

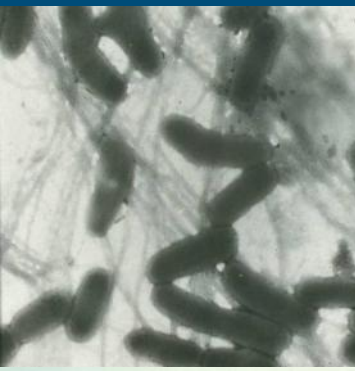
Bacterieziekte in *Prunus*: doe-het-zelf test

- Joop van Doorn, Fons van Kuik, Wendy Martin, Khanh Pham, Trees Hollinger, Pieter van Dalflen (PPO Bollen, **Bomen** en Fruit, Lisse)
- José van Beckhoven, Henry van Raaij (Prime Diagnostics, Wageningen)
- Dirand van Wijk, Marco Schuurmans (Cultus Agro Advies)

De bomen- en vaste plantensector investeert in dit project via het Productschap



Tuinbouw



PRAKTIJKONDERZOEK
PLANT & OMGEVING

WAGENINGEN UR

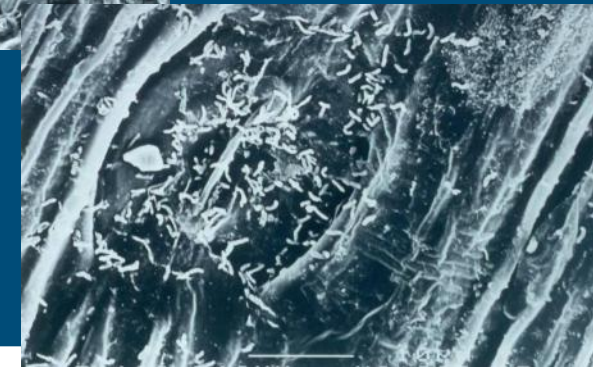
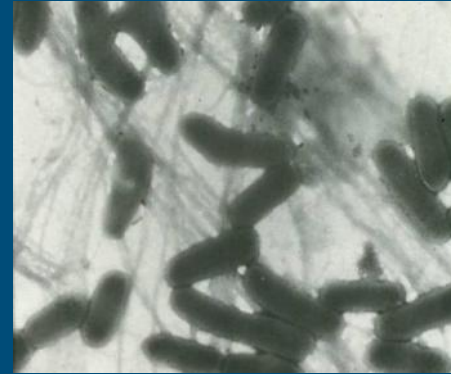
Bacterieziekten in *Prunus*

- Symptomen: hagelschot
- Kan ook door schimmels veroorzaakt worden
(*Phoma*, *Stigmina*,.....?)
- *Xanthomonas* en *Pseudomonas* geven vergelijkbare symptomen
- *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* (*Psm*)
- *Xanthomonas arboricola* pathovar *pruni* (*Xap*):
quarantaineziekte!!



Xanthomonas arboricola pathovar *pruni* (Xap)

- Geelgepigmenteerde bacterie
- Waardplant specifiek
- Overleving via reservestoffen (xanthan)
- Bewegelijk
- Vooral bij warme en vochtige condities
- Vooral via huidmondjes en beschadigingen



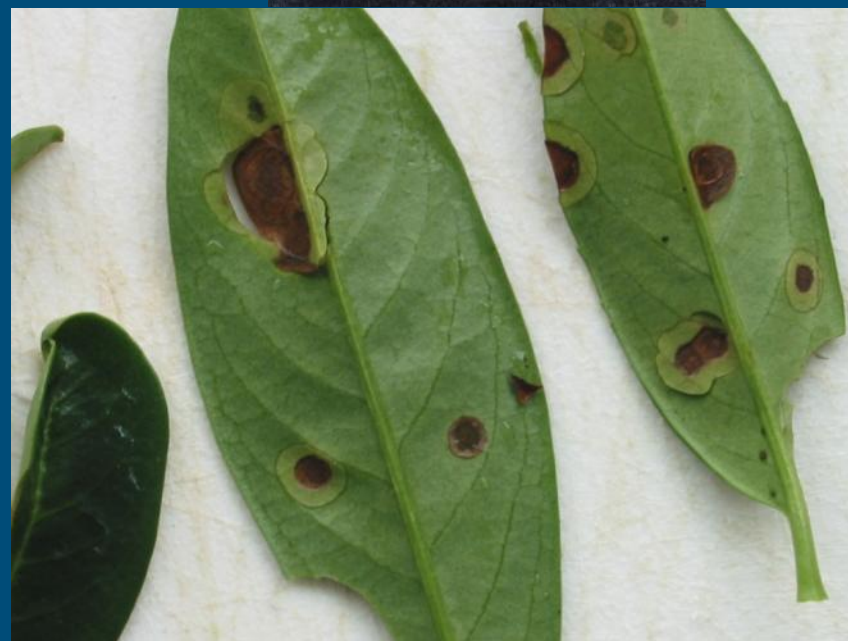
Onderzoek

- Rol van Xap en Psm vaststellen: symptomen (infectie-experimenten)
- Beschrijving ziektebeelden
- Verspreiding van deze bacteriën, hoe?
- Bedrijfsbezoeken: waar zit Xap?



Onderzoeksvragen

- Gewasbeschermingsmiddelen: werken die?
- Gevoelige en minder gevoelige cv's
- Communicatie
- **Snelle en betrouwbare diagnostiek**

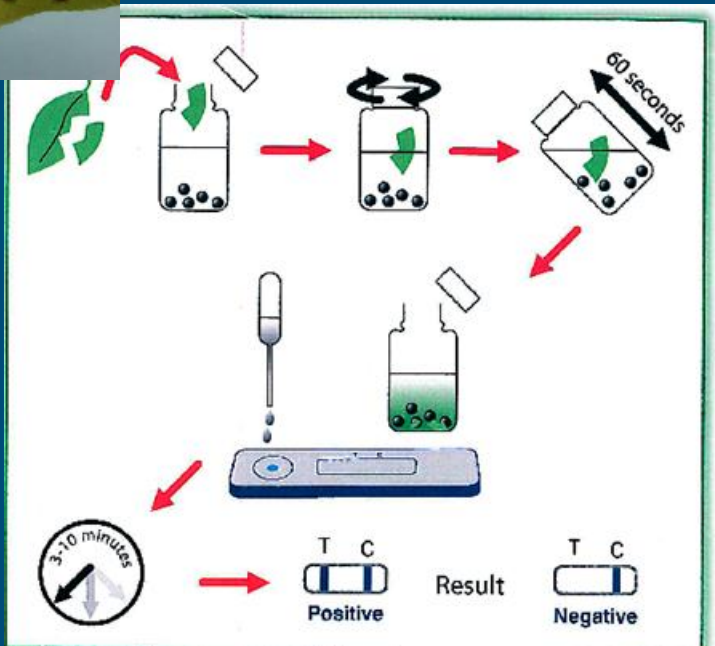


Diagnostiek

- Xap: DNA-toets beschikbaar
- Officiële diagnose:
Plantenziektenkundige Dienst
- Psm: een DNA-toets is in ontwikkeling
- Hagelschot: schimmels
- Diagnose: liefst snel op het bedrijf!



De zelf-test: hoe gaat dit in zijn werk?



- Stukje blad om het symptoom
- Schudden met glasparels in water
- Met pipetje in houder druppelen
- Specifiek antiserum herkent Xap
- Toont zich door extra streepje

Gevoeligheid?

- De zelftest kan ongeveer 10.000 bacterien aantonen
- De DNA-test is gevoeliger; deze kan nog enkele honderden bacteriën aantonen
- Voor de zelf-test is geen zuivering van het plantensap nodig



Hoe specifiek is de test?

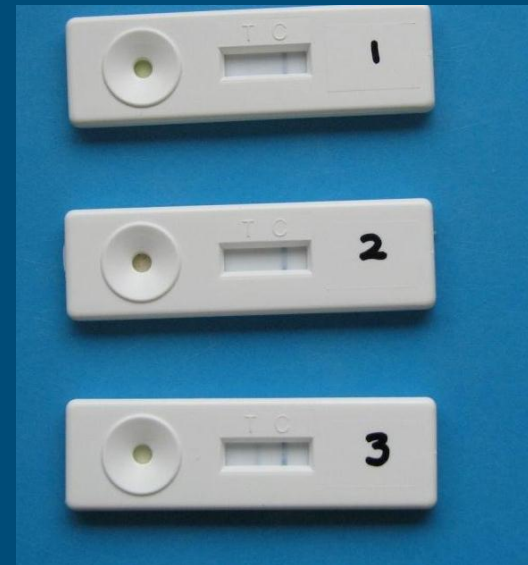
- De test toont ook nog enkele andere *Xanthomonas*-bacteriën aan (bv. die in hazelaar en op citrus)
- Dit is geen probleem; deze andere *Xanthomonas*-soorten komen **niet** op *Prunus* voor



Samenvatting

De testkit

- minder gevoelig dan DNA-test, maar robuuster
- uitvoerbaar binnen 15 minuten
- 5 testkits voor € 27,50
- Te verkrijgen bij Prime Diagnostics
- Cultus Agro Advies voert deze tests ook uit
- **vervangt niet de diagnose door de nVWA**



Meer informatie

- Websites:
 - <http://boomkwekerij.groenweb.nl>
 - <http://www.pri.wur.nl/UK/products/Prime+Diagnostics/>
- Vakbladartikel in “de Boomkwekerij” (10 juni 2011)
- Prime Diagnostics, Cultus of PPO BBF te Lisse

Vragen?

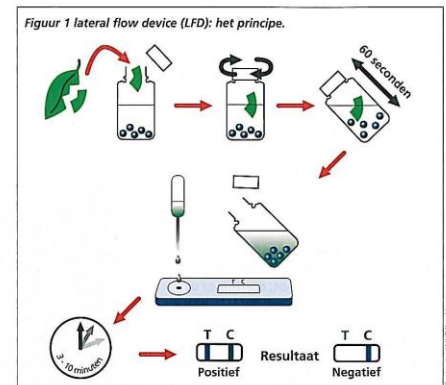


PRAKTIJKONDERZOEK
PLANT & OMGEVING

WAGENINGEN UR

Gewas Heesters/coniferen

Prime Diagnostics uit Wageningen heeft een methode ontwikkeld waarmee kwekers eenvoudig kunnen bepalen of *Prunus* is aangetast door de bacterie *Xanthomonas arboricola pv pruni*. Voor een officiële uitslag is nog steeds wel een test uitgevoerd door de nVWA of Naktuinbouw nodig.



Kweker kan zelf toetsen op *Xanthomonas* in *Prunus*

Xanthomonas arboricola pv pruni (*X. a. pv p.*) kan laurierkers aantasten en voor veel schade zorgen: het veroorzaakt een quarantaineziekte. De symptomen zijn niet te onderscheiden van aantasting door schimmels zoals *Phoma* en *Stigmina* (hagelschot), of van aantasting door de bacterie *Pseudomonas syringae pv mors-prunorum*, mogelijk ook *Pseudomonas syringae pathovar syringae*.

Toetsing om te achterhalen waardoor het schadebeeld wordt veroorzaakt, was tot nu toe eigenlijk alleen mogelijk via de keuringsdienst Naktuinbouw en de nVWA (voorheen Plantenziektenkundige Dienst). Prime Diagnostics heeft echter een antiserum ontwikkeld dat *X. a. pv p.* kan aantonen. Via een systeem in zakformaat is het voor kwekers mogelijk om binnen een kwartier een uitslag te krijgen.

Hoe werkt de toets?

Het ontwikkelde antiserum wordt ook gebruikt in de zogenoemde Elisa-test en bij immunofluorescentie kleuring (IF). Bij IF wordt een *X. a. pv p.*-bacterie herkend door het antiserum met een fluorescerende kleurstof die oplicht onder ultraviolet licht onder een speciale microscoop. Bij herkenning van *X. a. pv p.* in plantensap geeft de Elisa een kleurreactie.

Het antiserum dat wordt gebruikt in de Elisa-test of bij IF kan ook worden gebruikt in een lateral flow device (LFD) (figuur 1). Hierbij wordt plantensap gemaakt van bladmateriaal rondom het symptoom. Dit sap kan worden gemaakt met behulp van een bij de test geleverd buisje met kogeltjes

in een waterige oplossing.

Een stukje blad wat wordt verdacht van infectie door *X. a. pv p.*, wordt stukgemaakt door het schudden van het buisje met deze kogeltjes. Hierdoor ontstaat plantensap, waarin mogelijk de *X. a. pv p.*-bacteriën aanwezig zijn. Met een pipetje wordt wat van dit sap opgezogen en in een gaatje van de test gedruppeld. Bij een positieve reactie (*X. a. pv p.* is aanwezig in het sap) bindt het serum zich aan de bacterie op de test en dat geeft een kleurreactie. Er verschijnt dan binnen 15 minuten een extra streepje op de test (figuur 1).

Deze toets is minder gevoelig dan een DNA-toets, maar heeft als voordeel dat het te testen plantensap niet hoeft te worden gezuiverd. Zuivering is meestal wel nodig om een DNA-test uit te voeren.

Zelf toetsen

X. a. pv p. is een quarantaine-bacterie en valt onder de regelgeving van de nVWA. De hier beschreven test kan de definitieve test bij de nVWA niet vervangen. Toch is dit een mogelijkheid om zelf in te schatten of *Prunus* met hagelschotachtige symptomen besmet zijn met *X. a. pv p.*, of met iets anders.

Naast deze toets bestaan ook andere mogelijkheden om uit te vinden of *X. a. pv p.* de veroorzaker van het schadebeeld is. Er is door PPO een DNA-toets ontwikkeld, die in vrijwel alle gevallen *X. a. pv p.* kan aantonen. Dit moet echter in het laboratorium gebeuren. Voor een officiële uitslag moet de bacterie worden aangetoond. Dit

betekent dat voor een echt betrouwbare uitslag de bacterie moet worden geïsoleerd uit het plantmateriaal, en vervolgens moet worden getest bij de nVWA; dit kan weken duren.

Betrouwbaarheid

De LFD blijkt 10.000 *X. a. pv p.*-bacteriën per test te kunnen aantonen. Dit is in de meeste gevallen ruimschoots genoeg. Wanneer er symptomen zichtbaar zijn op het blad, zijn er bijna altijd tienduizenden bacteriën aanwezig. Verder is onderzoek van plantmateriaal geen remmend effect of vals-positieve reactie geeft. Dit was niet het geval. De kwaliteit van het antiserum was al eerder getest.

Daarnaast zijn in totaal 450 verschillende praktijkmonsters en geïsoleerde bacteriekweken getest. De resultaten van de LFD-testen kwamen 100% overeen met de resultaten uit de Elisa- of IF-test. Het bleek dat LFD voor het aantonen van *X. a. pv p.* geschikt is voor gebruik in de praktijk.

In 2011 worden op enkele bedrijven monsters geanalyseerd door Cultus Agroadvies met deze test. Wanneer deze monsters een negatieve uitslag geven (geen *X. a. pv p.* aanwezig), worden de monsters door PPO met DNA-toetsen gecontroleerd.

Joop van Doorn, Wendy Martin, Fons van Kuik zijn werkzaam bij PPO Boomkwekerij/WUR, (0252) 46 21 49, joop.vandoorn@wur.nl.

José van Beckhoven en Henry van Raaij zijn werkzaam bij Plant Research International/WUR.