



Het ontwikkelen van een detectietoets voor het aantonen van *Nectria galligena* in enthout

Peter Frans de Jong, Robert Dees, Maaïke de Vlas, Pieter van der Steeg, Arjan de Bruine
e-mail: peterfrans.dejong@wur.nl



Uitgangspunt

Entmateriaal uit fruitpercelen kan tot 10% uitval geven door vruchtboomkanker (*Nectria galligena*), terwijl entmateriaal uit de Vermeerderingstuinen van goede kwaliteit is. Als geen entmateriaal beschikbaar is, wordt enthout uit fruitpercelen gehaald. Dit materiaal heeft een verhoogde kans op infectie en daarom is vooraf testen op vruchtboomkanker belangrijk. Verschillende detectiemethoden zijn getest om aantasting door vruchtboomkanker verder in de keten te minimaliseren.



Doel

Het aantonen van *Nectria galligena* in twijgen, die nog geen symptomen laten zien. Door:

1. PCR-toets waarbij aanwezigheid van *Nectria galligena* wordt bepaald in twijgen of
2. twijgentest met afgesneden twijgen die versneld tot symptoom-expressie worden gebracht.

DNA-techniek

- Voor de PCR-toets is een primerset gebruikt uit de literatuur en twee primers van Plant Research International.
- Najaar 2009 zijn eenjarige Rubens- en Elstar-twijgen met drie concentraties *N. galligena*-sporen geïnoculeerd (0, 10⁴ en 10⁵ sporen/ml).
- PCR-beoordeling in december of januari.
- Takken vermalen tot fijn poeder en DNA geëxtraheerd.
- Resultaat binnen een week.

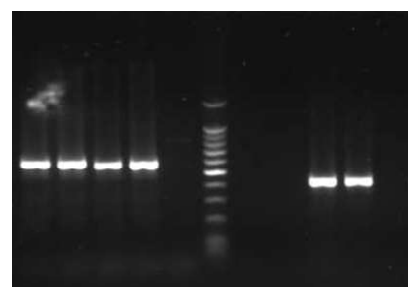
Twijgentest

- Najaar 2009 zijn eenjarige Rubens en Elstar-twijgen met drie concentraties *N. galligena*-sporen geïnoculeerd (0, 10⁴ en 10⁵ sporen/ml).
- Op twee tijdstippen (december en januari) twijgen geknipt.
- Afgeknipte twijgen op zand of in water weggezet onder voor vruchtboomkanker optimale omstandigheden.
- Na vier, acht en twaalf weken aantal kankers op de twijgen geteld.

Resultaten

- DNA-techniek: zowel bij Elstar als Rubens *N. galligena* aangetoond zonder zichtbare symptomen.
 - geen verschil tussen in december of januari geknipt enthout.
- Twijgentest: na twaalf weken was de meeste aantasting bij Elstar zichtbaar, bij Rubens resultaat vergelijkbaar.
 - twaalf weken op testuitslag wachten is te lang.

1 1 2 2 - M 1 1 2 2 -



1 = *Nectria cinnabarina*, 2 = *Nectria galligena*, M = marker; - = negatieve controle. PCR, links v/d marker, met algemene schimmel-primerset; PCR, rechts v/d marker met *N. galligena* specifieke primers.

Toekomst

- Twijgentest geeft te laat inzicht voor praktijk.
- Daarom focus op snellere DNA-toets, met daarbij onderzoek naar de mogelijkheid om op meerdere ziekten tegelijk te testen, zoals vruchtboomkanker en bacterievuur.
- Toekomst: wellicht mogelijk om enthout op te sturen om te testen op latente aanwezigheid van vruchtboomkanker.