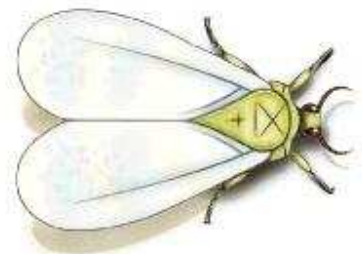


# Identificatie en ontwikkeling seksferomoon witte-vlieg

Ontwikkeling nieuw hulpmiddel bij plaagbeheersing



Rob van Tol  
Plant Research International  
Wageningen UR



## Samenvatting

Onderzoek naar de lokstoffen van witte-vlieg heeft geresulteerd in een lijst van stoffen van plantaardige oorsprong en meerdere witte-vlieg specifieke stoffen die mogelijk een rol spelen bij het zoeken naar waardplanten en soortgenoten (seksferomonen). De invloed van deze stoffen op het gedrag van witte-vlieg is nog onbekend.

Voor zowel de kas witte-vlieg (*Trialeurodes vaporariorum*) als de tabaks witte-vlieg (*Bemisia tabaci*) is headspace (het geurbouquet) ingevangen met drie verschillende media/methoden (SuperQ, Tenax, SPME) en een methode van directe extractie in hexaan. Zowel de headspace van witte-vlieg (mannetjes en vrouwtjes samen en apart) zonder plant als witte-vlieg op tomaat en aubergine zijn ingevangen.

Voor de kas witte-vlieg (*Trialeurodes vaporariorum*) is een uitgebreide analyse van tomaat met/zonder witte-vlieg uitgevoerd. Voor aubergine is deze vanwege de aanzienlijke hoeveelheid arbeid en diverse complicaties (technieken/invangen/verontreinigingen) niet doorgevoerd. De verzamelde aubergine headspace is wel bewaard voor mogelijk toekomstige analyse. Er zijn 7 stoffen gevonden in de headspace van tomaat waarop mannetjes en vrouwtjes van deze soort samen zitten die niet voorkomen op tomaat zonder witte-vlieg. Van deze stoffen is er 1 stof alleen gevonden in de headspace met tomaat en alleen vrouwtjes en 1 stof in de headspace van tomaat met alleen mannetjes. Tomaat geïnfecteerd met witte-vlieg leidt tot verhoging en/of specifieke afgifte van 7 plantenstoffen. Analyse van headspace van de kas witte-vlieg zonder tomaat in vergelijking tot headspace met tomaat laat een vergelijkbaar beeld van witte-vlieg specifieke stoffen zien naast een groot aantal andere stoffen die niet of niet aantoonbaar gevonden worden via headspace plant+insect. Extract van mannetjes en vrouwtjes van kas witte-vlieg levert na filtering (om grote hoeveelheid niet-vluchtige stoffen te verwijderen) vrijwel niets op. Herhaling van de extractie en afpipetteren van de bovenlaag van het extract na bezinking i.p.v. filtering leverde een beperkte verbetering van het resultaat op. Er worden hierbij een twintigtal stoffen gevonden bij zowel mannetjes als vrouwtjes. De identificatie van de kleine pieken was door de geringe opbrengst niet mogelijk. Hoewel niet verschillend kunnen één of meer van deze stoffen wel een rol spelen als feromoon. Dat kan echter alleen door gedragsproeven worden bepaald.

Vergelijking van kas witte-vlieg met tabaks witte-vlieg levert weinig verschillen op. Er worden 2 stoffen gevonden in de headspace van vrouwelijke tabaks witte-vlieg die niet bij kas witte-vlieg of tomaat alleen aanwezig zijn en 1 plantenstof die versterkt wordt afgegeven na infectie door tabaks witte-vlieg. Hoewel er gedetailleerd onderzoek voor nodig is om te bewijzen lijkt er met name bij tabaks witte-vlieg een down-regulatie van een aantal tomaatstoffen plaats te vinden als reactie op infectie. Dit zou een actief door het insect gereguleerde invloed op de plant kunnen zijn om geïnduceerde alarmstoffen die natuurlijke vijanden lokken te blokkeren.

Het bleek gedurende het onderzoek dat het invangen en analyseren van de geurstoffen van de witte vliegen door ons onderschat is en ons regelmatig voor onvoorziene

complicaties plaatse (zeer geringe hoeveelheden geurstoffen, optredende vervuilingen in de analyse etc). Hierdoor heeft deze fase enorm veel tijd gekost.

Gedragsonderzoek met gevonden stoffen evenals ontwikkeling en gebruik van GC-EAD techniek voor witte-vlieg zijn hierdoor niet uitgevoerd. Het belangrijkste resultaat van het onderzoek is dan ook beperkt gebleven tot een lijst van potentieel interessante stoffen waarvan het effect op het gedrag van witte vlieg getest kan worden (is de stof aantrekkelijk of afstotend?).

## Inleiding

Witte-vlieg is wereldwijd naast bladluis en trips een van de economisch belangrijkste plaaginsecten. Een effectieve en verantwoorde bestrijding van witte-vlieg is een groot probleem in een breed sortiment van glasgroenten en bloemisterijgewassen waarvoor de sectoren nog steeds duurzame oplossingen zoekt. De schade op gewassen kan bestaan uit directe zuigschade, verontreiniging met honingdauw en bijbehorende roetschimmel, virusoverdracht en fytotoxische effecten op de plant. De twee belangrijkste plaagsoorten zijn de kas witte-vlieg, *Trialeurodes vaporariorum*, en de tabaks witte-vlieg, *Bemisia tabaci*.

De sectoren hebben slechts de beschikking over een beperkt pakket aan chemische middelen waarvan er ook steeds minder bruikbaar zijn als correctiemiddel in een geïntegreerde aanpak van deze en andere plagen in de kas. Het pakket biologische middelen effectief tegen witte-vlieg is smal en in diverse gewassen kunnen de beschikbare biologische middelen de plaag niet goed genoeg controleren. Dit geeft veel onzekerheid bij telers en intensieve waarneming met herhaaldelijk aanvullend uitzetten van biologische bestrijders maakt deze aanpak risicovol en weinig aantrekkelijk voor de gemiddelde teler. Recentelijk wordt er wederom gezocht naar nieuwe biologische bestrijders als aanvulling op het bestaande pakket. Het is onzeker of nieuwe bestrijders (voor zover te vinden) deze situatie sterk zullen verbeteren. Sommige gewassen zijn door structuur en (veranderde) teeltwijze (lagere temperaturen i.v.m. energiebesparing e.d.) minder geschikt om biologische bestrijders optimaal te laten werken. Aanpak van volwassen witte-vlieg is een nieuwe/aanvullende ingang bij bestrijding die zich tot nu toe vooral richt op de bestrijding van de larvale stadia. Geïntegreerde gewasbescherming is in het bijzonder afhankelijk van de bestrijding van de larvale stadia met natuurlijke vijanden. Aanvullende niet-chemische teeltmaatregelen die onschadelijk zijn voor natuurlijke vijanden, de effectiviteit van deze middelen ondersteunen/versterken en de toepassing van chemische correctie maatregelen terugdringen zijn gewenst. Gedragsbeïnvloeding van witte-vlieg door toepassing van seksferomonen kan mogelijk nieuwe opties bieden voor effectieve en duurzame bestrijding.

Feromonen van insecten zijn bruikbaar in geïntegreerde teelt voor tenminste vier toepassingen:

1) gericht waarnemen, 2) massaal wegvangen, 3) verwarring waardoor mannetjes vrouwtjes niet kunnen vinden en de voorplanting wordt verhinderd, 4) lokken en doden door combinatie van feromoon met een toegelaten insecticide of biologisch middel. Voor

toepassing 1 en 4 is geen aparte toelating als bestrijdingsmiddel nodig en kan dus direct in de praktijk worden toegepast.

Van een aantal belangrijke plaaginsecten is niet bekend of feromonen een rol spelen bij de biologie van het insect. Zo was tot voor kort onbekend of er bij trips een feromoon bestond en of deze een rol van betekenis vervult bij trips voortplanting. Recentelijk is aangetoond dat dit het geval is (de Kogel & van Deventer, 2003; Kirk & Hamilton, 2004) en er is inmiddels zelfs een product op de markt voor waarneming van californische trips op basis het geïdentificeerde feromoon (Syngenta Bioline Thripline ams.) Onderzoek aan waarnemingshulpmiddelen voor witte-vlieg heeft geleid tot het gebruik van gele vangplaten als ondersteuning bij waarneming. Onderzoek aan geurstoffen is slechts zeer beperkt uitgevoerd in het verleden wat voor een groot deel aan de complexiteit en beperkte verwachtingen voor dit soort insecten ligt. Voor trips werd in het verleden ook weinig waarde gehecht aan geurstoffen, echter het is recentelijk gebleken dat deze stoffen een waardevolle bijdrage leveren aan waarneming en bestrijding van trips. Aantrekkelijke geuren in combinatie met kleur als een nieuwe mogelijkheid voor verbeterde waarneming en bestrijding via “lokken en doden” en “lokken en infecteren” wordt momenteel voor trips ontwikkeld. De resultaten met de trips lokstoffen zijn bemoedigend voor het ontwikkelen van effectieve lokstoffen voor witte-vlieg t.b.v. verbeterde waarneming en bestrijding. Er is één rapportage gevonden waarin aanwijzingen te vinden zijn voor het bestaan van een seksferomoon, geproduceerd door de vrouwtjes van de kas witte-vlieg (Li & Maschwitz, 1983) en twee rapportages over de aantrekkelijkheid van bepaalde plantenoliën (Baranowski & Blaszak, 1996; Gorski, 2003), waarbij echter geen informatie over de samenstelling of bron van deze oliën wordt gegeven.

Het doel van deze studie is om te onderzoeken of er seksferomonen van witte-vlieg bestaan en deze indien mogelijk te identificeren. Het hier voorgestelde identificatie onderzoek zal bestaan uit de volgende stappen:

1. Het invangen en chemisch analyseren van de geur van mannetjes en vrouwtjes witte-vlieg. Twee technieken worden gebruikt, nml. a) geur invangen van levende witte-vlieg op gewas en, b) extraheren van witte-vlieg. Beide technieken samen maximaliseren kans op vinden feromoon.
2. Gedragstoetsen met de extracten om vast te kunnen stellen of en welk ingevangen extract aantrekkelijk is voor witte-vlieg.
3. Chemische/electrofysiologische analyse (via GC-EAD = techniek om geurrepons reukorgaan insecten voor aanwezige stoffen in extract te meten) om te bepalen welke componenten uit biologische attractieve extracten (zie punt 2) waargenomen worden door witte-vlieg.

Wanneer er aangetoond kan worden dat er een feromoon van witte-vlieg bestaat, dan liggen eerder genoemde toepassingen in het verschiet. Hierbij zal de toepassing voor verbeterde waarneming op relatief korte termijn kunnen plaatsvinden. Overige toepassingen liggen op langere termijn i.v.m. verdere ontwikkeling en toelating.

## **Materiaal en Methoden**

### *Insectenkweek*

Witte-vlieg kweken van zowel *Trialeurodes vaporariorum* als *Bemisia tabaci* zijn afkomstig van bestaande kweken bij WUR. Voor dit onderzoek zijn beide soorten op zowel aubergine als tomaat in kweek gebracht om verschillen in afgifte lokstoffen/afweerstoffen door zowel insect als plant in beeld te krijgen.

### *Headspace collectie*

In bijgevoegde tabel staan de diverse headspace collecties vermeld. Via een opstelling met glazen potten waar gefilterde lucht onderin wordt geblazen die vervolgens afgevoerd wordt via een andere opening bovenaan die gekoppeld is aan een glazen buis met invangmedium voor vluchtige stoffen (twee typen gebruikt: SuperQ en Tenax) worden de stoffen die de diverse behandelingen van plant met/zonder witte-vlieg of witte-vlieg alleen uitstoten ingevangen (zie Figuur 1). Naast elke behandeling met plant+witte-vlieg (mannetjes; vrouwtjes; gemengd) wordt een controlepot met alleen plant en een lege pot geplaatst. De stoffen ingevangen in deze beide controles worden gebruikt om enerzijds te corrigeren voor verontreiniging (stoffen niet afkomstig van plant of witte-vlieg) en anderzijds om een onderscheid te maken tussen stoffen die van plant dan wel van witte-vlieg afkomstig zijn. Tevens wordt op deze wijze zichtbaar of de plant als gevolg van aantasting door witte-vlieg nieuwe stoffen dan wel verhoogde hoeveelheden van bepaalde stoffen uitscheiden. Deze stoffen kunnen een rol spelen bij het aanlokken/afstoten van soortgenoten en ook dienen als alarmstoffen om natuurlijke vijanden te lokken.

Een tweede procedure (Solid Phase Micro Extraction (SPME)) waarbij direct stoffen op een medium in de potten wordt geadsorbeerd en die vervolgens zonder extractie direct via de GC-MS kan worden geanalyseerd leverde onvoldoende bruikbare gegevens voor identificatie van de stoffen.

Tabel 1: Headspace collectie witte-vlieg

HEADSPACE COLLECTIE WITTE-VLIEG

Lichtritme klimaatkast: licht van 7.00 - 23.00 uur (16 uur); donker van 23.00 - 7.00 uur (8 uur)

Temperatuur: 24 °C

Soorten witte-vlieg: *Bemisia tabaci* (Ba); *Trialeurodes vaporariorum* (Tv); F=females; M=males

Plantensoorten: tomaat (cv. Moneymaker); aubergine (cv. Halflange violette.)

Headspace potmaat: 2.5 liter

Instelling airflow: 200 ml per minuut

Aansluiting Tenax/super Q buis: direct op de pot en aan de hoogste slang

Witte vliegen ook zonder plant; in een glazen potje met daarop een metaalgaasje. In het metaalgaasje een gaatje met daardoor een vouwfilter met een watje met water.

verzamel code	soort	aantal	plant	datum	tijdsduur	uren	hexaan collect	uren	opmerkingen
0-0	0	0	0	5/11 2007	12.00-17.00	5			
0-0	0	0	0	5/11-6/11 2007	17.00-8.00	15	0-0 (1)	44	ingedampt
0-0	0	0	0	6/11 2007	8.00-17.00	9			
0-0	0	0	0	6/11-7/11 2007	17.00-8.00	15			
0-0	0	0	0	7/11 2007	13.30-17.00	3.5			
0-0	0	0	0	7/11-8/11 2007	17.00-7.00	14			
0-0	0	0	0	8/11 2007	7.00-17.00	10			
0-0	0	0	0	8/11-9/11 2007	17.00-8.00	15			
0-0	0	0	0	12/11 2007	13.30-18.30	5			
0-0	0	0	0	12/11-13/11 2007	18.30-8.00	13.5			
0-0	0	0	0	13/11 2007	8.00-16.30	8.5	0-0 (2)	177	
0-0	0	0	0	13/11-14/11 2007	16.30-10.00	17.5			
0-0	0	0	0	19/11 2007	13.00 - 16.30	3.5			
0-0	0	0	0	19/11-20/11 2007	16.30 - 9.00	16.5			
0-0	0	0	0	20/11 2007	9.00 - 16.30	7.5			
0-0	0	0	0	20/11-21/11 2007	16.30 - 9.00	16.5			
0-0	0	0	0	26/11 2007	12.00-16.00	4			
0-0	0	0	0	26/11-27/11 2007	16.00-9.00	17			
0-0	0	0	0	26/11-27/11 2007	9.00-17.00	8			
0-0	0	0	0	27/11-28/11 2007	17.00-10.00	17			
0-0	0	0	0	28/1 2008	13.00-17.00	4			
0-0	0	0	0	28/1-29/1 2008	17.00-9.00	16			
0-0	0	0	0	29/1 2008	9.00-17.00	8			
0-0	0	0	0	29/1-30/1 2008	17.00-9.00	16			
0-0	0	0	0	11/2 2008	12.00-17.00	5			
0-0	0	0	0	11/2-12/2 2008	17.00-9.00	16			
0-0	0	0	0	12/2 2008	9.00-17.00	8			
0-0	0	0	0	12/2-13/2 2008	17.00-9.00	16			
0-0	0	0	0	18/2 2008	12.15-17.00	4.75			
0-0	0	0	0	18/2-19/2 2008	17.00-8.45	15.75			
0-0	0	0	0	19/2 2008	8.45-17.00	8.25			
0-0	0	0	0	19/2-20/2 2008	17.00-10.00	17			
0-0	0	0	0	25/3 2008	14.00-17.00	3			
0-0	0	0	0	25/3-26/3 2008	17.00-9.00	16			
0-0	0	0	0	26/3 2008	9.00-16.00	7			
0-0	0	0	0	26/3-27/3	16.00-9.00	17			
0-t	0	0	tomaat	5/11-6/11 2007	17.00-8.00	15			
0-t	0	0	tomaat	6/11 2007	8.00-17.00	9			
0-t	0	0	tomaat	6/11-7/11 2007	17.00-8.00	15			
0-t	0	0	tomaat	7/11 2007	13.30-17.00	3.5			
0-t	0	0	tomaat	7/11-8/11 2007	17.00-7.00	14			
0-t	0	0	tomaat	8/11 2007	7.00-17.00	10	0-t (1)	174.5	ingedampt
0-t	0	0	tomaat	8/11-9/11 2007	17.00-8.00	15			
0-t	0	0	tomaat	12/11 2007	13.30-18.30	5			
0-t	0	0	tomaat	12/11-13/11 2007	18.30-8.00	13.5			
0-t	0	0	tomaat	13/11 2007	8.00-16.30	8.5			
0-t	0	0	tomaat	13/11-14/11 2007	16.30-10.00	17.5			
0-t	0	0	tomaat	19/11 2007	13.00 - 16.30	3.5			
0-t	0	0	tomaat	19/11-20/11 2007	16.30 - 9.00	16.5			
0-t	0	0	tomaat	20/11 2007	9.00 - 16.30	7.5			
0-t	0	0	tomaat	20/11-21/11 2007	16.30 - 9.00	16.5			
0-t	0	0	tomaat	26/11 2007	12.00-16.30	4.5			
0-t	0	0	tomaat	26/11-27/11 2007	16.30-9.00	16.5			
0-t	0	0	tomaat	26/11-27/11 2007	9.00-17.00	8			
0-t	0	0	tomaat	27/11-28/11 2007	17.00-10.00	17			

TvF-t	Tv female	150	tomaat	26/11 2007	12.00-16.30	4.5				eind 28/11:
TvF-t	Tv female	150	tomaat	26/11-27/11 2007	16.30-9.00	16.5				plant 1 - ~ 10 dood,
TvF-t	Tv female	150	tomaat	26/11-27/11 2007	16.30-9.00	16.5				> 90 levend op blad
TvF-t	Tv female	150	tomaat	27/11 2007	9.00-17.00	8				plant 2 - ~ 30 dood,
TvF-t	Tv female	150	tomaat	27/11 2007	9.00-17.00	8				>100 levend op blad
TvF-t	Tv female	150	tomaat	27/11-28/11 2007	17.00-10.00	17				Tomatenplanten te
TvF-t	Tv female	150	tomaat	27/11-28/11 2007	17.00-10.00	17				groot veel vocht
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	19/11 2007	13.00 - 16.30	3.5				eind 21/11:
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	19/11-20/11 2007	16.30 - 9.00	16.5				plant 1 - ~ 30 dood,
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	20/11 2007	9.00 - 16.30	7.5				>60 levend op blad
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	20/11-21/11 2007	16.30 - 9.00	16.5				plant 2 - ~ 20 dood,
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	19/11 2007	13.00 - 16.30	3.5				> 70 levend op blad
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	19/11-20/11 2007	16.30 - 9.00	16.5				
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	20/11 2007	9.00 - 16.30	7.5		TvFM-t (1)	176	
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	20/11-21/11 2007	16.30 - 9.00	16.5				plant 3 - 10 dood,
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	19/11 2007	13.00 - 16.30	3.5				>105 levend op blad
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	19/11-20/11 2007	16.30 - 9.00	16.5				
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	20/11 2007	9.00 - 16.30	7.5				plant 4 - ~ 15 dood,
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	20/11-21/11 2007	16.30 - 9.00	16.5				> 85 levend op blad
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	19/11 2007	13.00 - 16.30	3.5				
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	19/11-20/11 2007	16.30 - 9.00	16.5				ingedampt
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	20/11 2007	9.00 - 16.30	7.5				
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	tomaat	20/11-21/11 2007	16.30 - 9.00	16.5				
0-a	0	0	aubergine	26/11 2007	12.00-16.00	4				ingedamt
0-a	0	0	aubergine	26/11-27/11 2007	16.00- 9.00	17				
0-a	0	0	aubergine	27/11 2007	9.00-17.00	8				
0-a	0	0	aubergine	27/11-28/11 2007	17.00-10.00	17				
0-a	0	0	aubergine	21/1 2008	12.30-17.00	4.5				eind 23/11
0-a	0	0	aubergine	21/1-22/1 2008	17.00-8.30	15.5				
0-a	0	0	aubergine	22/1 2008	8.30-17.00	8.5	0-a(1)	179.5		
0-a	0	0	aubergine	22/1-23/1 2008	17.00-9.00	16				
0-a	0	0	aubergine	28/1 2008	13.00-17.00	4				
0-a	0	0	aubergine	28/1-29/1 2008	17.00-9.00	16				eind 28/1
0-a	0	0	aubergine	29/1 2008	9.00-17.00	8				
0-a	0	0	aubergine	29/1-30/1 2008	17.00-9.00	16				
0-t	0	0	tomaat							
0-t	0	0	tomaat							
0-t	0	0	tomaat							
0-t	0	0	tomaat							
0-t	0	0	tomaat				0-t (2)	41.5		
0-t	0	0	tomaat							
0-t	0	0	tomaat							
0-t	0	0	tomaat							
0-t	0	0	tomaat							
0-t	0	0	tomaat							
0-t	0	0	tomaat							
0-t	0	0	tomaat							
0-t	0	0	tomaat							
BaF-t	Ba female	100	tomaat	5/11 2007	12.00-17.00	5				
BaF-t	Ba female	100	tomaat	5/11-6/11 2007	17.00-8.00	15				
BaF-t	Ba female	100	tomaat	6/11 2007	8.00-17.00	9				grootste deel ingezet
BaF-t	Ba female	100	tomaat	6/11-7/11 2007	17.00-8.00	15				is levend gedurende
BaF-t	Ba female	100	tomaat	5/11 2007	12.00-17.00	5				gehele proef en
BaF-t	Ba female	100	tomaat	5/11-6/11 2007	17.00-8.00	15				gesettled op bladeren
BaF-t	Ba female	100	tomaat	6/11 2007	8.00-17.00	9				
BaF-t	Ba female	100	tomaat	6/11-7/11 2007	17.00-8.00	15		BaF-t (1)	176	
BaF-t	Ba female	100	tomaat	5/11 2007	12.00-17.00	5				ingedampt
BaF-t	Ba female	100	tomaat	5/11-6/11 2007	17.00-8.00	15				
BaF-t	Ba female	100	tomaat	6/11 2007	8.00-17.00	9				
BaF-t	Ba female	100	tomaat	6/11-7/11 2007	17.00-8.00	15				
BaF-t	Ba female	100	tomaat	5/11 2007	12.00-17.00	5				
BaF-t	Ba female	100	tomaat	5/11-6/11 2007	17.00-8.00	15				
BaF-t	Ba female	100	tomaat	6/11 2007	8.00-17.00	9				
BaF-t	Ba female	100	tomaat	6/11-7/11 2007	17.00-8.00	15				
BaM-t	Ba male	100	tomaat	7/11 2007	13.30-17.00	3.5				
BaM-t	Ba male	100 (50 dood)	tomaat	7/11-8/11 2007	17.00-7.00	14				bij start 50 dood op
BaM-t	Ba male	100	tomaat	8/11 2007	7.00-17.00	10				1 plant; algemeen
BaM-t	Ba male	100 (50 dood)	tomaat	8/11-9/11 2007	17.00-8.00	15				minder gesettled op
BaM-t	Ba male	100	tomaat	7/11 2007	13.30-17.00	3.5				bladeren en meer
BaM-t	Ba male	100 (50 dood)	tomaat	7/11-8/11 2007	17.00-7.00	14				doden gedurende

BaM-t	Ba male	100	tomaat	8/11 2007	7.00-17.00	10			proef
BaM-t	Ba male	100 (50 dood)	tomaat	8/11-9/11 2007	17.00-8.00	15	BaM-t (1)		eind:
BaM-t	Ba male	100	tomaat						plant 1 - 60 dood,
BaM-t	Ba male	100	tomaat						~15 levend op blad
BaM-t	Ba male	100	tomaat						plant 2 - 60 dood,
BaM-t	Ba male	100	tomaat						~13 levend op blad
BaM-t	Ba male	100	tomaat						
BaM-t	Ba male	100	tomaat						
BaM-t	Ba male	100	tomaat						
BaM-t	Ba male	100	tomaat						
TvM-t	Tv male	100	tomaat	7/11 2007	13.30-17.00	3.5			ingedampt
TvM-t	Tv male	100	tomaat	7/11 2007	13.30-17.00	3.5			algemeen
TvM-t	Tv male	100	tomaat	7/11-8/11 2007	17.00-7.00	14			minder gesettled op
TvM-t	Tv male	100	tomaat	7/11-8/11 2007	17.00-7.00	14			bladeren 7/11 tm. 9/11
TvM-t	Tv male	100	tomaat	8/11 2007	7.00-17.00	10			
TvM-t	Tv male	100	tomaat	8/11 2007	7.00-17.00	10			eind 9/11:
TvM-t	Tv male	100	tomaat	8/11-9/11 2007	17.00-8.00	15			plant 1: 18 dood,
TvM-t	Tv male	100	tomaat	8/11-9/11 2007	17.00-8.00	15	TvM-t (1) 174		>50 levend op blad
TvM-t	Tv male	150	tomaat	12/11 2007	13.30-18.30	5			plant 2: 10 dood,
TvM-t	Tv male	150	tomaat	12/11 2007	13.30-18.30	5			>50 levend op blad
TvM-t	Tv male	150	tomaat	12/11-13/11 2007	18.30-8.00	13.5			
TvM-t	Tv male	150	tomaat	12/11-13/11 2007	18.30-8.00	13.5			eind 14/11:
TvM-t	Tv male	150	tomaat	13/11 2007	8.00-16.30	8.5			plant 1 - 20 dood,
TvM-t	Tv male	150	tomaat	13/11 2007	8.00-16.30	8.5			>60 levend op blad
TvM-t	Tv male	150	tomaat	12/11-13/11 2007	16.30-10.00	17.5			plant 2 - ~ 19 dood,
TvM-t	Tv male	150	tomaat	12/11-13/11 2007	16.30-10.00	17.5			> 55 levend op blad
TvF-t	Tv female	150	tomaat	12/11 2007	13.30-18.30	5			ingedampt
TvF-t	Tv female	150	tomaat	12/11 2007	13.30-18.30	5			eind 14/11:
TvF-t	Tv female	150	tomaat	12/11-13/11 2007	18.30-8.00	13.5			plant 1 - ~ 28 dood,
TvF-t	Tv female	150	tomaat	12/11-13/11 2007	18.30-8.00	13.5			> 98 levend op blad
TvF-t	Tv female	150	tomaat	13/11 2007	8.00-16.30	8.5			plant 2 - ~ 24 dood,
TvF-t	Tv female	150	tomaat	13/11 2007	8.00-16.30	8.5			>129 levend op blad
TvF-t	Tv female	150	tomaat	13/11-14/11 2007	16.30-10.00	17.5			
TvF-t	Tv female	150	tomaat	13/11-14/11 2007	16.30-10.00	17.5	TvF-t (1) 181		
TvF-t	Tv female	150	tomaat	26/11 2007	12.00-16.30	4.5			





TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	12/2 2008	9.00-17.00	8		eind 13/2
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	12/2-13/2 2008	17.00-9.00	16		Veel beesten dood
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	11/2 2008	12.00-17.00	5		plant 1 -
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	11/2-12/2 2008	17.00-9.00	16		> 50 levend op blad
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	12/2 2008	9.00-17.00	8	TvFM-a (1) 156	
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	12/2-13/2 2008	17.00-9.00	16		plant 2 -
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	11/2 2008	12.00-17.00	5		> 70 levend op blad
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	11/2-12/2 2008	17.00-9.00	16		
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	12/2 2008	9.00-17.00	8		plant 2 -
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	12/2-13/2 2008	17.00-9.00	16		> 10 levend op blad
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	11/2 2008	12.00-17.00	5		
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	11/2-12/2 2008	17.00-9.00	16		
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine					plant dood
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine					
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	18/2 2008	12.15-17.00	4.75		
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	18/2-19/2 2008	17.00-8.45	15.75		
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	19/2 2008	8.45-17.00	8.25		eind 20/2
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	19/2-20/2 2008	17.00-10.00	17		
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	18/2 2008	12.15-17.00	4.75		plant 1 -
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	18/2-19/2 2008	17.00-8.45	15.75	TvFM-a (2) 183	> 120 levend op blad
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	19/2 2008	8.45-17.00	8.25		
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	19/2-20/2 2008	17.00-10.00	17		plant 2 -
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	18/2 2008	12.15-17.00	4.75		> 120 levend op blad
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	18/2-19/2 2008	17.00-8.45	15.75		
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	19/2 2008	8.45-17.00	8.25		plant 3 -
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	19/2-20/2 2008	17.00-10.00	17		> 90 levend op blad
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	18/2 2008	12.15-17.00	4.75		
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	18/2-19/2 2008	17.00-8.45	15.75		plant 4 -
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	19/2 2008	8.45-17.00	8.25		> 90 levend op blad
TvFM-t	Tv fem+mal	75 + 75	aubergine	19/2-20/2 2008	17.00-10.00	17		
0-p(otje)	0	0	geen	25/3 2008	14.00-17.00	3		
0-p	0	0	geen	25/3-26/3 2008	17.00-9.00	16		
0-p	0	0	geen	26/3 2008	9.00-16.00	7		
0-p	0	0	geen	26/3-27/3	16.00-9.00	17		
0-p	0	0	geen					
0-p	0	0	geen					
0-p	0	0	geen					
0-p	0	0	geen					
0-p	0	0	geen					
0-p	0	0	geen					
0-p	0	0	geen					
0-p	0	0	geen					
0-p	0	0	geen					
0-p	0	0	geen					
0-p	0	0	geen					
0-p	0	0	geen					
0-p	0	0	geen					
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	25/3 2008	14.00-17.00	3		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	25/3-26/3 2008	17.00-9.00	16		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	26/3 2008	9.00-16.00	7		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	26/3-27/3	16.00-9.00	17		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	25/3 2008	14.00-17.00	3		eind 27/3
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	25/3-26/3 2008	17.00-9.00	16		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	26/3 2008	9.00-16.00	7		alles dood
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	26/3-27/3	16.00-9.00	17		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	25/3 2008	14.00-17.00	3		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	25/3-26/3 2008	17.00-9.00	16		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	26/3 2008	9.00-16.00	7		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	26/3-27/3	16.00-9.00	17		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	25/3 2008	14.00-17.00	3		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	25/3-26/3 2008	17.00-9.00	16		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	26/3 2008	9.00-16.00	7		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	26/3-27/3	16.00-9.00	17		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	25/3 2008	14.00-17.00	3		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	25/3-26/3 2008	17.00-9.00	16		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	26/3 2008	9.00-16.00	7		
TvFM-p	Tv fem+mal	75 + 75	geen	26/3-27/3	16.00-9.00	17		



Figuur 1: Opstelling headspace collectie. 1=inlet gefilterde lucht; 2=exit lucht; 3=Tenax/superQ buis voor invangen geurstoffen

### *Extractie witte-vlieg*

Enkele honderden mannetjes en vrouwtjes van kas witte-vlieg worden separaat in een klein volume hexaan verzameld en na meerdere dagen inweken verwijderd. Het extract is na meerdere zuiveringsstappen gebruikt om te injecteren op de GC-MS. De zuiveringsstap heeft om onbekende reden geen aantoonbare hoeveelheden stoffen opgeleverd die geïdentificeerd konden worden. Deze techniek wordt standaard bij andere insecten met succes toegepast maar blijkt bij deze insectensoort niet te werken. Vervolgens is dezelfde inzameling met nieuwe witte-vlieg herhaald en is in plaats van zuivering na bezinking voorzichtig van de bovenlaag afgepipetteerd en direct geïnjecteerd op de GC-MS. Dit leverde wel een aantal identificeerbare componenten op.

### *GC-MS analyse*

De diverse extracten zijn geïnjecteerd in de GC-MS, waarbij de aparte componenten met behulp van databases kunnen worden geïdentificeerd. Componenten niet aanwezig in de databases blijven onbekend. Definitieve identificatie/verificatie van componenten gebeurt aan de hand van vergelijkende injectie van de pure componenten op de GC-MS. Dit kost veel arbeid en wordt alleen gedaan met componenten waarvoor sterke aanwijzing bestaat dat ze een rol spelen in het gedrag van het insect. Voor totaal onbekende componenten in de analyse geldt dit nog sterker aangezien er hoge kosten verbonden zijn aan identificatie (via NMR analyse). Normaliter wordt eerst een isolatie gemaakt en getest op gedrag van insecten alvorens beslissing te nemen over verdere identificatie.

## Resultaten & Discussie

In de bijlage staat een overzicht van de diverse GC-MS analyses. De gekleurde balken geven aan welke componenten verhoogd of uniek zijn in de vergelijking tussen de 2 behandelingen. Er zijn overall meerdere verschillen gevonden in stoffensamenstelling waarvan echter slechts een klein deel geïdentificeerd kon worden (zie tabel 1). Interessante plantenstoffen gevonden zijn o.a. terpinene, sabinene,  $\alpha$ -pinene, myrcene,  $\beta$ -caryophyllene,  $\alpha$ -copaene en enkele andere stoffen. Een stof (Isobornyl acetate) uniek voor vrouwtjes witte-vlieg is geïdentificeerd maar nog niet getest op biologische activiteit. In het extract van witte-vlieg zijn een tiental stoffen geïdentificeerd die in grotere hoeveelheden aanwezig waren (zie tabel 2). Ook hier geldt dat zowel terugkoppeling naar biologische activiteit noodzakelijk als ook respons antenne witte-vlieg wenselijk is. De techniek ontwikkeling GC-EAD is in dit project door grote problemen bij de voorfase stoffen invangen en zuiveren niet aan bod gekomen. Kleinere pieken in dit extract zijn waarschijnlijk interessant en kunnen verschillen opleveren tussen mannetjes en vrouwtjes maar zijn te laag op detectieniveau om zonder verdere concentrering direct te vinden. Verdere concentrering geeft echter ook grotere ophoping van vervuiling. Het vergt dure technieken om dit weer eruit te halen. Het verwijderen van vervuiling geeft ook grotere kans op verwijdering van doelstoffen. Daarom is in dit geval de ondersteunende techniek van GC-EAD waardevol omdat antennes van insecten geuren herkennen op een veel lager niveau dan onze technieken nochtans mogelijk maken. Dat geldt dan niet zozeer voor de plantenstoffen maar wel vaak voor feromonen.

Tabel 1. Potentieel interessante stoffen geïdentificeerd in de headspace van witte vlieg en/of waardplant.

Stofnaam	t.o.v. alleen plant of andere geslacht of blanco	retentietijd	herkomst
2-carene / terpinene ?	verhoogd	9.74	plant + m/v T.vap. t.o.v. plant
sabinene	verhoogd	10.31	plant + m/v T.vap. t.o.v. plant
$\alpha$ -copaene / cubebeen ?	verhoogd	16.18	plant + m/v T.vap. t.o.v. plant
(E)- $\beta$ -caryophyllene	verhoogd	16.85	plant + m/v T.vap. t.o.v. plant
longifolene	verlaagd	16.71	plant + m/v T.vap. t.o.v. plant
nonaan	verhoogd	4.82	Plant + m T.vap. t.o.v. plant
Ethyl-methyl benzeen	verhoogd	5.91	m t.o.v. v (vervuiling ??)
Trimethyl benzeen	verhoogd	6.48	m t.o.v. v (vervuiling ??)
Onbekende stof	verhoogd	15.54	m t.o.v. v (vervuiling ??)
$\alpha$ -pinene	Uniek	5.53	Plant+m t.o.v. blanco
$\beta$ -myrcene	Uniek	6.48	Plant+m t.o.v. blanco
$\alpha$ -copaene	Uniek	12.69	Plant+m t.o.v. blanco
Lineaire alcohol ?	Uniek	12.78	Plant+m t.o.v. blanco
Vertakt alkaan ?	Uniek	14.33	Plant+m t.o.v. blanco
Hexadeceen ?	Uniek	15.40 / 49	Plant+m t.o.v. blanco
onbekend	Uniek	16.69	Plant+m t.o.v. blanco
Isobornyl acetate	Uniek	11.36	Plant+v t.o.v. plant+m

Tabel 2. Stoffen geïdentificeerd in het extract van *Trialeurodes vaporariorum* (mannetjes + vrouwtjes tezamen).

Stofnaam	retentietijd
Methyl hexadecanoaat	22.12
(Z)-9-hexadeceenzuur	22.30
Hexadecaanzuur	22.51
Methyl (Z,Z)-9,12-hexadecadienoaat	23.95
Methyl (Z)-9-hexadecenoaat	23.99
Methyl (Z,Z,Z)-9,12,15-hexadecatrienoaat	24.03
Methyl octadecanoaat	24.20
(Z,Z)-9,12-octadecadienzuur	24.41
(Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienzuur	24.45
Octadecaanzuur	24.56

## Conclusies

1. Het onderzoek naar de geurstoffen die door witte vlieg al of niet in combinatie met waardplanten geproduceerd worden heeft een aantal kandidaatstoffen opgeleverd die in het veld getest kunnen worden op aantrekkelijkheid voor witte vlieg.
2. Het gaat hierbij om stoffen van plantaardige en insect-oorsprong.
3. Of er daadwerkelijk feromooncomponenten bij zitten is niet vastgesteld. Hiervoor is verder onderzoek nodig
4. De oorspronkelijke doelstelling om door EAG en/of gedragstoetsen de aantrekkelijkheid van de kandidaat stoffen vast te stellen is niet behaald door de complexiteit van fase 1.

## References

- Baranowski, T. & Blaszak, D. (1996). The influence of colour and smell on the effectivity in catching greenhouse whitefly. *Roczniki Nauk Rolniczych, Seria E, T, 25, Z 1/2, 59-61.*
- Birkett, M.A., Chamberlain, K., Guerrieri, E., Pickett, J.A., Wadhams, L.J. & Yasuda, T. (2003). Volatiles from whitefly-infested plants elicit a host-locating response in the parasitoid, *Encarsia formosa*. *Journal of Chemical Ecology* 29, 1589-1600.
- Gorski, R. (2003). Evaluation of the effectiveness of natural essential oils in the monitoring of the occurrence of greenhouse whitefly. *Journal of Plant Protection Research* 43 (4), 393-397.
- Li, T & Maschwitz, U. (1983). Sexual pheromone in the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* Westw. *Zeitschrift fur Angewandte Entomologie* 95, 439-446.

## Bijlagen

De figuren in de bijlagen zijn GS-MS analyses van de geurstoffen zoals die zijn ingevangen van de verschillende insect-plant combinaties. Steeds worden per pagina van boven naar beneden weergegeven de analyses van:

- 1) tomaat met mannelijke *T. vaporariorum* vs tomaat met vrouwelijke *T. vaporariorum*
- 2) tomaat vs tomaat met vrouwelijke en mannelijke *T. vaporariorum*
- 3) vrouwelijke en mannelijke *T. vaporariorum* vs tomaat met vrouwelijke en mannelijke *T. vaporariorum*
- 4) blanco vs tomaat met vrouwelijke en mannelijke *T. vaporariorum*

De GC-MS analyses zijn als volgt opgesplitst om zo voldoende detail te kunnen weergeven:

- blz 14 minuut 5-7
- blz 15 minuut 7-9
- blz 16 minuut 9-11
- blz 17 minuut 11-13
- blz 18 minuut 13-15
- blz 19 minuut 15-17
- blz 20 e.v. overzicht tomaat met mannelijke *T. vaporariorum* vs tomaat met vrouwelijke *T. vaporariorum*



## - Bijlage

