

# TaqMan-toets - snelle en gevoelige bepalingmethode voor Meloidogyne-besmettingen in aardappelknollen

Carolien Zijlstra, Richard van Hoof, Gerard Korthals, Thomas Been

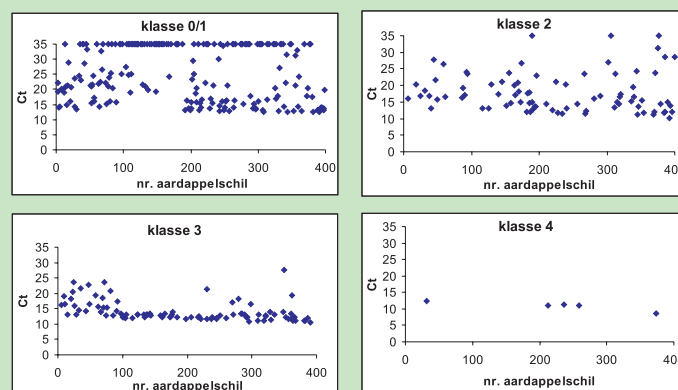
## Uitgangspunt

Er is behoefte aan snelle en betrouwbare methoden voor opsporing en kwantificering van *Meloidogyne chitwoodi* en *M. fallax* in bodem- en partijmonsters van opkweekingsmateriaal (aardappel).

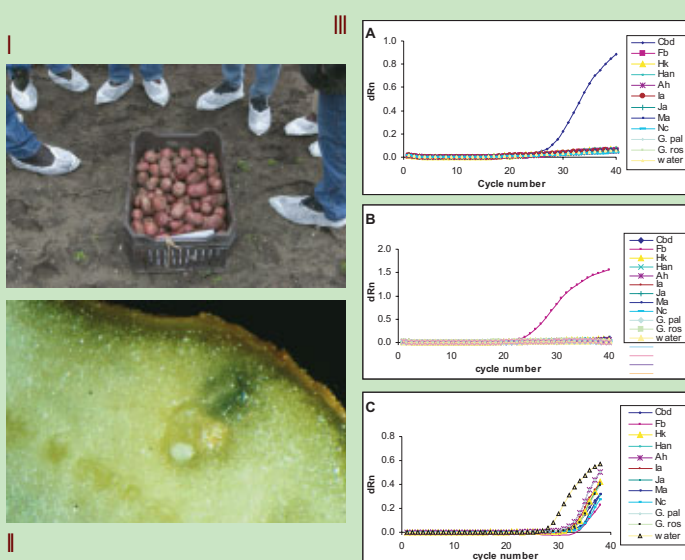
## Aanpak

- Ontwikkeling van een TaqMan-toets voor kwantitatieve detectie van *M. chitwoodi* en *M. fallax* in aardappel-pootgoed.
- Bepaling van detectiegrenzen van de TaqMan-toets.
- TaqMan-analyse van partijen pootgoed die zijn ingedeeld in klassen op grond van mate van zichtbare symptomen.

## FAM Ct-waarden per klasse



Toets op aanwezigheid van *M. chitwoodi* in aardappelknollen. Weergegeven zijn Ct-waarden van de TaqMan-toets op schillen van pootgoed klasse 0/1 (geen uitwendige symptomen); klasse 2 (net zichtbare uitwendige symptomen); klasse 3 (duidelijk zichtbare symptomen) en klasse 4 (veel zichtbare symptomen) op aanwezigheid van *M. chitwoodi*. Een Ct < 35 geeft aan dat *M. chitwoodi* aanwezig is.



- I Welke van deze knollen zijn besmet met *M. chitwoodi* en/of *M. fallax*?
- II *Meloidogyne*-vrouwje in een uitwendig symptoomloze knol.
- III Amplificatiecurves van de ontwikkelde TaqMan-toets met detectie van *M. chitwoodi* FAM signaal (A), *M. fallax* VIC signaal (B) en interne amplificatiecontrole NED signaal (C).

## Resultaten

- Er is een multiplex TaqMan toets ontwikkeld met één primerset en twee specifieke probes voor detectie van *M. chitwoodi* en *M. fallax*, evenals een primerset en een probe voor een interne amplificatiecontrole.
- Het kwantitatieve detectiebereik van de toets omvat minstens het gebied van 100 fg (1/1000 juveniel) tot 10 ng target-DNA.
- De test detecteert *M. chitwoodi* in aardappelknollen gevoeliger dan visuele inspectie. Over het algemeen detecteerde de test altijd *M. chitwoodi* in klasse 1 aardappelknollen. Afhankelijk van veldlocatie en oogstjaar gaven testresultaten aan dat 32,5% tot 57,6% van de geteste aardappelknollen zonder uitwendige symptomen (klasse 0 en 1) geïnfecteerd waren met *M. chitwoodi*.
- De TaqMan-toets maakt het mogelijk om één *Meloidogyne*-eitje aan te tonen in 10 cm<sup>2</sup> aardappelschil.

## De praktijk

- De test kan succesvol de aanwezigheid van *M. chitwoodi* en/of *M. fallax* aantonen op het oogsttijdstip terwijl diagnose op grond van visuele inspectie pas plaats vindt 8 weken na de oogst.
- Door 5 knollen ineens te toetsen kan de aanwezigheid van één uiterst licht besmette knol binnen die 5 knollen, waarbij geen uitwendige of inwendige symptomen zichtbaar zijn, aangetoond worden. Het aantal knollen dat ineens getoetst kan worden met dezelfde gevoeligheid als die van de huidige visuele inspectie is hoogstwaarschijnlijk vele malen groter maar vergt nog nader onderzoek.

**Contact:** Carolien Zijlstra  
Plant Research International B.V.  
Postbus 16, 6700 AA Wageningen  
T 0317 47 61 55 - F 0317 41 80 94  
carolien.zijlstra@wur.nl  
www.pri.wur.nl