

Ontwikkeling snelle diagnostiek stengelaaltjes

• TEKST : JOOP VAN DOORN, TREES HOLLINGER, KHANH PHAM, ANNE SOPHIE VAN BRUGGEN, PPO SECTOR BLOEMBOLLEN, LISSE
HENNY VAN EWUIK-WESSELS EN LOES DEN NIJS, PLANTENZIEKTENKUNDIGE DIENST
• FOTO : PPO

Het aantonen van het quarantaine-organisme tulpenstengelaaltje duurt momenteel minstens 3 maanden. Hierdoor kunnen pas laat beslissingen genomen worden over verdachte partijen en de percelen waar deze bolgewassen op geteeld zijn. PPO werkt daarom aan snellere toetsen opdat veel sneller bekend is om welk ras van het aangetroffen stengelaaltje het gaat.

Het stengelaaltje (*Ditylenchus dipsaci*) is een quarantaine-organisme in bloembollen. Dit betekent dat als deze nematode wordt aangetroffen op een bloembollenbedrijf, de partij bollen behandeld of vernietigd moet worden. Het betreffende perceel mag de eerste tien jaar niet meer voor bloembollenteelt gebruikt worden, of moet ontsmet worden.

Voor de bepaling van het tulpenstengelaaltje hanteert de Plantenziektenkundige Dienst (PD) de tulpenboltoets: gezuiverde stengelaaltjes uit ingezonden monsters van bolgewassen (bijvoorbeeld narcis of hyacint) worden op een tulpenbol gebracht. Hiertoe is een stukje van de bol opgeruwd met schuurpapier en na opbrengen van de aaltjes toege-

dekt met watjes. Drie maanden worden de zo behandelde tulpenbollen onder geconditioneerde omstandigheden bewaard. Als een duidelijke toename van het aantal aaltjes wordt vastgesteld gaat het om het tulpenstengelaaltje. Drie maanden is eigenlijk te lang om nog de goede bedrijfsmaatregelen te kunnen treffen.

NIEUWE TOETSEN

PPO is begonnen met de ontwikkeling van een alternatieve biotoets om mogelijk de tulpenboltoets van de PD op termijn te vervangen. Voor deze nieuwe toets worden weefselkweekplantjes gebruikt. Tulpenstengelaaltjes bleken zich namelijk snel te vermeerderen op deze weefselkweekplantjes.

Voor deze biotoets werd een druppel water met 50-100 aaltjes opgebracht op een weefselkweekplantje van tulp. Na drie weken werd gekeken naar het aantal aaltjes. Als de aaltjes zich vermeerderd hadden tot 500-2.000 exemplaren was sprake van het tulpenstengelaaltje. Er zijn ook weefselkweekplantjes van hyacint gebruikt om zo het hyacintenstengelaaltje te kunnen onderscheiden. In 2003 wordt getracht ook weefselkweekplantjes van narcis in te zetten om zo de verschillende stengelaaltjesrassen, voorkomend in bolgewassen te onderscheiden.

Naast de biotoets is een DNA-toets opgezet. Er is een stukje DNA gevonden van het tulpenstengelaaltje dat alleen bij dit ras voorkomt en niet bij narcissen-, hyacinten-, en (tot zover getest) uienstengelaaltjes. Ook bij andere stengelaaltjesrassen, afkomstig van aardappel en luzerne, werd dit stukje DNA niet aangetroffen.

Voor deze DNA-toets werden geïsoleerde en gezuiverde stengelaaltjes stukgesneden onder steriele omstandigheden onder de microscoop en in een reactievaatje gebracht. Hierin werd dan de DNA-toets (PCR) uitgevoerd, waarbij alleen het stukje unieke tulpenstengelaaltjes-DNA wordt vermenigvuldigd tot meetbare hoeveelheden. Dit stukje DNA is dan zichtbaar te maken als een wit bandje op een gel: als dit zichtbaar wordt bevat het monster het tulpenstengelaaltje! Deze toets is, inclusief de isoleer- en zuiveringsstappen van de aaltjes uit plantmateriaal, binnen twee tot drie dagen uitvoerbaar. Dit betekent een aanzienlijke tijdswinst. Om zeker te zijn van de betrouwbaarheid van de DNA-toets moeten er dit jaar nog veel meer monsters getest worden.



Weefselkweekplantje van hyacint, aangetast door het tulpenstengelaaltje. De epidermis (opperhuid) is losgeraakt doordat het weefsel eronder door de aaltjes is weggevreten.

TOETSVERGELIJKING

Een belangrijk aspect voor de invoering van een nieuwe toets, zeker als het gaat om een quarantaine-organisme, is de validatie. De nieuwe toets minstens zo betrouwbaar zijn als de bestaande toets. Daarom zijn in 2002 monsters, verdacht van stengelaaltjes en opgestuurd naar de PD in Wageningen, ook naar PPO in Lisse gestuurd. De biotoets met weefselkweekplantjes werd uitgevoerd zoals vermeld. De DNA-toets kwam pas in de loop van 2002 beschikbaar; niet alle monsters zijn hiermee getoetst.

PD en PPO hebben onafhankelijk van elkaar de monsters getoetst. Gebleken is dat de resultaten van de biotoets en

(tot zover getest) de DNA-toets goed overeenstemden met de uitslagen, verkregen door de PD met de tulpenboltoets.

Niet alles verliep in dit eerste testjaar vlekkeloos. De geïsoleerde stengelaaltjes uit monsters bleken maar kort in leven te houden buiten het plantmateriaal. Ook vond uitval plaats van weefselkweekplantjes door schimmelinfecties. Uiteraard zijn er verbeteringen doorgevoerd voor de nieuwe serie toetsingen. In 2003 zal de verdere validatie in nauwe samenwerking met de PD worden uitgevoerd.

Het onderzoek is gefinancierd door het Productschap Tuinbouw

STENGELAAL WAT GEBEURT ER?

Als op een bedrijf stengelaaltje wordt aangetroffen moeten verdachte monsters naar de PD worden gestuurd, de officiële instantie die uitsluitsel geeft of het om tulpenstengelaaltjes gaat of niet. De PD gebruikt daarvoor de tulpenboltoets. Na drie maanden is vast te stellen of het gaat om tulpenstengelaaltjes, en niet om andere stengelaaltjes. Deze overige stengelaaltjesrassen hebben een veel minder brede waardplantenreeks en zijn min of meer gebonden aan de bolgewasgroep waar zij hun naam aan ontlenuen.

Maatregelen Op een perceel met stengelaaltjes mogen tien jaar geen vatbare bolgewassen worden geteeld. Na tien jaar wordt het teeltverbod opgeheven. Als speciale maatregelen zijn getroffen, kan het teeltverbod korter zijn, bijvoorbeeld grondontsmetting en/of rooien met een bollenkneuzer. Partijen bollen (behalve tulpen) met een vastgestelde stengelaaltjesbesmetting moeten worden behandeld met een warmwaterbehandeling. Als voorbeeld: bij narcissenbollen is dit, na een voorweektraject, 4 uur 47°C. Tulpenpartijen moeten vernietigd worden. Warmwaterbehandeling van tulpen is niet mogelijk. De bollen lopen ernstige spruitbeschadiging op.

OVERIG STENGELAALTJES- ONDERZOEK PPO

Verspreidingsmechanismen van stengelaaltjes

Naast het vermelde project houdt PPO zich ook bezig met de mechanismen van de verspreiding van stengelaaltjes op bedrijven. Gekeken wordt naar de aanwezigheid van stengelalen in schuurstof op bedrijven die een besmetting hebben gehad, de overleving van stengelaaltjes in onkruiden en de overlevingsduur van stengelaaltjes bij verschillende waardplanten in de grond.

Kruisingen tussen aaltjesrassen

Ook wordt onderzoek gestart om mogelijke kruisingen tussen de verschillende stengelaaltjesrassen in bloembolgewassen vast te stellen.

Verbeteren warmwaterbehandeling

Een nieuw belangrijk probleem lijkt ontstaan te zijn bij de warmwaterbehandeling ("koken") van narcissenbollen ter bestrijding van het narcissenstengelaaltje. Er zijn aanwijzingen dat er minder temperatuurgevoelige populaties van dit stengelaaltjesras bestaan die niet afdoende gedood worden door 4 uur 47°C. Bovendien mag er geen formaline meer worden toegepast bij het "koken" van bollen. PPO tracht te achterhalen of hitteresistentie voorkomt bij narcissenstengelaaltjes en of dit middels DNA-technieken is op te sporen. Verder wordt een nieuw project gestart om een beter toepasbare warmwaterbehandeling te ontwikkelen door voorweken van de bollen te vervangen door langer koken.

Stengelaaltjesrassen in bolgewassen

1. Tulpenstengelaaltje	breed waardplantenbereik (o.a. Tulipa, Narcissus, Hyacinthus)
2. Narcissenstengelaaltje	Narcissus, Hippeastrum, Galanthus en andere verwante gewassen
3. Hyacintenstengelaaltje	Hyacinthus, Muscari, Chionodoxa en andere hyacintachtigen
4. Uienstengelaaltje	Krokus Grote Gele, Allium
5. Knoflookstengelaaltje	Allium