

# Diagnostiekservice PPO levert ook DNA-service

• TEKST : JOOP VAN DOORN, TREES HOLLINGER, KHANH PHAM EN PETER VINK, PPO BLOEMBOLLEN  
 • FOTO'S : PPO BLOEMBOLLEN

DiagnostiekService van PPO Bloembollen in Lisse is bekend vanwege zijn kennis van ziekte- en afwijkingen bij speciale bolgewassen. Naast snelle eerstelijns-diagnostiek en serologische toetsing van aangeleverde monsters wordt al jaren gebruik gemaakt van testen, gebaseerd op zogenaamde DNA-merkers. Na een eerste indruk met het blote oog kan daarna via een of twee snelle DNA-testen een goede uitslag en advies gegeven worden.

Bij aangeleverde monsters staan Peter Vink en Trees Hollinger klaar om via analyse van symptomen, gegevens over de teelt, export of broeicondities, gebruikte bemesting of behandeling een eerste indruk te krijgen over de vermoedelijke oorzaak van de afwijking aan het gewas of bol. Vaak is dan al een sluitende diagnose mogelijk.

## GERICHTE TOETS

Voor veel ziekten is een laboratorium-

toets gewenst. Deze toets vormt een contra-expertise die de eerste indruk moet bevestigen. Dit kunnen speciale kweekplaten zijn of serologische toetsen (ELISA), die vooral voor veel virusziekten al jarenlang een betrouwbare uitslag geven. PPO weet heel nauwkeurig welke mogelijke ziekten kunnen voorkomen in een bepaald bolgewas. Zo komen bijvoorbeeld in tulp, insecten en mijten niet meegerekend, zo'n dertig ziekten voor. Veel voorkomende ziekten

zijn Fusarium, geelpok, Tabaksnecrosevirus en Tulpengrijsvirus. Bij PPO Bloembollen is in de loop van de vele jaren veel kennis opgebouwd over de meest uiteenlopende ziektes. Hierdoor kan tijdig, na een analyse van de symptomen, een doelgerichte keuze van een toets worden gemaakt. Een test op mogelijke ziekteverwekkers die nooit zijn aangetroffen in tulp is uiteraard weinig zinvol.

## SNELLE DNA-TESTEN

Voor een groot aantal ziekten in bolgewassen zijn DNA- of RNA-toetsen ontwikkeld, vaak 'in eigen huis'. In veel gevallen is zo'n test veel gevoeliger dan een ELISA. Vooral bij schimmelziekten, die moeilijk snel vast te stellen zijn, zijn serologische testen niet voor handen. Vaak kan naast een algemene DNA-test, die kan vaststellen tot welke groep de ziekteverwekker behoort, een specifieke DNA-test (PCR) worden uitgevoerd. Dit gebeurt ook aan de hand van de eerste indruk die al is verkregen bij de eerste beoordeling van het monster op het oog. In minder dan een dag (vanaf binnenkomst van het monster, monsterbewerking (DNA- of RNA-isolatie), test, en beoordeling) kan dan al een uitslag worden gegeven!

## ZICHT OP DE ERNST

Soms is het nodig te weten hoeveel cellen van een ziekteverwekker nu in een plant of stukje weefsel aanwezig zijn. Bijvoorbeeld bij de bacterie Erwinia wordt aangenomen dat beneden een bepaalde drempelwaarde deze bacterie geen problemen zal geven. Ook dit kan via DNA-testen in een speciaal PCR-



Tulp met duidelijke Augustaziek-symptomen. Met een gevoelige RNA-toets is ook in symptoomloze planten snel vast te stellen of het veroorzakende Tabaksnecrosevirus aanwezig is!

apparaat worden vastgesteld. Deze techniek, Real Time PCR werkt nog sneller, met fluorescerende signalen; en zou zelfs in het veld kunnen worden meegenomen (bv. in een auto, aangesloten op een accu). Voor de ontwikkeling van deze technologie wordt samen gewerkt met onder andere Plant Research International.

## TOEPASSINGEN: GERICHTE ANALYSE

Het vergt de nodige vakkennis om te zien of een bladafwijking het gevolg is van een fysiologische oorzaak, zoals te weinig koude, verdroging, spuit-of

bemestingsschade, of dat een ziekteverwekker de schuldige is. In het geval dat we in het duister tasten van wat de veroorzaker is van de ziekte, is een totaal-analyse van een monster met allerlei DNA/RNA-testen zinvol. Het nadeel is dan wel, dat je van alles aantoonst, maar niet weet welke nu de echte boosdoener is. DNA-testen zijn niet alleen geschikt om ziekten aan te tonen. Een al veel gebruikte toepassing is, om de identiteit van cultivars vast te stellen. In bijvoorbeeld de groenteteelt gebeurt dit al veel. Het nut hiervan is, om zo snel te kunnen vaststellen of je de juiste partij tulpen of hyacinten in handen hebt.

## DNA- EN RNA-TESTEN

Gevoelige toetsen om ziekten te kunnen aantonen kunnen ontwikkeld worden door unieke stukjes DNA (DNA-merkers) van deze schimmels of bacteriën op te sporen. In het geval van plantenvirussen is dit RNA; deze bevatten namelijk geen DNA. Een van de meest gebruikte technieken is nu PCR: de Polymerase Kettingreactie. Hierbij wordt zo'n specifiek stukje DNA (bij virussen RNA) vele malen vermenigvuldigd door een enzym, waardoor je dit stukje DNA als een bandje zichtbaar kan maken. Uiteraard moet je eerst voor de op te sporen ziekten door onderzoek specifieke merkers in handen krijgen. Wanneer de DNA-merker gevonden wordt, is de ziekteverwekker dus aanwezig. Het apparaat wat het enzym laat werken is een zogenaamde thermocycler (fig.1) die snel verschillende temperaturen kan aannemen zodat het enzym zijn werk kan doen. Zo kan in minder dan een uur een stukje DNA wel miljoenen malen vermenigvuldigd worden! Overigens komt een vergelijkbaar enzym voor in levende cellen van ons lichaam.

## WEBSITE

Op de website [www.ppo.wur.nl/diagnostiek/index.htm](http://www.ppo.wur.nl/diagnostiek/index.htm) staat te lezen hoe u materiaal in kunt zenden. Voor verdere vragen over diagnostiekservice kunt u bellen tussen 8.30 en 17.00 uur naar PPO Bloembollen te Lisse, telefoon 0252-462121.



Met behulp van de thermocycler is het mogelijk om snel een DNA-toets uit te voeren