

GEWASBESCHERMING

Mededelingenblad van de Koninklijke Nederlandse Plantenziektkundige Vereniging

NUMMER

2

GEWASBESCHERMING | JAARGANG 42 | NUMMER 2 | APRIL 2011



Themanummer Fytosanitair
'Versterking Infrastructuur Plantgezondheid'

KNPV

Afbeelding voorpagina: Mannetje van de boktor *Anoplophora chinensis* (foto Theodoor Heijerman, copyright nVWA-NRC), Loomans en Potting, pag. 47

Gewasbescherming,

het mededelingenblad van de KNPV, verschijnt zes keer per jaar.

Redactie

Jan-Kees Goud

(WU, Fytopathologie), hoofdredacteur,
e-mail: jan-kees.goud@wur.nl;

José van Bijsterveldt-Gels (nVWA),
secretaris,

j.e.m.van.bijsterveldt-gels@minlnv.nl;

Marianne Roseboom-de Vries,
administratief medewerker,
m.roseboom2@chello.nl;

Linus Franke

(WU-Plantaardige productiesystemen),
linus.franke@wur.nl

Erno Bouma

(Agrovision), e.bouma@agrovision.nl;

Thomas Lans

(WU-Educatie en Competentie-studies),
thomas.lans@wur.nl;

Jo Ottenheim,

(Nefyto), nefyto@nefyto.nl;

Dirk-Jan van der Gaag

(nVWA), d.j.van.der.gaag@minlnv.nl;

Hans Mulder

(CLM), mulder.jg@gmail.com.

Redactie-adres

Postbus 31, 6700 AA Wageningen

Internet

www.knpv.org
info@knpv.org

Abonnementen en lidmaatschappen

De lidmaatschaps/abonnementskosten van de KNPV, inclusief het tijdschrift

Gewasbescherming (6x per jaar), bedragen:

- Nederland en België € 30,-¹
- overige landen € 40,-
- lid-donateur (bedrijven en instellingen) € 75,-
- student-lidmaatschap € 15,-²
- losse nummers (ex. porto) € 6,-

Abonnement EJPP

- Personen die lid zijn van de KNPV kunnen tegen gereduceerd tarief een abonnement verkrijgen op het *European Journal of Plant Pathology* (tarief 2011):

€ 200,-¹ incl. lidmaatschap KNPV;
buiten Nederland en België € 210,-.

Lidmaatschappen en abonnementen lopen van 1 jan. tot en met 31 dec. Ze kunnen op elk gewenst moment ingaan. Eventuele beëindiging dient voor 1 december schriftelijk te worden gemeld.

Correspondentie

Alle correspondentie betreffende de leden-administratie, contributie en adressen voor de verzending van

Gewasbescherming kunt u richten aan:

Huijbers' Administratiekantoor,
Postbus 244, 6700 AE Wageningen,
tel.: 0317-421545,
e-mail: administratie@knpv.org.

Alle overige vragen kunt u richten aan de secretaris van de KNPV, Jan Bouwman,
Postbus 31, 6700 AA Wageningen,
e-mail: jan.bouwman@syngenta.com
Postbank: 92 31 65, ABN-AMRO: 53.93.39.768,
ten name van KNPV, Wageningen.
Betalingen o.v.v. uw naam.

Adreswijzigingen

- zelf aanpassen op www.knpv.org
- doorgeven aan administratie@knpv.org

Bestuur Koninklijke Nederlandse Plantenziektkundige Vereniging

G.H.J. Kema (PRI), voorzitter
vacant, secretaris

J.J. Bouwman (Nefyto), penningmeester

L. Bastiaans (WU-DPW),

J.P. Wubben (Blgg),

J.C. Goud (WU/KNPV, hoofdredacteur
Gewasbescherming),

S. Sütterlin (EL&I)

C. Kempenaar (PRI Agrosysteemkunde)

M.L.H. Breukers (LEI)

R. van der Salm (Semper florens),

C.E. Westerdijk (CAH),

J. Horsten (Belchim Crop Protection),

P.H.J.F. van den Boogert (nVWA), leden

KNPV werkgroepen

Bodempathogenen en bodemmicrobiologie

voorzitter: mw. J. Postma (PRI)

secretaris: mw. G.J. van Os,
PPO-BB, Postbus 85, 2160 AB Lisse.

e-mail: gera.vanos@wur.nl

Fusarium

voorzitter: C. Waalwijk (PRI)

secretaris: M. Rep (UvA)

Swammerdam Institute for Life Sciences,
Faculty of Science, University of Amsterdam,
Kruislaan 318, 1098 SM Amsterdam.

e-mail: m.rep@uva.nl

Phytophthora en Pythium

voorzitter: P.J.M. Bonants (PRI)

secretaris: A.W.A.M. de Cock
Centraalbureau voor Schimmelcultures,
Uppsalalaan 8, Postbus 85167,
3508 AD Utrecht

e-mail: decock@cbs.knaw.nl

Onkruidkunde

voorzitter: mw. R.Y. van der Weide (PPO)

secretaris: A.J.W. Rotteveel

nVWA, Postbus 9102, 6700 HC Wageningen
e-mail: a.j.w.rotteveel@minlnv.nl

Botrytis

voorzitter: J.A.L. van Kan
(WU-Fytopathologie),
Postbus 8025, 6700 EE Wageningen
e-mail: jan.vankan@wur.nl
secretaris: vacant

Nematoden

voorzitter: L.P.G. Molendijk (PPO)
secretaris: R.T. Folkertsma,
De Ruiter Seeds, Postbus 1050,
2660 BB Bergschenhoek
e-mail: rolf.folkertsma@deruiterseeds.com

Graanziekten

voorzitter: G.J.H. Kema (PRI)
secretaris: H.T.A.M. Schepers
PPO, Postbus 430, 8200 AK Lelystad
e-mail: huub.schepers@wur.nl

Fytobacteriologie

voorzitter: J.M. Raaijmakers (WU)
secretaris: J. van Doorn
PPO-BB, Postbus 85, 2160 AB Lisse
e-mail: joop.vandoorn@wur.nl

KNPV Commissies

Commissie Nederlandse Namen van Geleedpotige Dieren

voorzitter: K.W.R. Zwart
secretaris: mw. L.J.W. de Goffau

Bijzondere Normcommissie 14: Nederlandse Namen van Plantenziekten

voorzitter: J.Th.J. Verhoeven
PD, Postbus 9102, 6700 HC Wageningen
e-mail: j.th.j.verhoeven@minlnv.nl
secretaris: J. de Gruyter (nVWA)
e-mail: j.de.gruyter@minlnv.nl

Commissie Terminologie

voorzitter: vacant,
secretaris: vacant

Richtlijnen voor auteurs

zijn te vinden op de internetpagina
www.knpv.org.

Basisontwerp

GVO drukkers & vormgevers B.V., Ede

Druk

GVO drukkers & vormgevers B.V., Ede

ISSN 0166-6495

De redactie van *Gewasbescherming* en het bestuur van de KNPV aanvaarden geen aansprakelijkheid voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij het gebruik van de gegevens die in deze uitgave zijn gepubliceerd.

¹ Bij machtiging automatische incasso voor Nederland € 5 korting

² Voor studenten aan universiteiten en hogescholen; bij machtiging automatische incasso voor Nederland € 2,50 korting

Themanummer Versterking Infrastructuur Plantgezondheid

Jan-Kees Goud

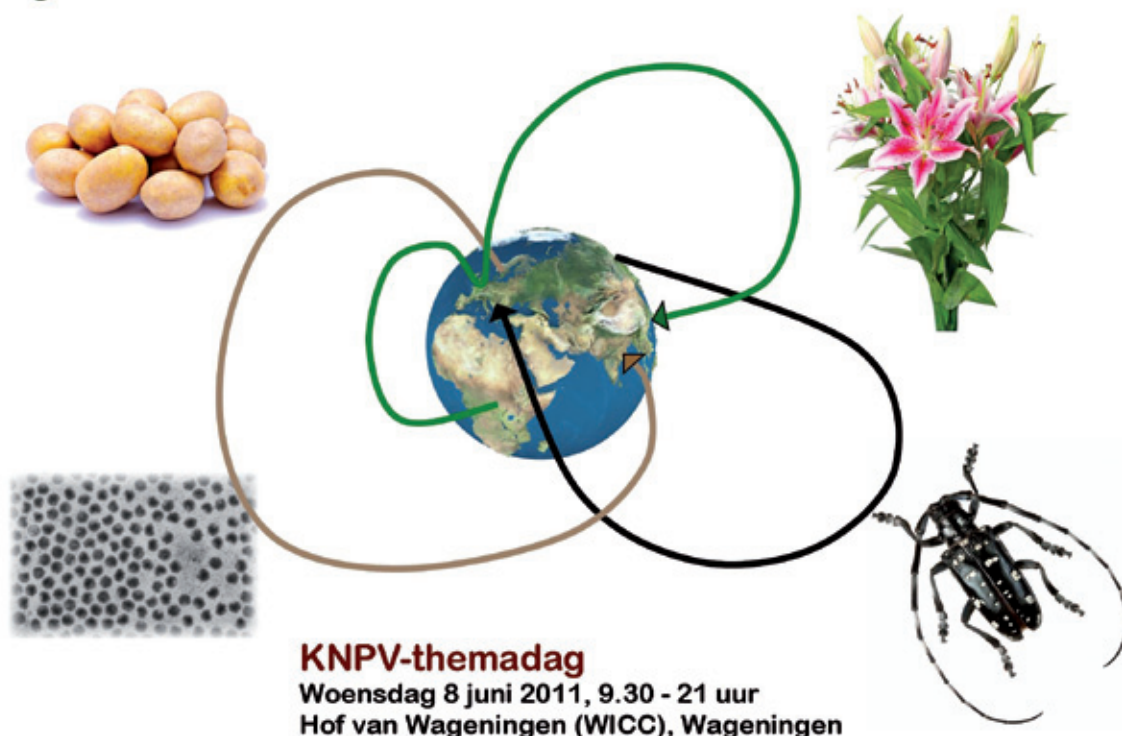
Hoofdredacteur
Gewasbescherming, KNPV

Voor een handelsland als Nederland, dat ook nog een grote exporteur is van uitgangsmateriaal, is het vrij blijven van belangrijke ziekten en plagen van groot belang. Dit onderwerp, vaak plantgezondheid of fytoosanitair genoemd, is het onderwerp van een groot onderzoeksproject, getiteld 'Versterking Infrastructuur Plantgezondheid'. Dit project omvat veel aspecten van de plantenziektekunde, waarvan de belangrijkste in dit themanummer worden behandeld. Een speerpunt in het onderzoek naar ziekteverwekkers en plaagorganismen is detectie en identificatie. Daarnaast wordt in dit nummer verteld hoe al deze kennis beschikbaar wordt gemaakt in vrij toegankelijke databases, en gericht wordt gecommuniceerd naar ondernemers en het grote publiek.

De KNPV besteedt aan dit thema de komende tijd veel aandacht, allereerst door middel van dit themanummer van Gewasbescherming. Daarna staat ook de KNPV-voorjaarsbijeenkomst van 8 juni in het teken van dit belangrijke onderwerp, wat dan in een bredere context zal worden belicht.

Wij wensen u veel leesplezier.

Plantgezondheid grenzeloos! Fytoosanitair nader belicht



Inleiding tot het FES-programma 'Versterking infrastructuur plantgezondheid'

Harm Huttinga¹,
Paul van den Boogert²
en Hans Smolders³

¹ FES-programma
'Versterking infrastructuur
plantgezondheid'; e-mail:
h.huttinga@12move.nl

² nVWA; e-mail: p.h.j.f.van.
den.boogert@minlnv.nl

³ Ministerie van
Economische Zaken,
Landbouw en Innovatie;
e-mail: j.w.j.smolders@
minlnv.nl

'Uitgangsmateriaal voor plantaardige productie moet gezond zijn'

Niemand zal bovenstaande stelling betwisten. Het is een vanzelfsprekendheid geworden. Het is ook zo logisch: als je een gezond eindproduct wilt telen, moet je uitgaan van gezond uitgangsmateriaal; je moet het gewas planten in een substraat dat vrij is van ziektekiemen en je moet vervolgens proberen te voorkomen dat de teelt van buitenaf wordt besmet. Een goede gezondheid van het uitgangsmateriaal maakt ook dat het gemakkelijk te verhandelen is naar het buitenland. Immers, het ontvangende land loopt geen risico dat met het materiaal ongewenste ziekteverwekkers en plaagorganismen meekomen. Nederland is een grote exporteur van plantaardig uitgangsmateriaal, zoals pootaardappelen, bloembollen en groentezaden. Die situatie berust voor een groot deel op onze kennis en kunde om voor allerlei gebieden, klimaten, smaak- en vormvoorkeuren de juiste rassen te leveren. Maar die positie berust ook op het gegeven dat Nederlands uitgangsmateriaal in hoge mate vrij is van ziektekiemen. Het materiaal is niet altijd volledig vrij van plantenpathogenen. Dat is ook niet nodig voor bepaalde teelten en het zou het uitgangsmateriaal onnodig duur maken. Maar voor de zogenaamde quarantaineorganismen zijn strengere eisen gesteld en geldt een nultolerantie. In deze gevallen ligt de bewijslast bij het land van oorsprong. Het exporterende land moet kunnen aantonen dat het materiaal werkelijk vrij is van het betreffende pathogeen.

Nederland kent een uniek systeem waarin de nieuwe Voedsel en Waren Autoriteit (voorheen Plantenziektenkundige Dienst, PD), en de plantaardige keuringsdiensten, en ook private onderzoekslaboratoria samenwerken om de hoge kwaliteit van Nederlands plantaardig uitgangsmateriaal met betrekking tot gezondheid te borgen. Heel essentieel daarbij is dat al deze instanties kunnen beschikken over goede identificatie- en detectietechnieken voor ziekteverwekkers en plaagorganismen en dat er collecties zijn waaruit goed gekarakteriseerde isolaten kunnen worden betrokken voor referentiedoeleinden en voor gebruik als positieve controles.

Toen de overheid zich in het laatste decennium van de vorige eeuw steeds verder terugtrok als

belangrijkste financier van landbouwkundig onderzoek pakte het bedrijfsleven deze taak niet meteen op. Daardoor ontstond er een gebrek aan betrouwbare identificatie- en detectietechnieken, dreigde men de aansluiting met nieuwe technologieën te verliezen en raakten onderhoud en beheer van collecties op achterstand. Om deze trend te doorbreken hebben de toenmalige PD en de keuringsdiensten samen met de verantwoordelijke beleidsdirectie van het toenmalige ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit (LNV) destijds succesvol een beroep gedaan op het Fonds Economische Structuurversterking (FES).

Versterking van de Nederlandse kennisinfrastructuur ten behoeve van plantgezondheid

Eind 2005 waren de versterking van de kennispositie in het algemeen en een bijdrage aan het innovatieve wetenschappelijke karakter van Nederland in het bijzonder, belangrijke onderdelen van het toenmalige regeerakkoord. Eerder waren 'Flowers' en 'Food' ook als belangrijke sleutelgebieden benoemd voor de verdere versterking van de Nederlandse kennispositie. Om deze sectoren tot bloei te laten komen was het belangrijk te voldoen aan internationaal gemaakte afspraken op het gebied van plantgezondheid. Plantgezondheid werd beschouwd als een collectief goed met een duidelijke rol voor de overheid, waarbij een internationale kennispositie essentieel is. Nederland was koploper op dit terrein en zou deze positie verder moeten uitbouwen. Nicolette Klijn van de toenmalige PD en Louise Tan en Robert Baayen van de toenmalige directie Landbouw van LNV, waren van mening dat dit bewerkstelligd zou kunnen worden door ontwikkeling, innovatie en toepassing van nieuwe geavanceerde identificatie- en detectietechnieken voor gewasbelagers. Naast deze technologische innovaties zouden de collecties moeten worden versterkt door ze uit te breiden met nieuwe en onbekende veroorzakers van ziekten en plagen en van invasieve plantensoorten. Dit zou leiden tot een versterking van de wetenschappelijke koplopperspositie van Nederland op het gebied van DNA-technieken en referentiecollecties. Tevens werd hiermee de sterke economische positie uitgebouwd op het gebied van export (met een sterke innovatieve tuinbouwsector als basis) en import.

Om deze innovaties mogelijk te maken was het nodig om de nieuwste ontwikkeling op het gebied van DNA-technologie te combineren met de in de afgelopen decennia opgebouwde taxonomische en fytopathologische kennis, en deze te verbinden met betrouwbare en 'up-to-date' collecties (o.a. virussen, schimmels en insecten). Door de morfologische en fysiologische kennis, die nog slechts bij een beperkt aantal experts aanwezig was te koppelen aan DNA-sequenties kon de basis worden gelegd voor de ontwikkeling van nieuwe technologie waarmee bekende en nieuwe gewasbelagers sneller en met meer zekerheid geïdentificeerd konden worden in geïmporteerde of geteelde plantaardige producten.

Het projectvoorstel omvatte vier fasen:

1. Aanvullen huidige kennisdragers met nieuwe ziekten en plagen
2. Genetische basisgegevens vastleggen
3. Ontwikkeling innovatieve identificatie- en detectiemethoden
4. Invasieve plantensoorten

De fasen 1 t/m 3 waren vooral gericht op virussen, schimmels en insecten en fase 4 was geheel

gewijd aan een nieuwe, potentieel schadelijke, groep organismen, namelijk de invasieve plantensoorten. Bacteriën en nematoden werden niet meegenomen in het projectvoorstel omdat daarvoor indertijd eigen projecten via andere financieringstrajecten waren ingediend.

Een projectvoorstel om het bovenstaande te realiseren, gericht aan het Fonds Economische Structuurversterking, werd eind 2005 geaccepteerd en er werd € 9.000.000 beschikbaar gesteld voor de uitvoering ervan. De toenmalige directie Landbouw van LNV werd gedelegeerd opdrachtgever en als zodanig verantwoordelijk gesteld voor de uitvoering van het voorstel en het beheer van het budget.

De werktitel van het onderzoekprogramma werd FES-programma 'Versterking infrastructuur plantgezondheid'.

Uitvoering van het project

Er werd een stuurgroep ingesteld die bestond uit vertegenwoordigers uit verschillende directies van het toenmalige ministerie van LNV, de toenmalige PD, de keuringsdiensten, onderzoekinstellingen en het bedrijfsleven. De stuurgroep kreeg een adviserende taak in de richting van de gedelegeerd opdrachtgever m.b.t. het opstellen van het programmakader, de resultaatdoelstellingen, de oproep tot en het beoordelen van projectvoorstellen, de budgettoekenning en de projectbewaking. Ook werd een programmamanager en een programmasecretaris aangesteld.

Al snel na de start van het FES-programma 'Versterking infrastructuur plantgezondheid' bleek dat de oorspronkelijke indeling in fasen niet ideaal was. Daarom werd besloten tot een indeling in drie werkpakketten.

1. Werkpakket 1: het 'up-to-date' brengen van collecties, het digitaliseren van kennis en morfologische data en het online toegankelijk maken van collecties en achterliggende kennis.
2. Werkpakket 2: het ontrafelen van basenvolgorde van sleutelgenen van plaagorganismen en hun 'look-alikes' die gebruikt zouden kunnen worden als basis voor specifieke identificatie- en detectiemethoden.
3. Werkpakket 3: het ontwikkelen en valideren van snelle en betrouwbare identificatie- en detectiemethoden.

Er zou worden gewerkt aan insecten, invasieve plantensoorten, schimmels en virussen en



Screenshot van de Q-bank website.

voornamelijk aan quarantaineorganismen in deze vier groepen.

De werkpakketten 1 en 2

De staat van onderhoud van de collecties en de bijbehorende gegevensbanken in Nederland was onduidelijk. Dat maakte het moeilijk om op basis van plannen van eisen onderzoeksprojecten te formuleren. Daarom werd besloten tot het formeren van uitvoeringsconsortia voor respectievelijk insecten, invasieve plantensoorten, schimmels en virussen, waarin alle belangrijke spelers in het onderzoek op de betreffende gebieden zouden samenwerken. In de navolgende bijdragen in dit themanummer worden de uitvoeringsconsortia nader voorgesteld. Via het concept van 'werken onder regie', waarbij opdrachtgever en opdrachtnemer in gezamenlijk overleg regelmatig de koers van het onderzoek bepalen, werd door de uitvoeringsconsortia inventariserend onderzoek gedaan naar bestaande collecties, bestaande gegevensbestanden, de meest gewenste toekomstige opzet van collecties en van gegevensbestanden, de software die daarvoor nodig was, e.d. Verder maakte elk uitvoeringsconsortium een zogenoemde 'precompetitieve programmeringstudie' (PSP) waarin werd aangegeven welk onderzoek er op het gebied van de vier groepen gewasbelagers nodig was. Ook werd duidelijk dat voor de software ten behoeve van de gegevensbank zou worden gekozen voor een nieuwe versie van BioloMICS van BioAware S.A. Op basis van de PSPs en van veranderingen daarin die later noodzakelijk bleken, werden er onderhands onderzoekopdrachten gegund aan de vier uitvoeringsconsortia voor uiteindelijk een totaal van ca. € 5.500.000. Dit bedrag kon exclusief BTW worden besteed omdat voor het onderzoek in het FES-programma 'Versterking infrastructuur plantgezondheid' werd bepaald: 'De resultaten van het onderzoek zijn voor elke geïnteresseerde vrij toegankelijk en beschikbaar tegen integrale verstrekkingkosten.'

Het onderzoek van de uitvoeringsconsortia werd begeleid en beoordeeld door Colleges van Toezichthouders met daarin een lid van de stuurgroep die als voorzitter fungeerde, de programmamanager, de programmasecretaris en twee andere leden.

Het werkpakket 3

Het onderzoek in dit programmadeel zou zich volgens de oorspronkelijke opzet moeten richten op het ontwikkelen van identificatie- en detectiemethoden. Bij het opstellen van de lijst van methoden werd duidelijk dat naast het

ontwikkelen van methoden ook de validatie en de implementatie ervan wezenlijke onderdelen van dit werkpakket moesten zijn.

Gedurende de uitvoering van het programma was duidelijk geworden dat er ook grote behoefte bestond aan innovatieve extractiemethoden voor nucleïnezuren uit moeilijke substraten, zoals grond en zaden, en aan methoden voor het vaststellen van het al dan niet vitaal zijn van aangetoonde ziekteverwekkers en plaagorganismen. Ook was er grote behoefte aan onderzoek ten behoeve van de ontwikkeling van karakteristieken en het onderbrengen daarvan in digitale sleutels en visuele hulpmiddelen voor het herkennen van invasieve plantensoorten, bijvoorbeeld in partijen zaad in de haven van Rotterdam.

Het onderzoek in de vier genoemde aandachtsgebieden van werkpakket 3 werd in een open procedure aanbesteed. Opmerkelijk was dat alle uitvoeringsconsortia weer als consortia meedongen, zij het met soms een kleine uitbreiding. De uitvoeringsconsortia werden gekozen om het onderzoek uit te voeren. Het totaal van de aanneemsommen bedroeg ca. € 2.700.000.

Het resultaat

Het FES-programma 'Versterking infrastructuur plantgezondheid' heeft een schat aan goed gekarakteriseerde items opgeleverd, die zijn terechtgekomen in collecties en bijbehorende gegevens in vier databanken, voor insecten, invasieve plantensoorten, schimmels en virussen. Gaandeweg het programma is besloten om ook databanken en collecties van bacteriën en nematoden in het systeem op te nemen. Dit maakt dat het resultaat van het FES-programma 'Versterking infrastructuur plantgezondheid' nu bestaat uit een conglomeraat van zes gekoppelde gegevensbanken onder de naam Q-bank (www.q-bank.eu), die een directe koppeling hebben met de organismen in de collecties. De gegevens zijn online toegankelijk voor iedere geïnteresseerde en materiaal uit de collecties kan door iedere geïnteresseerde tegen verstrekkingkosten worden opgevraagd. Dit maakt Q-bank uniek in vergelijking met andere gegevensbanken van plantenpathogenen.

Het FES-programma 'Versterking infrastructuur plantgezondheid' besteedde ca. € 300.000 aan communicatie. Het meest in het oogspringende daarvan zijn enerzijds studies naar communicatiestrategieën met betrekking tot fyto-sanitaire risico's voor ondernemers en voor beheerders van

de groene ruimte. Anderzijds werden interactieve programma's ontwikkeld ten behoeve van het onderwijs, *Fytoquest* (www.fytoquest.nl) en *Fytocheck* (www.fyto-ondernemerscheck.nl).

Hoe nu verder?

Q-bank wordt vanaf 1 januari 2011 beheerd door nVWA Divisie Plant. De ambitie is om Q-bank te ontwikkelen tot een internationale standaard voor identificatie en referentie. Daarvoor zal de inhoud van Q-bank moeten groeien zodat alle karakteristieken van quarantaineorganismen en hun 'look-alikes' zijn vastgelegd in de databases en de organismen aanwezig zijn in collecties. Een eerste belangrijke uitbreiding van de inhoud van Q-bank wordt geleverd doordat de resultaten van het internationale EC KP7-project QBOL, gericht op het ontwikkelen van barcodes van quarantaineorganismen als hulpmiddel voor identificatie en detectie, in Q-bank zullen worden opgenomen. Vanuit het bedrijfsleven is er belangstelling om ook veroorzakers van kwaliteitsziekten onder te



De vlag van Q-bank wappert fier voor het gebouw van de nVWA, Divisie Plant

brengen in Q-bank. De Q in Q-bank zal dan staan voor zowel 'quarantine' als 'quality'. Het streven is om Q-bank vanaf 1 januari 2014 een systeem te laten zijn dat kan bestaan en doorgroeien dankzij financieringen van EU, nationale overheden en het landbouwbedrijfsleven.

Van Boktor naar barcode:

hoe een combinatie van morfologische en moleculaire kenmerken onze kennis van plagen kan versterken

Antoon Loomans
en Roel Potting

Divisie Plant, nieuwe
Voedsel en Waren Autoriteit,
Wageningen

Inleiding

In aantal en in diversiteit vormen insecten veruit de grootste groep organismen ter wereld: 60% van de biodiversiteit in de wereld wordt gevormd door insecten. Naar schatting zijn er meer dan 10 miljoen soorten insecten in de wereld, waarvan er 1 miljoen zijn beschreven. In Nederland zijn ruim 19.000 soorten bekend. Van deze soorten is slechts een relatief klein aantal schadelijk voor plant en/of mens: ongeveer 1200 insectensoorten kunnen op een of andere wijze schadelijk zijn voor land-, tuin- en/of bosbouw. Plaagsoorten van buiten Europa, waarvan we op basis van een risicoanalyse inschatten dat deze in belangrijke mate schade zouden kunnen toebrengen aan land- en tuinbouwgewassen en bomen, staan op een zogenaamde quarantainelijst. Zowel de Europese Unie als de European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) kennen hun eigen quarantainelijsten (Fytorichtlijn 2000/29/EC en EPPO A1/A2-lijsten), welke voor een deel overlappen. In totaal staan op deze lijsten meer dan 227

verschillende soorten insecten en mijten. Voor deze zogenaamde Quarantaine-organismen zijn, in het geval van vondsten bij import-inspecties of in een teelt, officiële maatregelen vastgelegd die vestiging en verdere verspreiding moeten voorkomen.

Inspecties

Nederland is een belangrijke spil in de internationale handel in planten, snijbloemen, voortkweekingsmateriaal, en boomkwekerijgewassen. Jaarlijks inspecteren nVWA en Keuringsdiensten meer dan 110.000 zendingen van overal uit de wereld. Regelmatig worden er Q-organismen aangetroffen. Zes van de top tien van intercepties van Q-organismen in de EU betreffen insecten: *Bemisia tabaci*, *Liriomyza* spp., *Thrips palmi*, niet-Europese Tephritidae, *Spodoptera littoralis* en *Rhynchophorus ferrugineus*. Identificatie van soorten na een interceptie vindt vooral plaats met behulp van sleutels en tabellen

op basis van morfologische kenmerken van volwassen stadia. In veel gevallen echter wordt in planten en hun producten die in het handelscircuit worden gebracht, het onvolwassen stadium van Q-organismen aangetroffen. Morfologische sleutels en tabellen zijn voor deze stadia vaak niet beschikbaar of ontoereikend. Hierdoor kunnen soorten niet altijd, of slechts moeizaam op naam worden gebracht. Daarnaast zijn gevalideerde moleculaire identificatiemethoden slechts sporadisch voor handen.

Consortium Insecten

Het Consortium Insecten binnen het FES-Programma Versterking Infrastructuur Plantgezondheid was samengesteld uit de nieuwe Voedsel en Waren Autoriteit - divisie Plant (nVWA, de voormalige PD), Nederlands Centrum voor Biodiversiteit (NCB) Naturalis - Afdeling Entomologie, Zoölogisch Museum Amsterdam (ZMA, onderdeel van de Universiteit van Amsterdam), Wageningen University (WU) het Laboratorium voor Entomologie en de leerstoelgroep Biosystematiek. Doel van het project was:

1. Nederlandse insectencollecties te ontsluiten voor fyto-sanitair belangrijke insectensoorten, ontbrekende quarantaine organismen te verzamelen, waarborgen van de kwaliteitsgarantie van identificaties en het maken van een informatiesysteem voor fyto-sanitair belangrijke insectensoorten
2. morfologische en moleculaire knelpuntgroepen te inventariseren, vervolgens voor een aantal belangrijke

groepen sequenties te genereren en praktische moleculaire identificatietoetsen voor belangrijke knelpuntsoorten te ontwikkelen.

3. Daarnaast, in de loop van het project, enkele pilots uit te voeren om te toetsen of in museumexemplaren voldoende genetisch materiaal aanwezig is om als referentiemateriaal te kunnen dienen de voor ontwikkeling van nieuwe identificatiemethoden.

1. Collecties en Database

Collecties

Na inventarisatie van de Nederlandse collecties van ZMA (8 miljoen exemplaren), NCB Naturalis (6 miljoen exemplaren), Wageningen University (570.000 exemplaren) en nVWA – Nationaal Referentie Centrum (NRC, 120.000 exemplaren), bleek dat in Nederlandse collecties slechts 100 van de 227 Q-soorten aanwezig waren. Voor een groot deel van de Q-soorten was dus geen referentiemateriaal beschikbaar. Op zich is dat niet verwonderlijk, omdat de eerste drie collecties vooral tot stand zijn gekomen als resultaat van taxonomisch en faunistisch onderzoek en alleen de nVWA-collectie vanuit een fyto-sanitair perspectief. Insecten en mijten in Nederlandse collecties worden op verschillende manieren opgeslagen, afhankelijk van de grootte en kwaliteit van het materiaal: 1) opgespeld (droge exemplaren; zie afbeelding *Spodoptera*), 2) in de vorm van een microscopisch preparaat (kleine, zachte insecten en mijten) en 3) een collectie op een conserveringsvloeistof zoals alcohol (zachte

Tabel 1. Overzicht van het aantal exemplaren (specimens) van target-groepen (Q en look-alikes), waarvan in de collectie gegevens beschikbaar zijn, en welke reeds in Q-bank zijn ingevoerd.

| Groep | Collectie | | | | |
|--------------------|----------------|-------------|-------------|---------------|-------------|
| | WU-Entomologie | nVWA NRC | ZMA | NCB Naturalis | Totaal |
| <i>Coleoptera</i> | 105 | 463 | 97 | 2077 | 2742 |
| <i>Diptera</i> | 128 | 466 | 2015 | 1370 | 3979 |
| <i>Hemiptera</i> | 2 | | | 73 | 75 |
| <i>Hymenoptera</i> | 35 | | | 97 | 132 |
| <i>Lepidoptera</i> | 34 | 127 | 345 | 484 | 990 |
| Eindtotaal | 304 | 1056 | 2457 | 4101 | 7918 |



Figuur 1. De boorvlieg *Rhagoletis cingulata* (foto Bastian Reijnen, NCB Naturalis 2010).

stadia en soorten, voor moleculaire opslag). De collectie van Wageningen University is medio 2010 naar NCB Naturalis verhuisd.

Uit onderzoek bleek dat veel van het aanwezige materiaal niet geschikt (meer) was voor DNA-isolatie en gen-sequentie: alleen van opgespeld materiaal jonger dan 5 jaar kon zonder problemen een gen-sequentie worden bepaald. Het verzamelen van quarantaine insecten en hun *look-alikes* - via het eigen netwerk en door zelf het veld in te gaan - gaf wisselende resultaten: binnen Europa konden bv. van 108 (van de 237) soorten boorvliegen 512 exemplaren worden verzameld, buiten Europa

Tabel 2. Overzicht van het aantal verzamelde soorten en exemplaren boorvliegen (*Tephritidae*)

| Land | Organisatie | Aantal soorten | Aantal exemplaren |
|--------------|-------------|----------------|-------------------|
| Vietnam | nVWA | 3 | 90 |
| Thailand | nVWA | 6 | > 250 |
| Burkina Faso | nVWA | 4-5 | ~150 |
| Gambia | nVWA | > 3 | >2000 |
| Papoea | ZMA | 6 a 7 | ~ 50 |
| Australië | ZMA | 3 | ~100 |
| Frankrijk | Naturalis | 47 | 210 |
| Servië | Naturalis | 48 | 155 |
| Spanje | Naturalis | 37 | 169 |
| Oekraïne | Naturalis | 57 | 211 |

werden meer dan 2600 exemplaren verzameld, van een beperkt aantal (ongeveer 25) soorten.

Database

In samenwerking met BioAware is een database ontwikkeld die voor specialisten binnen het consortium toegankelijk is en beheerd kan worden en die sinds 22 juni 2010 voor externen online als Q-bank beschikbaar is via www.q-bank.eu. De insectendatabase geeft toegang tot informatie op het niveau van de soort, en ontsluit de informatie over exemplaren van deze soorten die in Nederlandse collecties aanwezig zijn. Tot op heden zijn gegevens van 1369 taxa en 7918 exemplaren van 233 soorten insecten in Q-bank ingevoerd (Tabel 1).

2. Moeilijk identificeerbare insectengroepen

Morfologische en moleculaire identificatie van knelpuntgroepen

Een doelstelling van het project was het faciliteren van kennisontwikkeling voor het verrichten van identificaties van groepen fyto-sanitair belangrijke insecten, die moeilijk of niet te identificeren zijn op basis van morfologische kenmerken alleen. Bij importinspecties worden vooral onvolwassen stadia gevonden, waarvoor veelal geen gedetailleerde morfologische sleutels bestaan. Hierdoor is identificatie op uiterlijke kenmerken vaak onmogelijk. Ook op (onder)soortniveau zijn identificaties soms lastig op basis van uiterlijke kenmerken alleen. Moleculaire identificatie van deze knelpuntgroepen zou dit probleem kunnen oplossen. Aan de hand van DNA-barcoding verwachten we, met ondersteuning van morfologische kenmerken, het niveau van de identificaties te kunnen verbeteren. Aan de hand van een analyse van het aantal notificaties van onderscheppingen door EU - lidstaten en Nederland, in combinatie met de beschikbaarheid van praktische identificatiemethodieken, zijn de volgende vier groepen gekozen:

- Boorvliegen (Diptera: Tephritidae)
- Uiltjes, geslacht *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae)
- Wittevlies, geslacht *Bemisia* (Hemiptera: Aleyrodidae)
- Boktorren (Coleoptera: Cerambycidae)

Boorvliegen (Diptera: Tephritidae)

Wereldwijd zijn meer dan 4000 soorten boorvliegen bekend; 23 daarvan zijn met name



Figuur 2. Een exemplaar van het uiltje *Spodoptera litura* (foto Ernst Neering, copyright nVWA-NRC).

genoemd in Fytorichtlijn 2000/29/EC. Het betreft niet-Europese soorten die behoren tot de geslachten *Anastrepha*, *Bactrocera*, *Ceratitis*, *Dacus* en *Rhagoletis*. Voor het aanvullen van soortinformatie en collecties en het verkrijgen van vers materiaal zijn twee wegen bewandeld: door ZMA is contact gelegd met deelnemers in het International Barcode of Life (BOLD, www.barcodeoflife.org), door diverse partners in het consortium zijn verzamelreizen georganiseerd in Europa, Vietnam, China, Thailand, Gambia, Burkina Faso, Papoea en Australië (Tabel 2).

In het BOLD-demonstratieproject Tephritidae Barcode Initiative (TBI) werken diverse boorvlieg-experts samen om een de identificatie van boorvliegen met behulp van barcodes operationeel te maken. Echter, alleen samenwerking met TBI-partner in Tervuren (B) leverde concrete resultaten op; contacten met andere experts leverde geen uitwisseling van data op. Tijdens verzamelreizen buiten Europa zijn veel exemplaren van een beperkt aantal soorten verzameld. Meest vruchtbaar bleek het verzamelen in Europa zelf (Tabel 2). Van

de 237 Tephritidae-soorten die in Europa voorkomen, zijn nu 197 soorten aanwezig in Nederlandse collecties. Van 173 soorten is barcode-informatie gepubliceerd in BOLD (www.boldsystems.org). Informatie op soortniveau over schadelijke Tephritidae en hun verwanten is via Q-bank beschikbaar. Het bestand bevat naast taxonomische gegevens ook informatie over de aanwezigheid van DNA-barcodes van de betreffende soorten, vermelding van de aanwezigheid van collectiemateriaal bij consortiumpartners, verwijzingen naar recente literatuur over de soorten, en verwijzingen naar identificatiesleutels. Uitgaande van Tephritidae is materiaal van verschillende leeftijden verzameld, geprepareerd en bewaard onder uiteenlopende omstandigheden. We vonden onder andere dat:

- vijf jaar oud materiaal PCR-amplificeerbaar DNA bevat;
- materiaal ouder dan tien jaar niet meer bruikbaar is voor DNA-analyse.

Spodoptera (Lepidoptera: Noctuidae)

Het geslacht *Spodoptera* kent wereldwijd dertig soorten. Op de EU-quarantainelijst staan vier soorten vermeld: *S. littoralis* (herkomst Afrika), *S. litura* (Azië), *S. frugiperda* en *S. eridania* (Noord- en Zuid-Amerika). Door hun grote reproductievermogen (tot 2000 eieren per vrouwtje), korte generatieduur (20-40 dagen), brede waardplantkeuze en het vermogen om snel resistentie te ontwikkelen tegen verschillende groepen gewasbeschermingsmiddelen, vormen deze organismen een reële bedreiging voor de Nederlandse en Europese (glas)tuinbouw. Een snelle en correcte identificatie van deze organismen bij importinspecties is van groot belang. Morfologische identificatie van volwassen vlinders is voor specialisten relatief eenvoudig, maar bij import worden vaak larven en eieren aangetroffen, waarvoor identificatie veel lastiger is. Ontwikkeling van een moleculaire identificatietoets (of commercieel beschikbare kit) voor de vier Q-*Spodoptera*-soorten kan de identificatie aanzienlijk bespoedigen.

Van vier genoemde *Spodoptera*-soorten en dertien verwanten zijn 81 exemplaren verzameld, waaronder zes van de acht Afrikaanse en de meest algemeen voorkomende Amerikaanse soorten (Tabel 3). Van deze exemplaren is de identiteit vastgesteld op basis van externe morfologie en/of geverifieerd door middel van een genitaal-preparaat. Van de 81 exemplaren bleken er 51 geschikt om gensequenties te genereren, zoals *cytochrome oxidase 1* (CO1) en *Elongation Factor 1* (EF). Daarmee is voldoende

moleculaire informatie beschikbaar gekomen om op basis van de sequentieverschillen een voor de nVWA-praktijk bruikbare toets voor de vier quarantainesoorten te ontwikkelen. Het in dit project geïnitieerde onderzoek wordt in vervolgonderzoek in FES-verband verder uitgewerkt, zodat assays ook op inspectielocatie (*on-site*) kunnen worden uitgevoerd om zo sneller en adequater te kunnen detecteren. Met deze nieuwe sequenties, en CO1-data gedeponerd op Genbank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), is tevens een fylogenetische reconstructie van het geslacht *Spodoptera* uitgevoerd, welke aanleiding geeft tot aanpassingen in de onderlinge verwantschap van soorten. Van de 30 *Spodoptera*-soorten, zijn nu negentien soorten aanwezig in Nederlandse collecties, en zijn exemplaren van zeventien soorten gebarcodeerd. De gegevens zijn opvraagbaar in Q-bank en gepubliceerd in BOLD.

Tabel 3. Overzicht van aantal verzamelde *Spodoptera*-soorten en specimen.

| Spodoptera-soort | Specimens | | | | |
|----------------------|-----------|-------------|-----------|------------|-----------|
| | Import | Verzameling | Netwerk | Collecties | Totaal |
| <i>albula</i> | 2 | | | | 2 |
| <i>androgea</i> | | | | | |
| <i>cilium</i> | | | 1 | 2 | 3 |
| <i>dolichos</i> | 1 | | 1 | | 2 |
| <i>eridania</i> | 1 | | 2 | | 3 |
| <i>exempta</i> | | 1 | | | 1 |
| <i>exigua</i> | 9 | | | 1 | 10 |
| <i>frugiperda</i> | 2 | | 1 | | 3 |
| <i>latifascia</i> | 2 | | 4 | | 6 |
| <i>littoralis</i> | 12 | | | | 12 |
| <i>litura</i> | 4 | 1 | | 1 | 6 |
| <i>malagasy</i> | | | 1 | | 1 |
| <i>mauritica</i> | | 4 | 1 | 3 | 8 |
| <i>ochrea</i> | 2 | | | | 2 |
| <i>ornithogalli</i> | | | 1 | | 1 |
| <i>pecten</i> | | | | 3 | 3 |
| <i>pectinicornis</i> | | | | 1 | 1 |
| <i>picta</i> | 1 | | 1 | | 2 |
| <i>pulchella</i> | | | 1 | | 1 |
| <i>trituratora</i> | 1 | | 1 | 3 | 5 |
| 19 soorten | 37 | 6 | 15 | 14 | 72 |

Bemisia tabaci (Hemiptera: Aleyrodidae)

Naast de kas-wittevlieg, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood, 1856) is de tabakswittevlieg, *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) in Europa schadelijk in kas-teelten. *B. tabaci* is vooral belangrijk als vector van veel plantenvirussen. Vanwege de mogelijke aanwezigheid van virussen in het insect of het plantenmateriaal zijn partijen waarin *B. tabaci* wordt aangetroffen in de EU gereguleerd (Directive 2000/29/EC, Annex IAI). Partijen plantmateriaal van niet-Europese herkomst worden tegengehouden wanneer *Bemisia* aanwezig is. Daarnaast zijn van *B. tabaci* een brede reeks aan biotypen bekend, die kunnen verschillen in waardplantreeks en virulentie. Welke biotypen in Nederland voorkomen was bij aanvang onbekend.

B. tabaci bleek lastig te verzamelen: slechts een tiental monsters kon door NRC worden aangeleverd. Door WU-Entomologie en WU-Biosystematiek is een PCR-identificatiekit voor *B. tabaci* ontwikkeld, op basis van materiaal uit Azië (China, Maleisië). Hiermee kan de identiteit van wittevliegsoorten, *B. tabaci* resp. *T. vaporariorum*, in een importpartij worden vastgesteld. Daarnaast is door beide partners een TaqMan PCR-methode ontwikkeld om verschillende biotypes (B, Q) van *B. tabaci* te identificeren. Vervolgens heeft Plant Research International toetsen ontwikkeld om vast te stellen of in het *B. tabaci*-materiaal virussen aanwezig zijn en welke virussen dit eventueel betreft.

Boktorren (Coleoptera; Cerambycidae)

Boktorren zijn vanwege hun bedreiging als schadelijk organisme in de groene ruimte (*Anoplophora* spp.) of als vector van het dennenhoutaaltje (*Monochamus* spp.) aan het programma toegevoegd. Diagnostische protocollen zijn opgesteld voor de Oost-Aziatische boktor, *Anoplophora chinensis* en de Aziatische boktor *A. glabripennis* voor een adequate morfologische identificatie van adulten en larven. Gedurende het project zijn van 35 verschillende economisch belangrijke boktorsoorten exemplaren verzameld of aangekocht, ter completering van de collecties en als ondersteuning voor de ontwikkeling van moleculaire toetsen. Van alle exemplaren is barcode-informatie gegenereerd waarbij ze tot op soort zijn geïdentificeerd, de collectiegegevens zijn gecompleteerd. Van elk exemplaar is tissue geïsoleerd, sequenties hiervan moeten nog worden gegenereerd. Alle beschikbare informatie, inclusief fotomateriaal (zie afbeeldingen) is in Q-bank terug te vinden.



Figuur 3. Vrouwtje van de boktor *Anoplophora amoena* (foto Theodoor Heijerman, copyright nVWA-NRC).

Dankwoord

Een woord van dank aan de diverse partners binnen het Uitvoeringsconsortium Insecten van het FES-Programma Versterking Infrastructuur Plantgezondheid is hier op zijn plaats:

Jan van Tol, Bastian Reijnen, John Smit en Frank Stokvis (NCB Naturalis, Afdeling Entomologie)
 Herman de Jong en Pasquale Cilberti (Zoologisch Museum Amsterdam, Universiteit van Amsterdam)
 Marcel Dicke, Patrick Verbaarschot en Yde Jongema (Wageningen University, Laboratorium voor Entomologie)
 Freek Bakker en Theodoor Heijerman (Wageningen University, Leerstoelgroep Biosystematiek)
 Ping-ping Chen, Eddy Dijkstra, Joke Fransen, Maurice Jansen, Nico Mentink, Marja van der Straten, Brigitta Wessels-Berk en Bart van den Vossenbergh (nVWA, divisie Plant, Nationaal Referentie Centrum) Ernst Neering en Barend Mechielsen

Pilots

Het verkrijgen van vers materiaal dat geschikt is voor sequencing blijkt vaak een bottleneck voor ontwikkeling en validatie van moleculaire identificatiemethoden. In collecties is veel oud materiaal aanwezig van soorten die als bron zouden kunnen dienen. Onduidelijk is echter of het genetisch materiaal van deze exemplaren in voldoende mate aanwezig of geschikt is om als referentiemateriaal te worden gebruikt. Vaak is het DNA gefragmenteerd en moeten nieuwe methodes worden ontwikkeld om dit materiaal eventueel te kunnen gebruiken. Tijdens het project is nieuwe technologie beschikbaar gekomen die ons in staat stelt om DNA van steeds ouder museummateriaal beschikbaar te maken als referentiemateriaal voor nieuw te ontwikkelen identificatiemethoden. Twee protocollen zijn

getest op aanwezigheid en bruikbaarheid van zogenaamd 'ancient DNA', het PHIRE-protocol en Next Generation Sequencing.

In een eerste pilot experiment is door WU-Biosystematiek het *Phire*-procedé getest op het dijbeen van 23 oude exemplaren van *Spodoptera* en *Cymothoe* (Nymphalidae) verzameld uit de collecties van ZMA, WU-Entomologie, WU-Biosystematiek en Naturalis. Uiteindelijk konden mtDNA COI-fragmenten uit dit materiaal niet worden geamplificeerd en gesequenced, en bleek het *Phire*-protocol voor het bepalen van de COI-barcode niet succesvol.

Een tweede pilot is gericht op Next-Generation Sequencing, waarbij het hele genoom wordt geamplificeerd. *Ceratitis capitata* (Medfly) is als target gekozen en materiaal is wereldwijd verzameld, maar we hopen de resultaten van deze pilot medio 2011 te kunnen publiceren.

Samenvatting van resultaten van het Consortium

- Vijftig fytosanitair belangrijke soorten zijn toegevoegd aan Nederlandse collecties; van de 227 soorten zijn nu 150 soorten beschikbaar.
- De Nederlandse insectencollecties zijn gekoppeld in een publiek toegankelijke database: Q-bank.
- Toetsen op basis van DNA-barcodes zijn ontwikkeld voor de vier *Spodoptera*-soorten en voor *Bemisia tabaci*.
- Verder is er een goede basis gelegd voor verdere samenwerking binnen nationale (FES biodiversiteit) en internationale projecten, zoals het EU-KP7project Quarantine Barcode of Life (QBOL). Het QBOL project is in belangrijke mate complementair aan het FES-project en resultaten van beide projecten worden gezamenlijk in Q-bank opgenomen.

De ontwikkeling van een informatiesysteem voor invasieve plantensoorten

Leni Duistermaat¹,
Johan van Valkenburg²,
Tanja Speek³,
Clemens van de Wiel³,
René Smulders³,
René van Moorsel¹
en Bert Lotz³

¹ Nederlands Centrum voor
Biodiversiteit Naturalis,
sectie Nationaal Herbarium
Nederland, Postbus
9514, 2300 RA Leiden;
e-mail: duistermaat@nhn.
leidenuniv.nl.

² Nieuwe Voedsel en
Waren Autoriteit, Divisie
Plant, Postbus 9102,
6700 HC Wageningen;
e-mail: j.l.c.h.van.
valkenburg@minlnv.nl

³ Plant Research
International, Wageningen
UR, Postbus 16, 6700 AA
Wageningen; e-mail:
tanja.speek@wur.nl;
clemens.vandewiel@wur.nl;
rene.smulders@wur.nl;
bert.lotz@wur.nl

Inleiding

De laatste decennia kent de Nederlandse flora een sterke toename van exoten (Tamis, 2005). De meeste van deze nieuwkomers zijn zeer bescheiden en leveren geen problemen op. Grote waternavel (*Hydrocotyle ranunculoides*) is echter een duidelijk voorbeeld van een exoot die op dit moment veel overlast veroorzaakt. Soorten die door een sterke uitbreiding of verdichting van hun areaal overlast veroorzaken, worden *invasieve* soorten genoemd. De overlast van invasieve soorten (vaak kortweg invasieven genoemd) kan bestaan uit economische schade en gezondheids- en/of veiligheidsproblemen. Wereldwijd worden invasieve soorten, na habitatdestructie, gezien als de tweede belangrijkste oorzaak voor de bedreiging van biodiversiteit (IUCN, 2000, CBD, 2005, Mooney *et al.*, 2004)

Veel exoten zijn ons land binnengekomen via de handel, hetzij bedoeld, bijvoorbeeld als tuin- of aquariumplant, hetzij onbedoeld als verstekeling in potplanten of verontreiniging in zaadproducten. Aangezien voorkomen beter is dan genezen, ligt het voor de hand te proberen te verhinderen dat soorten Nederland binnenkomen die bij introductie waarschijnlijk problemen veroorzaken. Het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit (thans Ministerie van Economische Zaken, Landbouw en Innovatie) heeft daarom het Uitvoeringsconsortium Invasieve Plantensoorten, bestaande uit het Nationaal Herbarium Nederland (NCB Naturalis, sectie NHN), de nieuwe Voedsel en Waren Autoriteit, divisie Plant (voormalige PD) en Plant Research International (PRI), een FES-subsidie verleend om in vier jaar tijd een informatiesysteem over potentieel invasieve exotische plantensoorten op te zetten. Doel is informatie aan te leveren op basis waarvan ingeschat kan worden hoe groot de kans is dat exotische soorten zich bij introductie in Nederland invasief zullen gaan gedragen. Daarnaast is het doel hulp te bieden bij het herkennen van zulke soorten als ze worden geïmporteerd. De aandacht richt zich op vaatplanten (dus niet algen en mossen), met speciale aandacht voor zoetwaterplanten, omdat er in deze groep acute problemen zijn. De activiteiten zijn ondergebracht in twee werkpakketten. Het informatiesysteem is ondergebracht in Q-bank, de web-based



Vegetatie van grote waternavel (*Hydrocotyle ranunculoides*) bedekt een sloot (foto: W. van Wijngaarden; inzet: J. van Valkenburg).

database waarin soortgebonden informatie op het gebied van plantgezondheid bijeen wordt gebracht. In een aparte bijdrage elders in dit nummer worden de resultaten uit het derde werkpakket beschreven. In dat werkpakket worden digitale sleutels en visuele hulpmiddelen voor de herkenning van invasieve plantensoorten ontwikkeld.

Hieronder zullen we ingaan op:

1. de resultaten van een verdiepingsstudie om de invasiviteit van plantensoorten beter te kunnen voorspellen
2. de selectie van de soorten die in het systeem worden opgenomen
3. de opbouw van het informatiesysteem zelf
4. het belang ervan voor de nVWA en de keuringsdiensten
5. de mogelijkheid om het principe van DNA-barcoderen te gebruiken voor identificatiedoeleinden.

Voorspelbaarheid invasiviteit

In een AIO-studie naar de voorspelbaarheid van invasiviteit hebben we geprobeerd een set kenmerken van planten te identificeren die invasiviteit voorspellen. Voor het onderzoek hebben we beschikbare data over de aanwezigheid van exoten in Nederland bij elkaar gebracht, zowel op regionale als op lokale schaal. De regionale schaal zegt iets over hoe wijdverspreid planten zijn in Nederland (Florbace; Tamis *et al.*, 2004). De lokale-schaaldata informeren over hoe vaak de soorten dominant zijn op lokaal niveau (Landelijke Vegetatie Database; Schaminee *et al.*,



Figuur 1. Groslijst en filtering van namen voor uiteindelijke opname in het informatiesysteem.

2007). Verscheidene kenmerken bleken hieraan gecorreleerd.

We zien een groot verschil aan kenmerken die correleren tussen de schaalniveaus. Soorten die wijdverspreid zijn op de regionale schaal zijn groter, bloeien langer, zijn vaker polyploid en eenjarig, komen vaker van buiten Europa en hebben zich langer geleden gevestigd in de natuur. Soorten die vaak dominant zijn op de lokale schaal verspreiden zich vaker lateraal met klonale uitlopers en zijn juist korter geleden genaturaliseerd.

Deze tegenstelling in de relatie met tijd sinds naturalisatie is interessant. Het is algemeen bekend dat exoten tijd nodig hebben om na introductie in een nieuw gebied wijdverspreid te raken (Williamson *et al.*, 2009). Een mogelijke verklaring dat soorten minder dominant zijn als ze hier langer zijn, is dat ze er meer natuurlijke vijanden bij krijgen in de loop van de tijd (Diez *et al.*, 2010). Een andere mogelijke verklaring is dat over de verschillende tijdperiodes andere typen planten werden geïntroduceerd (Pyšek *et al.*, 2003).

Als volgende stap proberen we in een lopend onderzoek een vergelijking te maken tussen inheemse en uitheemse planten. We analyseren of de patronen die we vinden bij uitheemse planten ook te vinden zijn onder inheemse planten. Hiermee onderzoeken we of de bovengenoemde kenmerken van de exoten uniek zijn voor geïntroduceerde soorten of algemene kenmerken zijn van veel voorkomende planten, ongeacht hun herkomst. In deze verdiepende studie wordt tevens de bruikbaarheid van de in Australië ontwikkelde 'Weed Risk Assessment' (Pheloung, 1999)

getest voor de exoten in Nederland. Dit uitgebreide systeem heeft al bewezen in vele regio's goed te werken (Gordon *et al.*, 2008).

Soortselectie

Op EU-niveau is geen soortenlijst vastgesteld met invasieve exotische plantensoorten die geweerd of bestreden moeten worden, met uitzondering van een geslacht van Noord-Amerikaanse maretak-achtigen (*Arceuthobium*). Het opstellen van zo'n lijst is dus vooralsnog een nationale aangelegenheid, hoewel er binnen bijvoorbeeld EPPO-verband wel over geadviseerd wordt. De uiteindelijke lijst van het projectonderdeel Invasieve Plantensoorten bevat soorten die nog niet aanwezig zijn maar wel een potentieel risico vormen voor de 'ecoregio' waartoe Nederland behoort¹, soorten die reeds in de ecoregio aanwezig zijn maar nog niet onbeheersbaar zijn en soorten die zich reeds gevestigd hebben maar waarop beleidsmatig toch nog actie ondernomen wordt. Daarnaast zijn soorten opgenomen die gereguleerd zijn door landen uit de gematigde streken waarmee Nederland een handelsrelatie heeft. Immers, een belangrijk onderdeel van de economische motor van de Nederlandse economie is de export en doorvoer van plantaardige producten naar zogeheten derde landen. Behalve handelsgewassen kunnen ook uitheemse soorten die als besmetting meekomen, door deze landen gereguleerd zijn, omdat men ze daar liever buiten de deur houdt. Controle voor vertrek uit ons land voorkomt eventuele problemen bij import aldaar.

De 'groslijst' is samengesteld vanuit diverse bronnen (zie Figuur 1). Uit de literatuur hebben we achterhaald welke exotische soorten in de ecoregio Nederland reeds gevestigd of incidenteel waargenomen zijn (bijv. Tamis *et al.*, 2004, Verloove, 2006, Junghans, 2008, Holverda *et al.*, 2009). Deze lijst is aangevuld met soorten die nog niet bij ons zijn gesignaleerd zijn maar elders in vergelijkbare habitats als invasief zijn gemeld. Omdat in Nederland op dit moment de grootste overlast zich voordoet in de groep van de waterplanten, is in de periode juni – oktober 2006 uit import- en doorvoervergunningen van 98 handelspartijen vanuit zuidoost Azië naar Nederland een lijst van verhandelde waterplanten opgesteld. Voor de soorten die gereguleerd zijn door derde landen zijn de lijsten van Australië, Japan, Nieuw Zeeland, Oekraïne, Russische Federatie, Verenigde Staten en Wit-Rusland verwerkt. In aanvulling daarop is ook de EPPO-alertlijst (http://www.eppo.org/QUARANTINE/Alert_List/alert_list.htm) meegenomen. Dit alles heeft geresulteerd in een groslijst van meer dan

¹ Ecoregio

Met de 'ecoregio' wordt in dit geval bedoeld Nederland, België, Luxemburg, en die delen van Denemarken, Duitsland en Frankrijk die vallen onder het zogeheten 'Atlantic mixed forest'. Deze ecologische regio wordt verder gegroepeerd onder de 'Palearctic Temperate broadleaf and mixed forests' die als zodanig onderdeel uitmaken van de Palearctische ecozone.

duizend namen (soorten en geslachten). Van alle bovengemelde namen is gekeken naar de juistheid van de naamgeving, het risico op vestiging en ontwikkeling van invasief gedrag in Nederland (op basis van klimaat en invasiviteit elders) en de waarschijnlijkheid dat een soort als verontreiniging aanwezig kan zijn in een product dat via Nederland verhandeld wordt. De uiteindelijke lijst is daardoor gereduceerd tot ongeveer de helft van de groslijst. De hoeveelheid informatie in het systeem varieert per soort, afhankelijk van het geanticipeerde risico. Voor een vijftigtal soorten is alle gewenste detailinformatie opgenomen inclusief de informatie die nodig is om een uitgebreide risicoanalyse te kunnen doen. Deze soorten zijn geselecteerd op basis van een snelle risico-inschatting en *expert judgement* op basis van bestaande modellen (een zogenaamde *quick scan*). Voor ongeveer 150 soorten is informatie opgenomen die volstaat voor een beperkte risicoanalyse, terwijl voor de resterende 300 soorten de informatie zich beperkt tot naamgeving en morfologie. Met het oog op controle en identificatie worden ook sterk gelijkende soorten, die verwarring bij identificatie op kunnen leveren, opgenomen.

Opbouw informatiesysteem

Uit het voorgaande volgt dat er voor ongeveer 500 soorten informatie wordt opgenomen in het informatiesysteem ten behoeve van het kunnen beoordelen van het risico tot ontwikkelen van invasief gedrag in Nederland. Daarnaast bevat het systeem straks ook informatie die van belang is bij de beoordeling of de soort bestreden kan worden en ten slotte ook informatie om de soort



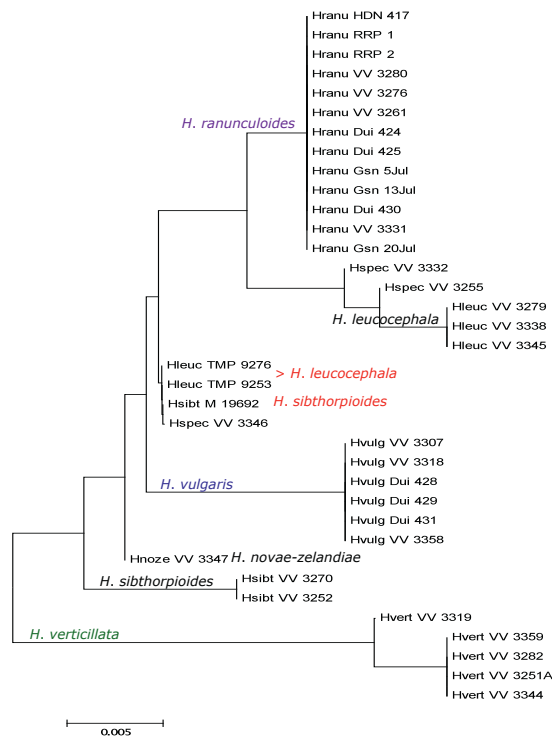
Figuur 2. Opzet van het informatiesysteem Invasieve Plantensoorten (<http://www.q-bank.eu/Plants/>).

te kunnen herkennen.

De opgenomen informatie is geordend onder de volgende kopjes: taxonomie, bibliografie, morfologie, illustraties, extra informatie (gebruik, gelijkende soorten, coderingen), verspreiding (oorspronkelijk en huidig), biochemie en moleculaire gegevens (ten behoeve van het DNA-barcoderen, zie hieronder), ecologie, en tenslotte invasiviteitsrisico en -controle (Figuur 2). De informatie is vanuit diverse bronnen (boeken, tijdschriften, websites, databases) bijeengebracht. Waar mogelijk is dit aan herbariumcollecties gekoppeld. De taxonomie volgt Van der Meijden (2005) voor zover de soorten daarin zijn opgenomen. De taxonomie van de overige soorten is gebaseerd op recente leidinggevende flora's uit het gebied van oorsprong (zoals bijvoorbeeld Flora of North America <http://www.fna.org/> en Flora of China <http://flora.huh.harvard.edu/china/>). De illustraties zijn voor zover mogelijk in eigen beheer gemaakt. Voor de zaden is een samenwerkingsverband met de Universiteit Groningen aangegaan. De verspreiding van de soort wordt zowel in woord (per land) als in beeld (kaart) gegeven. Voor Nederland presenteren we voor ongeveer vijftig soorten een verspreidingskaart, gebaseerd op veldwaarnemingen zoals bijeengebracht in de databank van NHN / FLORON (FlorBase) en op herbariumcollecties van NHN. Voor ongeveer tweehonderd soorten geven we een verspreiding op wereldschaal gebaseerd op literatuurgegevens. Voor ongeveer vijftig soorten wordt dat onderbouwd met herbariumcollecties van NHN, selectief aangevuld vanuit buitenlandse herbaria. Aangezien zowel de werkvelden (handel, onderzoek) als het onderzoeksveld (flora) dynamisch zijn, zal de selectie van soorten en de opgenomen informatie met enige regelmaat moeten worden herzien.

Belang voor nVWA & keuringsdiensten

De gegevens over (potentieel) invasieve plantensoorten zoals ze in het informatiesysteem te vinden zijn, vormen een betrouwbaar instrument ter ondersteuning van inspectietaken. Zowel exportinspecties met name op het gebied van ongewenste zaden, maar ook inspecties in het kader van het Convenant waterplanten. Bovendien, met een toenemende aandacht voor de Groene Ruimte, is de informatie in het systeem onmisbaar voor opleidingen. Kennis met betrekking tot invasieve planten zal als basiskennis beschouwd gaan worden voor zowel de inspecteur in het veld als voor de beleidsmedewerker die in (inter)nationaal



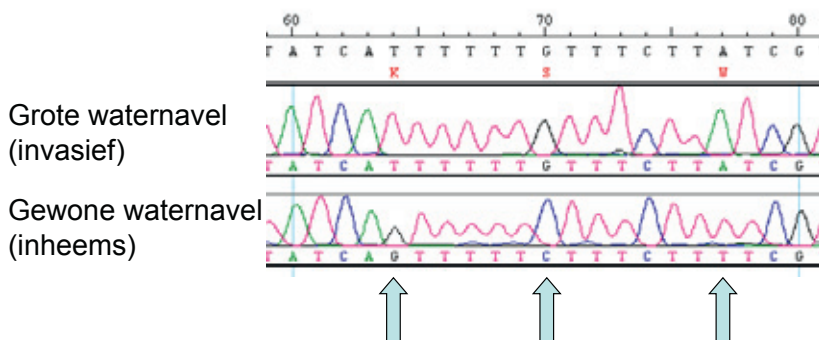
Figuur 3. Dendrogram op basis van *trnH-psbA*-sequenties bij waternavel (geslacht *Hydrocotyle*).

verband met invasieve planten te maken heeft. Met het systeem zoals het nu wordt opgebouwd, is de nVWA voorbereid op te verwachten toekomstige regelgeving vanuit Brussel in relatie tot invasieve plantensoorten binnen Europa.

Identificatie op DNA-barcode

Om invasieve soorten te kunnen herkennen bij import of in de handel is ondubbelzinnige determinatie van plantmateriaal nodig. Als de planten niet bloeien is het echter vaak

Variabele plekken in DNA-volgorde (barcode)



Figuur 4. Een stukje van de basenvolgorde in het DNA op een plaats waar verschillen te zien zijn tussen grote en gewone waternavel.

onmogelijk om ze op uiterlijke kenmerken te onderscheiden van nauwverwante, niet-invasieve, soorten. In zulke gevallen zou determinatie aan de hand van DNA-kenmerken een uitkomst kunnen bieden. Dit sluit goed aan bij de wereldwijde inspanning die momenteel gepleegd wordt om zoveel mogelijk soorten aan de hand van een 'DNA barcode' identificeerbaar te maken (Consortium for the Barcoding of Life: <http://www.barcoding.si.edu/whatis.html>).

Een DNA-barcode is een stukje DNA (de volgorde van basen op een bepaalde plek, een 'sequentie') dat verschilt tussen soorten maar dat binnen één soort constant is. Voor planten zijn verschillende sequenties voorgesteld. In ons eigen onderzoek aan een aantal invasieve waterplanten hebben we er verschillende getoetst, waarvan de zogenaamde *trnH-psbA*-sequentie uit de chloroplast (chloroplasten hebben hun eigen genoom) het effectiefst bleek. Hiermee konden de invasieve soorten grote waternavel (*Hydrocotyle ranunculoides*), waterteunisbloem (*Ludwigia grandiflora*) en kleine waterteunisbloem (*L. peploides*), ongelijkbladig vederkruid (*Myriophyllum heterophyllum*) en parelvederkruid (*M. aquaticum*), waterwaaier (*Cabomba caroliniana*), en een viertal soorten uit de familie van de Hydrocharitaceae, egeria (*Egeria densa*), hydrilla (*Hydrilla verticillata*), smalle waterpest (*Elodea nuttallii*) en verspreidbladige waterpest (*Lagarosiphon major*) van elkaar en van alle geteste nauwverwante soorten onderscheiden worden.

Ter illustratie laat Figuur 3 een dendrogram zien op basis van *trnH-psbA*-sequenties bij waternavel (geslacht *Hydrocotyle*). Alle invasieve grote waternavel (*H. ranunculoides*)-monsters zijn identiek aan elkaar en vormen een aparte tak die duidelijk onderscheiden kan worden van alle andere soorten, waaronder de inheemse gewone waternavel (*H. vulgaris*) (Van de Wiel *et al.*, 2009). Figuur 4 toont een stukje van de basenvolgorde in het DNA op een plaats waar verschillen te zien zijn tussen grote en gewone waternavel. Op dit moment vergt DNA-barcoderen nog een aantal bewerkingsschappen in het laboratorium.

Wanneer het in de nabije toekomst mogelijk wordt om routinematig DNA-volgordes vast te stellen, kunnen de douane en andere controlediensten bovengenoemde soorten hiermee wellicht in het veld herkennen, onafhankelijk van uiterlijke kenmerken.

Literatuur

- CBD (2005) Convention on Biological Diversity, Tenth meeting, Bangkok, 7–11 February 2005 Item 5.4 of the provisional agenda. Indicators for assessing progress towards the 2010 target: numbers and cost of alien invasions. "They [invasive alien species] are considered to be the second leading cause of biodiversity loss, after habitat alteration"
- Diez J M, Dickie I, Edwards G, Hulme PE, Sullivan JJ & Duncan RP (2010) Negative soil feedbacks accumulate over time for non-native plant species. *Ecology Letters*, 13: 803-809
- Gordon DR, Onderdonk DA, Fox AM & Stocker RK (2008) Consistent accuracy of the Australian weed risk assessment system across varied geographies. *Diversity and Distributions* 14: 234-242
- Holverda WJ, van Moorsel RCMJ & Duistermaat H (2009) Nieuwe vondsten van zeldzame planten in 2005, 2006 en ten dele 2007. *Gorteria* 34: 1-40
- IUCN (2000) IUCN guidelines for the prevention of biodiversity loss caused by alien invasive species. Approved by the 51st Meeting of the IUCN Council, Gland Switzerland, www.iucn.org/themes/ssc/publications/policy/invasivesEng.htm: "One of the major threats to native biological diversity is now acknowledged by scientists and governments to be biological invasions caused by alien invasive species." In: IUCN guidelines for the prevention of biodiversity loss caused by alien invasive species, Approved by the 51st Meeting of the IUCN Council, Gland Switzerland, February 2000: www.iucn.org/themes/ssc/publications/policy/invasivesEng.htm
- Junghans T (2008) Zu den Vorkommen einiger bemerkenswerter Neophyten in Mannheim (Baden-Württemberg). *Floristische Rundbriefe* 41: 51-57
- Mooney HA, McNeely JA, Neville LE, Schei PJ & Waage JK, red. (2004) *Invasive Alien Species: Searching for Solutions*. Island Press, Washington, DC
- Pheloung PC, Williams PA & Halloy SR (1999) A weed risk assessment model for use as a biosecurity tool evaluating plant introductions. *Journal of Environmental Management* 57: 239-251
- Pyšek P, Sádlo J, Mandák B & Jarošík V (2003) Czech alien flora and a historical pattern of its formation: what came first to Central Europe? *Oecologia* 135: 122-130
- Schaminee JHJ, Hennekens SM & Ozinga WA (2007) Use of the ecological information system SynBioSys for the analysis of large datasets. *Journal of Vegetation Science* 18: 463-470
- Tamis WLM (2005) Changes in the flora of the Netherlands in the 20th century. *Gorteria Supplement* 6: 1-233.
- Tamis WLM, van der Meijden R, Runhaar J, Bekker RM, Ozinga WA, Odé B & Hoste I (2004) Standaardlijst van de Nederlandse flora 2003. *Gorteria* 30: 101-195
- Van de Wiel CCM, van der Schoot J, van Valkenburg JLCH, Duistermaat H & Smulders MJM (2009) DNA barcoding discriminates the noxious invasive plant species, floating pennywort (*Hydrocotyle ranunculoides* L.f.), from non-invasive relatives. *Molecular Ecology Resources* 9: 1086-1091
- Van der Meijden R (2005) Heukels' Flora van Nederland, ed. 23. Wolters-Noordhoff, Groningen
- Verloove F (2006) Catalogue of neophytes of Belgium (1800-2005). *Scripta Botanica Belgica* 39: 3-89
- Williamson M, Dehnen-Schmutz K, Kuhn I, Hill M, Klotz S, Milbau A, Stout J & Pyšek P (2009) The distribution of range sizes of native and alien plants in four European countries and the effects of residence time. *Diversity and Distributions* 15: 158-166

Taxonomie van plant-pathogene schimmels als basis voor identificatie en detectie

Resultaten van het Uitvoeringsconsortium Schimmels

Lute-Harm Zwiers¹,
Maikel Aveskamp¹,
Peter Bonants²,
Henk Brouwer¹,
Arthur de Cock¹,
Ulrike Damm¹,
Hans de Gruyter³,
Ellis Meekes⁴,
Els Verstappen²
en Joyce Woudenberg¹

Inleiding

Plant-pathogene schimmels worden traditioneel geïdentificeerd op basis van morfologische karakteristieken. Dit is over het algemeen tijdrovend en vraagt veel expertise. Verder leidt dit vaak tot misidentificatie als gevolg van het naast elkaar bestaan van verwante pathogene en niet-pathogene soorten die niet of nauwelijks van elkaar zijn te onderscheiden.

Het doel van het werk uitgevoerd door het uitvoeringsconsortium schimmels was dan ook gericht op de verbetering van detectie- en

identificatietechnieken van plant pathogene schimmels met de nadruk op quarantaine-organismen. Hiertoe is van een aantal geselecteerde genera een *up-to-date* collectie samengesteld van de aanwezige soorten en isolaten. Van deze soorten / isolaten zijn taxonomische, morfologische, en moleculaire data gegenereerd die zijn opgenomen in genus-specifieke databases. Deze databases zijn een onderdeel van Q-bank (www.q-bank.eu/fungi). Hiermee kan de taxonomische basis worden gelegd voor een optimaal onderscheid van soorten, noodzakelijk voor de ontwikkeling van soortspecifieke detectie-

¹ CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht

² Plant-Research International, Wageningen

³ nVWA Divisie Plant, Nationaal Referentiecentrum Wageningen

⁴ Naktuinbouw, Roelofarendsveen

en identificatietechnieken. Op grond van het economische, wetenschappelijke, en ecologische belang, de aanwezigheid van Q-organismen, en de wetenschappelijke startpositie binnen Nederland is in eerste instantie de keuze gevallen op de geslachten *Colletotrichum*, *Phoma*, en *Phytophthora*.

Colletotrichum is vooral bekend als de veroorzaker van anthracnose (dode plekken) op diverse waardplanten en is van groot belang in de aardbeienteelt. Verschillende grote soortcomplexen spelen bij *Colletotrichum* een rol. Deze complexen bestaan uit diverse nauwverwante soorten die over het algemeen morfologisch niet of nauwelijks te onderscheiden zijn. In dit project is er dan ook voor gekozen de morfologische identificatie te koppelen aan moleculaire analyse om zo de taxonomische status van de talloze *Colletotrichum*-soorten te ontrafelen. Nederland heeft in het verleden een belangrijke rol gespeeld in de *Colletotrichum*-taxonomie en vele isolaten waren dan ook beschikbaar voor onderzoek.

Het geslacht *Phoma* bevat verschillende Q-(waardige) organismen, waaronder de belangrijke Q-aardappelpathogenen *P. andigena* en *P. crystalliniformis*, en organismen die de kwaliteit van het product aantasten, zoals *P. foveata*. In Nederland vindt al meer dan veertig jaar onderzoek plaats aan *Phoma*. Hierdoor ligt het zwaartepunt van de wereldwijde kennis op het gebied van *Phoma* in Nederland en is een uitgebreide werkcollectie beschikbaar. Aan het begin van dit project was de taxonomische indeling van dit genus voornamelijk gebaseerd op morfologische karakteristieken en dit leidde tot een artificiële indeling in secties. Deze indeling stond ter discussie en in dit project werden naast morfologische beschrijvingen dan ook moleculaire technieken toegepast om te komen tot een nieuw en geaccepteerd genus- en soortconcept.

Phytophthora is een geslacht van voornamelijk

plantpathogene oömyceten. Dit genus is van groot belang in de akkerbouw, (glas)tuinbouw, sierteelt en de boomkwekerij. *Phytophthora* bevat diverse Q-organismen zoals *P. ramorum*, *P. lateralis* en *P. fragariae*. Als gevolg van de ontwikkeling van nieuwe moleculaire technieken en de toename van gerichte surveys worden met regelmaat nieuwe soorten gevonden, evenals hybriden. In het kader van dit project is de collectie dan ook geactualiseerd met nieuwe beschreven soorten, en is de karakterisering verbeterd door gebruik te maken van geactualiseerde en gestandaardiseerde morfologische en moleculaire data.

Colletotrichum-soortcomplexen

Colletotrichum is de veroorzaker van anthracnose op diverse belangrijke gewassen. Ongeveer 700 soorten zijn beschreven, maar de taxonomische status is veelal onduidelijk. Op aardbei kan dit pathogeen voorkomen op diverse plantendelen zoals kroon, blad en uitloper maar is hier vooral van belang als veroorzaker van vruchtrot.

De soorten die verantwoordelijk zijn voor de ziekte op aardbei, *C. acutatum*, *C. dematium*, *C. fragariae*, en *C. gloeosporioides* maken deel uit van grote soortcomplexen. De vraag is hoeveel en welke soorten verantwoordelijk zijn voor de ziekte op aardbei en hoe deze kunnen worden onderscheiden van andere *Colletotrichum*-soorten. In het FES-programma 'Versterking Infrastructuur Plantgezondheid' is gekozen voor een moleculaire identificatie van deze soortcomplexen door middel van multi-locus fylogenie¹ en een morfologische karakterisatie van ex-typestammen^{2,3}. Van alle beschikbare *Colletotrichum*-isolaten (ca 1000) zijn ITS-sequenties⁴ gegenereerd en om de soorten binnen de complexen nader te kunnen definiëren is de sequentie van zes additionele genen bepaald (coderend voor actine, -tubuline, chitinesynthase, histon3, calmoduline, en glyceraldehyde 3 fosfaat dehydrogenase).

¹ Multi-locus fylogenie:

Fylogenie is de studie van de evolutie en ontstaansgeschiedenis van organismen. Dit kan onder meer door te kijken naar de overeenkomsten en verschillen in DNA-sequenties. Indien dit wordt gedaan voor meerdere genetische loci spreekt men van multi-locus fylogenie. Het resultaat wordt meestal grafisch weergegeven als een stamboom.

² Typestam:

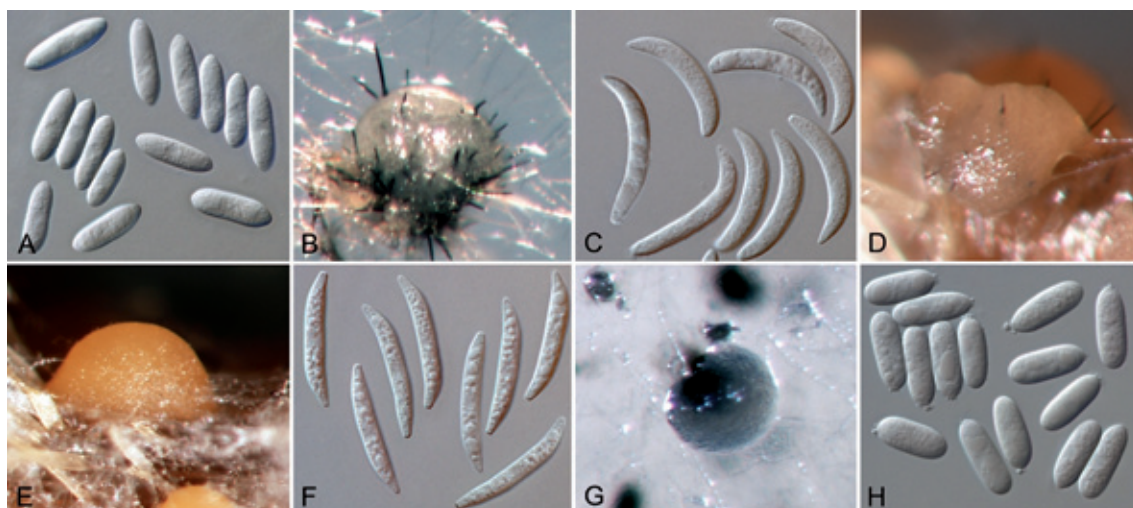
De stam of isolaat van een soort waaraan formeel de wetenschappelijke naam verbonden is.

³ Ex-typestam:

Levend isolaat of stam verkregen van typestam indien deze permanent bewaard wordt in metabool inactieve vorm.



Figuur 1. A: Ziektebeeld veroorzaakt door *Colletotrichum* op aardbei, B: Ziektebeeld veroorzaakt door *Phoma terrestris* op ui. C: Ziektebeeld veroorzaakt door *Phytophthora nicotianae* op Skimnia



Figuur 2. Voorbeelden van morfologische data zoals opgenomen in de *Colletotrichum*-database. Ongeslachtelijke sporen en vruchtlichamen van vier *Colletotrichum*-soorten. A, E: *C. acutatum*. B, F: *C. lineola*. C, G: *C. truncatum*. D, H: *C. gloeosporioides*.

Colletotrichum-soorten met gebogen conidia (ongeslachtelijke sporen) worden meestal geïdentificeerd als *C. dematium*. Ons onderzoek heeft uitgewezen dat *C. dematium* bestaat uit verschillende, niet nauwverwante soorten (Damm *et al.*, 2009). Vier nieuwe soorten zijn beschreven en zeven bestaande soorten gedefinieerd. Op grond hiervan konden isolaten voorkomend op aardbei worden geïdentificeerd als *C. lineola* en *C. truncatum*.

C. acutatum is wereldwijd de belangrijkste veroorzaker van aardbei-anthraxnose. De eerder beschreven indeling van het *C. acutatum*-soortcomplex in acht groepen (Sreenivasaprasad & Talhinhas, 2005) werd door ons onderzoek bevestigd en deze groepen werden gedefinieerd als verschillende soorten. Vijf soorten binnen het *C. acutatum*-complex bleken isolaten te bevatten afkomstig van aardbei. Dit is des te relevanter gezien het feit dat *C. acutatum* tot september 2008 op de Q-lijst stond, maar daarvan af is gehaald zonder dat in feite duidelijk was welke *Colletotrichum* verantwoordelijk is (zijn) voor de ziekte.

Het *C. gloeosporioides*-complex is zeer divers en bevat een groot aantal soorten. Het bleek dat isolaten afkomstig van aardbei minder divers zijn. Op grond van ITS-data werden isolaten afkomstig van aardbei aangetroffen in slechts twee groepen, waarvan één groep gevormd wordt door *C. fragariae*. *C. boninense* is één van de soorten die oorspronkelijk werden geïdentificeerd als *C. gloeosporioides*. Aanwijzingen dat *C. boninense* zelf ook een soortcomplex was werden bevestigd (Johnston *et al.*, 2005). Verschillende soorten

konden worden herkend op basis van morfologie, waardplantenspecificiteit en verspreiding.

Het in het kader van dit project verrichte onderzoek heeft aldus een belangrijke bijdrage geleverd aan de ontrafeling van de *Colletotrichum*-soortcomplexen. De gegenereerde data zijn opgenomen in de Q-bank *Colletotrichum* database.

Phoma

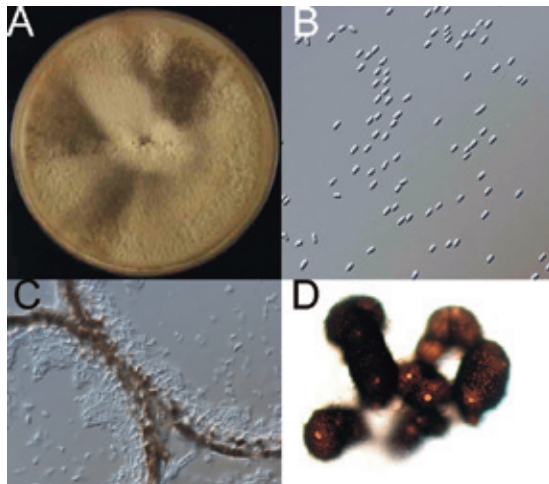
Het asexuele genus *Phoma* vormt doorzichtige sporen in pycniden (ongeslachtelijke vruchtlichamen). In de literatuur zijn ruim 3000 soorten beschreven. De meeste soorten zijn beschreven op plantmateriaal, waarbij later bij het uitkweken op voedingsbodems bleek dat het veelal gaat om synoniemen. Op de Plantenziektenkundige Dienst (PD), recent opgegaan in de nieuwe Voedsel en Warenautoriteit (nVWA), divisie Plant, is jarenlang taxonomisch onderzoek aan *Phoma* verricht. Dit onderzoek werd uitgevoerd in samenwerking met het Centraalbureau voor schimmelcultures (CBS-KNAW). Het genus omvat belangrijke plantenpathogenen, sommigen met een quarantainestatus, zoals de aardappelpathogenen *Phoma andigena* en *P. crystalliniformis*, maar ook *P. tracheiphila*, verantwoordelijk voor een vaatziekte bij citrus bekend onder de naam 'mal secco'. Het onderzoek op de nVWA was gericht op de morfologische karakterisering van de plantpathogene *Phoma*-soorten in cultures, waarbij de algemeen voorkomende, saprobe (van dood organisch materiaal levende) soorten ook werden meegenomen. Deze saprobe soorten worden vaak

⁴ ITS:

Internal Transcribed Spacer: sequenties coderend voor niet-functioneel RNA gelegen tussen structurele ribosomale RNAs (rRNA). ITS-sequenties zijn loci die vaak gebruikt worden voor het construeren van moleculair fylogenetische stambomen.

⁵ nrDNA:

Nucleair ribosomaal DNA: DNA coderend voor ribosomaal RNA (rRNA). rRNA is RNA waaruit ribosomen zijn opgebouwd, de organellen waarin de eiwitsynthese plaatsvindt. De zogenaamde 5S, 5.8S en 28S rRNA's vormen samen de LSU (large subunit) terwijl de 18S rRNA de SSU (small subunit) vormt.



Figuur 3. Voorbeelden van morfologische data zoals opgenomen in de *Phoma* database.

Morfologische kenmerken van Phoma pediaeae, een recent beschreven soort vernoemd naar de voormalige Plantenziektenkundige Dienst: A: culture op haveremoutagar. B: conidiën. C: conidiogene cellen in pycnide. D: pycnidien.

van plantmateriaal of uit de grond geïsoleerd en hun aanwezigheid kan leiden tot misidentificaties. Dit geldt ook voor de pycnide-vormende schimmels behorende tot morfologisch sterk op *Phoma* lijkende en verwante genera zoals *Ascochyta* en *Phyllosticta*, welke vaak in de literatuur zijn verward met *Phoma*. Het onderzoek op de PD werd in 2004 afgerond met de uitgave van de “*Phoma* Identification Manual”, waarin de morfologische beschrijvingen van 223 *Phoma*-soorten zijn opgenomen (Boerema *et al.*, 2004). Ondanks de aanwezigheid van deze “Identification Manual” blijft het identificeren van *Phoma* op basis van morfologische kenmerken van isolaten tijdrovend, en vraagt het veel expertise. Bijkomend probleem is dat de diagnostische kenmerken vaak overlappend zijn, zelfs met soorten van verwante genera.

In het kader van het FES-programma is dan ook gewerkt aan typering van het geslacht *Phoma* op basis van moleculaire karakteristieken. Het

moleculair fylogenetisch onderzoek heeft een geheel nieuwe taxonomische indeling opgeleverd van *Phoma*. In het genus *Phoma* zijn slechts 75 soorten gehandhaafd, en 150 soorten zijn beschreven in nieuwe genera (Aveskamp *et al.*, 2009, De Gruyter *et al.*, 2009, De Gruyter *et al.*, 2010, Woudenberg *et al.*, 2009). Ook zijn de aardappelpathogenen *P. andigena* en *P. crystalliniformis* recent herbeschreven in het genus *Stagonosporopsis* (Aveskamp *et al.*, 2010).

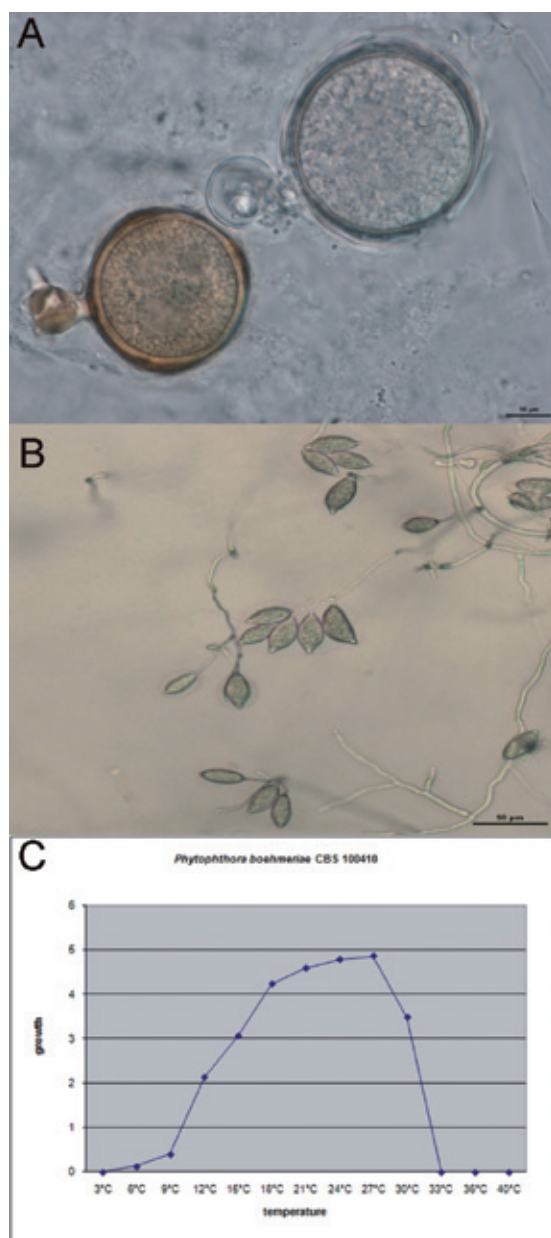
Er zijn ca 2000 DNA-sequenties van *Phoma* en gerelateerde soorten gegenereerd en vastgelegd in Q-bank. Deze sequenties zijn van DNA-regio's waarin binnen soorten doorgaans weinig variatie is (de zogenaamde 18S nrDNA (SSU) ⁵, 28S nrDNA (LSU), Internal Transcribed Spacer regions 1 & 2 en 5.8S nrDNA (ITS)), alsmede van de ‘huishoudgenen’ actine, β -tubuline en calmoduline. De isolaten waarvan deze sequenties werden bepaald zijn goed gedocumenteerd en opgenomen in de collectie van het CBS. Met deze gegevens kunnen nieuwe onbekende isolaten snel en betrouwbaar worden geïdentificeerd. De nieuwe inzichten die zijn verkregen over de moleculair fylogenetische verwantschap tussen soorten vormen de betrouwbare basis voor de ontwikkeling van soortspecifieke detectietechnieken. De behaalde onderzoeksresultaten zijn vastgelegd in diverse publicaties. Daarnaast heeft het onderzoek co-auteurschap opgeleverd in een aantal publicaties, en daarmee bijgedragen aan de bekendheid van het FES-programma ‘Versterking Infrastructuur Plantgezondheid’.

Phytophthora

Het genus *Phytophthora* is bij velen voornamelijk bekend vanwege *P. infestans*, de veroorzaker van de aardappelziekte en Q-organismen zoals *P. ramorum*, *P. lateralis* en *P. fragariae*. Het genus bestaat echter uit ruim honderd soorten, waarvan het merendeel plantpathogeen is. Iets minder



Figuur 4. Moleculaire multi-locus fylogenie van de aardappelpathogenen *Stagonosporopsis andigena* en *S. crystalliniformis*, gebaseerd op sequenties van LSU, ITS en β -tubuline. Beide soorten waren op basis van morfologie oorspronkelijk beschreven in het genus *Phoma*.



Figuur 5. Voorbeelden van morfologische en fysiologische karakteristieken zoals opgenomen in de Q-bank *Phytophthora*-database. A: Oogonia van *Phytophthora austrocedrae*. B: Sporangia van *Phytophthora morindae*. C: Temperatuur afhankelijke groeicurve van *Phytophthora boehmeriae*.

dan de helft hiervan is beschreven in de laatste tien jaar. Deze toename van nieuwe soorten kan verklaard worden door het beschikbaar komen van moleculaire identificatiemethoden, maar ook doordat het aantal surveys sterk is toegenomen als reactie op de problemen met recent ontdekte soorten als *P. kernoviae*, *P. ramorum* en *P. alni*. Een voorbeeld hiervan is 'Sudden oak death' het massaal afsterven van bepaalde eikensoorten in Californië. Deze ziekte met een enorme impact op het landschap wordt veroorzaakt door *P. ramorum*.

Van veel belangrijke pathogene *Phytophthora* soorten is vastgesteld dat deze in Europa of elders geïntroduceerd zijn als gevolg van de handel in plantmateriaal. Het voorkomen van verdere verspreiding van deze en nieuwe pathogenen is van groot economisch belang. Het succes hiervan is afhankelijk van tijdige detectie en betrouwbare identificatie van *Phytophthora*-soorten. De Q-bank *Phytophthora*-database is opgezet om dit mogelijk te maken. Identificatie van bijv. *P. fragariae*, de veroorzaker van roodwortelrot in aardbei, gebeurde in het verleden aan de hand van de vorm van de oösporen. Indien, ondanks de aanwezigheid van duidelijke symptomen, oösporen niet konden worden gedetecteerd dan was identificatie niet mogelijk en het nemen van daaraan gekoppelde maatregelen evenmin. Het beschikbaar hebben van meerdere methoden voor identificatie is daarom onontbeerlijk ter voorkoming van verdere verspreiding van pathogenen.

Omdat veel literatuur over *Phytophthora* door het opsplitsen van soorten en de vele nieuwe beschrijvingen verouderd is geraakt, is er voor gekozen om de Q-bank *Phytophthora*-database te baseren op een vergelijkende studie waarin alle soorten opnieuw bekeken zijn. De database is hierdoor tevens een waardevolle informatiebron en naslagwerk voor het genus *Phytophthora*. De informatie is gekoppeld aan specifieke isolaten, waar mogelijk meerdere per soort, waardoor bij nieuwe soortbeschrijvingen informatie gemakkelijk aangepast kan worden. Tijdens de studie is ook gekeken naar de verwantschap van *Phytophthora* met gerelateerde genera zoals *Pythium*. Hierbij is gebleken dat een aantal soorten die oorspronkelijk tot *Pythium* gerekend werden eigenlijk nauwer verwant zijn aan *Phytophthora*. Deze soorten zijn beschreven in het nieuwe genus *Phytopythium* (Bala et al., 2010).

De Q-bank *Phytophthora*-database bevat morfologische, moleculaire (sequenties van -tubuline, ITS, cytochroom oxidase 1 en elongatie factor1), en fysiologische data (groeicurven). Daarnaast bevat de database additionele gegevens over ziektebeelden, herkomst, en waardplant van de gebruikte isolaten. Hoewel moleculaire gegevens de grootste betrouwbaarheid geven voor identificatie en waarschijnlijk in de praktijk ook het meest gebruikt zullen worden, is identificatie met behulp van de database in principe mogelijk op grond van alle typen data. Hiertoe is een identificatie-sleutel ontwikkeld, waarbij op meerdere eigenschappen kan worden gezocht.

Literatuur

- Aveskamp MM, Verkley GJM, de Gruyter J, Murace MA, Perelló A, Woudenberg JHC, Groenewald JZ and Crous PW (2009) DNA phylogeny reveals polyphyly of Phoma section Peyronellaea and multiple taxonomic novelties. *Mycologia* 101(3): 363-382
- Aveskamp MM, de Gruyter J, Woudenberg JHC, Verkley GJM and Crous PW (2010) Highlights of the Didymellaceae: A polyphasic approach to characterise Phoma and related pleosporalean genera. *Studies in Mycology* 65: 1-65
- Bala K, Robideau G, de Cock AWAM, Abad ZG, Lodhi AM, Shahzad S, Ghaffar S, Coffey MD and Lévesque A. (2010) "Phytophythium Abad, de Cock, Bala, Robideau, Lodhi and Lévesque, gen. nov.". *Fungal Planet* 49 –18 June, *Persoonia Reflections* 137
- Boerema GH, de Gruyter J, Noordeloos ME and Hamers MEC (2004) *Phoma Identification Manual*. Differentiation of specific and infra-specific taxa in culture. CABI publishing, Wallingford, Oxfordshire UK, 470 pp
- Damm U, Woudenberg JHC, Cannon PF and Crous PW (2009) *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. *Fungal Diversity* 39: 45–87
- de Gruyter J, Aveskamp MM, Woudenberg JHC, Verkley GJM, Groenewald JZ and Crous PW (2009) Molecular phylogeny of Phoma and allied anamorph genera: towards a reclassification of the Phoma complex. *Mycological Research* 113(4): 508-519
- de Gruyter J, Woudenberg JHC, Aveskamp MM, Verkley GJM, Groenewald JZ and Crous PW (2010). Systematic reappraisal of species in Phoma section Paraphoma, Pyrenochaeta and Pleurophoma. *Mycologia* 102: 1066-1081
- Johnston PR, Pennycook SR and Manning MA (2005) Taxonomy of fruit-rotting fungal pathogens: what's really out there? *New Zealand Plant Protection* 58: 42–46
- Sreenivasaprasad S and Talhinhas P (2005) Genotypic and phenotypic diversity in *Colletotrichum acutatum*, a cosmopolitan pathogen causing anthracnose on a wide range of hosts. *Molecular Plant Pathology* 6: 361-378
- Woudenberg JHC, Aveskamp MM, de Gruyter J, Spiers AG and Crous PW (2009) Multiple *Didymella* teleomorphs are linked to the Phoma clematidina morphotype. *Persoonia* 22: 56-62

Grip op virussen

René van der Vlugt¹,
Martin Verbeek¹,
Annelien Roenhorst²,
Marleen Botermans²,
Maarten de Kock³,
Ton van Schadewijk⁴,
Roberto Miglino⁴,
Ellis Meekes⁵,
Richard Kormelink⁶
en Jan van Lent⁶

¹ Plant Research International

² nieuwe Voedsel- en Waren Autoriteit, divisie Plant

³ Praktijkonderzoek Plant en Omgeving - Sector Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit

⁴ Bloembollenkeuringsdienst

⁵ Naktuinbouw

⁶ Wageningen University, Laboratorium voor Virologie

Inleiding

Virusziekten hebben de afgelopen jaren bij mens en dier veel leed en schade veroorzaakt. SARS, vogelgriep, varkenspest en Mexicaanse griep hadden ieders aandacht en stonden -en staan nog steeds -volop in de belangstelling, zowel bij publiek als politiek. Het drukte ons maar weer eens met de neus op de feiten; virussen vormen een niet aflatend gevaar en kunnen juist als je er niet op bedacht bent (weer) opdruken. Ondanks het feit dat ze tot de kleinst bekende ziekteverwekkers behoren, hebben ze vaak een enorme impact, sociaal en economisch.

Plantenvirussen vormen hierop geen uitzondering. Bij het grote publiek zijn ze vrijwel onbekend maar toch veroorzaken ze ook heel veel leed en schade. Leed omdat ook nu nog epidemieën van plantenvirussen in veel ontwikkelingslanden tot ernstige voedseltekorten en zelfs hongersnood leiden. Een voorbeeld hiervan is Cassave mosaic disease. Schade, omdat bijvoorbeeld alleen al in Nederland de directe opbrengst- en kwaliteitsverliezen in land- en tuinbouw alsook exportbelemmeringen jaarlijks vele tientallen miljoenen Euro's kosten. Daarnaast wordt elk jaar een nog groter bedrag besteed aan het voorkomen van virusinfecties.

Het is een gegeven dat een virusziekte niet te bestrijden is. Mens en dier zijn uitgerust met een immuunsysteem om ziekteverwekkers de baas te kunnen. Vooraf activeren van dit systeem door gerichte vaccinatiecampaagnes voorkomt dat infecties zich razendsnel verspreiden en kunnen uitgroeien tot ware epidemieën. Toch bewijst de jaarlijkse terugkerend griepgolf dat ook vaccinatie geen blijvende bescherming tegen virussen biedt. Planten hebben geen geavanceerd immuunsysteem waarmee ze zich kunnen verdedigen en ze zijn daarmee extra kwetsbaar. Mensen en dieren verplaatsen zich en zijn daarmee zelf de belangrijkste verspreiders ('vectoren') van virusziekten. Planten zijn niet mobiel en daarmee lijkt op het eerste gezicht grootschalige verspreiding niet aan de orde. Plantenvirussen gebruikten echter andere strategieën. Naast verspreiding via zaad, stek, bol en knol, maken ze vaak ingenieus gebruik van 'vectoren', zoals insecten, om zich te verspreiden naar andere planten. Met name bladluizen, wittevlies en tripsen zijn berucht, maar ook kevers, aaltjes, schimmels en zelfs bijen en hommels worden gebruikt. Toch is vaak, onbewust, de mens de belangrijkste verspreider. Het niet op tijd (h)erkennen van virussymptomen,

vaak in combinatie met onvoldoende hygiënemaatregelen, maakt dat virussen zich tijdens normale teelthandelingen razendsnel kunnen verspreiden in een gewas.

Virusinfecties voorkomen is eigenlijk het enige wat een boer of tuinder kan doen om schade te beperken. Dit begint bij gezond zaai- en plantgoed. Nederland heeft op dit gebied een traditie hoog te houden. Na de 2^e wereldoorlog is een systeem opgezet waarbij het onderzoek, in nauwe samenwerking met de keuringsinstanties, gevoelige en betrouwbare toetsmethoden ontwikkelde die vervolgens werden geïmplementeerd in de praktijk. Certificering maakte dat de kwalitatief hoogwaardige rassen die door de Nederlandse veredelingsbedrijven werden ontwikkeld, ook gezond konden worden vermeerderd. Daarmee was de basis gelegd voor een zeer succesvolle exportindustrie die Nederland op de wereldkaart heeft gezet en ons land financieel geen windeieren heeft gelegd.

De stand van het land

Eén van de peilers onder dit succes was en is een gedegen kennis van de plantenpathogenen. Met het bestuderen van de biologische en fysieke eigenschappen van belangrijke plantenpathogenen, kwam kennis beschikbaar die het mogelijk maakte detectiemethoden te ontwikkelen en teeltsystemen te optimaliseren. Zo kon in nauwe samenwerking met de sector schade door ziekte worden voorkomen of beperkt. Werd er een (nieuw) virusprobleem gesignaleerd, dan kwam men al vlug terecht bij de onderzoeksinstututen en proefstations waar voldoende experts beschikbaar waren. Die wisten vaak in korte tijd het probleem te identificeren en op te lossen. Kortom, er was een geweldige hoeveelheid kennis en ervaring direct beschikbaar voor de Nederlandse land- en tuinbouwsector.

Tegenwoordig komen problemen op plantenvirologisch gebied op het bord van slechts een handjevol mensen. Om te zorgen dat hun kennis en expertise behouden blijft en optimaal wordt benut, is het van belang de krachten te bundelen. Temeer omdat plantenvirussen vaak onverwacht en in korte tijd tot problemen kunnen leiden. Zo worden naast plotselinge exportproblemen als gevolg van 'vondsten' in Nederlands materiaal, nog regelmatig 'nieuwe' virussen ontdekt zoals bijvoorbeeld het pepinomozaïekvirus begin jaren negentig of recentelijk het Allium virus X. Omdat de situatie

in andere landen vergelijkbaar is, vormt de afbrokkelende kennisinfrastructuur dan ook een serieuze bedreiging voor de concurrentiepositie van de Nederlandse én Europese land- en tuinbouwsector.

Q-bank

De titel van het FESprogramma, 'Versterking infrastructuur plantgezondheid' laat weinig aan duidelijkheid te wensen over. Een prioriteit is het vastleggen en toegankelijk maken van de nog aanwezige kennis. Hiervoor is onder andere een virusdatabase ontworpen, beschikbaar via Q-bank (www.q-bank.eu). In deze database worden kenmerken vastgelegd van belangrijke (gereguleerde) plantenvirussen. Het FES-project maakte het mogelijk beschikbare informatie te toetsen en ontbrekende kennis aan te vullen vanuit eigen onderzoek. Daarnaast konden aanvullende isolaten worden verzameld en gekarakteriseerd. De toegevoegde waarde van deze virusdatabase ten opzichte van de vele andere gegevensbestanden, is dat het merendeel van de isolaten ook fysiek beschikbaar is. Dit maakt Q-bank in positieve zin uniek. Gekarakteriseerde virusisolaten zijn dus eenvoudig en snel beschikbaar voor bijvoorbeeld de ontwikkeling en validatie van toetsmethoden en resistentietoetsingen. Zo is het mogelijk bij plotseling opkomende virusproblemen slagvaardig te opereren, zowel op het gebied van identificatie, toetsontwikkeling als het treffen van maatregelen. Juist in het geval van (potentiële) quarantainevirussen levert dit veel winst op, omdat het verzamelen van deze virussen vaak niet eenvoudig en altijd zeer tijdrovend is. Dit maakt de collectie ook interessant voor onderzoekers en inspectiediensten in het buitenland. De eerste stappen naar samenwerking zijn inmiddels gezet.

Aan het begin van het FES-project zijn de belangrijkste knelpunten op plantenvirologisch gebied in Nederland geïnventariseerd. Criteria hierbij waren vooral fytosanitaire status (d.w.z. Q-organisme of anderszins gereguleerd), economisch belang en de behoefte aan betrouwbare detectie- en identificatiemethoden. Op basis hiervan is een prioriteitenlijst opgesteld van de (gereguleerde) virussen uit de volgende virusgroepen:

1. Potyvirussen
2. Nepovirussen
3. Tospovirussen
4. Potexvirussen

Daarnaast werd zo'n lijst opgesteld voor viroïden en fytoplasma's. Viroïden zijn ziekteverwekkers die louter bestaan uit RNA. Fytoplasma's zijn kleine bacteriën zonder celwand. Beide soorten organismen hebben karakteristieken die overeenkomen met die van virussen en worden daarom vaak door virologen bestudeerd. Aan de prioriteitenlijst werden toegevoegd:

1. Pospiviroïden
2. Fytoplasma's

Bij deze lijst horen een aantal kanttekeningen. Naast door de EU geregleerde virussen, komt in elk van de genoemde groepen een groot aantal andere soorten voor. Deze zijn echter niet minder belangrijk. Enerzijds gaat het hierbij om virussen die directe schade veroorzaken of een belemmering vormen voor de export naar landen buiten de EU. Voorbeelden hiervan zijn verschillende nepovirussen in relatie tot de export van bloembollen naar verschillende Aziatische landen en Hostavirus X (potexvirus) in relatie tot de export van hosta's naar de Verenigde Staten. Anderzijds betreft het de zogenaamde 'look-alikes'. Deze zijn van groot belang bij het stellen van een juiste diagnose. Doordat ze beschikbaar zijn voor vergelijking helpen ze misidentificaties te voorkomen. Dit voorkomt onterechte schadeclaims als gevolg van maatregelen die op basis van een foute diagnose zijn opgelegd. Binnen het virusconsortium is er dan ook bewust

breder gekeken dan enkel de geregleerde virussen.

In de verschillende kaders binnen dit artikel worden een paar voorbeelden gegeven van de werkzaamheden en de resultaten die het FES-project heeft opgeleverd.

De uitdaging voor de toekomst

Inmiddels is de virusdatabase in Q-bank operationeel (www.q-bank.nl). Voor meerdere virussen uit bovengenoemde groepen zijn biologische eigenschappen, zoals waardplanten en toetsplanten (met bijbehorende foto's van karakteristieke symptomen), en serologische en genetische kenmerken vastgelegd. Deze kunnen worden gebruikt voor zowel detectie als identificatie. Deze gegevens zijn voor iedereen beschikbaar zowel in Nederland als daarbuiten. De bijbehorende virusisolaten zijn opgenomen in de collectie en eveneens beschikbaar. Om ze beschikbaar te houden, zullen ze echter met enige regelmaat moeten worden verversd omdat anders de infectiositeit verloren gaat.

Op dit moment beschikken we over een uniek systeem om kennis te behouden, te delen en te benutten. De uitdaging is om de komende jaren de database, met onlosmakelijk daaraan verbonden de fysieke collectie, te behouden en verder uit te bouwen, liefst samen met onze buitenlandse collega's.

Detectie van plantenvirussen: het gebruik van toetsplanten

De oudste methode om plantenvirussen te detecteren is het gebruik van toetsplanten (ook wel indicatorplanten genoemd). Bij deze methode worden planten – veelgebruikt zijn tabaksoorten en een aantal onkruiden – bestoven met carborundumpoeder en daarna ingewreven met sap van een viruszieke plant. Dit poeder zorgt ervoor dat er tijdens het wrijven kleine wondjes in het blad ontstaan waardoor het virus kan binnendringen. Nadat het virus de plant is binnengedrongen kan het virus zich gaan vermeerderen. Soms zijn slechts enkele virusdeeltjes genoeg voor een infectie. Hiermee is de toetsplant te vergelijken met een zeer effectieve biologische PCR-machine. De besmette toetsplant geeft soms al na enkele dagen een reactie op de virusinfectie. Deze reactie kan worden waargenomen doordat de toetsplant verschillende symptomen laat zien, variërend van chlorotische of necrotische vlekken, verkleuring, misvorming, dwerggroei tot afsterving. Door het gebruik van toetsplanten kan vaak uitsluitel worden gegeven of een bepaalde plant geïnfecteerd is door een virus en aan de hand van de symptomen kan een viroloog aanwijzingen krijgen welk virus in het spel is. Hiermee is het één van de generiekste methoden om op virussen te toetsen.

*Figuur 1. Karakteristieke kringvlekken van Tobacco ringspot virus (TRSV) op de toetsplant *Nicotiana benthamiana**



¹ RT-PCR

Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction, een detectietechniek waarmee minimale hoeveelheden virus RNA eerst overgeschreven wordt in een DNA kopie en vervolgens exponentieel vermenigvuldigd in een PCR.

² Sequencing

Het bepalen van de basenvolgorde in het DNA of (in dit geval) RNA.

Identificatie en epidemiologie van pospiviroïden

Sinds 1988 worden in Nederland af en toe viroïden aangetroffen in het gewas tomaat. Viroïden zijn de kleinste ziekteverwekkers van planten. Ze bestaan uit een circulair RNA-molecuul van ca. 350 nucleotiden. Het meest bekend is het aardappelspindelknolviroïde (Potato spindle tuber viroid; PSTVd), de 'type-soort' van het genus Pospiviroïd. Tot dit genus behoren ook de in tomaat aangetroffen viroïden. Omdat PSTVd een quarantainestatus heeft in de Europese Unie zijn bij de vondsten maatregelen getroffen om het viroïde te elimineren. Daarbij was het van belang de herkomst van het viroïde te achterhalen. In geen van de gevallen kon echter een relatie worden gelegd met de zaadpartij of de plantenkweker.

Rond de eeuwwisseling maakte de ontwikkeling en implementatie van moleculair-biologische technieken het mogelijk de uit tomaat geïsoleerde pospiviroïden te identificeren. Vanaf dat moment werden alle pospiviroïden op basis van RT-PCR (reverse-transcriptase PCR¹) en sequencing² geïdentificeerd. Binnen het FES-project werden vervolgens meerdere isolaten van verschillende pospiviroïden verzameld en gesequenced. Met de zo verkregen data konden fylogenetische analyses worden uitgevoerd, die in het geval van PSTVd sterke aanwijzingen opleverden over de herkomst van de verschillende infecties in tomaat. De sequentie van een aantal isolaten uit tomaat bleek namelijk identiek aan die van het meest voorkomende isolaat uit het siergewas *Solanum jasminoides*. Aanvullend onderzoek onderbouwde de hypothese dat *S. jasminoides* en andere vegetatief vermeerderde gewassen de bron waren geweest van de infecties in tomaat. Dit voorbeeld laat zien dat sequentiegegevens van de ziekteverwekker een belangrijk hulpmiddel kunnen zijn om relaties tussen uitbraken in beeld te brengen en de herkomst ervan te achterhalen. Meer algemeen vormen moleculair biologische technieken daarmee een nieuw en belangrijk instrument voor epidemiologisch onderzoek.

Fytoplasma's

Fytoplasma's zijn bacterie-achtige organismen zonder celwand. In tegenstelling tot bacteriën kunnen ze niet gekweekt worden op voedingsbodems. Qua detectie- en onderzoeksmethoden komt deze groep organismen dan ook het meest overeen met virussen. Fytoplasma's worden overgebracht door bladluizen en andere cicade-achtigen. Daarnaast is enten van besmet materiaal een belangrijke verspreidingswijze. Mechanische overdracht met sap van geïnfecteerde planten is daarentegen niet mogelijk. Dit maakt het lastig om ze in collectie te houden. Ingevroren materiaal is wel bruikbaar voor toetsing maar niet geschikt voor biologisch onderzoek en instandhouding. Een collectie *in planta* is in dit geval dan ook onontbeerlijk. Binnen het uitvoeringsconsortium plantenvirussen zijn er fytoplasma-collecties aangelegd van fruitbomen geïnfecteerd met apple proliferation (appel, Figuur 3), pear decline (peer) en het nauw verwante European stone fruit yellows fytoplasma (*Prunus*). De collectie bestaat uit kleine geïnfecteerde fruitbomen en wordt in een gaaskas in stand gehouden. De bomen worden regelmatig gecontroleerd op de aanwezigheid van het fytoplasma. Deze levende collectie is van groot belang om de vele vragen die er rond het voorkomen en de verspreiding van fytoplasma-ziekten zijn, te kunnen onderzoeken en beantwoorden. De detectie van fytoplasma's in de praktijk is niet eenvoudig. Omdat de verdeling in de boom onregelmatig is en de concentratie seizoensafhankelijk, is betrouwbare monsternamen en toetsing niet eenvoudig. Daarom is binnen het FES-project ingezet op het herkennen van symptomen in de praktijk. Hiervoor is gekeken naar de symptoomontwikkeling van de vijf verschillende isolaten van appel proliferation in zes gangbare apperassen. De eerste symptomen werden twee jaar na inoculatie waargenomen. Voorlopige resultaten wijzen uit dat er inderdaad verschillen bestaan, zowel tussen de fytoplasma-isolaten als de apperassen. De symptomen zijn zorgvuldig vastgelegd om zo aan de praktijk duidelijk te maken welke symptomen duiden op infectie door het fytoplasma.



Figuur 2. Fytoplasma-aantasting van gerbera.



Figuur 3. Roodverkleuring van bladeren van het appelras Jonagold als gevolg van appelheksenbezemfytoplasma.

CSI ook in de Plantenwereld

Peter Bonants en
Theo van der Lee

Plant Research
International,
Wageningen UR

Inleiding

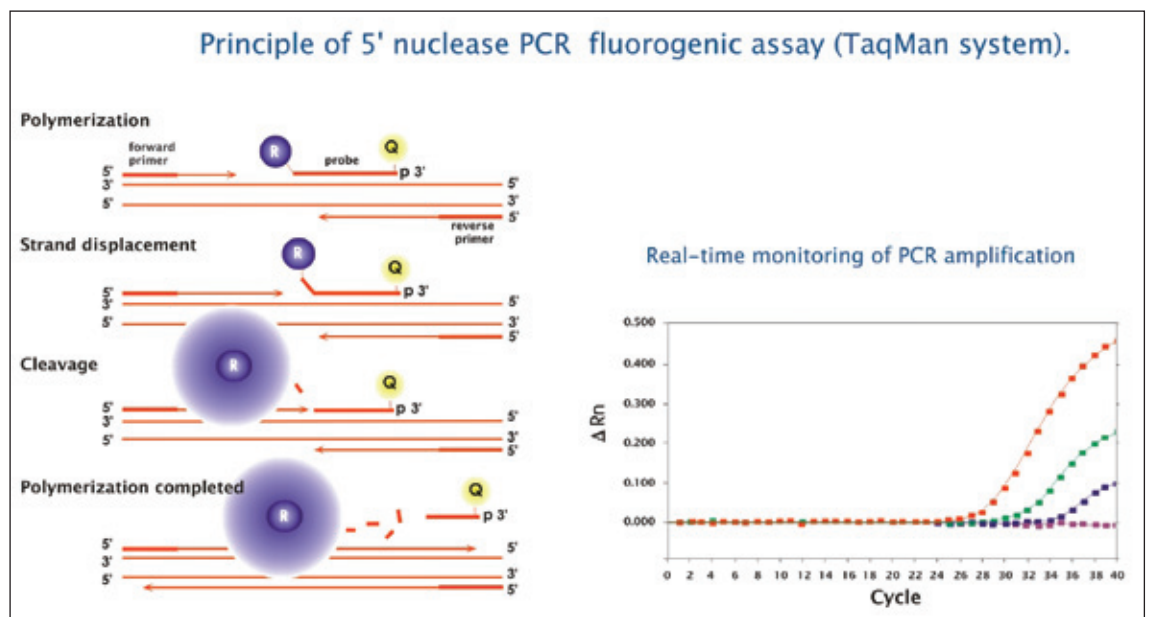
Wie kent de serie Crime Scene Investigation (CSI) niet van de televisie? Forensisch onderzoekers nemen op de plaats van het delict monsters om met de modernste DNA-methoden de dader van het delict op te sporen. Ook in de land- en tuinbouw heeft de ontwikkeling van (moleculaire) detectiemethoden van plantenpathogenen de laatste jaren een hoge vlucht genomen. Inmiddels worden deze methoden al grootschalig toegepast in de praktijk. Werd in het begin alleen conventionele polymerase chain reaction (PCR) ingezet voor moleculaire detectie, momenteel vindt ook real-time PCR meer en meer ingang.

Binnen het FES-programma 'Versterking infrastructuur plantgezondheid' zijn binnen het werkpakket 'Identificatie- en Detectiemethoden' vele projecten uitgevoerd om de 'daders' van aantastingen te kunnen identificeren. Het betreft dan een breed scala aan daders, in dit geval bacteriën, fytoplasma's, insecten, nematoden, schimmels, viroïden en virussen. De focus was hierbij gericht op gereguleerde organismen, zogenaamde quarantaineorganismen. In deze projecten werkten ontwikkelaars en eindgebruikers

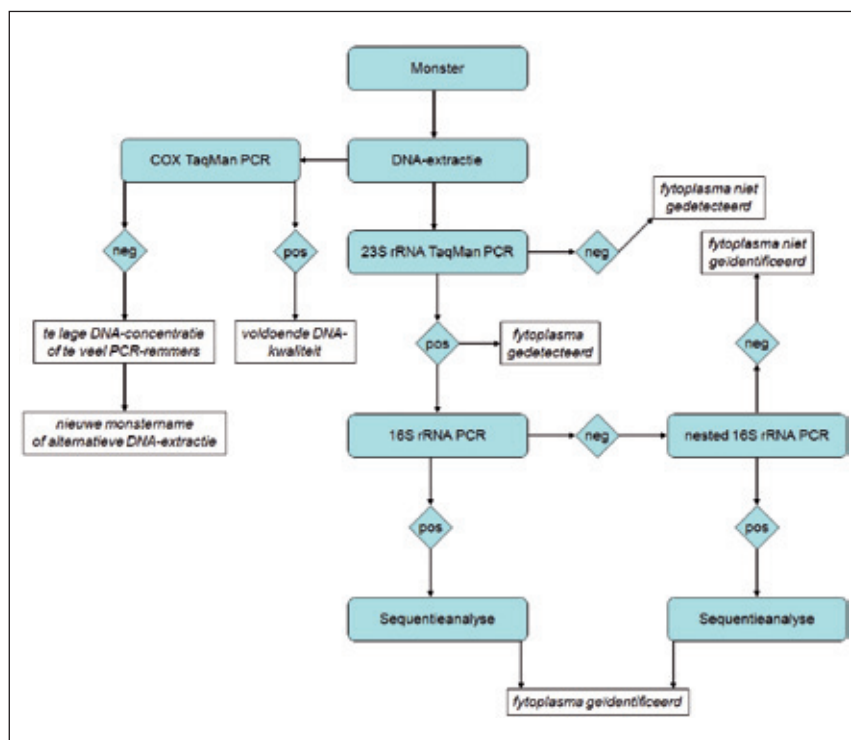
samen om de beste methode ook toegepast te krijgen in de praktijk. Plant Research International (PRI) uit Wageningen heeft als ontwikkelaar van identificatie- en detectiemethoden de trekkersrol op zich genomen. Er zijn consortia gevormd waarin de benodigde expertise bij elkaar werd gebracht voor de ontwikkeling, validatie en implementatie van methoden. Naast PRI, maakten ook eindgebruikers, zoals Nationaal Referentiecentrum (nieuwe Voedsel en Waren Autoriteit; voorheen Plantenziektenkundige Dienst), keuringsdiensten en private toetslaboratoria deel uit van deze consortia. Hierdoor werd een optimale uitwisseling van kennis en expertise op de verschillende gebieden gewaarborgd.

Kwalitatieve en kwantitatieve detectie met behulp van PCR

Waar begin je als je een bepaald organisme wilt detecteren? Allereerst wordt er materiaal verzameld van het doelorganisme en van organismen die er veel op lijken (zogenaamde *look-a-likes*). Het verzamelen van dit materiaal is tijdrovend omdat de meeste quarantaine-organismen niet of nauwelijks



Figuur 1. Principe van TaqMan real-time PCR voor kwantitatieve detectie. De probe draagt een fluorescerende groep (R) en een groep die deze fluorescentie uitdooft (Q). Wanneer een nieuwe DNA-streng wordt gemaakt (polymerisatie) wordt de probe afgebroken en komt de fluorescente groep R vrij (cleavage) van de quencher Q en kan worden waargenomen (rechts).



Figuur 2. Stroomdiagram voor detectie en identificatie van fytoplasma's, waarbij gebruik gemaakt wordt van drie of vier PCR-reacties (Maarten de Kock, PPO-BBF). Met de COX TaqMan PCR-toets wordt gecontroleerd of het DNA van voldoende kwaliteit is. 23S rRNA en 16S rRNA zijn nucleïnezuren uit ribosomen van fytoplasma's; in deze fragmenten is binnen de soort weinig variatie. Aan- of afwezigheid van het pathogeen wordt getoetst met 23S rRNA TaqMan PCR. Daarna volgt een enkelvoudige of dubbele (nested) PCR-reactie die resulteert in een kleiner fragment. De basenvolgorde (DNA-sequentie) geeft dan aan welke soort het is.

in Europa voorkomen. Van deze organismen wordt de DNA- of RNA-sequentie van specifieke genen bepaald. Vervolgens worden diverse testen ontwikkeld op basis van sequentieovereenkomsten tussen verschillende individuen of isolaten binnen een soort en sequentieverschillen met de meestverwante soorten. De belangrijkste methode is PCR. Voor deze moleculair-biologische methode werd in 1983 de Nobelprijs voor de scheikunde toegekend. Met deze methode kunnen in een DNA-monster bepaalde specifieke sequenties exponentieel worden vermenigvuldigd, waardoor de detectiemogelijkheden toenemen. Een variant op de PCR is de *real-time* PCR. Hiermee is het mogelijk om ook de *hoeveelheid* DNA van een organisme vast te stellen. Bij *real-time* PCR wordt additioneel een probe toegevoegd aan de reactie (Figuur 1). Deze probe draagt fluorescerende moleculen die het mogelijk maken de PCR *real-time* te volgen. De meeste laboratoria die aan het project hebben meegedaan, beschikken over de faciliteiten om zowel conventionele als *real-time* PCR uit te voeren.

Perceel 1: Virussen

Onderdelen

- Ontwikkeling van een *real-time* RT-PCR gebaseerd op TaqMan-technologie voor generieke detectie van pospiviroiden
- Ontwikkeling van een PCR voor Peach rosette phytoplasma, Peach X-disease phytoplasma en Peach yellows phytoplasma
- Ontwikkeling van een PCR voor Strawberry witches' broom phytoplasma

Resultaten

Potato spindle tuber viroid (PSTVd) heeft een quarantainestatus in de Europese Unie. Dit viroïde kan grote schade geven in de gewassen aardappel en tomaat. Recentelijk werd duidelijk dat ook andere viroïden uit het genus *Pospiviroid* vergelijkbare schade kunnen geven. Tevens bleken deze pospiviroiden symptomeloos voor te komen in diverse bloemisterijgewassen. Een generieke detectiemethode voor pospiviroiden was dan ook gewenst. Binnen dit project is in eerste instantie gekeken naar de bruikbaarheid van een in Engeland ontwikkelde *real-time* RT-PCR toets (reverse transcriptase-PCR). Toen deze onvoldoende gevoelig bleek, is gestart met de ontwikkeling van een nieuwe toets. Hiermee bleek het mogelijk alle pospiviroiden in één of meerdere parallele reacties te detecteren. De toets is inmiddels gevalideerd.

Diverse fytoplasma's in perzik en aardbei zijn opgenomen in de Europese lijsten voor quarantainepathogenen (EPPO/EU). Voor een aantal quarantaine fytoplasma's is detectie op dit moment niet mogelijk of moeilijk. Binnen dit project is een stroomdiagram opgesteld voor de detectie en identificatie van fytoplasma's in perzik en aardbei. Het stroomdiagram (Figuur 2) maakt gebruik van een TaqMan PCR-toets voor de detectie van fytoplasma's en een TaqMan PCR-toets als interne controle om te testen of de DNA-kwaliteit voldoende is. Aansluitend op de detectie van een fytoplasma wordt in een aparte PCR-reactie een groter DNA-fragment geproduceerd, eventueel gevolgd door een tweede (*nested*) PCR. Dit kleinere PCR-fragment of het *nested* PCR-product kan gebruikt worden voor sequentie-analyse en identificatie van het fytoplasma.

Het probleem bij aardbei is dat er een symptoom (Strawberry witches' broom phytoplasma) op de quarantainelijst staat: kleine planten, struikachtig met veel vertakte kroon; gedraaide bladstelen met kleine blaadjes; vreemd gevormde vruchten. Uit moleculair onderzoek bleek dat er meerdere



Figuur 3. Volgroeide rups van *Spodoptera litura*, één van de Q-soorten (M. v. d. Straten, nVWA, NRC).

fytoplasma's dezelfde symptomen geven. Andersom kwam het ook voor dat er verschillende namen in omloop waren voor één fytoplasma. Via een stroomdiagram (Figuur 2) wordt nu geprobeerd deze problematiek goed te beschrijven om zo voldoende handvatten te hebben om dit organisme van de quarantainelijst te krijgen.

Perceel 2: Insecten

Onderdelen

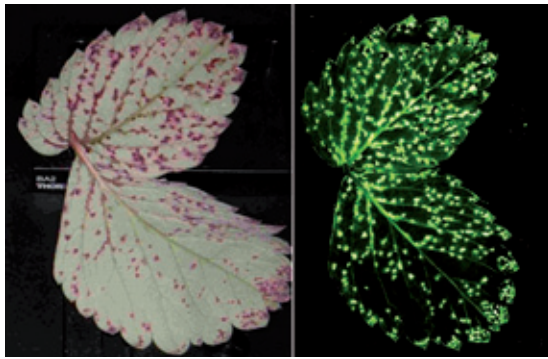
- Ontwikkeling van een identificatietoets (of kit gebaseerd op TaqMan-technologie) voor vier soorten van het geslacht *Spodoptera*
- Ontwikkeling van een *real-time* PCR (gebaseerd op TaqMan-technologie) voor detectie en identificatie van in *Bemisia tabaci* aanwezige virussen bij import
- Ontwikkeling van een identificatiekit voor *Bemisia tabaci*

Resultaten

De leerstoelgroep Biosystematiek van WUR heeft binnen het consortium Insecten DNA barcode-sequenties bepaald van vele soorten nachtvlinders (*Spodoptera*), waarvan er vier op de Q-lijst staan: *Spodoptera littoralis*, *S. litura*, *S. frugiperda* en *S. eridania*. Door hun grote reproductie (tot 2000 eieren), korte generatieduur (20-40 dagen), polyfage karakter en het vermogen om snel resistentie te verwerven tegen verschillende groepen van bestrijdings-middelen maakt

dat deze organismen een reële bedreiging vormen voor de Nederlandse en Europese (glas) tuinbouw. Een snelle en correcte identificatie van deze organismen bij importinspecties is van essentieel belang. Identificatie van adulten is voor specialisten relatief eenvoudig, maar voor larven en eipakketten, die vaak bij import worden aangetroffen, wordt het een geheel ander verhaal. Het uitkweken van eieren en larven tot adulten om de morfologische identificatie mogelijk te maken vergt een te lange doorlooptijd aangezien de ladingen, waarop deze aangetroffen worden, vaak van bederfelijke aard zijn. Op basis van de sequentieverschillen zijn er door de nVWA TaqMan PCR-toetsen ontwikkeld voor de diverse *Spodoptera*-soorten, die ook op inspectielocatie (*on-site*) kunnen worden uitgevoerd om zo sneller en adequater op te kunnen treden.

Tabakswittevlieg (*Bemisia tabaci*) is behalve een schadelijk insect vooral belangrijk als vector van veel plantenvirussen. In de EU zijn alle door *B. tabaci* overgedragen virussen gereguleerd (Directive 200/29/EC, Annex IAI). Op dit moment worden partijen plantmateriaal van niet-Europese herkomst tegengehouden wanneer *Bemisia* aanwezig is, terwijl de achterliggende reden niet het insect zelf is, maar de mogelijke aanwezigheid van virussen in het insect of het plantenmateriaal. Daarom zijn door PRI *real-time* PCR-toetsen ontwikkeld om de *B. tabaci* te toetsen op besmetting met belangrijke EU-quarantaine virussen. Er zijn nu toetsen beschikbaar voor *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), *Tomato chlorosis virus* (ToCV), *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV) en drie virussen uit de nieuwe groep van Torradovirussen. Na validatie van deze toetsen worden ze door onder meer de keuringsdiensten ingezet in de praktijk. Parallel aan de virustoetsingen hebben WU-leerstoelgroepen Entomologie en Biosystematiek binnen het consortium Insecten een TaqMan PCR-methode ontwikkeld om verschillende typen *B. tabaci* te identificeren. Er bestaat namelijk onduidelijkheid over het mogelijk schuilgaan van meerdere soorten onder één naam. Deze worden aangeduid met de term biotypen. Met deze toets kan het B-biotype van het veel schadelijker Q-biotype worden onderscheiden. Ook is de toets onderscheidend voor een andere witte vlieg *Trialeurodes vaporariorum*. Door PRI is deze toets zodanig geoptimaliseerd dat tegelijk ook bepaald kan worden of de wittevlieg één van bovengenoemde virussen bij zich draagt. Zo worden twee verdachten in één test ontmaskerd.



Figuur 4. Fluorescent Protein Imaging voor visualisatie van GFP (green fluorescent protein) -gemerkte *Xanthomonas fragariae*-bacteriën in aardbeiblader met symptomatische infecties. (Jan van der Wolf, PRI)

Perceel 3: Bacteriën

Onderdelen

- PCR-toetsen voor bacteriën
- Een selectief medium voor *Xanthomonas fragariae* en ontwikkeling van een (*real-time*) PCR voor *Xanthomonas fragariae*

Resultaten

Voor een aantal belangrijke plantpathogene bacteriën met een quarantainestatus ontbreken gevalideerde detectiemethoden. Binnen onderdeel a van dit perceel zijn TaqMan PCR assays ontwikkeld en/of gevalideerd voor *Erwinia chrysanthemi* pv. *dianthicola* (anjer), *Erwinia stewartii* (maïs), *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (steenvruchten) en *Pseudomonas syringae* pv. *persicae* (*Prunus* spp.).

Detectie van de *Xanthomonas fragariae* d.m.v. uitplaten verloopt weinig reproduceerbaar en is ook weinig gevoelig. De bacterie groeit langzaam en het aardbei-extract bevat remmende stoffen die uitgroei verhinderen. De groei van de bacterie werd gevolgd m.b.v. een GFP-mutant (Figuur 4). Voor detectie van *Xanthomonas fragariae* is binnen onderdeel b van dit perceel een beschreven TaqMan PCR-procedure gevalideerd en een groeimedium geoptimaliseerd voor gebruik in een verrijgingsprotocol.

¹ Padlock probes

Probes die door middel van ligatie een specifieke detectie mogelijk maken van de mutatie in een enkel basenpaar.

² A1 en A2

De quarantainelijst van de EU bevat A1- en A2-organismen. A1-organismen zijn in de EU niet aanwezig; A2-organismen zijn wel (beperkt) aanwezig in de EU, maar de verdere verspreiding ervan wil men beperken.

Perceel 4: Schimmels

Onderdelen:

- Detectiemethoden voor *Phytophthora*
- Detectiemethoden voor *Phoma*

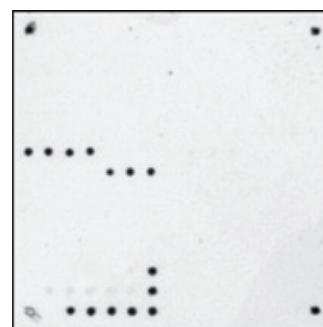
Resultaten

Detectie van *Phytophthora* speelt een belangrijke rol bij het internationale handelsverkeer, maar ook in het openbaar groen. Er worden steeds meer

Phytophthora-soorten beschreven, waarvoor nog geen goede detectiemethoden ontwikkeld zijn. Dit project heeft een diagnostische methode opgeleverd die toe te passen is *in planta*, en ook de meest recent beschreven (quarantaine-) soorten omvat. De methode betreft een generieke *Phytophthora*-methode gevolgd door een *Phytophthora*-identificatie methode. Op basis van DNA-sequentiegegevens (verkregen in WP2 van FES Schimmels en beschikbaar in internationale databases) is een generieke TaqMan PCR-test voor *Phytophthora* ontwikkeld en gevalideerd. Op basis van sequentieverschillen zijn vervolgens *padlock probes*¹ ontwikkeld voor 15-20 voor Nederland relevante *Phytophthora*-soorten. Vervolgens is een *micro-array*-platform opgezet om de individuele *Phytophthora*-specifieke *padlock probes* te identificeren (Figuur 5).

Phoma andigena is een A1-quarantaineorganisme² dat voorkomt in de Andes, het oorsprongsgebied van de aardappel. Voor snelle detectie bij eventuele vondsten buiten het oorsprongsgebied is een adequate en snelle detectiemethode noodzakelijk.

Dit is eveneens van toepassing op *Phoma crystalliniformis*, een bekend schadelijk organisme uit de Andes dat zowel aardappel als tomaat kan aantasten. Op basis van DNA-sequentieverschillen (verkregen in WP2) tussen diverse relevante *Phoma*-soorten op aardappel of herkomst (Andesgebied) zijn TaqMan PCR's ontwikkeld voor beide genoemde *Phoma*-soorten: *P. andigena* en *P. crystalliniformis*. Uit onderzoek in WP1 en 2 is voortgekomen dat beide soorten inmiddels zijn



Figuur 5. Voorbeeld van *micro-array*-detectie van *Phytophthora ramorum* met behulp van *padlock probes* (Peter Bonants, PRI). Voor 22 *Phytophthora*-soorten zijn specifieke *padlock probes* ontwikkeld en een *padlock probe* die met alle *Phytophthora*-soorten reageert. Deze zijn in zevenvoud gespot op de *micro-array*. Te zien zijn de spots voor *P. ramorum* (midden) en de spots voor *Phytophthora* spp. (onderkant) en de vier control-spots (hoekpunten *micro-array*).



*Figuur 6. Aantasting van lelie, veroorzaakt door het bladaaltje *A. ritzemabosi* (Joop van Doorn, PPO-BBF).*

heringedeeld in het geslacht *Stagonosporopsis* (*S. andigena* en *S. crystalliniformis*).

Ontwikkeling van detectiemethoden voor belangrijke zaadoverdraagbare *Phoma*-soorten zijn dringend gewenst. Op basis van DNA-sequentieverschillen van het actinegen (verkregen in WP2 van FES Schimmels) zijn individuele TaqMan PCR's ontwikkeld voor de zaadoverdraagbare *Phoma*-soorten *P. valerianellae*, *P. betae*, *P. lingam* en voor *Leptosphaeria biglobosa*. Deze test zal door de Naktuinbouw gebruikt worden als snelle identificatie.

Perceel 5: Nematoden

Onderdeel:

Ontwikkeling van een identificatiemethode voor *Aphelenchoides besseyi*, *A. fragariae*, *A. ritzemabosi*

en *A. subtenuis* als aanvulling op of als alternatief voor morfologische identificatie.

Resultaten

'Bladaaltjes' is de alledaagse benaming voor een aantal plantenparasitaire *Aphelenchoides*-soorten (Figuur 6). Het geslacht *Aphelenchoides* is soortenrijk en omvat ook een aantal schimmelelers, soorten die vanwege hun gelijkenis met plantenparasitaire *Aphelenchoides* erg gemakkelijk zouden kunnen leiden tot vals-positieve uitslagen. Neem hierbij in ogenschouw dat schimmeleterende *Aphelenchoides*-soorten in vrijwel ieder nematodenmonster worden aangetroffen. De bladaaltjes *A. fragariae* en *A. ritzemabosi*, en het krokusknolaaltje *A. subtenuis* worden regelmatig aangetroffen in o.a. bloembolgewassen; *A. besseyi* wordt echter sporadisch bij inspecties in Nederland aangetroffen en is een quarantaine-organisme. De identificatie van *Aphelenchoides*-soorten berust voornamelijk op de morfologie en de histologie van de staart en de geslachtsdelen (spicula) van volwassen mannetjes waarbij opgemerkt dient te worden dat de kenmerken variabel en gedeeltelijk overlappend zijn. Kortom, klassieke microscopische identificatie van *Aphelenchoides*-soorten is uiterst lastig en vereist specifieke expertise. De taxonomische instabiliteit van dit genus, dat op dit moment 54 soorten omvat (die veelal slecht beschreven zijn), maakt dat we ons zullen beperken tot soorten die in Europa voorkomen en soorten die op de A1 lijst van de EPPO voorkomen.

Er zijn twee nieuwe identificatie- en kwalitatieve detectiemethodes ontwikkeld. Beide methoden zijn gebaseerd op soortkenmerkende DNA sequenties zoals die gevonden zijn in het rDNA van de relevante *Aphelenchoides*-soorten en maken gebruik van real-time PCR in combinatie met SYBR Green detectie. Methode A, gebaseerd op het zogenaamde ITS-gebied, en methode B, gebaseerd op het 18S-gebied, zijn in staat om *A. ritzemabosi*, *A. fragariae*, *A. subtenuis* en *A. besseyi* te identificeren en te detecteren tegen een achtergrond van duizenden terrestrische nematodensorten.

Validatie

Validatie van methoden speelt meer en meer een belangrijke rol in detectie. Veel diagnostische methoden zijn echter niet gevalideerd. In samenwerking met alle betrokken partijen op het gebied van detectie van plantenpathogenen in Nederland is een validatiedocument opgesteld onder leiding van de nVWA divisie Plant. Dit document, 'Nationale richtlijn voor de validatie van detectie- en identificatiemethoden voor

planten-pathogenen en plagen', geeft aan hoe een methode voor detectie/identificatie van een bepaald plantenpathogeen moet worden uitgevoerd en welke prestatiekenmerken op welke manier en in hoeveel herhalingen moeten worden uitgevoerd. Prestatiekenmerken zijn o.a. gevoeligheid, meetbereik, specificiteit, selectiviteit, herhaalbaarheid, reproduceerbaarheid, robuustheid en juistheid. Validatieplannen voor alle ontwikkelde toetsen zijn op basis van bovengenoemd document geschreven en na goedkeuring uitgevoerd.

Implementatie

Binnen dit onderdeel werd als uitdrukkelijke eis gesteld dat de ontwikkelde toets ook geïmplementeerd moest worden bij de uiteindelijke eindgebruiker (keuringsdiensten, nVWA, divisie Plant en diverse laboratoria). Hieraan is binnen de diverse projecten ook erg veel aandacht besteed. De eindgebruikers zijn in een vroeg stadium betrokken bij de ontwikkeling en validatie van de methoden en hebben de methoden inmiddels geïmplementeerd.

Met dank aan

Marleen Botermans, Hans de Gruyter, Linda Kox, Annelien Roenhorst, Bart van de Vossenberg, (Nationaal Referentie Centrum, nVWA, divisie Plant)
Khanh Pham, Maarten de Kock en Joop van Doorn (PPO-BBF)
Annette Dullemans, Antje de Bruin, Martin Verbeek, Henry van Raay, René van de Vlugt, Cor Schoen, Marjanne de Weerd, Jan van der Wolf, Lia de Haas, Pieter Kastelein, Els Verstappen, Odette Mendes en Marga van Gent-Pelzer (PRI)
Freek Bakker (WU-Biosystematiek)
Martijn Schenk (Wageningen UR Glastuinbouw)
Marcel Dicke en Patrick Verbaarschot (WU-Entomologie)
Arthur de Cock, Henk Brouwers, Maikel Aveskamp en Joyce Woudenberg (CBS)
Hans Helder (WU-Nematologie)
Renske Landeweert (Blgg-AgroXpertus)
Ellis Meekes, Harry Koenraadt en Marcel Toonen (Naktuinbouw)
Gé van de Bovenkamp (NAK)

Levend of dood, dat is de vraag!

Theo van der Lee¹,
Gerard van Leeuwen²,
Eïsse de Haan³,
Johannes Helder⁴,
Harrie Koenraadt⁵
en Peter Bonants¹

¹ Plant Research
International,
Wageningen UR

² nVWA, divisie Plant

³ NAK

⁴ Wageningen University,
Wageningen UR

⁵ Naktuinbouw

Inleiding

In de literatuur zijn voor de detectie van plantenpathogenen diverse methodieken beschreven. Het betreft enerzijds biologische en morfologische methodieken zoals lokking, uitplaten en microscopie en anderzijds moleculaire methodieken zoals serologische tests en DNA-gebaseerde methoden. De biologische methodieken detecteren alleen levende organismen. Bij morfologische methodieken is het onderscheid tussen dood en levend materiaal lastig en vaak subjectief. Serologische technieken maken ook geen onderscheid tussen dood en levend of infectieus en niet infectieus. Moleculaire technieken tenslotte worden steeds meer toegepast maar maken meestal geen onderscheid tussen dood en levend. Met name voor quarantaine-organismen is het onderscheid tussen levende en dode pathogenen van essentieel belang. Binnen het FES-programma Versterking infrastructuur plantgezondheid is binnen werkpakket 3 Ontwikkeling van methoden voor het aantonen van vitaliteit van plantenpathogenen gewerkt aan de detectie van vitaliteit in nematoden, schimmels en bacteriën.

Tegenwoordig zijn detectiemethoden, gebaseerd op de DNA *polymerase chain reaction* (PCR) favoriet omdat deze methodiek:

- (i) universeel toepasbaar is, aangezien alle organismen DNA bezitten.
- (ii) bijzonder gevoelig is, door de *in vitro*-amplificatie van een bepaalde DNA-sequentie.
- (iii) generiek is, of juist een zeer hoog onderscheidend vermogen heeft, door het gebruik van meer of minder specifieke primers.
- (iv) het toelaat om testen te ontwikkelen voor een willekeurige mix van pathogenen (bacteriën, schimmels, nematoden etc.) waarbij de PCR reactie condities identiek zijn.
- (v) de mogelijkheid biedt een bepaald DNA fragment te kwantificeren wanneer de PCR-amplificaties 'real-time' (=na elke cyclus) gevolgd worden, bijvoorbeeld met behulp van een specifieke probe, zoals in een TaqMan PCR, of met behulp van SYBR green (een stof die fluoresceert indien het gebonden is aan dubbelstrengs DNA).

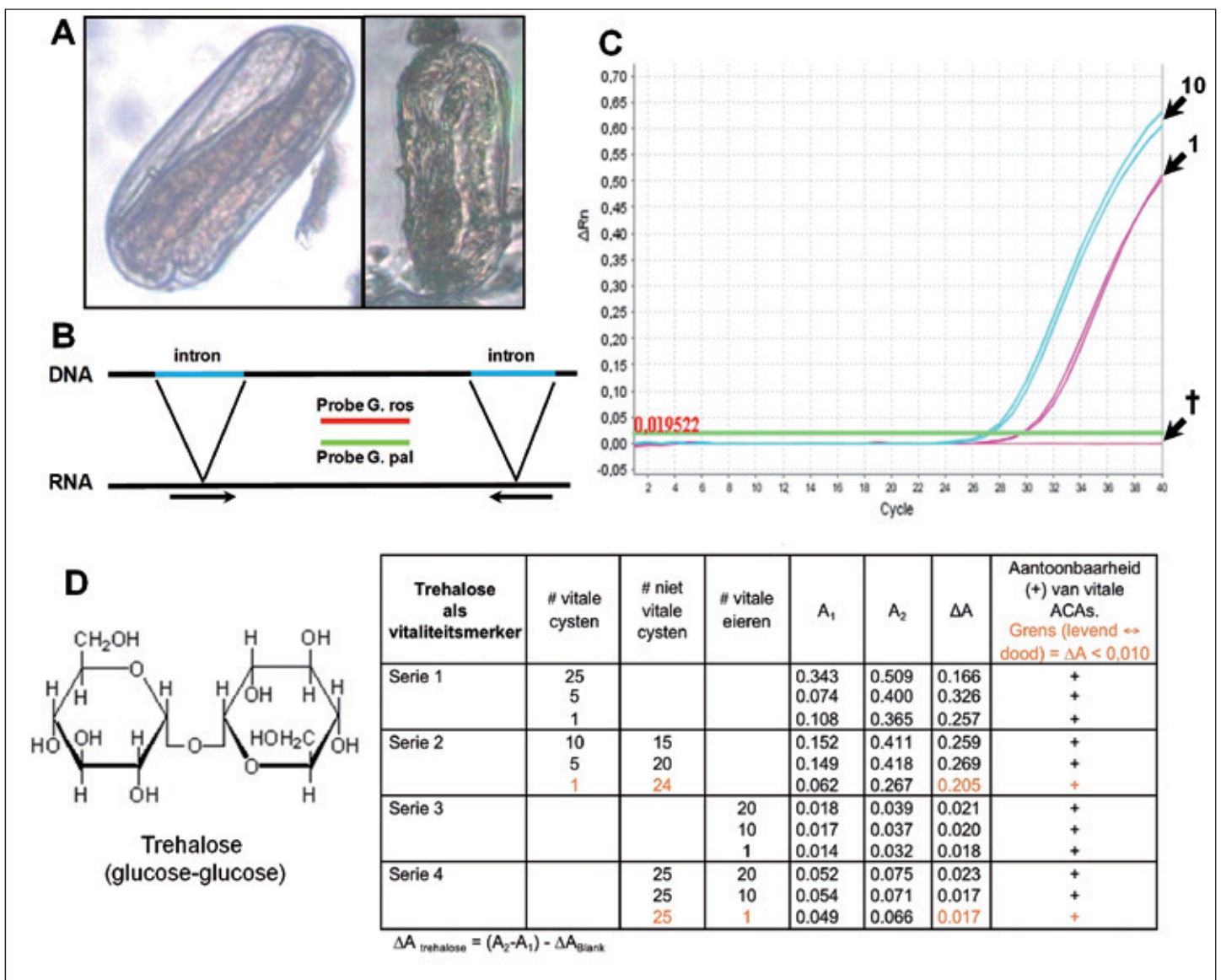
Het in de PCR gedetecteerde DNA is een stabiel molecuul dat ook na de dood van een organisme lange tijd aanwezig kan blijven. Met

behulp van DNA is dan ook wel vast te stellen of een organisme aanwezig is, maar niet of een organisme levend of dood is.

RNA als merker voor vitaliteit

Levend materiaal bevat naast DNA ook RNA. Met name mRNA is een instabiel molecuul dat in levende organismen continu aangemaakt wordt en snel weer wordt afgebroken. mRNAs zijn transcripten van specifieke gebieden van het DNA die zich daarnaast in eukaryoten qua

sequentie kunnen onderscheiden van DNA door de afwezigheid van intronen (tussenliggende stukken genetisch materiaal). De mRNAs coderen voor eiwitten. Veelvoorkomende voorbeelden hiervan zijn de elongatie-factor-1-alpha (EF1) en het glyceraldehyde-di-fosfaat dehydrogenase (GPD) die essentieel zijn in respectievelijk de eiwit- en de energieproductie via de glycolyse. De overeenkomstige mRNA-moleculen zijn dan ook in grote getale aanwezig in elke levende cel. Dit mRNA kan na een reverse transcriptase-reactie met behulp van PCR gedetecteerd worden. Na omzetting van het RNA tot cDNA heeft de



Figuur 1. Vitaliteitsbepaling van *Globodera*. (A) Visuele microscopische score van een vitaal ei (links) en een niet-vitaal ei (rechts). (B) Design van de RNA-specifieke TaqMan gebaseerd op de intron-grenzen. (C) Onderscheid tussen 10 vitale eieren (lichtblauwe curves), 1 vitaal ei (roze curves) en niet-vitale cysteïnhoud (rode lijn) met behulp van een op RNA gebaseerde TaqMan. De horizontale groene lijn geeft de grens aan waarboven een significante hoeveelheid fluorescentie wordt gemeten. (D) In vitale eieren liggen de juveniele aaltjes in een vloeistof met daarin een hoge concentratie trehalose. De tabel laat de aantoonbaarheid zien van vitale cysten of eieren van het aardappelcystenaaltje (ACA) *Globodera pallida* tegen een achtergrond van niet-vitale cysten op basis van trehalose-inhoud. Een uitgebreide screening van dood en levend ACA-materiaal wees uit dat monsters met $\Delta A < 0,010$ geen vitale ACAs bevatten.

RNA-detectie dezelfde voordelen als de detectie van DNA: (i) universeel toepasbaar (ii) hoge gevoeligheid (iii) een generiek of juist zeer hoog onderscheidend vermogen (iv) mogelijkheid de hoeveelheid doel-DNA te kwantificeren. Het proces is schaalbaar van bijvoorbeeld een enkele nematode tot een populatie van cysten en het geeft ook de mogelijkheid om in gemengde populaties afzonderlijk te kijken naar de vitaliteit van bijvoorbeeld *G. pallida* en *G. rostochiensis* (beide veroorzaken aardappelmoehheid). Daarnaast is het zo dat bij de beoogde eindgebruikers de benodigde apparatuur en expertise aanwezig zijn.

Alternatieven voor de op RNA gebaseerde detectie van vitaliteit

Binnen het FES-programma 'Versterking infrastructuur plantgezondheid' (werkpakket 3) zijn naast de RNA-gebaseerde techniek ook twee alternatieve technieken om vitaliteit te meten ontwikkeld. Deze technieken zijn mogelijk goedkoper of passen wellicht beter in de huidige screeningsprocedures van de keuringsdiensten. Deze alternatieve methoden maken gebruik van het feit dat in dode organismen membranen desintegreren. Hierdoor kunnen suikers en zouten die normaal in gereguleerde concentraties in het cytoplasma voorkomen weglekken of kunnen vreemde stoffen de cel binnendringen. Het behoud van deze gereguleerde concentraties kost energie en vereist dat de membranen intact zijn. Dode organismen zijn niet in staat deze gradiëntverschillen te behouden.

1) Trehalose als merker voor vitaliteit

Aardappelcystenaaltjes overleven als cysten – pakketjes nematoden-eieren omgeven door de cuticula van het gestorven vrouwtje – in de bodem. In elk ei ligt een juveniel aaltje in een geconcentreerde suikeroplossing van 0,34 M trehalose (een glucose-glucose disaccharide, Figuur 1D). De afname van de vitaliteit van een juveniel leidt tot desintegratie van de ei-membranen en daarmee tot het vrijkomen van trehalose. Het vrijkomende trehalose is met een eenvoudige trehalose detectiekit aan te tonen na enzymatische splitsing in twee glucose eenheden. De hoeveelheid glucose wordt vervolgens spectrofotometrisch bepaald. Trehalose is niet specifiek voor afzonderlijke nematode soorten en is daarom in potentie geschikt als vitaliteitsmerker voor alle cystenvormende nematodensoorten. Het extract dat gebruikt wordt voor de trehalose

bepaling kan na de trehalose meting ook gebruikt worden voor DNA extractie en DNA detectie met een reeds gevalideerde (Q)PCR, om een soortbepaling uit te voeren.

2) Propidium monoazide opname in de cel als merker voor vitaliteit

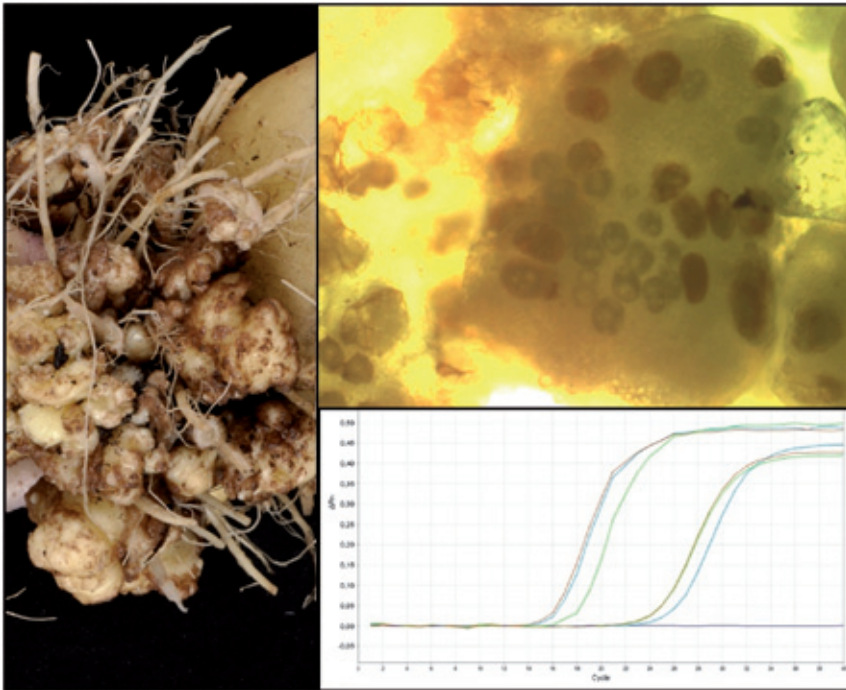
Voor bacteriën wordt gebruik gemaakt van het feit dat, als de selectief permeabele membraan desintegreert, vreemde stoffen de cel kunnen binnendringen. Aan de bacteriesuspensie wordt propidium monoazide (PMA) toegevoegd. Wanneer PMA de cellen binnendringt gaat het een reactie aan met het DNA en wordt daaraan gebonden onder invloed van licht. Het PMA-DNA-complex van de dode cellen is slecht oplosbaar na de DNA-extractie en niet geschikt voor PCR-amplificatie, zodat tijdens een TaqMan PCR-reactie alleen DNA van levende cellen wordt aangetoond.

Validatie van de moleculaire methodieken met biologische toetsen

Voor elk van de deelprojecten over nematoden, schimmels en bacteriën werden de moleculaire gegevens vergeleken met biologische vitaliteitsbepalingen. Hoewel deze biologische methodieken ook hun beperkingen kennen, zoals eerder aangegeven in de inleiding, vormen zij momenteel de gouden standaard waarmee de moleculaire methodieken zich moeten meten. Voor *Globodera* gaat het om visuele waarnemingen en loktoetsen. Voor *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* worden de biologische vitaliteitsbepaling uitgevoerd door uitplaten volgens een bij de NAK-tuinbouw uitgewerkt protocol. Het is de ambitie om een nieuwe standaard op te zetten voor (kwantitatieve) vitaliteitsbepalingen die breed toepasbaar, kostenefficiënt en gemakkelijk inpasbaar is in de huidige toetsen van de Nederlandse keuringsdiensten.

Resultaten vitaliteitsbepalingen van *G. rostochiensis* en *G. pallida*

Op basis van de DNA-sequenties van het gen voor EF1 en GPD van zowel *G. pallida*, als *G. rostochiensis* zijn primers en probes ontwikkeld die specifiek RNA amplificeren en tegelijkertijd deze soorten van elkaar kunnen onderscheiden (Figuur 1B). Met deze methode is het mogelijk een enkel levend ei aan te tonen (Figuur 1C). Parallel hieraan is een methode opgesteld waarmee de hoeveelheid trehalose (Figuur 1D) in levend



Figuur 2. Isolatie van *S. endobioticum* DNA uit aardappelwratten. (A) wratvorming op een aardappel. (B) Dwarsdoorsnede van een wrat met hierin karakteristieke wintersporen. (C) Amplificatie curven van een *S. endobioticum* specifieke TaqMan en een aardappel specifieke TaqMan laten zien dat het DNA van deze obligate biotroof nauwelijks nog verontreinigd is met aardappel DNA (≈ 8 Ct's < 0.5%)

en dood materiaal van *G. rostochiensis* en *G. pallida* kan worden bepaald. Met deze methode is het mogelijk een enkel levend ei aan te tonen in een achtergrond van 25 dode cysten (Figuur 1D). Diverse prestatiekenmerken van beide methodieken zijn inmiddels geëvalueerd waarbij de Nationale Richtlijn voor Plantpathogenen en Plaagorganismen (maart 2010) als richtlijn is gebruikt.

Genoomsequentie *Synchytrium endobioticum*

De ontwikkeling van specifieke primers m.b.t. vitaliteit voor *S. endobioticum* (de veroorzaker van wratziekte bij aardappel) is, ook na herhaalde pogingen, niet gelukt. De oorzaak is dat van dit pathogeen nauwelijks DNA-sequentiegegevens voorhanden zijn en dat de verwantschap met bekende ziekteverwekkers klein is. Daarom is in overleg met de begeleidingscommissie Versterking Infrastructuur Plantgezondheid besloten het budget dat nog beschikbaar was voor dit onderdeel te gebruiken om van *S. endobioticum* DNA te isoleren en van dit organisme de genoomsequentie te bepalen. Deze genoomsequentie dient als strategische versterking van al het onderzoek aan wratziekte

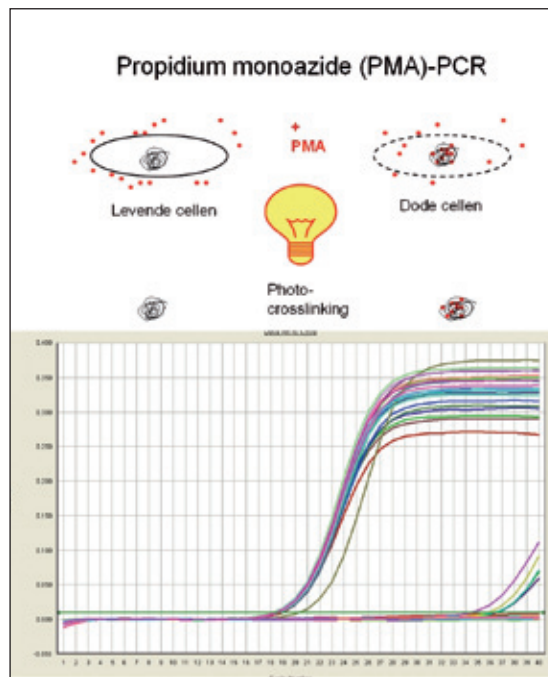
en zal binnen het FES-programma “Versterking Infrastructuur Plantgezondheid” in het onderdeel ‘Ontwikkeling van methoden voor het aantonen van vitaliteit van plantenpathogenen’ gebruikt worden voor het genereren van primers en probes op geselecteerde genen (EF1 en GPD). Additioneel wratmateriaal is door de nVWA, divisie Plant opgekweekt in het kader van een Beleids-Ondersteunend (BO) programma en is 2 september 2010 overgedragen aan Plant Research International. Van dit materiaal is inmiddels DNA geïsoleerd. Meer over de procedure is terug te vinden in een korte film op (<http://www.youtube.com/watch?v=v59uc-Vp4Kg>). Het gaat om de grootste hoeveelheid DNA en ook het zuiverste DNA dat ooit van dit pathogeen is geïsoleerd. De verontreiniging met planten-DNA is verwaarloosbaar klein (Figuur 2). Dit DNA zal gebruikt worden voor het bepalen van de genoomsequentie.

Vitaliteitsbepaling *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc)

Xcc is een belangrijk zaadoverdraagbaar pathogeen en de veroorzaker van zwartnervigheid in kool. Er zijn uitgebreide toetsprogramma's opgezet om de aanwezigheid van Xcc in zaad vast te stellen. Warmwaterbehandelingen worden in de praktijk gebruikt om Xcc besmette partijen pathogeen vrij te maken. Het is essentieel om te weten of de behandeling effectief is geweest en alle pathogene bacteriën in het zaad heeft afgedood. Met behulp van de (PMA) –behandeling konden levende cellen van *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* goed worden gescheiden van dode, en vervolgens met een reeds ontwikkeld TaqMan PCR-protocol worden aangetoond (Figuur 3).

Het vervolg: de toekomstige implementatie bij de keuringsdiensten en nVWA

Binnen dit programmaonderdeel werd als uitdrukkelijke eis gesteld dat de ontwikkelde toetsen ook geïmplementeerd moesten worden bij de uiteindelijke eindgebruiker (keuringsdiensten, nVWA divisie Plant en diverse laboratoria). Hieraan is dan ook binnen de diverse projecten veel aandacht besteed. De eindgebruikers zijn in een vroeg stadium betrokken bij de te ontwikkelen methode en de validatie ervan en hebben de methoden geïmplementeerd aan de hand van de ‘Nationale richtlijn voor de validatie van detectie- en identificatiemethoden voor plant-pathogenen en plagen’.



Met dank aan:

Bart van de Vossenbergh, Linda Kox, Loes de Nijs, Patricia van Rijswijk (nVWA, divisie Plant) Jan van der Wolf, Odette Mendes, Carin van Tongeren, Jan Bergervoet, Richard van Hoof en Marga van Gent-Pelzer (Plant Research International, Wageningen UR) Renske Landeweert (BLGG AgroXpertus) Marcel Toonen (Naktuinbouw) Gé van de Bovenkamp en Toos Dekker (NAK)

*Figuur 3. Gebruik van Propidium monoazide (PMA) voor de detectie van vitale cellen. (A) PMA wordt aan de cellen toegevoegd. Bij dode cellen kan het PMA de cel in en het DNA bereiken. Door een lichte behandeling bindt het PMA aan het DNA wat de oplosbaarheid en de mogelijkheid voor PCR-amplificatie verhindert. (B) Specifieke TaqMan voor *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* die na PMA-behandeling alleen levende cellen detecteert.*

DNA-extractie zonder remming

Peter Bonants
en Theo van der Lee

Plant Research
International,
Wageningen UR

Inleiding

Detectie en identificatie van plantenziekten met behulp van moleculaire diagnostiek heeft de laatste jaren een grote vlucht genomen. Dergelijke moleculaire methoden maken gebruik van het DNA van het te detecteren pathogeen (ziekteverwekker) en hiervoor moet dan ook dit DNA gezuiverd (geëxtraheerd) worden uit het materiaal waarin je het pathogeen wilt aantonen. In veel gevallen zijn de standaard nucleïnezuur-extractiemethoden afdoende voor het verkrijgen van schoon DNA en/of RNA noodzakelijk voor de vervolgstap nl. amplificatie van het doel-DNA / RNA. Echter, voor een aantal substraten, zoals grond, is de extractie van amplificeerbaar nucleïnezuur tot op heden nog een groot probleem. Tijdens de DNA-extractie uit sommige moeilijke substraten worden ook andere stoffen meegezuiverd, die vervolgens de PCR remmen en daarmee vals-negatieve reacties opleveren.

Onderdeel 1: Grond

Probleemstelling

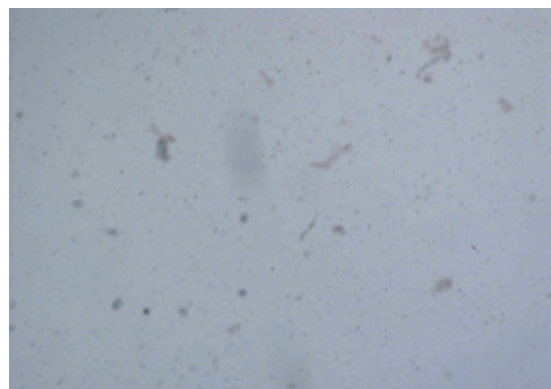
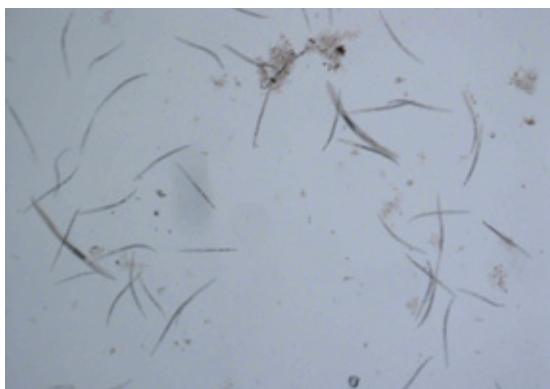
Nucleïnezuur-extractie van nematoden direct uit grond leidt tot grote variabele resultaten in kwaliteit en kwantiteit van het geëxtraheerde nucleïnezuur. De nematoden lijken schoon maar na nucleïnezuurextractie is het nucleïnezuur van

onvoldoende kwaliteit of kwantiteit voor diagnostische analyses doordat ook allerlei amplificatie-remmende stoffen (humuszuur, phenolen, etc) meegezuiverd worden. Daarom worden DNA-extracties veelal uitgevoerd op nematodensuspensies afkomstig uit grond en niet rechtstreeks op grond.

In het verleden is in een STW-project door Bgg-AgroXpertus en WUR-Nematologie een methode ontwikkeld om nucleïnezuuren uit nematodensuspensies te extraheren. Deze wordt al op grote schaal toegepast. In dit projectonderdeel is deze methode vergeleken met alternatieven. Daartoe werden vele grondmonsters opgespoeld en de aanwezige nematoden verzameld. Aan deze nematodensuspensies werden één of meerdere doelorganismen (*Ditylenchus dipsaci* en *Meloidogyne chitwoodi*) toegevoegd. Ook werd aan de monsters een interne controle in de vorm van DNA toegevoegd om de extractie-efficiëntie en de mate van PCR-remming goed te kunnen bepalen. De uiteindelijke methode werd goed gevalideerd volgens het opgestelde validatieplan.

Resultaten

Op basis van het validatieplan zijn experimenten uitgevoerd om diverse prestatiekenmerken



Figuur 1. Lysis van *Meloidogyne hapla*-nematoden na 1 min (links) en na 10 min (rechts) in lysisbuffer (foto: Hans Helder, WU-Nematologie).

(aantoonbaarheidsgrens, selectiviteit, juistheid, herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid) te bepalen. De methode is in staat om één toegevoegd aaltje (*D. dipsaci* of *M. chitwoodi*) aan te tonen in een nematodensuspensie (uit diverse zand-/klei en veengronden) en is daarmee geschikt voor het gestelde doel.

Onderdeel 2: Aardappel(schil)extract en Hyacintbollen

Probleemstelling

Ook voor aardappel(schil)extracten en bollenmonsters van hyacint, geldt dat de extractie van amplificeerbaar nucleïnezuur tot op heden nog een groot probleem vormt. Voor detectie van aardappelziekten (o.a. *Erwinia* spp., nu *Dickeya* spp.) wordt in de meeste gevallen de navel van een aardappel uitgesneden en getest in een gezamenlijke batch van twintig navels. De samenstelling van deze navels is niet uniform. De grootste problemen van dit substraat voor nucleïnezuurextractie worden gevormd door de aanwezigheid van grond en zetmeel in het extract. Een bijkomend probleem is dat het perssap van de navelbatches eerst in een zogenaamd verrijkmingsmedium geïncubeerd moet worden om het doelorganisme te vermeerderen. Aanwezige saprophyten kunnen deze verrijking belemmeren. Ook voor detectie van *Dickeya* spp. in bollenmonsters van hyacint worden (delen van) de bollen, na verrijking, in een batch getest. De samenstelling van de bollen varieert van droog tot slijmerig, met veel tot weinig grond. Daardoor is de kwaliteit en de hoeveelheid nucleïnezuur te laag voor (kwantitatieve) moleculaire diagnostische analyses.

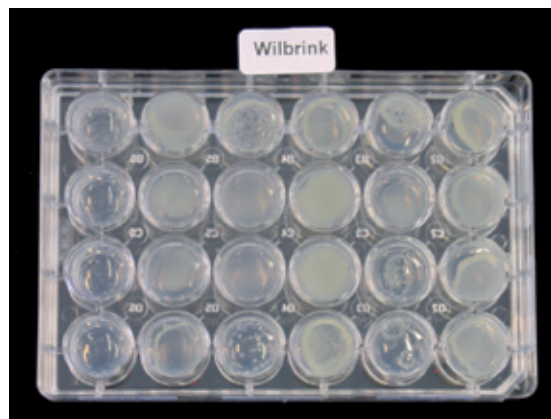
Een betrouwbare DNA/RNA-extractie is hiervoor vereist. Handmatige DNA/RNA-extractie is arbeidsintensief. Semi-geautomatiseerde

extractie m.b.v. magnetische silica krijgt steeds meer de voorkeur. Echter, vanwege het slijmerige karakter van vermalen hyacintbollen zijn gangbare extractiemethoden niet functioneel. De verrijkingstap bij hyacinten resulteert door de bacteriegroei in een visceuze oplossing die niet optimaal verwerkt kan worden met semi-geautomatiseerde extractie. In een later stadium van het project is de doelstelling verder aangepast richting verrijking van het doelorganisme d.m.v. een verbetering van het medium.

Resultaten

Aardappelschilextract

Ter verbetering van het groeimedium voor *Dickeya*-soorten zijn door PRI diverse antibiotica uitgetest. Uiteindelijk zijn er twee antibiotica (sulfomethoxazol en crystal violet) geselecteerd waarvoor alle getoetste *Dickeya* (14x), *Pectobacterium atrosepticum* (3x) en *Pectobacterium carotovorum* (8x) -stammen relatief ongevoelig zijn, wanneer toegevoegd aan TSB-groeimedium en gekweekt onder aerobe



Figuur 2. Groei van bacteriën op het (semi-) selectieve medium Wilbrink (foto: Jan van der Wolf, PRI).

¹ Spiken

Het bewust toevoegen van het organisme om het later in het substraat na verrijking weer te detecteren.

omstandigheden. Het effect van de antibiotica, ook in verschillende verhoudingen, is met behulp van TaqMan PCR onderzocht op de groei van *Dickeya* / *Pectobacterium* toegevoegd aan drie aardappel-extracten. Verrijking in gespiked¹ aardappelsap liet echter een sterke achteruitgang van de detecteerbaarheid van de doelorganismen zien in de aanwezigheid van de betrokken antibiotica. Daarmee vormt het nieuwe verrijkingmedium geen verbetering ten opzichte van het oude.

Hyacintbollen

Op basis van het verbeterde *Dickeya*-medium zijn er door PPO-BBF experimenten in hyacintbollen uitgevoerd. Er is een werkprotocol geschreven, waarbij na voorkeek van hyacintenweefsel in verrijkingmedium, het DNA van *Dickeya*-bacteriën met behulp van reagentia van het merk AGOWA wordt geëxtraheerd. De semi-automatische DNA-extractie vindt plaats met behulp van een Thermo Kingfisher-systeem. De validatie van de methode heeft aangetoond dat de methode voldoet aan alle vooraf gestelde criteria voor juistheid, meetbereik & aantoonbaarheids grens, selectiviteit, herhaalbaarheid, reproduceerbaarheid en robuustheid. Het meetbereik voor *D. solani* na verrijking heeft een ondergrens $>10^5$ en een bovengrens van $\leq 10^8$ bacteriën. Het meetbereik voor *D. dadantii* na verrijking heeft een ondergrens $>10^4$ en een bovengrens van $\leq 10^8$ bacteriën.

Onderdeel 3: Nucleïnezuur extractie uit zaad

Probleemstelling

Ook voor de extractie van amplificeerbaar nucleïnezuur uit zaad vormt tot op heden een groot probleem. Vaak zijn zaadbacteriën gelokaliseerd onder de zaadhuid, waardoor ze beschermd worden voor behandelingen en ontsmetting en niet kunnen worden verwijderd. Voor detectie van de bacteriële zaadpathogenen (*Clavibacter* spp. en *Xanthomonas* spp.) wordt in de meeste gevallen het zaad eerst batchgewijs vermalen om vervolgens een nucleïnezuur-extractie uit te voeren op het materiaal. Probleem hierbij is dat in zaad extreem hoge concentraties van reservestoffen zoals oliën en polysacchariden (waaronder zetmeel) kunnen voorkomen, die bekende remmers van de PCR-reactie zijn. De toepassing van commerciële DNA-extractiekits leidt hierdoor tot nucleïnezuur van lage kwaliteit en kwantiteit, onbruikbaar voor (kwantitatieve) moleculaire

diagnostische analyses. Het doel van dit onderdeel was dan ook de extractiemethode te verbeteren.

Resultaten

Medium *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc).

Een representatieve collectie van twintig Xcc-stammen (collectie Naktuinbouw) werd door PRI getoetst voor gevoeligheid voor acht antibiotica in vloeibaar mCS20ABN voedingsmedium. De antibiotica waren geselecteerd op basis van literatuurgegevens en oriënterend onderzoek met drie Xcc-stammen. Gentamycine, metronidazole en bacitracine gaven geen groeiremming bij de gebruikte concentratie. Cephalaxine en tobramycine gaven slechts remming bij een van de twintig stammen. Het effect van de antibiotica op de groei van Xcc toegevoegd aan twee zaadextracten, wordt verder onderzocht met behulp van TaqMan PCR.

Op basis van de resultaten is nu een verbeterd medium beschikbaar, dat binnenkort wordt geëvalueerd bij de Naktuinbouw waarbij zaadpartijen met verschillende microbiologische achtergrond gebruikt zullen worden. Het medium zal zo nodig verder aangepast worden wanneer de groei van Xcc onvoldoende is.

Detectie *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) in tomatenzaad.

Door de Naktuinbouw werd een protocol ontwikkeld om Cmm in zaad aan te tonen. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een gemerkte interne controle op basis van *Clavibacter michiganensis* subsp. *tesselarius* (Cmt) die visueel onderscheidbaar is van de klassieke Cmm-spike. Er is ook een specifieke Cmt-TaqMan PCR ontwikkeld die onderscheid kan maken tussen Cmt en Cmm. Cmm kan na vóórverrijking met het nieuwe protocol goed aangetoond worden met de Cmm-specifieke TaqMan PCR in relatief schone partijen. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een AGOWA-DNA-extractiekit. Bij het parallel toetsen van relatief vieze saprofyt-rijke partijen met de klassieke toets en de nieuwe PCR bleek er echter onvoldoende vermeerdering te zijn van Cmm en Cmt waardoor de nieuwe toets nog onvoldoende betrouwbaar is. Verdere optimalisering van de voorverrijking is noodzakelijk voordat begonnen kan worden met de validatiefase van de toets. Hierbij wordt nagegaan of parallelle vermeerdering van het doelpathogeen en de spike in media met en zonder antibiotica tot een betrouwbaardere toets kunnen leiden.

Validatie en implementatie

Validatie van methoden en implementatie bij de eindgebruikers vormt een integraal onderdeel uit van dit project. Validatie wordt net als bij identificatie en detectie uitgevoerd volgens een vooropgesteld plan met het bepalen van een aantal prestatiekenmerken. Hoewel een aantal prestatiekenmerken voor DNA-extractie moeilijk te bepalen zijn, hebben alle betrokkenen validatieplannen opgesteld en deze zijn na goedkeuring door de nVWA uitgevoerd. Doordat de eindgebruikers ook participeren als partner/ onderaannemer in het onderzoek, is een optimale afstemming gegarandeerd en vindt de methode zijn weg naar de praktijk.

Met dank aan:

Loes den Nijs, Ilse Heurneman, Bart van de Vossenberg en Linda Kox (Nationaal Referentie Centrum, nVWA, divisie Plant)
Maarten de Kock en Robert Dees (PPO-BBF)
Richard van Hoof, Marjon Krijger en Jan van der Wolf (PRI)
Hans Helder (WU-Nematologie)
Ellis Meekes, Harry Koenraadt en Marcel Toonen (Naktuinbouw)
Toos Dekker, Eisse de Haan en Gé van den Bovenkamp (NAK)
Renske Landeweert en Peter Veenhuizen (Blgg-AgroXpertus)

Digitale sleutels en visuele hulpmiddelen ter herkenning van invasieve plantensoorten

Leni Duistermaat¹,
Johan van Valkenburg²,
Roelf Pot³
en Edu Boer¹

¹ NCB Naturalis, sectie
Nationaal Herbarium
Nederland, Postbus
9514, 2300 RA Leiden;
e-mail: duistermaat@nhn.
leidenuniv.nl;
e.boer@minlnv.nl

² Nieuwe Voedsel en Waren
Autoriteit, divisie Plant,
Postbus 9102, 6700 HC
Wageningen; e-mail:
j.l.c.h.van.valkenburg@
minlnv.nl

³ Roelf Pot onderzoek- en
adviesbureau, Pandijk 2,
7861 TE Oosterhesselen;
e-mail: roelfpot@wxs.nl

Elders in dit nummer is de opzet beschreven van een informatiesysteem over invasieve plantensoorten dat is ontwikkeld door het Uitvoeringsconsortium Invasieve Plantensoorten. Voor het herkennen van invasieve plantensoorten moeten instrumenten ontwikkeld worden die door zowel inspecteurs als onderzoekers en andere geïnteresseerden gebruikt kunnen worden. De ontwikkeling hiervan vindt plaats in het werkpakket 3 van het FES-programma 'Versterking infrastructuur plantgezondheid'. De instrumenten die ontwikkeld worden, zijn gevalideerde digitale identificatiesleutels naar (groepen van) potentieel invasieve plantensoorten en hun gelijkende verwanten, en visuele hulpmiddelen in de vorm van kenniskaarten per soort en soortgroep. Hieronder worden de werkzaamheden beschreven en enkele van de producten getoond.

De werkzaamheden vallen uiteen in de volgende onderdelen:

1. Ontwikkeling
2. Validatie
3. Kennisoverdracht en implementatie bij de gebruikers.

Ontwikkeling

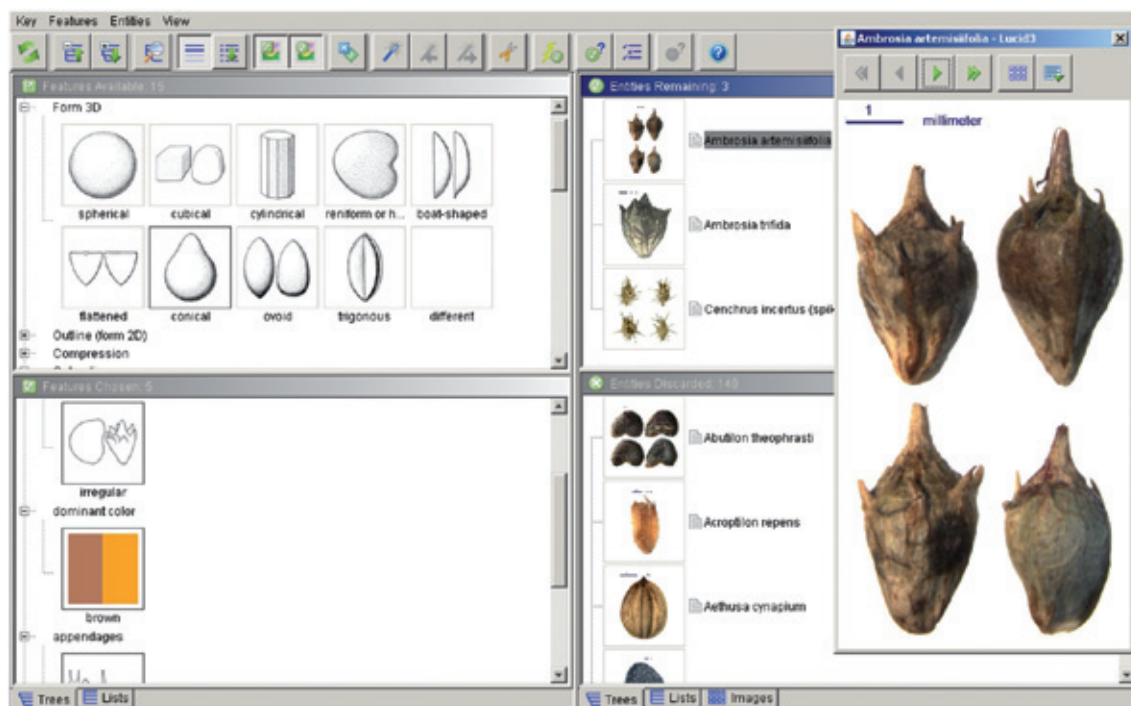
De ontwikkeling van de digitale sleutels gebeurt in het softwarepakket Lucid <http://www.lucidcentral.org/>. De sleutels zijn uitermate

gebruikersvriendelijk, omdat ze intuïtief in gebruik zijn, sterk visueel werken en het gebruik van technische termen zoveel mogelijk vermijden. Het zijn 'multiple entry keys', met andere woorden een sleutel die de gebruiker niet van begin tot einde hoeft te doorlopen, maar waar de gebruiker kenmerken, die worden waargenomen direct kan invullen en waar ook het resultaat direct duidelijk wordt. Met deze software kunnen sleutels worden aangemaakt, waarvoor de gebruiker alleen een internetbrowser nodig heeft. De sleutels zijn vrij toegankelijk. Op dit moment zijn er reeds twee in concept beschikbaar op www.q-bank.eu/Plants/ onder het kopje *Identification*.

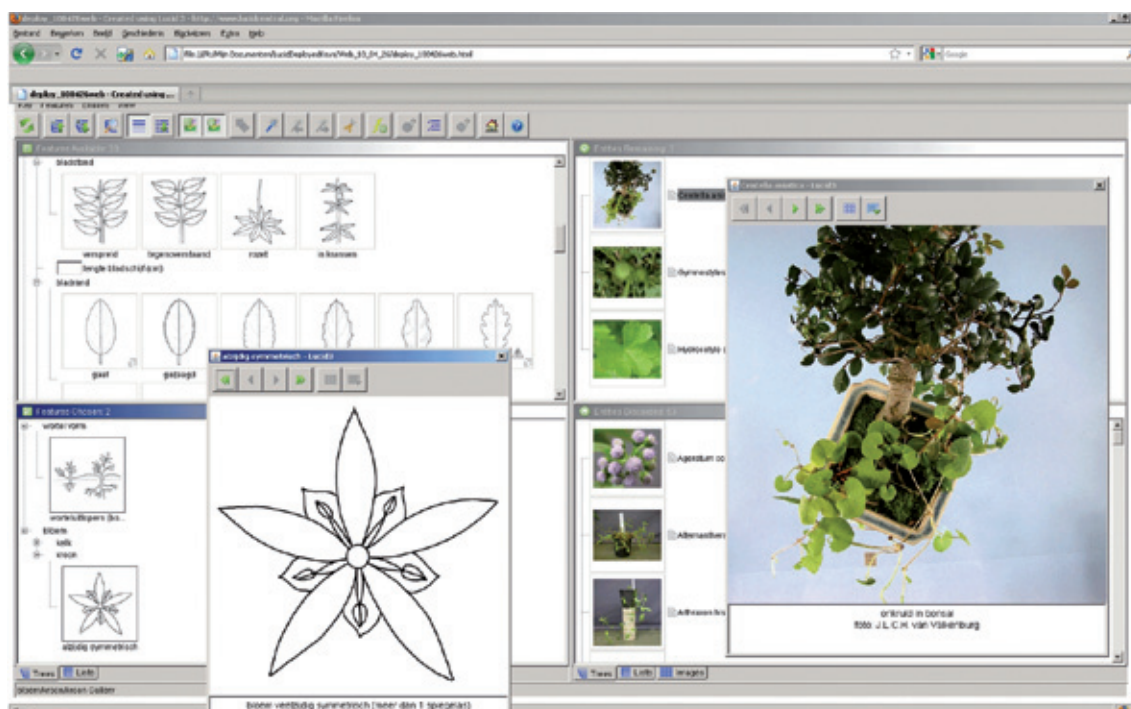
We ontwikkelen de volgende sleutels:

- a. voor zaden ten behoeve van besmetting in 'diverse producten' (beschikbaar op Q-bank; zie Figuur 1);
- b. voor kiemplanten van soorten die in dat stadium aangetroffen kunnen worden (onkruiden in potplanten bij import en export; in Nederland ingeburgerde en inburgerende soorten);
- c. voor lastige onkruiden die vaak voorkomen in 'Bonsai' (eerder aangetroffen risicosoorten) (beschikbaar op Q-bank; zie Figuur 2);
- d. voor in de handel zijnde waterplanten (groot risico voor de Nederlandse situatie);
- e. voor niet-inheemse water- en oeverplanten in Nederland.

Tevens maken we een totale sleutel voor alle soorten die in tenminste een van de



Figuur 1. De digitale zadenleutel in gebruik om zaden van *Ambrosia artemisiifolia* te determineren.

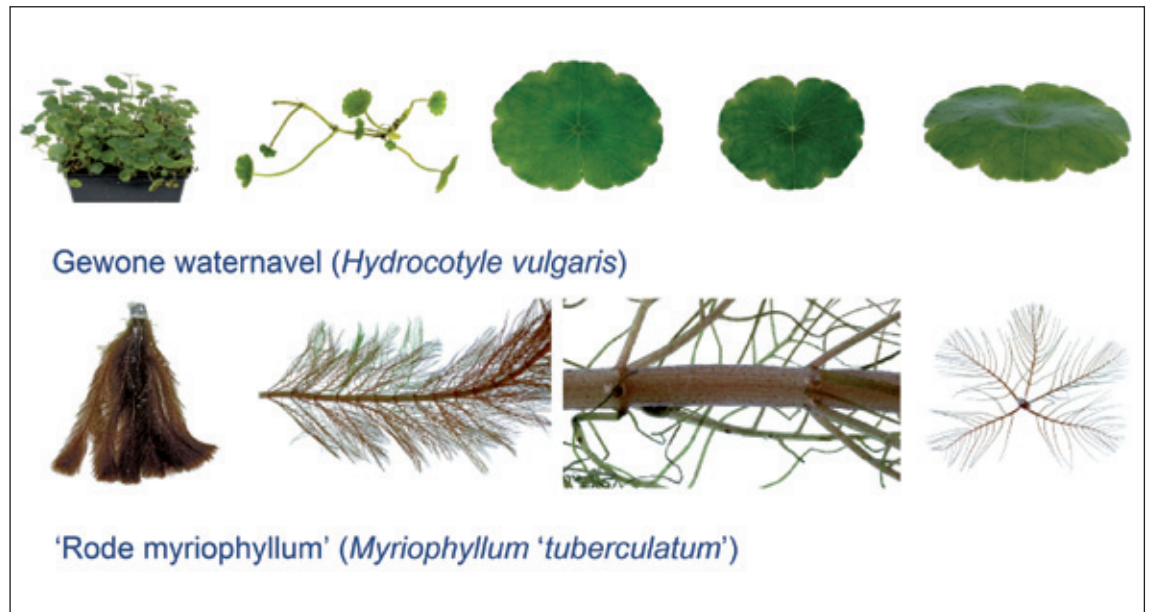


Figuur 2. De digitale sleutel voor 'Bonsai'-onkruiden in gebruik om *Centella asiatica* te determineren.

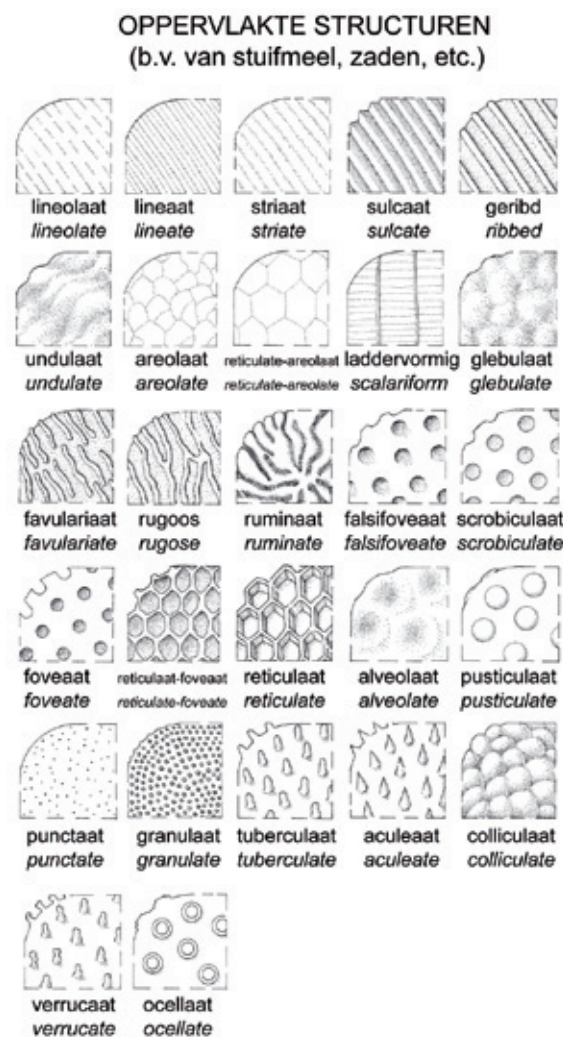
bovengenoemde deelsleutels is opgenomen. Behalve de potentieel invasieve en quarantaine-soorten nemen we ook gelijkende soorten op die geen risico vormen maar er wel vaak mee verward worden; dit om 'false positives' uit te sluiten. Het beeldmateriaal dat we ten behoeve van dit project ontwikkelen bestaat uit gestandaardiseerde professionele foto's van

(onderdelen) van planten zoals in Figuur 3. Daarnaast maken we professionele lijntekeningen van alle technische termen (zie Figuur 4).

In aanvulling op de digitale sleutels zullen er digitale informatiekarten op soortniveau en eventueel productgroepniveau met



Figuur 3. Voorbeelden van foto's die op standaardwijze genomen zijn: gewone waternavel *Hydrocotyle vulgaris* (bovenste rij) en 'rode myriophyllum' *Myriophyllum tuberculatum* (onderste rij).



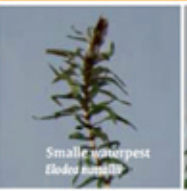














Figuur 4. Voorbeeld van een serie technische tekeningen: oppervlaktestructuren van zaden.

Nederlandse tekst en foto's aangeleverd worden ter ondersteuning van herkenning in het veld. Vanuit de informatiekaarten op soortniveau kunnen op eenvoudige wijze fotowaaiers worden samengesteld, al naar gelang de behoefte van de gebruiker. Bij informatiekaarten per productgroep wordt naast tekst gedacht aan het leveren van vergelijkingstabellen met foto's van diverse plantenonderdelen van verschillende soorten die vaak met elkaar verward worden. Figuur 5 laat een voorbeeld zien van een tabel die in de veldgids 'Invasieve waterplanten in Nederland' (Plantenziektenkundige Dienst, 2010) is gebruikt en waarin diverse soorten waterpest met elkaar worden vergeleken.

Validatie

Van alle doelsoorten en soortengroepen zullen we vaststellen aan welke minimumeisen een monster moet voldoen om de betreffende soort/soortengroep te kunnen onderscheiden van soorten die er op lijken. Om een soort ondubbelzinnig op naam te kunnen brengen moet bijvoorbeeld de combinatie van kenmerken die uniek is voor de soort aanwezig zijn. Variatie door verschil in standplaats mag bovendien niet tot een ander resultaat leiden. Vervolgens zullen we toetsen of de methode reproduceerbaar is: onafhankelijk van de gekwalificeerde persoon moet dezelfde diagnose gesteld kunnen worden.

| Kenmerken |  Igeria Ageria densa |  Brede waterpest Elodea canadensis |  Smalle waterpest Elodea nuttallii |  Hydrilla Hydrilla verticillata |  Verspreidbladige waterpest Laguncularia racemosa |
|------------------|--|--|---|---|---|
| Bladpositie |  Krans, (3) 4-6 |  Krans, 3 (4) |  Krans, 3 (4) |  Krans (4-) 5 (-8) |  Verspreidbladig |
| Bladlengte | 15-40 mm | <17 mm | <25 mm | 6-20 mm | 6-30 mm |
| Bladbreedte | 3-5 mm | (1,5-) 2-4 (5) mm | <2 mm | 2-4 mm | 1-3 mm |
| Voorn blad |  Stomp |  Stomp |  Spits |  Spits |  Spits |
| Lengte kroonblad | 8-11 mm | Klein | Klein | Klein | Klein |
| Tanden bladrand | Klein | Klein | Klein | Duidelijk zichtbaar | Klein |
| Overig | Grote bloem boven water | | Blad vaak gedraaid en/of gekromd | <ul style="list-style-type: none"> Tanden op middennerf Turfonten | Blad sterk gekromd |

Figuur 5. Vergelijkingstabel van diverse soorten waterpest.

Kennisoverdracht en implementatie

De digitale sleutels zullen als standaard fungeren voor identificatie bij de nVWA en de Keuringsdiensten omdat bij het bereikte resultaat de betrouwbaarheid van de identificatie wordt aangegeven. Het is dus belangrijk dat de medewerkers van deze organisaties met de sleutels kunnen werken. Zodra de eerste versie van een sleutel beschikbaar is laten we deze door diverse personen, waaronder medewerkers van de Toezichtuitvoering Fytosanitair van de divisie Plant van de nVWA, testen. Hun aan- en opmerkingen en wensen nemen we mee in het maken van het eindproduct. Na oplevering van de aangepaste digitale

sleutels verzorgen we trainingen in kleine groepen (tot een maximum van tien personen) om gebruikers (nVWA en Keuringsdiensten) vertrouwd te maken met het product. Trainingen zullen op maat gesneden zijn, gericht op die onderdelen die de cursisten in hun werk gebruiken, bijvoorbeeld zaden of waterplanten, etc. Bij alle gebruikers(groepen) zullen wij controleren of de sleutels naar behoren functioneren.

Referentie

Plantenziektenkundige Dienst (2010) Invasieve waterplanten in Nederland. Veldgids. Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, Wageningen, 48 pp.

Tegengaan besmettingsrisico's als onderdeel van normale plantaardige bedrijfsvoering

Communicatie als middel om preventief handelen te stimuleren

Jolien Koole¹
en Peter Leendertse²

¹Maatschap voor
Communicatie;
e-mail: jolien@mvc.nl

²CLM Onderzoek en Advies;
e-mail: pele@clm.nl

Inleiding

Nieuwe plantenziekten en –plagen komen in de Nederlandse plantaardige sector helaas nog steeds voor. Van Clavibacter in vruchtgroente tot de Oost-Aziatische boktor in de boomkwekerij. Met vaak ernstige gevolgen: verloren oogsten, reputatieschade, kosten van aanvullende maatregelen, maar vaak ook al dan niet terechte handelsbelemmeringen bij importerende landen. Dit betekent dat het beheersen van fyto-sanitaire risico's cruciaal is voor de positie van de Nederlandse land- en tuinbouw. Iedere individuele ondernemer speelt een rol bij het voorkomen van fyto-sanitaire problemen. Preventief handelen is vele malen effectiever en efficiënter dan controle en regelgeving. Preventie zou daarom in ieder bedrijf een automatisch onderdeel moeten vormen van de reguliere bedrijfsvoering. De Maatschap voor Communicatie en CLM Onderzoek en Advies, ondersteund door fytopatholoog Ruud Scheffer, hebben in opdracht van het ministerie van LNV (nu EL&I) de contouren van een communicatiestrategie ontwikkeld die past bij het nieuwe fyto-sanitaire beleid. Versterken van het urgentiegevoel, transparantie in de keten, aanbieden van informatie in de taal van de telers en inspelen op verschillen tussen sectoren zijn belangrijke uitgangspunten voor een succesvolle aanpak.

Achtergrond en probleemstelling

De afgelopen jaren heeft vrijwel elke Nederlandse teelt wel met een ingrijpende nieuwe plantenziekte of –plaag te kampen gehad. Door toegenomen internationale handel en reisverkeer, en klimaatverandering komen nieuwe plantenziekten en –plagen steeds weer voor en brengen het Nederlandse agrarische bedrijfsleven, maar ook de maatschappij soms grote schade toe.

Ondanks de aandacht die de overheid en het bedrijfsleven besteden aan fyto-sanitaire risico's is een verbeterstap gewenst. Mede daarom hebben begin 2010, veertien organisaties uit de plantaardige sector in hun 'Sectorvisie op fyto-sanitair beleid' aangegeven, dat ze samen met de overheid het fyto-sanitaire

beleid willen vernieuwen. Kennisontwikkeling en bewustwording bij bedrijven zijn daarbij belangrijke onderdelen. Het bestaande fyto-sanitaire systeem rust zwaar op de inzet van overheden. Ondernemers missen een stimulans tot initiatief en eigen verantwoordelijkheid. Dat is niet wenselijk, want preventief handelen is effectiever en efficiënter dan regelgeving en controle.

De huidige communicatie door de verschillende partijen kenmerkt zich in hoofdzaak door een sterke gerichtheid op actuele fyto-sanitaire risico's. Wanneer een risico dreigt, of een organisme wordt aangetroffen dat de handel kan verstoren, wordt door de overheid en de betreffende sector snel actie ondernomen om gezamenlijk een strategie en communicatie-uitingen te bepalen. Het heeft meer het karakter van crisiscommunicatie dan communicatie die gericht is op gedragsverandering. Daarvoor is meer basisstructuur in de communicatie, meer onderlinge afstemming, eenduidigheid en dus regie nodig.

De Maatschap voor Communicatie en CLM Onderzoek en Advies, ondersteund door fytopatholoog Ruud Scheffer, hebben in opdracht van het ministerie van LNV (nu EL&I) de contouren van een communicatiestrategie ontwikkeld die past bij het nieuwe fyto-sanitaire beleid. Vanuit interviews, een ambitiesessie en ketengesprekken met de belangrijkste stakeholders hebben we een aantal sleutels voor verbeteringen geïdentificeerd, die samen 'de knoppen' vormen waar overheid en bedrijfsleven aan kunnen draaien om de kennis- en informatiedoorstroming te verbeteren.

Zeven sleutels voor verbetering

1. Versterken van het urgentiegevoel

De risico's nemen toe. Het belang van preventie wordt onderschreven door alle betrokkenen, maar er is over de hele linie nog onvoldoende urgentiegevoel om zonder actuele noodzaak in actie te komen. Ook wordt de verantwoordelijkheid nog teveel bij andere partijen gelegd. Het is daarom nodig het



Figuur 1. Vereenvoudigde weergave van de schakels in de plantaardige keten.

urgentiegevoel te versterken. Continue aandacht voor fyto-sanitaire risico's via allerlei kanalen is van belang.

2. Beter voorzien in de informatiebehoefte

Om te kunnen handelen hebben ondernemers meer informatie nodig over fyto-sanitaire risico's. Het oude idee om vanuit een centraal punt 'de kennis' te verspreiden past niet meer bij het zoekgedrag van de teler. Informatievoorziening zal meer vanuit een netwerkgedachte tot stand moeten komen. De informatie moet eenvoudig, continu vindbaar en opvraagbaar zijn. Wat zijn de risico's, welke maatregelen zijn mogelijk, welke voorbeelden zijn er? Bij een optredend fyto-sanitair probleem is actieve communicatie nodig. Het is wenselijk dat deze communicatie snel tot stand komt en uitgevoerd wordt volgens een vooraf bepaald en met de ketenpartijen gedeeld protocol. Het kenmerk van protocollen is wel dat ze per definitie verouderd zijn, dus zullen de ketenpartijen daarnaast ook bij elkaar moeten komen om te monitoren wat effectief is op het moment zelf.

3. Taal van de ondernemer gebruiken

De huidige communicatie sluit niet goed aan bij de teler en behoeft aanpassing op de volgende punten:

- het aanbieden van de informatie in makkelijk toegankelijke telers- en tuinderstaal, die sterker duidelijk maakt wat het risico inhoudt. Dit betekent voor de brenger van de informatie dat het risico concreter vertaald moet worden naar de gevolgen voor de praktijk en met name welke financiële risico's er aan zitten;
- risico's beter uitleggen aan de ondernemers. Het kennisniveau is nog te laag, dus het advies is om vaker presentaties met filmpjes te geven bij studieclubs om zo de verwoestingen te tonen. Het zichtbaar maken van de effecten is een belangrijke stimulans voor meer bewustzijn.

4. Prikkels voor de ondernemer hanteren

Het is nodig de ondernemers sterker te prikkelen om fyto-sanitaire problemen te melden en actie te ondernemen. Benodigde positieve prikkels zijn het organiseren van garantiefondsen en het direct beschikbaar stellen van deskundige hulp aan de ondernemer. Benodigde negatieve prikkel is de handhaving sterker te richten op de achterblijvers

in de sector. Zie kader 'de bruinrot-case'

5. Meer transparantie

Het is nodig de transparantie rond fyto-sanitaire risico's te bevorderen. Bespreekbaar maken van het probleem is essentieel om een verbetering te realiseren. Lastig is dat iedereen wel alles wil weten, maar niet alles wil zeggen. Dit kan worden gerealiseerd door onderling vertrouwen op te bouwen in een setting met 'besloten openheid'.

6. Bevorder eenduidigheid en communicatie tussen de ketenpartijen

Geef brancheorganisaties, vaktechnische organisaties, keuringsdiensten en nVWA een belangrijke rol als intermediair en kijk of er mogelijkheden zijn om het Productschap Tuinbouw hiervoor naar voren te schuiven als enige partij waar alle ondernemers uit de tuinbouwsector verplicht bij aangesloten zijn. Binnen de afzonderlijke ketens is de communicatie redelijk tot goed geregeld. De aandacht moet vooral uitgaan naar het bevorderen van de horizontale communicatie tussen de koepels van de verschillende ketenpartijen. Vorm bijvoorbeeld een platform of 'kernteam fyto-sanitair' voor een hele productieketen, van waaruit snel de communicatie naar de leden plaats kan vinden. Vorm een gezamenlijke boodschap, zowel over de actualiteit als over wat er mogelijk aan zit te komen.

7. Positionering van Nederland internationaal

Gerichte aandacht is nodig voor de internationale positionering van Nederland op het gebied van fyto-sanitaire risico's. Enerzijds moeten we ons internationaal blijven neerzetten als fyto-sanitaire autoriteit, aan de andere kant willen we als handelsnatie niet onnodig internationale aandacht vestigen op onze risico's. Focus daarom in de communicatie op positieve stappen die overheid en bedrijfsleven nu zetten, zoals het ontwikkelen van garantiefondsen en verbeterde communicatie in de keten.

Focus op sectoren en bedrijven

Fyto-sanitaire risico's zijn divers en complex. Het gaat over veel sectoren, tal van gewassen en verschillende schakels in de keten. Wij adviseren de communicatie-inspanningen

De bruinrot-case:

In de pootaardappelen vond in 1995 een grote uitbraak van bruinrot plaats. De sector en onderzoekers beseften al snel dat hier een groot risico voor het voortbestaan van de sector ontstond. Na stevig onderzoek naar de oorzaak en risico's heeft de pootgoedsector een aantal structurele maatregelen genomen. Hieruit is o.a. ontstaan: stevige aanpak van onzorgvuldige telers, verzekering tegen schade via Potatopol, regelmatig ketenoverleg, en korte informatielijnen met de nVWA. De tijd is rijp om ook voor andere sectoren een dergelijk pakket samen te stellen. Een Groningse pootgoedteler stelt: "We hebben geleerd dat zorgvuldig werken en een open houding naar elkaar nodig zijn om problemen als bruinrot te beheersen".

| Doelgroep | Ambitie van de teler om aan preventie te doen | Inzet van controle |
|---|--|--|
| Telers met toekomst Meer dan 5 jaar vooruit kijken | 100% | licht; steekproefsgewijs intensief |
| Zwevende telers Horizon tot 5 jaar | 50% | middelmatig; steekproefsgewijs intensief |
| Afbouwende telers 'Informatieluiken' zijn gesloten | 10% | zwaar |

Tabel 1. Voorbeeld voor hoe de wisselwerking tussen preventief gedrag van telers en de mate van controle voor de verschillende doelgroepen kan uitwerken.

vooral te richten op die teelten en doelgroepen waar de effecten van beter fyto-sanitair beleid het grootst zullen zijn, en dus te richten op de telers en de handel. Daarbinnen zal de focus moeten liggen op de teelten met de grootste risico's. In de kasroze teelt spelen bijvoorbeeld geen Q-organismen. Grondgebonden teelten, zoals aardappel- en bollenteelt lopen meer risico dan substraatgebonden teelten. Meer aandacht is gewenst bij hoogwaardig uitgangsmateriaal, zoals bij de boomkwekerij en ook bij veel sierteeltproducten waar bijvoorbeeld bewortelde stek naar Nederland komt. Ook de eisen van derde landen spelen een rol, zoals bij export van bloembollen, snijbloemen en groenten.

Preventief handelen is als beleid op de lange termijn vele malen effectiever en efficiënter dan controle en regelgeving. Preventie moet daarom in ieder bedrijf onderdeel vormen van de reguliere bedrijfsvoering. Het zijn de grote bedrijven (grote financiële risico's, professionele werkwijze) en zij die eerder een calamiteit hebben meegemaakt, die preventie al hoog in het vaandel hebben. Ondernemers op bedrijven met een korte toekomstverwachting gaan minder vaak op zoek naar informatie en zijn over het algemeen minder geneigd nog te investeren in een professionaliseringsslag op het gebied van bedrijfshygiëne. Het is beter om minder communicatie-energie te steken in de afbouwende bedrijven. Wij bevelen dan ook aan om deze groep niet in erkenningssystemen op te nemen en strenger te controleren (Tabel 1).

Stimuleren van preventief gedrag

Het is cruciaal telers en handel te stimuleren actief te zijn rond preventie en signalering. Belangrijk zijn daarbij:

- stimuleren van risicoperceptie
- stimuleren van fyto-sanitaire eisen in certificering
- stimuleren van melding doen

Stimuleren van risicoperceptie

Ondernemers die zich nog niet voldoende bewust zijn van hun eigen rol in het voorkomen van ziekten en plagen kunnen op verschillende manieren geholpen worden. Bekend uit de reclamewereld is de slogan: 'herhaling is de kracht van de boodschap' en die geldt ook hier. Fyto-sanitaire risico's dienen meer dan nu het geval is op de agenda te worden gezet, door ze onderwerp te laten zijn op studiebijeenkomsten, via artikelen in vakbladen, email nieuwsbrief, websites die telers regelmatig bezoeken. De inzet van nieuwe digitale media kan zeker overwogen worden, maar door het gebrek aan regie kan hier de betrouwbaarheid van informatie onder druk komen te staan. Daarnaast is het voor het bewustzijn belangrijk om aan te sluiten bij de dagelijkse praktijk. Het aanbieden van een fyto-bedrijfsscan (zie kader) kan een goed hulpmiddel zijn.

Stimuleren van fyto-sanitaire eisen in certificering

Een aanjager voor het verankeren van fyto-sanitair beleid in de bedrijfsvoering is het thema op te nemen in een certificering, die voor de betreffende sector/ keten voldoende relevantie en betekenis heeft. Het ministerie van EL&I kan deze certificering stimuleren door het te verbinden aan fondsen of faciliteiten voor een garantieregeling en zo rommelaars buitensluiten.

Stimuleren van melding doen

De grootste drempel voor ondernemers is vervolgens het melden. De gevolgen zijn namelijk zo groot, zowel financieel als qua status van het bedrijf (*blaming*), dat de ondernemer geneigd is een risico inschatting te maken in plaats van direct te melden. Uit de analyse blijkt dat een aantal factoren het melden kunnen bevorderen:

- het instellen van een garantiefonds of verzekering waardoor de financiële schade van ruiming voor de individuele ondernemer beperkt blijft. In de pootgoedteelt zijn daar goede ervaringen mee.
- directe deskundige hulp bij melding. De overheid zou na een melding de ondernemer kunnen faciliteren met een deskundige die hem adviseert bij de praktisch te nemen stappen.
- belonen van goed gedrag. Melden en ellende liggen dichtbij elkaar. Het zou bevorderlijk zijn als de ondernemer niet de zwarte piet toegespeeld krijgt na een melding, maar

complimenten krijgt voor goed gedrag. Dit kan door op gepaste wijze te communiceren over deze rolmodellen.

Aanbevelingen

Wij adviseren invulling te geven aan een communicatiestrategie langs de volgende lijnen:

1. Focus richten op de meest risicovolle ketenonderdelen en teelten en daarbinnen weer op die onderdelen waar met geringe inspanning effect te bereiken is;
2. Heldere informatie verspreiden via knooppunten binnen de ketens en voor ondernemers geschikte zoekmedia;
3. Het op de agenda zetten van fyto-sanitair beleid bij –individuele- ondernemers, urgentie verhogen;
4. Maatregelen nemen om meldgedrag en certificering te stimuleren.

Fyto-ondernemers-check en -bedrijfsscan

De eerste stappen richting bewustwording zijn inmiddels gezet. Zo is de digitale Fyto-ondernemerscheck ontwikkeld (zie volgende artikel). Daarmee kan de ondernemer simpel zelf testen waar extra aandacht nodig is en krijgt de teler informatie via filmpjes met collega-telers en via links. Voor de groep die minder eigen initiatief ten toon spreidt adviseren we de Fyto-bedrijfsscan te ontwikkelen. Zo'n scan is bedoeld om bedrijfsspecifiek te adviseren. Teeltadviseurs, periodiek vrijgestelde AID-controleurs of speciaal opgeleide kennisambassadeurs kunnen naar ons idee met de teler de scan uitvoeren. Hieruit volgt een advies waar de teler mee verder kan. Zo wordt de teler een spiegel voorgehouden voor specifieke fyto-sanitaire risico's. Het doel is de ondernemer bewust te maken van de zwakke plekken in de bedrijfshygiëne op zijn bedrijf en actie te laten nemen voor verbetering.

Uitsmijter: het laatste taboe!

Fyto-sanitaire problemen behoren wellicht tot de laatste taboe-onderwerpen onder de plantaardige ondernemers. De geringe transparantie is een terugkerend onderwerp in de gesprekken en wordt als een cruciale belemmering gezien om verder te komen. Als telers onderling en partijen in de keten elkaar feedback kunnen geven, met garantie van vertrouwelijkheid en beslotenheid en vanuit een gezamenlijk belang, dan is dat een bijzonder krachtig mechanisme om gewenst gedrag te bevorderen.

Iedere individuele ondernemer speelt een cruciale rol bij het voorkomen van fyto-sanitaire problemen. Met alerte en zorgzame ondernemers, transparantie en heldere afspraken binnen de keten en uitstekende samenwerking met hulp van de overheid kan de sector haar sterke handelspositie behouden.

Literatuur

Maatschap voor Communicatie, CLM Onderzoek en Advies, Ruud Scheffer BV (2010) Kansen voor fyto-sanitair beleid – Communicatiestrategie fyto-sanitaire risico's. Rapport, mei 2010.

Zowel de overheid als het bedrijfsleven heeft hierin een taak. Wij stellen een actieve benadering voor waarin overheid en vertegenwoordigend bedrijfsleven nauw samenwerken om de komende jaren de schijnwerpers op het onderwerp te zetten.



Schoon Water-telers bespreken de aardappelteelt met DLV Plant en CLM (foto: Jenneke van Vliet, CLM).

Communicatie naar onderwijs en ondernemers: Fytoquest en Fytocheck

Laat zien hoe interessant de fyto-sanitaire wereld kan zijn!

Aleid van der Kolk

AgriHolland; e-mail:
a.vander.kolk@agriholland.nl



In 2010 heeft het ministerie van LNV, het huidige ministerie van Economische zaken, Landbouw & Innovatie (EL&I) communicatieactiviteiten ondernomen in het kader van het FES-programma 'Versterking infrastructuur plantgezondheid'. Twee activiteiten zijn uitgewerkt door AgriHolland: de Fytoquest en de Fytocheck. Beide vormen van *e-learning* maken gebruik van de actualiteit, bevatten veel videobeelden uit de praktijk en zijn interactief.

De **Fytoquest** bestaat uit een serie van zes interactieve lesmodules voor het groene onderwijs die leerlingen op een aantrekkelijke manier betrekken bij de praktijk.

De **Fytocheck** is een programma waarmee agrarische ondernemers op internet een zelftest kunnen doen over welke fyto-sanitaire risico's ze in hun eigen bedrijfssituatie lopen. Ze krijgen vervolgens voor hun situatie relevante filmpjes te zien met tips van collega-ondernemers.

Communicatie naar het onderwijs

Het FES-programma 'Versterking infrastructuur plantgezondheid' heeft tot doel om detectie- en identificatiemethoden op het gebied van plantgezondheid te ontwikkelen en verbeteren en de huidige referentiecollecties van schadelijke ziekteverwekkers en plaagorganismen te versterken. Doorwerking van ontwikkelde kennis naar het onderwijs is belangrijk voor versterking van de infrastructuur van plantgezondheid. Het bieden van relevante informatie aan het onderwijs, in een aantrekkelijke vorm, maakt het thema plantgezondheid meer populair voor leerlingen en leerkrachten en kan op termijn relevant zijn voor expertisebehoud en specifieke plantgezondheidskennis in Nederland. Daarom heeft het ministerie van EL&I aan AgriHolland gevraagd een aantrekkelijke, praktijkgerichte en uitdagende internetmodule te ontwikkelen, gericht op leraren en leerlingen van mbo-opleidingen en middelbare scholen.

Om de doelgroep niet alleen te informeren over het fyto-sanitaire werkveld, maar ook te enthousiasmeren, werd besloten tot een interactieve quiz met een '*gaming*' element, die geheel zelfstandig via internet kan worden

uitgevoerd. AgriHolland werd hiervoor gevraagd omdat zij al enkele jaren ervaring heeft met het maken van online lesmateriaal voor deze doelgroepen in de vorm van *webquests* en *e-learning*.

Fytoquest

AgriHolland ontwikkelde de 'Fytoquest': een uitgebreide interactieve quiz die leerlingen zelf bezig laat zijn met fyto-sanitaire belangen en fyto-sanitaire maatregelen. Stap voor stap bouwen ze inzicht op in het belang van quarantaine-organismen voor de export en het fyto-sanitaire werkveld. Ze maken kennis met praktijkproblemen, zoeken informatie en beoordelen meningen. In de uitvoering van de fytoquests is zoveel mogelijk aangesloten bij de praktijk van het fyto-sanitaire werkveld. In interviews vertellen beleidsmedewerkers, keuringsinstanties, onderzoekers, belangenorganisaties, handelaren en telers hun kant van de zaak. Door filmpjes met interviews te integreren in de vragen wordt getoond welke ketenpartijen van belang zijn. Ook wordt duidelijk dat er verschillende visies zijn en dat samenwerking in de keten essentieel is. In

1 - Wat zijn fyto-sanitaire maatregelen?

Geef een omschrijving wat fyto-sanitaire maatregelen zijn en waarom ze zijn ingesteld. De volgende personen kunnen je helpen met het antwoord op deze vraag.

Let op, het kan zijn dat je meerdere filmpjes moet bekijken om een volledig antwoord te kunnen geven!



Beleidsmedewerker EL&I Medewerker PD Onderzoeker WJR

Beleidsadviseur LTO Boomteler

filmpjes en interviews met onderzoekers is te zien hoe moderne technieken ingezet kunnen worden bij actuele problemen rond plantgezondheid.

De fytoquest is gericht op het groene MBO (niveau 3-4), en voor leerlingen van Havo/VWO (4-5) die interesse hebben in een groene vervolgopleiding. Maar ook voor personen buiten het onderwijs is het leuk om hiermee hun kennis te toetsen. De quiz is voor iedereen toegankelijk op de website www.fytoquest.nl.

Zes verschillende fytoquests

Er zijn zes verschillende fytoquests ontwikkeld. In de eerste algemene fytoquest leert de leerling welke fyto-sanitaire maatregelen belangrijk

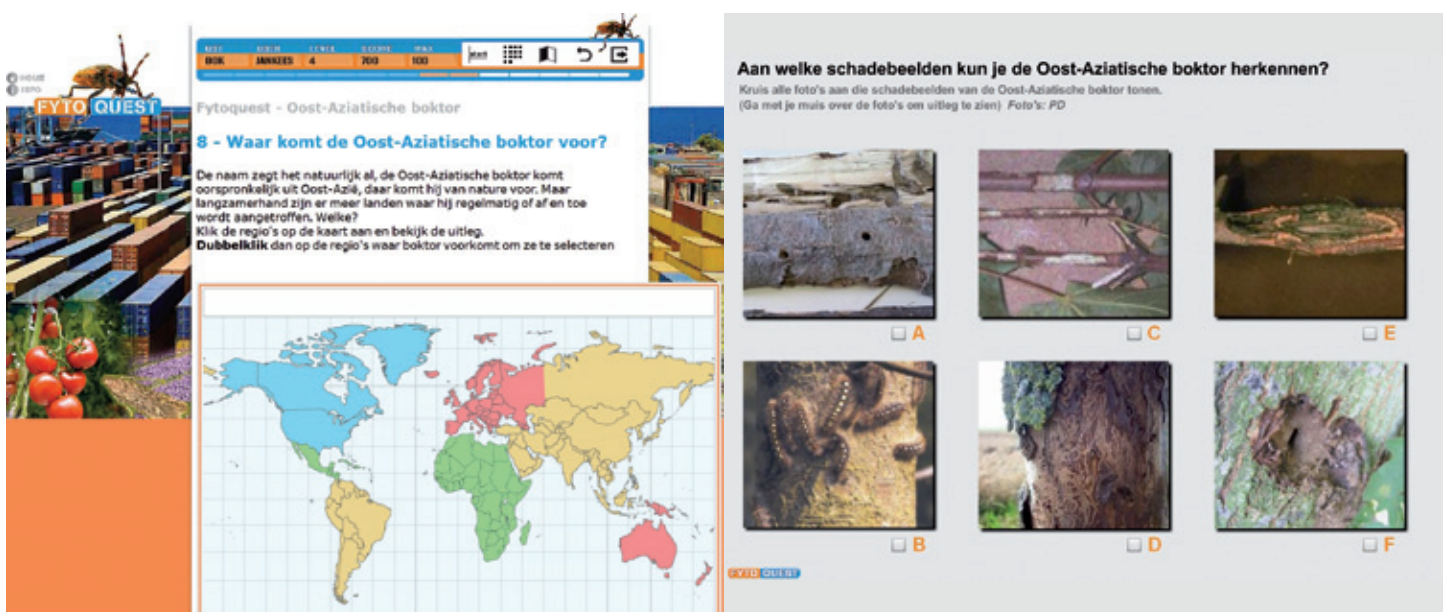
zijn en waarom. Hij/zij leert fyto-sanitaire begrippen kennen zoals Q-organismen en de Europese fytorichtlijn, en krijgt inzicht in de rol van organisaties bij beleid, controle en onderzoek. Naast de algemene fytoquest is er per sector een fytoquest die dieper ingaat op één probleemorganisme:

1. Akkerbouw en aardappelmoeheid, aaltjes;
2. Glastuinbouw en mineermot *Tuta absoluta*;
3. Boomkwekerij en de Oost-Aziatische boktor
4. De bollenteelt en het Arabis mozaïekvirus;
5. De groensector en invasieve waterplanten, met name grote waternavel.

Met deze voorbeelden wordt het hele complexe fyto-sanitaire werkveld belicht, zoals de import- en exportbelangen en de invloed op de openbare ruimte.

Er is gekozen voor één actueel probleemorganisme per sector om voldoende diepgang te krijgen. De leerling moet zich verdiepen in de problemen voor export of import, hoe de besmetting wordt verspreid, en welke maatregelen zinvol zijn. Niet alle probleemorganismen zijn quarantaine-organismen; in de fytoquest wordt ook uitgelegd waarom het beleid soms kiest voor regulering vanuit de overheid en soms de verantwoordelijkheid voor ingrijpen bij de ondernemer zelf laat.

De fytoquest maakt gebruik van de competitieve instelling van leerlingen. De doorlopende vraagstelling lijkt op een game, de leerling krijgt na elke goede vraag een volgende vraag



FYTO QUEST

Pytoquest - Oost-Aziatische boktor

8 - Waar komt de Oost-Aziatische boktor voor?

De naam zegt het natuurlijk al, de Oost-Aziatische boktor komt oorspronkelijk uit Oost-Azië, daar komt hij van nature voor. Maar langzamerhand zijn er meer landen waar hij regelmatig of af en toe wordt aangetroffen. Welke? Klik de regio's op de kaart aan en bekijk de uitleg. **Dubbelklik** dan op de regio's waar boktor voorkomt om ze te selecteren

Aan welke schadebeelden kun je de Oost-Aziatische boktor herkennen?
Kruis alle foto's aan die schadebeelden van de Oost-Aziatische boktor tonen. (Ga met je muis over de foto's om uitleg te zien) Foto's: PD

A B C D E F

voorgelegd. Voor iedere vraag worden punten gescoord en aan het einde van de fytoquest volgt een totaalscore. De beste scores komen op de website te staan. De behaalde resultaten worden bijgehouden in een logboek dat kan worden toegevoegd aan de portfolio.

Om deel te nemen kiest men zelf een gebruikersnaam, zodat de resultaten kunnen worden bewaard. Er is bewust voor gekozen om het invullen anoniem te kunnen doen. De opdrachten mogen gerust tien keer gemaakt worden voor een betere score; des te meer leert men ervan...

Ervaringen met gebruik

Sinds september 2010 zijn de fytoquests beschikbaar voor het onderwijs. Docenten en leerlingen blijken het nieuwe lesmateriaal te waarderen. 'Op goed niveau en aantrekkelijk', aldus docenten. Zij zijn zeker van plan de fytoquest in te zetten als lesmateriaal in gangbare lessen of als zelftoets voor leerlingen.

De fytoquest heeft goede publiciteit gekregen in de vakbladen. De afgelopen maanden waren er maandelijks zo'n 180 unieke bezoekers op de site, waarvan een groot deel uit het mbo-onderwijs afkomstig was.

Communicatie naar de ondernemers

Een ander communicatiemiddel dat momenteel volop in ontwikkeling is en voorjaar 2011 is geïntroduceerd is de Fytocheck. De overheid acht het wenselijk dat agrarische ondernemers meer uitgaan van hun eigen verantwoordelijkheid voor maatregelen die fytosanitaire risico's indammen. Om dit te stimuleren is het essentieel dat ondernemers goed inzicht hebben in de risico's voor hun eigen bedrijfssituatie. Het ministerie liet een onderzoek uitvoeren naar het gedrag van agrarische ondernemers (boeren, tuinders en handelsondernemingen) ten aanzien van fytosanitaire risico's. Dit gaf de noodzaak aan voor de ontwikkeling van een fytosanitaire communicatie strategie (Maatschap voor Communicatie en CLM, 2010: zie ook eerder artikel).

Fytosanitaire risicobeleving bij agrarische ondernemers

Het ministerie van EL&I heeft vervolgens AgriHolland, in samenwerking met CLM, de opdracht gegeven een interactief programma op internet te ontwikkelen om de risicoperceptie van ondernemers (boeren, tuinders en handelaren) meer in overeenstemming te brengen met de werkelijkheid. Het opvallende aan dit programma is dat er een directe relatie gelegd wordt met de specifieke bedrijfssituatie

FYTO ONDERNEMERS CHECK

fytosanitaire risico-check voor agrarische ondernemers

HOME UITLEG COLOFON

Inleiding fyto-ondernemerscheck

Als agrarisch ondernemer neemt u dagelijks maatregelen om ziekten op uw bedrijf te vermijden of te bestrijden. Doet u eigenlijk wel voldoende of loopt u misschien grote risico's? Dat checkt u met deze zelftoets. Beantwoord enkele vragen en u kunt zelf het risico voor uw bedrijfssituatie bepalen. Vervolgens krijgt u in filmpjes en tips te zien hoe uw collega-ondernemers omgaan met die risico's.

De check is volledig anoniem. Gegevens die u invult worden niet vastgelegd of gerapporteerd aan derden.

Kies uw teelt:

Akkerbouw

- ✔ pootgoedteelt
- Bollenteelt
- ✔ bollenteelt
- Glastuinbouw
- ✔ paprikateelt
- ✔ tomatenteelt

Boomkwekerij

- ✔ vruchtboomteelt
- ✔ rozenteelt
- ✔ sierheesterteelt
- ✔ laanboomteelt

Ruud Helderman
Paarikateelt, Middelpeper Agriport A7

van de ondernemer, in de vorm van een zelftoets en concrete oplossingen van collega-ondernemers voor de gesignaleerde problemen. Dit moet het gevoel van urgentie voor preventie bij ondernemers doen toenemen. De verwachting is dat het programma zal bijdragen aan een meer verantwoord ondernemersgedrag ten aanzien van fyto-sanitaire risico's.

Fytocheck: zelftoets voor agrarische ondernemers

AgriHolland en CLM ontwikkelen de 'Fyto-ondernemerscheck' als een zelftoets waarmee de agrarische ondernemer verkent of hij voldoende maatregelen neemt. De check laat de ondernemer middels een aantal vragen ervaren welke risico's hij loopt. Hij krijgt een beoordeling van zijn risico op diverse onderdelen zodat hij zich bewuster wordt van zijn situatie. Afhankelijk van de antwoorden worden relevante videofragmenten getoond met interviews van collega-ondernemers en ziet de ondernemer welke oplossingen zij in vergelijkbare situaties hebben gekozen. Door

kritische vragen wordt de ondernemer aan het denken gezet over zijn eigen situatie. De fytocheck geeft ook relevante links en tips over onderwerpen waarop de ondernemer slecht scoort. Voorlopig wordt de fytocheck ontwikkeld voor een beperkt aantal teelten (pootaardappelen, tomatenteelt, paprikateelt, bollenteelt, boomkwekerij).

De online fyto-ondernemerscheck wordt volledig anoniem ingevuld en is vooral bedoeld als *eye-opener*. De ondernemer krijgt in zeer korte tijd inzicht in welke handelingen fyto-sanitaire risico's opleveren en wordt aan het denken gezet door collega's. Hij krijgt tips en links die toepasselijk zijn voor zijn situatie en kan deze later op internet nog eens rustig nalezen. Sinds maart 2011 is de fytocheck openbaar beschikbaar via www.fyto-ondernemerscheck.nl.

Literatuur

Maatschap voor Communicatie, CLM Onderzoek en Advies, Ruud Scheffer BV (2010) Kansen voor fyto-sanitair beleid – Communicatiestrategie fyto-sanitaire risico's. Rapport, mei 2010.

AgriHolland

AgriHolland is vooral bekend als vacaturebank en dagelijkse nieuwsbron op internet, maar is de laatste jaren ook zeer actief in de ontwikkeling van cursusmateriaal. Naast e-learning voor bedrijven werden 42 webquests ontwikkeld voor de boomkwekerij, glastuinbouw en bollenteelt. Voor leerling-hoveniers en cultuurtechnici werd een cursus ondernemerschap en marketing opgezet die inmiddels twee jaar met succes draait. De kracht van AgriHolland is de combinatie van actuele kennis in landbouw, tuinbouw, voeding en groen met de mogelijkheden van internet en multimedia. Opdrachtgevers zijn onder andere het ministerie van EL&I, het Ontwikkelcentrum, diverse KIGO-projecten van de GKC, de Nederlandse Bond van Boomkwekers en de Bloembollenacademie. Meer informatie: www.agriholland.nl/onderwijs

Gewasbescherming nieuwe stijl?

Aad Vijverberg

A.J.Vijverberg@kabelfoon.nl

Onder bovenstaande titel (zonder het vraagteken) publiceerde Theo Grent een boek van ruim 350 pagina's,¹ waarvan er ruim honderd worden ingenomen door de bijlagen waaronder actieve stoffen, merknamen en leveranciers van producten. Het boek berust op een aantal premissen, een aantal vooronderstellingen, welke ik onjuist en irreëel vind. Ik noem er drie.

Er wordt (blz. 7) een onderscheid gemaakt tussen chemische en biologische bestrijdingsmiddelen. De ontstaansgeschiedenis van het middel bepaalt bij het gebruik van dit onderscheid in welke groep het middel terecht komt en – wat erger is – hoe je ermee handelt. De eigenschappen van de stof, af te lezen uit de (structuur)formule, doen er dan minder toe. Het is een onderscheid dat door meerderen wel gemaakt wordt maar daarom is het nog niet zinvol. Aan een effectievere of veiligere gewasbescherming of aan een betere natuurwetenschappelijke fundering van de landbouw draagt dit onderscheid niet bij. Misschien draagt het wel bij aan een veiliger gevoel bij de consument. Met echte veiligheid heeft het echter weinig te maken. Het idee dat 'natuurlijke' middelen beter zijn dan chemische berust op het valse gevoel dat het 'natuurlijke' beter is dan het 'culturele' (door mensen gemaakte). Over het onderscheid 'natuurlijk' en 'chemisch' heb ik eerder gepubliceerd.² Ik trok toen de conclusie, dat 'water' natuurlijk is en 'H₂O' chemisch; 'koolzuurgas' natuurlijk en 'CO₂' chemisch is. Het onderscheid berust erop hoe mensen iets beleven. Professor Luyten illustreerde dat verschijnsel vroeger op college met water als voorbeeld. Hij sprak over 'viswater', 'zwemwater', H₂O (chemisch water) en drinkwater voor het vee.³

Van het geloof, dat 'natuurlijk' beter is dan 'chemisch' is het gehele boek, dat ik hier bespreek, doortrokken. Zo wordt er een pleidooi gevoerd (blz. 160) voor een 'overkoepelend instituut dat de fenomenologie (een stroming in de filosofie waarbij intuïtieve ideeën en de belevingswereld een belangrijke rol spelen, zie boven) rondom biologische middelen verzamelt.' Op dezelfde bladzijde wordt gepleit voor een aparte regeling voor 'natuurlijke' middelen met een laag risico profiel. De verwarring wordt nog groter als de auteur de categorie 'laag chemische' bestrijdingsmiddelen introduceert. Met een op de natuurwetenschap gebaseerde gewasbescherming noch op een logische indeling heeft dit alles weinig te maken. 'Dit boek laat zien hoe geïntegreerde bestrijding kan worden gerealiseerd en geeft talloze potenti-



ele mogelijkheden voor toepassing in de praktijk, die nog niet allemaal zijn uitgetoetst' (blz.8). Ik kan een dergelijke zin moeilijk anders interpreteren als dat de schrijver zijn fantasie heeft laten gaan. Ideeën, dromen zijn noodzakelijk voor de vooruitgang, ook voor de vooruitgang op natuurwetenschappelijk gebied (en daar hoort gewasbescherming bij). Dromen moeten echter wel getoetst worden aan de natuurwetenschappelijke werkelijkheid voor zij als potentiële oplossingen gepresenteerd worden. Hoewel in het boek de term 'geïntegreerde bestrijding' vaak gebruikt wordt ontbreekt een definitie ervan, althans ik heb deze niet gevonden. Uit het boek rijst het beeld op dat geïntegreerde bestrijding, geïntegreerde teelt iets nieuws is. Ik vind die gedachte onjuist. Ik heb geïntegreerde teelt wel eens gedefinieerd als: een door de wet getolereerde productiewijze waarbij de inzet van kennis gemaximaliseerd is.⁴ Geïntegreerde teelt is in mijn visie geen toestand maar een ontwikkelingsproces, waar elke agrariër mee bezig is. Het is in mijn ogen absoluut niets nieuws. Het grootste bezwaar tegen dit boek heb ik tegen de zin: 'De oplossingen voor problemen met aantastingen bij planten zijn gebaseerd op ervaring en gezond verstand.' (blz. 8). Mijn bezwaar tegen deze zin is dat het een essentieel deel van de

¹ Grent, T., 2010. *Gewasbescherming nieuwe stijl. Eigen uitgave.*

² Vijverberg, A.J., 2001. *Natuurlijk of chemisch? Gewasbescherming 32: 108-109*

³ Luyten, W., 1963. *Existentiële fenomenologie.* Aula, Utrecht.

ontwikkeling van de laatste honderd jaar buiten beschouwing laat, nl. het onderzoek. Oplossingen, gebaseerd op ervaring en gezond verstand blijken nogal eens valse oplossingen te zijn. In mijn loopbaan bij de voorlichtingsdienst heb ik de betekenis van ervaring en gezond verstand bij tuinders en boeren goed leren kennen. De bijdrage van ervaring is niet te onderschatten. Jan Douwe van der Ploeg heeft die betekenis duidelijk onder woorden gebracht. Hij spreekt van een 'halvering van de landbouwwetenschap' als de landbouwwetenschap de ervaring van boeren miskent.⁵ Toch heb ik de opvattingen van tuinders en boeren altijd kritisch tegen het 'wetenschappelijke licht' gehouden. In mijn proefschrift uit 1996 heb een aantal problemen uit de glastuinbouw geanalyseerd en gekeken in hoeverre de oplossingen uit de praktijk of het onderzoek afkomstig waren.⁶ Het beeld dat uit die analyse naar voren komt is dat wetenschappelijk onderzoek echt nodig is om praktijkideeën tot ontwikkeling te brengen en/of af te schieten. Het boek van Grent gaat een beetje in de richting van een halvering van de landbouwwetenschap waarbij de wetenschappelijke helft weggemoffeld wordt, althans onderschat wordt. De onderschatting van de rol van het onderzoek is een 'pas faux' in dit boek. Misschien is het, in filosofische termen gezegd, beter om te spreken van een verkeerde grondhouding in dit boek.

Definities die in het boek gebruikt worden zijn niet altijd duidelijk. Zo wordt biologische bestrijding (blz. 20) gedefinieerd als volgt: Biologische bestrijding houdt in de acties van macro- en micro-organismen in het handhaven van de concentratie van andere organismen op een gemiddeld lager niveau dan zou plaatsvinden in hun afwezigheid. Het is een definitie, waarin menselijke activiteit niet voorkomt en is dus minstens weinig operationeel.

De opvatting van de schrijver over geïntegreerde gewasbescherming wijken weinig af van de gangbare zoals beschreven in 'Zicht op gezonde teelt'. Toch krijgt LNV (zoals het ministerie van Landbouw vroeger aangeduid werd) er stevig van langs. Het ministerie leidt aan chemiefobie (blz. 161). Misschien is voor dit argument, gelet op bijgaande tekst, iets te zeggen. Op dezelfde bladzijde schrijft de auteur: 'De geïntegreerde bestrijding wordt de laatste jaren zeer gehandicapt door het verdwijnen van middelen met een bijsturing- en vangnetfunctie en daarom hebben de doelgroepen hun vertrouwen in de overheid verloren.' Het is onduidelijk over welke doelgroepen het gaat en wat bijsturing- en vangnetfuncties zijn. 'Het zwabberende overheidsbeleid', aldus de auteur, 'leidt tot sanering van een bloeiende

Geïntegreerde gewasbescherming maakt door het gebruik van de best toepasbare technieken en maatregelen het behalen van de noodzakelijke extra milieuwinst ten opzichte van het bestaande toelatings- en emissie-reductiebeleid mogelijk. Ook wordt bij geïntegreerde gewasbescherming op bedrijfsniveau expliciet aandacht besteed aan arbeidsbescherming en voedselveiligheid.

Uit 'Zicht op gezonde teelt', Min. LNV, 2001

agrarische sector'. Het is moeilijk om uit deze zinnen een voorstelling te halen wat de auteur voor ogen staat. Waarin het overheidsbeleid zwabbert en welke bloeiende agrarische sector door dat zwabberend beleid gesaneerd wordt blijft onduidelijk.

Onze eigen KNPV gaat in het boek over de knie zoals blijkt uit het volgende citaat (blz. 158): 'Tijdens een vergadering van het KNPV in 2004 mochten er daarom geen veralgemeniserende opmerkingen gemaakt worden dat natuurlijke middelen veiliger zijn. Vreemd genoeg mag er vervolgens wel gezegd worden dat natuurlijke middelen erg gevaarlijk kunnen zijn.' Uit de context begrijp ik dat de schrijver doelt op het symposium dat de KNPV samen met Artemis in 2003 georganiseerd heeft.⁷ Ik ben zelf nauw betrokken geweest bij de opzet van dit symposium en heb de meeste sprekers aangezocht. Er is geen enkele spreker een beperking (anders dan de lengte van de spreektijd) opgelegd. Ik denk dat hier de fantasie van de auteur op hol geslagen is.

In het boek dat verscheen bij het eeuwfeest van de Plantenziektenkundige Dienst schreven Koeleman en Zadoks: *Biological control tends to acquire an aura of holiness so that it is politically incorrect to question the value of biological control in disguise.*⁸ De auteurs, sprekend over *Bacillus thuringiensis* als voorbeeld van een biologisch bestrijdingsmiddel, betogen hiermee dat ook naar biologische bestrijding kritisch gekeken moet worden. De 'holiness' van de ideeën van Theo Grent en de door hem gepropageerde middelen worden in dit boek wel erg zwaar onderstreept. En Smith (EPP0) schreef in ditzelfde boek:⁹ *So to officialise organic farming is to take society onto shaky ground.* Een stelling die duidelijk maakt dat de biologische landbouw géén betekenis heeft als het gaat over vraagstukken rond de voedselvoorziening. Het boek van Theo Grent gaat uit van onjuiste premissen en propageert daardoor een ongewenste ontwikkelingsrichting voor de gewasbescherming en voor de land- en tuinbouw.

⁴ Vijverberg, A.J., 2002. Geïntegreerde teelt. Voordracht bij gelegenheid van de presentatie van Certis. *Gewasbescherming* 33: 52-55.

⁵ Ploeg, J.D. van der, 1987. De verwetenschappelijking van de landbouwbeoefening. *Mededelingen van de vakgroepen voor sociologie Wageningen*, 21. Hoofdstuk V.

⁶ Vijverberg, A.J., 1996. *Glastuinbouw in ontwikkeling. Beschouwingen over de sector en de beïnvloeding ervan door de wetenschap.* Eburon, Delft.

⁷ Themanummer Toekomst Biologische Bestrijding. *Gewasbescherming* 35 (2004):1-72.

⁸ Meester, G., e.a., 1999. *Plants and politics.* Wageningen Pers, Wageningen: 38.

⁹ Meester G., e.a., 1999. *Plants and politics.* Wageningen Pers, Wageningen: 50.

Boeken

Ahmad, W.; Jairajpuri, M.S.
Mononchida: the predaceous nematodes
 Leiden [etc.]: Brill, 2010
 ISBN 9789004174641

Alvarez, Héctor M
Biology of Rhodococcus
 Berlin, Heidelberg:
 Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010
 Microbiology Monographs (ISSN 1862-5576; 16)
 ISBN 9783642129360;
 9783642129377

Arora, R.
Medicinal plant biotechnology
 Wallingford [etc.]: CABI, 2010
 ISBN 9781845936785

Asgari, S.; Johnson, K.N.
Insect virology
 Norfolk: Caister Academic, 2010
 ISBN 9781904455714

Bailey, A.
Biopesticides: pest management and regulation
 Wallingford [etc.]: CABI, 2011
 ISBN 9781845935597

Barton, A.W.
Host-pathogen interactions: genetics, immunology, and physiology
 New York, N.Y.: Nova Biomedical Press, cop. 2010
 Immunology & immune system disorders series
 ISBN 9781608762866

Bockus, W.W.
Compendium of wheat diseases and pests: 3rd ed.
 St. Paul, MN: American Phytopathological Society, 2010
 ISBN 9780890543856

Chakrabarti, D.K.
Mango Malformation
 Dordrecht: Springer Science+Business Media B.V., 2011
 ISBN 9789400703629;
 9789400703636

Consoli, F.L.; Parra, J.R.P.
Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma*
 Dordrecht: Springer Science+Business Media B.V., 2010
 Progress in biological control (ISSN 1573-5915; 9)
 ISBN 9781402091094;
 9781402091100

Dixon, G.R.; Tilston, E.L.
Soil Microbiology and Sustainable Crop Production
 Dordrecht: Springer Science+Business Media B.V., 2010
 ISBN 9789048194780;
 9789048194797

Dubey, N.K.
Natural products in plant pest management
 Wallingford, Oxfordshire: CABI, 2011
 ISBN 9781845936716

Gardner, H. W.
Tallgrass Prairie Restoration in the Midwestern and Eastern United States: A Hands-On Guide
 New York, NY: Springer Science+Business Media, LLC, 2011
 ISBN 9781441974266;
 9781441974273

Geary, T.G.; Maule, A.G.
Neuropeptide Systems as Targets for Parasite and Pest Control
 Boston, MA: Landes Bioscience and Springer Science+Business Media, LLC, 2010
 Advances in Experimental Medicine and Biology (ISSN 0065-2598; 692)
 ISBN 9781441969019;
 9781441969026

Hofrichter, M.
Industrial Applications: 2nd ed.
 Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010
 The Mycota, A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied

Research (10)
 ISBN 9783642114571;
 9783642114588
 Howse, P.
Butterflies: decoding their signs & symbols
 Buffalo, NY [etc.]: Firefly Books, 2010
 ISBN 1554077737; 9781554077731

Johnson, J.E.
Cell Entry by Non-Enveloped Viruses
 Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010
 Current Topics in Microbiology and Immunology (ISSN 0070-217X; 2100)
 ISBN 9783642133312;
 9783642133329

Kado, C.I.
Plant bacteriology
 St. Paul: American Phytopathological Society, 2010
 ISBN 0890543887; 9780890543887

Krause, D.O.; Hendrick, S.
Zoonotic pathogens in the food chain
 Wallingford [etc.]: CABI, 2011
 ISBN 9781845936815
 Lans, C. van der; Verschoor, J.
Methylbromide begassing van snijbloemen
 Wageningen: Wageningen UR Food & Biobased Research, 2010
 Wageningen UR Food & Biobased Research (1164)
 ISBN 9789085857525

Lefèvre, P.-C.
Infectious and parasitic diseases of livestock / Vol. 1 & Vol. 2: General considerations, viral diseases
 Paris [etc.]: Lavoisier, 2010

Maheshwari, D.K.
Plant Growth and Health Promoting Bacteria
 Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2011
 Microbiology Monographs (ISSN 1862-5576; 18)
 ISBN 9783642136115;
 9783642136122

Malago, J.J.; Koninkx, J.F.J.G.; Marinsek-Logar, R
Probiotic Bacteria and Enteric Infections: Cytoprotection by Probiotic Bacteria
 Dordrecht: Springer Science+Business Media B.V., 2011
 ISBN 9789400703858;
 9789400703865

Mukhopadhyay, S.
Plant virus, vector: epidemiology and management
 Enfield, N.H.: Science, 2011
 ISBN 9781578086740

Nash, T.H.
Biology of lichens: symbiosis, ecology, environmental monitoring, systematics and cyber applications
 Stuttgart: Cramer, 2010
 Bibliotheca lichenologica (ISSN 1436-1698; 105)
 ISBN 9783443580841

Narayanasamy, P
Microbial Plant Pathogens- Detection and Disease Diagnosis: Fungal Pathogens
 Dordrecht: Springer Science+Business Media B.V., 2011
Vol. 1: ISBN 9789048197347;
 9789048197354
Vol. 2: ISBN 9789048197682;
 9789048197699
Vol. 3: ISBN 9789048197538;
 9789048197545

Pogge, T.; Rimmer, M.
Incentives for global public health: patent law and access to essential medicines
 Cambridge [etc.]: Cambridge University Press, 2010
 Connecting international law with public law
 ISBN 9780521116565

Rappuoli, R.; Del Giudice, G.
Influenza Vaccines for the Future
 Basel: Springer Basel AG, 2011
 Birkhäuser Advances in Infectious Diseases
 ISBN 9783034602785;
 9783034602792

- Reynolds, M.P.
Climate change and crop production
Wallingford [etc.]: CABI, 2010
CABI climate change series (1)
ISBN 1845936345; 9781845936341
- Robinson, J.C.; Galán Saúco, V.
Bananas and plantains: 2nd ed.
Wallingford [etc.]: CABI, 2011
Crop production science in horticulture series (no. 19)
ISBN 9781845936587
- Rumbaugh, K.P.
Quorum Sensing: Methods and Protocols
Totowa, NJ: Springer
Science+Business Media, LLC, 2011
Methods in Molecular Biology, Methods and Protocols (ISSN 1064-3745; 692)
ISBN 9781607619703; 9781607619710
- Saint-Paul, U.; Schneider, H.
Mangrove Dynamics and Management in North Brazil
Berlin, Heidelberg:
Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010
Ecological Studies, Analysis and Synthesis (ISSN 0070-8356; 211)
ISBN 9783642134562; 9783642134579
- Schneck, E.
Generic and Specific Roles of Saccharides at Cell and Bacteria Surfaces: Revealed by Specular and Off-Specular X-Ray and Neutron Scattering
Berlin, Heidelberg:
Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2011
Springer Theses
ISBN 9783642154492; 9783642154508
- Song, B.; Jin, L.; Yang, S.; Bhadury, P.S.
Environment-Friendly Antiviral Agents for Plants
Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010
ISBN 9783642036910; 9783642036927
- Stephenson, J.R.; Warnes, A.
Diagnostic Virology Protocols: 2nd ed.
Totowa, NJ: Springer
Science+Business Media, LLC, 2011
Methods in Molecular Biology, Methods and Protocols (ISSN 1064-3745; 665)
ISBN 9781607618164; 978160761817
- Subbotin, S.A.; Mundo-Ocampo, M.; Baldwin, J.G.
Systematics of cyst nematodes (Nematoda: Heteroderinae)
Leiden [etc.]: Brill, 2010
Nematology monographs and perspectives (ISSN 1573-5869; vol. 8A; 8B)
ISBN 9789004162259; 9789004164345
- Thany, S.H.
Insect Nicotinic Acetylcholine Receptors
New York, NY: Landes Bioscience and Springer Science+Business Media, LLC, 2010
Advances in Experimental Medicine and Biology (ISSN 0065-2598; 683)
ISBN 9781441964441; 9781441964458
- Ullrich, S.E.
Barley: production, improvement and uses
Oxford: Wiley-Blackwell, 2011
World agriculture series
ISBN 0813801230 / 9780813801230
- Vilcinskas, A.
Insect Biotechnology
Dordrecht: Springer
Science+Business Media B.V., 2011
Biologically-Inspired Systems (2)
ISBN 9789048196401; 9789048196418
- Whitman, W.B.
Bergey's manual of systematic bacteriology / Vol. 4: The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae and Planctomycetes: 2nd ed.
New York [etc.]: Springer, 2011
ISBN 9780387950426; 9780387685724
- Wilson, B.A.
Bacterial pathogenesis: a molecular approach: 3rd ed.
Washington, DC: ASM, cop. 2011
ISBN 9781555814182
- Wilson, E.O.; Gómez Durán, J.M.
Kingdom of ants
Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2010
ISBN 0801897858; 9780801897856
- Yap, Y.-K.; Smith, D.R.
Strategies for the plant-based expression of dengue subunit vaccines
London: Portland Press, 2010
Biotechnology and applied biochemistry (ISSN 0885-4513; vol. 57, pt. 2)
- Yiching, S.; Vernooy, R.
Seeds and synergies: innovation in rural development in China
Ottawa [etc.]: International Development Research Centre [etc.], 2010
ISBN 9781853397059
- Ziska, L.H.; Dukes, J.S.
Weed biology and climate change
Oxford [etc.]: Wiley-Blackwell, 2011
ISBN 9780813814179
- Congresverslag**
- Gamliel, A.; Coosemans, J.; Vanachter, A.
Proceedings of the VIIth international symposium on chemical and non-chemical soil and substrate disinfestation:
Leuven, Belgium September 13-18, 2009
Leuven: ISHS, 2010
Acta horticultrae (ISSN 0567-7572; 883)
ISBN 9789066056237
- DVD**
- Wageningen UR (Wageningen) Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Plant Research International (Wageningen), AOC Raad (Ede) Stuurgroep gewasbescherming
Lespakket 'Attentie: gewasresistentie!'; kennis van Wageningen UR bestemd voor AOC-onderwijs
Wageningen: Wageningen UR, 2010
- Elektronische documenten**
- Belder, E. den; Elings, A.
Trip report March 2010: the introduction of integrated pest management in the Ethiopian horticultural sector
Wageningen: Plant Research International, 2010
- Belder, E. den; Elings, A.
Report on 'workshop on the achievements and future direction of integrated pest management in horticulture under the auspices of the Ethiopia-Netherlands Partnership Programme': report to the Ministry of Agriculture and Rural Development
Wageningen: Plant Research International, 2010
- Brink, L. van den; Bus, C.B.; Franke, A.C.; Groten, J.A.M.; Lotz, L.A.P.; Timmer, R.D.; Wiel, C.C.M. Broek, R. van den; Rovers, J.; Gruppen, R.; Gubbels, W.
Beetle eater beheerst de aspergekever bij de oogst van groene asperges in 2010
Lelystad: Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Sector AGV, 2010
Notes Projectnummers: 3250033919 en 3250105410
- Fontein, R.J.; Kranendonk, R.; Baltissen, T.; Scheer, F.-P.; Boer, R de
Agro business centre (ABC) geeft laanboomteelt een gezicht
[S.l.]: Greenport Betuwse Bloem, [ca. 2010]

Hoek, J.; Molendijk, L.P.G.
Schadeonderzoek *T. Similis* in maïs: projectrapport van het schadeonderzoek bij snijmaïs en korrelmaïs met het aaltje *Trichodorus similis* te Vredepeel in 2008 en 2009
 Lelystad: Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, 2010
 Notes Projectnummer 3250114700

Slootweg, C.
Biologische bestrijding van echte meeldauw in zomerbloemen
 Lisse: Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit, 2010
 Themanummer: BO-12.10-007.01.
 - Projectnummer: 32 341 108 10

Poster

Broek, R. van den; Rovers, J.; Willems, J.; Bax, J.
Beetle eater: beheersing aspergekever
 Wageningen: Wageningen UR, 2011
<http://edepot.wur.nl/162984>

Proefschriften

Ayongwa, G.C.
Understanding the diverse roles of soil organic matter in the cereal - *Striga hermontica* interaction
 Proefschrift Wageningen, 2011
 ISBN 9789085858430

Geiger, F.
Agricultural intensification and farmland birds
 Proefschrift Wageningen, 2011
 ISBN 9789085858447

Rapporten

Belder, E. den; Elings, A.
Trip report August 2010: report on 'workshop on the achievements and future direction of integrated pest management in horticulture under the auspices of the

Ethiopia-Netherlands Partnership Programme'
 Wageningen [etc.]: Plant Research International [etc.], 2010

Blacquièrre, T.
Bijen: fascinerend, essentieel en bedreigd
 Den Haag: Stichting Bio-Wetenschappen en Maatschappij, 2010
 Bio-Wetenschappen en Maatschappij (29e jrg. (2010), nr. 4)
 ISBN 9789073196605

Deneer, J.W.; Beltman, W.H.J.; Adriaanse, P.I.
Transformation reactions in TOXSWA: transformation reactions of plant protection products in surface water
 Wageningen: Alterra, 2010

Janmaat, L.; Hamont, J. van; Lamers, J.
Beheersing van Sclerotinia
 Wageningen: Wageningen UR, Communication Services, 2010
 BioKennis bericht (Akkerbouw en Vollegrondsgroente, ; 32)

Jukema, G.; Ruijs, M.
Economische ontwikkeling en kracht tuinbouwclusters Betuwse Bloem: eindrapport
 Den Haag: LEI, 2010

Messelink, G.J.; Groot, E. de; Holstein-Saj, R. van
Verbeterde spintbestrijding door inductie van plantweerbaarheid in komkommer
 Bleiswijk: Wageningen UR Glastuinbouw, 2010
 Rapport GTB-1045

Os, E.A. van; Hofland-Zijlstra, J.D.; Hamelink, R.; Leeuwen, G. van
Bestrijding van *Botrytis* in gerbera tijdens de teelt en in de na-oogstfase: deelproject 4 van Parapluplan Gerbera: kasklimaat, energie en botrytis bij gerbera; oorzaak, verband en maatregelen
 Wageningen: Wageningen UR, [ca. 2010]
 Rapport GTB-1057_JV

Saathof, W.
Naar een duurzame bollenteelt in Drenthe: rapportage milieusituatie Drentse lelieteelt 2009, in opdracht van de Provincie Drenthe
 Wijster: HLB, 2010
 Rapport / HLB (745)

Studentenverslagen

Achhami, B.B.
Effect of aliphatic glucosinolate concentrations in *Arabidopsis thaliana* on multi-trophic interactions
 2010

Li, Y.
Plant-mediated inter-guild interactions: influence of the phloem feeder *Brevicoryne brassicae* on the host preference of the leaf chewer *Pieris brassicae*, and its parasitoid *Cotesia glomerata*
 2011

Segers, F.
Ecology and evolution of senescence in species of the plant pathogen botrytis
 2010

Deze nieuwsrubriek brengt items over gewasbescherming die de redactie interessant vindt. Belangrijke criteria voor plaatsing van het bericht zijn:

- *het bericht moet relevant zijn voor de gewasbescherming,*
- *het mag geen reclameboodschap bevatten,*
- *het moet afkomstig zijn van een van de erkende agrarische nieuwsbrengende tijdschriften, kranten, nieuwsbrieven, internetsites of autoriteiten,*
- *het moet naspeurbaar zijn naar de oorspronkelijke bron, die waar mogelijk wordt weergegeven.*

Opinies van individuen of belangenorganisaties en visies en andere interpretaties van actuele onderwerpen kunnen als citaat worden opgenomen mits de bron bekend is. Van harte nodigen wij u uit nieuws-items bij de redactie aan te dragen.

Schimmels zijn genetische wildebrassen

Pathogene schimmels doen spontaan waar organisaties als Greenpeace van gruwen: ze wisselen genen of zelfs hele chromosomen uit met andere schimmelsoorten. Dat blijkt uit een artikel in FEMS Microbiology Reviews van de Wageningse genetica Rahim Mehrabi, Pierre de Wit en Gert Kema van de leerstoelgroep Fytopathologie van Wageningen University, onderdeel van Wageningen UR.

Jarenlang leidde de schimmelsoort *Pyrenophora tritici-repentis* een voor tarwe onschuldige bestaan. Maar rond de Tweede Wereldoorlog tastte de schimmel opeens tarwe aan, net als de pathogene schimmelsoort *Stagonospora nodorum*. Toen genetici onlangs de genomsequenties van beide schimmels gingen vergelijken, bleek er een 'eilandje' van *Stagonospora*-DNA in het genoom van *Pyrenophora* te zitten. Ook bleek dat dit pakketje genen in schimmels rond 1940 aanwezig was, maar daarvoor niet. Het is dus erg aannemelijk dat *P. tritici-repentis* een pathogene tarweschimmel werd na DNA-uitwisseling met *S. nodorum*.

Mobiele chromosomen

Iets soortgelijks treedt op bij de schimmel *Fusarium oxysporum*, een hardnekkige ziekteverwekker bij tomaat. De Amsterdamse onderzoeksgroep van Martijn Rep heeft recent in Nature laten zien dat het ziekteverwekkend vermogen van deze schimmel voor tomaat op een bepaald chromosoom ligt. Rep toonde daarna aan dat het chromosoom waarop codes staan om tomaat ziek te maken, kan overspringen naar niet-pathogene *Fusarium*-soorten. "Mobiele chromosomen!", zegt Kema.

Spontane genmutatie

Het mechanisme achter dit soort processen is een black box voor Kema, maar hij heeft wel een suggestie. Kema doet onderzoek aan de schimmel *Mycosphaerella graminicola*, de belangrijkste ziekteverwekker in tarwe in Noordwest-Europa. Samen met Mehrabi ging hij de werking van verschillende genen na door ze uit te zetten. Na het uitzetten van het gen *Gβ* bleek dat de schimmeldraden niet langer keurig naast elkaar groeiden, maar versmolten. "Je kunt je dus voorstellen dat verschillende schimmels in de natuur versmelten na een spontane genmutatie", zegt Kema.

Wildebrassen

Schimmels zijn genetische wildebrassen, blijkt uit nader onderzoek aan *M. graminicola*. Kema legde de DNA-sequenties van verschillende schimmels op elkaar en kwam tot de ontdekking dat dertien van de 21 chromosomen altijd voorkomen, terwijl de andere acht varieerden. "Er vinden rare dingen plaats bij schimmels op chromosoomniveau. Chromosomen verdubbelen of raken zoek. Ik vermoed dat die acht in de loop der tijd zijn overgekomen van andere schimmelsoorten."

Gen- of chromosoomoverdracht kan dus leiden tot nieuwe of veel agressievere schimmels. "Je kunt dit soort processen niet voorkomen", zegt Kema. "Je moet alert blijven en onderzoek doen hoe je zo'n schimmel kunt aanpakken en de verspreiding ervan kunt voorkomen."

Bron: Nieuwsbericht Wageningen UR, 17 februari 2011

Beetle Eater is met wat aanpassingen ook inzetbaar in asperges

De 'Beetle Eater' is ontwikkeld voor het opzuigen van coloradokevers in aardappelen. Maar de machine blijkt ook inzetbaar in asperges. Na regelmatige inzet van deze machine namen de aantallen aspergekevers in het veld aanzienlijk af. Wel vraagt de machine om wat aanpassingen omdat tijdens de behandeling soms stengels worden beschadigd. Dat blijkt uit onderzoek door Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.



De Beetle Eater is feitelijk een enorme stofzuiger. Door de zuigkracht worden aanwezige insecten in het gewas inclusief aspergekevers opgezogen. De stofzuiger is meerdere jaren getest zowel in witte als in groene asperges. Hieruit blijkt dat de machine goed gebruikt kan worden voor het beheersen van de kevers in het gewas. In de jaren 2008 en 2009 zijn reducties gerealiseerd van 50 tot 100%.

In 2010 is de machine getest op een gangbaar groene aspergebedrijf in Noord Brabant. Het voordeel van de zuigmethode is dat er geen wachttijd na behandeling van toepassing is. Bij gebruik van insecticiden is dit wel het geval. Uit de tellingen bleek dat na een of twee rondes de aantallen aspergekevers met 50 tot 74% afnamen. Deze reductie was voldoende om de asperges onder klasse I te kunnen afzetten.

Door afwijkende rijafstanden of uit de rug gegroeide rijen vond soms beschadiging plaats. Dit kan mogelijk worden verholpen door zuigmonden te vergoten. De aspergeteler is enthousiast over het gebruik van de Beetle Eater. Vooral de hoge aanschafkosten vormen nog een drempel om de machine in te gaan zetten. Ten opzichte van een insecticidebehandeling vraagt de machine meer tijd. Een spuitbehandeling kost circa twintig minuten per hectare en een zuigbehandeling zestig minuten.

In dit project werkten projectgroepen van Telen met Toekomst en Innovatiegroep ziekten en plagen biologische landbouw met elkaar samen. Een innovatie met voordeel voor zowel biologische en gangbare telers. Zie voor meer informatie het rapport 'Beetle eater beheerst de aspergekever bij de oogst van groene asperges in 2010' op de site van Wageningen UR.

Bron: BioKennis - Wageningen UR, 11 februari 2011

Uitbreiding van beeldenbank ziekten plagen en onkruiden

De Beeldenbank ziekten, plagen en onkruiden is uitgebreid met de categorie gebreksziekten in boomkwekerijgewassen. Van tien verschillende voedingselementen zijn beschrijvingen en beelden van gebreksverschijnselen, algemene informatie en



maatregelen te vinden om de problemen te voorkomen. Onder het kopje Gebreksziekten zijn beschrijvingen en 99 schadebeelden te vinden veroorzaakt door nutriëntengebrek. Het is mogelijk om te zoeken op voedingsstof en op gewasgroep.

De beeldenbank is gratis toegankelijk voor iedereen op databank.groenkennisnet.nl. De beeldenbank biedt verder foto's van méér dan achthonderd ziekten, plagen en onkruiden met de Nederlandse en Latijnse naam en de gewassen waarin de aantasting voorkomt. Daarnaast is er een duidelijke omschrijving van de symptomen, de levenswijze en de bestrijdingsmaatregelen die beschikbaar zijn.

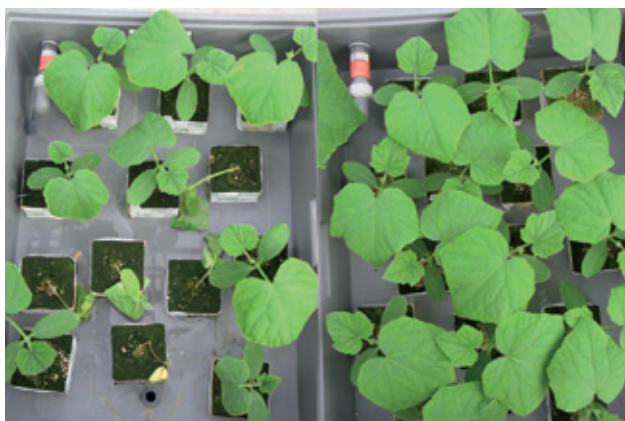
De beeldenbank is tot stand gekomen vanuit diverse onderwijsprojecten in samenwerking met het praktijkonderzoek. Groen Kennisnet heeft er voor gezorgd dat de beeldenbank gratis beschikbaar is voor een breed publiek. Het afgelopen jaar is de beeldenbank uitgebreid met quarantaine organismen en herbicideschadebeelden. Komend jaar zal de beeldenbank verder worden uitgebreid met natuurlijke vijanden.

Bron: GKC Programma plantgezondheid, 10 februari 2011

Nieuwe SelectBioControl-aanpak leidt tot snellere ontwikkeling en introductie van biologische gewasbeschermingsmiddelen

Onderzoekers van Plant Research International (PRI), onderdeel van Wageningen UR, hebben een nieuwe aanpak – SelectBioControl - ontwikkeld voor een snelle en rendabele ontwikkeling van biologische gewasbeschermingsmiddelen. SelectBioControl doorloopt opeenvolgend alle stappen die cruciaal zijn voor de ontwikkeling, productie, registratie en marketing van deze middelen. SelectBioControl is ontwikkeld onder leiding van dr. Jürgen Köhl, samen met Franse en Italiaanse onderzoeksinstituten en het internationale industrieplatform van de producenten van biologische gewasbeschermingsmiddelen (IBMA). Plant Research International verwacht met SelectBioControl de biologische bestrijdingsmiddelenmarkt een belangrijke impuls te kunnen geven.

Het ontwikkelen van biologische bestrijdingsmiddelen op basis van micro-organismen is een lang en kostbaar proces. In het verleden is veel – publiek en privaat – geld geïnvesteerd in de ontwikkeling van deze middelen. Toch heeft dit maar een beperkt aantal succesvolle middelen opgeleverd. Dankzij SelectBioControl worden zowel de kansen op de ontwikkeling van een werkzaam middel als een succesvolle marktintroductie vergroot. Dr. Jürgen Köhl: "We toetsen bacteriën en schimmels in eerste instantie niet alleen op hun



Komkommerplanten alleen besmet met de ziekteverwekker Pythium en komkommerplanten besmet met zowel Pythium als met zijn natuurlijke vijand Lysobacter enzymogenes.

werkzaamheid tegen ziekteverwekkers, maar we kijken ook al naar de economisch belangrijke productie- en marketingparameters. Alleen bacteriën en schimmels die marktpotentie hebben worden in de vervolgfase gedetailleerder onderzocht. Dankzij SelectBioControl blijven de totale ontwikkelingskosten daarom beperkt en zijn kosten en mogelijke risico's vooraf beter in te schatten.”

Groei biologische middelenmarkt

Voor de gewasbeschermingsindustrie is volledige of gedeeltelijke vervanging van chemische door biologische middelen steeds interessanter. Het gebruik van chemische bestrijdingsmiddelen wordt immers meer en meer beperkt door nieuwe regelgeving. Ook de door wetgeving en afnemers gehanteerde toegestane maximale residu limiet (MRL) in voedingsmiddelen worden steeds stringenter. Tenslotte is er het gevaar van de ontwikkeling van resistentie van ziekteverwekkers tegen chemische middelen. Biologische bestrijdingsmiddelen zijn daarom een nuttig en noodzakelijk onderdeel in de gewasbestrijdingsprogramma's van telers. De markt voor biologische gewasbeschermingsmiddelen is relatief klein, circa een miljard dollar. Terwijl de totale omzet in de agrochemie stabiel is, groeit de omzet van biologische gewasbeschermingsmiddelen echter met 15% per jaar. Europa en Azië lopen hierbij voorop.

Strategische samenwerking

SelectBioControl biedt de gewasbeschermingsmiddelenindustrie in het licht van deze ontwikkelingen unieke kansen. Met de expertise van Plant Research International kan de SelectBioControl aanpak samen met industriële partners voor elke toepassing vertaald worden in een op maat gemaakte en financieel rendabele productontwikkeling.

Biologische en chemische bestrijding

Biologische bestrijdingsmiddelen maken gebruik van

de natuurlijke vijanden van een schadelijk organisme, meestal een bacterie of een schimmel. Deze natuurlijke vijanden worden door fabrikanten vermeerderd en als gebruiksklaar gewasbeschermingsproduct verkocht. Telers kunnen met dit biologische bestrijdingsmiddel (een deel van) hun chemische bestrijdingsmiddelen vervangen.

Het is belangrijk dat biologische en chemische bestrijding elkaar aanvullen en niet uitsluiten. SelectBioControl legt daarom de nadruk op de ontwikkeling van biologische bestrijdingsproducten die ook in combinatie met chemische middelen gebruikt kunnen worden.

Bron: Nieuwsbericht Wageningen URI Plant Research International, 10 februari 2011

Schurft op peer

Tijdens een bijeenkomst bij het PCF in België over schurft op peer hebben we een blik geworpen op de teeltsystemen peer die in de proeftuin staan. De systemen zijn de Tiense Haag, de lange snoei, slanke spil en de V-haag in verschillende aanplantssystemen. Vooral het Drapeau-systeem met minder bomen per hectare, schuin geplante bomen, en meer takken per boom sprak veel telers aan. Dit aanplantstelsel is erg productief en de groei is rustig. De schuine aanplant is wel een probleem voor de mechanische onkruidbeheersing in de biologische teelt.

Vanuit het onderzoek van PCF over schurft komt naar voren dat er veel onduidelijkheden zijn over de verschillen tussen appel en peer, de grote rol van takschurft op peer en of een waarschuwingsmodel kan worden aangepast op peer. In 2010 begonnen de op het PCF gemeten ascosporen-uitstoten bij peer zo'n 10-14 dagen eerder dan bij appel, bovendien waren de pieken veel groter. Dit wordt niet elk jaar gevonden. In de meeste jaren loopt het schurftseizoen bij appel en peer meer synchroon. Er was een intensieve uitwisseling van ervaringen en discussie. Het onderzoek naar perenschurft op PCF loopt door in 2011 en 2012. Voor meer informatie: Gerjan Brouwer, DLV Plant

Bron: Biokennis, 10 februari 2011

Chromosoombiologie geeft versnelling aan veredeling gewassen

De veredeling van gewassen kan jaren aan experimenteertijd winnen door de specifieke kennis uit de chromosoombiologie te benutten. Daarmee kan het veredelingsproces van een decennium naar twee jaren worden teruggebracht. Dat is niet alleen goed voor de Nederlandse economie, maar is dat ook voor het wereldwijde voedselvraagstuk. Prof. dr. Hans de Jong ging in



zijn inauguratierede van 10 februari jl. in op de kansen die de chromosoombiologie van planten biedt. Hij sprak de rede uit bij de aanvaarding van het ambt van persoonlijk hoogleraar Cytogenetica aan Wageningen University, onderdeel van Wageningen UR.

Cytogenetica neemt binnen de biologie volgens prof. Hans de Jong een bescheiden plek in, “maar vervult daarin wel een unieke en belangrijke plaats”. Dat vakgebied kijkt naar de organisatie en gedrag van chromosomen in de celkern, en brengt bij de mens afwijkingen daarvan in verband met ziektes als Down’s syndroom, kanker en steriliteit en bij planten afwijkingen aan de voortplanting en het uiterlijk. Chromosomen spelen een sleutelrol bij geslachtsbepaling en de manier waarop genen aangestuurd worden. “Chromosomen vormen een weinig gedetailleerd beeld van ons genoom,” legt prof. De Jong uit. “Maar ze geven wel de meeste zekerheid over waar genen en repetitieve sequenties zijn gelegen. En daarmee neemt de cytogenetica toch een onmisbare positie in”.

Toekomst

Hans de Jong ziet in zijn inaugurele rede ‘Challenges of modern chromo-some biology for plant breeding and genomics’ een veelbelovende toekomst voor de nieuwe techniek van omgekeerde veredeling ofwel ‘*reverse breeding*’. Daarmee kan de ontwikkeltijd van nieuwe rassen flink worden bekort. *Reverse breeding* wordt ontwikkeld voor hele snelle productie van hybridezaad en is in essentie een alternatief voor vegetatief vermeerderen van planten (kloneren). *Reverse breeding* geeft de mogelijkheid om voor een gekozen plant snel ouderlijnen te maken: wanneer je die ouders kruist krijg je als nakomelingen planten die identiek zijn aan de gekozen plant. “Die techniek is van essentieel belang voor bedrijven in de zaadveredeling”, aldus prof. de Jong, doelend op de talrijke zaadveredelingsbedrijven die Nederland rijk is. “Met deze techniek zijn we in staat om de ontwikkeltijd voor nieuwe rassen terug te brengen van tien naar twee jaar”.

Een andere krachtige techniek in de cytogenetica is *chromosome painting*, waarbij stukjes DNA met een kleurtje heel precies op de chromosomen zijn te onderscheiden. Bovendien wordt hiermee de relatie direct zichtbaar tussen genetische kaarten op verschillende schalen: van de grovere chromosoomkaart, de genetische kaart naar de gedetailleerde fysische DNA-kaart.

Epigenoom

De verpakking van genetische informatie op een chromosoom kan veranderen zonder dat het overerfbare DNA verandert. Deze zgn. epigenetische veranderingen komen onder meer tot uiting onder extreme omstandigheden, zoals fysiologische stress bij plant, dier en de mens. Een bekend voorbeeld bij de mens is de negatieve invloed van de hongerwinter in de Tweede Wereldoorlog op het geboortegewicht van kinderen én later hun kinderen. Kennelijk geeft het epigenoom omstandigheden door aan het nageslacht. Bij planten weten we dat ook bepaalde hybriden sterke veranderingen in hun epigenoom hebben ondergaan.

Bron: Nieuwsbericht Wageningen UR, 9 februari 2011

Direct verwijderen paprika met tomatenbronsvlekkenvirus loont

Het extra werk dat het verwijderen van zieke planten in een kas met paprika's met zich meebrengt, is zinvol om tomatenbronsvlekkenvirus tegen te gaan. Snelle actie is cruciaal want de zieke planten zijn erg aantrekkelijk voor trips en zijn een goede ‘vector-fabriek’. Dit blijkt uit onlangs afgerond onderzoek bij Wageningen UR Glastuinbouw, dat is gefinancierd door het Ministerie van Economische Zaken, Landbouw & Innovatie.

In de paprikateelt richt tomatenbronsvlekkenvirus (TSWV) de laatste jaren veel schade aan. Dit virus wordt van plant tot plant overgedragen door trips en heeft een brede waardplantenreeks. Naast paprika zijn ook tomaat, aubergine, sla, andijvie, verschillende siergewassen én onkruiden vatbaar voor dit virus. Paprikatelers kunnen tijdens de teeltwisseling de kas virusvrij krijgen en ook in de eerste periode daarna houden ze de teelt goed schoon. In de loop van de tijd treedt echter toch besmetting op ondanks dat de tripspopulatie in de kas het hele jaar door goed onder controle is te houden met biologische bestrijders.

Besmette planten aantrekkelijk

Uit eerder onderzoek bleek dat het voorkomen van besmetting met TSWV niet haalbaar is. Tot nog toe was het algemene advies om besmette planten direct te verwijderen om verspreidingsrisico te verkleinen. Echter, dit is erg bewerkelijk en gaat ten koste van de oogst. Daarnaast kan het verwijderen van besmette planten de besmette trips juist onrustig maken en daardoor ze juist stimuleren om in de kas te verspreiden.

Onderzoekers van Wageningen UR Glastuinbouw daarom hebben bekeken of het verwijderen van zieke planten zinvol is of niet. Uit dit recente onderzoek is gebleken dat in kassen met een paprikagewas, TSWV-besmette planten twee keer zoveel trips aantrekken als gezonde planten. Ook werd duidelijk dat vrijwel alle tripsen die zich op

besmette planten ontwikkelen het virus bij zich dragen. Als de tripsen zich konden reproduceren op besmette planten, werden binnen twee weken de eerste nieuwe besmettingen in het gewas gevonden. Twee weken later was gemiddeld 80% van het gewas besmet.

Weghalen moet

Ondanks dat het verwijderen van zieke planten arbeidsintensief is, is het dus zeker de moeite waard. Onderzoekers adviseren om direct bij het verschijnen van de eerste symptomen de zieke planten te verwijderen, zodat trips zo min mogelijk de kans krijgt om daar eieren te leggen en larven te produceren. Als in een gewas een besmette plant is gevonden, controleer dan vóór het verwijderen of er tripslarven op zitten. Als die er zijn, is de kans groot dat er andere vectoren al in de kas aanwezig zijn, en moet men dus extra alert zijn op nieuwe besmettingen.

Bron: Wageningen UR/ Glastuinbouw, 7 februari 2011

Geen bezwaar COGEM tegen veldproef met *Phytophthora*-resistente aardappels

De Commissie Genetische Modificatie (COGEM) heeft geen bezwaar tegen een kleinschalige veldproef van de van Wageningen UR met *Phytophthora*-resistente aardappels, waarbij een isolatieafstand van drie meter wordt aangehouden. Echter, de COGEM adviseert in gevallen waarbij op naastgelegen velden aardappelveredeling door hobbykwekers plaatsvindt, een isolatieafstand van veertig meter in acht te nemen.

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van een kleinschalige veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelen (*Solanum tuberosum*) met een verhoogde resistentie tegen *Phytophthora infestans*, de veroorzaker van de aardappelziekte. Het doel van de voorgenomen werkzaamheden is het onderzoeken van phytophthora-beheersstrategieën en monitoring van virulentie voor de gebruikte resistentiegenen.

De onderhavige vergunningaanvraag heeft betrekking op kleinschalige werkzaamheden met genetisch gemodificeerde aardappelplanten in de gemeenten Wageningen, Borger-Odoorn, Lelystad, Binnenmaas en Venray. Deze vergunningaanvraag betreft aardappelplanten, waarin genen zijn ingebracht afkomstig uit de aardappelsoorten *S. bulbocastanum*, *S. demissum*, *S. stoloniferum*, *S. venturii* en *S. chacoense*. De genen zijn betrokken bij de resistentie tegen *P. infestans*, een pathogene oömyceet, die de aardappelziekte veroorzaakt.

Voor zijn verspreiding en overleving maakt de aardappel gebruik van zaden en knollen. De aardappel kan in Nederland niet uitkruisen naar wilde verwanten.

De aardappel kan wel uitkruisen naar andere cultuurrassen, maar slechts in beperkte mate en alleen over korte afstanden. Uit praktijkervaring blijkt dat een isolatieafstand van drie meter voldoende is om kruisbestuiving te voorkomen. De knollen zijn vorstgevoelig en zullen de Nederlandse winter gewoonlijk niet overleven. In de noodzaak om eventuele aardappelopslag uit zaad of achtergebleven knollen te verwijderen wordt in het kader van de verplichte bestrijding van *P. infestans* voorzien.

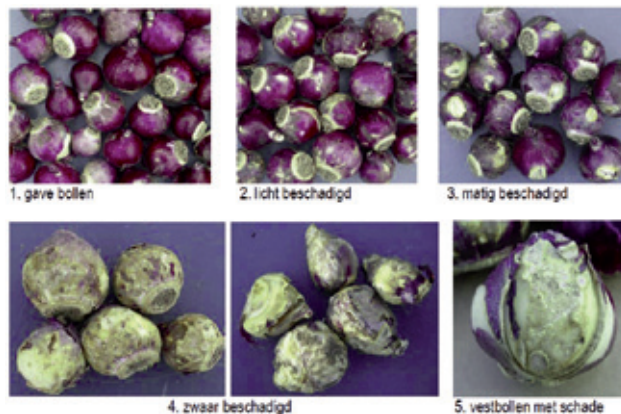
De zaden die eventueel worden gevormd door cultuuraardappels spelen alleen een rol bij het veredelingsproces. In Nederland vindt aardappelveredeling hoofdzakelijk in kassen of tunnelkassen plaats. Echter, de COGEM kan niet uitsluiten dat hobbykwekers, die in de aardappelveredeling actief zijn, mogelijk kruisingen op het veld uitvoeren. De COGEM adviseert, indien er op naastgelegen velden hobbykwekers actief zijn die kruisingen op het veld uitvoeren, een isolatieafstand van veertig meter in acht te nemen. Zie voor meer informatie de website van de COGEM.

Bron: COGEM, 4 februari 2011

Monitoring helpt risico's van ziekten en plagen in de bollenteelt te verkleinen

Samen met toeleverancier Alb. Groot heeft Telen met toekomst een methodiek ontwikkeld om de kwaliteit van partijen bloembollen en percelen te volgen. Een goede monitoring verkleint het risico op verdere besmetting aanzienlijk, waardoor de schade beperkt blijft en op termijn ook minder inzet van chemische middelen nodig is.

Met een goede monitoring wordt tijdig duidelijk of een perceel besmet is met parasitaire aaltjes, zoals wortellesie- of stengelaaftje of dat een partij besmet is met bijvoorbeeld *Fusarium* of tulpengalmijt. Door hier direct op te anticiperen, wordt verdere verspreiding voorkomen.



Voor het monitoren zijn formulieren ontwikkeld. Het invullen hiervan helpt de teler om bewuster naar de partijen te kijken en veranderingen over de jaren heen vast te leggen. Met de vastgelegde informatie kan de teler oorzaken van eventuele problemen zoals ziekten of beschadiging tijdig opsporen en gericht per partij maatregelen nemen. De invulformulieren voor de monitoring van plantgoed zijn beschikbaar voor tulp, hyacint en narcis.

Ook is een methodiek ontwikkeld waarmee telers over de jaren heen een registratie bij kunnen houden van activiteiten en voorkomende ziekten en plagen op hun percelen. Dit levert een grote bijdrage aan het gezond houden van het gewas en de bol en kan bij eventuele problemen helpen de oorzaken te traceren en gerichte maatregelen te nemen.

De formulieren 'Monitoring kwaliteit bloembollen' en 'Monitoring percelen' zijn te vinden op de site van Telen met toekomst.

Bron: Telen met toekomst, 3 februari 2011

DLV Plant onderzoekt gevoeligheid van aardappelrassen voor *Pratylenchus penetrans*

Team Onderzoek van DLV Plant gaat aan de slag met het onderzoeksproject 'Tolerantie en rasgevoeligheid van aardappelrassen voor *Pratylenchus penetrans*'. Het project maakt deel uit van het Actieplan Aaltjesbeheersing, een initiatief van het Productschap Akkerbouw, Productschap Tuinbouw en LTO Nederland.

Zowel op de noordoostelijke zand- en dalgronden als op de zuidoostelijke zandgronden zijn veel landbouwpercelen besmet met de nematode *Pratylenchus penetrans*. Door de teelt van met name maïs en steeds meer groenbemesters neemt deze problematiek verder toe. Aardappelen kunnen afhankelijk van het besmettingsniveau en het organische stofgehalte van de bodem schade ondervinden, vooral in droge jaren.

Het is bekend dat de gevoeligheid van aardappelrassen verschillend is. Echter, van de rassen die momenteel veel geteeld worden of in opkomst zijn, is de tolerantie vaak nog niet bekend. Voor een rasgericht advies dat rekening houdt met het besmettingsniveau zijn nu onvoldoende gegevens beschikbaar. Hierdoor wordt het lastig om tot een goede aaltjesbeheersingsstrategie te komen.

DLV Plant gaat de gegevens om tot een goede strategie te komen de komende jaren onderzoeken. Het project loopt twee jaar en wordt uitgevoerd in samenwerking met Roba in Deurne. De proeflocaties komen in het noordelijke zandgebied en in het zuidelijk zandgebied te liggen. De resultaten zullen te zijner tijd in overleg met het

Productschap Akkerbouw breed worden gecommuniceerd, zodat akkerbouwers er hun voordeel mee kunnen doen.

Bron: DLV Plant, 3 februari 2011

Bodemweerbaarheid alternatief voor chemische bestrijding

Meer bodemleven betekent in het algemeen minder bodemgebonden ziekten en plagen. Tuinders met grondgebonden teelten kunnen deze kennis binnenkort gaan toepassen tegen aaltjes en schimmels, voorspelt André van der Wurff, onderzoeker van Wageningen UR Glastuinbouw. Hij stelt een set maatregelen op, waarmee glastuinders de weerbaarheid van de bodem tegen ziekten en plagen kunnen versterken. Binnen één à twee jaar wil hij de maatregelen presenteren.

Te denken valt aan sturing op abiotische eigenschappen, zoals zuurgraad, bodemstructuur en voedingsstoffen en biotische factoren zoals een gewasrotatie met groenbemesters, compost en toevoeging van bacteriën of stoffen die bacteriën stimuleren om enzymen te produceren die chitine afbreken.

Terwijl Van der Wurff zich richt op maatregelen voor de korte termijn, doet collega Joeke Postma van Plant Research International van Wageningen UR met name fundamenteel onderzoek. Nog steeds zijn er vragen over hoe bodemweerbaarheid werkt. Postma ontdekte dat de bacterie *Lysobacter* op met name kleigronden voor een grote weerbaarheid kan zorgen. Gewassen hebben soms geen enkele last van *Rhizoctonia*, terwijl de schimmel wel aanwezig is. Nu dit bekend is, kan ze de bacterie als model gebruiken om het weerbaarheidsmechanisme beter te gaan begrijpen. Dit schept vervolgens mogelijkheden om ziektevering gericht te gaan verhogen.

Postma en Van der Wurff willen hun kennis gaan vertalen naar de substraatteelt, want ook substraten vertonen weerbaarheid.

Bron: Syscope Magazine, 31 januari 2011

Ctgb legt ontwerpbesluiten voor Prestop Mix, Prestop en Isomate CLR ter inzage

Het College voor de toelating van gewasbeschermingsmiddelen en biociden (Ctgb) wil besluiten tot toelating van de middelen Prestop Mix, Prestop en Isomate CLR. Het zijn producten op basis van een werkzame stof die niet eerder in Nederland is toegelaten. Voordat het Ctgb tot toelating kan besluiten moet het ontwerpbesluit twee weken ter inzage te liggen. De inzagetermijn eindigde op 14 februari.

Prestop Mix is een middel op basis van de werkzame stof *Gliocladium catenulatum* strain J1446. De toelating van het middel is aangevraagd als schimmelbestrijdingsmiddel in de bedekte teelt van groenten, kruiden en bloemisterijgewassen. Het betreft een middel voor professioneel gebruik. Ook Prestop werkt op basis van *Gliocladium catenulatum* strain J1446. De toelating voor het product is ook aangevraagd als schimmelbestrijdingsmiddel door middel van gewasbehandeling in de bedekte teelt van groenten, kruiden en bloemisterijgewassen. Het betreft ook een middel voor professioneel gebruik.

Isomate CLR is een middel op basis van de werkzame stoffen 'onvertakte vlinderferomonen' en dodecan-1-ol. De toelating van het product is aangevraagd als lokstof / feromoonverwarringsproduct in de teelt van appels en peren, ter bestrijding van fruitmot en diverse soorten bladrollers, zoals vruchtbladroller, leverkleurige bladroller, grote appelbladroller en heggebladroller. Het betreft een middel voor professioneel gebruik.

Bron: Ctgb, 31 januari 2011

Gewas steeds zwakker door de bescherming

Gewasbescherming gaat hand in hand met de teelt van monoculturen. De veredeling van land- en tuinbouwgewassen heeft de telers steeds afhankelijker gemaakt van beschermende chemische middelen. De weerbaarheid van de gewassen zelf is daardoor verminderd. Inmiddels is een omslag gaande naar nieuwe middelen en andere methoden.

Het idee dat chemie een oplossing kan zijn voor elke plaag en ziekte is achterhaald. Toch heeft in de jaren vijftig en zestig van de vorige eeuw die gedachte postgevat bij Nederlandse boeren en tuinders. Ooit werd door producenten van bestrijdingsmiddelen het chemisch ploegen aanbevolen: alleen het spuiten van onkruidbestrijders was genoeg om de grond weer geschikt te maken voor een volgende teelt.

Sinds de mens gewassen is gaan telen, moet hij maatregelen nemen om schade door onkruiden, plagen of ziekten te voorkomen. De schop behoort tot de oudste werktuigen om schadelijk onkruid te verwijderen. In het begin van de vorige eeuw werden schoolkinderen van school gehaald om de insecten weg te houden uit te gewassen. Ze liepen met een tussen hen in gespannen touwtje door het graan. Aan het eind van de akker keerden ze om. Het was een vroege vorm van insectenbestrijding, die inmiddels al lang vervangen is door de inzet van insecticiden.

Tussen de twee wereldoorlogen kwam de chemie op en sinds 1945 werden voor tal van plagen en ziekten bestrijdingsmiddelen ontwikkeld. Een van de beruchtste

en bekendste is dichloordifenyiltrichloorethaan, veel bekender onder de naam DDT. Sinds de jaren zeventig is DDT het symbool van veel wat mis gegaan is met de gewasbescherming. Insecten werden resistent tegen DDT, de insectenbestrijder bleek zich overal op te hopen in het milieu – en wat erger was – de stof bleek op den duur ook schadelijk voor de volksgezondheid. DDT is in de westerse wereld verboden als bestrijdingsmiddel.

De afhankelijkheid van gewasbeschermingsmiddelen heeft de telers lui gemaakt, zegt de Wageningse hoogleraar Paul Struik (gewasfysiologie). Hij doelt met name op de aardappelteelt, waar de afhankelijkheid van middelen die de aardappelziekte *phytophthora* bestrijden wel heel groot is.

Bij diens afscheid als hoogleraar zei entomoloog Joop van Lenteren dat plaagbestrijding bijna geheel op chemie is gebaseerd en dat sindsdien alle kennis over ecologische bestrijding onbenut is gebleven. Bovendien ging alle aandacht uit naar die ongeveer vijfduizend insectensoorten die plagen veroorzaken, terwijl er nauwelijks aandacht was voor die ongeveer 100.000 andere soorten. "In plaats van te bestuderen waarom zo veel soorten geen plaag veroorzaakten, stopten we alle energie in de ontwikkeling van nieuwe bestrijdingsmiddelen. De chemische industrie overschatte bewust de rol van insecten bij oogstverliezen en minimaliseerde de rol van alternatieve plaagbeheersing."

Struik schetst de gevolgen van die houding: "We zijn lui geworden in de veredeling, omdat we de middelen hadden. Grote aardappellassen als Bintje in Nederland, maar ook Russet Burbank in de Verenigde Staten konden we alleen maar telen omdat we de middelen hadden die *phytophthora* konden bestrijden. Pas toen er resistentie optrad tegen de chemicaliën, realiseerden we ons dat we het anders moesten aanpakken."

In de jaren zestig ontstond de gedachte dat grondbewerking niet meer nodig zou zijn om onkruid te bestrijden, want we hadden de chemie. "We belandden in de situatie dat we te vatbare gewassen maakten. Er ontstond resistentie in de onkruidpopulaties, bijvoorbeeld resistentie bij maisonkruiden. Daardoor moesten steeds zwaardere middelen worden gebruikt en zo kwamen we van de regen in de drup. Of eigenlijk: van de drup in de regen. Bij de *phytophthora*bestrijding in de aardappelteelt zagen we hetzelfde. Ook daar ontwikkelden zich steeds virulentere stammen."

De ontwikkeling van nieuwe gewasbeschermingsmiddelen ging hand in hand met een enorme stijging van de opbrengsten. "Maar we zijn wel verdoorgeschoten", zegt Struik. Chemie is al lang niet meer alleen zaligmakend. De spuitapparatuur is sterk verbeterd, waardoor de gebruikte middelen in lagere



Peterselie, een klein gewas. Bron: CropLife International

doseringen en preciezer kunnen worden toegepast. En de middelen worden ook steeds verder ontwikkeld. “Desondanks is er nog steeds sprake van overschrijding van milieunormen. We vinden te hoge concentraties bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater. Het besef dat het anders moet, is echter inmiddels hier wel doorgedrongen.”

In andere regio's is dat anders. Belangrijke congressen over de rijstteelt in Azië worden nog steeds voornamelijk gesponsord door producenten van bestrijdingsmiddelen, ziet Struik. “Als ik in Vietnam door de rijstvelden loop, stap ik van de ene lege verpakking van bestrijdingsmiddelen naar de andere. Daarmee vergeleken hebben we in Nederland te maken met een luxe situatie.” Er is onmetelijk veel geld gestoken in de ontwikkeling van gewasbeschermingsmiddelen. Achteraf gezien was het misschien beter geweest dat geld in elk geval voor een deel in te zetten voor de ontwikkeling van resistente gewassen, denkt Struik. Inmiddels is die weg ingezet.

De overgang van chemische middelen naar het gebruik van natuurlijke bestrijdingsmiddelen kan heel snel gaan. Van Lenteren geeft in zijn afscheidsrede het voorbeeld van de paprikateelt in Spanje, die nog slechts een paar jaar geleden in een zeer kwaad daglicht kwam door het excessieve gebruik van illegale bestrijdingsmiddelen. Als gevolg van de maatschappelijke verontwaardiging en de door de sector gevoelde druk, werd in heel korte tijd de

omslag gemaakt naar de biologische bestrijding van trips door de inzet van roofmijten. Binnen de kortste keren werd in 95 procent van de 7.000 hectare paprikakassen in Almeria de roofmijt ingezet, hetgeen volgens Van Lenteren de redding was van de lokale glastuinbouw. Belangrijk positief bij-effect van de affaire was de veranderde algemene houding tegenover biologische bestrijding.

Bron: agd.media, 28 januari 2011

Plantum: straks meer middel voor kleinere teelt

De nieuwe EU-verordening voor gewasbescherming, die op 14 juni ingaat, is een verbetering, zegt beleidsmedewerker Gea Bouwman van Plantum, de organisatie van plantenveredelaars. Bouwman doelt onder meer op kleine teelten.

Door de nieuwe EU-verordening voor gewasbescherming komen meer bestrijdingsmiddelen beschikbaar voor kleinere teelten. Tot nu toe ontwikkelen fabrikanten minder pesticiden voor kleinere teelten als vlas, hennep en groenten omdat de kosten moeilijker terug te verdienen zijn.

Volgens Bouwman moet tot nu toe voor elke toepassing van een bestrijdingsmiddel voor iedere lidstaat apart een

toelating worden aangevraagd. “De kleinere teelten zijn hier economisch niet interessant genoeg voor”, zei ze op een bijeenkomst van het Productschap Akkerbouw.

De EU is volgens Bouwman volgens de nieuwe verordening ingedeeld in drie zones. “Als één lidstaat in een zone een middel een toelating geeft, geldt die ook voor de andere lidstaten in de zone. Dat geldt ook voor buurlanden in twee verschillende zones. Zo kan een middel op een groter areaal worden gebruikt. Bovendien mag een lidstaat nog maar maximaal twaalf maanden tijd nemen om een toelating te behandelen.”

Een andere positieve verandering betreft een versoepeling van de import van zaaizaad dat met een chemisch middel is behandeld. Bouwman voorziet wel overgangsproblemen als de nieuwe verordening van kracht wordt. “Lidstaten kunnen extra eisen stellen bij bijzondere omstandigheden.”

Bron: *agd.media*, 28 januari 2011

Gebieden besmet met aaltje chitwoodi uitgebreid

Er komt dit jaar een uitbreiding van enkele gebieden die zijn besmet met het maïswortelknobbelaaltje *Meloidogyne chitwoodi*. Keuringsdienst NAK heeft vorig jaar zevenhonderd grondmonsters onderzocht uit de aangewezen gebieden, waar het aaltje voorkomt. Daarvan bleken veertien besmet met chitwoodi. De NAK verwacht dat de Voedsel en Waren Autoriteit (VWA) binnenkort enkele aangewezen gebieden gaat uitbreiden vanwege de vondst van het aaltje in de grondmonsters.

De NAK heeft ook 210 grondmonsters genomen verspreid over Nederland buiten de aangewezen gebieden. In geen enkel monster is chitwoodi gevonden. Dit onderzoek vond plaats omdat alle EU-lidstaten worden verondersteld in kaart te brengen in hoeverre akkers besmet zijn met chitwoodi.

In 2009 is in Nederland 26 keer het aaltje chitwoodi gevonden. Dat aantal is gelijk aan 2008. In 2007 is het aaltje zeventien keer ontdekt. Sinds 2008 wordt bij een vondst van *M. chitwoodi* of *M. fallax* een gebied van een kilometer rondom de vindplaats afgebakend. Daar wordt uitgangsmateriaal van waardplanten geïnspecteerd.

Bron: *agd.media*, 20 januari 2011

Gewasbescherming is zaak van boer en burger

Gewasbescherming is niet alleen een kwestie voor boeren en tuinders. Al sinds de jaren zestig bemoeien overheden en actiegroepen zich met de middelen die

in de land- en tuinbouw worden ingezet – en vooral met mogelijke effecten. Zo is in 2003 het convenant gewasbescherming tot stand gekomen waarin overheid, bedrijfsleven en maatschappelijke organisaties afspraken hebben gemaakt over de vermindering van de milieudruk door gewasbeschermingsmiddelen in het oppervlaktewater.

De middelen die worden gebruikt, dienen de bescherming van het gewas. Maar in de meeste gevallen gaat het om het gebruik van stoffen, die niet voor niets door de agrarisch ondernemers achter slot en grendel bewaard moeten worden. De term gewasbeschermingsmiddel lijkt in het dagelijks gebruik langzamerhand het woord landbouwgif te hebben vervangen – zeker in de vakliteratuur, maar het gaat nog steeds om gifstoffen die een nadelig effect kunnen hebben op gezondheid van mens en dier en op het milieu.

En dat het gebruik van die middelen tot grote zorgen kunnen leiden, bleek afgelopen weekeinde nog eens in een uitzending van het televisieprogramma Zembla, die omstandig verhaalde over omwonenden van bollenvelden, die geen idee hebben wanneer en met welke stoffen hun omgeving bespoten wordt, en – wellicht nog belangrijker – wat de effecten van die stoffen kunnen zijn op hun eigen gezondheid en die van hun kinderen.

Wie een kijkje neemt in de middelenkast van een gemiddelde boer of tuinder kan daar ook niet vrolijk van worden. Enerzijds zijn het de op zich al bijna bangmakende namen als imidacloprid, oxamyl, securo of amistar die de leek angst in kunnen boezemen. En ter versterking daarvan zijn het de andreaskruisen en doodshoofden op de verpakkingen die het gevaar nog benadrukken.

Lelieteler Hans van der Heijden toonde in hetzelfde programma dat die angst niet terecht is, zolang je maar met verstand omgaat met de middelen. Dat is aan de gemiddelde Nederlandse akkerbouwer, bollenteler of tuinder wel toevertrouwd. Maar daarmee zijn de omwonenden nog lang niet gerustgesteld. Of de ongerustheid terecht is of niet, is eigenlijk niet relevant. Feit is dat omwonenden geconfronteerd worden met de spuitactiviteiten van boeren en tuinders en dat ze er dus ook recht op hebben te weten welke effecten dat op hun leven zou kunnen hebben. Niet voor niets stelt het Centrum voor Landbouw en Milieu (CLM) in een reactie dat eventuele risico's voor omwonenden te weinig onderzocht zijn om risico's volledig uit te sluiten. “Het ligt voor de hand dit op korte termijn te onderzoeken”, aldus Peter Leendertse van CLM.

Aan de andere kant is in de afgelopen jaren al heel veel gedaan om (ook) de mogelijke risico's voor omwonenden te beperken. Spuitmachines zijn in de

afgelopen jaren veel preciezer geworden, en er zijn driftreducerende maatregelen genomen, waardoor veel minder middelen verwaaien dan eerder het geval was. Bovendien zijn methodieken beschikbaar gekomen, waardoor het aantal bespuitingen kan verminderen. Ondernemers en loonwerkers die bespuitingen toepassen, mogen dat alleen nog doen als ze beschikken over een spuitlicentie en de aanschaf van middelen is beperkt tot degenen die zo'n licentie hebben. En wie middelen gebruikt, moet daarvan een goede registratie bijhouden.

Dat betekent echter niet dat daarmee alle problemen zijn opgelost. Nog steeds duiken met enige regelmaat verhalen op over ondernemers die in de omliggende landen middelen aanschaffen, waarvoor in Nederland geen toelating bestaat. Het gebruik van die middelen komt nergens in de boeken.

Het argument – vaak in de sector gehoord – dat de gebruikte middelen zijn toegelaten, kan de zorg bij mensen buiten de beroepsgroep niet wegnemen. Telers willen uiteraard niet vervuilen en zeker geen gevaar voor omwonenden veroorzaken.

De huidige inzichten geven aan dat de blootstelling van omwonenden niet echt een reden tot zorg is. De Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur haalt daarvoor een onderzoek aan van het Utrechtse Institute for Risk Assessment Science (Iras). Het Iras constateert op basis van literatuuronderzoek dat de blootstelling aan bestrijdingsmiddelen voor omwonenden en ook voor de gezinsleden van boeren verwaarloosbaar laag is. “Gezien de niveaus van blootstelling lijken gezondheidsrisico's als gevolg van deze blootstelling daarom bij de huidige inzichten niet waarschijnlijk.”

Er zijn nog meer effecten dan directe gezondheidsrisico's. Kort geleden kwamen de eerste berichten over voor de gezondheid schadelijke resistente schimmels, mogelijk ontstaan door het gebruik van schimmelbestrijders in de land- en tuinbouw. En er zijn voortdurend zorgen over de opstapeling van verschillende middelen. Teler Van der Heijden kwam in de Zembla-uitzending tot de kern van het probleem: de gewassen zijn zo zwak gemaakt, dat ze zonder beschermend gif niet kunnen leven.

Het convenant gewasbescherming is afgelopen en moet worden geëvalueerd. Doel van het convenant was om de milieudruk op het oppervlaktewater fors te verminderen. Dat lijkt voor een groot deel te lukken. Maar daarmee is de kou nog lang niet uit de lucht.

Gemeten risico voor omwonenden is laag

Dick Heederik van het Institute for Risk Assessment Sciences (Iras) heeft zich gebogen over de

risico's voor omwonenden bij blootstelling aan gewasbeschermingsmiddelen uit de bollenteelt. Heederik zegt dat gebruikers van de middelen zelf de grootste risico's lopen, omdat bij hem of haar de blootstelling het hoogst is. Volgens Heederik is het risico door verdamping van de bestrijdingsmiddelen betrekkelijk gering, maar daar worden nog wel berekeningen aan gedaan. In het televisieprogramma Zembla werd gesteld dat tot negentig procent van het middel uiteindelijk door verdamping in de lucht terecht kan komen.

Of bestrijdingsmiddelen gevaarlijk zijn voor de gezondheid, wordt bepaald aan de hand van proefdierstudies. Uitgangspunt is dat het gebruik de gezondheid niet mag schaden. Bij de beoordeling van gewasbeschermingsmiddelen door toelatingsinstanties als het College voor de Toelating van Gewasbeschermingsmiddelen en Biociden (CTGB), moeten de producenten of toelatinghouders zelf de gegevens daarover verstrekken. Het CTGB doet zelf geen onderzoek.

Heederik haalt onderzoek aan waarbij in urine van boeren en omwonenden is gekeken naar de aanwezigheid van sporen van gewasbeschermingsmiddelen. Daarbij bleek dat boeren zelf regelmatig resten in de urine hadden. Bij omwonenden kwam dat zelden voor en dan nog op heel lage niveaus.

Bron: agd.media, 13 januari 2011

Biofumigatie bestrijdt niet alle belagers

Uit drie jaar onderzoek op PPO Vredepeel blijkt dat biofumigatiegewassen bodempathogenen beperkt actief bestrijden. Sommige biofumigatiegewassen vermeerderen zelfs wortelstelselaaltjes. Gedroogde gewasresten als zaadmeel bieden mogelijkheden van bestrijding van *Verticillium dahliae* zonder risico op vermeerdering van pathogenen.

Gewassen die gebruikt worden voor biofumigatie bevatten speciale inhoudsstoffen die na omzetting in de grond bodempathogenen kunnen doden. Het zijn vooral kruisbloemigen die glucosinolaten bevatten die na omzetting in de grond lijken op metam-natrium. Die omgezette vorm bevat diverse isothiocyanaten die nematoden, maar ook enkele schimmels bestrijden.

In het lab bereiken deze stoffen goede resultaten en in Australië, Amerika en Italië zijn positieve veldresultaten behaald. Op grond hiervan is in Nederland met gelden van de Stichting Proef en Selectie en het voormalige LNV onderzoek opgezet om na te gaan wat het effect is op de verwelkingsziekte

Verticillium dahliae en het wortellesieaaltje *Pratylenchus penetrans*.

Speciale mosterd

Bij biofumigatie wordt een biofumigatiegewas rond bloeitijd drastisch geklepeld en ingewerkt waarna de grond wordt dichtgerold en beregend. Op deze wijze kunnen de toxische stoffen voldoende hoge concentraties in de bodem bereiken om de pathogenen te bestrijden. Door het ISCI in Italië zijn speciale lijnen van sarepta mosterd (*Brassica juncea*) gekweekt die veel glucosinolaten bevatten. Door de veredeling op andere eigenschappen zijn de gehalten aan glucosinolaten in bladrammenas, gele mosterd en broccoli juist afgenomen.

De toepassing vergt bijna een teeltjaar, vanwege de benodigde groeitijd en de inwerktijd van de gewasresten. Verkorting is mogelijk bij gebruik van zaadmeel dat gemakkelijk is te verdelen en in te werken. Bij een dubbele dosering van vier ton Biofence per hectare en een goede menging door de bouwvoor kan het potentiële effect van biofumigatie worden bereikt. In het onderzoek werden diverse methoden meegenomen en vergeleken.

Verwelkingsziekte

In twee jaar biofumigatie-onderzoek blijkt dat door het toepassen van zaadmeel het aantal microsclerotia van de verwelkingsziekte *Verticillium dahliae* eenmaal betrouwbaar en eenmaal niet betrouwbaar afnam ten opzichte van zwarte braak met gemiddeld 65 procent. In dit proefveld was het effect van *verticillium* op de productie bij aardappel ondergeschikt aan het effect van *Pratylenchus*. De gewasbehandeling met de glucosinolaat-houdende sarepta mosterd leidde niet tot een afname van het aantal microsclerotia. Een late toepassing van biologische grondontsmetting in september leek slechts een gemiddelde verlaging te geven van 25 procent. Toepassing in de zomer gaf in ander onderzoek een veel betere bestrijding.

Wortellesieaaltjes

Tijdens het teeltseizoen kunnen biofumigatiegewassen aaltjes vermeerderen of juist verminderen. In de nateeltfase, waarin de biofumigatieproducten vrijkomen, worden de aaltjes bestreden. Op zwarte braak treedt er door natuurlijke sterfte in een jaar tijd een langzame vermindering van de aantallen aaltjes op van ongeveer zestig procent, waarvan 43 in het tweede deel van het jaar.

Afrikaantjes dringen het wortellesieaaltje in sterke mate terug. Bijna alle wortellesieaaltjes zijn na een teelt verdwenen. Biofumigatie met zaadmeel gaf, toegepast na een teelt van Italiaans raaigras, een vermindering van aaltjes met 48 procent, nauwelijks meer dan na zwarte braak. Wanneer Italiaans raaigras

wordt vervangen door sarepta mosterd, vindt er een bijna twee keer zo sterke vermeerdering van wortellesieaaltjes plaats. Het biofumigatie-effect van sarepta mosterd leidt tot een verlaging met 58 procent van de aaltjes, maar dit weegt niet op tegen de vermeerdering. De vermeerdering van wortellesieaaltjes door biofumigatiegewassen is een belangrijk veronachtzaamd element, waardoor de bestrijding onvoldoende is. Ook zaadmeel blijkt onvoldoende te werken op wortellesieaaltjes.

Japanse haver (*Avena astrigosa 'Pratex'*) geeft geen vermeerdering van wortellesieaaltjes en heeft hetzelfde effect als braak. De toepassing van biologische grondontsmetting in september na Japanse haver geeft een extra verlaging van deze aaltjes met ongeveer 64 procent. Dat is iets meer dan na zwarte braak. Het effect van biologische grondontsmetting op dat moment is veel minder dan bij toepassing in de zomer.

Productie- en kwaliteits-effecten

Aardappels, maar ook aardbeien, blijken sterk te reageren op de aantallen wortellesieaaltjes. In het onderzoek in aardappel steeg de netto-knolproductie over 2007 en 2008 met gemiddeld 50 ton per hectare na braak en sarepta mosterd; met 56 ton na Italiaans raaigras met zaadmeel en met 67 ton na afrikaantjes. De netto-effecten op wortellesieaaltjes van de behandelingen bepaalden in belangrijke mate de verschillen in de producties. De zaadmeelbehandeling na Italiaans raaigras verhoogde de productie waarschijnlijk mede door de bestrijding van *Verticillium dahliae*, een schimmel die ook in aardbei voorkomt. De productie na braak week niet af van die na een neutrale groenbemester met dezelfde aaltjesaantallen. De kwaliteit van de aardappelen werd niet eenduidig beïnvloed.

Bron: *Groenten en Fruit*, 11 januari 2011

Veldproef met cisgene appels

Plant Research International, onderdeel van Wageningen UR, mag een veldproef uitvoeren met cisgene appels met resistentie tegen schurft. Dat stelde de Commissie Genetische Modificatie (COGEM) eind 2010 in een advies aan het milieuministerie.

Plant Research International (PRI) heeft uit sierappels een gen gehaald dat de appelboom beschermt tegen schurft. Omdat het een soorteigen gen betreft, spreekt Wageningen UR van cisgenese. Schurft is een hardnekkige schimmel die de bladeren en vruchten van appelbomen aantast. Tachtig procent van de bestrijdingsmiddelen in de fruitteelt is gericht op bestrijding van schurft. PRI wil met het rassenbureau Innova Fruit een resistente appel op de markt brengen.

Door de gebruikte veredelingsstechniek is goedkeuring nodig van de overheid.

Bloei

De COGEM stelt dat de cisgene appel geen gevaar oplevert voor mens en milieu. Daarom mogen de cisgene appelboompjes ook in bloei staan. Bij een vorige veldproef met transgene appels moest PRI de bloei nog onderdrukken. PRI-onderzoeker Frans Krens, aanvrager van de vergunning, is “aangenaam verrast” over het advies. “Doordat we nu direct in de vruchten kunnen zien of er schurft in appel zit, kunnen we een paar jaar winnen in de totale procedure voor een eventuele vergunning om ze op de markt te brengen.”

Als de minister het advies overneemt, verwacht Krens nog zo'n vier jaar nodig te hebben met tests voordat een aanvraag voor markttoelating voor deze resistente appel kan worden ingediend. Met genetische modificatie duurt de ontwikkeling van een resistent ras nu zo'n twaalf jaar. Met klassieke veredeling kost het al gauw vijftig jaar, zegt Krens.

Wedloop

Wageningen UR heeft al eerder een schurftresistente appel ontwikkeld: de Santana. Dat ras heeft echter geen groot marktaandeel. Het idee nu is om een populaire appel als bijvoorbeeld de Elstar resistent te maken. Krens waakt voor teveel optimisme. “Het blijft een wedloop tussen appel en schimmel. Er is al schurft gevonden die de afweer van het resistentie-gen doorbreekt. Daarom hebben we eigenlijk een combinatie van twee a drie genen nodig die de appel resistent maken. Dat kan alleen met genetische modificatie, als we heel gericht genen gaan inbrengen. Met kruisingsproeven gaat dat niet lukken.”

Bron: Nieuwsbericht Wageningen UR, 6 januari 2011

LTO: meer onderzoek nodig naar middelen

Er is meer onderzoek nodig naar gewasbescherming. Dat moet betaald worden door overheid en bedrijfsleven, zegt Sjaak Langeslag in een interview met Syscope, een uitgave van WUR. Langeslag, voorzitter van de LTO-werkgroep Gewasbescherming: “Supermarkten eisen producten zonder residuen. Onze ambitie is om producten te telen waar geen discussie meer over is.”

Bron: agd.media, 6 januari 2011

Ijkmomenten in de recente geschiedenis

Nederland is een agrarische grootmacht. Oud-minister Gerrit Braks van landbouw grapte er ooit over tegenover een Amerikaanse president bij zijn

bezoek aan Nederland. Handel zit de Nederlanders in het bloed. Meer factoren leverden een bijdrage, zoals onderzoek, voorlichting, de oprichting van de Europese Unie. agd.media zet dit jubileumjaar twaalf ijkmomenten op een rij.

De krant die in 1986 begon als Agrarisch Dagblad en nu door het leven gaat als agd.media, bestaat in 2011 25 jaar. Een uitgelezen moment om stil te staan bij belangrijke gebeurtenissen in de recente geschiedenis van de Nederlandse land- en tuinbouw.

agd.media selecteerde in samenwerking met Wageningen University & Researchcentrum twaalf van deze ijkmomenten. Volgend jaar staat agd.media onder de noemer Groene Canon elke maand stil bij zo'n thema.

De redactie maakte een selectie uit het brede scala aan gebeurtenissen en ontwikkelingen in de sector. Een sector die een eeuw geleden nog werk bood aan ruim dertig procent van de beroepsbevolking. Volgens de huidige statistieken is dat nu nog maar twee procent. Toch is de land- en tuinbouw voor de Nederlandse samenleving van zeer grote betekenis. De totale agribusiness is goed is voor netto 23 miljard euro export per jaar.

Nederland transformeerde van een boerennatie naar een agrarische grootmacht met exportmarkten over de hele wereld. Kennis, onderzoek en voorlichting hebben daarin een grote invloed gespeeld. Niet voor niks herbergt Nederland de wereldwijd toonaangevende landbouwuniversiteit in Wageningen. Het koloniale verleden, maar ook de Rotterdamse haven, luchthaven Schiphol zijn belangrijk. Het gemeenschappelijk landbouwbeleid, eerst van de EEG en later van de Europese Unie, gaf het beslissende zetje voor de ontwikkeling van deze agrarisch grootmacht.

Lange tijd stond het vizier vooral op productie. De Nederlandse én Europese bevolking moest worden gevoed, en minder afhankelijk worden van import. De laatste decennia is daarop ook kritiek ontstaan. De eenzijdige focus op productie ging soms ten koste van het dier, zoals in legbatterijen of kalverboxen. De natuur leed onder de tekentafelplannen bij ruilverkavelingen. Nog los van de effecten van bestrijdingsmiddelen (toen heetten deze nog zo) en overbemesting.

De tuinbouw veranderde van geploeter op enkele ares naar hightech-teelt in kassen. Eerst energielurpende exemplaren, nu netto leveranciers aan energiemaatschappijen. De technologische mogelijkheden raken ook de ethische grenzen. Mag de mens aan erfelijk materiaal sleutelen van dieren en planten? En wat zijn de gevolgen van deze moderne biotechnologie?

Icoon

agd.media kiest voor elk ijkmoment een icoon. Dit icoon is exemplarisch voor de ontwikkeling van het gekozen thema. Zoals bijvoorbeeld Fokkerij. We trappen vandaag af met dit thema. Wie staat er beter model voor de Nederlandse fokkerij dan stier Sunny Boy? Zo kiezen we voor gewasbescherming, het thema in februari, voor het lieveheersbeestje.

Wij staan op de site agd.nl en in de krant uitgebreid stil bij een persoon die een grote invloed heeft gehad op de ontwikkeling. Voor de veefokkerij is dat onmiskenbaar de Wageningse hoogleraar Rommert Politiek. Hij legde in de jaren vijftig en zestig van de vorige eeuw de basis voor de moderne fokkerij.

Wij kijken niet alleen terug. De historische verhandelingen kunnen wel een duiding geven aan de huidige situatie. En natuurlijk blikken we met de lezer vooruit. We schetsen de ontwikkelingen, de mogelijke routes en de grote knelpunten, soms van maatschappelijke aard, soms wetenschappelijk.

Na de aftrap op elke laatste vrijdag van de maand, geeft agd.media op de site en in de krant gedurende de maand verdere invulling aan het thema. Dat kan met achtergronden, analyses, interviews, reportages en opiniebijdragen. Wij zullen gastauteurs vragen hun zienswijze te geven.

De Groene Canon biedt verdere verdieping. Het is ook een prima opzet om de schat aan informatie van Wageningen UR, denk aan documenten, onderzoek, verslagen en scripties, te ontsluiten. Deze informatie kan worden aangevuld met audio, video en beeldmateriaal.

www.agd.nl/groenecanon

De Groene Canon staat stil bij gebeurtenissen in de recente geschiedenis. Het is niet zozeer een historische verhandeling, maar een thema bekeken vanuit een historisch perspectief, het hier en nu en met het oog op de toekomst. agd.media biedt daarmee verdere verdieping en extra informatie aan de abonnees. Wageningen UR ontsluit via de website www.agd.nl/groenecanon kennis voor een groter publiek. Elke maand staat een thema centraal. Op de website en in de krant werken we gedurende die maand met achtergronden, analyses en interviews dit verder uit.

Twaalf ijkmomenten

- 1 Fokkerij
- 2 Gewasbescherming
- 3 Europese Unie
- 4 Veredeling
- 5 Landinrichting
- 6 Krachtenbundeling
- 7 OVO-drieluik
- 8 Milieu
- 9 Mechanisatie
- 10 Specialisatie/schaalvergroting
- 11 Afzet
- 12 Kunstmest

Bron: *Agrarisch Dagblad*, 31 december 2011

Stap vooruit in mechanisme om stikstof voor gewassen te binden

Het mechanisme waarmee sommige planten stikstof uit de lucht binden is een stap verder ontrafeld. Onderzoekers van Wageningen University, onderdeel van Wageningen UR, zijn een opmerkelijke overeenkomst op het spoor tussen de wijze waarop de bijzondere plant *Parasponia* via *Rhizobium*-bacteriën stikstof bindt en de manier waarop bijna alle planten via schimmels voedingsstoffen uitwisselen. Hun onderzoek verschenen in *Science Express* van 23 december, draagt bij aan de ontwikkeling van een milieuvriendelijk alternatief voor de energievergende productie van stikstofkunstmest.

Parasponia is een opmerkelijke plant. De op het oog onopvallende tropische boom uit Nieuw-Guinea verstaat de kunst om samen met *Rhizobium* stikstof uit de lucht te binden, een competentie die tot de ontdekking van de plant in 1973 alleen aan vlinderbloemige planten zoals soya, erwt bonen, acacia's en klaver werd toegeschreven. Voor een efficiënte stikstofvastlegging heeft *Parasponia*, net als de vlinderbloemigen, een 'contract' gesloten met *Rhizobium*-bacteriën. Dit behelst dat zij elkaar bij hun groei niet afweren met agressieve stoffen maar elkaar zelfs van voedingsstoffen voorzien. Symbiose noemen biologen dit verschijnsel.

Het onderzoeksteam van het Laboratorium voor Moleculaire biologie van Wageningen University koos het verbond van *Parasponia* en *Rhizobium*-bacteriën om de precieze werking ervan te ontrafelen. Want juist *Parasponia* is zo interessant omdat de plant de interactie met de bacteriën pas zo'n tien miljoen jaar geleden is aangegaan. Dat is relatief kort geleden, aangezien de vlinderbloemigen de relatie met de bacteriën in hun ondergrondse knolletjes al zo'n tachtig miljoen jaar onderhouden. De recente samenwerking is daarom zo geschikt omdat nog weinig genetische aanpassingen zijn gepleegd waardoor het mogelijk is de genen van het oorspronkelijke mechanisme te identificeren.

Het onderzoeksteam concentreerde zich op de manier waarop de *Rhizobium*-bacteriën signalen (zgn. Nod-factoren) afgeeft aan *Parasponia*. De plant herkent die signalen met speciale 'ontvangers', receptoren genoemd. Nu is zo'n receptor doorgaans gevoelig voor slechts één signaal. Maar niet bij de Nod-factor-ontvanger van *Parasponia*. Zijn ontvanger voor het signaal van de *Rhizobium*-bacterie blijkt ook gevoelig



te zijn voor de signaalstof die schimmels (mycorrhiza) gebruiken om de wortels van planten te paaien ook een samenlevingsovereenkomst aan te gaan. Deze manier van doen is in de evolutie stokoud: vanaf het moment dat planten vanuit het water zich op het land gingen vestigen, zo'n vierhonderdmiljoen jaar geleden, en geen idee hadden hoe ze voedingsstoffen uit de bodem konden opnemen. Vanaf dat moment zijn ze niet meer van elkaars zijde geweken, zodat van alle nu bestaande plantensoorten zo'n tachtig procent in symbiose kunnen leven met wortelschimmels om voedingsstoffen uit de bodem op te nemen. Dat betekent ook dat in vrijwel alle plantensoorten de genetische basis voor samenwerking met schimmels en dus *Rhizobium*-bacteriën reeds voorhanden is.

Wereldvoedsel

Stikstof is, samen met fosfaat, de belangrijkste meststof voor landbouwgewassen. Eiwitten zijn opgebouwd uit aminozuren en bevatten veel stikstof. In het Westen vergt de productie van stikstof in kunstmest omstreeks de helft van de energie-input in de landbouw. Met behulp van zonlicht verrichten vlinderbloemigen en Parasponia deze service gratis. Als de landbouwproductie vanwege de groeiende wereldbevolking van zo'n negen miljard zielen in 2050, moet stijgen, is een duurzame manier van stikstofbinding voor landbouwgewassen onontbeerlijk. Als het mechanisme waarop de interactie tussen symbionten verloopt helder is, kunnen plantenveredelaars op termijn dat mechanisme

inbouwen in andere wereldgewassen als de aardappel, tarwe en andere granen voor zowel de productie van voedsel als biobrandstoffen. Daarmee kunnen deze gewassen voorzien in hun eigen stikstofbehoefte met bijbehorende verhoogde opbrengsten.

Bron: Nieuwsbericht Wageningen UR, 24 december 2010

Aangeboren afweer van planten tegen virussen werkt anders dan gedacht

De zogenoemde immuunreceptor die er voor zorgt dat sommige aardappelrassen zich kunnen verdedigen tegen het aardappel-X-virus, herkent de virussen weliswaar in het cytoplasma, maar moet tegen de verwachting in ook in de celkern aanwezig zijn om een goede afweer mogelijk te maken. Erik Slootweg en Wladimir Tameling, onderzoekers van twee verschillende leerstoelen van Wageningen University, onderdeel van Wageningen UR, publiceren samen met hun collega's de opmerkelijke vondst in twee publicaties die op één en het zelfde moment verschijnen in het wetenschappelijk tijdschrift *The Plant Cell*. De vinding is van groot belang omdat ook andere planten en zelfs dieren en mensen beschikken over dit soort aangeboren afweer tegen ziekteverwekkers. Op de lange termijn kan de vondst bij planten wellicht leiden tot de ontwikkeling van gewassen met een afweer die heel moeilijk door virussen omzeild kan worden.

Aardappelplanten kunnen zich tegen het aardappel-X-virus (PVX) verdedigen als ze het resistentiegen bevatten dat codeert voor het Rx-eiwit. Het gen behoort tot een grote groep van genen die coderen voor immuunreceptoren, eiwitten die betrokken zijn bij de aangeboren afweer tegen ziekteverwekkers. Dergelijke immuunreceptoren komen voor bij planten, dieren én mensen. Als een virus een cel binnendringt en in het cytoplasma terecht komt, wordt hij daar door het de immuunreceptor als binnendringer herkend, waardoor een snelle afweerreactie op gang gebracht wordt.

Rx is een groot eiwit, dat daardoor niet zo maar vanuit het cytoplasma, waar het eiwit gemaakt wordt, in de celkern binnen kan komen. Eiwitten die zo groot zijn en tóch in de celkern noodzakelijk zijn, hebben over het algemeen een kenmerkend deel, het zogenaamde 'kernlokalisatiesignaal'. Dat deel van het eiwit wordt door de cel-machinerie gebruikt als een soort van 'postcode' om het eiwit de celkern in te brengen. Maar het Rx-eiwit bevat niet zo'n postcode. Daarom werd verwacht dat de immuunreceptor alleen in het cytoplasma aanwezig en actief zou zijn.

Om de werking van de Rx immuun receptor te ontrafelen, hingen de Wageningse onderzoekers een groen fluorescerend eiwit aan het Rx-eiwit. Daarmee konden ze onder de fluorescentie-microscopie in levende cellen nagaan wáár in de cel het Rx-eiwit aanwezig was. Zo ontdekten ze dat het Rx-eiwit wel degelijk ook in de celkern aanwezig was.

Omdat Rx geen 'postcode' voor het transport naar de kern bevat, zal het waarschijnlijk op een uitzonderlijke manier de kern in worden getransporteerd. Eerst werd gedacht dat het aan Rx-bindende eiwit RanGAP2 dit transport zou stimuleren. Maar RanGAP2 bleek juist een tegenovergestelde rol te vervullen, namelijk het in het cytoplasma vasthouden van een deel van de Rx-moleculen.

De Wageningse onderzoekers wilden graag weten of de aanwezigheid van Rx in de celkern ook van belang is voor de daadwerkelijke afweer tegen virussen. In experimenten zorgden ze ervoor dat de immuunreceptor-moleculen niet in de celkern terecht konden komen of juist allemaal vanuit het cytoplasma naar de celkern werden getransporteerd. In beide gevallen bleken de planten zich niet meer te kunnen verdedigen tegen het virus. Kennelijk is het voor een goede afweer van groot belang dat er een zekere balans is tussen de hoeveelheid Rx in de celkern en de hoeveelheid Rx in het cytoplasma. Omdat RanGAP2 een deel van de Rx-moleculen in het cytoplasma vasthoudt, helpt RanGAP2 de plant aan een juiste balans tussen de hoeveelheid Rx in de celkernen en de hoeveelheid Rx in het cytoplasma. De rol van RanGAP2 is daardoor cruciaal voor een goede afweer tegen ziekteverwekkers.

Immuunreceptoren komen bij planten, dieren én mensen voor, en zorgen voor een aangeboren afweer tegen ziekteverwekkers, waaronder virussen. De vondst van de Wageningse onderzoekers is daarom ook van belang voor een beter begrip van onze eigen aangeboren afweer tegen ziekteverwekkers. Op de lange termijn kan de vondst wellicht leiden tot de ontwikkeling van planten met een weerstand tegen virussen die heel moeilijk door de virussen te omzeilen is.

Bij het onderzoek naar de werking van het Rx-eiwit waren twee leerstoelen van Wageningen University betrokken: Fytopathologie (groep Matthieu Joosten) en Nematologie (groep Aska Goverse). Het onderzoek is medegefinancierd door NWO en de EU.

Bron: Nieuwsbericht Wageningen UR, 24 december 2010

Malaria bestrijden met schimmel

Promovenda Marit Farenhorst ontdekte een manier om malariamuggen te bestrijden met schimmels. Mogelijk een belangrijke doorbraak, nu steeds meer muggen resistent zijn tegen traditionele insecticiden.

In haar proefschrift, dat ze onlangs met succes aan Wageningen University, onderdeel van Wageningen UR, verdedigde, laat Farenhorst zien dat schimmels insecticidenresistente muggen effectief om zeep helpen. In haar proefopstelling bleken alle geïnfecteerde insecten na een week dood te zijn. Bovendien ontdekte ze dat de twee bestrijdingsmethoden, insecticiden en schimmels, elkaars effectiviteit versterken.

Kleipotten

Het onderzoek van Farenhorst begon in 2006 toen ze als studente ging experimenteren met een methode om muggen met schimmels te infecteren. Ze ontdekte dat dit uitstekend ging door de schimmels aan te brengen in populaire schuilplaatsen voor malariamuggen: potten van klei. Die ontdekking gebruikte ze in haar latere onderzoek.

Als onderzoeker heeft ze met dat onderzoek al de nodige aandacht gekregen. Ze publiceerde artikelen in gezaghebbende tijdschriften als PNAS en PLoS ONE. Maar ook zat ze onder meer aan tafel bij Matthijs van Nieuwkerk in 'De Wereld Draait Door', waar ze als briljante jonge wetenschapper haar verhaal mocht doen.

Geen bed

Door haar onderzoek heeft Farenhorst ook een kritische visie op de traditionele malariabestrijding gekregen. Farenhorst: "Bestrijding met insecticiden werkt alleen maar resistentie in de hand. Dat er nog steeds DDT gebruikt wordt is al helemaal te gek voor woorden.



Marit Farenhorst vangt muggen op locatie in Afrika.

Volgens haar hangen de problemen van malariabestrijding vooral samen met het ontbreken van goede bestrijdingsmethoden: wat in het lab werkt hoeft nog niet te werken in het veld. Zo worden er in malarialanden op grote schaal klamboes verstrekt. Farenhorst: “Maar die werken niet omdat veel mensen geen bed hebben.”

Bron: Nieuwsbericht Wageningen UR, 22 december 2010

‘Chemische bestrijding aaltjes steeds belangrijker’

Telers en hun standsorganisaties moeten er alles aan doen de huidige mogelijkheden voor chemische grondontsmetting intact te houden, om toenemende problemen met aaltjes in te dammen. “Heb je eenmaal aaltjes, dan kom je daar vaak nooit meer van af. Je kunt wel proberen het probleem te beheersen”, aldus DLV-ers Luc Remijn en Jeroen Willemse.

In het zuidwestelijke kleigebied veroorzaken met name maïswortelknobbelaaltjes (*Meloidogyne chitwoodi*), vrijlevende aaltjes (met name *Trichodorus primitivus*) en stengelaaltjes (*Ditylenchus dipsaci*) steeds meer schade. De bestrijding is op papier nog wel aardig te organiseren met onder andere vruchtwisselingsmaatregelen en populatieonderdrukkende groenbemesters. De werkelijkheid is vaak weerbarstig, doordat aaltjesbestrijdende gewassen niet passen, door het ontbreken van rassen die op de betreffende grondsoort passend zijn, of omdat de ruimte ontbreekt. Groenbemesters als grasachtigen zijn vaak geen oplossing: ze vermeerderen stengelaaltjes nauwelijks, maar werken sterk populatiebevorderend voor *Trichodorus*-aaltjes. Rammenas kampt met soortgelijke beperkingen. Biologische grondontsmetting en biofumigatie zijn te duur, en resultaat is niet gegarandeerd. Droge grondontsmetting veroorzaakt uitsluitend de tijdelijke verlamming van de aaltjes, waardoor de werkingsduur vaak te kort is om een gewas zonder schade weg te laten groeien. Blijft over natte grondontsmetting met metam-natrium. Er is echter sprake van dat dit middel gaat verdwijnen (genoemd wordt 2015). “Dat zou een ramp zijn: chemische middelen worden steeds belangrijker.”

Bron: Groenten en Fruit, 21 december 2010

VN-rapport meldt voortgaand verlies van landbouwgrond in de wereld.

Ieder jaar gaat een areaal van dertig miljoen hectare landbouwgrond - een oppervlak zo groot als Italië -

verloren ten gevolge van milieubederf, industrialisering en verstedelijking. Dat meldt een rapport van de Verenigde Naties dat vorig jaar oktober verscheen.

“Deze ontwikkeling heeft dramatische consequenties voor honderden miljoenen boeren, vissers en inheemse volken” constateert de schrijver van het rapport, Olivier de Schutter. Deze speciale rapporteur van de VN over het recht op voedsel, zei tijdens de presentatie van het rapport: “500 miljoen kleine boeren lijden momenteel honger, omdat het recht op grond hun wordt ontnomen. Terwijl de plattelandsbevolking groeit en de concurrentie met industriële activiteiten toeneemt, neemt het aantal percelen dat door kleine boeren wordt bebouwd ieder jaar verder af. Boeren worden vaak verdreven naar grond die onvruchtbaar of bergachtig is of niet geïrrigeerd wordt.” Het rapport van De Schutter benadrukt dat de combinatie van milieubederf, verstedelijking en aankoop van grote stukken land door buitenlandse investeerders een ‘explosieve cocktail’ vormt. Wereldwijd gaat volgens hem ieder jaar vijf tot tien miljoen hectare landbouwgrond verloren door ernstige aantasting van het milieu en nog eens 19,5 miljoen door industrialisering en verstedelijking. De druk van zeer grote agrarische ondernemingen heeft deze ontwikkeling nog eens versterkt. De Schutter: “Ieder jaar wordt door investeerders meer dan veertig miljoen hectare bouwland gekocht (.....) Deze ontwikkelingen hebben een enorme impact op kleine boeren, inheemse volken, herders en vissers die voor hun bestaan afhankelijk zijn van grond en water.” De VN-rapporteur gaf aan dat kleine boeren beschermd moeten worden tegen ‘landjepik’ en tegen speculanten die landbouwgrond bijvoorbeeld willen gebruiken voor grootschalige gemechaniseerde landbouw voor de productie van agrobrandstof. “Om het recht op voedsel te kunnen waarborgen, moeten mensen toegang hebben tot grond”, benadrukte De Schutter. Volgens hem zouden er agrarische hervormingen doorgevoerd moeten worden als er sprake is van grote ongelijkheden bij de verdeling van land of in situaties waarin mensen zo weinig toegang hebben tot grond dat zij niet in staat zijn om voldoende voedsel voor zichzelf te verbouwen.

Bron: Verenigde Naties, UN Daily News 21 oktober 2010
Bewerking: Marian Kruijning, vertaalbureau Tramontane

De redactie van Gewasbescherming besteedt bij het verzamelen van de informatie voor de rubriek Nieuws aandacht en zorg aan de juistheid van deze informatie, maar kan deze niet garanderen. De items in de rubriek Nieuws geven de zienswijze van de betreffende bron weer en uitdrukkelijk niet die van de redactie of van de KNPV. De redactie is niet verantwoordelijk en/of aansprakelijk voor eventuele fouten en onvolkomenheden in de verstrekte informatie.

Binnenlandse bijeenkomsten**28 april**

KNPV-werkgroep 'Phytophthora & Pythium', Gent

Info: a.decock@cbs.knaw.nl

24 mei 2011

63rd International Symposium on Crop Protection, Gent, België.

Info: www.iscp.ugent.be

8 juni 2011

KNPV-voorjaarsvergadering, thema: Plantgezondheid zonder grenzen – het fytosanitaire systeem nader belicht.

Info: www.knpv.org

13-17 augustus 2011

14th Symposium on Insect-Plant Interactions, Wageningen.

Info: Marcel.Dicke@wur.nl

17-18 augustus 2011

Keeping Pesticides out of Water workshop, Wageningen (AAB Pesticide Application Group)

Info: www.aab.org.uk

10-12 januari 2012

International Advances in Pesticide Application, Wageningen (AAB Pesticide Application Group)

Info: www.aab.org.uk

Buitenlandse bijeenkomsten**19-21 mei 2011**

4th International PPPHE Symposium, Berlin, Germany.

Info: www.phytomedizin.org

23-28 mei 2011

4th International Workshop for *Phytophthora*, *Pythium* and Related Genera in College Park, Maryland, USA.

Info: gloria.abad@aphis.usda.gov

8-10 juni 2011

SuproFruit 2011; the 11th Workshop on Sustainable Plant Protection Techniques in Fruit Growing, Ctifl, Bergerac, Frankrijk.

Info: suprofruit2011@ctifl.fr

15-16 juni 2011

Agricultural Ecology Research: its role in delivering sustainable farm systems, West park Centre, Dundee, Scotland.

Info: www.aab.org.uk

19-23 juni 2011

The IOBC/WPRS Working Group meeting on Insect Pathogens and Entomoparasitic Nematodes on 'Biological Control in IPM Systems', Innsbruck, Austria.

Info: www.uibk.ac.at/bipesco/iobc_wprs_2011/

28-29 juni 2011

GM Crops: From Basic Research to Application, Rothamsted Research, Harpenden, UK.

Info: www.aab.org.uk

17-21 juli 2011

Freshcut2011, II International Conference on Quality Management of Fresh Cut Produce, Torino, Italy.

Info: www.freshcut2011.org/

24-30 juli 2011

XVIII International Botanical Congress in Melbourne, Australia.

Info: www.ibt2011.com/

6-11 augustus 2011

Joint XVII International Plant Protection Congress and 2011 APS Annual Meeting, Honolulu, Hawaii.

Info: www.apsnet.org

5-7 september 2011

Resistance 2011, Rothamsted Research, UK.

Info: www.rothamsted.bbsrc.ac.uk/resistance2011.html

11-14 september 2011

8th International Symposium on *Mycosphaerella* and *Stagonospora* Diseases of Cereals, Mexico City

Info: <http://conferences.cimmyt.org/es/8th-international-symposium>

14-16 september 2011

IV International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (BioMicroWorld2011), Torremolinos-Malaga (Spain)

Info: www.formatex.org/icar2010

18-22 september 2011

Working Group 'Integrated Control in Protected Crops, Temperate Climate', Norton Park Hotel, Sutton Scotney (IOBC)

Info: www.aab.org.uk

12 oktober 2011

New technologies for early pest and disease detection, The Olde Barn Hotel, Marston, Lincs (AAB AM&B Group)

Info: www.aab.org.uk

13-16 november 2011

Entomological Society of America Annual Meeting, Reno-Sparks Convention Center, Reno, Nevada, USA.

Info: www.entsoc.org

29 november 2011

Biopesticide conference, The Olde Barn Hotel, Marston, Lincs (AAB Biological Control Group)

Info: www.aab.org.uk

30 november 2011

Advances in Biological Control, The Olde Barn Hotel, Marston, Lincs (AAB Biological Control Group)

Info: www.aab.org.uk

13 december 2011

Advances in Nematology, Linnean Society of London (AAB Nematology Group)

Info: www.aab.org.uk

4-8 augustus 2012

APS Annual Meeting, Providence, Rhode Island, USA.

Info: www.apsnet.org

18-22 februari 2013

International conference. Herbicide resistance challenge, Perth, Australia.

Info: www.herbicideresistanceconference.com.au

25-31 augustus 2013

10th International Congress of Plant Pathology 2013 (ICPP2013) 'Bio-security, Food Safety and Plant Pathology: The Role of Plant Pathology in a Globalized Economy' in Beijing, China.

Info: www.icppbj2013.org

[VOORWOORD

Themanummer Versterking Infrastructuur Plantgezondheid
 Goud, J.C. 43

[ARTIKELN

Inleiding tot het FES-programma 'Versterking infrastructuur plantgezondheid'
 Huttinga, H., Boogert, P.H.J.F. van den & Smolders, J.W.J. 44

Van Boktor naar barcode: hoe een combinatie van morfologische en moleculaire kenmerken onze kennis van plagen kan versterken
 Loomans, A.J.M. & Potting, R.P.J. 47

De ontwikkeling van een informatiesysteem voor invasieve plantensoorten
 Duistermaat, H., Valkenburg, J.L.C.H. van, Speek, T.A.A., Wiel, C.C.M. van de, Smulders, M.J.M., Moorsel, R.C.M.J. van & Lotz, L.A.P. 53

Taxonomie van plant-pathogene schimmels als basis voor identificatie en detectie Resultaten van het Uitvoeringsconsortium Schimmels
 Zwiers, L.-H., Aveskamp, M.M., Bonants, P.J.M., Brouwer, H., Cock, A.W.A.M. de, Damm, U., Gruyter, J. de, Meekes, E.T.M., Verstappen E.C.P. & Woudenberg, J.C.M. 57

Grip op virussen
 Vlugt, R.A.A., Verbeek, M., Roenhorst, J.W., Botermans, M., Kock, M.J.D. de, Schadewijk, A.R. van, Miglino, R., Meekes, E.T.M., Kormelink, R. & Lent, J.W.M. van 62

CSI ook in de Plantenwereld
 Bonants, P.J.M. & Lee, T.A.J. van der 66

Levend of dood, dat is de vraag!
 Lee, T.A.J. van der, Leeuwen, G.C.M. van, Haan, E.G. de, Helder, J., Koenraadt, H.M.S. & Bonants, P.J.M. 71

DNA-extractie zonder remming
 Bonants, P.J.M. & Lee, T.A.J. van der 75

Digitale sleutels en visuele hulpmiddelen ter herkenning van invasieve plantensoorten
 Duistermaat, H., Valkenburg, J.L.C.H. van, Pot, R. & Boer, E. 78

Tegengaan besmettingsrisico's als onderdeel van normale plantaardige bedrijfsvoering. Communicatie als middel om preventief handelen te stimuleren
 Koole, J.C. & Leendertse, P.C. 82

Communicatie naar onderwijs en ondernemers: Fytoquest en Fytocheck. Laat zien hoe interessant de fyto-sanitaire wereld kan zijn!
 Kolk, A.W. van der 86

[COLUMN

Gewasbescherming nieuwe stijl?
 Vijverberg, A.J. 90

[NIEUWE PUBLICATIES 92

[NIEUWS 95

[AGENDA 113