

**Matthias Daub (Hrsg.)**

**47. Jahrestagung des DPG-Arbeitskreises  
Nematologie 2019**



**Zusammenfassungen der Arbeitskreisbeiträge**

**PI (Persistent Identifier): [urn:nbn:de:0294-jb-ak-2019-nem-0](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:0294-jb-ak-2019-nem-0)**



**Deutsche  
Phytomedizinische  
Gesellschaft e.V.**

## **47. Tagung des DPG Arbeitskreises Nematologie**

**13. und 14. März 2019**

### Tagungsstätte

**Gesellschaft für Biotechnologie  
und biologischen Pflanzenschutz mbH (e-nema)  
Klausdorfer Str. 28 - 36, 24223 Schwentinental**

## **Kurzfassungen**

Herausgeber:

**Matthias Daub**

**Julius Kühn-Institut**

Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland

Dürener Strasse 71

50189 Elsdorf (Rheinland)

## **Bericht zur 47. Tagung des DPG AK Nematologie in Schwentental**

Auf Einladung des amtierenden Präsidenten der ESN (European Society of Nematologists) Prof. Dr. Ralf-Udo Ehlers traf sich der DPG Arbeitskreis Nematologie am 13. und 14. März 2019 zu seiner 47. Tagung am Standort der Gesellschaft für Biotechnologie und biologischen Pflanzenschutz mbH (e-nema) in Schwentental. Die 50 Teilnehmer aus Deutschland, Österreich, den Niederlanden und der Schweiz ließen sich durch die hohe Qualität der Vorträge und Diskussionsbeiträge trotz „leichter Brise“ mit Dauerregen inspirieren. Vor Tagungsbeginn hatten die Teilnehmer die Gelegenheit die Produktionsstätten der e-nema zu besichtigen. Dabei konnten sich alle ein einprägendes Bild der sehr anspruchsvollen Produktion entomopathogener Nematoden (EPN) und nützlicher Mikroorganismen in Bioreaktoren für den biologischen Pflanzenschutz machen. Eindrucksvoll war auch der allgegenwärtig spürbare Pioniergeist, den sich die Mitarbeiter der e-nema aus der Gründerzeit bewahren konnten. Aktuell werden jährlich u.a. eine unvorstellbare Menge von 25 Tonnen reiner Frischmasse an EPNs für den internationalen Markt produziert.

Die Vorträge deckten einen weiten Bereich an Themen zu pflanzenparasitären und entomopathogenen Nematoden ab. In der ersten Sektion wurde das hohe Anforderungsprofil an Daten für die Zulassung nematizider Wirkstoffe, sowie der Wirkungsweise eines neuen Wirkstoffs (Fluopyram) aber auch andere pflanzeigene oder durch nützliche Mikroorganismen vermittelte Abwehrmechanismen von Wirtspflanzen diskutiert. Die zweite Sektion behandelte die Bedeutung von pflanzenparasitären Nematoden für das Boden-mikrobiom, die Bedeutung von Trichodoriden für die Übertragung des TRV-Virus bei Kartoffeln und neue Ansätze für artumfassende Diagnose-Tools sowie Methoden zu Resistenzbestimmung in Zwischenfrüchten. Ein Höhepunkt der zweiten Sektion war der sehr informative Überblick über die gegenwärtige Anbausituation von Kartoffeln in Kenia und die neue Bedrohung durch die dort vorkommenden Kartoffelzystennematoden, die entgegen des bisherigen Kenntnisstandes offensichtlich keine Diapause mehr vollziehen. Regionalspezifische Lösungsansätze wurden engagiert diskutiert. Die dritte Sektion war ganz den entomopathogenen Nematoden gewidmet. In Ergänzung zu der Führung am Morgen lieferte diese Sektion einen Überblick über die Prozesssteuerung der Produktion von EPNs, die bereits bei der Selektion geeigneter Zuchtlinien aus dem genetischen Pool von e-nema beginnt. Eine neue Verwendung findet EPNs (*Panagrolaimus*) als Ersatz von Artemia (Salzkrebschen) bei der Fütterung von Zuchtgarnelen. Die letzte Sektion behandelte schwerpunktmäßig neue klassische aber auch molekulare Techniken beim Resistenz-Screening von Kartoffeln und Möhren gegen *Meloidogyne spp.* und Ansätze für das Monitoring neuer Virulenztypen in Kartoffel- und Rübenzystennematoden.

Im Anschluss an den Vortragsteil wurden in einer satzungsgemäßen Wahl Dr. Matthias Daub (Julius Kühn-Institut) als Arbeitskreisleiter des AK Nematologie und Dr. Ulrike Haki (Pflanzenschutzdienst NRW) als Stellvertreterin in ihren Ämtern für die nächsten vier Jahre bestätigt. Einstimmig fiel auch die Wahl des nächsten Tagungsortes in Wien bei der AGES (Österreichische Agentur für Ernährungssicherheit) aus, die vom 11. März bis 12. März 2020 stattfinden wird.



Gruppenfoto beim 47. Treffen des DPG-Arbeitskreises Nematologie am 14. März 2019 in Schwentimental.

# e-nema GmbH - Biotechnische Produktion von Pflanzenschutzmitteln

Ehlers RU

*Gesellschaft für Biotechnologie und biologischen Pflanzenschutz mbH (e-nema) Klausdorfer Str. 28 - 36, 24223 Schwentinental*

ehlers@e-nema.de

Die Biotechnologie gehört derzeit zu den innovativsten Wissenschafts- und Wirtschaftszweigen. Dabei umfasst der Begriff einen weiten Bereich, von der Stammzellenforschung über die genetische Modifizierung von Pflanzen, Bakterien und Tieren bis hin zur Produktion von Bioethanol. Traditionelle biotechnologische Verfahren sind beispielsweise das Bierbrauen oder die Nutzung der Backhefe.

Die e-nema GmbH hat sich auf die industrielle Produktion von Mikroorganismen und Nematoden in Bioreaktoren spezialisiert. Angefangen haben wir 1997 mit der Produktion von *Heterorhabditis bacteriophora*, einem insektenpathogenen Fadenwurm, in einem 500 Liter Bioreaktor. Inzwischen produzieren wir regelmäßig verschiedene Nematoden- und Bakterienarten sowie diverse Hefen und Pilze in zahlreichen Bioreaktoren mit Kapazitäten bis zu 60.000 Liter.

Aus den Organismen werden verschiedenste Produkte hergestellt. In biologischen Pflanzenschutzmitteln sind meist die lebenden Organismen die aktive Substanz. Sie werden durch entsprechende Maßnahmen von der Fermentationsbrühe getrennt und in lagerfähige Produkte überführt. In der Biokatalyse geht es dagegen um bestimmte Substanzen, die die Mikroorganismen produzieren. Hier müssen die Bakterien bzw. Pilze also aus dem Endprodukt herausgehalten werden. Es gibt eine unüberschaubare Vielfalt an Substanzen, die auf diesem Wege produziert werden können. Einige davon können auch chemisch synthetisiert werden; oftmals ist der biokatalytische Weg aber günstiger.

# **It is a long way for a nematicidal compound to become a product...**

Dauk H

*Bayer AG Crop Science Division, Alfred-Nobel-Str. 50, 40789 Monheim am Rhein*

marc.rist@bayer.com

For the discovery of an effective nematicidal compound hundreds of thousands of chemical- and biological candidates are tested every year. However, even once a compound with efficacy potential is found, it is still a long way until it becomes a product which can be used by growers. Suitability for sufficient soil distribution and stability is required for performance in the field, optimized by integrated use with other nematode control products and methods. A high selectivity of the nematicide for the target pests, safety for humans, the environment and the agricultural crop has to be proven. Good environmental safety must be ensured by testing a considerable number of different and sensitive non-target organisms and beneficials. Regarding human safety, the toxicological profiles of modern nematicidal products improved largely over the past decades. In addition to efficacy and safety, nematicide products must offer multiple features such as a suitable and stable formulation, affordable pricing at the level of the grower and acceptance by the customers and public. Today it takes up to 11 years to achieve European registrations for new chemical and biological products, for which approx. 500 studies for chemicals and still 50-100 studies for biologicals have to be conducted. Currently the costs for the development of new products are a staggering ca. € 250 Million for a chemicals and around €40 Million for biologicals in average, which limits the chances for a return of the investment in the market. This leads to a decreasing number of innovative products available for European growers. Nevertheless, the industry is committed to do its best to develop new products, which fit to grower's needs, ensure environmental and human safety and match consumer demands for food security and quality. However, it is an increasing challenge to achieve this win-win-win situation.

# Nematicidal or nematistatic! Mode of action of fluopyram in plant parasitic nematodes

Schleker ASS<sup>1</sup>, Rist M<sup>2</sup>, Matera C<sup>1</sup>, Damijonaitis A<sup>2</sup>, Collienne U<sup>2</sup>, Matsuoka K<sup>1</sup>, Twelker K<sup>2</sup>, Scharwey M<sup>2</sup>, Schlee U<sup>1</sup> and Grundler FMW<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Molecular Phytomedicine, University of Bonn, Karlrobert-Kreiten-Straße 13, 53115 Bonn, Germany;

<sup>2</sup>Research Pest Control, Bayer AG, CropScience Division, Alfred-Nobel-Str.50, 40789 Monheim am Rhein, Germany

sylvia.schleker@uni-bonn.de; marc.rist@bayer.com

Management of plant parasitic nematodes (PPNs) in agricultural crop production is necessary to counteract severe yield losses worldwide but challenging as effective means are rare. Recently, it has been discovered that soil applications of the succinate dehydrogenase (SDH) inhibitor fluopyram can be effective against PPNs. Here we show that fluopyram selectively binds to the target in nematodes but not in mammals and insects. Further, fluopyram clearly impairs ATP generation in *Meloidogyne incognita*, *Heterodera schachtii* and *Caenorhabditis elegans*. Our investigations reveal that the compound causes paralysis of *M. incognita* and *H. schachtii* second stage juveniles (J2s) as well as *C. elegans*. Whereas micromolar concentrations of fluopyram are already nematicidal for *M. incognita* J2s, *H. schachtii* J2s completely recover even after treatment with about 100 times higher concentrations. Fluopyram efficiently reduces gall formation on lettuce after preincubation of *M. incognita* J2s with the compound. In line with the recovery assays, preincubation of *H. schachtii* J2s with fluopyram is not effective in inhibiting nematode parasitism of *Arabidopsis thaliana*. Although fluopyram is only nematistatic for *H. schachtii* J2s, permanent contact of the nematodes with the compound in a micromolar to nanomolar range completely prevents nematode infection of *A. thaliana* or considerably reduces nematode development at the root in a concentration dependent manner. Sequence comparison highlights a unique amino acid exchange at a crucial site of the target protein SDHC within *Heterodera* sp. what could affect binding of fluopyram. The corresponding SDHC *C. elegans* mutant is significantly less sensitive to fluopyram compared to the wild type, thus explaining the above observations.



## ***Bacillus firmus* I-1582 protects plants from *Heterodera schachtii***

Huang M<sup>1</sup>, Matera C<sup>1</sup>, Shrestha B<sup>1</sup>, Schlee U<sup>1</sup>, Grundler FMW<sup>1</sup> and Schleker ASS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Molecular Phytomedicine, University of Bonn, Karlrobert-Kreiten-Straße 13, 53115 Bonn, Germany*

s6mehuan@uni-bonn.de; sylvia.schleker@uni-bonn.de

Plant-parasitic nematodes are one of the major threats to agricultural crop production worldwide as nematodes cause high yield losses by root parasitism. A strategy to combat nematode parasitism is to utilize antagonistic microbes. One organism in this respect is the Gram-positive rhizobacterium *Bacillus firmus* I-1582 which is promoted as biological nematode control agent. Although *B. firmus* is a known nematode antagonist in general, details about its interaction with nematodes and plants are rare. In order to investigate the impact of *B. firmus* I-1582 on plant-nematode interaction, a sophisticated agar-based gnotobiotic system was adopted to meet the requirements of the involved organisms. We demonstrate that *B. firmus* I-1582 is attracted by *Arabidopsis thaliana* root exudates, particularly by those of young plants. The bacterium colonizes the root and develops there in a strictly pH-dependent manner. Root colonization by *B. firmus* I-1582 significantly protects the plant from infection by the nematode species *H. schachtii*. Interestingly, contact of the root with the cell-free bacterial culture supernatant does not influence nematode parasitism. We therefore conclude that the living bacterium must be present at the root for efficient nematode control. However, the progeny rate of the nematodes which successfully infect the root remains unaffected. First pot studies suggest that *B. firmus* I-1582 also affects *H. schachtii* parasitism in soil. Currently, we are studying the mechanism(s) behind the observed results.

# The plant secondary metabolite nootkatone inhibits *Heterodera schachtii* infection of *Arabidopsis thaliana* and female development

Habash SS<sup>1</sup>, Loeschcke A<sup>2</sup>, Drepper T<sup>2</sup>, Jaeger, KE<sup>2</sup> Grundler FMW<sup>1</sup> and Schleker ASS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Molecular Phytomedicine, University of Bonn, Karlrobert-Kreiten-Straße 13, 53115 Bonn, Germany;

<sup>2</sup>Institute of Molecular Enzyme Technology, Forschungszentrum Jülich GmbH, Heinrich-Heine-University Düsseldorf, 52426, Jülich, Germany

samer@uni-bonn.de; sylvia.schleker@uni-bonn.de

*Heterodera schachtii* is a serious problem in sugar beet production and a pathogen of oilseed rape. Resistant or tolerant varieties and trap crops are used to manage the problem. However, resistance-breaking nematode populations jeopardize these efforts. Therefore, eco-friendly and effective alternatives are needed. Plant metabolites represent an invaluable source of bioactive compounds, which can be used as such or serve as chemical frameworks for developing new compounds.

We first evaluated the effect of eight selected plant metabolites on growth of *Arabidopsis thaliana* to determine a suitable compound concentration to perform infection assays with *H. schachtii*. Infection assays revealed that the total number of developed *H. schachtii* individuals on *A. thaliana* was increased in the presence of caryophyllene oxide and crocetin, while it was decreased to 50% in the presence of nootkatone. Furthermore, female nematodes were smaller when nootkatone was added to the plant growth medium whereas females were bigger when caryophyllene oxide or saffron were used. No effect was observed on the size of syncytia. Nootkatone did not affect survival of the second stage juveniles after incubation for two days. Moreover, this compound did not trigger plant defense through ROS signaling pathway. Our results indicate that nootkatone is a promising metabolite that has the potential to be developed into a novel anti-nematode agent. Further research is needed to elucidate its mode of action.

# Interactions of phytonematodes with soil microbiomes

Holger H<sup>1</sup>, Topalovic O<sup>1</sup>, Kanfra X<sup>1</sup>, Elhady A<sup>1</sup>, Adds S<sup>1</sup> and Hallmann J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany*

holger.heuer@julius-kuehn.de

Nematodes are key players in phytobiomes. Their interactions with microbes influence plant growth and health. Examples from our current research are given. This includes the contribution of free-living nematodes and their associated microbiome to apple replant disease; the attachment of specific microbes to infective stages of endoparasitic nematodes, and the induction of plant defenses by these attached microbes; and the effects of the rhizosphere microbiome structure on plant defense against plant-parasitic nematodes.

# Auftreten und Verbreitung von Trichodoriden als Vektoren des Tobacco rattle virus (TRV)

Hieronymus C<sup>1</sup>, Lindner K<sup>2</sup>, Hofferbert HR<sup>3</sup>, Truberg B<sup>4</sup>, Wagener S<sup>5</sup>, Koenig R<sup>1</sup> und Hallmann J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Toppeideweg 88, 48161 Münster/ Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany; <sup>1</sup>Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany; <sup>3</sup>Böhm-Nordkartoffel-Agrarproduktion GmbH & Co. OHG, Bahnhofstraße 53, 29574 Ebstorf, Germany; <sup>4</sup>Norika Nordring-Kartoffelzucht- und Vermehrungs-GmbH, Parkweg 4, 18190 Sanitz; <sup>5</sup>SaKa Pflanzenzucht GmbH & Co. KG, Eichenallee 8, 24340 Windeby, Germany

christina.hieronymus@julius-kuehn.de

Tobacco rattle virus (TRV) verursacht Eisenfleckigkeit an Kartoffeln. Dadurch ist die Qualität der Knollen reduziert und es kommt zu hohen wirtschaftlichen Verlusten für den Landwirt. TRV wird durch Nematoden der Gattungen *Trichodorus* und *Paratrichodorus* (Trichodoriden) übertragen. Gegenmaßnahmen sind aufgrund des breiten Wirtspflanzenspektrums von TRV und Trichodoriden schwierig. Direkte Bekämpfungsmöglichkeiten stehen nicht zur Verfügung. Zukunftsweisend könnte die Züchtung resistenter Sorten sein. Dies bedarf einer genauen Kenntnis der auftretenden TRV Stämme und der TRV-übertragenden Nematodenarten. Im Rahmen eines von der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung und der Gemeinschaft zur Förderung von Pflanzeninnovationen e.V. (GFPI) geförderten Forschungsvorhabens haben sich Kartoffelzüchter und Ressort-forschungsinstitute zusammengetan, um die Interaktion von Kartoffel, TRV und Nematode zu untersuchen. Über 3 Jahre werden an jeweils 6 Standorten 15 Kartoffelgenotypen hinsichtlich ihrer Anfälligkeit für TRV untersucht. Für die einzelnen Standorte werden die auftretenden TRV Stämme charakterisiert und die Arten von *Trichodorus* und *Paratrichodorus* bestimmt sowie deren Vermehrung an den einzelnen Kartoffelgenotypen erfasst. Die Extraktion der Trichodoriden erfolgte mit dem Oostenbrink Elutriator. Dieses Verfahren hatte gegenüber dem Baermann-Verfahren bzw. Zentrifugations-Flotations-Verfahren eine deutlich höhere Nematodenausbeute und war gegenüber der nahezu gleichwertigen Nass-Sieb-Methode besser zu standardisieren. Das Spektrum auftretender Trichodoriden-Arten variierte je nach Standorten zwischen 1 und 4 Arten. Die häufigste und die am weitesten verbreitete Art war *T. primitivus*. Weiterhin traten auf: *T. cylindricus*, *T. viruliferus* und *P. pachydermus*. Insgesamt wurde in 2018 keine bzw. im Einzelfall allenfalls eine geringe Vermehrung der Trichodoriden an den untersuchten Kartoffelgenotypen beobachtet. Teils deutliche Unterschiede zeigten sich im Befall der Kartoffelgenotypen mit viröser Eisenfleckigkeit von sehr anfällig bis nahezu resistent. Die Etablierung von Reinkulturen verschiedener Trichodoriden-Arten im Gewächshaus war bisher nicht erfolgreich.

# An overview on Potato cyst nematodes situation in Kenya

Mwangi J<sup>1</sup> and Kiewnick S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for Cultivated Plants, Institute for Plant Protection in Field Crops and Grassland, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, Germany.

james-maina.mwangi@julius-kuehn.de

*Globodera rostochiensis* and *G. pallida* were reported in Kenya for the first time in 2015 and 2018 respectively. A national wide survey conducted in 2016-2017 reported *G. rostochiensis* in over 70% of potato growing areas. However *G. pallida* was found in only one sample out of hundreds analysed. This indicated a very low frequency of occurrence. The presence of PCN is a major threat to food security of a country where potato is the second most important food crop after maize. Over 800,000 farmers are directly engaged in potato production, majority being small holder farmers who rely on potato production for livelihood. Potato productivity has been on the decline with a hectare producing less than 14 metric tonnes of potato. The low productivity has been attributed to various biotic and abiotic stress among them PCN infestation.

In our study we have confirmed the presence of the two PCN species in samples received from ICIPE-Kenya. Over 200 susceptible potato cv. Desiree were inoculated with a single cyst to achieve a pure line population from mixed population. Recovered cysts were analysed using PCR with species specific primers. Only four samples tested positive to *G. pallida* representing 2% of the tested samples. The reproduction of the *G. rostochiensis* on susceptible cultivars was found to be high while tests on the virulence of the populations on the available resistant potato cultivars are on-going. Preliminary study on the *G. rostochiensis* biology has revealed lack of obligatory diapause. The observation will have a higher implication on the management of the pest in a country where potato production is done throughout the year. We are currently studying the pathotype and the biology of the populations. We hope to generate information necessary for designing sustainable management of the pests as well as restricting the spread of *G. pallida*.

# Establishment of the nematode in vitro infection assays for the wide range of nematode catch crops

Radakovic ZS<sup>1</sup> , Mader J<sup>1</sup> and Schlathoelter M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>P. H. Petersen Saatzeit Lundsgaard GmbH, Streichmuehler Straße 8 a, 24977, Grundhof, Germany

z.radakovic@phpetersen.com

Plant parasitic nematodes are one of the most important pathogens in modern agriculture. The complexity and rapid adaptation of their parasitism require breeders for the constant search of new nematode resistance sources and strategies in order to ensure high and stable yield for the farmers. Since crop resistance sources are limited, usage of catch crops proved to be the most successful method for nematode control. In addition, cover crops also contribute for improving soil fertility by adding organic matter, efficient nitrogen fixation, erosion control, enrichment of the biodiversity and beneficial soil microorganisms and thus help for sustainable farming and environmentally friendly crop production. With selecting, breeding and registration of oil radish and white mustard for nematode-resistance, P. H. PETERSEN redefined a whole field of application for cover/catch crops. Ever since then, the company has been the market leader in Europe, breeding and providing new varieties with resistance, not only for *H. schachtii* but for the wide range of other plant parasitic nematodes such as *Meloidogyne* ssp. The key to the company's success is to understand plant-nematode interaction on field, greenhouse, and laboratory and combining breeding with agricultural practices. It is expected that demand for cover crops will increase in following years and therefore P. H. PETERSEN is establishing new innovative breeding methods which include less cost-intensive, more efficient and detailed in vitro experiments in the laboratory which is the best way to find new breeding options to meet the demands of advanced agriculture of 21st century. Some of our preliminary greenhouse and in vitro results will be presented and future breeding plans will be discussed.

# Plant Parasitic Nematode Diagnostics, An overview from a kit Provider

Santos Paiva M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*ClearDetections, Nieuwe Kanaal 7H 6709PA Wageningen, Netherlands*

marta.santos@cleardetections.com

Plant parasitic Nematodes cause every year billions of euros in losses in agricultural sector. Traditional nematicides are in decline. People and goods travel all a crossed the globe making the threat of spreading and contamination real. Climate changes enable bursts of nematode species where they were not before. In the information era how should we approach this problem? At ClearDetections we work since 2011 on the first step for this solution: Detection! In the late 90's service laboratories were unable to give response to all sample's requests, fewer students were attracted to a specialization on nematology taxonomy, the need for an alternative to traditional microscopy analysis was urgent! The goal was ambitious to find a reliable, robust, specific, sensitive tool that could easily be implemented in existing service laboratories analysing samples from different backgrounds and different nematodes simultaneously. ClearDetections, together with WUR, developed a molecular biology platform based on Real-Time PCR to detect nematodes. How we did it? What were our main achievements and constraints? Today the landscape for plant parasitic nematodes diagnostics is still complex, with increasing legislation and trading between countries more samples are analysed every day. In a period where information is key, farmers benefit greatly from sampling their fields more often in a more systematic way. What are we working on to provide farmers, advisors and plant health authorities all over the world with the best tools to tackle the plant parasitic nematodes diagnostic problem?

# Mass Production of EPNs in liquid culture: Challenges and opportunities

Addis T<sup>1</sup> and Ehlers RU<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*e-nema GmbH, Klausdorfer Str. 28-36, 24223 Schwentinental, Germany*

t.addis@e-nema.de

Entomopathogenic nematodes (EPNs) in the genera *Steinrenema* and *Heterorhabditis*, symbiotically associated with *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*, respectively are commercially used to control insect pests. EPNs are environmental and user friendly. The development of resistance and harmful effects of insecticides to non-target organisms (e.g. neonicotinoids) and the environment created a market potential for biocontrol agents including EPNs. However, the price of EPNs is still expensive compared to pesticides that limited its application mainly to high value crops. Application at a wider range can only be reached through reduction of production costs during scaling-up, downstream processing, storage and field applications. Mass production of EPNs in bioreactors starts with 24-48 h pre-cultured bacteria. High dauer juvenile (DJ) recovery, which depends on the quality of pre-culture bacteria and nematode species/strain, is a pre-requisite for successful mass production of EPNs. Switch/change of the symbiotic bacteria and the presence of unnoticed contaminants at few numbers that cannot easily be detected in microscopic observation or agar media pop-up during scaling up and cause process failure. However, high DJ recovery is not a guarantee unless the right process parameters and additives (e.g. antifoams) are maintained throughout the process. In liquid culture production, symbiotic bacteria involve in recovery, nematode growth and development and DJ yield. Some bacterial strains are associated with increasing viscosity of the media, which is a big challenge during harvesting. Therefore, selection of bacterial strains, which are suitable for liquid culture production without affecting important traits of the nematode, is crucial. Regarding nematodes, more than 90 *Steinrenema* and 20 *Heterorhabditis* species have been described. However, only *H. bacteriophora*, *S. carpocapsae*, *S. feltiae* and *S. krausei* are commercialized. Selection of these nematodes depends on ease of production and handling, effect on target insects and geographical distribution. In addition to selection of the right bacterial strains and production of high yielding nematodes, selection and crossing of virulent and long living nematodes is going on in order to reduce loss of nematodes during storage and the dose of nematode application in the field. The establishment of 5 new bioreactors with a capacity of 120,000 l and the knowledge and technique which has been gained is a big opportunity to satisfy the needs of EPNs in the market. The different steps of liquid culture production of nematodes will be demonstrated through guided visit at e-nema.



# Feeding of the whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* larvae with a desiccation-tolerant *Panagrolaimus nematode* to replace *Artemia*

Seychelles L<sup>1</sup>

<sup>1</sup>e-nema GmbH, Klausdorfer Str. 28-36, 24223 Schwentinental, Germany

l.seychelles@e-nema.de

To replace *Artemia nauplii* during feeding of first larval stages of the whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*, a nematode *Panagrolaimus* sp. was tested as live feed. Nematodes were produced in in vitro liquid culture on cells of *Escherichia coli*. In Trial 1, shrimp larvae were fed one of four diets from Zoea 2 to Postlarva 1 (PL1): (A) *Artemia nauplii*, control treatment; (NC) nematodes enriched in docosahexaenoic acid (DHA) provided by the dinoflagellate *Cryptothecodinium cohnii*; (N) non-enriched nematodes and (Algae) a mixture of microalgae supplemented in *C. cohnii* cells. In Trial 2 larvae were fed until Postlarva 6 (PL6), with (A), (NC) and a different treatment (NS) with nematodes enriched in polyunsaturated fatty acids (PUFAs) provided by the commercial product S.presso®. Mysis 1 larvae fed nematodes of the three dietary treatments were 300 µm longer ( $3.2 \pm 0.3$  mm) than control larvae. At PL1, control shrimps were 300 µm longer ( $4.5 \pm 0.3$  mm) than those fed DHA-enriched or PUFAs-enriched nematodes. No differences were observed in length and survival at PL6 between control larvae and those fed DHA-enriched nematodes ( $5.1 \pm 0.5$  mm; 33.1%–44.4%). Shrimp fed microalgae were delayed in development at PL1. This work is the first demonstration of *Panagrolaimus* sp. suitability as a complete substitute for *Artemia* in rearing shrimp from Zoea 2 to PL6.

# Single nucleotide polymorphisms as robust tool for molecular breeding of entomopathogenic nematodes

Godina G<sup>1</sup>, Kirsch C<sup>1</sup>, Singh R<sup>1</sup>, Vandenbossche B<sup>1</sup>, Dörfler V<sup>1</sup>, Barg M<sup>1</sup>, Strauch O<sup>1</sup>, Molina C<sup>1</sup> and Ehlers RU<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*e-nema GmbH, Klausdorfer Str. 28-36, 24223 Schwentinental, Germany*

c.molina@e-nema.de

Despite its efficacy against insect pests, the use of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* in large scale agriculture is limited by environmental stresses. This limitation implies high costs for the end user. Several approaches to enhance the longevity and virulence of this EPN are thus being applied. In the past years, a collection of *H. bacteriophora* WT strains has been characterized for shelf life under oxidative stress and this property has been proposed as predictor to select for longer living nematodes. Additionally, gene expression analyses have compared the transcriptomes of long- and short-living nematodes. Complementary to these approaches, a large set of *H. bacteriophora* WT-strains and inbred lines was analysed by the Genotyping by Sequencing (GBS) technique. As outcome, more than 700 robust and reproducible single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been subsequently identified and a subset of them was validated by PCR-based SNP identification. Using the available SNPs as well as phenotypic data it has been possible to identify genomic regions associated to traits like DJ-longevity and virulence in *H. bacteriophora*. Interestingly, several of the identified genes have not been identified or characterized in *Caenorhabditis elegans*. This fact allows suggesting that the direct extrapolation of information from model organisms encounters limitations when nematodes with different habits are investigated, and therefore alternative approaches are needed. For combination of traits by incorporating genotyping screens for EPN breeding more effective biocontrol agents will be produced.

# Markergestützte Entwicklung von Kartoffelsorten mit dauerhafter Resistenz gegen den Nematoden *Meloidogyne chitwoodi*

König, J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg, Germany

janine.koenig@julius-kuehn.de

In Deutschland wurde der pflanzenparasitäre Nematode *Meloidogyne chitwoodi* erstmals Mitte der 1990er Jahre nachgewiesen. In einzelnen Regionen im westlichen Europa ist der Nematode bereits weit verbreitet und stellt ein Problem im Kartoffelanbau dar. Weiter verstärkt wird die Problematik dadurch, dass im aktuellen Kartoffelsortiment keine Resistenzen gegen *M. chitwoodi* vorhanden sind und ein Fruchtwechsel aufgrund des breiten Wirtskreises dieser Art kaum zur Eindämmung geeignet ist. In den drei Kartoffelwildarten *S. hougasii*, *S. bulbocastanum* und *S. fendleri* konnte jeweils ein Resistenzgen gegen *M. chitwoodi* auf dem Chromosom XI identifiziert werden. Die Resistenz ist allerdings mit negativen Eigenschaften der Wildart gekoppelt, welche zu Ertragseinbußen führen (linkage drag) und somit durch Auskreuzung entfernt werden müssen. Um dies effizient durchführen zu können, sind molekulare, diagnostische Marker ein geeignetes Hilfsmittel. Für deren Entwicklung wurde eine hochauflösende genetische Karte mit Hilfe des DArTseq-Genotyping, bei dem die Eltern und 188 BC6 Linien analysiert wurden, erstellt. In Verbindung mit den phänotypischen Daten konnte so das Resistenzgen auf dem Chromosom XI kartiert werden und in Homologie vergleichen auf Sequenzebene (BLAST) das Zielintervall mit Sequenzen der physikalischen Karte aus *S. tuberosum* ssp. *phureja* genauer definiert werden.

# Screening auf Resistenz gegen *Meloidogyne hapla* Chitwood in *Daucus*-Wildformen und Ansätze zur Übertragung in die Kulturmöhre *D. carota* ssp. *sativus* Hoffm.

Budahn H<sup>1</sup>, Hallmann J<sup>2</sup> und Nothnagel T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut, Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen, Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg, Germany; <sup>2</sup>Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Toppeideweg 88, 48161 Münster/ Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany

holger.budahn@julius-kuehn.de

Der nördliche Wurzelgallennematode *Meloidogyne hapla* Chitwood ist insbesondere in Mittel- und Nordeuropa verantwortlich für Ertragsausfälle und massive Qualitätseinbußen im Freiland-Möhrenanbau. Da eine Bekämpfung mit Nematiziden in Deutschland nicht erlaubt ist und ackerbauliche Maßnahmen nur eine begrenzte Wirksamkeit aufweisen, könnten resistente Möhrensorten hier Abhilfe schaffen. Diese sind aber bislang nicht auf dem Markt vorhanden. In einem Forschungsvorhaben am JKI wird versucht Resistenzgene gegen *M. hapla* in Wildformen der Möhre zu identifizieren und anschließend in das Genom der Kulturmöhre zu übertragen.

Als erster Schritt auf diesem Weg wurden die Versuchsbedingungen des Resistenztests so optimiert, dass reproduzierbare Ergebnisse bei den mitgeführten Standards erzielt werden können. Dargestellt werden die Ergebnisse von 11 in den Jahren 2017 und 2018 durchgeführten Resistenztests (2.414 Einzelpflanzen). Für die Unterarten von *Daucus carota* (*D. c.*) *D. c. azoricus* und *D. c. halophilus* sowie die Art *D. capillifolius* konnte in mehreren Nachkommenschaften eine stark verminderte Anfälligkeit und in *D. c. commutatus* eine leicht verminderte Anfälligkeit im Vergleich zur Kulturmöhre *D. c. sativus* nachgewiesen werden. Bei weiteren geprüften Wildarten gibt es erste Hinweise auf das Vorhandensein einer verminderten Anfälligkeit.

In Rückkreuzungsnachkommenschaften mit der Kulturmöhre unterschiedlicher Stufen konnten für *D. c. azoricus*, *D. c. halophilus*, *D. c. commutatus*, *D. c. maximus*, *D. c. hispidifolius*, *D. c. libanotifolia* und *D. c. gadecae* insgesamt 78 Einzelpflanzen selektiert werden, die weder Eimassen noch Gallen aufwiesen. Aufgefundene Resistenzen werden gegenwärtig in Einzelpflanzennachkommenschaften verifiziert. Im Erfolgsfall sollen resistente Einzelpflanzen dann für weitere Rückkreuzungen verwendet werden und als Ausgangspunkt für die Entwicklung funktioneller Marker dienen. Histologische Untersuchungsmethoden zur Charakterisierung der Interaktionen zwischen Pflanze und Nematode wurden zunächst an der anfälligen Möhren-Kontrollsorte ‚Rotin‘ etabliert. Des Weiteren sollen die Ergebnisse von Vorversuche zur Untersuchung früher Stadien der Pathogenese vorgestellt werden.

# Paladapt - Neue und verbesserte Tools zur Monitoring und Verhinderung der genetischen Selektion in Populationen des Kartoffel- systemnematoden *Globodera pallida*

Kiewnick S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut - Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen; Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland; Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig

sebastian.kiewnick@julius-kuehn.de

PALADAPT ist der erste Schritt einer europäischen Initiative, um das Auftreten neuer, virulenter *G. pallida* Populationen zu verhindern. Ziel dieses Projektes ist es Methoden und Tools zu entwickeln bzw. zu verbessern, die ein frühzeitiges Erkennen von veränderten Virulenzen erlauben. Zurzeit stehen nur zeitaufwändige, teure Topfversuche mit einer geringeren Aussagekraft zur Verfügung, um das Virulenzniveau zu bestimmen. Es fehlen daher schnelle, sensitive und zudem zuverlässige Methoden, um die Möglichkeiten zielgerichteter und effektiver Massnahmen zum Management veränderter Virulenz besser ausnutzen zu können.

Folgende Forschungsfragen stehen im Fokus von „Paladapt“:

- Handelt es sich bei den resistenzbrechenden Populationen um neue Einschleppungen nach Europa? Handelt es sich hierbei um ein oder mehrere Selektionsereignisse?
- Können *in-vitro* Biotests genutzt werden, um den Status der vorhandenen Virulenz schnell und möglichst genau zu bestimmen?
- Verlieren virulente Populationen ihre biologische Fitness? Kann der Status der Fitness an bestimmten biologischen Eigenschaften festgemacht werden und so der Status der Virulenz einer Population eingeschätzt werden?
- Gibt es Marker, die eine Entwicklung molekularer Assays zur Bestimmung der Virulenz ermöglichen?

# **Virulenz von Populationen des Rübenzystennematoden *Heterodera schachtii* an anfälligen, resistenten und toleranten Zuckerrübengenotypen**

Roeb J<sup>1</sup> und Hallmann J<sup>2</sup>

*Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, <sup>1</sup>Toppeideweg 88, 48161 Münster/ <sup>2</sup>Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany*

johannes.roeb@julius-kuehn.de

Bei Feldversuchen in verschiedenen Anbauregionen wurden in den vergangenen Jahren wiederholt Unterschiede in der Vermehrungsrate des Rübenzystennematoden (*Heterodera schachtii*) an nematodentoleranten Zuckerrüben beobachtet. Um zu ermitteln, ob Unterschiede in der Virulenz (Vermehrungsfähigkeit) von insgesamt 6 Nematodenpopulationen aus Franken, Niedersachsen, dem Rheinland und Rheinland-Pfalz bestehen, wurden mehrere Gewächshausversuche durchgeführt. Die Standardpopulation "Münster" vermehrte sich sowohl an anfälligen als auch an toleranten Zuckerrüben am stärksten. Auch bei der langjährig an anfälligen Genotypen vermehrten Versuchspopulation "129" wurde eine höhere Vermehrungsrate an anfälligen Zuckerrüben ermittelt. Unterschiede in der Virulenz von verschiedenen Feldpopulationen deuten sich an, weisen aber nicht auf regionale Besonderheiten hin. Schwankungen zwischen den Versuchen und Unterschiede in der Versuchspflanzenentwicklung beeinflussten die Ergebnisse. Durch wiederholte Vermehrung an Hs<sup>1</sup>pro-<sup>1</sup>-resistenten Zuckerrüben ließen sich bei der Versuchspopulation "129" und der niedersächsischen Feldpopulation "Großgoltern" resistenzbrechende Merkmale selektieren. Hinweise auf eine durch Selektion zunehmende Virulenz von *H. schachtii* gegenüber toleranten Zuckerrübengenotypen bestehen bisher nicht.

# Greenhouse experiments on resistance and tolerance in different sugar beet genotypes against *Heterodera schachtii*

Koniganahalli Gopal H<sup>1</sup>, Roeb J<sup>2</sup>, Hallmann J<sup>3</sup> and Vidal S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Göttingen, Department of Crop Sciences, Griesebachstraße 6, 37077 Göttingen, Germany, <sup>2</sup>Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, <sup>2</sup>Toppeideweg 88, 48161 Münster/<sup>3</sup>Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany

johannes.roeb@julius-kuehn.de

Integrated management of the beet cyst nematode *Heterodera schachtii* in sugar beet at the current state is mainly focusing on variety choice. Although nematode tolerant varieties are increasingly cultivated, so far their resistance and tolerance levels have not been investigated together in a greenhouse experiment. Therefore a set of 12 sugar beet genotypes (4 susceptible, 3 resistant, 5 tolerant) was cultivated in pots filled with 400 ml loess substrate and exposed to 5 densities of nematode inoculum (0, 2 000, 8 000, 20 000, 40 000 juveniles/pot). Leaf growth was measured by repeated photographing followed by digital image analysis. Sugar beets were harvested after one nematode generation and developed cysts were extracted from the soil to determine the reproduction rate. Results indicate that with increasing inoculum level shoot and root growth were more severely reduced in susceptible and resistant sugar beet genotypes compared to tolerant plants. Reproduction rates were higher in susceptible than in tolerant sugar beet genotypes and decreased with increasing inoculation level. Genotype-related differences in plant growth reduction were much lower in a second greenhouse experiment, while reproduction rates were about twice as high.

# Poster

## Untersuchungen zur Verbreitung und zum Artenspektrum von *Pratylenchus* sp. im Getreidebau in Deutschland

Hachtel V<sup>1</sup> und Hallman J<sup>2</sup>

Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, <sup>1</sup>Toppeideweg 88, 48161 Münster/ <sup>2</sup>Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany

viola.hachtel@julius-kuehn.de

Nematoden der Gattung *Pratylenchus* treten weltweit an einem sehr breiten Wirtspflanzenspektrum auf. In Deutschland verursacht *Pratylenchus* wirtschaftliche Schäden unter anderem an Möhren, Zwiebeln, Erdbeeren sowie in Baumschulen. Daneben treten in der Praxis immer wieder auch Schäden an Wintergetreide auf, ohne dass genaue Kenntnisse zum Artenspektrum und der Besatzdichte vorliegen. Im Rahmen des vom BMBF geförderten Projektes NEMARES ("Die Bedeutung von Wurzelläsionsnematoden im Pflanzenbau in Deutschland und Entwicklung von Strategien zur Züchtung resistenter Sorten") wurde ein Monitoring von *Pratylenchus* in Getreidefeldern in Deutschland durchgeführt. Insgesamt wurden 194 Bodenproben aus verschiedenen geographischen Regionen Deutschlands untersucht. Pro Probe wurden 20 Einstiche aus den oberen 0-30 cm entnommen. Die Nematoden wurden mit dem Zentrifugations-/Flotationsverfahren extrahiert. *Pratylenchus* wurde in 99% der Proben gefunden, gefolgt von *Tylenchorhynchus* (96%) und *Paratylenchus* (63%). Die Besatzdichte von *Pratylenchus* schwankte zwischen 4 und 936 Nematoden/100 ml Boden und lag durchschnittlich bei  $164 \pm 180$  Tieren/100 ml Boden. Als häufigste Art wurde *Pratylenchus neglectus* in 78% der Proben gefunden. Desweiteren traten noch *P. crenatus* (12%), *P. thornei* (8%), *P. penetrans* (1%) und *P. pratensis* (1%) auf. Diese morphologisch bestimmten Arten werden nun mit der quantitativen Echtzeit-PCR überprüft. Insgesamt zeigte das Monitoring, dass *Pratylenchus* auf nahezu jeder untersuchten Fläche vorkommt. Auf Flächen mit hohen Besatzdichten ist mit Schäden an Getreide zu rechnen. Aufgrund enger Fruchtfolgen, milden Wintern, breitem Wirtspflanzenspektrum und dem Verbot von Nematiziden ist von einer weiteren Zunahme an *Pratylenchus* auszugehen. Die Züchtung resistenter Sorten könnte hier eine sinnvolle Ergänzung bestehender Verfahren zur Bekämpfung von *Pratylenchus* sein.