

KNPV-werkgroep Trichodoriden en tabaksratelvirus

Samenvattingen van de voordrachten gehouden op de vergadering van 14 maart 2000 te Oosterbeek

Nauwkeurigheid van tellen van nematoden uit suspensies

W. van den Berg

Praktijkonderzoek voor de Akkerbouw en de Vollegrondsgroenteteelt (PAV), Postbus 430, 8200 AK Lelystad

Bij het aaltjesonderzoek wordt op het laboratorium uit een grondmonster een suspensie van nematoden geëxtraheerd. Terwijl de suspensie zo goed mogelijk wordt gehomogeniseerd, worden hieruit twee monsters genomen en het aantal nematoden in beide monsters wordt geteld. Is het verschil tussen de uitkomst van beide tellingen te groot dan wordt een derde telling uitgevoerd. Vervolgens wordt besloten of één van de drie tellingen een uitbijter is.

Een formule is opgesteld voor de overschrijdingskans van het verschil van de eerste twee tellingen. Deze overschrijdingskans kan worden gebruikt om te beslissen wel of niet een derde telling uit te voeren. Voor het geval er drie tellingen worden uitgevoerd wordt de overschrijdingskans van het aantal nematoden van elk van de drie tellingen gegeven. Deze overschrijdingskansen kunnen worden gebruikt om een afzonderlijke telling tot uitbijter te verklaren. Verder wordt een formule gegeven voor de variatiecoëfficiënt van het getelde aantal nematoden na één, twee en drie tellingen.

Er wordt aangegeven hoe de overschrijdingskansen en de variatiecoëfficiënt berekend kunnen worden binnen EXCEL.

Verder wordt voorgesteld om bij besluit tot een derde telling en het verklaren tot uitbijter een overschrijdingskans van 5 % aan te houden.

Kwantitatieve detectie van tabaksratelvirus (TRV) in trichodoride vectoraaltjes met behulp van Taqman RT-PCR

F.C. Zoon, P.C. Maris, O. Bicakci and C.D. Schoen,

Plant Research International, Postbus 16, 6700 AA Wageningen.

Een moleculaire test is ontwikkeld voor de detectie van TRV in trichodoride aaltjes. Deze is gebaseerd op selectieve amplificatie van cDNA als kopie van viraal RNA. Detectie van het PCR-product gebeurt via een fluorogene TaqMan-probe. De doelsequentie ligt op het RNA1 en komt algemeen voor in tot nu toe onderzochte TRV-isolaten. Met de nieuwe methode werd TRV gedetecteerd in tabak besmet met verschillende TRV serotypen, in individuele virusdragende *Paratrichodorus* teres en in nematodensuspensies opgespoeld uit trichodoriden-bevattende grond.

Een schatting van het aantal TRV-deeltjes in ondermeer individuele vectoraaltjes kon worden gemaakt door middel van real-time meting van de opkomende fluorescentie tijdens de PCR-reactie en referentie-reeksen van een TRV-RNA-extract met bekende concentratie. De gevonden range in het aantal deeltjes per aaltje kwam overeen met schattingen gebaseerd op de afmetingen van de slokdarm en gepubliceerde pakking van virusdeeltjes langs de slokdarmwanden. De nieuwe RT-PCR methode is een zeer gevoelig gereedschap voor kwantitatief onderzoek aan virusoverdracht. Het mogelijke gebruik ten behoeve van snelle bepaling van de infectiedruk in grondmonsters is in onderzoek.

Onderzoek ter verbetering van toetsing op trichodoride-aaltjes en tabaksratelvirus van percelen bestemd voor de teelt van gladiolen voor export naar Japan

¹C.J. Asjes, ²M. Wester, ¹G.J. Blom-Barnhoorn,

³T. van Es, ⁴F.C. Zoon, ¹A.S. van Bruggen

¹LBO, Postbus 85, 2160 AB Lisse,

²Blgg Oosterbeek Postbus 115,

6860 AC Oosterbeek, ³BKD, Postbus 300,

2160 AH Lisse, ⁴Plant Research International, Postbus 16, 6700 AA Wageningen

Verschillende bloembolgewassen kunnen schade ondervinden van het tabaksratelvirus (TRV) dat wordt overgebracht door trichodoride aaltjes. Voor export van gladiolen naar Japan wordt de eis gesteld dat de grond waarop de knollen geteeld worden vrij is van trichodoride aaltjes. Naar aanleiding hiervan wordt in opdracht van de Bloembollenkeuringsdienst (BKD) een bemonsteringsproject uitgevoerd door het Bedrijfslaboratorium voor grond- en gewasonderzoek (Blgg Oosterbeek) in samenwerking met het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek (LBO) en Plant Research Internation-

al (PRI). In het project worden verschillende methoden voor het voorspellen van de kans op het optreden van ratelvirusaantasting met elkaar vergeleken. In het onderzoek zijn grondmonsters van gladiolenpercelen verzameld. Er worden hierbij enkele bemonsteringsmethoden en -tijdstippen vergeleken. Verder worden enkele toetsmethoden voor het vaststellen van de aanwezigheid van trichodoride aaltjes en/of TRV in grondmonsters beproefd. Het Blgg Oosterbeek bepaalt of de grond trichodoride aaltjes bevat, het LBO test door middel van een biotoets of er TRV-overdragende trichodoride aaltjes in de grond aanwezig zijn en op het PRI wordt met PCR getest of de aaltjes uit de grondmonsters TRV bij zich dragen. Verder worden gladiolenknollenmonsters van de bemonsterde percelen verzameld om vast te stellen of er TRV-aantasting in de nateelt optreedt.

Voorlopige resultaten wijzen er op dat een vroege bemonstering in mei een grotere kans geeft op het vinden van trichodoride aaltjes en TRV dan een bemonstering in juli. Er was geen verschil met betrekking tot de kans op het vinden van aaltjes en virus tussen bemonstering met een fijne grondboor (diam 1.4 cm) met een groter aantal steken per oppervlakte en een bemonstering met een beperkter aantal steken met een grove boor (diam. 2.5 cm). Tot dusver is nog geen goede correlatie gevonden bij de verschillende toetsmethoden tussen het vinden van aaltjes of virus en het optreden van ratelvirusaantasting in de nateelt van de gladiolen.