

van alle effect als aaltjesremmers in tegenstelling tot literatuurgegevens. Sommige plantextracten en organische stoffen bleken repellent in vitro en in grond.

De mogelijkheid en de wijze van toepassing van veel natuurlijke stoffen hangt af van de het soort effect (doding en of repellence) en van fytoxiciteit. Sommige gewas-nematodecombinaties zijn al gebaat bij tijdelijke en of plaatselijke bescherming, terwijl andere een veel langduriger en uitgebreider belemmering van de infectie vereisen. Onderzoek zal zich nog moeten richten op de duurzaamheid van de effecten in grond, eventuele formulering en toelating. Ook combinaties van middelen en methoden en toepassingen buiten de grond, zoals behandeling van plantenpootgoed verdienen nadere aandacht.

## **Middagsessie Detectie, Haakzaal**

### **Ontwikkeling en routinematige implementatie van een moleculaire detectietechniek voor stengelaaltjes (*Ditylenchus dipsaci*) en witrot (*Sclerotium cepivorum*) in grondmonsters**

R. Landeweert<sup>1</sup>, H. Helder<sup>2</sup>, S. van den Elsen<sup>2</sup>, R. Staps<sup>1</sup>, N. Zwaardemaker<sup>1</sup>, J. Vos<sup>1</sup> en H. Keidel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Blgg Oosterbeek, Postbus 115, 6860 AC Oosterbeek

<sup>2</sup> Laboratorium voor Nematologie, Wageningen Universiteit, Postbus 8123, 6700 ES Wageningen

Duizenden grondmonsters afkomstig uit de Nederlandse akkerbouw worden jaarlijks door servicelaboratoria onderzocht op aanwezigheid van de nematode *Ditylenchus dipsaci* (het stengelaaltje, een quarantaine organisme) en de schimmel *Sclerotium cepivorum* (witrot). Het stengelaaltje is een plantparasitaire nematode die rot veroorzaakt in verschillende ui- en bolgewassen, terwijl witrot een sclerotienvormende schimmel is die rot veroorzaakt in ui-achtige gewassen.

In samenwerking met het Laboratorium voor Nematologie (WUR) heeft Blgg een moleculaire techniek ontwikkeld, gevalideerd en routinematig geïmplementeerd, waarmee zij *D. dipsaci* en *S. cepivorum* detecteert in grondmonsters afkomstig uit de uienteelt. Tijdens het ontwikkelen van beide testen is de specificiteit van de ontwikkelde primers uitgebreid getest tegen een brede achtergrond van nauw- en niet-ver-

wante nematoden en bodemschimmels. Ter validatie van beide moleculaire testen werden 2500 (voor *D. dipsaci*) en 500 (voor *S. cepivorum*) grondmonsters parallel microscopisch en moleculair geanalyseerd. De grondmonsters werden tussen januari en maart (2005) verzameld. De voortrajecten van monstername en -behandeling bleven, ten opzichte van de klassieke detectie, onveranderd. Detectieondergrenzen van zowel de klassieke als moleculaire testen zijn één *D. dipsaci* individu en één witrot sclerotium, tegen een achtergrond van bodemorganismen. Beide moleculaire testen zijn kwalitatief.

Voor *D. dipsaci* leverde klassieke- en moleculaire analyse van 2500 monsters in resp. 0,08% en 0,76% een positieve uitkomst op. Voor *S. cepivorum* leverde klassieke- en moleculaire analyse van 500 monsters in resp. 4,0% en 7,4% een positieve uitkomst op. De moleculaire test toont in beide gevallen vaker een besmetting aan dan de klassieke, microscopische detectie. Voor *D. dipsaci* wordt dit waarschijnlijk veroorzaakt door het feit dat *D. dipsaci* in het vroege voorjaar voorkomt als adult met minder opvallende morfologische kenmerken, wat microscopische herkenning bemoeilijkt. Bij moleculaire detectie spelen morfologische kenmerken geen rol en is de aantoonbaarheid van *D. dipsaci* niet seizoensafhankelijk. De geringe grootte van witrot sclerotien maakt *S. cepivorum* per definitie lastig microscopisch detecteerbaar in grondmonsters. Het verleden laat dan ook zien dat op uienpercelen die na klassieke analyse 'witrot-vrij' waren verklaard in de praktijk soms toch besmettingen voorkwamen. Voor moleculaire detectie van witrot is het zorgvuldig openbreken van de harde sclerotien cruciaal. Wanneer het witrot-DNA eenmaal is vrijgemaakt, blijkt de moleculaire techniek zeer gevoelig en voldoet een hoger aantal witrotbesmettingen in grondmonsters aan de verwachting.

De moleculaire testen vervangen bij Blgg reeds de traditionele microscopische detectie van *D. dipsaci* en *S. cepivorum*. In de (nabije) toekomst verwacht Blgg een groot deel van haar nematodenonderzoek moleculair uit te voeren. Behalve het feit dat moleculaire detectie niet morfologieafhankelijk is, maken de moleculaire testen het ook mogelijk om in één analyse een compleet nematodenmonster (> 50.000 nematoden) te onderzoeken. Dit in tegenstelling tot de huidige microscopische praktijk, waarin vaak slechts een klein deel van een nematodenmonster daadwerkelijk bekeken en geïdentificeerd wordt. De inzet van moleculaire technieken zorgt er zo waarschijnlijk voor dat er vaker plant parasitaire nematoden zullen worden aangetroffen in grondmonsters. De implementatie van moleculaire detectiemethodieken is daarom onlosmakelijk verbonden aan een hernieuwde discussie rond beleid en regelgeving, in het bijzonder rond de detectie van quarantaine organismen.