

# Toetsing op Erwinia in hyacint: nu mogelijk bij de NAK

Naast uitwendige versmering via besmette partijen kan Erwinia sluimerend aanwezig zijn in de bol. Gevoelige toetsen zijn dan nodig om Erwinia aan te tonen. Daarnaast moet er voldoende capaciteit zijn om grotere aantallen bollen te kunnen toetsen. In een samenwerkingsverband van PPO, NAK, BKD, CNB en HOBACHO is een door de NAK ontwikkelde DNA-test uitgevoerd op tientallen partijen hyacintenbollen van verschillende herkomst en kwaliteit. De resultaten van deze toets waren zo goed dat de toets inmiddels beschikbaar is voor de hyacintenbranche.



Agressief snot kan voor veel schade in hyacinten zorgen

Tabel 1) en vooral Dickeya de laatste 10 jaar als bacterieziekte een hoofdrol. Veel van deze bacterieproblemen in aardappel lijken op die in de bloembollensector. Daarom trachten beide sectoren dan ook op onderzoeksgebied samen te werken. Kon tot voor kort uitsluitend via een serologische toets (ELISA) bij de NAK op bepaalde Erwinia-soorten worden getoetst, vorig jaar heeft de NAK, na veel onderzoek, de real-time PCR ("BioPlex"-toets) in gebruik genomen. Reden voor PPO om contact op te nemen om te zien of deze toets bruikbaar is voor in eerste instantie hyacint.

## PARTIJHISTORIE, STRESS- EN LABORATORIUMTOETS

Om de waarde van de BioPlex-toets te onderzoeken zijn, in samenwerking met CNB en HOBACHO, 41 partijen hyacinten (leverbaar, werkbollen) van bekende en verschillende herkomst (Frankrijk, Nederland) aangeleverd. De historie op het gebied van eventuele Erwinia-besmetting in de verschillende partijen varieerde van gezond tot matig en zwaar besmet.

.....  
 'Een toekomstige  
 mogelijkheid is om ook  
 andere bolgewassen te  
 gaan onderzoeken op  
 aanwezigheid van Dickeya  
 en/of Pectobacterium'  
 .....

Deze partijgegevens zijn overigens door het bedrijfsleven pas na uitvoering van de toetsen aan NAK en PPO bekend gemaakt. Van deze 350-400 bollen per partij zijn er 50-100 gebruikt voor een stresstoets bij PPO (zie ander artikel in dit blad) om te onderzoeken of de partijen latent besmet zijn met Dickeya of Pectobacterium (driemaal sorteren, in plastic verpakt, gevolgd door incubatie bij 30 of 38°C). Tweehonderd bollen zijn gebruikt voor de BioPlex-toets bij de NAK. In aanvulling hierop werd door de NAK ook een ELISA uitgevoerd op Dickeya, die de uitslag van de BioPlex-toets ondersteunde. De BKD onderzocht ondertussen of de gebruikte bemonsteringsmethode voor Dickeya bij hyacint (een stukje van de neus en bolbodem) geschikt was.

## BIOPLEXTOETS WERKT GOED

In Tabel 2 is een samenvatting te zien van

de verschillende partijen hyacinten, beoordeeld via de stresstoets (39 partijen) en de BioPlex-toets (43 partijen). De gegevens van CNB en HOBACHO omtrent de kwaliteitseigenschappen van deze partijen zijn als referentie gebruikt. Deze werden dan beoordeeld als een gezonde, matige of zieke partij. Bij een eerste serie monsters (stresstoets 30°C) leverde de stresstoets in 75% een goede uitslag over de aanwezigheid van snot op, terwijl de BioPlex in alle gevallen (100%) een goede uitslag gaf. Bij 38°C scoorde de stresstoets niet goed. Blijkbaar geeft een hoge temperatuur specifieke snotverschijnselen; deze stressconditie moet aangepast worden. De BioPlex gaf in het laatste geval (tweede serie monsters) in 96% van de gevallen (23 partijen) een goede uitslag. De DNA-toets van de NAK blijkt dus goed te presteren wanneer de uitkomsten worden vergeleken met reeds bekende kwaliteitseigenschappen van deze partijen.

## OOK ANDERE GEWASSEN?

Een toekomstige mogelijkheid is om ook andere bolgewassen, zoals iris, Muscari, dahlia en Zantedeschia, te gaan onderzoeken op aanwezigheid van Dickeya en/of Pectobacterium. Dit zal nog wel wat onderzoek vergen daar er, in vergelijking met hyacint, verschillen zijn in de bemonstering en type Erwinia in deze gewassen. Een ander belangrijk punt van aandacht is het zachtrot in hyacint dat veroorzaakt wordt door Pectobacterium. Om de bruikbaarheid

van de DNA-toets nog verder te verhogen moet voor de ziekteverwekkende isolaten van Pectobacterium in hyacint nog een toets worden ontwikkeld ter aanvulling van de toets op agressief snot (Dickeya). Toch zijn de resultaten zo goed, dat de NAK de toets beschikbaar stelt voor op verzoek toetsing. De betrouwbaarheid hangt wel af van het nemen van een representatief monster. Door partijen hyacinten, vooral werkbollen, te toetsen kan het risico op verspreiding van agressief snot aanzienlijk ingeperkt worden. Dit is een flinke stap richting Dickeya-vrije hyacintenteelt. Door partijen die voor werkbollen opgeplant worden te toetsen voor opplant, kan een goede start gemaakt worden met een gezonde teelt

*Dit onderzoek is gefinancierd door het Productschap Tuinbouw. Aanvullende informatie is via [www.tuinbouw.nl](http://www.tuinbouw.nl) te vinden onder PT nr. 13771.*

.....

**Resumé**

• Naast het uitvoeren van een thuistoets op Erwinia kan de teler nu ook zijn partij- en laten testen bij de NAK in Emmeloord met een PCR-toets. In dit artikel wordt uitgelegd hoe de toets werkt en hoe nauwkeurig hij is.

.....

**Tabel 1.** De verschillende benamingen van de Erwinia-soorten, in Nederland aangetroffen in bloembollen en aardappel

Erwinia-soort	in hyacint	in (poot-) aardappel
Pectobacterium atrosepticum (voorheen Erwinia carotovora subsp. atroseptica)	nee	ja
Dickeya-soorten (agressief snot) (voorheen E. chrysanthemi):	D.dianthicola D. solani D. dadantii	D. dianthicola D. solani nee
Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum (oud witsnot) (voorheen E. carotovora subsp. carotovora)	Ja, maar andere pathogene stammen dan in aardappel	Ja, maar andere pathogene stammen dan in hyacint

**Tabel 2.** Vergelijking NAK-toets met de stresstoets, met als referentie de partijhistorie zoals gegeven door CNB en HOBACHO van de partijen hyacinten.

aantal partijen	stress toets	% overeenkomst met verwachting partij historie					
		stress toets			NAK		
		goed	twijfel	niet	goed	twijfel	niet
20	30°C	75	0	25*	100	0	0
19 resp. 23	38°C	47	11	42**	96	0	4*

\*veelal te weinig \*\*veelal te veel

## De NAK-toets op agressief snot

De BioPlex-toets van de NAK richt zich op het aantonen van de Dickeya (Erwinia) soorten die agressief snot veroorzaken. De toets toont niet het oude witsnot aan. Monsters van 200 bollen worden opgedeeld in clusters van 10 en uit iedere bol worden de top en een stukje van de bodem gesneden. Na het vermalen van het bolmateriaal volgt een drie dagen durende incubatie van het bolsap in een verrijkingvloeistof: de Dickeya-bacteriën gaan zich vermeerderen en krijgen op die manier een gunstige uitgangspositie ten opzichte van veel andere, eveneens in het sap aanwezige, bacteriën. In de BioPlex PCR worden vervolgens kleine stukjes DNA – specifiek voor de Dickeya-soorten die agressief snot veroorzaken – vermenigvuldigd tot een hoeveelheid die aantoonbaar is. Dat laatste gebeurt in een PCR-apparaat waarbij het aantonen van de bacterie rechtstreeks, visueel te volgen valt. Op basis van de, al dan niet positieve, reacties in de 20 clusters van 10 bollen wordt vervolgens een besmettingspercentage berekend.

## Opsturen monsters

Belangstellenden kunnen zelf monsters insturen naar NAK AGRO in Emmeloord (vrijwillig onderzoek). In alle gevallen dient de inzender van te voren bij NAK AGRO speciale inzendinglabels aan te vragen. Deze labels zijn verder het hele seizoen te gebruiken voor het inzenden van monsters. De bruikbaarheid van de toets heeft veel te maken met de vraag hoe representatief het onderzochte monster is. In een klein monster uit de partij bollen is de pakkans van de bacterie natuurlijk veel geringer dan in een groot monster. De minimum monstergrootte van het BioPlex-onderzoek is 200 bollen. Inzenders die een grotere pakkans verlangen, dienen een groter monster in te zenden (zie grafiek).

## Kosten, aanlevering en uitslag

De kosten van het onderzoek bedragen € 360 per 200 bollen. Monsters worden alleen op donderdag in behandeling genomen: donderdag om 08.00 uur bij NAK AGRO betekent de donderdag erop vóór 17.00 uur de uitslag per mail aan huis. De toets is vanaf 1 juni 2010 beschikbaar. NAK AGRO heeft ook de mogelijkheid om één of enkele rottende bollen in te zenden voor de identificatie van de bacterie die het rot veroorzaakt (vraagstelling: is dit agressief rot?). Dit zogenaamde diagnostische onderzoek wordt onmiddellijk in behandeling genomen en kent een apart tarief; de doorloop-snelheid is korter. Zie verder: [www.nakagro.nl](http://www.nakagro.nl) (klik: Publicaties) of vraag informatie via 0527-635409 (klantenservice Nak Agro)