

# Genetische identificatie en detectie van *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc)

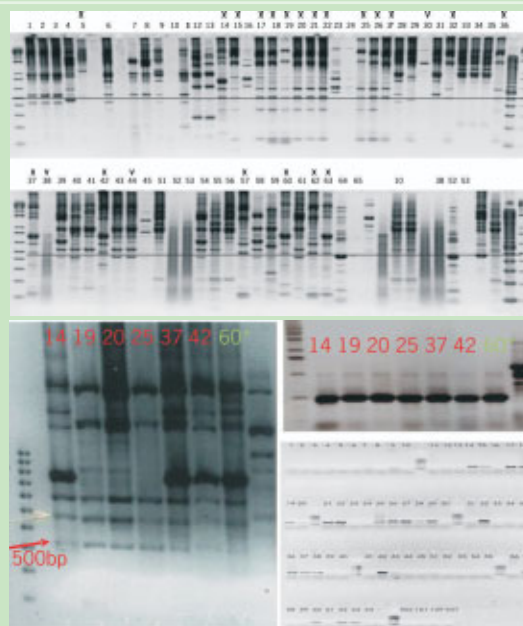
Arjen Speksnijder, Jan van der Wolf, Joop van Doorn

## Uitgangspunt

Uit een hoog percentage zieke aardappelplanten wordt alleen Ecc geïsoleerd. Gevreesd wordt dat gespecialiseerde isolaten van Ecc in staat zijn ziekte te veroorzaken. Ook vanuit de bollenteelt komen signalen dat Ecc een mogelijke veroorzaker kan zijn van bacterierot. Dit kan grote consequenties hebben voor de keuring en monitoring. Door de grote serologische variatie van Ecc zijn er geen betrouwbare antistoffen beschikbaar. Daardoor kan er niet serologisch op dit pathogeen getoetst worden.

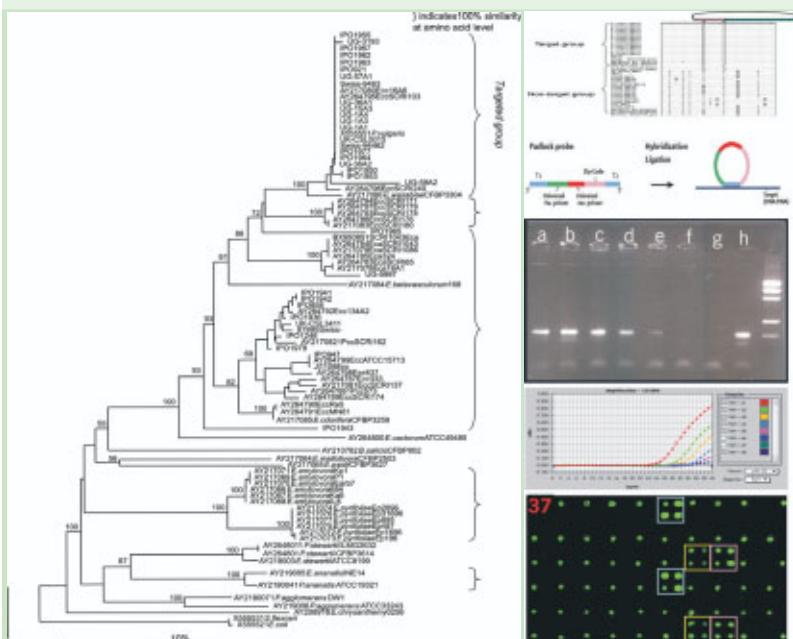
## Onderzoek

Met genetische fingerprint-technieken wordt gezocht naar moleculaire merkers. Op basis van deze merkers kunnen specifieke moleculaire toetsen ontwikkeld worden voor keuringsdiensten en onderzoeksinstellingen.



Boven: REP-fingerprint-analyse van Ecc-isolaten en verwante soorten, identificatie van een gemeenschappelijke 500bp band.

Onder: Isolatie, PCR en sequentie bepaling van de gemeenschappelijke band van zeven isolaten. Ontwikkeling en validatie van een specifieke PCR.



\* Phylogenetische analyse van *Erwinia*-isolaten op basis van *recA*-gen-sequenties.

\* Identificatie van diagnostische sites op basis van *recA*-sequenties.

\* Moleculaire detectie met Padlock-probe-technologie (PLP).

\* Ecc-PLP-detectie met behulp van PCR, Taqman probe en Microarrays.

## Resultaten

Ecc-isolaten uit bacteriezieke aardappelplanten zijn moleculair gekarakteriseerd. Er is een relatie met ziekte gevonden op basis van *recA*-sequentie-analyses en van een 500bp band in de REP-vingerprintanalyses. Op basis van het *recA*-gen is een padlock-probe-detectie ontwikkeld. Op basis van de 500bp band is een PCR-toets ontwikkeld.

In 2005 heeft een validatie van de PCR-toets plaatsgevonden. Bacteriezieke planten, waarin voorheen geen *Erwinia* aangetoond kon worden, gaven voor het grootste deel positieve identificaties met de 500bp PCR. In de helft van deze planten kon de PCR bevestigd worden via herisolatie van Ecc.

## De praktijk

De ontwikkeling van een detectiestrategie van Ecc heeft geleid tot positieve identificatie van bacteriezieke planten waarin voorheen geen *Erwinia* gedetecteerd kon worden. Ecc-detectie kan bijdragen aan een beter begrip van het bacteriezieke probleem in aardappelen en bloembollen en aan verbeterde detectie binnen de keten.

**Contact:** Arjen Speksnijder  
Plant Research International B.V.  
Postbus 16, 6700 AA Wageningen  
T 0317 47 62 13 - F 0317 41 80 94  
arjen.speksnijder@wur.nl  
www.pri.wur.nl