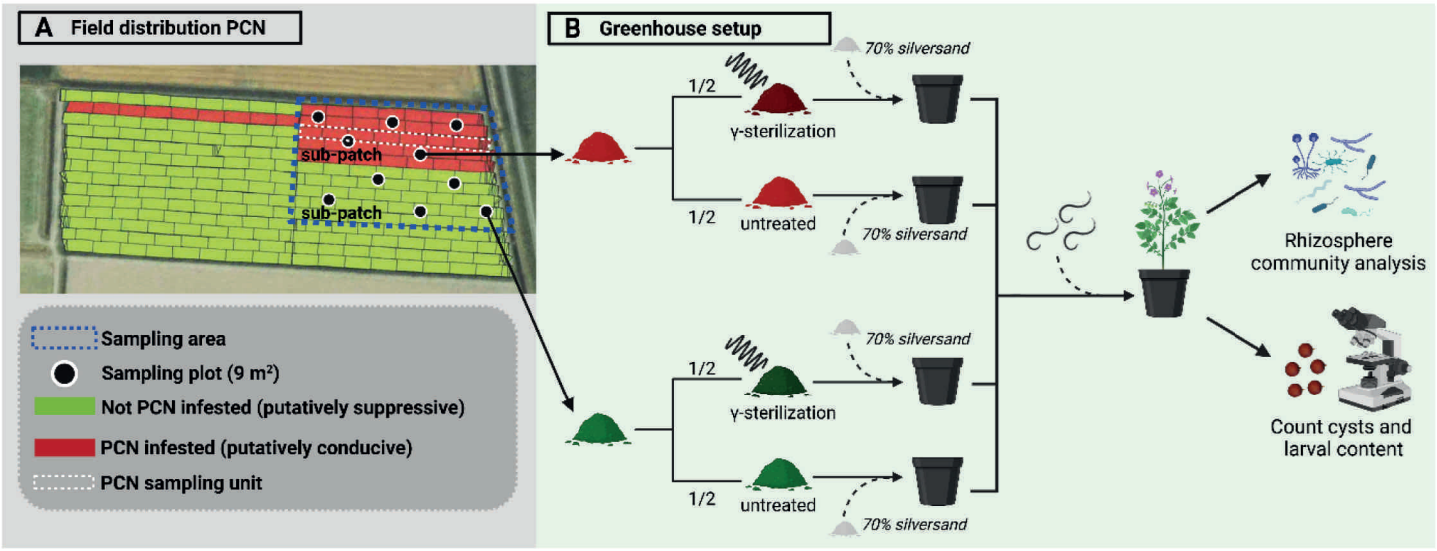
‘Bonte percelen’ is een aanduiding uit de praktijk waarmee aangeven wordt dat een perceel maar gedeeltelijk besmet is met aardappelcysteaaltjes (ACA). Dit kan allerlei oorzaken hebben zoals bijvoorbeeld een recente besmetting, of lokale verschillen in bodemchemie. Nadat we de historie van tientallen percelen hadden nageplozen, bleven er een aantal over met een schijnbaar onverklaarbare onregelmatige distributie van ACA. We hebben onderzocht of hier sprake was van natuurlijke weerbaarheid tegen ACA. Eerst hebben we onder sterk gecontroleerde condities deze ziekteonderdrukking kunnen bevestigen. Vervolgens hebben we het bodemmicrobioom in kaart gebracht, en een *groep van bodemmicroben* gevonden die geassocieerd is met ACA onderdrukking. Daarnaast kwam naar voren dat in verschillende ACA onderdrukkende percelen verschillende microbiële conglomeraten gecorreleerd zijn met dit fenomeen. Aan het einde van dit artikel bespreken we hoe deze vinding kan bijdragen aan een duurzame beheersing van ACA in Nederland.

Binnen de bodemmicroben, voornamelijk bacteriën en schimmels, zijn soorten geëvolueerd die op diverse manieren, zowel direct als indirect, aaltjes kunnen onderdrukken. Sommige microben kunnen aaltjes direct tegenwerken, voornamelijk door de mobiele aaltjes te vangen (bijv. *Arthrobotrys oligospora*), door eitjes of vrouwtjes te parasiteren (bijv. *Purpureocillium lilacinum*), of door giftige stoffen te produceren (bijv. *Pleurotus ostreatus*) (zie Topalović et al. (2020) voor een overzicht). Sommige andere microben activeren het generieke immuunsysteem van planten. Hoewel deze zogenaamde ‘antagonisten’ uitgebreid onderzocht zijn in het laboratorium of de kas, is natuurlijke onderdrukking van plantenparasitaire aaltjes nog steeds een vrij lastig te definiëren fenomeen. Om natuurlijke ziekteonderdrukking tot bruikbare ‘tool’ te ontwikkelen, is het nodig om dit complexe fenomeen nader te karakteriseren.

Om mechanismen en microben te identificeren die ten grondslag liggen aan het ziekte onderdrukkend vermogen van bodems, worden doorgaans onderdrukkende en niet-onderdrukkende *percelen* met elkaar vergeleken. Echter, gewoonlijk verschillen deze percelen in beheer, grondsoort, gewassen, en – als gevolg daarvan – microbioom, hetgeen zorgt voor achtergrondruis die het karakteriseren van onderdrukkende bodems bemoeilijkt. Percelen met een onverklaarbare *binnen-perceel variatie* in aaltjes besmetting, zogenaamde “bonte percelen”, zouden echter een belangrijke rol kunnen spelen in het karakteriseren van microbiële onderdrukking van aaltjes. Het vergelijken van binnen-perceel variatie in onderdrukking neemt immers een groot deel weg van de achtergrondruis die aanwezig is tussen verschillende velden. Populaties van ACA in velden worden door hun quarantaine status veelvuldig bepaald, doorgaans met een resolutie op rijniveau. Dergelijke gedetailleerde data bieden kansen om binnen-perceel variatie te identificeren en de oorzaak van deze variatie te bepalen.

In dit onderzoek hebben we bekeken of de geobserveerde variatie in ACA besmetting in bonte percelen verklaard zou kunnen worden door lokale verschillen in het bodem-microbioom. Op basis van een database van het HLB hebben we vier bonte aardappelpercelen geïdentificeerd met een onverklaarbare variatie in ACA besmetting binnen het veld (zie Fig. 1A voor een voorbeeld). Volgens onze hypothese waren delen in het veld zonder ACA besmetting dus vermeend onderdrukkend. Vervolgens hebben we voor elk perceel zowel grond van het ACA besmette deel als van het niet-besmette deel verzameld en overgebracht naar de kas voor een ‘weerbaarheidstoets’ (Fig. 1B). Het doel van deze weerbaarheidstoets was om te kijken of we de vermeende ACA onderdrukking konden bevestigen in de kas en om de biologische oorsprong van deze onderdrukking te verifiëren. Voor deze verificatie is de helft van de verzamelde grond gesteriliseerd met gammastraling. In deze toets werd een aardappelknol in de grond geplant en werden er vervolgens 10.000 *Globodera pallida* eitjes toegevoegd. Na 13 weken is er rhizosfeer grond verzameld om het microbioom te bepalen, en na 16 weken zijn de ACA cysten en levende larven gekwantificeerd.

Als alle velden tezamen geanalyseerd werden zagen we een significante afname van ACA vermeerdering, en deze afname kon worden toegeschreven aan het bodemleven. Niet alle percelen gaven dezelfde uitkomst. Bij twee van de vier bonte percelen observeerden we dat ACA zich significant minder goed kon vermenigvuldigen in het niet-besmette (= vermeend onderdrukkend) deel van het veld dan in het besmette deel. Bij “Field G” en “Field S” zagen we een soortgelijke trend maar deze was niet significant. Na het steriliseren van de grond, was dit verschil niet meer waarneembaar (Figuur 2). Hieruit concludeerden we dat het lokale microbioom verantwoordelijk was voor deze verminderde vermenigvuldiging en

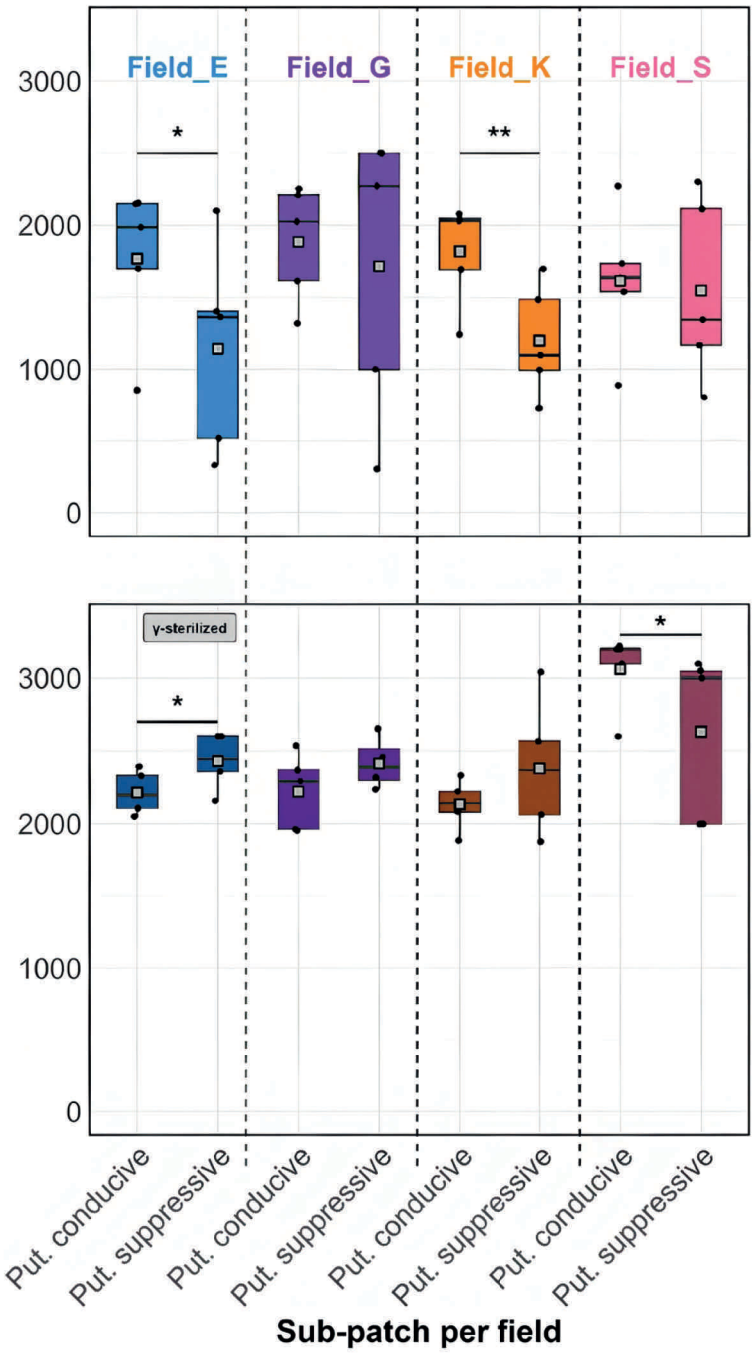


Figuur 1: Overzicht van de experimentele opzet. A: Een voorbeeld van een "bont perceel" waarbij de kleur de variatie in ACA besmetting weergeeft (groen=niet-besmet [= vermeend onderdrukkend]; rood = besmet). Er zijn vijf willekeurige grondmonsters verzameld (wit-zwarte cirkels) in zowel het besmette als niet-besmette deel. B: De helft van deze verzamelde grond is vervolgens gesteriliseerd terwijl de andere helft onbehandeld bleef. Na het mengen van de grond met steriel zilverzand, werden de gronden geïnoculeerd met 10.000 ACA eitjes, en werd er vervolgens een volledig vatbare aardappel (ras Desirée) in geplant. Na 13 weken werd er grond rond de wortels (="rhizosfeer") verzameld om het microbioom te karakteriseren. Na 16 weken zijn de cysten verzameld, en zijn het aantal cysten en de levende larven gekwantificeerd.

dus dat deze grond ACA onderdrukkend was. Het aantal levende larven per cyste werd echter niet beïnvloed. Dit duidt erop dat minder juveniele aaltjes de wortel konden bereiken en/of penetreren, maar dat het aantal nakomelingen per volwassen vrouwtje niet verminderde.

De daaropvolgende analyse van het microbioom legde duidelijke contrasten bloot in zowel schimmel- als bacteriegemeenschappen tussen de delen van deze velden. Microbiële onderdrukking van aaltjes is doorgaans het gevolg van de aanwezigheid en activiteit van specifieke microben. Daarom was onze hypothese dat niet de soortenrijkdom maar juist de soortensamenstelling van microben zou verschillen tussen de onderdrukkende en niet-onderdrukkende delen van deze twee velden. Uit statistische testen bleek inderdaad dat er geen verschillen in schimmeldiversiteit werden gedetecteerd, terwijl er voor één veld een hogere bacteriële soortenrijkdom in het onderdrukkende deel werd gevonden. De daaropvolgende analyses lieten zien dat in één van deze twee velden de antagonisten *Arthrobotrys elegans, Pseudomonas putida, en Pseudomonas fluorescens,* meer voorkwamen in het niet-besmette deel. Schimmels van het geslacht *Arthrobotrys* zijn goed bestudeerd en voornamelijk bekend van de kleverige netwerken die ze maken om aaltjes te vangen (bijv. Cao et al., 2018). *P. fluorescens* produceert onder andere stoffen die voor een verminderde mobiliteit van juvenielen zorgen (Cronin et al., 1997). In het andere veld kwam de schimmel *Metacordyceps chlamydosporia* (voorheen: *Pochonia chlamydosporia*) meer voor in het onderdrukkende deel. *M. chlamydosporia* is een bekende eierparasiet van aaltjes, waaronder die van ACA (Manazilla-Lopez et al. 2017). Hoewel deze twee aardappelvelden slechts 23 kilometer van elkaar verwijderd waren, werd er dus toch een verschillende antagonisten gemeenschap gedetecteerd. Deze observatie onderstreept nogmaals de kracht van de vergelijking van binnen-perceel variatie in onderdrukking, omdat zelfs nabijgelegen velden sterk kunnen verschillen in zowel microbioom en antagonisten gemeenschap.

Dit onderzoek bevestigt het voorkomen van ACA onderdrukkende bodems in Nederland; dit verschijnsel was nog niet eerder beschreven in Nederland en zelfs niet binnen Europa. Dit onderzoek biedt een nieuw perspectief: ACA-onderdrukkend vermogen van bodems bestaat echt, en komt ook voor in Nederland in reguliere akkerbouwpercelen. Dit fenomeen kan dus beschouwd worden als een mogelijke toevoeging aan het palet van maatregelen voor de bestrijding van plant-parasitaire aaltjes in Nederland in de toekomst.



Figuur 2: Het steriliseren van de grond (onder) zorgde ervoor dat de waargenomen ACA onderdrukking (boven) verdween. Hiermee toonden we aan dat het bodemleven verantwoordelijk was voor de waargenomen onderdrukking.

Bijhorend artikel:

Van Himbeeck, R., Geisen, S., van Schaik, C., van den Elsen, S., Berendsen, R., Bertran, A., Schepel, E., & Helder, J. (2025). Patchy distribution of potato cyst nematodes within single arable fields reveals local disease suppressiveness mediated by disparate microbial communities. *Environmental Microbiology*, 27(5), e70113.

Referentielijst:

Cao, X., Xu, Q., Wan, X. M., Yang, X. C., Jia, X. Y., Xue, X. J., Du, J., & Cai, K. Z. (2018). Isolation, identification, and in vitro predatory activity of nematophagous fungus *Arthrobotrys musiformis* and its interaction with nematodes using scanning electron microscopy. *Biocontrol Science and Technology*, 28(1), 94-104.

Cronin, D., Moenne-Loccoz, Y., Fenton, A., Dunne, C., Dowling, D. N., & O'Gara, F. (1997). Role of 2, 4-diacetylphloroglucinol in the interactions of the biocontrol pseudomonad strain F113 with the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(4), 1357-1361.

Manzanilla-López, R. H., Esteves, I., & Devonshire, J. (2017). Biology and management of *Pochonia chlamydosporia* and plant-parasitic nematodes. In: *Perspectives in sustainable nematode management through* Pochonia chlamydosporia *applications for root and rhizosphere health (pp. 47-76). Cham: Springer International Publishing.*

Topalović O., Hussain, M., & Heuer, H. (2020). Plants and associated soil microbiota cooperatively suppress plant-parasitic nematodes. *Frontiers in microbiology*, 11, 313.