

# Welke tulp is dit?

• TEKST : JOOP VAN DOORN, PPO LISSE EN PAUL PETERS, STICHTING KWALITEITSMERK HOLLAND SELECTION  
 • FOTO'S : RENE FAAS

Voor droogverkoop aan derden is het handig om snel te kunnen aantonen dat in de zakjes de juiste tulpencultivar zit. De kwaliteitseisen worden strenger! Is momenteel opplant de meest gekozen methode, een snellere methode om cultivars te identificeren binnen enkele dagen is gewenst. Het initiatief om hiernaar onderzoek te gaan doen is genomen door de Stichting Kwaliteitsmerk Holland Selection, een kwaliteitslabel van de Ree Holland BV. Door DNA uit de spruit te halen kan het bedrijf KeyGene met hun gepatenteerde techniek een streepjescode maken. De eerste resultaten zijn veelbelovend.

De Nederlandse droogverkoop naar supermarkten wordt geconfronteerd met steeds strengere kwaliteitseisen, waaronder soortecht leveren van onder andere tulpen. Cultivaridentificatie van tulpenbollen en andere bloembollen is echter, gezien de grote en steeds toenemende aantallen cultivars en afnemende vakken, nauwelijks uitvoerbaar. Momenteel vindt cultivaridentificatie van tulpenbollen plaats door het beoordelen van de plant aan zijn morfologie (vorm, bloemkleur en andere eigenschappen). Het probleem nu is, dat de tijd tussen het bolstadium en plantenstadium, afhankelijk van de teeltmethode enkele maanden tot een half jaar kan bedragen. Een DNA-test kan mogelijk geschikt zijn om tulpensoorten- en cultivars te herkennen, zo nodig in combinatie met morfologische eigenschappen. De unieke 'fingerprints', behorende bij een cultivar, kunnen dan opgeslagen worden in een database.

## DE TECHNIEK

De techniek waarvoor is gekozen is de zogenaamde AFLP-techniek. AFLP staat voor Amplified Fragment Length Polymorphism. Vrij vertaald betekent dit, dat (kleine) verschillen in DNA-samenstelling zichtbaar gemaakt kunnen worden. Dit is een fingerprint techniek, die DNA-verschillen tussen bijvoorbeeld cultivars van planten kan vaststellen. Een belangrijk voordeel is dat je haast onbeperkt kan zoeken naar verschillen tussen DNA's van cultivars zonder verder iets te weten over deze planten. Via statistische bewerkingen kunnen uitspraken gedaan worden over verwantschappen tussen streepjescodes, en in dit geval dus over plantensoorten of zelfs cultivars.

## PROEF

Een dergelijke techniek is mooi, maar moet wel getest worden, hoewel al goede resultaten bereikt zijn in onder meer de

groenteteelt om zaden te kunnen controleren op soortechtheid. De Stichting Kwaliteitsmerk Holland Selection en PPO hebben een selectie gemaakt op basis van tulpengroepen met per groep een aantal cultivars met de opdracht aan de firma KeyGene om uit te zoeken in een proef in hoeverre er verschillen in DNA-patroon te vinden zijn (tabel 1). Deze proef bestond uit het isoleren van DNA uit de cultivars, en het testen van deze DNA's met behulp van AFLP. Wat bleek: de DNA-toets geeft goed onderscheid, zelfs op mutantenniveau. Cultivars uit dertien groepen zijn getest. DNA is verkregen uit bladmateriaal en getest middels AFLP met een zogenaamde selectieve primer. Het resultaat was bemoedigend. Het bleek dat ruwweg drie groepen tulpensoorten onderscheiden konden worden: een waarbinnen de Darwinhybriden ('Apeldoorn' en mutanten) vielen, een groepje be-

staande uit dubbele vroege, en een grote groep waar alle anderen binnen vielen. Binnen deze grote groep konden alle groepen onderscheiden worden: de gefranjerde van Triumpf, parkiet, Fosteriana enz. Hoewel er maar een paar cultivars per groep zijn getest, konden deze vaak van elkaar onderscheiden worden (tabel 1, laatste kolom). De twee gefranjerden verschilden sterk van elkaar; 'Crystal Beauty' was niet te onderscheiden van 'Apeldoorn' (Darwinhybriden) omdat dit een mutant is van 'Apeldoorn'. Een heel goed resultaat was dat een aantal mutanten van elkaar te onderscheiden waren: 'Christmas Marvel' bleek te onderscheiden van 'Merry Christmas'; 'Monte Carlo' van 'Monsella', en ook 'Prinses Irene' van 'Orange Princess'. 'Sweetheart' (geel), een mutant van 'Purissima' (wit) heeft een iets andere fingerprint dan 'Purissima' en 'Yellow Purissima' en is dus te onderscheiden! Hierbij moet de kanttekening worden gemaakt dat in de Classified List of Tulip Names 1996 van de KAVB onder 'Sweetheart' staat dat deze is geselecteerd uit een onbenaamde fosteriana, die was vermengd met 'Purissima'. Dit verklaart mogelijk het onderscheid. De beide cultivars van Kaufmannia verschilden onderling sterk; 'Stresa' was niet te onderscheiden in deze AFLP van 'Prinses Irene' (Triumpf). Daarentegen is 'Viking' (een rode tulp), mutant van 'Monte Carlo' (geel) niet te onderscheiden in deze test; mogelijk met een andere AFLP wel. In de tabel wordt bedoeld met waarschijnlijk van elkaar te onderscheiden, dat de verschillen erg klein zijn, en een nauwkeurige analyse van de streepjescodes in dit geval nodig is.

**Tabel 1.** Verschillende tulpensoorten met enkele cv's voor onderzoek naar verschillen in hun DNA voor identificatie met behulp van de zg. AFLP.

Tulpengroep	Cultivar	Van andere groepen te onderscheiden?	Onderling?
Darwinhybriden	'Apeldoorn'; 'Apeldoorn's Elite'; 'Blushing Apeldoorn'	Ja	nee
Gefranjerde	'Canasta'; 'Crystal Beauty'	Canasta wel, Crystal Beauty niet	ja <sup>1</sup>
Dubbele Vroege	'Abba'; 'Monsella'; 'Monte Carlo'; 'Viking'	Ja	deels <sup>3</sup>
Parkiet	'Apricot Parrot'; 'Rococo'	Ja	ja
Viridiflora	'Artist'; 'Hollywood'	Ja	waarschijnlijk mogelijk
Leliebloemige	'Ballerina'; 'China Pink'	Ja	ja
Enkele Vroege	'Christmas Marvel'; 'Merry Christmas';	Ja	ja
Kaufmanniana	'Giuseppe Verdi'; 'Stresa'	Ja	ja <sup>2</sup>
Enkele Late	'Maureen'; 'Menton';	Ja	ja
Triumpf	'Prinses Irene'; 'Yokohama'	Ja	ja <sup>2</sup>
Dubbele Late	'Orange Princess';	Ja	slechts één cv getest
Fosteriana	'Purissima'; 'Yellow Purissima'; 'Sweetheart'	Ja	waarschijnlijk mogelijk
Greigii	'Red Riding Hood'	Ja	slechts één cv getest
Andere species	T. batalinii 'Bright Gem'; T. turkestanica	Ja	ja

1. Deze twee gefranjerden verschilden sterk van elkaar; 'Crystal Beauty' was niet te onderscheiden van 'Apeldoorn' en mutanten (Darwinhybriden).
2. De beide cultivars van Kaufmannia verschilden onderling sterk; 'Stresa' was niet te onderscheiden in deze AFLP van 'Prinses Irene' (Triumpf)
3. Van de getoetste dubbele vroege zijn 'Abba', 'Monte Carlo' en 'Viking' niet van elkaar te onderscheiden; 'Monsella' verschilt wel.

## TOEKOMST

Uiteraard moet dit voor veel meer tulpencultivars worden uitgezocht; liefst met verschillende typen AFLPs om zo meer verschillen tussen cultivars zichtbaar te maken en om zicht te krijgen op de waarde van deze techniek. Ook andere bolgewassen kunnen op deze manier geanalyseerd worden. Toepassingen liggen niet alleen in het kunnen vaststellen van de identiteit van bollen. Data zou-

den bruikbaar kunnen zijn voor bijvoorbeeld versnelde veredelingsdoelinden en het versnellen van de aanvraagprocedure voor kwekersrecht. Opbouw van een database met gegevens van (alle) cultivars zou wenselijk kunnen zijn als referentie voor soortechtheidsonderzoek. Uitbreiding van dit onderzoek zal nodig zijn om te zien of deze veelbelovende techniek inderdaad goed toepasbaar is voor de bloembollenexport.

