

**Matthias Daub (Hrsg.)**

**51. Jahrestagung des DPG-Arbeitskreises  
Nematologie 2023**



**Zusammenfassungen der Arbeitskreisbeiträge**

**PI (Persistent Identifier): [urn:nbn:de:0294-jb-ak-2023-nem-4](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:0294-jb-ak-2023-nem-4)**



**Deutsche  
Phytomedizinische  
Gesellschaft e.V.**

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

**8./9. März 2023**

### **Tagungsstätte**

**Julius Kühn-Institut, großer Sitzungssaal  
Messeweg 11/12 38104 Braunschweig**

### **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 51. Tagung des AK Nematologie am Julius Kühn-Institut in Braunschweig**

Am 8. und 9. Mai 2023 traf sich der Arbeitskreis Nematologie erstmals nach den Pandemie Jahren 2021 und 2022 wieder in Präsenz, diesmal am Standort Braunschweig des Julius Kühn-Instituts. Dementsprechend lag das Engagement der Teilnehmenden auf einem erfreulich hohen Niveau. Dies äußerte sich in einer ungewöhnlich hohen Vortragsquote von 50%, d.h. ungefähr die Hälfte der 45 Teilnehmenden brachten sich aktiv mit 21 Vorträgen in die Veranstaltung ein und die Diskussionen waren durchweg spannend, kontrovers und inspirierend. Alt gediente Wissenschaftler aber auch viele Nachwuchswissenschaftler sowie Vertreter aus der Beratung, Pflanzengesundheit und Industrie prägten den internationalen Kreis von Teilnehmern aus Deutschland, den Niederlanden, Österreich, der Schweiz und Frankreich.

Ein ganzer Block an Vorträgen widmete sich den Quarantänenematoden und hier speziell *Meloidogyne enterolobii*, einer sehr aggressiven Art, die kürzlich in den Anhang II Teil A der Durchführungsverordnung (EU) 2019/2072 als Unionsquarantäneschädling gelistet wurde. Laufende Forschungsarbeiten zeigen, dass sich *M. enterolobii* rasch an neue Wirtspflanzen anpassen kann. Eine genaue molekulare Charakterisierung von *M. enterolobii* wird durch die Entwicklung qualitativ hochwertiger „High-fidelity“ Genomdaten im AEGONE Projekt ermöglicht. Nicht nur das Genom selbst, sondern insbesondere auch die Struktur der Chromosomen scheint hier neue Einblicke seiner Integrität im Bauplan der pflanzenparasitären Nematoden zu liefern.

Im zweiten Vortragsblock wurden angewandte Fragestellungen des integrierten Nematodenmanagements behandelt. Methodisch schwierig zu erforschen ist die Gruppe der freilebenden oder wandernden Nematoden, zu denen, aus diesem Grunde, kaum beachtete Nematoden wie Trichodoriden zählen, die wegen der Übertragung des TRV Virus in Kartoffeln allerdings zunehmende Bedeutung erlangen. Einblicke in die langjährigen Effekte von Ökofruchtfolgen zeigen, dass *Pratylenchus* spp. offensichtlich hohe Populationen aufbaut ohne zu sichtbaren Schäden im Getreide zu führen. Holistische integrative Ansätze im Nematodenmanagement kombinieren Informationen aus erweiterten populationsdynamischen Modellen und georeferenzierten, digitalen Informationen mit Anbaustrategien und einfachen webbasierten Informationssystemen, wie der Best4Soil Plattform ([www.Best4Soil.eu](http://www.Best4Soil.eu)). Die frühzeitige Erkennung und Ortung von Flächen, auf denen neue virulente Populationen des Kartoffelzystennematoden entstehen, soll mit Hilfe hyperspektraler Signaturen über digitale Bildgebungsverfahren in Zukunft möglich werden. Für die biologische Bekämpfung von Wurzelgallennematoden scheint mit *Allodiplogaster sudhausi* zum ersten Mal ein räuberischer Vertreter der Nematoden realistische Erfolgspotentiale zur Entwicklung eines Produktes zu besitzen.

Der dritte Vortragsblock vertiefte das Themenfeld zur Nutzung von Resistenzen, die weiterhin eine wesentliche Rolle bei der Abwehr von pflanzenparasitären Nematoden spielen. Ein ganz neues Resistenzgen (HS4) gegen *Heterodera schachtii* wurde kürzlich mit Hilfe der CRISPR-Cas Technologie in Zuckerrüben identifiziert und konnte vollständig auf Raps übertragen werden. Raps wird wegen seiner hohen Anfälligkeit bisher kaum in Zuckerrübenfruchtfolgen genutzt. Neue Pathosysteme von

Quarantänenematoden wie *Meloidogyne chitwodii* und Kartoffeln oder Zuckerrüben nehmen an Bedeutung zu. Die Suche nach Resistenzen ist häufig noch eine grundlegende Forschungsaufgabe und noch weit entfernt von einer züchterischen Entwicklung.

Nachhaltige Alternativen liegen in dem Nutzungspotential von Mikroorganismen, die als biologische Antagonisten von pflanzenparasitären Nematoden auftreten. Der vierte und letzte Vortragsblock widmete sich diesem spannenden und ganz aktuellen Forschungsfeld. Der Pilz *Pochonia chlamydosporia* zeigt Pathogenität gegen *Heterodera schachtii* und entfaltet seine Wirkung so möglicherweise auch endophytisch in resistenten Zwischenfrüchten. In größer angelegten Screening-Studien konnten Bakterien- und Pilzstämme aus Schweizer Böden isoliert und deren positive Wirkung bei der Unterdrückung von *Meloidogyne incognita* nachgewiesen werden. Hierunter zeigten *Pseudomonas*-Stämme vielversprechende Ergebnisse. Studien mit Feldeböden in den Niederlanden weisen aber auch darauf hin, dass natürliche Bodensuppressivität nicht nur einigen wenigen spezifischen Mikroorganismen, sondern vermutlich dem Zusammenspiel von Mikroorganismen als Teil des Mikrobioms zu zuschreiben ist.



Dr. Ulrike Hakl (Landwirtschaftskammer NRW, Pflanzenschutzdienst) wurde nach 12-jähriger Amtszeit als stellvertretende Leitung des AK Nematologie gebührend verabschiedet. Ein großer Dank aller Teilnehmenden gilt ihrer treuen und engagierten Mitwirkung im Arbeitskreis. Satzungsgemäß wurde am Ende der Tagung die Leitung und Stellvertretung des Arbeitskreises durch die anwesenden DPG Mitglieder neu gewählt. Die Leitung des Arbeitskreises wird weiterhin von Dr. Matthias Daub (Julius Kühn-Institut) übernommen. Dr. Jan-Henrik Schmidt (Julius Kühn-Institut) wurde mit der Stellvertretung des Arbeitskreises betraut. Ihm und allen Kollegen im Fachbereich Nematologie des JKI in Braunschweig sei an dieser Stelle unser Dank für die großartige Organisation und Gewächshausführung vor Ort ausgesprochen.

Alles in Allem hat es mal wieder richtig Spaß gemacht!

Die 52. Tagung des Arbeitskreises Nematologie wird am 13. bis 14. März 2024 am Zentralstandort Jena des Landesamtes für Landwirtschaft und Ländlichen Raum des Freistaates Thüringen stattfinden.

## ***Meloidogyne enterolobii*, a new regulated quarantine nematode species in the European Union**

Kiewnick S<sup>1</sup>, König S<sup>2</sup>

*Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for cultivated plants, 1) Institute for Plant Protection in Field Crops and Grassland, 2) Institute for National and International Plant Health, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, Germany*

*Email: sebastian.kiewnick@julius-kuehn.de*

The root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* Yang & Eisenback (syn. *M. mayaguensis*) has received a lot of attention since the first report on cucumber and tomatoes in two Swiss greenhouses in the year 2008. Due to the wide host range and its ability to overcome resistance against other tropical *Meloidogyne* species, this species was identified as a mayor threat to crops worldwide. In 2009, the European Plant Protection Organization (EPPO) performed a risk analysis, which came to the conclusion that this species was recommended for regulation and placed on the EPPO A2 list in 2010. Following numerous interceptions over the past years, it was concluded that *M. enterolobii* fulfilled the conditions provided in Article 3 and Section 1 of Annex I to Regulation (EU) 2016/2031 in respect of the Union territory and therefore should be listed in Part A of Annex II to Implementing Regulation (EU) 2019/2072 as Union quarantine pest. The measures for all plants for planting in relation to *M. enterolobii* apply therefore from 11 January 2023 onward. As for other quarantine nematode species, surveys must be conducted at least once within a 7-year cycle by national plant health services, which might lead to more reports in the future. In how far *M. enterolobii* is already present in the EU is still difficult to assess, as there was only one new finding reported from Portugal in recent years. Although EPPO standards on detection and identification are in place, *M. enterolobii* might have been often overlooked and identified as highly virulent tropical *Meloidogyne* species, such as *M. incognita*. In preparation for potential new introductions and or spread throughout the EU, it is critical to determine the host range, the potential to adapt to non- and poor-hosts as well as the genetic diversity of *M. enterolobii*. This will allow for the development of integrated management strategies to mitigate the potential losses and ensure sustainable production of high value crops in particular for southern Europe.

# Potential of *Meloidogyne enterolobii* to adapt to new hosts

Gopal Koniganahalli H<sup>2</sup>, Etienne G<sup>2</sup>, Danchin J<sup>2</sup> & Kiewnick S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut, Institute for Plant Protection in Field Crops and Grassland, Messeweg 11/12 38104 Braunschweig

<sup>2</sup>INRAE, French National Institute for Agriculture, Food and Environment  
Email: hemanth.gopal@julius-kuehn.de

*Meloidogyne enterolobii* (M.e), is a worldwide threat due to its global distribution, wide host range, polyphagous nature and ability to overcome resistance genes in some major crops around the world (Philbrick et al. 2020). Formerly, the major root-knot nematodes species were effectively controlled using resistant cultivars and with the limited options of chemical methods. Since *M. enterolobii* is able to overcome these resistances, it is crucial to develop effective alternative control measures like crop rotation or use of non-hosts to mitigate *M. enterolobii* populations once introduced. Therefore, a study was conducted within the framework of the ANR (FR)/DFG (DE) project AEGONE (431627824) to understand the adaptive potential of 8 *M. enterolobii* populations. Along with the *M. enterolobii* populations, 2 virulent isolates of *M. incognita* were also involved in the study as these 2 *M. incognita* isolates virulent against the Mi resistance gene in Tomato.

An initial study with 20 crop species testing 8 *M. enterolobii* populations and 2 virulent isolates of *M. incognita* (reared as single egg mass lines) determined the host range of these populations. Results showed that both, *M. enterolobii* as well as *M. incognita* were able to develop and reproduce at various levels on these plants species. Some of these plant species were previously categorized as minor-hosts or non-hosts such as thale cress (*A. thaliana*), phacelia, cotton, fodder radish and yellow mustard.

To further investigate the adaptive potential of *M. enterolobii* populations and virulent isolates of *M. incognita* three host plants were selected. An in-vitro system was established in which sterile culture of *A. thaliana* was inoculated with sterilized juveniles of *M. enterolobii* and *M. incognita*. Nematode development could be easily monitored and recorded to estimate adaptation to this host. After plants matured, juveniles were collected and transferred to new plants under sterile conditions. Similarly, Phacelia and cotton were tested in greenhouse experiments. Reproduction factor (RF) was determined after one generation by enumerating juveniles. After enumeration, juveniles were re-inoculated on new plantlets upto 3-4 generations. For Phacelia, preliminary results show an increase in reproduction factors from generation 1 to 2, for all 8 *M. enterolobii* populations tested except 1 population (C6703). Three populations (E1470, E1834 & N02-283-14B) had RF values >3 in generation 2 whereas in generation 1 they were <1. RF of population N01-514-3B had a slight increase in RF between 1st and 2nd generation. These results indicate that *M. enterolobii* is capable of adapting to new hosts in a very short time. Therefore, further indepth studies are underway to acquire more information on adaptive potential to new hosts, their related costs of fitness and correlation between genomic variations with differences in host compatibilities.

## LITERATUR

Philbrick A. N, Adhikari T. B, Louws F. J and Gorny A. M. (2020). *Meloidogyne enterolobii*, a major threat to tomato production: Current status and future prospect for its management, Front. Plant Sci. 11:606395



# High-quality genome assembly of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii*

Pouillet M<sup>1</sup>, Gopal Koniganahalli H<sup>2</sup>, Rancurel C<sup>1</sup>, Sallaberry M<sup>3</sup>, Lopez-Roques C<sup>3</sup>, Lledo J<sup>3</sup>, Kiewnick S<sup>2</sup>, Danchin EGJ<sup>1</sup>

1. Institut Sophia Agrobiotech, INRAE, Université Côte d'Azur, CNRS, 400 routes des Chappes, 06903 Sophia-Antipolis, France

2. Julius Kuhn-Institut, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany

3. Plateforme Génomique GeT\_PlaGe, INRAE, 24 Chemin de Borde Rouge – Auzeville, 31326 Castanet – Tolosan, France

Email : [marine.pouillet@inrae.fr](mailto:marine.pouillet@inrae.fr)

Root-knot nematodes of the genus *Meloidogyne* are obligatory plant endoparasites that cause huge economic losses in the agricultural industry and impact the global food supply. These plant pests are one of the most widespread and devastating plant-parasitic nematodes worldwide and yet, control methods deployed against them are insufficient. The most common approach consists in deploying plant-resistant genes against *Meloidogyne* species. However, most resistance genes of cultivated plants in Europe are inefficient against *Meloidogyne enterolobii*, which has recently been declared a quarantine species. To gain insight on the molecular characteristics underlying its parasitic success, it is essential to explore the genome and its plasticity in *M. enterolobii*. In the framework of the AEGONE project co-funded by ANR and DFG and combining efforts of INRAE and the JKI, we have produced high-fidelity genome data for different populations of *M. enterolobii*.

Here, we report a high-quality genome assembly of *Meloidogyne enterolobii* using the high-fidelity long-read sequencing approach, proposed by Pacific Biosciences, combined with a gap-aware sequence transformer, DeepConsensus (Baid et al., 2022). This transformer has increased the yield of PacBio HiFi reads at minimum Q20 (99% accuracy) by 4% at Q30 (99.9% accuracy) by 10% and at Q40 (99.99% accuracy) by 70%. The resulting genome assembly spans 273 Mbp with 556 contigs, a GC% of 0.31 ± 0.036 and an N50 value of 2.11Mb, the highest reported so far for a root-knot nematode at the contig level. This high N50 value combined with high-fidelity long reads suggest a contiguous and high-quality genome assembly. The assembled genome size was consistent with previous estimates via flow cytometry (Koutsovoulos et al., 2020) and consistent with our estimations via k-mer. Using analysis of k-mer distribution we also estimate a triploid (AAB) genome and an average heterozygosity of 6.57%. Annotation of the genome helped by transcriptome data yielded 45,897 coding genes and 3,944 non-coding genes. These new high-quality genome resources pave the way towards detection and identification of genomic variations of this emerging parasitic species in multiple environments and hosts.

## LITERATUR

Baid, G., Cook, D.E., Shafin, K. et al. (2022) DeepConsensus improves the accuracy of sequences with a gap-aware sequence transformer. *Nat Biotechnol* 41, 232–238. Doi:10.1038/s41587-022-01435-7

Koutsovoulos, G.D., Pouillet, M., Elashry, A.K. et al. (2020). Genome assembly and annotation of *Meloidogyne enterolobii*, an emerging parthenogenetic root-knot nematode. *Scientific data*, 7(1), 324. Doi:10.1038/s41597-020-00666-0

# The peculiar asymmetric chromosome ends of root-knot nematodes

Danchin EGJ<sup>1</sup>, Zotta Mota AP<sup>1</sup>, Koutsovoulos GD<sup>1</sup>, Perfus-Barbeoch L<sup>1</sup>, Despot-Slade E<sup>2</sup>, Labadie K<sup>3</sup>, Aury JM<sup>3</sup>, Robbe K<sup>1</sup>, Rancurel C<sup>1</sup>, Perrot L<sup>1</sup>, Da Rocha M<sup>1</sup>, Pouillet M<sup>1</sup>, Noel B<sup>3</sup>, Mestrovic-Radan N<sup>2</sup>, Wincker P<sup>3</sup>

<sup>1</sup>. Institut Sophia Agrobiotech, INRAE, Université Côte d'Azur, CNRS, 400 routes des Chappes, 06903 Sophia-Antipolis, France

<sup>2</sup>. Division of Molecular Biology, Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000, Zagreb, Croatia

<sup>3</sup>. Genoscope, Institut François Jacob, CEA, CNRS, Univ Evry, Université Paris-Saclay, Evry, France  
Email: etienne.danchin@inrae.fr

Telomeres are nucleoprotein complexes that cap linear chromosomes and protect them from fusion and degradation. In *C. elegans* telomeric DNA is made of (TTAGGC)<sub>n</sub> repeats at chromosome ends which are bound by single-strand as well as double-strand DNA binding proteins, forming a protective terminal complex. Telomeric repeats are added at chromosome ends by a telomerase reverse transcriptase, using an RNA template. This system is assumed to be widely conserved in eukaryotes, including in the phylum Nematoda although no systematic analysis of nematode chromosome ends has been undertaken. Using long-read sequencing technology, we have assembled the genomes of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* at unparalleled contiguity levels, with N50 values of ~2Mb. The biggest contigs probably represent nearly complete chromosomes, allowing investigations of how they start and end. The canonical (TTAGGC)<sub>n</sub> repeat was not found in any of the *Meloidogyne* genomes analyzed and no evidence for a telomerase or orthologs of *C. elegans* telomere-binding proteins could be found. Instead, bioinformatics analyses revealed complex motifs at one end of several contigs. Using FISH experiments, we revealed that these complex motifs were at one single end of chromosomes in *M. incognita* while no evident motif could be found at the other end. We identified the same motif in the genome of *M. luci*, and similar yet different ones in *M. javanica*, *M. arenaria* and *M. enterolobii*, all at one end of several of the biggest contigs. These complex repeats are not conserved beyond the mitotic parthenogenetic root-knot nematodes and return no significant similarity to any other species DNA sequence in the NCBI's nt database. This ensemble of results suggests mitotic parthenogenetic root-knot nematodes possess very specific complex motifs at one end of their chromosomes. Proteins and RNA molecules interacting with these repeats remain to be discovered. These findings open new perspectives towards understanding how genome integrity is maintained in these polyploid mitotic pests of worldwide agricultural importance.

# Survey on the root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* in perennial plants in the Netherlands

Van Bruggen AS, Van Heese EYJ, Karssen G.

National Plant Protection Organization, Netherlands Institute for Vectors, Invasive plants and Plant health (NIVIP), Geertjesweg 15, 6706 EA Wageningen, The Netherlands

Email: [a.s.vanbruggen@nvwa.nl](mailto:a.s.vanbruggen@nvwa.nl)

*Meloidogyne graminicola* is a tropical root-knot nematode, mainly causing damage in rice crops. The nematode has a wide host range with plants from different families, including vegetable, cereal and ornamental crops. In 2016 *M. graminicola* infestations were found in rice fields and wild plants near infested fields in Italy. This was the first finding in Europe. A pest risk analysis was conducted by Italy and *M. graminicola* was added to the EPPO alert list in 2017. *M. graminicola* is considered an emerging pest for the EU and in 2022 temporary measures were described in the commission implementing regulation (EU) 2022/1372. Part of the regulation consists of performing surveys in the EU member states.

Since no rice is produced in the Netherlands other potential host plants were included in the survey. In 2021 open field ornamental grasses were sampled from all growers. Thirty root and soil samples were collected and analyzed for root parasitizing nematodes. In 2022 other open field grown perennial plants were sampled and again thirty root and soil samples were collected. Root samples were extracted with the maceration and centrifugal flotation method and soil samples were extracted with the Oostenbrink elutriation method, including incubation of the organic debris.

In 2021, no *Meloidogyne* was extracted from the root samples of the perennial grasses, 14 samples were found infested with *Pratylenchus* spp., these belonged to the species *P. penetrans* and *P. fallax*. Low numbers of *Meloidogyne* were extracted from 5 soil samples. No *M. graminicola* was found, in two cases *M. chitwoodi* was detected, two samples included *M. naasi* and in one sample an unknown *Meloidogyne* species was found. For the soil samples comparable results for *Pratylenchus* were found as for the root samples, additionally one soil sample was found infested with *P. hippeastri*.

In 2022, *Meloidogyne* was found in 5 root samples from perennial plants, in all cases *Meloidogyne hapla* was present and in one of these samples also *M. fallax* was identified. *M. graminicola* was not detected. In 14 root samples *Pratylenchus* was found, 11 samples contained *P. penetrans* and in one sample *P. crenatus* was identified. The results from the soil samples for both *Meloidogyne*, and *Pratylenchus* were comparable with the results from the root samples.

Concluding: no *M. graminicola* was found in this survey. Three cases with quarantine *Meloidogyne* species were detected and official control measures were implemented. New findings for the Netherlands were an unknown *Meloidogyne* species and *Pratylenchus hippeastri* in the perennial grass *Imperata* sp..

# Ist *Pratylenchus penetrans* ein Problem in Klee-gras-intensiven Öko-Fruchtfolgen?

Schmidt JH<sup>1</sup>, Möller M<sup>2</sup>, Athmann M<sup>2</sup> & Bruns C<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Universität Kassel, Ökol. Land- und Pflanzenbau, Nordbahnhofstr. 1a, 37213 Witzenhausen  
Email: jan-henrik.schmidt@julius-kuehn.de

Wandernde Wurzelnematoden der Gattung *Pratylenchus*, sind durch ihr breites Wirtsspektrum omnipräsent in von ökologischen Fruchtfolgen geprägten Böden (Hallmann et al., 2007). Andererseits dienen andere funktionelle Nematodengruppen (z.B. Bakterivore) als Indikator für Bodengüte- und Fruchtbarkeit (Schmidt et al., 2020). Eine *status quo* Analyse der Nematoden des Dauerfeldversuches auf der hessischen Staatsdomäne Frankenhausen soll einen ersten Überblick über die Bodenfruchtbarkeit und über ein mögliches Schadpotenzial pflanzen-parasitärer Nematoden innerhalb zweier Betriebstypen mit je zwei Düngevarianten aufzeigen.

Böden zweier Betriebstypen mit unterschiedlichen Klee-gras Intensitäten in der Fruchtfolge mit jeweils 2 Düngevarianten wurden auf den Besatz mit freilebenden (inkl. herbivorer) Nematoden im Jahr 2022 untersucht. Nematoden wurden mittels Oostenbrink-Elutriator extrahiert und quantifiziert. Anschließend wurden 100-150 Einzeltiere fixiert und bis zur Gattung identifiziert.

Der Gesamtbesatz an Nematoden zwischen lag 2005 und 3180 Nematoden/ 100 ml Boden. Insbesondere im Betriebstyp „Viehhaltung“ mit 50% Leguminosenanteil in der Fruchtfolge war die Besatzdichte mit *P. penetrans* hoch (1150-1250 Tiere/ 100 ml Boden) im Vergleich zur eher Getreide-lastigen Marktfruchtfolge mit 33% Leguminosenanteil (570-890 Tiere/ 100 ml Boden). Dies entspricht dem 10-20-fachen mittleren Wert der sonst in ökologischen Getreide- und Gemüsefruchtfolgen vorkommenden Dichte (Hallmann et al., 2007). Dennoch konnten keine ertragswirksamen Schäden an den derzeitigen Fruchtfolgegliedern (Dinkel, Klee-gras) festgestellt werden. Der metabolische Fußabdruck für bakterivore Nematoden korrelierte allerdings positiv ( $r^2 = 0,50^*$ ) mit dem Dinkelertrag.

Obwohl die hohen Besatzdichten mit *P. penetrans* bisher keine Ertragseffekte zeigten, bleibt die Wirkung auf die folgenden anfälligen Kulturen (Möhren, Kartoffeln) abzuwarten. Ein weiteres Monitoring der *Pratylenchus* Population ist daher zwingend erforderlich.

## LITERATUR

Hallmann J, Frankenberg A, Paffrath A & Schmidt H (2007). Occurrence and importance of plant-parasitic nematodes in organic farming in Germany. *Nematology* 9, 869–879.

Schmidt JH, Hallmann J & Finckh MR (2020). Bacterivorous nematodes correlate with soil fertility and improved crop production in an organic minimum tillage system. *Sustainability* 12, 6730.

# Management of trichodorids

Brinkman EP, Molendijk LPG

*Wageningen University & Research | Field crops, Edelhertweg 1, 8219 PH Lelystad, Die Niederlande*

*Email: [pella.brinkman@wur.nl](mailto:pella.brinkman@wur.nl)*

Trichodorids are more and more becoming a problem in the cultivation of ornamental bulb crops. Depending on the crop, direct damage by the nematodes, damage by transmission of Tobacco Rattle Virus (TRV) or both may occur. Problems mainly arise in years when the spring is cool and wet. Both trichodorids and TRV have a broad host range, which makes it difficult to design a crop rotation that decreases densities and limits damage.

Management of plant parasitic nematodes needs an integrated approach, that relies on monitoring, crop rotation, cultivar choice and establishment, soil management and, as a last resort, targeted control. The focus cannot be on a single crop, but needs to take into account the sequence of crops in a rotation and their management. The use of cover crops is being promoted as a means to retain nutrients and increase soil organic matter. This draws attention to the knowledge gap of the host status of many cover crops to trichodorids. Addition of organic material to the soil has been found to reduce damage by trichodorids. Further, soil water management has been mentioned as a way to decrease damage by trichodorids. In a project funded by the Dutch government and several organizations, an integrated approach is taken to address management of trichodorids. In our contribution we want to discuss German experiences with the control of these intriguing nematodes and their virus.

# Integrated Nematode Management (INM) as part of Integrated Crop Management (ICM)

Molendijk LPG

*Wageningen University and Research/Open Fields, Edelhertweg 1, 8219 PH, Lelystad, Nederland*

*Email: leendert.molendijk@wur.nl*

Although great progress has been made in the field of sustainable crop protection in recent decades, this is not enough to continue controlling nematodes, diseases, pests and weeds in the future under the new EU preconditions. A next step requires a redesign of crop protection. Whereas Integrated Pest Management (IPM) is mainly focused on controlling a disease, pest or weed within one crop within one year, Integrated Crop Management (ICM) focuses on a healthy crop and is focused at crop rotation level, over several years, on multiple diseases, pests and weeds in a comprehensive approach.

In the ICM approach Wageningen University and Research develops we always start from the same pillars and basic principles to protect a plant from both nematodes, diseases, pests and weeds. ICM provides a complete overview of all options to keep a crop healthy.

For a future sustainable approach to diseases, pests and weeds according to the principles of integrated crop protection, a framework has been developed based on five pillars of ICM .

1. Crop diversity in time and space,
2. Robust varieties,
3. Sustainable soil management,
4. Targeted control
5. Monitoring and evaluation



For each pillar, a toolbox/set of measures is available to flesh out the ICM strategy. These are listed in the hexagons. The measures differ in character and are indicated by a colour. Green for prevention, orange for reducing the number of attackers, grey for increasing the resilience of the crop and finally red outlined for supporting systems. Integrated Nematode Management, Integrated Insect Management, Integrated Pest Management and Integrated Weed Management often use the same hexagons. The schedules show the interconnections quite easily.



# The population dynamics of plant-parasitic nematodes and its consequence for their management

Been T H<sup>1</sup>, Schomaker Corrie H <sup>2</sup> and Teklu MG <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Wageningen University and Research, Plant Research, Agrosystems Research, 6708 PB, Wageningen, The Netherlands

<sup>2</sup>*Schomaker Quantitative Solutions, Lipperstpad 5, 6668 AW Randwijk, The Netherlands*

*Email: thomas.been@wur.nl*

Fortunately, plant-parasitic nematodes also adhere to natural laws. Studying these laws and developing models, that explain the population dynamics of these nematodes, has helped us to understand what is happening in the field. The use of these models facilitated immensely the management of these nematodes by estimation of host status, resistance, and nematode virulence. In principle plant-parasitic nematodes only multiply in the presence of a host. Depending on the size of the host – in fact its root system – a certain number of offspring can be produced. Nematodes cannot go on multiplying indefinitely but reach a plateau of population densities, usually termed as the maximum population density. Long before this density is reached, nematodes compete for the available space in the roots, thereby decreasing their multiplication rate. When no competition occurs, at low nematode densities ( $P_i \rightarrow 0$ ), the multiplication rate is highest. Hence, multiplication rates are density dependent, but also vary from experiment to experiment and field to field due to external conditions like weather, fertilization, and other environmental factors. Population dynamic models provide the tool to circumvent many of the problems we encounter when we try to control these nematodes. This presentation will elaborated on some important application of these models.



## ***Allodiplogaster sudhausi*: A potential candidate for control of root knot nematodes?**

Addis T<sup>1</sup>, Spiegel Y<sup>2</sup>, Ehlers R-U<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*e-nema Gesellschaft für Biotechnologie und biologischen Pflanzenschutz mbH, Klausdorfer Str. 28 - 36, 24223 Schwentinental*

<sup>2</sup>*Volcani Center, Bet Dagan, Israel*

*Email: ehlers@e-nema.de*

In wieweit räuberische Nematoden zur biologischen Bekämpfung von pflanzenparasitären Nematoden beitragen können, wurde bisher kaum untersucht. Ein Nematode aus der Gruppe der *Diplogastrida* wurde in Israel isoliert. Erste Versuche konnten die räuberische Aktivität nachweisen. Fürst von Lieven beschrieb den Nematoden als *Körneria sudhausi*, er wurde später der Gattung *Allodiplogaster* zugeordnet. *A. sudhausi* bildet Hermaphroditen. Der Anteil Männchen liegt bei < 10%. Die Eier sind von einer zweiten Haut umgeben. Aus dem Ei schlüpft das 3. Larvenstadium in Form der Dauerlarve. Die e-nema hat sich der Produktion und Entwicklung eines Produkts gewidmet, während die Arbeiten in Israel sich in der letzten Zeit auf die Prüfung des Potentials im Feldversuch konzentrierten. Der Nematode lässt sich in Flüssigkultur produzieren. Die Population besteht bei Prozessende aus allen verschiedenen Stadien. Eine Trocknung oder ein Einfrieren überleben die Nematoden nicht. Die Nematodendichte in Flüssigkultur konnte erheblich gesteigert werden, allerdings macht die Lagerung der Nematoden noch Probleme. Nach drei Wochen Lagerung in formulierter Form sind oft schon 50% der Population gestorben. Erste Versuche gegen *Meloidogyne javanica* in Töpfen verliefen vielversprechend. Eine Applikation ist über Bewässerungsleitungen möglich, wobei die Ausbringung am besten schon 10 Tage vor Pflanzung und dann im Abstand von 7-10 Tagen erfolgen sollte. Dabei werden 20-60,000 Nematoden pro Pflanze appliziert. Sowohl die Ausbildung von Wurzelgallen und die Anzahl Eier wurden signifikant reduziert. Der Einfluss steigender Konzentrationen von Nematiziden auf das Überleben des Räubers und des Schädling wurden verglichen.

# Nutzung von hyperspektralen Signaturen zur Erkennung von Befall durch Kartoffelzysten-nematoden an Kartoffelpflanzen

Daub M<sup>1</sup>, Lakämper N<sup>2</sup>, Gerighausen H<sup>2</sup>, Schmidt K<sup>3</sup>, Kölpin F., Kiewnick S<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Braunschweig

<sup>2</sup> Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenbau und Bodenkunde, Braunschweig

<sup>3</sup> Nemaplot, Bonn

Email: [matthias.daub@julius-kuehn.de](mailto:matthias.daub@julius-kuehn.de)

Corresponding Autor Email: [sebastian.kiewnick@julius-kuehn.de](mailto:sebastian.kiewnick@julius-kuehn.de)

Kartoffelzysten-nematoden spielen seit jeher eine grosse Rolle im Anbau von Stärkekartoffeln. Durch den intensiven Einsatz resistenter Sorten führte das Auftreten eines neuen Virulenztyps „Emsland“ des Quarantänenematoden *Globodera pallida* zu einer neuen Gefährdung der Stärkekartoffelproduktion. Da weder resistente Sorten, noch Nematizide zur Bekämpfung des neuen Virulenztyps zur Verfügung stehen, ist es wichtig, die Entwicklung der Virulenz in Feldpopulationen frühzeitig zu erkennen. Ziel des Hypall-Forschungsvorhabens ist die frühzeitige Erfassung von Befall durch virulente *G. pallida* Populationen in *S. tuberosum* auf Basis hyperspektraler Sensorinformationen. Dabei soll bereits ein latenter Befall durch Populationen erkannt werden, die noch nicht auf 100%ige Virulenz selektiert wurden. Schon eine geringe Virulenz kann bereits zu einer starken Zunahme der Populationsdichte von *G. pallida* führen. Das Erkennungssystem basiert auf den Daten von einer bildgebenden Hyperspektralkamera Specim IQ (©SPECIM, Spectral Imaging LTD.) die ein Spektrum von 400 nm bis 1000 nm abdeckt. In einem speziell entwickelten Messaufbau werden die Signaturen der Blattreflexion von gezielt mit verschiedenen Feldisolaten von *G. pallida* in unterschiedlichen Populationsdichten inokulierte Kartoffelsorten unter dem Einfluss verschiedener Lichtquellen gemessen. Pflanzenphysiologische (Wasser-, Chlorophyll- und Stickstoffgehalts der Pflanzen) sowie nematologische (Entwicklungsphänologie, Virulenz, Pathogenität) Parameter sollen mit den durch konservativ multivariate und Deep Learning Verfahren identifizierten Mustern der hyperspektralen Signatur zu einem phänologischen Modell für *Globodera*-Befall zusammengeführt werden. Aus vorangegangenen Arbeiten konnten bereits relevante hyperspektrale Signaturen im Pathosystem Zuckerrübe / *Heterodera schachtii* identifiziert werden. In Feldversuchen mit *H. schachtii* anfälligen Zuckerrüben konnten aus diesen hyperspektralen Signaturen über numerische Approximationen signifikante Korrelationen mit den Befalldichten des Nematoden im Boden erstellt werden (SCHMIDT 2015). Diese Ergebnisse sollen mit Hilfe der Hyperspektralsignatur im Bildgebungsverfahren nicht nur um eine räumliche Komponente erweitert werden, sondern mit der Übertragung der bisherigen Analysekomponenten auf die *Globodera pallida* Spezifität als Quarantäneschädling zu einem Detektionsalgorithmus für eine Früherkennung im Feld weiterentwickelt werden.

## LITERATUR

Schmidt, K., 2015: Dienstleistungen in der Hyperspektraldatenanalyse

Auswertung (hyper-) spektraler Informationen in Forschung, Entwicklung, Züchtung und Praxis.

URL: <http://nemaplot.com>, Zugriff: 22. Februar 2022

# Unravelling the function of the cyst nematode resistance gene *Hs4* in different genomic backgrounds

Schildberg A & Jung C

Institut für Pflanzenzüchtung, Christian-Albrechts-Universität Kiel, Am Botanischen Garten 1-9, 24118 Kiel

Email: a.schildberg@plantbreeding.uni-kiel.de

The beet cyst nematode (BCN) *Heterodera schachtii* is the main pathogen of sugar beet (*Beta vulgaris*) as well as many other species from the *Amaranthaceae* and *Brassicaceae* plant families. Sugar beet and its close relatives are highly susceptible to the BCN, while distant relatives from the genus *Patellifolia* are fully resistant.

Recently, we identified the nematode resistance gene *Hs4*, using beet lines carrying translocations from *P. procumbens* chromosome 1. The gene consists of six exons and five introns and encodes a rhomboid-like protease of 210 amino acids that is predicted to be ER-bound. The *Hs4* gene was expressed in susceptible sugar beet hairy roots under the transcriptional control of a constitutive 35S promoter. Upon subsequent inoculation with nematodes, the plants showed resistance in dependence on their expression level. In addition, CRISPR-Cas9 knock-out mutants of resistant sugar beet hairy roots were generated and screened for increased susceptibility.

We are questioning whether *Hs4* functions also in distantly related species. The *Hs4* gene was transformed into *Arabidopsis thaliana* under the transcriptional control of the Hs1, FPL1 and 35S promoter, respectively. Resistance tests conducted with the *Hs4*-transgenic T<sub>3</sub> lines showed significantly reduced cyst numbers in this model plant. In addition, the *Hs4* expression in plants carrying different promoter-gene constructs has been analysed and correlated to the cyst numbers. We started the transformation of oilseed rape (*Brassica napus*) using the same *Hs4* constructs. Additionally, the *Hs4*-triggered resistance reaction will be further analysed. Recently, we started searching for *Hs4* homologs in the genomes of related Beta species.

# Resistance and host-status of selected crops to the root-knot nematode, *Meloidogyne chitwoodi* using population dynamics studies

Teklu MG<sup>1</sup>, Been TH<sup>1</sup>, Schomaker CH<sup>2</sup>, Visser J<sup>3</sup> & Molendijk LPG<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Wageningen University & Research, Plant Sciences Group, P.O. Box 16, 6700 Wageningen, The Netherlands

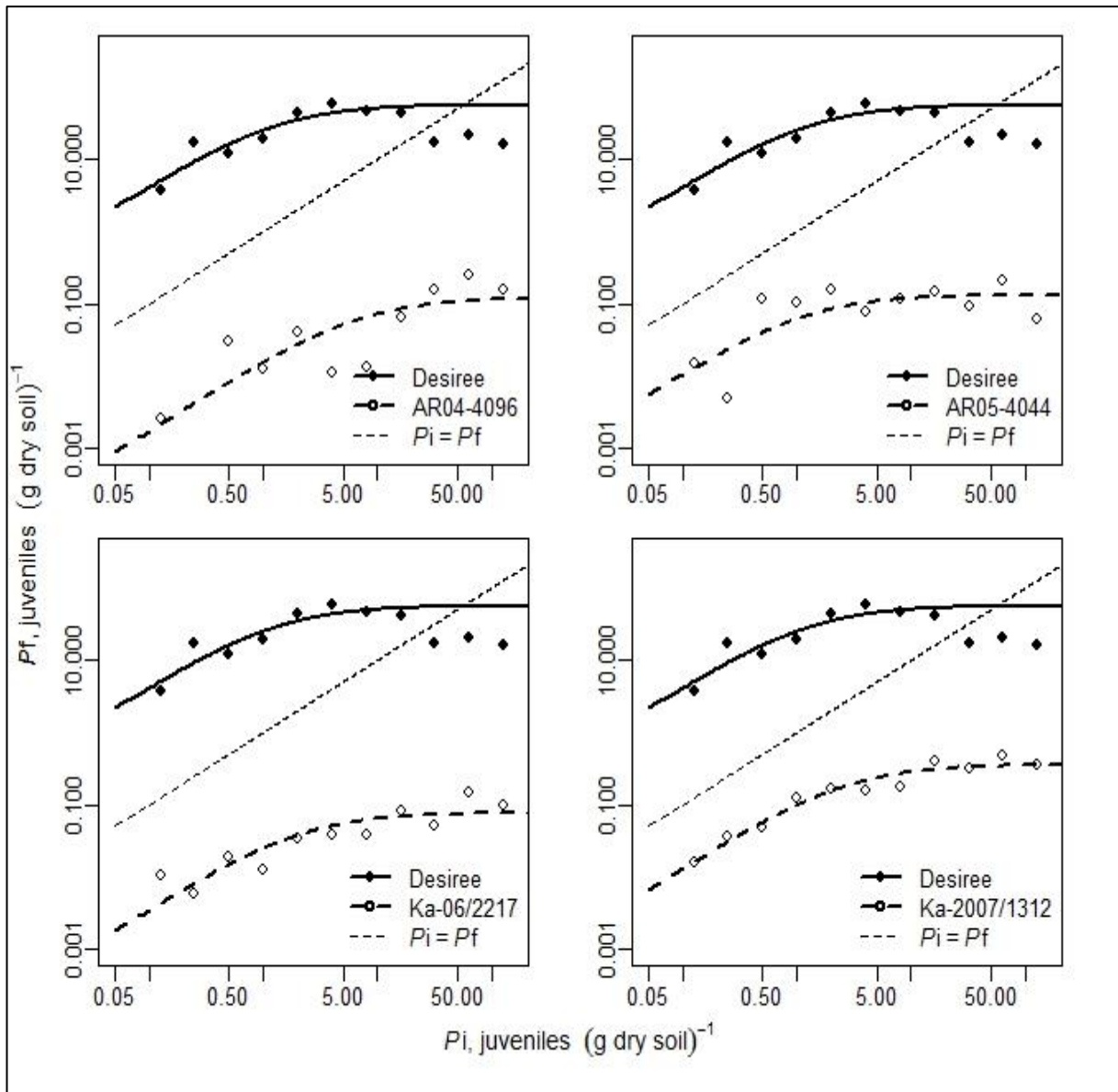
<sup>2</sup>Schomaker Quantitative Solutions, Lipperstpad 5, 6668 AW Randwijk, The Netherlands

<sup>3</sup>Wageningen University & Research, Open Field Crops, Edelhertweg 1, 8219 PH Lelystad, The Netherlands

Email: Misghina.goitomteklu@wur.nl

The quarantine root-knot nematode *M. chitwoodi* is a serious threat to the seed potato sector in the Netherlands. Using crop rotation as a central tenet of nematode management is not self-evident as *Meloidogyne chitwoodi* is polyphagous and capable of infecting any higher plant (mono/dicots). Conventional crop rotation is therefore not an immediate option. Eradication is also not pursued as a control measure, due to the extensive use of plant-protection products that this entails. Exception are these farms that can flood their fields in summertime (inundation). What remains is trying to live with this nematode by managing it around non-harmful nematode densities, a system that is also good for the ecosystem. To realize this principle, Dutch breeders during the last decade, have been searching for, and incorporating, resistance to *Meloidogyne chitwoodi* in some major crops. These include of course potatoes (table, ware, and starch), industrial crops such as sugar beet and green manure that are more frequently grown as winter cover crops. In the last 10 years a series of experiments were conducted in estimating the resistance and host-status of these crops. The experiments were performed in controlled glasshouses with series of nematodes densities of  $2^x$ , where  $x$  ranges from -4 to 7. This was a mandatory step when estimating resistance or host-status using the logistic or exponential population dynamic model available. When resistance was estimated a susceptible reference host of the same plant species was used, to estimate parameter values and their usefulness within rotations for any initial population density.

Based on these studies, high level of resistance (> 99%) and sometimes final population densities that were always lower than the initial densities (below the equilibrium density) were obtained, indicating poor hosts and sometimes non-hosts. So far two types of resistance are available. Those on potato genotypes are obtained by introgressing with a single resistance gene from wild potato accessions (clonal resistance). On other crops (fodder radish, sugar beet, witlof, chicory, alfalfa, onions, rolling clover, reed canary grass, onions, and flax) resistance was developed through classical breeding (selection and back-crossing). These findings will be integrated in a new version of the Dutch Decision Support System (DSS), NemaDecide in managing *Meloidogyne chitwoodi* soon.



**Figure 1.**

The relation between initial ( $P_i$ ) and final population density ( $P_f$ ) of *Meloidogyne chitwoodi* second-stage juveniles (J2) ( $\text{g dry soil}^{-1}$ ) on a log scale in Experiment 2. Fitted lines according to Equation. (1):  $P_f = M \cdot P_i / (P_i + M/a)$  (Seinhorst, 1966). The parameters  $M$  and  $a$  are the maximum population density and the maximum multiplication rate, respectively. Comparisons were made between cv. Desiree (solid line) and the genotypes AR04-4096, AR05-4044, Ka-06/2217 and Ka-07/1312 (dashed-lines). The diagonal fine broken lines represent the equilibrium line ( $P_i = P_f$ ).

## LITERATURE

- Teklu, M.G., Schomaker, C.H. & Been, T.H. (2014). Relative susceptibilities of five fodder radish varieties (*Raphanus sativus* var. oleiformis) to *Meloidogyne chitwoodi*. *Nematology* 16, 577-590.
- Teklu, M.G., Schomaker, C.H., Been, T.H. & Molendijk, L.P.G. (2016). A routine test for the relative susceptibility of potato genotypes with resistance to *Meloidogyne chitwoodi*. *Nematology* 18, 1079-1094.

## Studies on the interaction between Root-Lesion Nematodes and cereal hosts

Fatemi E & Jung C

*Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel: Uni Kiel, Am Botanischen Garten 1-9, 24118 Kiel*

*Email: e.fatemi@plantbreeding.uni-kiel.de*

*Corresponding Author Email: c.jung@plantbreeding.uni-kiel.de*

Assessing root-lesion nematode (RLN) infections in the field and the greenhouse is difficult and time-consuming. Therefore, European cereal breeders have mostly ignored this pest. We developed a fast and efficient method of measuring RLN infections in infected cereal roots using a standardized DNA-based PCR approach. Species-specific primer combinations for *Pratylenchus neglectus* DNA amplification were evaluated. An optimal primer combination was identified to detect and quantify *P. neglectus* using RT-qPCR assay from infected cereal roots. Furthermore, the effect of different cultivated *Pratylenchus* inoculums on pathogenicity was investigated. While the monoxenic culture on carrot calli is a popular method for multiplying *P. neglectus*, we hypothesized that maintenance under such conditions might reduce pathogenicity for an extended period. We used a *P. neglectus* population for infection tests on wheat and barley host plants. Nematodes were either cultivated on carrot calli between 12 and more than 24 months, or nematodes were extracted directly from barley. The nematodes were inoculated on barley and wheat roots, and the infestation was measured after eight weeks using RT-qPCR assay and visual counting. We reasoned that high infection rates are correlated with low quantification cycle (Cq) values. We observed low infection rates when nematodes had been cultivated on carrot calli for more than 24 months. In contrast, inoculation with nematodes cultivated for less than 12 months or taken directly from barley resulted in significantly higher infection rates. Conclusively, the pathogenicity drops when nematodes are cultivated for an extended period in the monoxenic culture on carrot calli. The reduction in pathogenicity may arise due to an alteration of the nematode microbiota. Genetic or epigenetic changes are regarded as less likely, although they cannot be excluded. This result, in combination with the PCR-based detection method, could be important for cereal breeding because it improves the selection of resistant genotypes in segregating populations.

# Verbreitung und Schadpotenzial von *Meloidogyne* an Arznei- und Gewürzpflanzen in Deutschland

Noskov, I.,<sup>1</sup> Blum, H.,<sup>2</sup> Komnik, H.-J.,<sup>2</sup> Hallmann, J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>- Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Deutschland

<sup>2</sup>- Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz (INRES), Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Klein-Altendorf 2, 53359 Rheinbach, Deutschland

Email: ilya.noskov@julius-kuehn.de

Ertragsdepressionen an Arznei- und Gewürzpflanzen sind in Praxis sehr verbreitet. Oftmals werden pflanzenparasitäre Nematoden als Ursache vermutet, wie zum Beispiel Wurzelgallenematoden der Gattung *Meloidogyne*. Wurzelgallenematoden verursachen unter anderem Schäden an Möhre, Zwiebeln und anderen Kulturpflanzen, in der Vergangenheit auch an Petersilie. Aktuelle Daten zum Auftreten von *Meloidogyne* an Arznei- und Gewürzpflanzen liegen für Deutschland nicht vor. Im Rahmen des Verbundprojektes NemaAG, gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft und mit Kooperationspartnern aus Forschung, Erzeugern und Beratung, wurde die Verbreitung und das Schadpotenzial von *Meloidogyne* an Arznei- und Gewürzpflanzen untersucht. An ausgewählten Kulturen, wie Pfefferminze, Petersilie, Baldrian, wurde zudem das Schadpotenzial wirtschaftlich bedeutender *Meloidogyne*-Arten erfasst.

Die Auswertung der insgesamt 519 Bodenproben aus den Jahren 2020-2023 zeigte, dass pflanzenparasitäre Nematoden an Arznei- und Gewürzpflanzen grundsätzlich weit verbreitet sind, die Gattung *Meloidogyne* aber nur sehr selten (< 8%) auftrat. Auf Befallsflächen betrug die durchschnittliche Besatzdichten 33 Nematoden/100 ml Boden und lag damit im nicht kritischen Bereich.

Die Schadwirkung der in Deutschland am häufigsten vorkommenden Art *M. hapla* wurde an Pfefferminze, Apfelminze, Spearmint, Fränkische Pfefferminze, Petersilie und Baldrian untersucht. Die Versuche zeigten, dass Pfefferminze, Spearmint, Petersilie und Baldrian eine gute Wirtspflanze für *M. hapla* sind, wohingegen Apfelminze und Fränkische Pfefferminze keine bzw. nur sehr schlechte Wirte waren. Im nächsten Schritt wurde untersucht, ob sich die Schadwirkung zwischen verschiedenen *Meloidogyne*-Arten unterscheidet. Dies wurde mit *M. hapla*, *M. chitwoodi*, *M. fallax* und *M. incognita* an Pfefferminze und Petersilie untersucht. Hider zeigte sich, dass Pfefferminze eine schlechte Wirtspflanze für *M. incognita* ist und keine Wirtspflanze für *M. chitwoodi* und *M. fallax*. Petersilie wiederum erwies sich als eine gute Wirtspflanze für alle drei *Meloidogyne*-Arten. Im Vergleich zu der sehr guten Wirtspflanze Tomate waren die Vermehrungsraten an allen getesteten Pflanzen aber deutlich geringer. Weiterhin zeigten die Gewächshausversuche, dass selbst Nematodendichten von 2500 Tieren/Pflanze keinen negativen Einfluss auf das Pflanzenwachstum hatten und am oberirdischen Aufwuchs keine nematodenspezifischen Symptome verursachten.

## Soil biota-based suppressiveness against *Meloidogyne chitwoodi*

Everaarts TC<sup>1</sup>, Himbeek RAF van<sup>2</sup>, Helder J<sup>2</sup>, Schepel E<sup>1</sup>

<sup>1</sup> HLB, Kampsweg 27, 9418 PD Wijster, the Netherlands

<sup>2</sup> Laboratory of Nematology, Wageningen University & Research, Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB Wageningen, the Netherlands

Email: t.everaarts@hlbbv.nl

Natural soil suppressiveness against the Columbia root-knot nematode *Meloidogyne chitwoodi* (RKN) is a wanted but rare and poorly characterized phenomenon. In a *M. chitwoodi*-infected field in the province North Holland (The Netherlands), patches with high and remarkably low densities were detected in 2012. To investigate whether biotic or abiotic conditions were underlying this apparent suppressiveness in certain patches, soil was collected from six blocks in the beginning of 2020, in a crop-free season after growing potatoes, a good host for *M. chitwoodi*. With this soil, a pot trial was carried out in which the multiplication of *M. chitwoodi* was tested in the greenhouse on soils from the six field blocks on a good host, tomato, with three different initial population densities. It turned out that on soil from two blocks the multiplication of *M. chitwoodi* was very low, as compared to the other four blocks, an indication that the observed RKN suppressiveness was caused by the local (a)biotic soil condition. In the next year, another set of soil samples was collected from the same blocks. Samples were characterized for a range of abiotic factors, and microbiomes were analysed on the basis of their DNA sequence signatures. Significant differences were found throughout the field, but the suppressiveness against *M. chitwoodi* could not be explained by the abiotic factors, nor by individual nematode antagonistic bacterial or fungal taxa. We hypothesize that an antagonistic conglomerate of soil microbiota could have caused the observed suppressiveness.

The research was an initiative of “*Stuurgroep Plan van Aanpak Meloidogyne*” and funded by the Agriculture Branch Organisation in the Netherlands.



# Die strukturelle Diversität bakterieller Rhamnolipide beeinflusst deren Effektivität gegen pflanzenparasitäre Nematoden

Bredenbruch Sandra, Müller Conrad, Nvenankeng Henry A., Schröder Lukas, Tiso Till, Blank Lars M., Grundler Florian M.W., Schleker A. Sylvia S.

*Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Institut für Nutzpflanzenforschung und Ressourcenschutz, Abteilung für Molekulare Phytomedizin, Karlrobert-Kreiten-Str. 13, 53115 Bonn*

*Email: bredenb@uni-bonn.de*

*Corresponding Author Email: sylvia.schleker@uni-bonn.de*

Rhamnolipide sind Biotenside bakterieller Herkunft die auf Grund ihrer umweltfreundlichen Eigenschaften zunehmend als Ersatz für synthetische Tenside in der Industrie Anwendung finden. Mittlerweile konnten in zahlreichen Studien zudem auch antimikrobielle Eigenschaften beobachtet werden. Wir zeigen, dass Rhamnolipide den Befall mit pflanzenparasitären Nematoden wirksam reduzieren können, und dass dieser Effekt stark von ihrer Molekülstruktur abhängt. Als Tenside bestehen Rhamnolipide aus einem hydrophilen Kopfteil, hier ein oder zwei Rhamnosemolekül/e (Mono- bzw. Di-Rhamnolipide), und einem lipophilen Endteil, hier ein oder zwei Fettsäuren mit unterschiedlicher Kettenlänge und Sättigung. Die Kombination aus unterschiedlicher Kopfgröße zusammen mit Variationen im Aufbau der Fettsäure(n) sorgt für eine hohe strukturelle und mutmaßlich funktionelle Diversität dieser Biotenside. Durch genetische Modifizierung der Synthesewege und über spezielle Aufreinigungsverfahren konnten wir den Einfluss individueller Rhamnolipidstrukturen auf Pflanze und Nematode differenziert auswerten. Eine Rhamnolipidbehandlung von 8,3 mg l<sup>-1</sup> führte *in vitro* zu einer Befallsminderung des Rübenzystennematoden *Heterodera schachtii* um mindestens 80%. Im Gegensatz zu Di-Rhamnolipiden verursachten Mono-Rhamnolipide jedoch Wachstumseinbuße bei der Wirtspflanze. Ein Vergleich individueller Di-Rhamnolipidkongenere zeigte, dass es auch hier Unterschiede in der Wirkung auf die Pflanzenentwicklung und den Nematodenbefall gibt. Di-Rhamnolipide mit längeren Fettsäuren, C10-C12 und C10-C12:1, reduzierten die Infektion bereits bei Konzentrationen von unter 2 mg l<sup>-1</sup> signifikant. Der Rückgang des Befalls ist dabei nicht auf eine direkt nematizide Wirkung zurückzuführen, sondern auf einen immunstimulierenden Einfluss auf die Pflanze, der auch als „Priming“ bekannt ist.

Unsere Versuche zeigen, dass Rhamnolipide einen Befall mit pflanzenparasitären Nematoden signifikant reduzieren können. Dabei wirken sie dem Befall nicht durch direkt nematizide Aktivität entgegen, sondern durch Stimulation der pflanzlichen Abwehr und sind daher besonders umweltfreundlich. Unsere Versuche zeigen jedoch auch, dass die Wirkung von Rhamnolipiden stark von ihrer Molekülstruktur abhängt und die strukturelle Diversität dieser Biotenside bei der Anwendung im Pflanzenschutz Berücksichtigung finden sollte.

# Inhibitory impact of Sainfoin as rotational plant on root-knot nematodes in maize cropping systems

Rashidifard M<sup>1</sup>, Fourie H<sup>2</sup>, Claassens S<sup>2</sup> & Ashrafi S<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Julius Kuehn Institute (JKI), Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig,

<sup>2</sup> Unit for Environmental Sciences and Management, North-West University, 2531 Potchefstroom, South Africa.

Email: milad.rashidifard@julius-kuehn.de

Corresponding Author Email: your@email.org

The human population is on a constant increase path and thus high food production is vital to ensure global food security. Despite the importance of maize as one of the main food sources for animal and human feed, its production is hampered by a variety of diseases and pests including plant parasitic nematodes (PPNs). Previous research found that root-knot nematodes caused up to 60% losses in South African maize crops. Even though the rotation of maize with legumes is one of the common management practices to contain nematode damage, most of the legumes rotated with maize are susceptible to the same nematode species. Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) could be a suitable alternative to legumes that traditionally rotated with maize in South Africa due to its positive effects on animal health. This is mainly because of the formation of condensed tannins, which have antifoaming and anthelmintic efficacy in animals. This study was conducted to evaluate the suitability of different sainfoin cultivars (Esparssette, Perly, Taja and Visnovsky), soybean (DM-5953-RSF), and alfalfa (BAR7) in reducing the *Meloidogyne enterolobii* population when used as a rotational crop in maize-based agricultural systems compared to monoculture maize.

The results demonstrated that rotation of sainfoin (Esparssette) with maize had the lowest number of *M. enterolobii* per root system in both experiments conducted during this study. Among the treatments, rotation of sainfoin Taja with maize and monoculture maize produced the most nematodes in the first and repeat experiments, respectively. A significantly ( $P \leq 0.05$ ) lower number of *M. enterolobii* was recorded for two sainfoin cultivars (Perly and Esparssette) and alfalfa compared to the monoculture maize in the first experiment. However, in this experiment, the rotation of sainfoin (Taja) with maize significantly enhanced the root-knot nematode population. Moreover, no significant changes ( $P \leq 0.05$ ) were recorded when soybean was rotated with maize vs. monoculture maize. In contrast, in the repeat experiment all treatments significantly ( $P \leq 0.05$ ) reduced the nematode population compared to the monoculture maize. In the first experiment 7, 54, and 81% reductions in the RKN population were recorded when sainfoin Perly, alfalfa, and sainfoin Esparssette were rotated with maize, respectively. Similar to the first trial, rotation of sainfoin (Esparssette)/maize reduced nematode population density by 60%, followed by alfalfa/maize (43%). According to this finding, the beneficial function that sainfoin may have in grain-based sequences to reduce *M. enterolobii* damage is evident.

# Swiss microorganisms as potential antagonists of the root knot nematode *Meloidogyne incognita*

Dahlin P, Ruthes, AC, Freimoser F, Pelludat C

Entomology and Nematology, Plant Protection, Agroscope, Müller-Thurgau-Strasse 29, 8820 Wädenswil, Switzerland

Email: paul.dahlin@agroscope.admin.ch

Bacterial, fungal and yeast collections from Agroscope – Wädenswil were used to screen for potential antagonists of the root knot nematode (RKN) *Meloidogyne incognita*. Bacterial strains were isolated from greenhouse soil and beet roots, fungi were isolated indirectly from soil or directly from fungus-infected free-living nematodes, RKN or potato cyst nematodes cysts, while yeasts were isolated from apple flowers/leaves or soil. The microbial strains were tested in a straightforward approach, where J2 treated *in vitro* were then used for evaluation of their ability to still infect indicator plants in a small pot bioassay. Forty-four bacterial strains (mainly belonging to the genus *Pseudomonas*), nine fungi isolates (identified by ITS sequencing belonging to known nematophagous fungal species, *Arthrobotrys brochopaga*, *Hohenbuehelia* sp., *Clonostachys rosea* and *Pochonia chamydosporia*) and forty yeasts were screened. The yeast isolates showed the weakest controlling capacity of *M. incognita* J2 when compared with the other tested microorganisms. However, among the fungal isolates, five of them significantly decreased the root gall formation when compared to the untreated control, and are currently being evaluated. Among the bacterial strains, six significantly reduced root gall formation and were further tested under greenhouse conditions. Out of these six bacterial strains, two *Pseudomonas* strains, named 105 and 108 were the most promising, and were able to significantly reduce root galling caused by *M. incognita* under different nematode population densities and also when used as a root bale treatment. Phylogenetic analysis revealed that both *Pseudomonas* strains are grouped within the *Pseudomonas fluorescens* group among previously characterized RKN antagonists and *Pseudomonas* strains known as biocontrol agents. Further investigations are still needed to ensure effective biocontrol and versatility of the selected Swiss microorganisms as biocontrol agents.

## LITERATUR

Stucky T; Hochstrasser M; Meyer S; Segesseman T; Ruthes AC; Ahrens C; Freimoser F; Pelludat C; Dahlin P (2023). Identification of Swiss *Pseudomonas* strains as antagonists of the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. Manuscript in preparation.

# **The endophytic fungus *Pochonia chlamydosporia* interacts with *Heterodera schachtii* in a population-specific manner**

Haj Nuaima R<sup>1</sup> & Heuer H<sup>1</sup>

*Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Julius Kühn Institut, Federal Research Centre for Cultivated Plants, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany.*

*Email: rasha.haj-nuaima@julius-kuehn.de*

*Pochonia chlamydosporia* is a promising biological agent to control the plant parasitic cyst nematodes. Besides its potential to parasitize the nematode eggs, *P. chlamydosporia* acts as an endophytic fungus.

In the present study, we tested the following research questions: 1. The attachment of *P. chlamydosporia* to the cuticle of second-stage juveniles (J2) originating from four populations of *Heterodera schachtii*. 2. The effect of *Pochonia*-attachment on nematode penetration into roots of resistant oilseed radish. 3. The fungal growth inside the roots after *Pochonia*-attachment to the seeds or J2 cuticle.

The results showed that *P. chlamydosporia* adhered to the J2 cuticle, which led to a decrease in the penetration of three populations of *H. schachtii*. Chlamydospores were photographed inside roots planted on fungal growth or inoculated with *Pochonia*-attached J2.

In conclusion, the parasitism of infective juveniles by *P. chlamydosporia* increases its efficacy as a biological agent of *H. schachtii*, but in terms of population origin. The endophytic colonization of resistant oilseed radish by *Pochonia chlamydosporia* might promote plant growth, supporting these crops to control the beet cyst nematode *H. schachtii*.

# Poster

## Pflanzenparasitäre Nematoden bei Erdbeere

Gabl I., Hausdorf H., Griebeling L.

AGES GmbH, Institut für Nachhaltige Pflanzenproduktion, Spargelfeldstraße 191, 1220 Wien

Email: ines.gabl@ages.at

Um das Vorkommen und Schadpotential von Pflanzenparasitären Nematoden an Erdbeere zu untersuchen wurde im Rahmen des 3-monatigen FEM Tech Projektes „Nematoden an Erdbeere“ Erdbeerflächen in der Vegetationsperiode ausgewählt auf denen sich Symptome an Pflanzen, wie kleiner, verkümmerter Wuchs in Reihen oder Nestern sowie Fehlstellen in Reihen und Nestern, zeigten. Die Erdbeeranbauflächen befinden sich in Niederösterreich, Wien und Oberösterreich. Insgesamt wurden acht Standorte und insgesamt zehn Flächen beprobt. Auf jeder Anbaufläche erfolgten vier Probenahmen: drei Pflanzenproben (gesunde Pflanze, eine Pflanze mit mittleren Schädigungen und eine Pflanze, die starke Schädigungen zeigte) und einer Mischprobe Boden von der Erdbeerfläche als „Überblicksprobe“. Die Bodenproben wurden mit dem Oostenbrink-Elutriator zur Extraktion der Nematoden bearbeitet. Das Pflanzenmaterial (gewaschene Blätter und Wurzeln jeder Erdbeerpflanze) wurde für mehrere Tage in der Sprühanlage inkubiert. Die Anzahl pflanzenparasitärer Nematoden in den erhaltenen Nematodensuspensionen wurde unter dem Mikroskop mit einer Zählkammer gezählt und anschließend wurde eine morphologische Bestimmung der wichtigsten Gattungen und Arten durchgeführt. Nach Literaturrecherche konnte erhoben werden, dass vor allem die Gattungen mit entsprechenden Arten: *Aphelenchoides* (*A. fragariae*, *A. ritzemabosi*), *Ditylenchus* (*D. dipsaci*), *Helicotylenchus*, *Longidorus* (verschiedene Arten), *Meloidogyne* (*M. hapla*), *Pratylenchus* (*P. penetrans* und weitere Arten), *Paratylenchus* (mehrere Arten), *Tylenchorhynchus* und *Xiphinema* mit Erdbeere assoziiert vorkommen (SAMALIEV & MOHAMEDOVA 2011). Als häufigste Gattungen traten in den „Überblicks“-Bodenproben *Pratylenchus*, *Paratylenchus*, und *Helicotylenchus*. auf. Auf einem Standort auch *Meloidogyne*. Die Gattung *Pratylenchus* wurde auf allen zehn beprobten Flächen nachgewiesen. Als häufigste Arten wurden morphologisch bestimmt: *Pratylenchus penetrans*, *P. neglectus*, *P. crenatus*, *P. thornei*, *Meloidogyne hapla*. Auf drei Flächen kam es zu einem Auftreten einer Mischpopulation von *P. penetrans*/*P. neglectus*, *P. crenatus*/*P. thornei* und *P. neglectus*/*P. thornei*.

### LITERATUR

SAMALIEV, H. Y., & MOHAMEDOVA, M. (2011). Plant parasitic nematodes associated with strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) in Bulgaria. *Bulgarian J. of Agricultural Science*, 17(6), 730-735.

# A novel approach for applying machine learning for detection and phenotyping of cyst nematodes in soil extracts

Daub M<sup>1</sup>, Chen L<sup>2</sup>, Strauch M<sup>2</sup>, Jansen M<sup>3</sup>, Luigs, H.G<sup>3</sup>, Schultz-Kuhlmann S<sup>4</sup>, Krüssel S<sup>4</sup>, Merhof D<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Braunschweig

<sup>2</sup>Imaging and Computer Vision, RWTH Aachen University, Aachen, Germany;

<sup>3</sup>LemnaTec GmbH, Aachen, Germany;

<sup>4</sup>Pflanzenschutzamt, Sachgebiet Zoologie, Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Hannover, Germany

Email: [matthias.daub@julius-kuehn.de](mailto:matthias.daub@julius-kuehn.de)

Corresponding Autor Email: [dorit.merhof@lfb.rwth-aachen.de](mailto:dorit.merhof@lfb.rwth-aachen.de)

Cyst nematodes comprise a considerable number of 110 valid species and many of them are important pests of cultivated plants. Individuals survive inside the female body, which change into a cyst at the end of the nematode life cycle. Determination of population densities for damage prediction models usually require first the extraction of cysts and subsequently the release of eggs and juveniles from cysts, which is time demanding and susceptible to subjective errors. The PheNeSens project has developed two independent systems for the automated detection, counting, and phenotyping of cysts on a macroscopic level and cysts contents (eggs and juveniles) on a microscopic level. For the detection of cysts we employed a deep learning model with a convolutional neural network (CNN) in a semantic segmentation setting that serves as the basis of automatic quantitative detection of cysts and a framework for detecting vermiform objects in microscopic images. In an evaluation using both ground truth samples with known cyst numbers and manually annotated images, the computer vision approach produced accurate nematode cyst counts achieving Pearson correlation coefficients of 0.981 for clean samples and 0.975 for cysts in soil extracts (Chen et al. 2022). Based on our pipeline for segmentations, cyst features from a subset of data gathered from several hundred individuals in each single sample could be computed, that served to reveal phenotypical differences between nematode populations in different soil layers and in populations observed before and after cultivation of sugar beet. For the detection of juveniles, we annotated nematodes with curves along the body. The trained model predicts worm skeletons and body endpoints. The endpoints serve to untangle the skeletons from which segmentation masks are reconstructed by estimating the body width at each location along the skeleton. With light-weight backbone networks, we achieve 75.85% precision, 73.02% recall on a potato cyst nematode data set and 84.20% precision, 85.63% recall on a public *C. elegans* data set. As a future perspective we will integrate automated detection of body dimension, shape and color or other biological characteristics (viability, parasitism) to detect specific phenological features of nematodes on a population level.

## LITERATURE

- Chen L, Daub M, Luigs H-G, Jansen M, Strauch M and Merhof D (2022): High-throughput phenotyping of nematode cysts. *Front. Plant Sci.* 13:965254. doi: 10.3389/fpls.2022.965254
- Chen L, Daub M, Luigs H-G, Jansen M, Strauch M and Merhof D (2020): A CNN Framework Based on Line Annotations for Detecting Nematodes in Microscopic Images," 2020 IEEE 17th International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI), Iowa City, IA, USA, 2020, pp. 508-512, doi: 10.1109/ISBI45749.2020.9098465 .