

Biologische bestrijdingsmiddelen: kwaliteitscontrole met behulp van flowcytometrie

Carin Lombaers-van der Plas, Jan Bergervoet, Pim Paternotte, Jürgen Köhl

Uitgangspunt

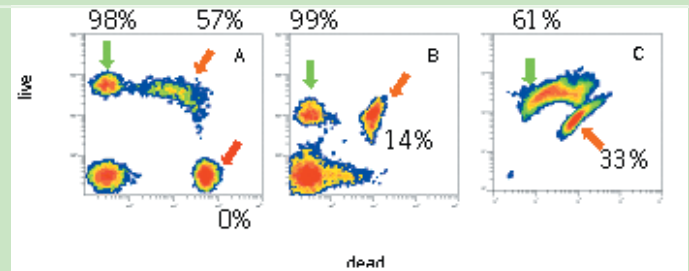
Voor een kosteneffectieve biologische bestrijding van plantenziekten met antagonistische schimmels is het nodig de sporen van de antagonisten in grote hoeveelheden te kunnen produceren en formuleren. Tijdens de massaweek, de formulering en de bewaring kan de kwaliteit van de sporen achteruit gaan. Voor commercieel gebruik van batches van sporen is een hoge kwaliteit van de sporen vereist.

Flowcytometrie biedt de mogelijkheid om de sporenkwaliteit te monitoren (Figuur 1).

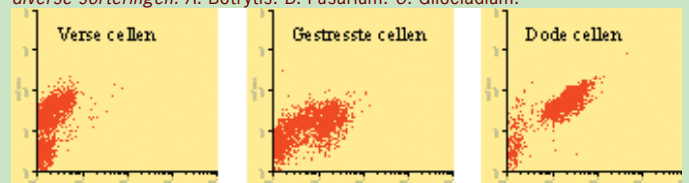
Onderzoek

Oriënterende proeven voor de kwaliteitsbepaling van meerdere batches van sporen van de modelantagonist PBGY1:

- Ontwikkeling van een protocol voor de karakterisatie van de sporenkwaliteit van PBGY1 met behulp van flowcytometrie.
- Doormeten van de beschikbare batches met behulp van flowcytometrie.
- Validatie van de metingen in bio-toetsen op snijbloemen.



Figuur 1. Sortering van conidia met behulp van flowcytometrie door gebruik van differentiale kleuringen; vitale conidia zijn met een groene pijl gemerkt, intermediaire/dode conidia met een oranje pijl en dode conidia met een rode pijl. Het kiemingspercentage van de gesorteerde conidia is aangegeven voor de diverse sorteringen. A. *Botrytis*. B. *Fusarium*. C. *Gliocladium*.



Figuur 2. Sortering van cellen van PBGY1 met behulp van flowcytometrie door gebruik van differentiale kleuringen. Verschillende batches van cellen zijn vers gebruikt, door een warmtebehandeling kunstmatig gestresst of door een hittebehandeling afgedood. In de afbeeldingen representeren puntenwolken dicht aan die y-as vitale cellen. Punten met toenemende waarden op de x-as representeren cellen met afnemende vitaliteit.

Resultaten

- Er is een protocol voor de karakterisatie van de kwaliteit van cellen van PBGY1 met behulp van flowcytometrie is ontwikkeld.
- Verse, kunstmatig gestresste of afgedode cellen zijn met behulp van gebruik van een combinatie van fluorochromen door flowcytometrie te onderscheiden (Figuur 2).
- Voor de bio-toetsen op snijbloem waren batches van PBGY1 beschikbaar die minder dan 1 tot 4 jaar bewaard waren bij -18°C. Er is geen effect van deze zeer lang bewaarde batches gevonden tegen *Botrytis cinerea*. De validatie van de ontwikkelde methode is daarom nog niet afgerond.

De praktijk

Het project is uitgangspunt voor de verdere ontwikkeling van:

- Sporenkwaliteitsmetingen tijdens de ontwikkeling van methoden voor massaweek.
- Selectie van antagonisten met gunstige sporeneigenschappen.
- Batch control bij industriële massaweek van schimmelsporen.



Voorbeeld: Biologische bestrijding van *Botrytis cinerea* met de antagonist PBGY1 (PPO-glas).

Contact: Jürgen Köhl
Plant Research International B.V.
Postbus 16, 6700 AA Wageningen
T 0317 47 60 17 - F 0317 41 80 94
jurgen.kohl@wur.nl
www.pri.wur.nl