

PAPIERCHROMATOGRAPHIE ALS MIDDEL VOOR DE
DIAGNOSE VAN DE RINGVLEKKENZIEKTE
VAN ZOETE KERS. EEN VOORLOPIGE MEDEDELING

With a summary:

Paper chromatography and diagnosis of ring spot disease in sweet cherry.

A preliminary report

DOOR

H. H. ZEYLSTRA

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.), Wageningen

MULDER (1955) beschreef het voorkomen van de door een virus veroorzaakte ringvlekkenziekte bij zoete kers in Nederland. Dit virus levert in het bijzonder moeilijkheden op, doordat het soms lange tijd duurt (2 tot 3 jaar), eer de besmette bomen symptomen vertonen. Als gevolg hiervan kan het voorkomen, dat het in de kersenteelt gebruikte enthout achteraf toch met dit virus besmet blijkt te zijn geweest, ondanks strenge veldkeuringen van de moederbomen door de N.A.K.-B. Een betrouwbare methode om de ringvlekkenziekte, ook bij afwezigheid van symptomen, te kunnen aantonen, zou dan ook van veel waarde zijn.

Getracht werd de aanwezigheid van het ringvlekkenvirus met behulp van de methode van LINDNER (1948) aan te tonen. Met deze methode zou men, volgens genoemde auteur, verschillende virussen kunnen identificeren aan de hand van de kleur, die na toevoeging van een alkalische kopersulfaatoplossing aan bladmonsters ontstaat. De door ons verkregen verschillen tussen ziek en gezond waren echter niet overtuigend.

De gedachte, waar LINDNER's methode op berust, is, dat in viruszieke bomen, in tegenstelling tot virusvrije bomen, voldoende hoeveelheden van een of meer reducerende stoffen (wellicht polyfenolen) voorkomen om een specifieke reactie te geven. De reactie zou aan betrouwbaarheid winnen, indien het zou gelukken deze stof of stoffen te isoleren.

Om tot deze isolatie te komen, hebben wij van papierchromatografie gebruik gemaakt. Het uitgangsmateriaal voor de chromatogrammen was het sap uit de bladeren. Het uitpersen van de bladeren werd vergemakkelijkt door deze eerst te bevriezen en vervolgens te ontdooien. Na centrifugeren van het verkregen sap, werd hiervan een monster aangebracht op Whatman no. 1 filtreerpapier en gechromatografeerd met een mengsel van 4 vol. n-butanol, 1 vol. ijsazijn en 5 vol. water. Na 48 uur werden de stroken gedroogd en gefixeerd met het gewijzigde ammoniakale zilvernitraatreagens van PARTRIDGE, zoals vermeld door CRAMER (1954).

Bijgaande figuur geeft een voorbeeld van de verschillen in de chromatogrammen, verkregen van monsters van 50 zieke en van 50 op het oog gezonde bomen. Bij vergelijking van zieke (B) en gezonde bomen (A), voorkomend op kleigrond, bleek de eerste vlek op het chromatogram in het eerste geval dichter bij het startpunt te liggen en bovendien donkerder te zijn dan bij het tweede. Donkerder was eveneens de tweede vlek bij zieke bomen. In een aantal gevallen trad in ziek

materiaal tussen de derde en de vierde vlek bovendien een bandje op en in gezond materiaal nog een kleine vlek tussen de eerste en de tweede vlek.

Een ander beeld vertoonden de chromatogrammen van perssap uit bladeren van bomen, die op zandgrond voorkwamen. Bij zieke bomen (D) bleken de eerste drie vlekken duidelijk donkerder gekleurd te zijn dan bij de gezonde (C).

Uit het bovenstaande blijkt, dat er een chromatografisch verschil bestaat tussen duidelijk zieke kersen en op het oog gezonde exemplaren. Hoewel de vergelijking tussen ziek en gezond slechts gemaakt kan worden, indien de bomen op dezelfde grondsoort voorkomen, biedt deze methode perspectieven voor de diagnostiek van de ringvlekkenziekte.

SUMMARY

Sap from leaves of healthy and ring spot diseased cherry trees was chromatographed on Whatman No. 1 filterpaper with n-butanol-acetic acid-water as a solvent. On the dried chromatograms spots became visible after spraying with an ammoniacal solution of silver nitrate. Chromatograms of sap from diseased leaves showed some dark spots. These spots were less pronounced in chromatograms of sap from healthy leaves (see figure). This was the case with material from trees growing on clay soil, as well as from those on sandy soil. Sometimes samples from leaves of diseased trees on clay soil gave chromatograms showing a little band between the spots 3 and 4 (B), and samples from healthy specimens a spot between the spots 1 and 2 (A).

Further studies are needed to answer the question whether the method is suitable for practical use in cherry orchards in order to secure healthy propagation stocks.

LITERATUUR

- CRAMER, F., - 1954. Papier Chromatographie. Verlag Chemie G.m.b.H., Weinheim, blz. 69.
LINDNER, R. C., - 1948. A rapid chemical test for some plant virus diseases. Science 107: 17-19.
MULDER, D., - 1955. Het onderzoek van virusziekten van kersen en enkele andere fruitsoorten. Meded. 91 Inst. Pl. ziektenk. Onderz., Wageningen. Tevens in Tuinbouwgid 1955:488.