

# Simultanema: Kwantitatieve simultane detectie van meerdere aaltjessoorten

Thema: Doorontwikkelen geïntegreerde gewasbescherming

BO-06-013-001.06

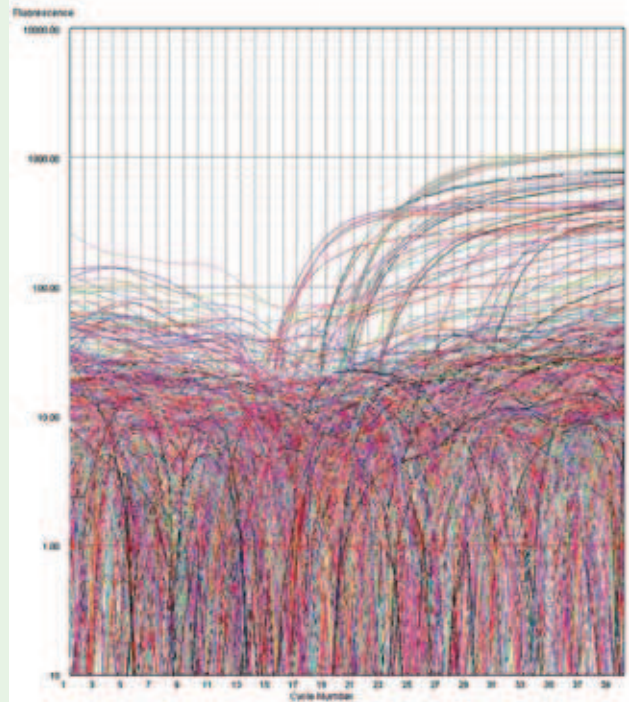
## Probleem

In de Nederlandse open teelten veroorzaken aaltjes aanzienlijke schade. De praktijk heeft behoefte aan een snelle en betrouwbare methode die verschillende aaltjessoorten nauwkeurig kan vaststellen in een grondmonster. De momenteel toegepaste incubatiemethoden en het telwerk zijn tijdrovend, geven geen eenduidige resultaten en vereisen veel expertise bij de uitvoering. Bestaande multiplex detectiemethoden zijn voor het aantal gewenste te testen soorten niet geschikt.

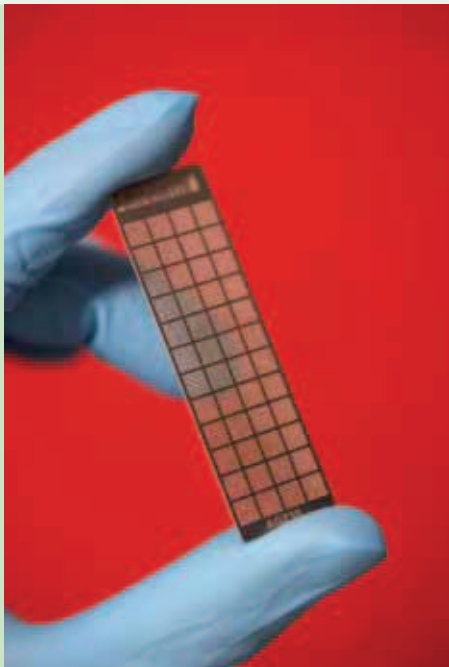
## Onderzoek

Doel is een geschikte toets maken voor de agrosector die snel, gelijktijdig meerdere aaltjessoorten kwantitatief kan aantonen.

- Testen van geschiktheid van bestaande real-time PCRs voor detectie van *Meloidogyne hapla* op het BioTrove systeem
- Uitbreiden van de toets naar detectie van meerdere aaltjessoorten



Typisch beeld van amplificatiecurves na real-time PCR op BioTrove Open-Array.



BioTrove Open-Array, bestaande uit 48 subarrays. De Open-Array maakt het mogelijk in één keer, voor 48 te analyseren monsters, per monster, 64 onafhankelijke real-time PCR-reacties uit te voeren.

## Resultaten

- Een *M. hapla* SYBR Green PCR getest op een 'lege' BioTrove array toont 1 J2 in een praktijkmonster aan
- Een *M. hapla* TaqMan PCR getest op een 'pre-spotted' array is iets minder gevoelig, maar toont 1 J2 in een praktijkmonster wel aan na een pre-amplificatiestap

## Praktijk

Om de test in de praktijk te kunnen brengen worden de volgende zaken in vervolgonderzoek binnen het bodemgezondheidsproject uitgezocht:

- Kan de SYBR Green PCR ook 1 J2 per monster aantonen wanneer pre-spotted subarrays gebruikt worden?
- In hoeveel gaatjes van de subarray (die uit 64 gaatjes bestaat) moeten de primers (en probe) worden gespot voor een betrouwbaar resultaat?
- Welke andere real-time PCRs voor detectie van soorten van *Meloidogyne*, *Globodera*, *Pratylenchus* en trichodoride aaltjes zijn geschikt?

Carolien Zijlstra & Richard van Hoof

Contact: Carolien Zijlstra  
Plant Research International  
Postbus 69, 6700 AB Wageningen  
T 0317 48 06 35- F 0317 41 80 94  
carolien.zijlstra@wur.nl - www.pri.wur.nl

Dit project is onderdeel van BO-programma  
Plantgezondheid van het Ministerie van LNV