

qPCR techniek voor meting van meeldauw sporen in luchtmonsters

Khanh Pham, Rowena Sleuwaegen, Marianne Noordam, Arie de Gelder en Kirsten Leiss

Achtergrond

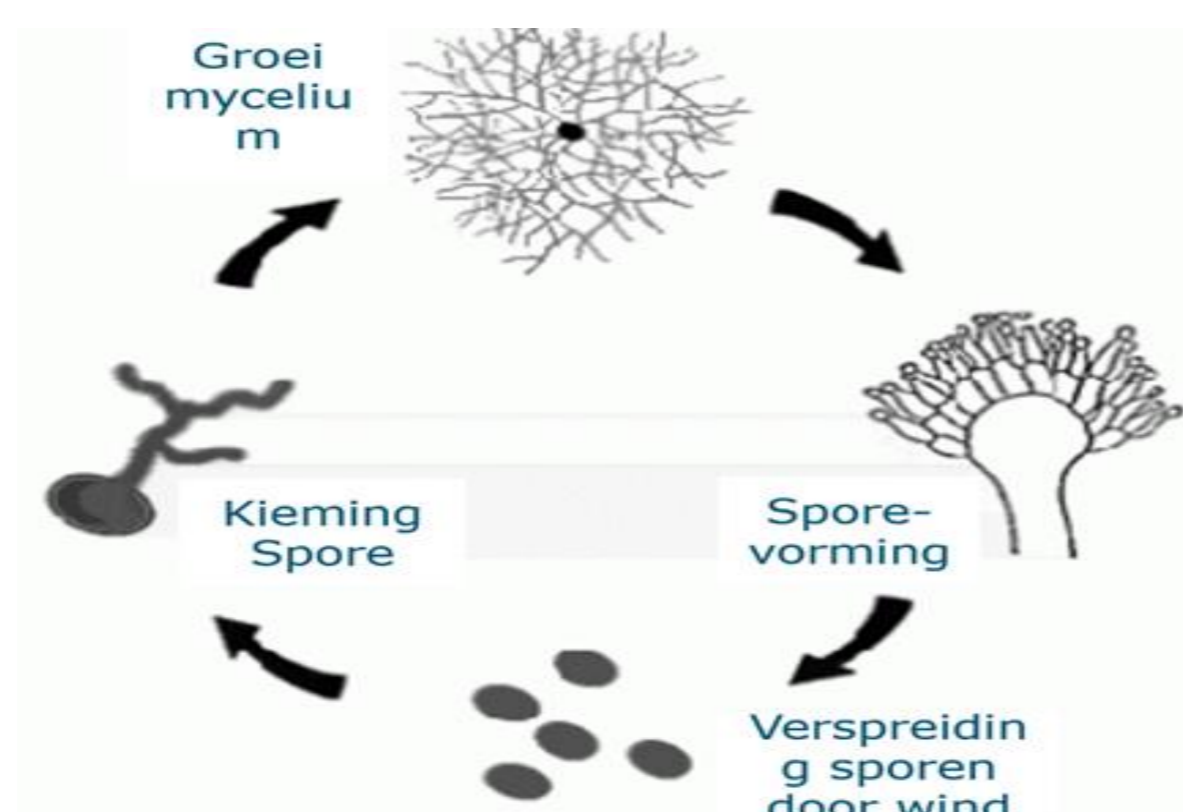
Meeldauw is een groot probleem in de rozenteelt. Hoe is de verdeling van meeldauw in de kas? Hebben maatregelen zoals UV licht en middelen effect op het aantal meeldauw sporen? Meeldauw is een obligaat biotrofe schimmel en kan niet op een medium groeien zodat tellingen op die manier niet mogelijk zijn.

Doelstelling

Het ontwikkelen van een methode om meeldauw sporen in de lucht te detecteren en kwantificeren voor het bestuderen van de verspreiding en ontwikkeling van deze ziekte in de kas.

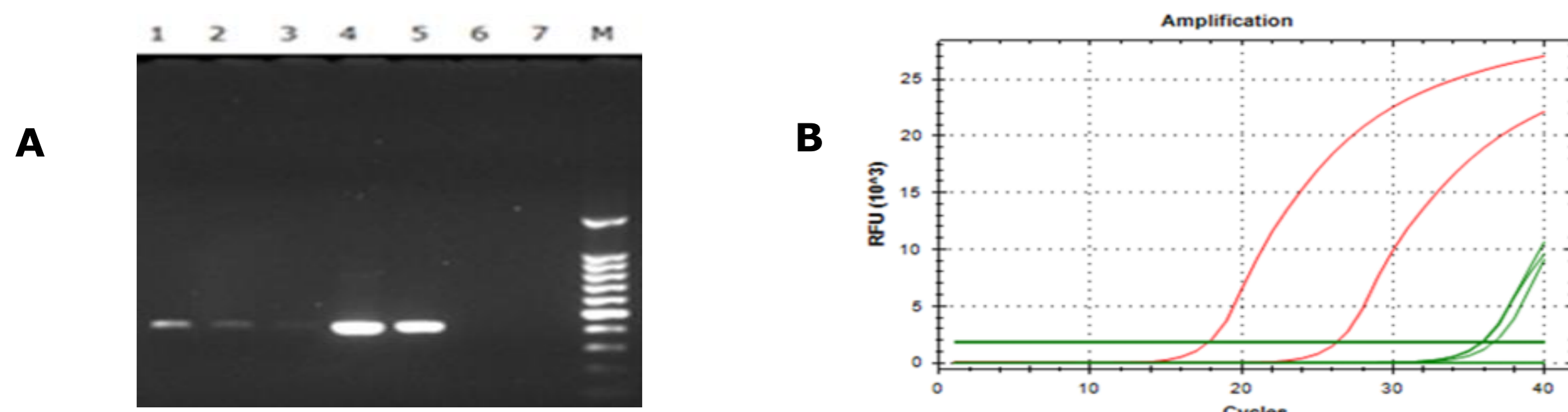
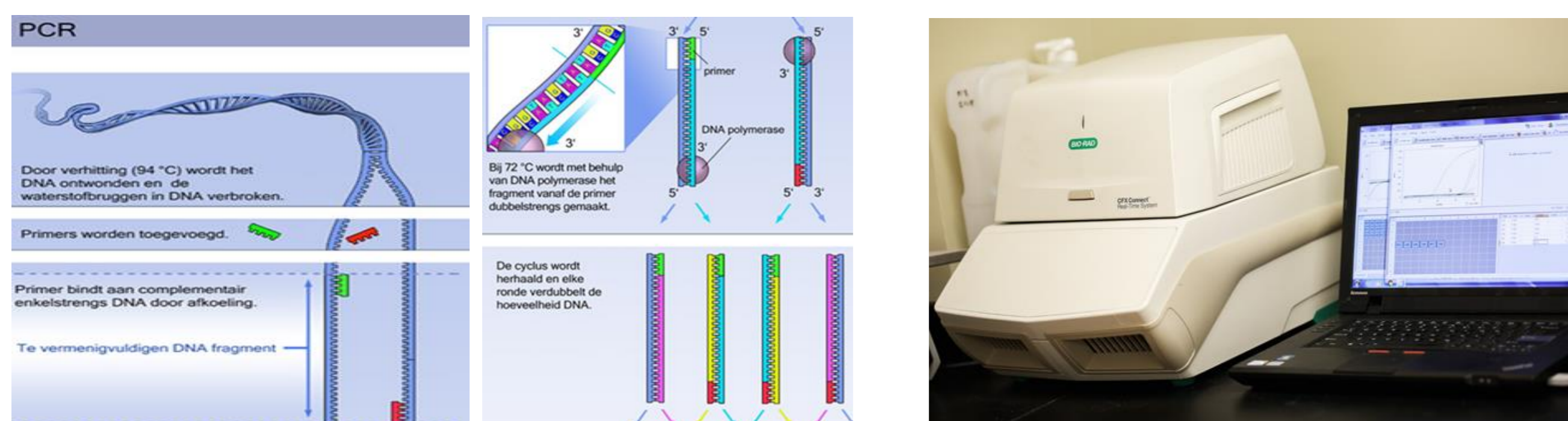


Figuur 1. Meeldauw symptoom op roos.



Figuur 2. Levenscyclus van meeldauw.

Methode



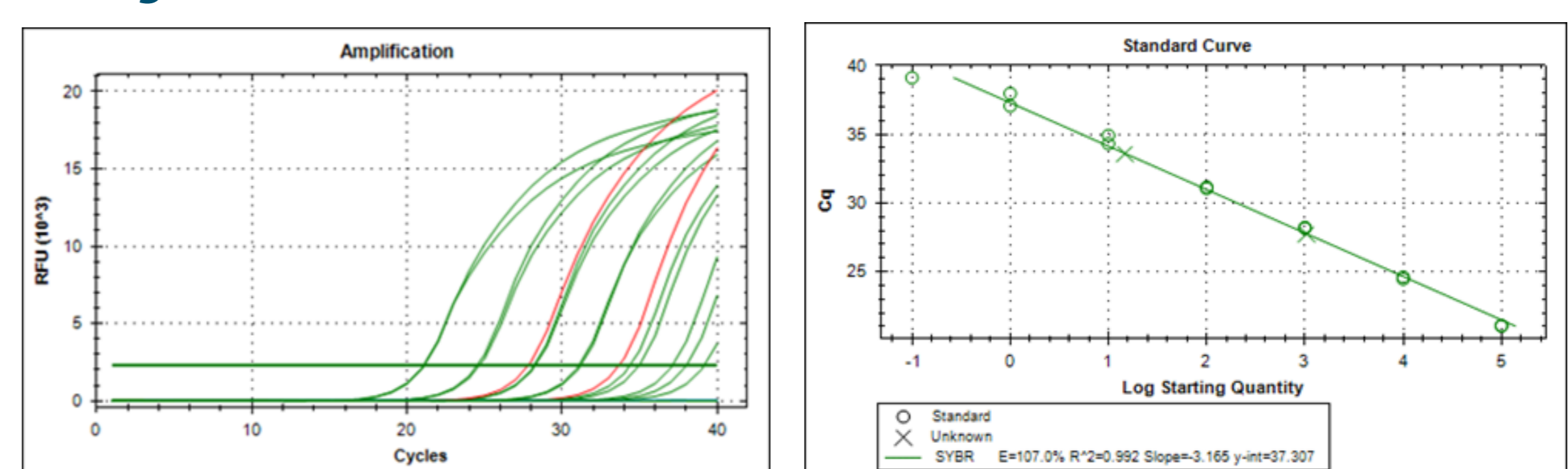
Figuur 3. **A:** product van PCR op gel, **B:** product van qPCR te zien op scherm.



Figuur 4. **A:** Air sampler met de filter op plaat, **B:** alleen *Botrytis sp.*, *Penicillium sp.* etc kunnen op plaat groeien, meeldauw niet.

Resultaten

Metingen in de meeldauw kweekkas

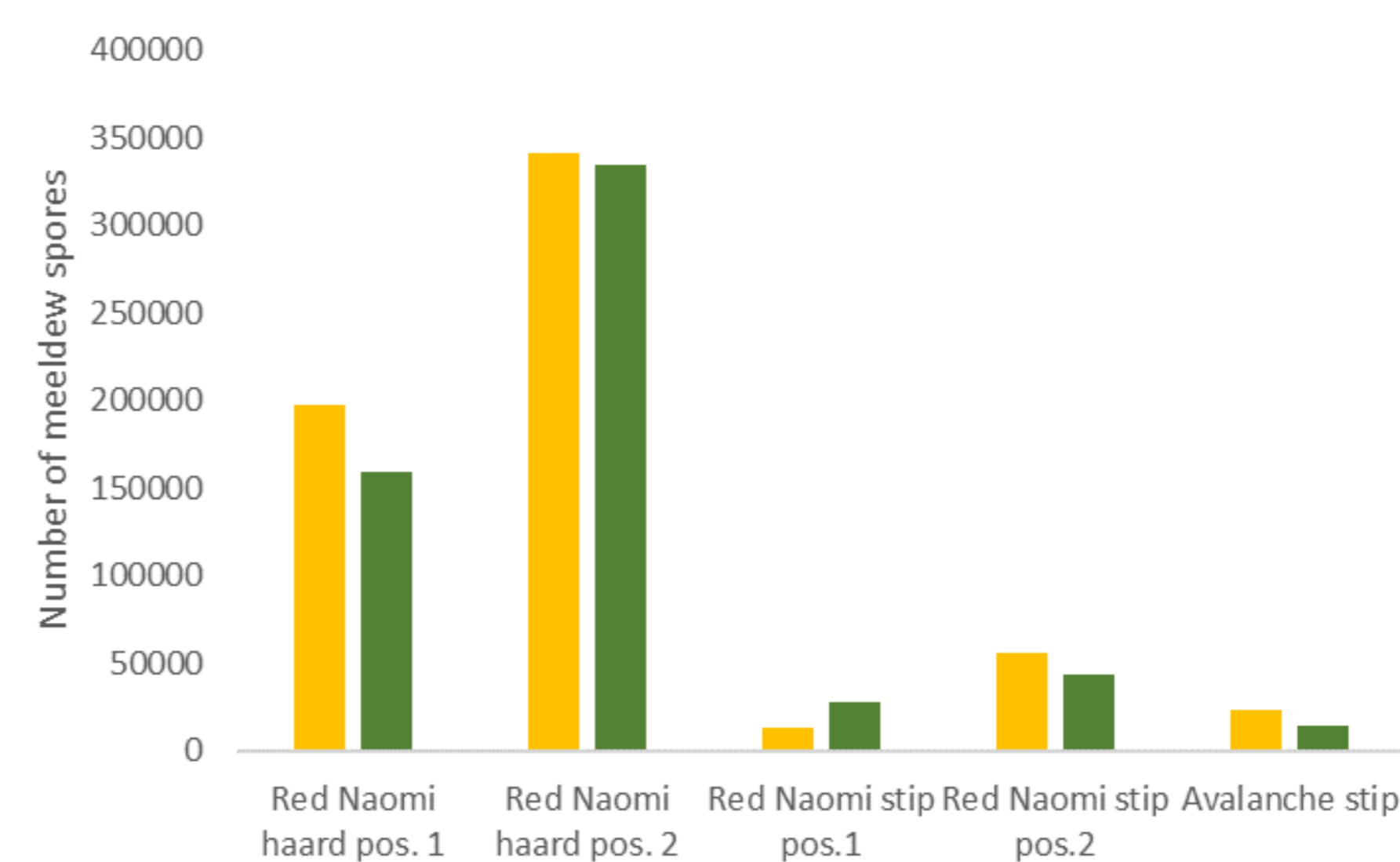


Figuur 5. Amplificatie curven van verdunningsreeks en de daaruit gemaakte ijklijn.

Tabel 1. De gemeten Ct-waarden vs. aantal sporen en hoeveelheid DNA van meeldauw.

Standaard	Ct-waarde	Aantal sporen	Hoeveelheid gDNA
S1	21.09	100000	15000pg
S2	24.61	10000	1500pg
S3	28.23	1000	150pg
S4	31.16	100	15pg
S5	34.92	10	1.5pg
S6	37.07	1	150fg
S7	No Ct	0.1	15fg
Neg C	No Ct	0.01	
M50	27.76	1041	
M500	33.61	14	

Metingen in de demo kas



Figuur 6. Aantal gemeten sporen op verschillende locaties in de demo kas.

Conclusie

- qPCR toets en verwerking is bruikbaar voor meten van meeldauw sporen in de lucht.

Vervolgonderzoek

- Monitoren meeldauw sporen op verschillende hoogte in de kas.
- Monitoren meeldauw sporen ontwikkeling in de loop van de tijd voor en na meeldauw behandelingen.
- Monitoren meeldauw sporen in verschillende kassen, werkruimte.

Dankwoord

Met dank aan Suzanne Breeuwsma, Gerdit Greve, Ming Huisman en Johanna Bac-Molenaar.