

[ARTIKELN]	
Recente ontwikkelingen in detectie en identificatie van plantenpathogenen: van microscopie naar moleculaire diagnostiek Tini, J.M.A. Grauwert, Bruo, P.A. Cammue, Bart, P.H.J. Thomma	201
Naar een Economische Onderbouw van Plantgezondheid A. Oude Lansink	208
[PROMOTIES]	
Genetische analyse van <i>Phytophthora infestans</i> Theo A.J. van der Lee	214
[COLUMN]	
Hoe komt het, dat soms jonge planten na 't verpoten zo slecht vooruit willen? J. Ritzema Bos	217
[WILLIE COMMELIN SCHOLTENDAG 2004]	
Hosts, species and genotypes Pedro W. Crous	219
Downy mildew genomics: identification and functional analysis of genes encoding secreted proteins Karin Posthuma, J. Elberse, P. Weisbeek and G. van den Ackerveken	219
New bacterial strains for the control of tomato foot and root rot Faina D. Kamilova, Ine H.M. Mulders and Ben J.J. Lugtenberg	220
Boosting plant defense by beneficial microorganisms María J. Pozo, L.C. van Loon and Corné M.J. Pieterse	220
Suppression of take-all disease in soils from organic versus conventional farms in relation to native and introduced 2,4-diacetylphloroglucinol-producing <i>Pseudomonas fluorescens</i> Ariena H.C. van Bruggen, Gerbert Hiddink, Alexandre V. Semenov, Anne D. van Diepeningen, Aad J. Termorshuizen, Jos M. Raaijmakers and Alexandre M. Semenov	221
Characterization of an MFS transporter from <i>Mycosphaerella graminicola</i> as a potent multidrug transporter Ramin Roohparvar, Lute-Harm Zwiers, Gert H.J. Kema and Maarten A. De Waard	221
Molecular characterization of MAP kinase signaling genes in <i>Mycosphaerella graminicola</i> and their role in pathogenicity Rahim Mehrabi, C. Waalwijk, T. van der Lee, S. Ben M'Barek, S. Ware and G.H.J. Kema	222
A small, cysteine-rich protein secreted by <i>Fusarium oxysporum</i> during colonization of xylem vessels in required for I-3-mediated resistance in tomato Martijn Rep, Charlotte van der Does, Michiel Meijer, Petra Houterman and Ben J.C. Cornelissen	222
Molecular phylogeny of <i>Phytophthora</i> species; impact of reticulation and ecological parameters Laurens, P.N.M. Kroon, F.T. Bakker, G.B.M. van den Bosch, P.J.M. Bonants and W.G. Flier	223
Characterisation of the signal transduction pathway resulting in the hypersensitive response in planta Iris Stulemeijer	223
[KNPV-WERKGROEPEN]	
Werkgroep <i>Fusarium</i>	
Indeling <i>Fusarium</i> -stammen geïsoleerd uit patiënten met opportunistische infecties Richard Summerbell, Kris Honraet, Hans-Josef Schroers en Mieke Starink-Willems	224
<i>FusariumScreen</i> TM : een niet-destructieve analyses van de pathogenese van aarfusarium Theo van der Lee, Gert Kema, Ineke de Vries, Henk Jalink, Rob van der Schoor en Cees Waalwijk	224
Syntenie in toxine producerende <i>Fusarium</i> -soorten: het gencluster verantwoordelijk voor het mycotoxine fumonisine en het mating type locas als voorbeelden Cees Waalwijk, Theo van der Lee, Ineke de Vries, Tamara Hesselink, Joop Arts and Gert H.J. Kema	225
Het eiwit Six1 van <i>Fusarium oxysporum</i> wordt uitgescheiden in tomaten planten gedurende infectie en is vereist voor volledige virulentie Lotje van der Does, Mark Opdam, Michiel Meijer, Ben J.C. Cornelissen en Martijn Rep	225
<i>Fusarium</i> in bloembollen: veelzijdig onderzoek aan een praktisch probleem Rik de Werd, Marjan de Boer, Suzanne Breeuwsma en Martin van Dam	225
Visualisatie van de interacties tussen de tomatenwortel, een pathogene en een biocontrole <i>Fusarium</i> -stam onder ziekte reducerende condities Annuschka Bolwerk, Anastasia L. Lagopodi, Ben J.J. Lugtenberg en Guido V. Bloemberg	226
Werkgroep Bodempathogenen en Microbiologie	
Compost in potgrond: ziektevermindering en beperkingen Dirk Jan van der Gaag, Cees de Kreijl en Roel Hamelink	226
Agrobiodiversiteit en ziektevermindering van bodempathogenen Joeke Postma en Mirjam Schilder	227
[VERENIGINGSNIEUWS]	
Jaarverslag over 2003 van het KNPV-bestuur, redactie en werkgroepen	228
Secretaris van het KNPV-bestuur	228
Redactie van het blad Gewasbescherming	228
KNPV-werkgroep Bodempathogenen en bodemmicrobiologie	229
Penningmeester van het KNPV-bestuur	230
KNPV-werkgroep <i>Fusarium</i>	231
KNPV-werkgroep <i>Phytophthora</i> en <i>Pythium</i> 2003	231
KNPV-werkgroep Onkruidkunde	231
KNPV-werkgroep <i>Botrytis</i>	231
KNPV-werkgroep <i>Phytophthora infestans</i>	231
KNPV-werkgroep <i>Rhizoctonia solani</i>	232
KNPV-werkgroep <i>Meloidogyne</i>	232
KNPV-werkgroep <i>Pratylenchus</i>	232
KNPV-werkgroep Trichodoriden en tabaksratelvirus	232
KNPV-werkgroep Graanziekten	232
[NIEUWS]	
Natuurlijke middelen voor ontsmetting van biologisch zaad	237
Verbodsgelieden oppervlaktewater bruinrot verder uitgebreid	237
Beleid voor bestrijding knolcyperus aangescherpt	237
Naktuinbouw en PRI ontwikkelen nieuwe detectie- en inoculatiemethode voor freesiabladnecrose	238
Internetsite over ziekten en plagen in boom- en vaste plantenteelt	238
Gewassen staan bloot aan ziekten en plagen	238
Komkommerteelt kampt vaker met <i>Fusarium</i>	238
Veerman: Nieuwe bestrijdingsmiddelenwet heeft geen zin	238
Tabakswittevlieg ook probleem voor paprikateelt	239
Onderzoek naar interactie bestrijdingsmiddelen	239
Bayer introduceert coating tegen maïswortelkever	239
Uitheimse ziekten en plagen rukken op	239
[AGENDA]	omslag 3

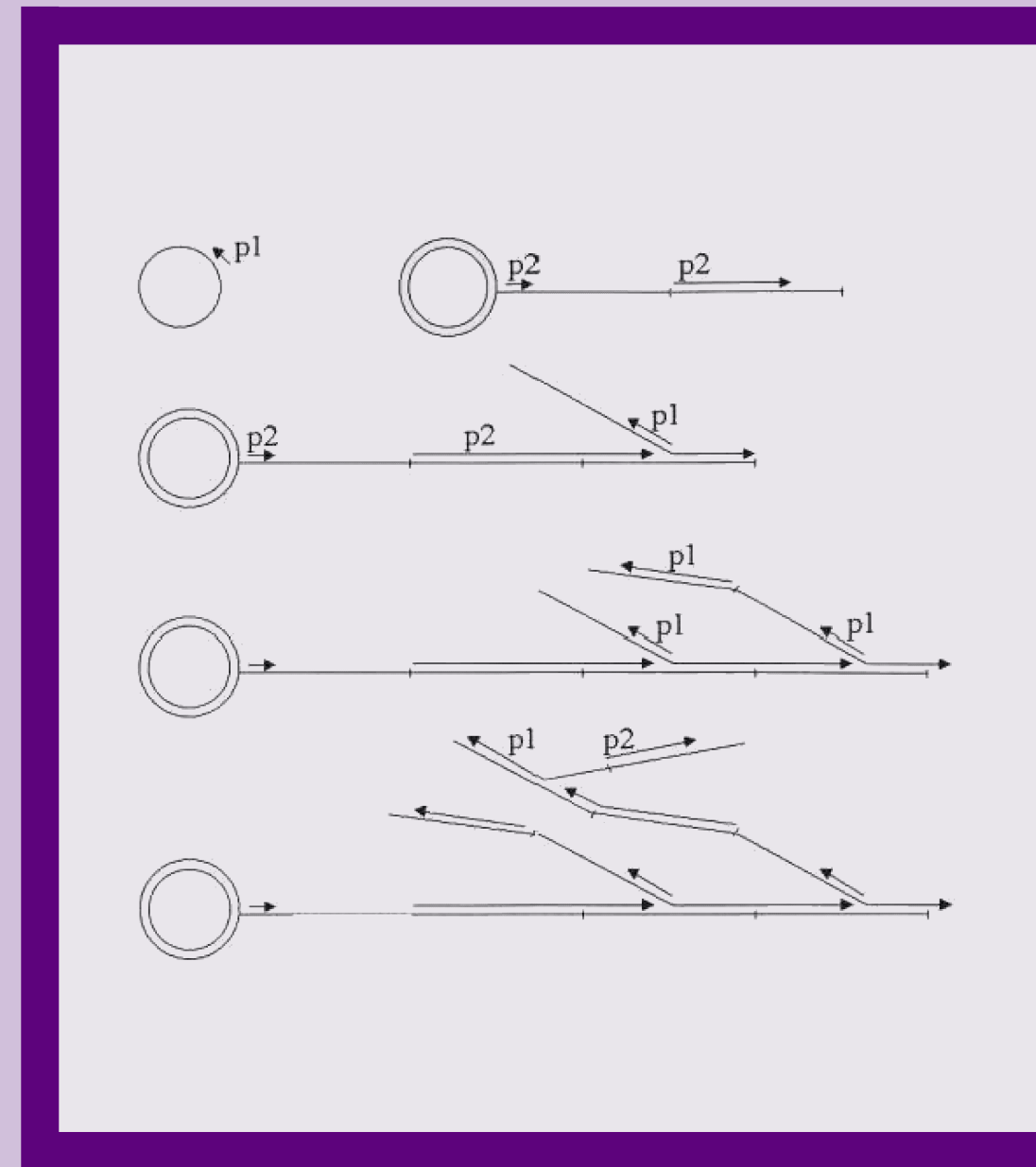
[GWSBSCHEERMING]

Mededelingenblad van de Koninklijke Nederlandse Plantenziektkundige Vereniging

Gewasbescherming, jaargang 35

juli 2004

NUMMER 4



Jaarverslagen van Bestuur, Redactie en Werkgroepen 2003
 Abstracts WSC dag januari 2004
 Verkorte inaugurele rede A. Oude Lansink

[KNPV]

Gewasbescherming,

het mededelingenblad van de KNPV, verschijnt zes keer per jaar. Kopij voor nummer 5 inleveren voor 15 juli 2004

Redactie

Kees Westerdijk (PPO-Lelystad), hoofd-redacteur, e-mail: kees.westerdijk@wur.nl
 Willem Jan de Kogel (PRI), secretaris willemjan.dekogel@wur.nl
 Dirk-Jan van der Gaag (PPO-Naaldwijk) dirkjan.vandergaag@wur.nl
 Corné Kempenaar (PRI) corne.kempenaar@wur.nl
 Wiebe Lammers (PD) j.w.lammers@minlnv.nl
 Jos Raaijmakers (WU-Fytopathologie) jos.raaijmakers@wur.nl
 Aad Termorshuizen (DPW, WUR) aad.termorshuizen@wur.nl
 Annet Zweep (Expertisecentrum-LNV) a.t.zweep@minlnv.nl
 Marianne Roseboom-de Vries, administratief medewerker

Redactie-adres

Postbus 31, 6700 AA Wageningen
 e-mail: m.roseboom2@chello.nl
 Telefonisch bereikbaar: 0317-483654

Internet

www.knpv.org
 www.gewasbescherming.info
 info@knpv.org

Abonnementen en lidmaatschappen

Het lidmaatschap van de KNPV is inclusief het abonnement op het tijdschrift Gewasbescherming (verschijnt 6x per jaar).
 – lidmaatschap binnenland € 25,-
 – lidmaatschap buitenland € 35,-
 – lid-donateur (bedrijven en instellingen) € 65,-
 – student-lidmaatschap¹ € 12,50
 Abonnementen (voor bibliotheken e.d.):
 – binnenland € 30,-
 – buitenland € 35,-
 – losse nummers (excl. verzendk.) € 6,-
 Abonnement EJPP
 – Personen die lid zijn van de KNPV kunnen tegen gereduceerd tarief een abonnement verkrijgen op het European Journal of Plant Pathology (tarief 2004: € 121,-)

Lidmaatschappen en abonnementen lopen van 1 januari tot en met 31 december.

Ze kunnen op elk gewenst moment ingaan. Eventuele beëindiging dient voor 1 december schriftelijk te worden gemeld.

¹ Voor studenten aan universiteiten en hogescholen

Correspondentie

Alle correspondentie betreffende de leden-administratie en Gewasbescherming te richten aan de secretaris van de KNPV,
 Postbus 31, 6700 AA Wageningen.
 a.w.wesselo@minlnv.nl
 Postbank: 92 31 65, ABN-AMRO:

Afbeelding voorpagina

Padlock probe' gebaseerde 'hyper-branched rolling circle amplification' (Andras *et al.*, 2001).
 Figuur 4 uit het artikel van Grauwet in dit nummer op pagina 201.

53.93.39.768, ten name van KNPV, Wageningen

Bestuur Koninklijke Nederlandse Plantenziektkundige Vereniging

voorzitter: G.H.J. Kema (PRI)
 A.W. Wesselo (PD), secretaris
 J.J. Bouwman (Nefyto), penningmeester
 C.E. Westerdijk (PPO-Lelystad), hoofdredacteur Gwsbschrmng
 L. Bastiaans (DPW, WUR)
 J.S. Buurma (LEI, WUR)
 P.M. Eggink (Semper florens),
 P. Bodingius (Expertisecentrum-LNV),
 R.F. Mauritz (CAH, Dronten),
 R.Y. van der Weide (PPO-Lelystad),
 J.P. Wubben (PPO-Aalsmeer), leden

KNPV werkgroepen

Bodempathogenen en bodemmicrobiologie

voorzitter: mw. J. Postma (PRI)
 secretaris: G.J. van Os,
 PPO-Bollen, Postbus 85, 2160 AB Lisse.
 e-mail: gera.vanos@wur.nl

Fusarium

voorzitter: C. Waalwijk (PRI)
 secretaris: M. Rep (UvA)
 Swammerdam Institute for Life Sciences, Faculty of Science, University of Amsterdam, Kruislaan 318, 1098 SM Amsterdam.
 e-mail: rep@science.uva.nl

Phytophthora en Pythium

voorzitter: P.J.M. Bonants (PRI)
 secretaris: A.W.A.M. de Cock
 Centraalbureau voor Schimmelcultures, Uppsalalaan 8, Postbus 85167, 3508 AD Utrecht
 e-mail: decock@cbs.knaw.nl

Onkruidkunde

voorzitter: M.J. Kropff (WU-TPE)
 secretaris: A.J.W. Rotteveel
 PD, Postbus 9102, 6700 HC Wageningen
 e-mail: A.J.W.Rotteveel@minlnv.nl

Botrytis

voorzitter: J. Köhl (PRI)
 secretaris: J. van Kan, WU-Fytopathologie, Postbus 8025, 6700 EE Wageningen
 e-mail: jan.vankan@wur.nl

Phytophthora infestans

voorzitter: mw. F.P.M. Govers (WU-Fytopathologie)
 secretaris: H.T.A.M. Schepers
 PPO, Postbus 430, 8200 AK Lelystad
 e-mail: francine.govers@wur.nl

Rhizoctonia solani

voorzitter: P.H.J.F. van den Boogert (PRI)
 secretaris: J.H.M. Schneider IRS,
 Postbus 32, 4600 AA Bergen op Zoom
 e-mail: schneider@irs.nl

Meloidogyne

voorzitter: L.P.G. Molendijk (PPO)
 secretaris: T.H. Been
 PRI, Postbus 16, 6700 AA Wageningen
 e-mail: thomas.been@wur.nl

Pratylenchus

voorzitter: C.J. Kok (PRI)
 secretaris: C.G.M. Conijn
 LBO, Postbus 85, 2160 AB Lisse
 e-mail: cor.conijn@wur.nl

Trichodoridae en tabaksratelvirus

voorzitter: F.C. Zoon (PRI)
 secretaris: mw. A.S. van Bruggen
 LBO, Postbus 85, 2160 AB Lisse
 e-mail: annesophie.vanbruggen@wur.nl

Graanziekten

voorzitter: G.J.H. Kema (PRI)
 secretaris: mw. A.D. Hartkamp
 Productschap voor Granen, Zaden en Peulvruchten, Stadhoudersplantsoen 12, 2517 JL Den Haag.
 E-mail: a.d.hartkamp@hpa.agro.nl

KNPV Commissies

Commissie Nederlandse Namen van Geleedpotig Dieren

voorzitter: K.W.R. Zwart
 secretaris: mw. L.J.W. de Goffau
 PD, Postbus 9102, 6700 HC Wageningen
 e-mail: L.J.W.de.Goffau@minlnv.nl

Bijzondere Normcommissie 14: Nederlandse Namen van Plantenziekten

voorzitter: vacant
 secretaris: vacant
 contact persoon: Ko Verhoeven (PD),
 Postbus 9102, 6700 HC Wageningen
 e-mail: j.th.j.verhoeven@minlnv.nl

Commissie Terminologie

voorzitter: L. Bos
 secretaris: P.C. Scheepens
 PRI, Postbus 16, 6700 AA Wageningen
 e-mail: piet.scheepens@wur.nl

Richtlijnen voor auteurs zijn te vinden in het eerste nummer van deze jaargang en op de internetpagina.

Basisontwerp

Voorheen de Toekomst, Wageningen

Druk

Drukkerij Ponsen en Looijen, Wageningen

ISSN 0166-6495

De redactie van Gewasbescherming en het bestuur van de KNPV aanvaarden geen aansprakelijkheid voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij het gebruik van de gegevens die in deze uitgave zijn gepubliceerd.

Recente ontwikkelingen in detectie en identificatie van plantenpathogenen: van microscopie naar moleculaire diagnostiek

Tini, J.M.A. Grauwet¹, Bruno, P.A. Cammue², Bart, P.H.J. Thomma³

¹ De Nayer Instituut, Jan De Nayerlaan 5, 2860 Sint-Katelijne-Waver, België

² Centrum voor Microbiële en Plantengenetica (CMPG), Katholieke Universiteit Leuven, Kasteelpark Arenberg 20, 3001 Heverlee-Leuven, België

³ Laboratorium voor Fytopathologie, Universiteit Wageningen, Binnenhaven 5, 6709 PD Wageningen, Nederland

Het opsporen en identificeren van schadelijke organismen in planten, grond, teeltsubstraat, water of lucht vormt de basis van een veilige en duurzame gewasbescherming. Daarom bestaat er een grote behoefte aan diagnostische testen, die niet alleen de plantenpathogenen snel moeten kunnen detecteren en identificeren, maar liefst ook de concentratie van de ziekteverwekker moeten kunnen inschatten. Op deze manier kan een accuraat advies gegeven worden, zodat er, naargelang de aard en de ernst van de besmetting, op een verantwoorde manier (bij)gestuurd kan worden.

Klassieke identificatiemethoden op basis van morfologische kenmerken vereisen vaak gespecialiseerde taxonomische kennis en ervaring van een fytopatholoog en zijn tijdrovend en arbeidsintensief. Bovendien bevatten praktijkmonsters vaak meer dan één organisme, zijn tal van ziekteverwekkers moeilijk of niet te onderscheiden met behulp van een microscoop en is het merendeel van de organismen niet *in vitro* kweekbaar, waardoor ze met de klassieke methoden over het hoofd gezien kunnen worden. Recentere methoden, die steeds vaker gebruikt worden in de diagnostiek, omvatten serologische en nucleïnezuurgebaseerde technieken. Deze moleculaire diagnostische testen zijn in vergelijking met de klassieke methoden meer geschikt voor routineanalyses: het resultaat wordt sneller verkregen,

is nauwkeuriger en de technieken kunnen over het algemeen door minder gespecialiseerde personen gehanteerd en geïnterpreteerd worden. Tal van moleculaire detectiemethoden zijn reeds beschreven, elk met hun eigen protocol, benodigdheden en expertise. Om meer duidelijkheid te scheppen in deze snel evoluerende en dynamische wereld van technieken, wordt in dit artikel een overzicht gegeven van de meest gangbare moleculaire diagnostische testen, in hoofdzaak gericht op het detecteren en identificeren van schimmels.

Moleculaire technieken

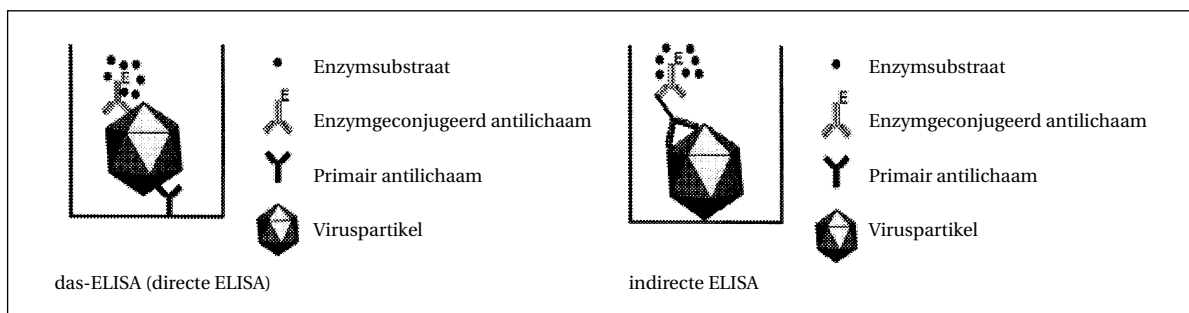
Met de komst van de moleculaire biologie komen meer en meer

technieken, specifiek en sensitief, ter beschikking die een snelle, objectieve, precieze en betrouwbare detectie en identificatie van pathogenen, waaronder ook niet-kweekbare organismen, toelaten. De laatste dertig jaar worden in dit verband gekenmerkt door twee belangrijke doorbraken. Een eerste doorbraak is het gebruik van antilichamen, wat vooral een belangrijk keerpunt vormde in de virologie en bacteriologie. Een tweede mijlpaal is de introductie van technologieën, die gebruik maken van erfelijk materiaal (DNA). Eén van de meest recente ontwikkelingen in dit verband is DNA-array technologie, waarbij met behulp van specifieke DNA-fragmenten, gespot op een vaste drager, tal van pathogenen gelijktijdig gedetecteerd en geïdentificeerd kunnen worden.

1. Serologische technieken

Serologische technieken zijn gebaseerd op de herkenning van specifieke antigenen door antilichamen. Veel studies werden gedaan naar de ontwikkeling van dergelijke testen, waaronder ELISA-testen of de zeer snelle membraangebonden immuno-testen.

ARTIKEL



Figuur 1. Principe van een directe en indirecte ELISA (aangepast volgens D'Arcy et al., 1999).

'Enzyme-Linked Immunosorbent Assays' (ELISA)

ELISA, ontwikkeld in de jaren '70, is in zijn oorspronkelijke vorm een 'sandwich' van antilichamen waartussen een antigen gevangen wordt. Tegenwoordig worden enkele basisprincipes onderscheiden, waaronder directe of 'double antibody sandwich' ELISA en indirecte ELISA (figuur 1). Directe ELISA kan van indirecte ELISA onderscheiden worden doordat de antilichamen, respectievelijk antigenen, rechtstreeks gebonden zijn op een drager. Detectie gebeurt door middel van een kleurreactie, waardoor ook kwantificatie mogelijk is. Succesvolle toepassingen zijn legio voor allerlei pathogenen, onder andere voor *Pythium ultimum* (Lädhe et al., 1998) en *Fusarium* spp. (Iyer en Cousin, 2003), de bacteriën *Ralstonia solanacearum* (Carusa et al., 2002) en *Erwinia* spp. (van der wolf et al., 1994), en tal van virussen waaronder het tabaksmozaïekvirus (Pereida et al., 2000) en het plum pox virus (Pasquini et al., 1998).

De voordelen van deze ELISA-testen zijn de hoge graad van specificiteit door het gebruik van monoklonale antilichamen en de mogelijkheid tot 'high-throughput screening'. Nadelen zijn de noodzaak aan specifieke antilichamen, het tijdrovende karakter bij het verwerken van een kleine hoeveelheid monsters, de onmogelijkheid om simultaan verschillende pathogenen op te sporen en de

relatief hoge kostprijs (Agrios, 1997).

Membraangebonden immunotesten

Membraangebonden immunotesten zijn een bijzonder type van 'sneltesten', die gebruik maken van de verschillende eigenschappen van poreuze, synthetische membranen zoals (i) vaste drager voor het antigen of antilichaam, (ii) filter en (iii) capillaire structuur. Ondanks het feit dat deze testen in termen van gevoeligheid en specificiteit het soms moeten afleggen tegen DNA-technieken of tegen andere serologische technieken, zijn ze omwille van hun snelheid (<< 5 minuten), eenvoud, relatief lage kostprijs en het feit dat ze geen laboratoriumomgeving vereisen, dé testen bij uitstek om diagnostiek 'ten velde' te bedrijven. Het ziet er bovendien steeds meer naar uit dat dergelijke sneltesten als 'front-line' screening kunnen gebruikt worden om vervolgens probleemsituaties verder te onderbouwen met andere, meer gevoelige DNA-technieken, die omwille van hun aard nog steeds een laboratoriumomgeving vereisen (Dilulio, 2002). Membraangebonden immunotesten werden tot nu toe hoofdzakelijk ontwikkeld voor snelle detectie van humane pathogenen, bijvoorbeeld voor de bacteriën *Salmonella* (Seo et al., 2003) en *Escherichia coli* (Capps et al., 2004) en het griepvirus *Influenza* (Cazacu et al., 2003).

2. Nucleïnezuurgebaseerde technieken

Nucleïnezuurgebaseerde technieken worden al jaren voor detectie en identificatie van tal van organismen gebruikt. Een onderscheid kan gemaakt worden naargelang het gaat om DNA- of RNA-gebaseerde technieken. Gezien deze laatste vooral voor detectie en identificatie van RNA-virussen worden toegepast, wordt hierop niet verder ingegaan.

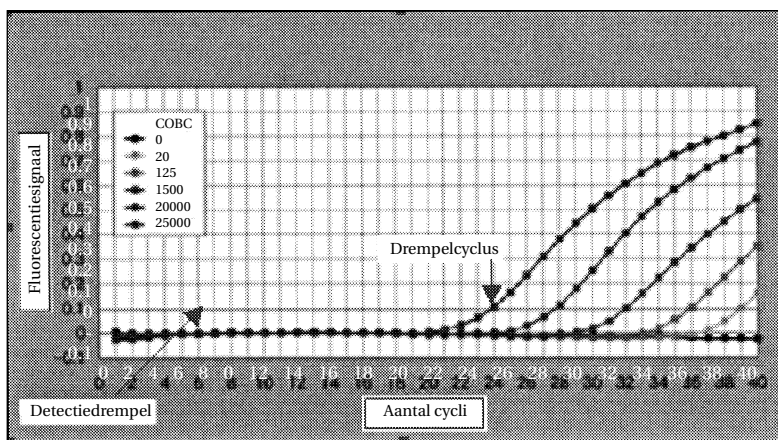
DNA-gebaseerde technieken

De DNA-gebaseerde technieken hebben geleid tot een grote doorbraak in de ontwikkeling van snelle en sensitieve diagnostische methoden. Voor vele pathogene micro-organismen zijn specifieke detectieprocedures met bijhorende DNA-probes of primers beschreven. Wanneer een monster tegelijkertijd op vele pathogenen moet getoetst worden, is dit echter duur en kan een DNA-array gebaseerd diagnostisch systeem uitkomst bieden. In wat volgt zullen enkele van de voornaamste DNA-gebaseerde technieken worden toegelicht.

'Polymerase Chain Reaction' (PCR)

'Polymerase Chain Reaction' (PCR) is een cyclisch proces waarbij met behulp van specifieke oligonucleotide primers een bepaald stuk DNA exponentieel geamplificeerd wordt om zo meetbare concentraties te bekomen. Deze techniek

steunt op de herhaling (doorgaans ≥ 30) van een driestapsproces (Henson en French, 1993): denaturatie van het doelwit-DNA, vasthaken van twee primers op de complementaire regio van het doelwit-DNA, en *in vitro* DNA-polymerisatie van een complementaire streng aan het doelwit-DNA door middel van een thermostaibel DNA-polymerase. Naast het gebruik voor amplificatiedoel-einden kan PCR rechtstreeks gebruikt worden als detectie- en identificatiemethode met behulp van taxonspecifieke primers, complementair aan een unieke sequentie binnen het doelwitge-noom. Indien het DNA van de doelwitpathogeen aanwezig is, zullen de specifieke primers aan het DNA binden en zal het DNA geamplificeerd worden. De PCR-producten worden gedetecteerd door gelelectroforese en gevisualiseerd in de vorm van een bandenpatroon. Varianten die kunnen leiden tot een verhoogde specificiteit en gevoeligheid zijn 'nested-PCR', waarbij een interne regio van de gegenereerde producten van een eerste PCR-reactie nogmaals ge-amplificeerd wordt met een tweede primerset. Een andere variant is 'immunocapture PCR', PCR in combinatie met antilichamen (McCartney *et al.*, 2003). In het algemeen biedt PCR verscheidene voordelen ten opzichte van meer traditionele methoden. De organismen hoeven niet opgezuiverd te worden, de techniek is specifiek, uiterst sensitief, vlug en kan op verschillende complexe mengsels toegepast worden. Een bijkomend voordeel is de mogelijkheid tot kwantificatie, hetzij via competitieve PCR, hetzij via kwantitatieve 'real-time PCR' (qrt-PCR). Een beperkte set pathogenen kan tegelijkertijd gedetecteerd worden in een multiplex PCR-reactie, waarbij meerdere taxonspecifieke primersets simultaan gebruikt worden. Detectie op gel gebeurt op basis van de lengteverschillen van de bekomen PCR-producten (Wilton en Cousins, 1992; Lopez



Figuur 2. Verloop van de amplificatiecurves van een qrt-PCR, uitgezet als fluorescentie-intensiteit ten opzichte van het aantal amplificatie-cycli.

et al., 2003; McCartney *et al.*, 2003).

In tal van publicaties zijn detectie- en identificatieprocedures op basis van PCR beschreven voor het opsporen van één of maximaal een drietal schimmelpathogenen per reactie, onder andere voor *Phytophthora infestans* (Judelson en Tooley, 2000), *Verticillium* (Nazar *et al.*, 1991), *Cylindrocladium floridanum* en *Cylindrocarpon destructans* (Hamelin *et al.*, 1996). Behalve voor tal van schimmels werden met succes PCR-reacties ontwikkeld voor andere pathogenen, waaronder de nematoden *Meloidogyne* (Zijlstra, 1997) en *Heterodera schachtii* (Amiri *et al.*, 2002), de bacteriële pathogeen *Agrobacterium* (Haas *et al.*, 1995) en het aardappelvirus Y (Nie en Singh, 2003).

De volgende kanttekeningen dienen echter gemaakt te worden. De extractie van PCR-amplificeerbaar DNA uit een complexe matrix, zoals plantenmateriaal en grond, kan bemoeilijkt worden door co-extractie van PCR-inhibitoren die de amplificatie-efficiëntie kunnen verminderen of de reactie zelfs volledig kunnen inhiberen. De voornaamste inhibitoren zijn humuszuren, fenolische componenten, zware metalen, fulvuszuren en overmatig niet-doelwit-DNA. Ze kunnen interfereren tijdens het lyseren van de cellen, DNA degra-

deren of de polymerisatiereactie inhiberen (Weiland en Sundsbak, 2000; Faggian *et al.*, 2003). Voor de meeste commercieel verkrijgbare DNA-extractiekits vormt dit echter geen beduidend probleem meer. Bovendien kunnen bijvoorbeeld polyvinylpyrrolidone of afgeroomde melk toegevoegd worden, die inhibitoren kunnen inactiveren. Ook het verdunnen van het DNA-extract kan PCR-inhibitie verhelpen. Om over een indicator voor inhibitie te beschikken, wordt er vaak een interne controle aan het PCR-mengsel toegevoegd (Nazar *et al.*, 1991; Hu *et al.*, 1993; Moukhamedov *et al.*, 1994; Bonants *et al.*, 2001). Daarnaast moet opgemerkt worden dat PCR, net als alle andere DNA-gebaseerde technieken, geen onderscheid maakt tussen DNA van levende en DNA van dode cellen, aangezien DNA-moleculen nog intact kunnen zijn, terwijl het organisme al dood is. Men kan echter verwachten dat DNA van dode organismen in een complex milieu, zoals een grond, vrij snel gedegradeerd wordt door de aanwezige microflora. In recirculatiesystemen kan een gecontroleerde UV-ontsmetting DNA-afbraak bovendien bevorderen. Anderzijds kan een omweg via het afgeschreven 'messenger RNA' (mRNA), een instabiel molecuul en bovendien alleen geproduceerd in levende cellen, dit euvel omzeilen (Bustin, 2000). Bovengenoemde obstakels kun-

ARTIKEL

nen door het gebruik van BIO-PCR vermeden worden. BIO-PCR voorziet een additionele stap van biologische amplificatie, namelijk door inoculatie in of op een geschikt voedingsmedium, vóór de PCR-amplificatie. Dit resulteert in eliminatie van vals positieven door minimalisatie van dode cellen en vrij DNA, en in eliminatie van vals negatieven omwille van de afwezigheid van inhibitoren (Schaad *et al.*, 1995; Martin *et al.*, 2000; Lopez *et al.*, 2003). De extra opgroei-stap vereist echter tijd, maakt kwantificatie onmogelijk en niet-kweekbare organismen kunnen niet gedetecteerd worden. Rechtstreekse moleculaire detectie is dan ook meer aanwezig.

Kwantitatieve 'real-time PCR' (qrt-PCR)

PCR-gebaseerde diagnostische testen hebben als nadeel dat rechtstreekse kwantificatie onmogelijk is. Alhoewel het relatief gemakkelijk is om de hoeveelheid PCR-product te bepalen, is het veel moeilijker om de hoeveelheid PCR-product te relateren aan de oorspronkelijke hoeveelheid doelwit-DNA. In het laatste decennium zijn een aantal apparaten ontwikkeld die toelaten het kwantitatieve verloop van een PCR-reactie 'real-time' of 'on-line' te volgen door middel van fluorescentiemetingen en daarenboven, naast een kwalitatieve, een accurate kwantitatieve detectie en identificatie van micro-organismen mogelijk maken door pathogeenconcentraties te koppelen aan DNA-hoeveelheden (Brouwer *et al.*, 2003). Men spreekt van kwantitatieve 'real time PCR' (qrt-PCR). Al deze apparaten hebben gemeen dat ze bestaan uit een PCR-module, die de eigenlijke PCR uitvoert en een optische module, die de hoeveelheid gegenereerd product met behulp van fluorescentie meet (Walker, 2001). Er is een aantal technieken dat gebruikt kan wor-

den om de gegenereerde PCR-producten fluorescent te merken, (i) technieken die werken met behulp van DNA-bindende kleurstoffen, zoals SYBR Green en (ii) technieken die gebruik maken van specifieke en gemerkte probes.

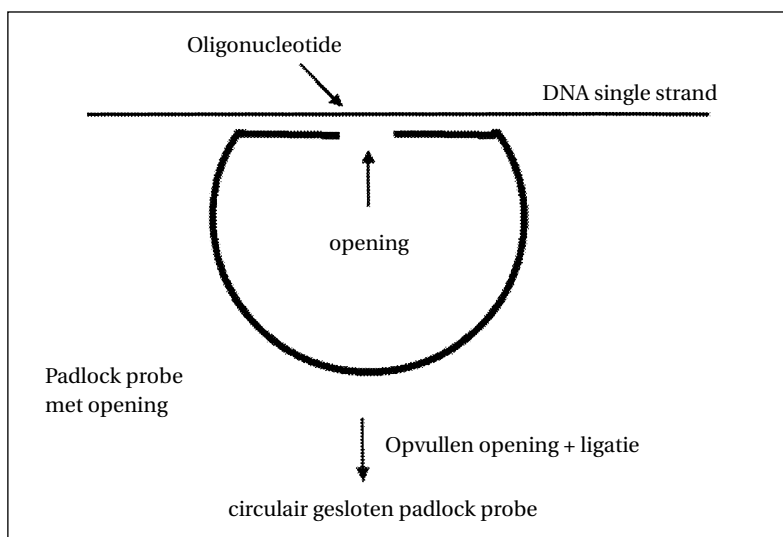
In een kwantitatieve 'real-time' multiplex PCR kunnen ook meerdere pathogenen gelijktijdig gedetecteerd en gekwantificeerd worden. Hierbij gelden echter een aantal beperkingen, waardoor het op dit moment slechts mogelijk is een kwantitatieve multiplex PCR te ontwerpen, waarin vier reacties tegelijkertijd plaatsvinden. Enkele bijkomende voordelen van qrt-PCR ten opzichte van traditionele PCR, zijn detectie in afwezigheid van gelelectroforese, met tijdwinst als gevolg, de mogelijkheid tot accurate kwantitatieve detectie en de minimalisatie van kans op contaminatie, gezien reactie en analyse, zonder bijkomende handelingen, in één enkele tube plaatsvinden (Walker, 2001; McCartney *et al.*, 2003). qrt-PCR als detectie- en identificatietechniek is echter duur. Meerdere publicaties beschrijven het gebruik van qrt-PCR voor het detecteren, identificeren en kwantificeren van pathogenen, waaronder de pathogene schimmels *Verticillium*

dahliae (Mercado-Blanco *et al.*, 2004) en *Fusarium* (Bluhm *et al.*, 2004), een aantal algemene bacteriële en fungale pathogenen (Brouwer *et al.*, 2003) en het 'tomato spotted wilt' virus (Boonham *et al.*, 2002).

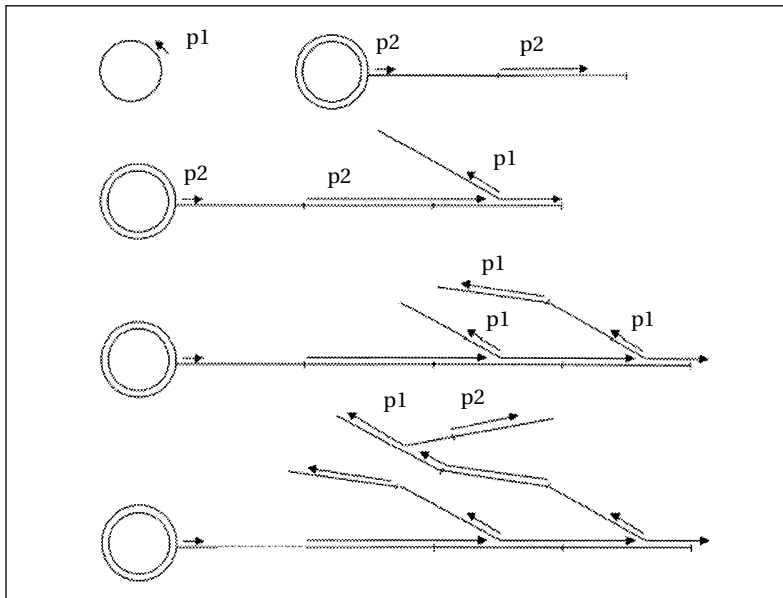
'Rolling Circle Amplification' (RCA)

Naast PCR, kan DNA eveneens geamplificeerd worden met 'rolling circle amplification' (RCA). Deze amplificatietechniek, die sinds het midden van de jaren '90 zijn opgang kent, wordt vaak toegepast in combinatie met zogenaamde 'padlock probes'. Een 'padlock probe' bestaat uit een enkelstrengs, lineair oligonucleotide van een 100-tal basen, dat aan beide uiteinden complementair is met het specifieke doelwit-DNA. Na aanhechting van het doelwit-DNA wordt door middel van een ligase een gesloten circulaire structuur gevormd die, hetzij via PCR, hetzij via RCA, geamplificeerd kan worden (Nilsson *et al.*, 1994; Thomas *et al.*, 1999; Nilsson *et al.*, 2002; Baner *et al.*, 2003) (figuur 3).

Twee verschillende 'padlock probe' gebaseerde RCA-amplificatieprocedures kunnen onderscheiden worden. Men spreekt van een



Figuur 3. Basis voor een 'padlock probe' gebaseerde DNA-amplificatie (Andras *et al.*, 2001).



Figuur 4. Padlock probe' gebaseerde 'hyperbranched rolling circle amplificatie' (Andras *et al.*, 2001).

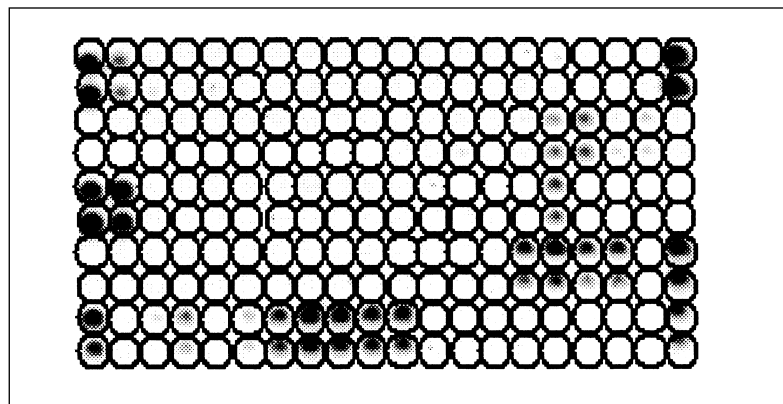
'lineaire RCA'-amplificatie indien gebruik wordt gemaakt van één primer, complementair aan een deel van de DNA-cirkel, waardoor lange, repeterende DNA-sequenties worden verkregen met een graduele accumulatie van het RCA-product tot gevolg. Bij 'hyperbranched-RCA'- (HRCA) amplificatie wordt een tweede primer toegevoegd, complementair aan een deel van de lineaire tandemherhalingen, waardoor een 'hypervertakking' wordt verkregen met steeds meer DNA-polymerisatiereacties tot gevolg (figuur 4) (Lizardi *et al.*, 1998; Andras *et al.*, 2001; Demidov, 2002).

In tegenstelling tot traditionele PCR, wordt met 'padlock probe' gebaseerde PCR of RCA de probe geamplificeerd en niet het doelwit-DNA. Op deze manier hangt de efficiëntie van de amplificatie niet af van de verschillende doelwitsequenties of primersets (Nilsson *et al.*, 1994; Andras *et al.*, 2001; Nallur *et al.*, 2001). Bovendien wordt met HRCA een snellere amplificatie verkregen dan met PCR (Andras *et al.*, 2001; Demidov, 2002). Deze RCA-techniek is bijgevolg zeer sensitief. Een nadeel is echter dat het gebruik van RCA

binnen de diagnostiek beperkt wordt door gebrek aan kennis en literatuur, aangezien de techniek op dit ogenblik vooral zijn toepassing kent binnen de medische sector (Lizardi *et al.*, 1998; Thomas *et al.*, 1999; Andras *et al.*, 2001). Qua applicaties is RCA te vergelijken met PCR: detectie en identificatie via specifieke probes en gelelektroforese, kwantificatie via fluorescente merking van de probes of DNA-bindende kleurstoffen en multiplexing via generieke primers en hybridisatiereacties (Thomas *et al.*, 1999; Nilsson *et al.*, 2002; Baner *et al.*, 2003).

DNA-arrays

Hoewel bovenstaande technieken geschikt zijn voor het opsporen van één pathogeen, voldoen ze niet wanneer een monster op verschillende ziekteverwekkers dient getest te worden. Een combinatie van deze individuele testen is duur, inefficiënt en vereist de nodige strategische planning. Het grote aantal beschikbare testen voor een pathogeen bemoeilijkt bovendien standaardisatie van pathogeendetectorie en -identificatie. Een meervoudige DNA-test, gebaseerd op de DNA-array technologie, waarmee in één keer vele pathogenen kunnen opgespoord worden, vormt tegenwoordig de nieuwste generatie van DNA-gebaseerde testen. Met deze technologie wordt een 'onbeperkte' multiplexing, dus een detectie en identificatie van tal van organismen (schimmels, bacteriën, nematoden, virussen, onkruidzaden, ...) mogelijk. Om de gevoeligheid van de test te verhogen, wordt met een amplificatietechniek, hetzij met generieke primers, hetzij via 'padlock probes', de hoeveelheid DNA opgedreven tot detecteerbare hoeveelheden en bovendien gemerkt. De alzo bekomen DNA-fragmenten worden op de DNA-test, die 'detectoren' bevat onder de vorm van genus- of speciespecifieke DNA fragmenten, aangebracht. Deze 'detectoren' be-



Figuur 5. Voorbeeld van een diagnosemembraan voor snelle meervoudige detectie en identificatie van een set pathogenen. Elke positie bevat een detector (in herhaling) voor een bepaalde pathogeen. Een positieve detectie wordt weergegeven door een zwart signaal.

ARTIKEL

Tabel 1. Overzicht van op dit moment identificeerbare plantenpathogenen met de 'DNA multiscan' (Bron: Scientia Terrae Research Institute, Sint-Katelijne-Waver, België)

Schimmels:	<i>Pythium aphanidermatum</i>
<i>Athelia rolfsii</i>	<i>Pythium dissotocum</i>
<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Pythium irregulare</i>
<i>Colletotrichum</i> spp.	<i>Pythium polymastum</i>
<i>Colletotrichum acutatum</i>	<i>Pythium sylvaticum</i>
<i>Colletotrichum coccodes</i>	<i>Pythium ultimum</i>
<i>Colletotrichum gloeosporoides</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>
<i>Cylindrocladium</i> spp.	<i>Sclerotinia</i> spp.
<i>Didymella</i> spp.	<i>Sclerotinia minor</i>
<i>Fusarium</i> spp.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Sclerotinia trifoliorum</i>
<i>Fusarium solani</i>	<i>Trichoderma</i> spp.
<i>Penicillium</i> spp.	<i>Trichoderma asperellum</i>
<i>Phytophthora</i> spp.	<i>Trichoderma hamatum</i>
<i>Phytophthora cactorum</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>
<i>Phytophthora capsici</i>	<i>Verticillium</i> spp.
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	<i>Verticillium albo-atrum</i>
<i>Phytophthora cryptogea</i>	<i>Verticillium dahliae</i>
<i>Phytophthora drechsleri</i>	Bacteriën:
<i>Phytophthora fragariae</i>	<i>Pseudomonas cichorii</i>
<i>Phytophthora infestans</i>	<i>Pseudomonas marginalis</i>
<i>Phytophthora nicotianae</i>	<i>Pseudomonas syringae</i>
<i>Phytophthora ramorum</i>	<i>Pseudomonas viridiflava</i>
<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	<i>Ralstonia solanacearum</i>
<i>Pyrenochaeta lycopersici</i>	<i>Rhizobium radiobacter</i>
<i>Pythium</i> spp.	<i>(Agrobacterium tumefaciens)</i>
	<i>Xanthomonas fragariae</i>

vinden zich op welbepaalde locaties op de zogenaamde 'array'. Aan de hand van de locaties waar reacties optreden kan bepaald worden welke organismen in het monster aanwezig zijn. De resultaten kunnen bijgevolg als een 'checklist' gelezen worden (figuur 5). Precieze identificatie vanuit een complex monster zoals plant, grond, compost of water kan gebeuren binnen 24 uur (Lévesque *et al.*, 1998; Lievens *et al.*, 2003). Voorbeelden van het gebruik van 'arrays' in de literatuur zijn het identificeren van enkele oömyceten (Lévesque *et al.*, 1998), nematoden (Uehara *et al.*, 1999) en bacteriën (Fessehaie *et al.*, 2003) en het detecteren en identificeren van een selectie verwelkingschimmels (Lievens *et al.*, 2003).

Inschatting van de pathogeenbiomassa op basis van de signaalintensiteit is in principe mogelijk. In het geval van een generieke amplificatie-gebaseerde meervoudige

test wordt de detectielimiet bepaald door het concentratieverschil tussen de doelwitpathogeen en de overige aanwezige flora. Deze blijkt in de grootteorde van 1/1000 (doelwitpathogeen / achtergrond flora) te liggen. Doch dergelijk grote concentratieverschillen zijn niet relevant voor een geïnfecteerde plant, besmette grond of water. Een 'padlock probe-HRCA' gebaseerde multiplex test zou mogelijk nog gevoeliger kunnen zijn. Onderzoek zal dit echter nog moeten uitwijzen. Op dit ogenblik bestaan reeds meerdere array systemen, in de vorm van een nylonmembraan, een glazen drager of een microtiterplaat. Een systeem op basis van een nylonmembraan is echter het gevoeligst, gezien bij deze methode een hogere concentratie van de detectorprobes kan gespot worden. De detectielimiet bedraagt in dit geval minder dan 1 pg DNA (Lievens *et al.*, 2003). Op dit moment zijn

DNA-arrays dan ook het meest geschikt om een monster gelijktijdig en kostenefficiënt te toetsen op vele ziekteverwekkers.

Conclusie en vooruitblik

Tegenwoordig worden steeds meer en meer testen aangeboden voor snelle, specifieke en sensitieve detectie en identificatie van plantpathogenen. Het is evenwel onze overtuiging dat de snelle meervoudige DNA-testen, waarmee in één test meerdere pathogenen kunnen opgespoord worden, dé testen van de toekomst zullen zijn, temeer omdat ze zeer kostefficiënt zijn. Met deze testen is het immers mogelijk een volledig beeld te bekomen van de gezondheidstoestand van een plant, groeimedium of recirculatie- en gietwater. Dergelijke testen zullen aan de basis liggen van een preventief plantgezondheidsmanagement en gericht, al dan niet preventief, bijsturen mogelijk maken.

Tabel 2. Overzicht van op dit moment identificeerbare plantenpathogenen met de 'pUMA'-test (Bron: Plant Research International, Wageningen, Nederland)

Schimmels:
<i>Phytophthora cactorum</i>
<i>Phytophthora cinnamomi</i>
<i>Phytophthora fragariae</i>
<i>Phytophthora nicotianae</i>
<i>Rhizoctonia solani</i>
<i>Verticillium dahliae</i>
Bacteriën:
<i>Ralstonia solanacearum</i>
<i>Clavibacter michiganensis</i>

Ir. T.J.M.A. Grauwet is onderzoeker bij het De Nayer Instituut (Sint-Katelijne-Waver, België). Haar onderzoeksactiviteiten worden financieel gesteund door het Vlaams Instituut voor de bevordering van het Wetenschappelijk Onderzoek-Vlaanderen (HOBUP030109).

Ir. Tini Grauwet,
tgr@denayer.wenk.be

Dit zal dan ook resulteren in een hogere kwaliteit van het gewas en een reductie van het gebruik van chemische middelen, ten gunste van het milieu. In België, Nederland en Duitsland wordt reeds met succes een meervoudige DNA-test aangeboden onder de naam 'DNA multiscan', waarmee in zijn huidige vorm de aanwezigheid van 43 schimmels en 7 bacteriën (Tabel 1) tegelijkertijd vastgesteld kan wor-

den. Recent is in Nederland een prototype van een andere multiplextest ontwikkeld, pUMA gedoopt (Tabel 2), waarmee 8 pathogenen kunnen gedetecteerd worden. Indien een accurate kwantificatie gewenst is, is qrt-PCR in principe meer geschikt. Meerdere pathogenen gelijktijdig opsporen is in dit geval echter niet mogelijk. Een relatie leggen tussen vastgestelde besmettings-

graden en het tijdstip en de wijze van bestrijding, naast een inzicht verwerven in de plant-pathogeenrelaties en de structuur en functies van de pathogenen binnen hun gemeenschap vormen de volgende uitdaging voor de diagnostiek!

Literatuur

Zie website www.knpv.org

ARTIKEL

Gezocht:

oude Jaarverslagen van Phytopathologisch Laboratorium Willie Commelin Scholten

Ondergetekende, Dr. Patricia Faasse (wetenschapshistoricus), is op verzoek en onder supervisie van de Stichting voor de Fytopathologie Willie Commelin Scholten (WCS) bezig met een boek over de geschiedenis van het voormalige Phytopathologisch Laboratorium Willie Commelin Scholten.

Datum van uitgave is gepland begin 2006. Het boek zal in het Engels verschijnen.

Het archief van WCS is een belangrijke bron van informatie voor deze geschiedenis.

Uit het archief ontbreken echter de **Jaarverslagen van WCS tussen 1917 en 1930**.

Ook in de geregistreerde bibliotheken zijn ze niet aanwezig. Vandaar mijn oproep:

Wie weet waar deze jaarverslagen – als ze al verschenen zijn – nu aanwezig zijn?

Mocht u hierover informatie hebben, dan heel gaarne contact opnemen met:

Dr. Patricia E. Faasse

[HYPERLINK "mailto:faasse@xs4all.n]

020 6842890

Adm. De Ruyterweg 271 – 1055 LV Amsterdam

Naar een Economische Onderbouwing van Plantgezondheid

A. Oude Lansink

Leerstoelgroep *Bedrijfseconomie*
(ingekorte inaugurele rede, literatuurlijst op de website)

Inleiding

Het zal U niet zijn ontgaan dat de benaming van de leerstoel die ik vertegenwoordig recentelijk is gewijzigd. De huidige benaming, *Bedrijfseconomie* (in het Engels *Business Economics*) lijkt te suggereren dat de leerstoel haar agrarische veren heeft afgeschud. Ik kan U echter verzekeren dat de primaire agrarische sector een belangrijke rol zal blijven spelen in het onderwijs en onderzoek van de leerstoelgroep. Dit moge ook blijken uit mijn omschrijving van het domein van de leerstoel, waarop ik nu verder in zal gaan. De *Bedrijfseconomie* in Wageningen heeft als domein de economische aspecten van het agrarische bedrijf in relatie tot zijn fysieke en institutionele omgeving. Onder de fysieke omgeving van het agrarisch bedrijf wordt verstaan de groene ruimte waarin de land- en tuinbouw opereert en waaraan zij mede vorm geeft. De institutionele omgeving van het agrarisch bedrijf omvat de locale, nationale en supranationale overheden. Daarnaast omvat het de bedrijven in de productiekolom die actief zijn in de toelevering van goederen en diensten en de verwerking en vermarkting van (primaire) agrarische producten. In deze rede geef ik allereerst een nadere omschrijving van het domein van de leerstoel *Bedrijfseconomie* en vervolgens ga ik op één terrein, namelijk dat van de economie van de plantgezondheid, dieper in.

Omschrijving domein

Traditioneel staat centraal in de leerstoel *Bedrijfseconomie* in Wageningen de agrarische ondernemer die beslissingen neemt over de aanwending van productiefactoren, waaronder de inbreng van eigen arbeid en kapitaal. Veel beslissingen op het agrarisch bedrijf worden genomen onder onzekerheid over de toekomst. Risico's ontstaan wanneer de onzekerheid nadelige economische gevolgen kan hebben voor het bedrijf (Barry *et al.*, 1995). Karakteristiek voor de land- en tuinbouw zijn de afhankelijkheid van biologische productieprocessen en het feit dat veel productie plaatsvindt in de open lucht. Productie risico's ontstaan als gevolg van onvoorspelbare weersomstandigheden en de kans op ziekten en plagen. Markt- en prijsrisico's worden veroorzaakt door de time-lag die doorgaans zit tussen het moment waarop beslissingen worden genomen over de inzet van inputs en het moment waarop de verkopen worden gerealiseerd. Ook nationale en supranationale overheden vormen een bron van onzekerheid voor de agrarische ondernemer, doordat zij telkens nieuwe wetten en regels ten aanzien van de landbouw invoeren. (...).

De agrarische sector legt beslag op een groot deel van de groene ruimte in Nederland. Beslissingen van agrarische ondernemers grijpen in op de kwaliteit van de

groene ruimte, waaronder landschap, biodiversiteit, bodem, oppervlaktewater en grondwater. Door de toenemende verstedelijking plus de grotere behoefte aan ruimte voor wonen, infrastructuur, recreatie en natuur wordt de landbouw in toenemende mate geconfronteerd met de wens tot aanpassing dan wel verplaatsing van de productie. Bij aanpassing van de productie gaat het om transformatie naar een meer milieuvriendelijk landbouw (b.v. geïntegreerde of biologische landbouw) of landbouw die traditionele productie combineert met landschapsbeheer en instandhouding/ontwikkeling van biodiversiteit. Ook de sterk in opkomst zijnde verbreding naar activiteiten als streekgebonden productie en toerisme past binnen de transformatie van de landbouw.

De relatie tussen de primaire landbouw en de bedrijven in de toelevering van goederen en diensten en de verwerking en vermarkting van agrarische producten, maakt ook deel uit van het domein van de *bedrijfseconomie*. Een belangrijk onderwerp van onderzoek op dit terrein van de relatie is de economische aspecten van zaken als plantgezondheid, diergezondheid en voedselveiligheid; oftewel, zaken die ingrijpen op alle schakels van de voedselproductieketen. De economie van diergezondheid en voedselveiligheid is niet zonder redenen al vele jaren lang een bijzondere leerstoel geweest

binnen de leerstoelgroep Bedrijfs-economie.

Een terrein dat in de toekomst verder zal worden ingevuld omvat de economie van de keten en de bedrijven binnen de keten. (...) Een tendens die duidelijk zichtbaar is geworden in het afgelopen decennium is dat bedrijven in de toelevering, verwerking en vermarkting steeds meer invloed krijgen op de wijze van produceren op de primaire agrarische bedrijven. Een goed voorbeeld hiervan is de overkoepelende organisatie van bedrijven in de retail, de Eurep. Deze organisatie schrijft via de EUREPGAP nauwkeurig voor aan welke eisen ten aanzien van milieu en dierenwelzijn de producten die in de schappen van de aangesloten grootwinkelbedrijven liggen moeten voldoen. Het internationale bedrijfsleven treedt met haar voorschriften ten aanzien van de wijze van produceren in toenemende mate in de plaats van de overheid. (...). De grote bedrijven in de keten zullen, al dan niet gedwongen door de concurrentie hun machtspositie gaan gebruiken, bijvoorbeeld door de prijsvorming aan input en outputzijde van de landbouw te manipuleren ten faveure van henzelf. (...) Belangrijk is het om te realiseren dat de belangen van de bedrijven niet parallel lopen aan de belangen van de maatschappij.

De rol van de Bedrijfseconomie in de hierboven geschetste problematiek is dat het via onderzoek kan bijdragen aan een beter inzicht in de economische gevolgen van machtsconcentratie in de agro-productieketen voor verschillende schakels van die keten.

In de institutionele omgeving van bedrijven is traditioneel ook een belangrijke rol weggelegd voor de overheid. De overheid schept enerzijds het wettelijke kader waarbinnen de bedrijven in de voedselproductieketen opereren. Anderzijds grijpt de overheid

direct in op de prijsvorming op markten van inputs zoals arbeid en outputs als granen en zuivelproducten. (...) De rol van de overheid is echter aan het veranderen. (...) De bedrijfseconomie bestudeert de gevolgen van veranderingen in het overheidsbeleid voor verschillende schakels van de voedselproductieketen en ontwikkelt instrumenten ter ondersteuning van de besluitvorming.

Dit was dan in vogelvlucht een beschrijving van het domein van de Bedrijfseconomie in Wageningen. (...).

Economie van Plantgezondheid

Plantgezondheid is omgekeerd -gerelateerd aan het risico van insleep, de prevalentie en kans op uitbraak van besmettelijke plantenziekten in de productieketen. Het niveau van plantgezondheid is dus hoger naarmate deze fyto-sanitaire risico's kleiner zijn. Een indicator van plantgezondheid is bijvoorbeeld de exportstatus van een land; een land dat een hoog niveau van plantgezondheid bereikt, behoudt de exportstatus voor plantaardige producten naar tal van landen.

Plantgezondheid kan worden gezien als de resultante van enerzijds economische activiteiten die de risico's vergroten en anderzijds activiteiten die bedoeld zijn om de risico's te verkleinen. Voorbeelden van activiteiten die risico's vergroten zijn: importen van plantaardige materialen, productie van gewassen en toerisme en recreatie (Dalmazzone, 2000). Activiteiten die bedoeld zijn om fyto-sanitaire risico's te verkleinen zijn: importinspecties, directe bestrijding van ziekten en plagen, ziekte preventie en voorlichting. Wat opvalt is dat activiteiten in de eerste groep veelal vallen in het domein van de private sector, met daarin belangrijke

actoren als importeurs van plantaardige materialen, land en tuinbouwbedrijven en meer in het algemeen de burgers die via toerisme en recreatie een bron van fyto-sanitaire risico's vormen. In de tweede groep neemt de publieke sector een relatief belangrijke plaats in. Waarom is er behoefte aan inbreng van economen in het beheer van plantgezondheid in Nederland; welke rol kunnen economen daarin spelen? Om deze vragen te kunnen beantwoorden wordt eerst een schets gegeven van het probleemveld. Vervolgens wordt een meer conceptuele onderbouwing voor de economie van de plantgezondheid gegeven.

Probleemveld plantgezondheid

De afgelopen decennia laten een sterke toename zien in de handelsstromen van planten en plantaardige producten over de wereld. In Europa wordt deze trend nog versterkt door het wegvallen van de binnengrenzen van de Europese Unie. Daarnaast dragen internationalisering van bedrijven en productieketens bij aan de toename van de handelsstromen (Shogren, 1999). Een groot deel van de internationale transporten van plantaardige producten bestaat tegenwoordig uit verplaatsingen binnen internationaal opererende bedrijven, de zogenaamde intra-company trade. Voor Nederland leidt de toename van importen van plantaardige producten tot grotere risico's van insleep van besmettelijke plantenziekten in de productieketen. Met name van belang zijn hier de ziekten, die op de verschillende EU lijsten van quarantaine organismen staan (PPS, 2003). (...) De Nederlandse plantaardige sector is in belangrijke mate afhankelijk van exporten van plantaardige producten als pootaardappelen en sierteeltgewassen. Deze sectoren hebben dus alle belang bij een fyto-sanitair beleid dat voldoende

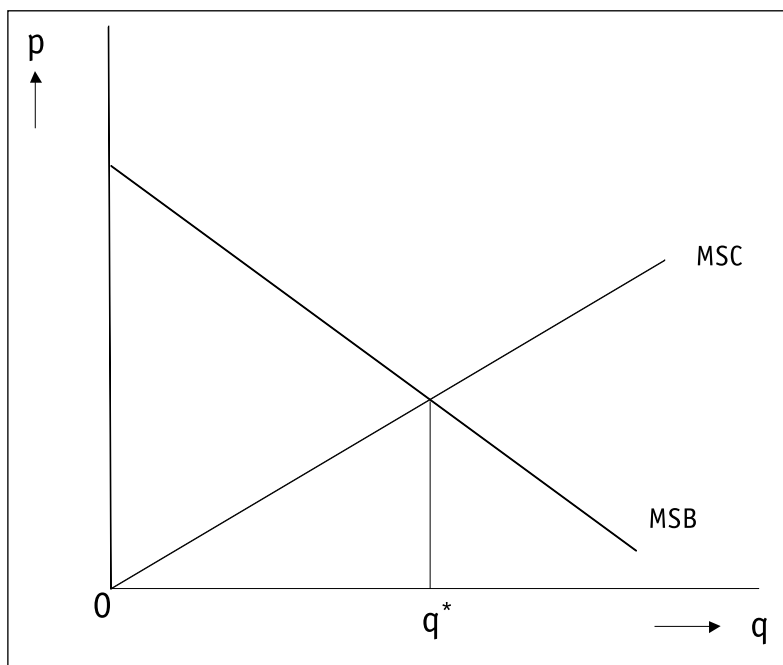
ARTIKEL

waarborgen biedt voor het behoud van de export status. (...) Een tweede ontwikkeling is dat de effectiviteit van traditionele instrumenten van de Plantenziektenkundige Dienst zoals importinspecties en monitoring steeds meer onder druk komen te staan als gevolg van de sterke toename van de internationale handelsstromen. Daardoor wordt het voor de PD vrijwel onmogelijk om de huidige inspectie en monitoring intensiteit te handhaven met de huidige beschikbare mankracht.

Om goede afwegingen te kunnen maken tussen kosten en effectiviteit van fyto-sanitaire maatregelen is een economische onderbouwing gewenst. (...) Een economische onderbouwing is ook nodig volgens de regelgeving van de World Trade Organisation, de WTO, wanneer een land fyto-sanitaire maatregelen wil treffen ter bescherming van haar eigen plantaardige sector tegen de risico's van insleep van plantenziekten. (...)

Een markt van plantgezondheid

In economische termen kan plantgezondheid worden gedefinieerd als een goed; het is echter een goed waarvoor geen markt bestaat waarin wordt gehandeld en waarin prijzen de rol van schaarse indicator kunnen spelen. Plantgezondheid kan worden omschreven als een positieve externaliteit dan wel als een publiek goed. Het is gedefinieerd als een positieve externaliteit van de productie van marktbaar goederen en diensten, wanneer het gebruik van plantgezondheid economische voordelen oplevert voor andere individuen of een afgebakende groep van individuen. Wanneer de groep van individuen die voordeel ondervindt groot is en moeilijk kan worden afgebakend, is het gebruikelijker om te spreken van een publiek goed.



Figuur 1. De markt voor Plantgezondheid.

In het hiernavolgende zal ik van het laatste uitgaan.

De markt voor plantgezondheid kan worden vergeleken met markten voor andere publieke goederen zoals landschap en grondwater. De hiernavolgende conceptuele onderbouwing van de markt voor plantgezondheid leunt dan ook sterk op concepten die in de milieueconomie zijn ontwikkeld (Kahn, 1998; Callan and Thomas, 2000). De figuur (fig. 1) die u hier ziet laat zien hoe de markt van plantgezondheid werkt. Zoals elke andere markt kent de markt voor plantgezondheid vragers en aanbieders.

Vragers van plantgezondheid zijn bedrijven en consumenten in de keten die uitgangsmaterialen of eindproducten kopen van de schakels ervoor. (...) De vraag naar plantgezondheid wordt in deze figuur weergegeven door de dalende curve. Deze curve geeft de relatie weer tussen de hoeveelheid plantgezondheid en de prijs die de vragers bereid zijn te betalen. De totale vraag naar plantgezondheid is de Marginal Social Benefit (MSB) curve (Kahn, 1998) die weergeeft hoeveel iedere extra

eenheid plantgezondheid aan extra welvaart oplevert.

De stijgende curve in deze figuur is de aanbodcurve van plantgezondheid (Kahn, 1998). Aanbieders van plantgezondheid zijn de bedrijven in de keten die plantaardige materialen verkopen aan de schakels erna. Ook de overheid, vertegenwoordigd door de Plantenziektenkundige Dienst is een belangrijke aanbieder van plantgezondheid via activiteiten als importinspecties, monitoring en voorlichting. De curve die het aanbod weergeeft is de Marginal Social Cost (MSC) curve, die de relatie geeft tussen de aangeboden hoeveelheid plantgezondheid en de extra kosten van iedere extra eenheid plantgezondheid. (...)

Het maatschappelijk gezien optimale niveau van plantgezondheid wordt gevonden op het snijpunt van de vraag- en aanbodcurve. Maar komt dit optimum tot stand, in een vrije markt van plantgezondheid, dat wil zeggen in een markt zonder overheidsingrijpen? Een tweetal aspecten van de markt van plantgezondheid kan worden aangevoerd om deze vraag met nee te beantwoorden. Dit zijn ten

eerste de publieke goed karakteristieken van plantgezondheid en, ten tweede, de aanwezigheid van asymmetrische informatie in de markt van plantgezondheid.

Publiek goed aspect van plantgezondheid

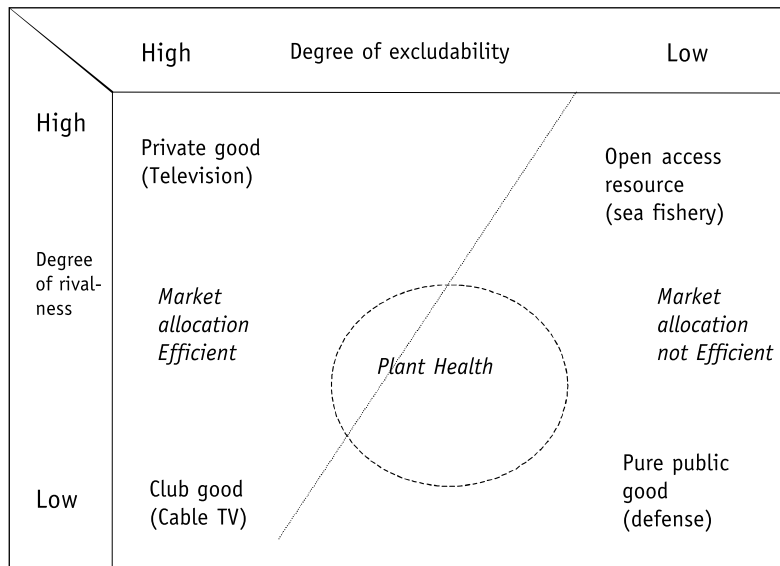
Zoals hiervoor is geconstateerd, kan plantgezondheid in economische termen als een (overwegend) publiek goed worden geclassificeerd. Kenmerken van publieke goederen zijn:

- (i) non-rivalness, wat wil zeggen dat 'consumptie' van het goed niet leidt tot een lagere beschikbaarheid voor anderen;
- (ii) non-excludability, wat betekent dat anderen niet van de voordelen van het goed kunnen worden uitgesloten.

Deze twee dimensies, non-rivalness en non-excludability zijn in figuur 2 uitgezet, waarbij het linker compartiment bestaat uit goederen waarvoor een efficiënte marktallocatie kan ontstaan zonder overheidsingrijpen en het rechter compartiment bestaat uit open access resources (zeevisserij) en pure publieke goederen (defensie). De vraag is waar plantgezondheid moet worden geplaatst, volgens deze twee criteria.

Plantgezondheid voldoet geheel aan het eerste criterium voor publieke goederen, namelijk dat van non-rivalness: wanneer de kans op introductie van een quarantaine organisme klein is in Nederland, dan zijn de voordelen daarvan voor alle schakels van de keten evident en leidt gebruik daarvan niet tot verminderde beschikbaarheid voor anderen. (...)

Het tweede criterium, non-excludability, ligt wat problematischer. Een akkerbouwer of tuinder die veel preventieve maatregelen treft en daardoor een lagere ziektedruk op het bedrijf heeft dan anderen ondervindt daarvan voordelen in de vorm van structureel lagere bestrijdingskosten. Dit geeft aan dat



Figuur 2. Private versus Public Goods. Source: Romstad 2002

non-excludability niet volledig opgaat. Deze structureel lagere bestrijdingskosten kan de teler ten dele voor zich zelf houden. (...)

Een belangrijk deel van de plantgezondheid moet naar mijn mening echter worden geplaatst in het rechter compartiment, namelijk bij publieke goederen. Allereerst kan worden geconstateerd dat individuele bedrijven doorgaans geen of weinig rekening zullen houden met de gevolgen die hun activiteiten kunnen hebben voor anderen; zo men de consequenties voor anderen al kan overzien. (...) Een bedrijf dat veel risico's neemt kan de inspanningen van vele anderen tenietdoen. Dit is bijvoorbeeld het geval wanneer de exportstatus van een land in het geding komt, doordat een importerend bedrijf onverantwoorde risico's heeft genomen. Zonder enige vorm van interventie door de overheid of publieke bedrijfsorganen is de kans daarom groot dat het niveau van plantgezondheid onder het maatschappelijk gewenste niveau ligt, dat wil zeggen het niveau waarbij de welvaart van de gehele economie maximaal is.

Asymmetrische informatie

Een tweede probleem dat een efficiënte allocatie in de markt van

plantgezondheid onwaarschijnlijk maakt is de ongelijke verdeling van informatie over vragers en aanbieders plantgezondheid. Concreet betekent dit, dat aanbieders van planten en plantaardige materialen doorgaans meer en betere informatie hebben over de plantgezondheidsaspecten van de producten dan hun klanten. (...)

Activiteiten van de publieke en private sector

Het publieke goed aspect van plantgezondheid en het probleem van asymmetrische informatie kunnen uiteindelijk leiden tot een situatie waarin de infectiedruk in de plantaardige productie veel hoger ligt dan maatschappelijk gewenst en de plantaardige sector geen toegang meer heeft tot exportmarkten. Zonder ingrijpen door de overheid of het bedrijfsleven zelf, zou het zeer waarschijnlijk zijn dat het maatschappelijk gewenste niveau van plantgezondheid niet wordt gehaald (Nairn *et al.*, 1996). Het is dan ook niet verwonderlijk dat zich in de loop der jaren een groot aantal publieke en private instituties heeft ontwikkeld die er allen op gericht zijn om de plantgezondheid te bewaken. (...)

ARTIKEL

De agenda voor onderzoek en onderwijs in de economie van plantgezondheid

Uit het voorgaande mag blijken dat de overheid en het georganiseerde bedrijfsleven een belangrijke rol moeten spelen bij de totstandbrenging van een evenwicht op de markt voor plantgezondheid. Dit evenwicht is het punt waarbij het niveau van plantgezondheid overeenkomt met het maatschappelijk gewenste niveau. Bij dit zoeken naar een evenwicht kan de economie samen met andere wetenschappelijke disciplines een belangrijke rol spelen. Voor een tweetal terreinen zal ik de rol van de economie nader uitwerken.

1. Kosten en baten van fyto-sanitaire beheersmaatregelen

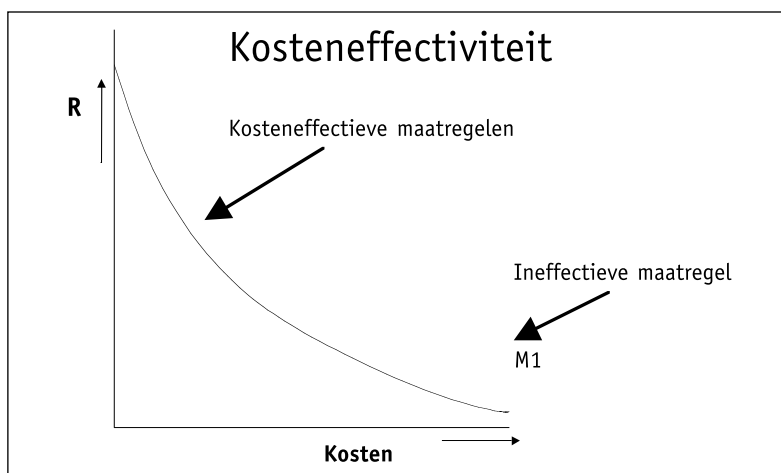
Fytosanitaire risico's kunnen, zoals hiervoor reeds aangegeven, worden beheerst door middel van een groot aantal fyto-sanitaire beheersmaatregelen, zoals importinspecties, directe bestrijding en informatievoorziening. Als criterium voor de selectie van de juiste fyto-sanitaire maatregelen wordt het begrip kosteneffectiviteit vaak te pas, maar soms ook te onpas gebruikt. Maar wat is kosteneffectiviteit nu eigenlijk en hoe kan worden onderzocht of een maatregel kosteneffectief is?

Om deze vragen te kunnen beantwoorden moet allereerst worden vastgesteld welke kosten gepaard gaan met fyto-sanitaire beheersmaatregelen en wat de mogelijke schade is die kan worden aangericht door plantenziekten.

Ten aanzien van de kosten van beheersmaatregelen wordt doorgaans een opsplitsing gemaakt in directe en indirecte kosten (Dijkhuizen en Morris, 1997). Ik zal de invulling hiervan uitwerken voor bruinrot in de aardappelteelt. Dit

is een bekend voorbeeld van een quarantaine ziekte met mogelijk grote economische schade voor de aardappelteelt in geval van een grootschalige uitbraak. Directe kosten bij een uitbraak van bruinrot op een akkerbouwbedrijf zijn kosten van arbeid, kapitaal en materialen die direct samenhangen met de uitbraak. Dit kunnen kosten zijn op het bedrijf zelf, maar ook kosten die worden gemaakt bij de tracering van en verdere bestrijding op contactbedrijven. Ook de door de economische actoren gederfde inkomsten als gevolg van stillegging van de productie mogen onder deze categorie worden meegerekend. Indirecte kosten in het geval van bruinrot zijn kosten die betrekking hebben op andere actoren uit het economische systeem dat samenhangt met de getroffen actoren. Een grootschalige uitbraak van bruinrot kan leiden tot een exportverbod voor pootgoed vanuit Nederland. Voorbeelden van indirecte kosten die dan optreden zijn saldo-derving bij bedrijven die actief zijn in toelevering van goederen en diensten aan de landbouw en bedrijven die aardappelen verwerken, verhandelen en transporteren. De bestrijding van een grootschalige uitbraak van bruinrot kan ook beperkingen opleggen aan toerisme in bijvoorbeeld waterrijke gebieden; dit is omdat de bruinrot bacterie kan overleven in planten

in het oppervlaktewater (bitterzoet). Ook de kosten die gepaard gaan met beperkingen aan toerisme vallen onder de categorie indirecte kosten. De hiervoor genoemde lijst met kosten, beperkt zich tot de kosten die meetbaar zijn, omdat het gaat om kosten van marktbaar goederen. De lijst met kosten is echter niet volledig zonder ook de maatschappelijke kosten van niet-marktbare goederen te noemen die in relatie staan tot de beheersing van plantenziekten. Nederland is de grootste exporteur van pootgoed ter wereld. Wanneer de export van Nederlands pootgoed stil te liggen als gevolg van een grootschalige uitbraak van bruinrot in belangrijke pootaardappelgebieden, dan heeft dit op termijn onvermijdelijke consequenties voor de wereldvoedselvoorziening. Bij het bepalen van de kosten van een beheersmaatregel als het stilleggen van de export van pootgoed behoren de materiële en immateriële kosten van een toename van de honger in de wereld te worden meegenomen. Ook de kosten van schade aan het milieu die gepaard gaan met de bestrijding van plantenziekten horen thuis in het rijtje kosten van niet-marktbare goederen. De schade aan het milieu kan zich bijvoorbeeld uiten in een lagere kwaliteit van het leefmilieu voor planten en dieren. (...)



Figuur 3. Kosteneffectiviteit als relatie tussen fyto-sanitaire risico's en kosten van beheersmaatregelen.

Het berekenen van de kosten van fyto-sanitaire beheersmaatregelen dient te worden uitgevoerd voor het bepalen van de kosteneffectiviteit. Het begrip kosteneffectiviteit wordt verduidelijkt in figuur 3. In deze figuur staan op de verticale as de fyto-sanitaire risico's en op de horizontale as de kosten die gemaakt worden voor verschillende combinaties van fyto-sanitaire beheersmaatregelen. In de figuur is aangenomen dat het gewenste niveau van fyto-sanitaire risico's vaststaat; niet bekend is nog welke combinatie van maatregelen dit niveau kan bereiken tegen de laagst mogelijke kosten. De lijn geeft de relatie weer tussen de minimale kosten en de fyto-sanitaire risico's. De combinatie van maatregelen M1 heeft hetzelfde effect op de fyto-sanitaire risico's als de combinatie van maatregelen, M2. De combinatie M1 kost echter meer en is daarom niet kosteneffectief.
(...)

Het bepalen van de kosten en baten van fyto-sanitaire maatregelen is bepaald geen sinecure, zoals ook uit het voorgaande heeft mogen blijken. Het vergt het nauwkeurig in kaart brengen van verschillende typen van kosten en baten van fyto-sanitaire maatregelen. De kosten van zaken waarvoor een markt bestaat zoals de directe en indirecte bestrijdingskosten kunnen worden herleid met behulp van bedrijfseconomische modellen, aangevuld met modellen voor de keten. Voor het simuleren van de gevolgen van grootschalige uitbraken zijn modellen op het niveau van een nationale economie zoals algemeen evenwichtsmodellen de aangewezen tools. Het bepalen van de omvang van de schade aan zaken als natuur en landschap kan plaatsvinden met behulp van waarderingmethoden die bekend zijn vanuit de milieueconomie; het is echter doorgaans niet eenvoudig om goede inschattingen te krijgen van niet-marktbare zaken.

Een andere methode om niet-marktbare goederen mee te nemen in de beslissingen ten aanzien van plantgezondheid is multicriteria analyse. Wat ook cruciaal is in de afweging van kosten en baten, zijn de effecten van maatregelen op de fyto-sanitaire risico's. Samenwerking met epidemiologen is cruciaal hierin. Momenteel wordt er op de leerstoelgroep reeds een tweetal promotieprojecten uitgevoerd waarin het bepalen van kosten en baten van maatregelen centraal staat. De promotieprojecten richten zich op bruinrot in de aardappelproductieketen en op inspectie effectiviteit in de sierteelketen. Een uitbreiding van het onderzoek naar de kosten en baten dient zich op dit moment aan. Daarbij gaat het onder andere om een theoretische onderbouwing van kosten in een pest risk analysis en om het benchmarken van activiteiten van de Plantenziektenkundige Dienst.

2. Asymmetrische informatie

Een tweede terrein waarin de bedrijfseconomie een belangrijke rol zou kunnen spelen komt voort uit het bestaan van asymmetrische informatie in de markt van plantaardige producten. Plantaardig materiaal kan dienen als drager van ziekten of plagen die grote schade kunnen veroorzaken voor individuele bedrijven of zelfs een heel land. Het is voor marktpartijen dan ook essentieel om goede en betrouwbare informatie te hebben over de fyto-sanitaire status van plantaardige producten (principal agent theorie).

Voorbeeld: De Plantenziektenkundige Dienst heeft de gedelegeerde plicht om de fyto-sanitaire status ten behoeve van de Nederlandse land- en tuinbouw te bewaken. In het kader daarvan is de PD actief in de monitoring van telers. Voor de PD is het echter ondoenlijk om tijdig op de hoogte te geraken van

uitbraken van quarantaine ziekten. Telers hebben dan ook de wettelijke verplichting om de PD in te schakelen indien zij een quarantaine organisme aantreffen op hun bedrijf, waarna de PD maatregelen neemt om verdere verspreiding te voorkomen. De agents, oftewel de telers, hebben in dit geval dus *a priori* meer informatie over de fyto-sanitaire status van hun bedrijf (aanwezigheid q-organisme) dan de principal (PD). Principal Agent theorie kan in dit geval een bijdrage leveren door een *systeem* te ontwerpen dat betere garanties biedt dat telers de aanwezigheid van q-organismen melden. In plaats van de ziekte te melden zouden telers immers ook zelf de bestrijding ter hand kunnen nemen, om zodoende bijvoorbeeld een vastlegging van het bedrijf te voorkomen. (...)

Onderwijs plantgezondheid

Ook in het onderwijs liggen er vele kansen voor het relatief nieuwe terrein van de economie van plantgezondheid. Een eerste aanzet daartoe is dit jaar al gegeven met de ontwikkeling van een nieuw vak 'economie van plantgezondheid en voedselveiligheid'. Dit vak omvat bij uitstek gamma en beta elementen en past dus uitstekend binnen het streven van Wageningen Universiteit naar beta-gamma integratie in het onderwijs. Nieuwe initiatieven kunnen ook buiten het reguliere onderwijs worden verwacht. Naar mijn mening liggen er goede mogelijkheden voor bijvoorbeeld een PHLO cursus over de maatschappijwetenschappelijke aspecten van plantgezondheid.

Referenties

Zie website www.knpv.org

Genetische analyse van *Phytophthora infestans*

Theo A.J. van der Lee

Op 3 oktober 2003 promoveerde Theo van der Lee aan de Wageningen Universiteit op een proefschrift getiteld 'Genetic analysis of *Phytophthora infestans*'. Promotor was Prof.dr.ir. P.J.G.M. de Wit en co-promotor Dr.ir. F. Govers, beiden werkzaam bij de leerstoelgroep Fytopathologie van Wageningen Universiteit. Het onderzoek dat plaatsvond bij bovengenoemde leerstoelgroep, maakte deel uit van een biotechnologisch onderzoekprogramma uitgevoerd door de Associatie van Biotechnologische Onderzoekscholen in Nederland (ABON) en gefinancierd door de ministeries van Economische Zaken, Onderwijs, Cultuur en Wetenschappen, en Landbouw, Natuurbeheer en Visserij. De volledige tekst van het proefschrift is als pdf file beschikbaar op www.gcw.nl.

die verantwoordelijk zijn voor deze stammen-specifieke (a)virulentie in *P. infestans*. Dit is dan ook één van de kernpunten van dit proefschrift.

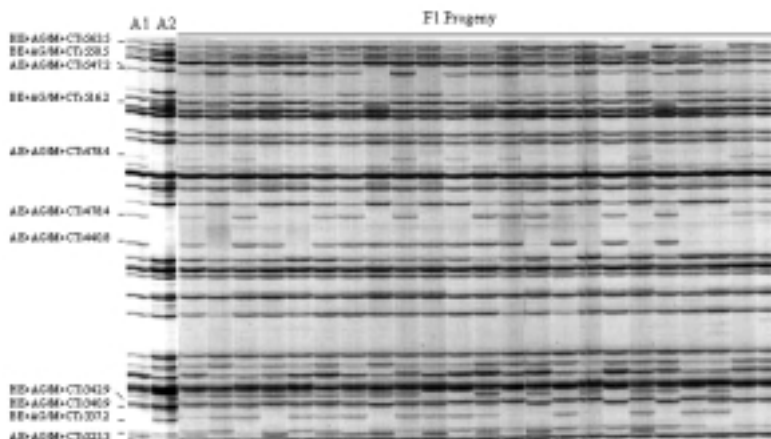
Een AFLP koppelingskaart van *Phytophthora infestans*

Door het DNA van twee ouderstammen en hun geslachtelijke nakomelingen te karakteriseren aan de hand van zogenaamde vingerafdrukken, en DNA fragmenten die uitsplitsen in het nakomelingenschap (merkers) te analyseren is het mogelijk om de overerving van genen en merkers in kaart te brengen (Figuur 1). Het proefschrift begint met een technische beschrijving van AFLP als methode om een dergelijke vingerafdruk van het DNA van *P. infestans* te maken.

Inleiding

Het proefschrift beschrijft genetisch onderzoek aan *Phytophthora infestans*, de veroorzaker van de aardappelziekte. Deze ziekte leidde tot desastreuze opbrengstverliezen in 1845 met als gevolg dat zich een hongersnood ontwikkelde die ruim één miljoen mensen in West Europa, met name in Ierland, het leven zou kosten. Nog steeds is de aardappelziekte één van de meest gevreesde plantenziekten. De jaarlijkse wereldwijde schade wordt geschat op drie miljard dollar en in Nederland wordt 50% van de chemische gewasbeschermingsmiddelen ingezet om deze ziekte te bestrijden. Omdat *P. infestans* zo'n groot probleem vormt voor de aardappelteelt is de afgelopen decennia veel onderzoek verricht aan *P. infestans* en aan natuurlijke resistentie tegen deze ziekteverwekker in verwante soorten van aardappel. Helaas zijn de tot nu toe gebruikte resistenties alleen effectief gebleven tegen specifieke stammen van *P. infestans*. Stammen die in staat zijn de resistentie te omzeilen zijn virulent en stammen die niet in staat zijn een aardappelplant met het betreffende resistentiegen aan te tasten worden avirulent ge-

noemd. Het gebruik van deze stammen-specifieke resistentie in aardappel kent grote beperkingen. In het veld zijn meestal meerdere *P. infestans* stammen aanwezig, waaronder virulente stammen die zich razendsnel kunnen vermeerderen en zware schade aan het gewas kunnen toebrengen. Hoe *P. infestans* zich onder natuurlijke omstandigheden aanpast aan resistente aardappelrassen is onduidelijk en ook is weinig bekend over de overerving van de genen



Figuur 1. AFLP-DNA vingerafdrukken van *Phytophthora infestans*. In de laan gemarkeerd met A1 is de vingerafdruk van de A1 ouderstam 80029 zichtbaar, in laan A2 de vingerafdruk van de A2 ouderstam 88133. De 24 lanen gemarkeerd met 'F1 progeny' zijn AFLP-DNA vingerafdrukken van 24 geslachtelijke nakomelingen van de twee ouderstammen. Links staan de codes van de merkers die uitsplitsen in de nakomelingen.

PROMOTIE

De AFLP methode heeft een hoog onderscheidend vermogen en is reproduceerbaar: klonale vegetatieve nakomelingen die werden gegenereerd van zoösporen afkomstig van de twee stammen die gebruikt zijn als ouders voor een kruising, bleken identieke DNA vingerafdrukken te hebben. Deze analyse liet ook zien dat de ouders genetisch uniform zijn hetgeen belangrijk is voor het overervingsonderzoek. Als in de nakomelingen DNA merkers vaker dan op grond van toeval verwacht mag worden, samen voorkomen zijn deze merkers aan elkaar gekoppeld. Zo werd de eerste genetische koppelingkaart van *P. infestans* gemaakt bestaande uit 190 DNA merkers verdeeld over tien samengestelde en zeven ouder-specifieke koppelingsgroepen. Het A1 paringstype bleek dominant te zijn over het A2 paringstype en merkers die exclusief gekoppeld zijn met het A1 paringstype komen veel vaker voor (7:1) dan op grond van toeval verwacht mag worden (1:1).

Het karteren van avirulentiegenen

De koppelingkaart werd vervolgens gebruikt om stammen-specifieke avirulentiegenen te positioneren. Om merkers te vinden die nauw gekoppeld zijn met avirulentie werd DNA van, enerzijds, een aantal avirulente nakomelingen en, anderzijds, een aantal virulente nakomelingen bij elkaar gevoegd. Vervolgens werden de vingerafdrukken van deze verzamelde DNA monsters met elkaar vergeleken. In totaal werd voor vijf avirulentiegenen koppeling met ruim 25.000 AFLP fragmenten bekeken. Voor één avirulentiegen werden geen verzamelde DNA monsters geanalyseerd maar werd alleen gekeken naar koppeling met willekeurige merkers. Voor deze zes genen bleek, zoals verwacht, avirulentie dominant te zijn over virulentie. Voor alle zes werden ge-

koppelde merkers gevonden waarmee ze geplaatst konden worden op de genetische kaart: *Avr1* op koppelingsgroep IV, *Avr2* op VI, *Avr4* op A2-a, en *Avr3*, *Avr10* en *Avr11* als een cluster op koppelingsgroep VIII (Figuur 2).

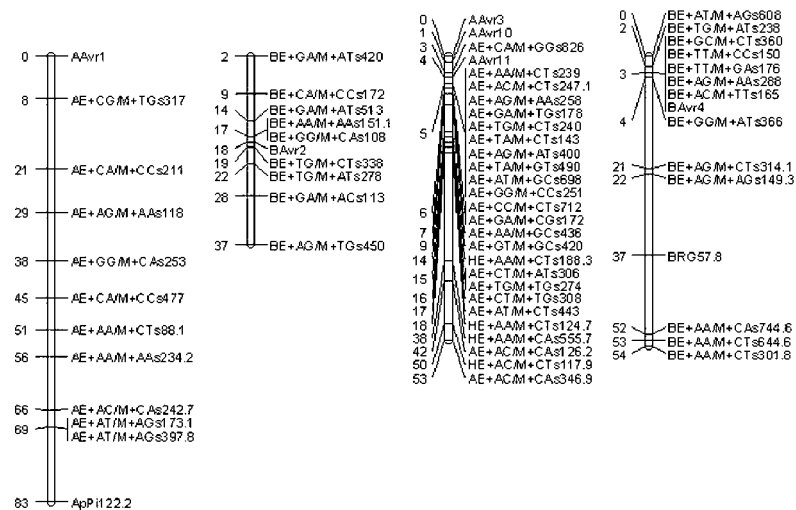
Fysische kartering van een avirulentie locus

Hoofdstuk vier van het proefschrift beschrijft de constructie van een bank van grote DNA fragmenten van één van de nakomelingen uit de kruising beschreven in hoofdstuk twee. Deze nakomeling is virulent op het ras Bintje, één van de meest gebruikte aardappelrassen in Nederland, maar is niet virulent op aardappelrassen met de resistentiegenen R1, R2, R3, R4, R10 of R11 en zal daarom de zes corresponderende avirulentiegenen bevatten. De grootte van de gekloonde DNA fragmenten en de representatie van verschillende regio's van het genoom in deze bank worden beschreven. Tevens wordt er een vergelijking gemaakt tussen de fysische en de genetische afstand in de chromosoomregio

waar het *Avr3-Avr10-Avr11* cluster geïdentificeerd is. Tenslotte worden de mogelijkheden besproken om deze avirulentiegenen te identificeren uitgaande van hun positie op de genetische koppelingkaart.

Analyse van de *Avr3-Avr10-Avr11* cluster in veldisolaten

Hoofdstuk vijf beschrijft een nadere karakterisering van de chromosoomregio waarop het *Avr3-Avr10-Avr11* cluster ligt. De regio werd geanalyseerd in twee kruisingspopulaties en in een groot aantal veldisolaten uit verschillende jaren en regio's. Deze analyse werd gestart toen bleek dat, tegen de verwachting in, negentien nauw gekoppelde merkers zich op hetzelfde chromosoom bevonden als het *Avr3-Avr10-Avr11* avirulentiegen cluster. Dit wijst op een chromosomale deletie op het zusterchromosoom maar dat is met AFLP merkers moeilijk te bepalen. Daarom werden de merkers nader gekarakteriseerd zodat ook analyse van de complementaire regio mogelijk zou worden. Veel merkers bleken gerepeteerde sequenties te



Figuur 2. Genetische kaarten van koppelingsgroepen met avirulentiegenen. Rechts staan de merkers, links de cumulatieve kaartafstanden in centimorgans. (A) Koppelingsgroep IV met *Avr1*. (B) Koppelingsgroep VI met *Avr2*. (C) Koppelingsgroep VII met *Avr3-Avr10-Avr11*. (D) Koppelingsgroep A2-a met *Avr4*.

PROMOTIE

bevatten en konden daarom niet omgezet worden in een benodigde unieke merker. Enkele merkers waaronder M5.1 bleken wel uniek. Voor merker M5.1 was geen complementair stuk DNA in de virulente ouder te vinden: de M5.1 regio bleek alleen aanwezig te zijn in de avirulente ouder en in avirulente nakomelingen. Dit geeft aan dat er in de virulente ouder inderdaad een deletie voorkomt en dat deze deletie ook op één van de twee chromosomen van de avirulente ouder voorkomt. In een groot gedeelte van de veldisolaten (37%) werd ook een deletie in deze chromosoomregio gevonden en er is een duidelijke correlatie tussen de afwezigheid van merker M5.1 en de virulentie op aardappellijnen met de resistentiegenen R3, R10 of R11. De correlatie met virulentie was het hoogst op aardappellijnen met het resistentiegen R11, een gen dat in tegenstelling tot de resistentiegenen R3 en R10, nooit in populaire aardappelrassen werd geïntroduceerd, zodat de *P. infestans* populatie zich daaraan niet kon aanpassen. Mogelijk is virulentie voor R11 in *P. infestans* meegelift met selectie voor virulentie op aardappelrassen met R3 en R10. Dit heeft grote gevolgen voor veredelingsstrategieën die erop gericht zijn duurzame resistentie te verkrijgen door het stapelen of mengen van resistentiegenen.

Trisome nakomelingen en chromosoomtranslocaties

In hoofdstuk zes wordt de overerving van DNA merkers in twee kruisingspopulaties beschreven. Er werden twee koppelingskaarten met een hoge merkerdichtheid gegenereerd. De eerste koppelingskaart is een uitbreiding en verfijning van de in hoofdstuk twee beschreven koppelingskaart en bestaat uit 508 merkers verdeeld

over dertien samengestelde en tien ouder-specifieke koppelingsgroepen. Door het grotere aantal merkers komt de clustering van merkers, met name van dezelfde ouder of hetzelfde chromosoom, veel prominenter naar voren dan bij de eerste kaart. Ook laat de kaart een discrepantie zien tussen de beide ouders in de koppeling van merkers op koppelingsgroep III hetgeen wijst op een translocatie op dit chromosoom. De tweede kaart, gebaseerd op de koppelingsanalyse van een andere kruising, is meer gefragmenteerd. Toch kan een aantal koppelingsgroepen van beide kaarten geïntegreerd worden op basis van AFLP merkers met dezelfde mobiliteit en intensiteit. In het algemeen komen de merkers in dezelfde volgorde voor en op vergelijkbare afstanden, maar in een aantal gevallen zijn grote afwijkingen geconstateerd hetgeen wederom wijst op chromosoomtranslocaties. Gedetailleerde analyse van de nakomelingen laat bovendien zien dat een deel van de nakomelingen trisoom is: zij bevatten drie in plaats van de gebruikelijke twee homologe chromosomen. Deze trisome nakomelingen zijn kennelijk niet beperkt in vitaliteit omdat ze nog steeds in staat zijn aardappelplanten aan te tasten. De frequentie van trisomen in twee onafhankelijke nakomelingschappen wijst er op dat het voorkomen van trisomen geen uitzonderlijke gebeurtenis is.

Conclusies en vooruitblik

Dit onderzoek heeft geresulteerd in de eerste gedetailleerde genetische koppelingskaart van *P. infestans*. Ook heeft het laten zien dat overerving in *P. infestans* niet altijd volgens verwachting verloopt. De aangetoonde trisomen, deleties en chromosoomtranslocaties wijzen op een aanzienlijke flexibiliteit van het genoom. Waarschijnlijk komen trisomen ook voor in veldisolaten

en zijn mogelijk mede bepalend voor de genetische variabiliteit van de *P. infestans* populatie. Het onderzoek onderstreept de noodzaak om bij resistentietoetsen altijd meerdere *P. infestans* isolaten te testen en om de samenstelling van de veldpopulatie voortdurend te blijven volgen.

De merkers en de genetische koppelingskaart vormen een uitstekende basis voor verder onderzoek. De leerstoelgroep Fytopathologie richt zich nu op het kloneren van avirulentiegenen, o.a. op basis van hun positie op de koppelingskaart (positionele klonering). Een beter inzicht in de werking van avirulentiegenen is belangrijk: waarom kunnen deze genen in *P. infestans* zo snel muteren en hoe leidt mutatie tot het omzeilen van herkenning door resistentie-eiwitten? De uitdaging voor de toekomst is om deze kennis optimaal te benutten voor nieuwe veredelingsstrategieën die leiden tot duurzaam resistente aardappelcultivars.

Literatuur

- Lee, T. van der, De Witte, I., Drenth, A., Alfonso, C. and Govers, F. (1997) AFLP linkage map of the oomycete *Phytophthora infestans*. *Fungal Genetics and Biology* **21**, 278-291.
- Lee, T. van der, Robold, A., Testa, A., van 't Klooster, J.W. and Govers, F. (2001) Mapping of avirulence genes in *Phytophthora infestans* with Amplified Fragment Length Polymorphism Markers selected by bulked segregant analysis. *Genetics* **157**, 949-956.
- Lee, T. van der, Testa, A., van 't Klooster, J., van den Berg-Velthuis, G. and Govers, F. (2001) Chromosomal deletion in isolates of *Phytophthora infestans* correlates with virulence on R3, R10 and R11 potato lines. *Molecular Plant Microbe Interactions* **14**, 1444-1452.
- Lee, T. van der, Testa, A., Robold, A., van 't Klooster, J.W. and Govers, F. (2004) High density genetic linkage maps of *Phytophthora infestans* reveal trisomic progeny and chromosomal rearrangements. Accepted for publication pending minor revisions.
- Whisson, S.C., van der Lee, T., Bryan, G.J., Waugh, R., Govers, F. and Birch, P.R.J. (2001) Physical mapping across an avirulence locus of *Phytophthora infestans* using a high representation, large insert bacterial artificial chromosome library. *Molecular and General Genomics* **266**, 289-295.

Column

Hoe komt het, dat soms jonge planten na 't verpoten zoo slecht vooruit willen?

J. Ritzema Bos

*Tijdschrift over Plantenziekten
1(1895)119-120*

Wat ik hier neerschrijf, zal voor een ervaren tuinman niets nieuws opleveren, maar misschien wel voor dezen of genen, die een groteren of kleineren tuin bezit en daarin, bij wijze van verpoozing of afwisseling, zelf wel eens wat werkt. Het is mijn gedurig voorgekomen, dat zoo'n tuinliefhebber mij kwijnende of stervende jonge kool- of augurkplantjes of ook jonge bloemplantjes zond, die na 't verpoten aan 't sukkelen waren geraakt. Nu gebeurde het somwijlen, dat ik aan of in de mij gezonden plantjes geen enkel organisme kon ontdekken, 't welk met eenigen grond als de oorzaak van het kwijnen of sterven zou mogen gelden.

Volgende mijne overtuiging lag in die gevallen de schuld eenig en alleen in de wijze van verpoten. Men moet nooit eene jonge koolplant, eene jonge augurkenplant enz bij 't verpoten even diep in den grond plaatsen als zij er in stond, maar altijd veel dieper: eene augurkenplant zelfs zóó dat de zaadlobben bijkans op de bodemoppervlakte komen te liggen. Men zal misschien zeggen: maar dan komen de jonge planten in een geheel onnatuurlijken toestand! 't is zoo: maar 't verpoten zelf is ook iets onnatuurlijks; en wat voor eene vastgewortelde plant goed is, is het daarom nog niet voor eene plant die juist verpoot werd. Bij de jonge plant zijn vóór 't verpoten de worteltjes in de deelen van den omgevenden grond ongedrongen; het plantje voedt zich behoorlijk en het staat volkomen vast. Maar een plantje, dat pas verpoot is, staat volstrekt niet vast en heeft ook versterking van zijne hulpmiddelen voor voedsel-opname dringend nodig. Zet men het jonge plantje vrij diep, bijv. tot vlak onder de zaadlobben, in den grond, dan staat het veel steviger; het stengel-

tje is dan meer beschut en heeft de gelegenheid, worteltjes te vormen. Op deze wijze verpoot, zullen jonge plantjes gewoonlijk goed aanslaan, – vooral wanneer men ze met een flink kluitje aarde uit den grond heeft genomen en zoo min mogelijk tijd heeft laten verlopen tusschen opnemen en het weer uitplanten.

Mogelijke oorzaken verwelken/doodgaan zaailingen na verpoten – stand van de kennis in 2004:

*J. van Vuurde en
B.M. Schober*

(Wageningen-UR)

Verwelking van zaailingen heeft meestal betrekking op het plotse afsterven van de plant of de pas gevormde wortels, veroorzaakt door bodemschimmels. Voedings-



COLUMN

stoffen afkomstig van de kiemende zaden stimuleren de groei van deze schimmels. Naast schimmels kunnen echter ook toxische stoffen uit de bodem of in de lucht, een teveel of tekort aan vocht, temperatuurextremen of beschadigingen aan het zaad zelf leiden tot sterfte. Een correcte en zorgvuldige diagnose van de oorzaak is de enige manier om een geschikte bestrijdingsmethode te kunnen kiezen of zelfs maar de oorzaak te achterhalen, de diagnoseservice van de Plantenziektenkundige Dienst is een mogelijk loket voor de diagnose.

Ritzema Bos was een scherpe waarnemer en zou schimmelaantasting door bijvoorbeeld *Rhizoctonia* of *Pythium* sp. op de wortels opgemerkt hebben. Indien de zaailingen echter door een vaatpathogeen organisme wordt aangetast treed verwelking en/of necrose op. De symptomen als gevolg van geblokkeerde vaten of microbiële toxinen kunnen overeenkomen met de door Ritzema Bos beschreven symptomen. Zowel bij schimmels als bacteriën komen vaatgespecialiseerde pathogenen voor. Voor een aantal cultuurgewassen was de mogelijk daarop voorkomende vaatpathogenen in de tijd van Ritzema Bos nog niet of onvoldoende beschreven.

Voorbeeld:
Olpidium brassicae (Woronin)
P.A. Dang tast jonge zijwortels

en de hypocotielen aan en veroorzaakt rot en uiteindelijk sterfte bij kiemplanten van onder andere kool, komkommer en peen; deze planten worden in het artikel van Ritzema Bos genoemd.

O. brassicae en andere *Olpidium*-soorten zijn vaak voorkomende bodemschimmels met een wereldwijde verspreiding; Deze bodemschimmels treden op als de specifieke vector van virusziekten. Infectieuze zwemsporen, die vanuit de door de schimmel geïnfecteerde plantenwortels vrijkomen in de grond, kunnen de virusziekten makkelijk verspreiden. Symptomen die geassocieerd worden met deze schimmel zijn echter pas in 1934 beschreven (Jagger, I.C. & Chandler, N., 1934. *Phytopathology* 24: 1253-1256) zodat we kunnen aannemen dat Ritzema Bos in 1895 nog geen gegevens beschikbaar had over *Olpidium* spp. als ziekteverwekker en vector voor plantevirussen.

Deleterious organismen en andere oorzaken

De complexe ecologie van plantgeassocieerde micro-organismen was nog zo goed als onbekend in de tijd van Ritzema Bos. Zo is nu bekend dat bepaalde typen bacteriën in de rhizosfeer zijwortelvorming kunnen bevorderen via auxineproductie terwijl andere typen juist zijwortelvorming tegengaan. Deze

groep van bacteriën die de groei van de plant op negatieve wijze beïnvloedt, wordt in de literatuur aangeduid als 'minor pathogens' of 'deleterious bacteria'. Bepaalde typen zijn op het worteloppervlak actief (epifytisch) andere typen kunnen de plant binnendringen en daar de groei van de plant beïnvloeden (endofytisch).

Verspenen

Naast de door Ritzema Bos genoemde plantdiepte als kritische factor bij het verspenen uit een zaaibed zou ook het onvoldoende aandrukken van de grond rondom de wortels van het verspeende plantje slechte groei en verdroging ervan kunnen verklaren.

Onvoldoende verteerde of in te hoge concentratie aan de grond toegevoegde compost of andere meststoffen kunnen daarnaast een toxische werking op de plant hebben.

Van verdere speculatie willen we afzien omdat de door Ritzema Bos verstrekte gegevens ons inziens geen diepere diagnose mogelijk maken. Zijn advies om net verspeende plantjes dieper te planten dan oorspronkelijk het geval is, kunnen we uit eigen tuinderservaring echter wel van harte aanbevelen.

Tekening door Henk van Ruitenbeek.

Willie Commelin Scholtendag 2004

Op donderdag 22 januari 2004 vond op de Uithof in Utrecht de Willie Commelin Scholtendag plaats. Deze jaarlijks terugkerende bijeenkomst wordt georganiseerd door de sectie voor de Fytopathologie van de Koninklijke Nederlandse Botanische Vereniging en heeft tot doel kennisuitwisseling tussen de fytopathologische onderzoeksgroepen op instituten, proefstations en universiteiten te bevorderen. De bijeenkomst werd bijgewoond door ongeveer tachtig personen. De samenvattingen van de presentaties staan hieronder weergegeven.

De datum voor de volgende WCS dag is vastgesteld op donderdag 20 januari 2005, wederom op de Uithof in Utrecht. U bent allen uitgenodigd om deel te nemen. Het bestuur van de sectie streeft naar een programma waarin alle actoren in het fytopathologisch onderzoek in Nederland vertegenwoordigd zijn en nodig met name onderzoekers van instituten en proefstations uit een bijdrage te leveren. Voor nadere informatie over de KNBV sectie fytopathologie en de WCS dag kunt u zich wenden tot Guido Bloemberg, secretaris (bloemberg@rulbim.leidenuniv.nl / 071 527 5056) of Francine Govers, voorzitter (francine.govers@wur.nl / 0317 483 138).

Hosts, species and genotypes

Pedro W. Crous

*Centraalbureau voor Schimmelcultures, Uppsalalaan 8, 3584 CT Utrecht, The Netherlands.
Contact: crous@cbs.knaw.nl*

How we define and recognise species is a theme that is central to phytomycolo23gy. For the purpose of this talk, I will briefly discuss the various models currently employed for species recognition and point out the positive and negative aspects of each, using various examples of phytopathogenic fungi. To this end, the recognition of phylogenetic species by employing genealogical concordance appears to be the widely accepted, though the biological and morphological species concepts are still commonly used. In recent years the synergism between plant pathology and phytomycology has largely been lost and hence plant pathology as a science finds itself in a serious predicament. Most plant pathologists work with names that relate to outdated concepts. Few actually work with the organisms named in their grant proposals. In this

talk I will present data to address various issues related to: (a) genomic data vs. the Saccardoan system and the anamorph names it gave rise to; (b) pathogen diagnostics and the value of epitypification; (c) genomic data that will indicate that many of the pathogen names we are currently using need to change; (d) the need of plant pathologists to ensure that they are represented in AToL initiatives; (e) the understanding that clonality, sex and variation mean we have to think about studying populations rather than random strains. Although the pros and cons of various proposed changes remain debatable, the mycological dogma we were taught is changing due to genomics. The biggest advantage to systematics is that these new approaches promise an eventual stability to a science that underpins plant pathology.

Downy mildew genomics: identification and functional analysis of genes encoding secreted proteins

Karin Posthuma, Elberse J., Weisbeek P. and van den Ackerveken G.

*Molecular Genetics, Utrecht University, H.R. Kruytgebouw, Padualaan 8, 3584 CH Utrecht, The Netherlands.
Contact: k.i.posthuma@bio.uu.nl*

Downy mildews infect many important crops worldwide. To protect crops from downy mildew disease, natural resistance genes have been introduced into cultivars. However, resistance is usually rapidly overcome by the pathogen. The project 'Downy mildew genomics and plant disease resistance' aims to identify new resistance genes that mediate the recognition of important pathogen proteins and may therefore be more durable. A genomics approach is used to identify downy mildew genes that encode secreted proteins and that are specifically expressed during the infection process. Two downy mildew – plant interactions are studied: *Peronospora parasitica* – *Arabidopsis thaliana* and *Bremia lactucae* – lettuce. Over three thousand Expressed Sequence Tags (ESTs) have been collected from *B. lactucae* and *P. parasitica* conidiospore libraries. These ESTs have been screened for signal peptides and for similarity to genes or proteins in public databases. Microarray technology is being

WCS-DAG 2004



used to study the expression of these genes during infection of the host. In addition, we are collecting a large number of ESTs from a subtracted library of the *P. parasitica* – *A. thaliana* interaction. Functional studies of selected *P. parasitica* secretory proteins will be carried out by (transient) expression in *A. thaliana* and *Nicotiana* sp.. *B. lactucae* genes encoding secreted proteins will be transiently expressed in lettuce to identify lines reacting with a hypersensitive response. These lines will be tested further for downy mildew resistance and can be used by lettuce breeders to obtain new resistance specificities to downy mildew disease.

This research is funded by the Dutch Technology Foundation (STW).

New bacterial strains for the control of tomato foot and root rot

Faina D. Kamilova, Ine H.M. Mulders and Ben J.J. Lugtenberg

*Institute of Biology, Leiden University, Wassenaarseweg 64, 2333 AL Leiden, The Netherlands
Contact: Kamilova@rulbim.leidenuniv.nl.*

Tomato foot and root rot (TFRR) is an important tomato disease caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *redicis-lycopersici* (Forl). In our group we develop bacterial control agents to Forl and other fungal diseases in plants.

Pseudomonas strains were isolated from Spanish tomato plants and *Bacillus* strains were isolated from Mexican maize plants. In both cases plants were grown under conditions of sustainable agriculture. The isolates that appeared to be antagonistic towards Forl *in vitro*, were tested for control of TFRR under greenhouse conditions after applying them on tomato seeds or seedlings. *Pseudomonas chlororaphis* PCL 1391 and *Bacillus* sp. BS43 appeared to be very efficient in TFRR suppression. For these strains the presumed mechanism of biocontrol is antibiosis.

Since competitive root tip colonization can be an important trait in biocontrol, a number of Gram-negative bacteria with enhanced colonization properties was isolated. It was shown that some excellent colonizers could control TFRR under greenhouse conditions. Because these strains do not display antagonistic activity against Forl *in vitro*, we speculate that the mechanism(s) by which they control TFRR is/are induced systemic resistance and/or competition for nutrients and niches.

Boosting plant defense by beneficial microorganisms

Boosting plant defense by beneficial microorganisms

María J. Pozo, L.C. Van Loon and Corné M.J. Pieterse

Section Phytopathology, Faculty of Biology, Utrecht University, P.O.Box 800.84, 3508 TB Utrecht, The Netherlands.

Contact: m.j.pozo@bio.uu.nl; Internet: www.bio.uu.nl/~fytopath/

Plants have developed multiple strategies to protect themselves against pathogen attack, including preformed barriers and inducible defence mechanisms. Moreover, they interact with beneficial microorganisms able to reduce the effects of deleterious organisms. Some of these microorganisms, for example *Trichoderma* spp. fungi, can have a direct impact on the pathogen through antibiosis and parasitism. Others have a more indirect mode of action, as arbuscular mycorrhizal fungi. They colonise roots leading to an increased plant nutrition, competing with the pathogen for nutrients and colonisation sites and potentiating plant defence responses against a challenging pathogen. In fact, the most effective biocontrol agents combine different mechanisms. One of the most studied examples of combined strategies for

biocontrol are bacteria from the genus *Pseudomonas*. They can produce antibiotics and siderophores, weakening the pathogen in the soil. Root colonisation by selected strains result in induce systemic resistance (ISR) effective against a broad range of root and foliar pathogens. Interestingly, no major changes in gene expression have been related to the ISR state in the plant. Instead, induced plants show potentiated defence responses after infection with the challenging pathogen, a phenomenon called 'priming'. We hypothesise that priming of pathogen-induced genes allows the plant to react more effectively to the invader encountered, which might explain the broad-spectrum action of rhizobacteria-mediated ISR. The molecular mechanisms underlying priming are currently under study. Understanding the mechanisms by which beneficial microorganisms help the plant to defend themselves is key for developing safe, durable and environment friendly strategies in crop protection.

Suppression of take-all disease in soils from organic versus conventional farms in relation to native and introduced 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens*

Ariena H.C. van Bruggen, Gerbert Hiddink, Alexandre V. Semenov, Anne D. van Diepeningen, Aad J. Termorshuizen, Jos M. Raaijmakers and Alexandre M. Semenov.

Wageningen UR, Marijkeweg 22, 6709 PG Wageningen.
Contact: Ariena.vanBruggen@wur.nl

In three sets of experiments with soils collected from organic and conventional farms, take-all disease on barley, wheat or triticale, caused by *Gaeumannomyces graminis*, was more suppressed in organically managed than in conventionally managed soils where crops had been grown in rotation. This was true for soils with naturally occurring *G. graminis* and for soils amended with inoculum of *G. graminis* var. *tritici* strain R3-111a-1. Suppression of *G. graminis* var. *tritici* was positively correlated with bacterial diversity in soil as determined by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) analysis of 16S ribosomal DNA genes amplified from DNA directly extracted from soil. Disease severity in a take-all suppressive

soil, where wheat had been grown in continuous monoculture, was intermediate between that in an organic and a conventional soil with crop rotation. Natural populations of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas* species were abundant in soil from the monoculture wheat field, less abundant in conventional soil where triticale had been grown organically for two years, and almost absent in soil from an organic farm. Populations of a *Gfp*-tagged, 2,4-diacetylphloroglucinol-producing strain of *Pseudomonas fluorescens* introduced in soil declined faster in organically managed than in conventionally managed soils, and did not contribute as much to take-all suppression in the former than in the latter soils. Thus, the natural mechanism of take-all suppression in organically managed fields may be different from that in conventional fields with monoculture wheat or triticale, where 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas* species may be of importance.

Characterization of an MFS transporter from *Mycosphaerella graminicola* as a potent multidrug transporter

Ramin Roohparvar¹, Lute-Harm Zwiwers¹, Gert H.J. Kema² and Maarten A. De Waard¹

¹Laboratory of Phytopathology, Wageningen University, Bode 45, Postbus 8025, 6700EE Wageningen, The Netherlands.

²Businessunit Biointeractions and Plant Health, Plant Research International, Wageningen, The Netherlands.
Contact: Maarten.deWaard@wur.nl

The ascomycetous fungus *Mycosphaerella graminicola* is the causal agent of a severe disease on wheat called septoria tritici leaf blotch. Screening of *M. graminicola* EST libraries led to the identification of *MgMfs1*, a full length Major Facilitator Superfamily (MFS) gene with high homology to putative toxin transporters involved in virulence. Complementation of a *Saccharomyces cerevisiae* strain deficient in multiple drug transporter genes with *MgMfs1* resulted in an impressive decrease in sensitivity of *S. cerevisiae* to a broad range of synthetic and natural toxic compounds indicating that the encoded protein, *MgMfs1*, is involved in multidrug resistance. We propose that *MgMfs1* can act as a virulence factor of *M. graminicola* and can be a determinant of the pathogen in sensitivity and resistance to fungicides.



Molecular characterization of MAP kinase signaling genes in *Mycosphaerella graminicola* and their role in pathogenicity

Rahim Mehrabi, C. Waalwijk, T. Van der Lee, S. Ben M'Barek, S. Ware and G.H.J. Kema

Plant Research International, Wageningen University & Research Centre (WUR),
P.O.Box 16, 6700 AA Wageningen
Contact: rahim.mehrabi@wur.nl

The infection of *Mycosphaerella graminicola*, the causal agent of septoria tritici leaf blotch of wheat, is initiated by germination of conidia and entry of the germ tubes through the stomates. Subsequent intercellular growth in close contact with mesophyll cells and colonization of the tissue leads to chlorosis, necrosis and pycnidia formation. So far the molecular mechanisms involved in pathogenesis and infection process are poorly understood in this pathogen. Infection is triggered by perception of the host by the fungal pathogen through physical and/or chemical signals leading to cascades of biological processes needed for establishment and successful colonization. We are particularly interested in understanding the role of the signal transduction pathways/genes in regulation of other pathways/genes and in the establishment and development of *M. graminicola* on wheat. Through analyses of cDNA libraries of *M. graminicola*, several signal transduction genes have been identified. We optimized and exploited a method to disrupt the MAP kinase genes by using *in vitro* transposon mutagenesis system. We generate knockouts of these genes through homologous using *Agrobacterium*-mediated transformation recombination. The study of the role of these genes in virulence is in progression. As an example, a full-length cDNA clone that is highly homologous to a mitogen-acti-

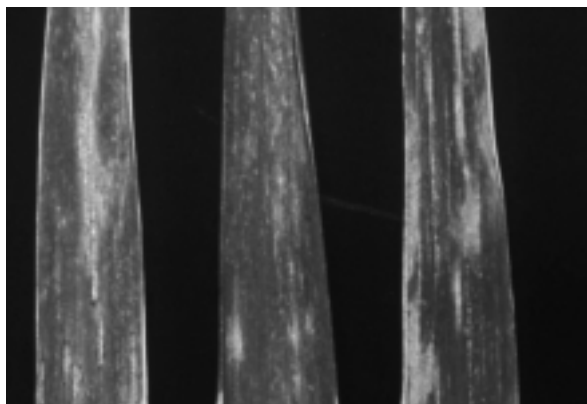
ted protein, FUS3 in *Saccharomyces cerevisiae* was cloned. This MAP kinase possesses a 1068 bp open reading frame and encodes a 356aa sequence. The disruptant showed no differences in germination, sporulation and growth rate *in vitro* as compared to the wild type isolate IPO323 or transformants with an ectopic integration of the construct. However, the disruptant failed to cause any symptoms e.g. chlorosis, necrosis and pycnidia on wheat in either detached leaf or seedling bioassays. We measured the fungal biomass of this disruptant in the absence of visual symptoms and determined only a slight increase of fungal biomass over time using Real Time PCR (TaqMan). However, this increase was tremendously lower than the increase of biomass of the wild type isolate IPO323. Our results indicate that non-pathogenic transformants/isolates can survive in or on hosts without causing symptoms.

A small, cysteine-rich protein secreted by *Fusarium oxysporum* during colonization of xylem vessels is required for I-3-mediated resistance in tomato

Martijn Rep, Charlotte van der Does, Michiel Meijer, Petra Houterman and Ben J.C. Cornelissen

Plant Pathology, Swammerdam Institute for Life Sciences, Faculty of Science, University of Amsterdam, Kruislaan 318, 1098 SM Amsterdam, The Netherlands.
Contact: rep@science.uva.nl

We report the identification of the first avirulence factor from a root-infecting pathogen. It is a cysteine-rich protein secreted by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* during colonization of tomato xylem vessels. The corresponding gene was identified with degenerated primers based on peptide sequences and encodes a 30 kD protein, designated Six1 for Secreted in xylem 1. The central part of Six1 corresponds to the 12 kD protein found in xylem sap of infected plants. Disruption of the *SIX1* gene in a wild-type strain results in breaking of I-3-mediated resistance, suggesting that I-3-mediated resistance requires secretion of Six1 in xylem vessels. On susceptible plants, *SIX1*-deleted strains are less virulent than wild-type. In forma specialis *lycopersici*, *SIX1* lies on a chromosomal region with a high density of transposons. *SIX1* is absent in isolates belonging to other formae speciales, suggesting that it may be associated with host-specificity. We are now investigating if variation in virulence on I-3 plants amongst natural



isolates is associated with variation in the *SIX1* sequence.

Molecular phylogeny of *Phytophthora* species; impact of reticulation and ecological parameters

Laurens. P. N. M. Kroon¹, F.T. Bakker²,
G.B.M. van den Bosch¹, P.J.M. Bonants¹, and
W.G. Flier^a

¹Plant Research International, P.O.Box 16,
6700 AA Wageningen, The Netherlands ² National Herbarium
Netherlands, Wageningen University Branch, P.O.Box 9101,
6700 HB Wageningen, The Netherlands
Contact: laurens.kroon@wur.nl

A molecular phylogenetic analysis of the genus *Phytophthora* was performed, based on both nuclear and mitochondrial DNA sequence data. Emphasis in our study was on species collected from the Toluca Valley in central Mexico, the presumed center of origin of *Phytophthora infestans* and other closely related species. A total of 113 isolates from 48 *Phytophthora* species and two *Pythium* species were used in this analysis. Phylogenetic analyses were performed for combined mitochondrial sequences, for combined nuclear sequences and for all sequences combined and between-data set congruence was tested. Results indicate that the classical taxonomic grouping as described by Waterhouse (1963) does not reflect true phylogenetic relations. *Phytophthora* species were redistributed into eight clades, providing a more accurate representation of phylogenetic relationships within the genus *Phytophthora*. The evolution and transition of morphological, pathogenic and reproductive traits was inferred from the cladogram

generated in this study. Incongruence was found between phylogenies for nuclear and mitochondrial DNA, a possible indication for reticulate evolution in *Phytophthora* species.

Characterisation of the signal transduction pathway resulting in the hypersensitive response in planta

Iris Stulemeijer

Laboratory of Phytopathology, Wageningen University,
Bode 45, Postbus 8025, 6700EE Wageningen,
The Netherlands
Contact: Iris.Stulemeijer@wur.nl

The hypersensitive response (HR) is an efficient, active defence response in plants based on a resistance (*R*) gene in the plant that mediates resistance against a pathogen that contains the corresponding avirulence (*Avr*) gene. In tomato, the resistance gene *Cf-4* mediates specific recognition of the corresponding elicitor AVR4 produced by the pathogen *Cladosporium fulvum*. To study the signal transduction pathways resulting in HR, we have generated tomato seedlings that express both *Cf-4* and AVR4. Since HR resulting from AVR4 recognition is suppressed at elevated temperatures (33°C), systemic HR in *Cf-4*/AVR4 tomato seedlings can be synchronised by a shift from high to low (20°C) temperature (De Jong *et al.*, 2002). This system will be further referred to as 'dying seedlings'.

In the past, several studies have been done to identify parts of the signal transduction pathway in cell suspensions. However, the dying seedlings give us a nice tool to study the signal transduction pathway in intact plants. The system allows studies on cell death, H₂O₂ production, callose formation, MAP kinase activity and alkalization of the leaves.

Furthermore, protein phosphorylation events that play a key role in signal transduction pathways can be studied in these dying seedlings. Several phosphorylation enzymes, such as Pto, Xa21, MAPKs and CDPKs are specifically activated during HR. To search for target proteins of phosphorylation enzymes in general, we aim to study changes in the phosphoproteome during HR in the dying seedlings. Differentially phosphorylated samples can be identified on Western blot by specific antibodies, whereas proteins can be isolated for further analysis by immunoprecipitations.

WCS-DAG 2004

KNPV-werkgroepen

Samenvattingen van de presentaties gehouden op de bijeenkomst van de werkgroep Fusarium op 3 maart 2004 te Utrecht

Indeling Fusarium-stammen geïsoleerd uit patiënten met opportunistische infecties

Richard Summerbell¹,
Kris Honraet², Hans-Josef
Schroers^{1,3}, en
Mieke Starink-Willemse¹

¹ Centraal Bureau voor
Schimmelcultures, Utrecht.

² Laboratorium voor Farmaceutische
Microbiologie, Universiteit Gent, België.

³ Agricultural Institute of Slovenia,
Ljubljana.

Plantenziekten-veroorzakende isolaten van de *Fusarium solani* groep zijn reeds lang onderverdeeld in verschillende kruisingspopulaties en *formae speciales*. Er zijn echter nog maar weinig stammen geanalyseerd die opportunistische infecties in mensen kunnen veroorzaken, om hun plaats in deze groepen te bepalen. Summerbell en Schroers hebben eerder aangevoerd dat sommige stammen die geïsoleerd zijn uit patiënten met opportunistische infecties horen bij *F. solani* f. sp. *cucurbitae* ras 2 (MPV) ofwel bij *F. lichenicola* (vroeger *Cylindrocarpon lichenicola*), een lid van de *F. solani* soort-complex. De chronische subcutane ziekte mycetoma wordt regelmatig veroorzaakt door *F. falciforme* (vroeger *Acremonium falciforme*), ook lid van de *F. solani* soort-complex. Isolaten uit een patiënt met een fusariële biofilm op de stemprothese horen tot een genetische subgroep van *F. solani* f. sp. *radicola* die nauw verwant is aan *F. falciforme*. Andere net zo nauwverwante isolaten werden uit ginseng, gladiool en de sojaplant geïsoleerd. De infectie van de sojaplant was bijna onschadelijk. *Fusarium* isolaten uit mycetoma veranderen mor-

fologisch sterk in de loop van het infectieproces. Na sequencen blijken deze stammen soms verwant te zijn met de 'echte' *F. solani* f. sp. *radicola*, die een ziekte veroorzaakt bij aardappel en tomaat. In sommige gevallen zijn ze verwant met een taxusendofyt die alleen als *Fusarium* spec. bekend is. De mycetoma-isolaten vormen weinig conidiën en groeien buitengewoon langzaam; daardoor lijken ze op *F. falciforme* isolaten uit gevallen van mycetoma. Het blijkt dat langdurige kolonisatie van een menselijke gastheer door *F. solani* isolaten van verschillende genetische groepen, vooral in gevallen van mycetoma, grondige en onomkeerbare veranderingen in de morfologische ontwikkeling kan veroorzaken.

FusariumScreen™: een niet-destructieve analyses van de pathogenese van aarfusarium

Theo van der Lee, Gert Kema,
Ineke de Vries, Henk Jalink,
Rob van der Schoor en
Cees Waalwijk

Plant Research International B.V.,
Droevendaalsesteeg 1, P.O. Box 16,
6700 AA Wageningen, Nederland,
Email: theo.vanderlee@wur.nl

Fusarium aarziekte in granen is een wereldwijd probleem. De directe opbrengstreducties zijn enorm en de indirecte verliezen door kwaliteitsproblemen en mycotoxinen zijn van een nog grotere orde. Resistentie is vanzelfsprekend een uitstekende manier om Fusarium problemen voor te zijn. Fusarium in granen wordt echter door een complex van soorten veroorzaakt. Over de resistentie tegen deze individuele soorten is weinig

bekend, laat staan over het resistentiemechanisme.

Resistentie tegen Fusarium wordt onderscheiden in diverse typen waarvan resistentie tegen penetratie en kolonisatie het belangrijkste lijken te zijn. Het onderscheid tussen de diverse typen is echter niet goed omschreven. Hierdoor is weinig tot niets bekend over de genetische basis van deze resistentietypen. Het is daarom moeilijk om resistentietypen te combineren in veredelingsprogramma's. Wij hebben daarom FusariumScreen™ ontwikkeld. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een met GFP getransformeerd *Fusarium* isolaat. Met FusariumScreen™ wordt het kolonisatieproces in levende planten vanaf het allereerste begin kwantitatief gevolgd waardoor veel inzicht wordt verkregen over onderliggende resistentiemechanismen. Met behulp van FusariumScreen™ kunnen deze in vele rassen tegelijkertijd op een snelle wijze geïdentificeerd en in veredelingsprogramma's gebruikt worden. Het principe van FusariumScreen™



kan op meerdere pathosystemen worden toegepast.

Syntenie in toxine producerende Fusarium soorten: het gencluster verantwoordelijk voor het mycotoxine fumonisine en het mating type locus als voorbeelden

Cees Waalwijk,
Theo van der Lee,
Ineke de Vries,
Thamara Hesselink,
Joop Arts and
Gert H.J. Kema

Plant Research International BV,
Business unit Biointeractions and Plant Health, Wageningen, The Netherlands.
Droevendaalsesteeg 1, P.O. Box 16,
6700 AA Wageningen, The Netherlands.
Email: cees.waalwijk@wur.nl

De genoom regio's die coderen voor eiwitten betrokken bij kruisingen (mating type locus) en het gencluster coderend voor eiwitten betrokken bij de synthese van het mycotoxine fumonisine zijn bestudeerd in *Fusarium proliferatum*.

Vergelijking van de sequenties van deze regio's met die van andere ascomyceten geeft aan dat de mate van syntenie, het behouden blijven van gen-volgorde en gen-richting in het genoom, verschilt in beide gebieden en dat tevens de mate van verwantschap tussen homologe genen in eenzelfde gebied sterk kan fluctueren. Syntenie in het mating type locus werd gevonden met soorten die zo'n 280 miljoen jaar geleden [Berbee en Taylor. Dating the evolutionary radiations of the true fungi. Can J. Botany 71: 1114-1127 (1993)]

1993). uit elkaar zijn gedivergeerd. De fumonisine genclusters van de nauw verwante soorten *Fusarium proliferatum* en *F. verticillioides* zijn volledig syntenisch maar de flankerende gebieden bleken sterk verschillend. Dit geeft aan dat het gencluster zich in deze twee soorten op verschillende posities in het genoom bevindt. Vergelijking met

de genoom sequentie van de tarwe pathogeen *F. graminearum* suggereert dat deze cluster via horizontale genoverdracht is verkregen, wellicht via twee onafhankelijke gebeurtenissen. Deze resultaten illustreren de kracht van vergelijkende genomica voor studies naar de evolutie van genen, genclusters en soorten.

Het eiwit Six1 van Fusarium oxysporum wordt uitgescheiden in tomaten planten gedurende infectie en is vereist voor volledige virulentie

Lotje van der Does,
Mark Opdam, Michiel Meijer,
Ben J.C. Cornelissen en
Martijn Rep

Universiteit van Amsterdam,
Swammerdam Instituut voor Levenswetenschappen, Fytopathologie, Amsterdam. Tel: 020-5257764,
Fax: 020-5257934,
e-mail: lvddoes@science.uva.nl

Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* (Fol) is een bodemschimmel die tomatenplanten via de wortels kan infecteren en dan het xyleem weefsel koloniseert. In de xyleem vaten scheidt Fol een 12 kD eiwit uit, dat afkomstig lijkt van een 30 kD voorloper eiwit. Vermoedelijk geschiedt dit via proteolitische bewerking van Six1, het is nog niet duidelijk of de plant of de schimmel hiervoor verantwoordelijk is. Het *SIX1* gen is vereist voor volledige virulentie op tomatenplanten. Twee allelen van *SIX1* zijn gevonden. Een van de twee allelen levert een meer virulent fenotype op dan het andere allel. De twee allelen verschillen enkel in een aminozuur. Afgezien van het feit dat Six1 een of andere rol in virulentie moet hebben is er niets bekend over de functie van Six1. Om aanwijzingen te verkrijgen voor een mogelijke functie van Six1 onderzoeken we op dit moment hoe de expressie

van *SIX1* is gereguleerd. *SIX1* komt tot expressie in de plant, maar niet in media die ontworpen waren om de situatie in xyleem sap na te bootsen, of in xyleem sap zelf. Om de expressie van *SIX1* in de plant te kunnen volgen construeren we op dit moment een *SIX1* promoter-*GFP* fusie gen. Om de effecten van gezuiverd Six1 op de plant te onderzoeken en de proteolitische bewerking van Six1 te kunnen analyseren zijn we bezig met het produceren van Six1 in *Pichia pastoris*.

Fusarium in bloembollen: veelzijdig onderzoek aan een praktisch probleem

Rik de Werd, Marjan de Boer,
Suzanne Breeuwsma en
Martin van Dam

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving,
Bloembollen. Postbus 85,
2160 AB Lisse, e-mail:
rik.dewerd@wur.nl

Fusarium kan in een groot aantal bloembolgewassen opbrengstdevering veroorzaken. De problemen komen zowel in de bollenteelt als in de teelt van de bloemen (broeierij) voor. Het gaat hierbij voornamelijk om: bol- of knolrot (*F. oxysporum*, diverse formae speciales in tulp, lelie, narcis, krokus en gladiool, *F. hostae* f. sp. *hyacinthi* in hyacint) en wortelrot (*F. avenaceum* en *F. culmorum* in tulpenbroei, *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* in irisbroei). In lelies komt ook stengelaantasting veroorzaakt door *F. oxysporum* f.sp. *lilii* voor. Economisch gezien lijkt de schade veroorzaakt door *F. oxysporum* f. sp. *tulipae* (in de praktijk bekend als zuur in tulp) het grootst. Dit heeft mede te maken met de indirecte schade (verminderde broeikwaliteit) die gezonde bollen kunnen oplopen door ethyleenproductie van geïnfecteerde bollen. Ook veelvuldig voorkomende latente, onzichtbare infecties maken het zuurprobleem gecompliceerd.

Momenteel richt veel van het onderzoek aan *Fusarium* zich dan ook op laatstgenoemde gewas-pathogene combinatie (dit onderzoek wordt voornamelijk gefinancierd door het Productschap Tuinbouw).

PPO Bloembollen onderzoekt veel aspecten van de *Fusarium*-problematiek en maakt hierbij gebruik van een grote verscheidenheid aan onderzoekdisciplines en -technieken variërend van DNA- tot op sectorniveau. Op gebied van epidemiologie wordt onderzoek gedaan naar de verschillende infectiemomenten door de keten heen. Hieruit is onder andere gebleken dat een *Fusarium* besmetting zich vooral tijdens verwerking na het oogsten snel van bol tot bol kan verspreiden. Tussen planten en oogsten vindt er echter nauwelijks verspreiding plaats. Uit onderzoek op praktijkbedrijven bleek dat de kritieke momenten waarop de infectiepercentages het sterkst toenemen vaak verschillen tussen bedrijven. Daarom is voor een diagnose op maat een brochure opgesteld en verspreidt, waarmee een ondernemer zelf aan de hand van tips, achtergrondinformatie en een protocol voor monsternamen zijn eigen bedrijf door kan lichten.

Daarnaast wordt op het gebied van epidemiologie onderzocht hoe door middel van vruchtwisseling het beste perceelsbesmettingen teruggedrongen kunnen worden en wordt momenteel in kas- en veldexperimenten de waardplant-specificiteit van de verschillende fusaria bepaald.

Ook is naar aanleiding van toeneemende problemen in voorheen resistente tulpencultivars, samen met Plant Research International onderzoek gedaan naar de agressiviteit van verschillende *Fo. f.sp. tulipae* stammen.

Met behulp van DNA-technieken (RFLP-PCR) is een hele collectie *Fusarium* isolaten van diverse bol-

gewassen geïdentificeerd en gekarakteriseerd.

PPO gebruikt veel aspecten uit het epidemiologisch onderzoek voor de ontwikkeling van preventie- en bestrijdingsmaatregelen. Hierbij kan het gaan om verwerkings- en selectietechnieken, cultivarkeuze, plant- en oogsttijdstip, bemesting, toepassing van natuurlijke of chemische bestrijdingsmiddelen, etc.. Het doden van latente infecties in tulp heeft momenteel speciaal de aandacht, omdat dit een onmisbare stap is in het opschonen van met *Fusarium* besmette partijen. In het verleden is het lastig gebleken om de latente infectie te doden en tegelijkertijd een gezonde bol te behouden. Vragen uit de praktijk en vernieuwde kennis en inzichten vormen de aanleiding voor hervatting van dit onderzoek.

Door een goede samenwerking met andere onderzoeksinstituten en een sterke betrokkenheid van vertegenwoordigers van de bloembollensector bij het opzetten en uitvoeren van onderzoek en door middel van presentaties, lezingen, open dagen en publicaties in vakbladen blijft het werk bij PPO Bloembollen goed afgestemd op de praktische problemen en wordt implementatie van de verkregen resultaten sterk bevorderd.

Visualisatie van de interacties tussen de tomatenwortel, een pathogene en een biocontrole *Fusarium* stam onder ziekte reducerende condities

Annouschka Bolwerk,
Anastasia L. Lagopodi,
Ben J. J. Lugtenberg en
Guido V. Bloemberg

Instituut Biologie Leiden, sectie
Microbiologie, Universiteit Leiden,
Wassenaarseweg 64, 2333 AL Leiden.

De plant pathogeen *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*

(*Fo.r.l.*) veroorzaakt het rotten van de wortels van tomatenplanten. De niet pathogene *Fusarium oxysporum* Fo47 kan de planten tegen deze ziekte beschermen als sporen van beide schimmels door potgrond zijn gemengd. Om een beter inzicht te krijgen in de interacties tussen de *Fusarium* stammen en de plantenwortel tijdens de biologische controle van de ziekte zijn de schimmels gelabeld met autofluorescerende eiwitten en vervolgens zichtbaar gemaakt middels confocale laser scanning microscopie. De resultaten waren als volgt. (i) Wanneer de concentratie van Fo47 vijftig maal hoger was dan die van de pathogeen vond er biologische controle van de ziekte plaats. (ii) Fo47 werd eerder aangetroffen op de wortel dan de pathogeen, *Fo.r.l.*. (iii) De pathogeen koloniseerde vervolgens de wortel sneller en heviger dan Fo47. De wortelkolonisatie door *Fo.r.l.* was significant gereduceerd. (iv) Het percentage sporen van Fo47 dat kiemde in tomatenwortel exudaat was hoger dan dat van *Fo.r.l.*

Samenvattingen van de 71e bijeenkomst van de KNPV-werkgroep Bodempathogenen en bodemmicrobiologie van april 2004

Compost in potgrond: ziekteverendheid en beperkingen

Dirk Jan van der Gaag,
Cees de Kreij en Roel Hamelink

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving,
Business Unit Glastuinbouw, Postbus 8,
2670 AA Naaldwijk

In het door de Europese Unie gesubsidieerde project "Compost Management" wordt door zeven onderzoekspartners uit zes verschillende landen onderzoek gedaan naar de ziekteverendheid van compost. Op PPO-Glastuinbouw zijn in dit project 23 composten getoetst tegen drie ver-

schillende bodemziekten: *Phytophthora cinnamomi* in lupine, *Cylindrocladium spathiphylli* in *Spathiphyllum* en *Rhizoctonia solani* AG2-1 in bloemkool; twaalf van deze composten zijn ook getoetst tegen *Phytophthora nicotianae* in tomaat. Elf van de 23 composten kwamen uit Frankrijk, Griekenland en Israël. Het materiaal waaruit deze composten gemaakt waren was zeer variabel. De andere twaalf composten kwamen uit Nederland en waren gemaakt van groenafval (snoeihout, gras en/of bladafval). De composten werden tevens beoordeeld op hun eventuele geschiktheid als potgrondingrediënt op basis van hun zoutgehalte en het effect van de compost op de pH van de potgrond.

Verschillende buitenlandse composten hadden een hoge mate van ziekteverendheid tegen één of meerdere van bovengenoemde bodemziekten. Deze composten hadden echter een hoog gehalte aan Na, Cl en/of voedingselementen waardoor deze composten in slechts kleine hoeveelheden in potgronden kunnen worden bijgemengd (<20%). De twaalf Nederlandse groencomposten hadden een relatief laag gehalte aan balastzouten en voedingselementen en waren ook wat betreft pH-effect geschikt als potgrondingrediënt bij een volumemengverhouding van 80% veen en 20% compost. In de ziekteverendheidstoetsen had geen van de groencomposten een effect tegen *P. cinnamomi*, drie composten hadden een zwak maar significant effect tegen *C. spathiphylli* en 9 composten waren effectief tegen *R. solani*. De ziekteverendheid van de composten tegen *R. solani* kon grotendeels verklaard worden door de pH van het veen-compost-mengsel. De mate van ziekteverendheid nam af met toenemende pH van het mengsel in het traject pH 4-6. In potgrondmengsels bestaande uit 100% veen werd een vergelijkbaar verband gevonden tussen de mate

van ziekteverendheid en de pH. In vervolgonderzoek wordt bekeken of door het beënten van jonge Nederlandse groencompost met een compost met een hoge mate van ziekteverendheid een ziekteverende compost kan worden verkregen die ook geschikt is als potgrondsubstraat.

Agrobiodiversiteit en ziektevering van bodempathogenen

Joeke Postma en
Mirjam Schilder

Plant Research International,
Postbus 16, 6700 AA Wageningen

Eerder onderzoek, gefinancierd door NWO en LNV, toonde aan dat er een relatie bestaat tussen gewasrotatie, microbiële diversiteit en ziekteverende eigenschappen van de bodem op het proefveld Wildekamp te Bennekom (Garbeva et al, 2002, 2003, 2004). Veldjes met een permanente grasland-historie waren ziekteverender ten aanzien van *Rhizoctonia solani* AG3 in aardappel dan de veldjes met een langdurige akkerbouw historie. Ook de microbiële diversiteit, geanalyseerd met PCR-DGGE, was hoger in grasland dan in akkerbouw, evenals de percentages antagonistische bacteriën. Diverse analyses wezen dus op een hogere ziekteverendheid tegen *Rhizoctonia* bij een grotere microbiële diversiteit.

Voor een bredere interpretatie van deze resultaten zijn in de herfst van 2003 grondmonsters verspreid over Nederland verzameld. Hiervoor zijn vijftien percelen gekozen die onder andere verschilden in grondsoort en bemestingsregime. Het betrof biologische bedrijven en bedrijven in omschakeling die deelnemen aan het BIOM-project (coördinatie door PPO-agv en DLV). Deze grondmonsters zijn m.b.v. biotoetsen onderzocht op bodemweerbaarheid tegen *Rhizoctonia solani* AG3 en *Verticillium*

dahliae in aardappel. De microbiële samenstelling is geanalyseerd met de moleculaire fingerprinting techniek PCR-DGGE, zowel voor de totale bacteriële als de *Pseudomonas* populatie. Bovendien zijn soorten en aantallen isolaten die *in vitro* antagonisme tegen *Rhizoctonia* vertoonden bepaald.

Resultaten van al deze bepalingen toonden aan dat het aantal jaren dat een bedrijf biologisch beheerd werd en de pH van de bodem, een significante invloed hadden op de samenstelling van de *Pseudomonas* populatie. De samenstelling van de totale bacterie-populatie verschilde significant voor gronden met verschillende mate van ziektevering tegen *Rhizoctonia*. De ziektevering correleerde niet met de diversiteit van de DGGE patronen. Type bemesting (vloeibare of vaste dierlijke mest; plantaardig bemesting) gaf binnen dit onderzoek geen significante verschuiving in de microbiële populaties. Zandgrond had een onverwacht hoog percentage antagonistische bacteriën, voornamelijk *Streptomyces* spp. In de kleigronden kwamen naast *Streptomyces* spp. ook veel *Lysobacter* en *Xanthomonas* isolaten voor die een zeer sterke *in vitro* remming vertoonden ten aanzien van *Rhizoctonia*. Helaas hadden de uitgevoerde biotoetsen in aardappel een grote variatie, waardoor correlaties met ziektevering niet zo duidelijk waren.

Het is belangrijk om herhaalbaarheid van deze data de toetsen, en om biotoetsen met een geringere variatie te gebruiken. Het betreft complex onderzoek, waarbij nieuwe verbanden tussen bodemmicroflora, bodemweerbaarheid en beïnvloedende teelt- en omgevingsfactoren boven tafel kunnen komen. Dergelijke verbanden kunnen dan vervolgens onder experimentele omstandigheden verder ontrafeld worden.

Jaarverslag over 2003 van het KNPV-bestuur, redactie en werkgroepen

Secretaris van het KNPV-bestuur

Leden. Per 1 januari 2002 telde de KNPV 597 leden (vorig jaar 579), waarvan 16 leden-donateurs. Een collectief abonnement op European Journal of Plant Pathology hadden 29 leden. Verder hadden 69 organisaties een abonnement op Gewasbescherming.

Activiteiten. Op 27 maart organiseerde de KNPV in het WICC te Wageningen haar voorjaarsvergadering onder het motto 'Hoogtepunten uit het jaar 2002'. De vergadering bestond uit één ochtendsessie en twee middagsessies. Wegens het overweldigend aantal deelnemers (260) moest voor de ochtendsessie uitgeweken worden naar de Junushoff. Het blijkt dat het verzoek aan elke organisatie om één uitmuntende lezing leidt tot een kwalitatief hoogstaand programma dat veel belangstellenden trekt. Op 27 november organiseerde de KNPV in samenwerking met Artemis in het WICC haar najaarsvergadering, getiteld 'De toekomst van biologische bestrijding'. Deze dag bestond uit één wetenschappelijke ochtendsessie en een tweetal meer op de praktijk gerichte middagsessies. Het aantal aanmeldingen was dusdanig groot (310) dat 35 aanmeldingen geweigerd moesten worden. De in het vorige jaar gestarte ledenwerfcampagne moet nog haar vervolg krijgen in de vorm van mailings aan het bedrijfsleven. Het in het vorige verslagjaar aangekondigde project ter stimulering van het gewasbeschermingskundig onderwijs in Neder-

land heeft enige vertraging gelopen, maar er wordt waarschijnlijk dit jaar daadwerkelijk gestart. Er ressorteerden in het verslagjaar tien werkgroepen binnen de KNPV.

Bestuur. Op de Algemene Ledenvergadering van 27 maart trad penningmeester F. van der Wilk af. In de hierdoor ontstane vacature werd voorzien door reeds zittend bestuurslid J. Bouwman als penningmeester te benoemen. Als nieuw gewoon bestuurslid werd benoemd J. Buurma (LEI). Studentbestuurslid A. de Bakker werd vervangen door M. Eggink. Het bestuur vergaderde op 7 januari en 20 mei.

Aad Termorshuizen, secretaris

Redactie van het blad Gewasbescherming

De 34^e jaargang van Gewasbescherming bestond uit zes afleveringen met 216 pagina's. Ter vergelijking: 2001: 172 pp; 2002: 212 pp. Hieruit mag worden afgeleid dat er geen tekort was aan kopij. Toch blijft het spontane aanbod van kopij tamelijk gering; veel bijdragen worden geschreven op uitnodiging.

De omslag onderging een in het oog springende verandering: na jaren van de bekende bruine omslagkleur is de redactie overgegaan op een frisse blauwe omslag, grotendeels volgens hetzelfde basisonwerp en, ook nieuw, met een

steeds wisselende foto op de omslag. Bij de eerste nummers bleef deze foto nog binnen het jaarthema 'insecten' maar in de latere nummers is de redactie steeds meer de actualiteit gaan opzoeken en foto's bij artikelen in het betreffende nummer gaan gebruiken. Gewasbescherming bracht in 2003 geen supplementen uit.

De redactie onderging in de loop van het jaar belangrijke wijzigingen. Zowel de secretaris als de hoofdredacteur vertrokken uit de redactie. Secretaris René van de Vlucht (PRI) vertrok halverwege 2003 tussen aflevering 3 en 4 nadat hij ruimschoots zijn twee termijnen van drie jaar had gediend; hij werd als secretaris opgevolgd door Willem Jan de Kogel (PRI). Hoofdredacteur Pieter Oomen (PD) vertrok in september tussen aflevering 5 en 6 met het oog op zijn verwachte detachering in Turkije. Kees Westerdijk (PPO-Lelystad) trad op dat moment aan als nieuwe hoofdredacteur. Wiebe Lammers (PD) volgde Pieter Oomen op als vertegenwoordiger van de PD in de redactie. Dit bracht de omvang van de redactie weer op het totaal van negen personen, inclusief administratief medewerkster Marianne Roseboom.

De vaste rubrieken van Gewasbescherming kwamen grotendeels overeen met de vorige jaargang: 18 artikelen (technische en beleidsachtig), 6 columns, 11 promoties, het KNPV Verenigingsnieuws, het Nieuws van de KNPV-werkgroepen, de kennismaking met 5 bestuursleden, 6 maal nieuws en wetenswaardigheden over gewasbescherming in het algemeen en

de agenda over binnen- en buitenlandse bijeenkomsten. Ook dit jaar waren er vier columns van de vaste columnschrijver J.C. Zadoks. De heer Zadoks heeft ons echter laten weten dat hij niet meer op regelmatige basis een column zal schrijven. Ook columns van andere auteurs zijn juist daarom meer dan welkom, zoals dit jaar van Frank Wijnands en Rudy Rabbinge. De jaargang werd afgesloten met de gebruikelijke index op auteursnamen.

Naast de papieren versie van Gewasbescherming verschijnt kort na uitkomst van ieder nummer op de KNPV-Internetsite www.knpv.org ook een full-text artikel uit dit nummer, de agenda, het nieuws en de inhoudsopgave. Een half jaar na verschijning wordt de volledige inhoud van Gewasbescherming via de internetsite toegankelijk gemaakt voor internetgebruikers.

Overeenkomstig het redactiebeleid, zoals vastgesteld in 2003, wil de redactie zich ook in de toekomst bij de keuze van haar onderwerpen laten leiden door de actualiteit, zoals beleidszaken, opinie en de praktische gewasbescherming. Daarnaast blijven traditionele onderwerpen, zoals onderzoek (bij voorkeur met een algemeen karakter) en promotiesamenvattingen, een plaats houden. Wij roepen de leden dan ook op zulke bijdragen voor publicatie in te sturen.

PA. (Pieter) Oomen, (p.a.oomen@minlnv.nl) hoofdredacteur Gewasbescherming tot sept 2003
C.E. (Kees) Westerdijk, (kees.westerdijk@wur.nl) hoofdredacteur Gewasbescherming vanaf sept 2003

KNPV-werkgroep Bodempathogenen en bodem- microbiologie

Zoals gebruikelijk kwam de werkgroep in het verslagjaar 2003 tweemaal bijeen. De 69^{ste} vergadering werd gehouden op 3 april bij PRI in Wageningen, met bijdragen van Francesca Prefanata (Fungal diversity in soils of different maturity: comparison between isolation of fungi and molecular characterization), Mareike Viebahn (Effects of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358r on bacteria and Ascomycetes in wheat rhizosphere), Joana Salles (Influence of different plant species on the diversity of *Burkholderia* strains and selection of antagonistic isolates),

Larissa Folman (Fungal bacterial interactions: an inventory of microbial communities in soils differing in fungal densities) en Jan-Kees Goud (Long-term effects of biological soil disinfestation on *Verticillium* wilt).

De zeventigste bijeenkomst werd gehouden op 30 oktober bij het CBS in Utrecht met de volgende bijdragen: Gerard Korthals (New quantitative detection methods for the plant parasitic Q-organisms *Meloidogyne chitwoodi* and/or *M. fallax*), Hans Schneider (Detection of *Rhizoctonia solani* AG2-2IIIB in plant and soil), Vincent Bijman (Intercropping in lily against *Rhizoctonia solani*) en Gerard Korthals (PPO-nematode table digitalized: www.digitaal.nl). Ook hadden we in Utrecht een speciale



Penningmeester van het KNPV-bestuur**Financieel overzicht 2003 en begroting 2004.**

Baten	begroot 03	inkomsten 03	begroting 04
Contributies	€ 12.000,00	€ 14423,18	€ 14000,00
Abonnementen (99/00)	2.000,00	1812,50	1800,00
Leden-Donateurs	500,00	1155,00	1000,00
Bijdrage bedrijfsleven	300,00	455,00	400,00
Royalties Kluwer	45.000,00	44395,72	44000,00
Rente	4.000,00	3973,46	4000,00
Diversen	-	775,14	-
Collectieve EJPP abonn.	-	2603,00	2500,00
Vergaderingen/Bijeenkomsten	-	100,00	-
	€ 63.800,00	€ 69693,00	€ 67700,00
Lasten	begroot 03	uitgaven 03	begroting 04
“Gewasbescherming”	€ -18.000,00	€ -13277,05	€ -15000,00
Supplementen ‘Gewasb.’	-2.000,00	-	-
Porto	-	-3844,36	-4500,00
Onkosten redactie	-1.000,00	-82,00	-250,00
Abonnementen/lidmaatschappen	-500,00	-230,00	-500,00
Vergaderingen/bijeenkomsten	-6.000,00	-7092,590	-8000,00
Salaris/premies/loonbelasting	-6.500,00	-6236,36	-6500,00
Administratiekosten	-5.000,00	-706,78	-3000,00
Kosten buitenl. bet.	-500,00	-14,00	-500,00
Inrichtingskosten/huur	-	-	-
Diversen	-1.000,00	-1573,37	-1250,00
KNPV-prijs	-1.500,00	-	-
Werkgroepen	-2.000,00	-1000,00	-1500,00
Collectieve EJPP abonn.(2001)	-	-2929,62	-2500,00
Gewasbeschermingsmanifestatie	-	-1182,38	-
	€ -44.000,00	€ -38168,51	€ -43500,00
Naar kapitaal	-19.800,00	-31524,49	-24200,00
	€ -63.800,00	€ -69693,00	€ -67700,00

BALANS 2003

Activa	per 31/12/02	per 31/12/03
Geldmiddelen		
Kas	€ 243,94	€ 0
Postbank	6.281,94	41031,62
ABN-AMRO	168.318,83	166464,30
	€ 174.844,71	€ 207.495,92
Vorderingen		
Rente 2001	4.000,00	-
Rente 2002	-	4.000,00
Kapitaal	€ 178.844,71	€ 211.495,92
	=====	=====

Jan Bouwman, penningmeester

gast spreker, David Weller (Biological control with transgenic *Pseudomonas fluorescens*), en kregen we een informatieve rondleiding door het CBS. Samenvattingen van de (meeste) bijdragen verschenen in Gewasbescherming. Zoals te doen gebruikelijk in deze werkgroep duurden de discussies veelal langer dan de inleidingen zelf.

In het verslagjaar was Joeke Postma (PRI) voorzitter en Gera van Os (PPO-Bollen) secretaris. De werkgroep bestaat uit ongeveer 45 leden.

Gera van Os, secretaris.

KNPV-werkgroep Fusarium

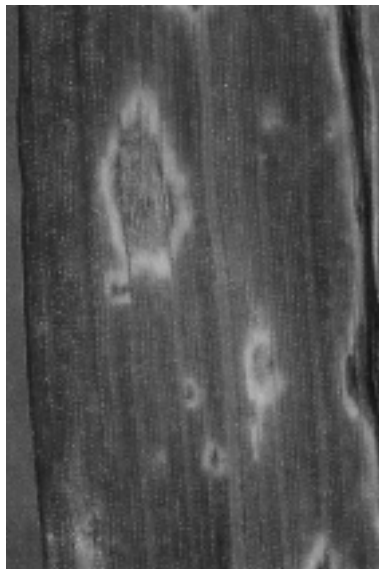
Na enige tijd van radiostilte is de *Fusarium* werkgroep weer nieuw leven ingeblazen met een goed bezochte dag op 3 maart jongstleden. Ondergetekende treedt op als voorzitter en Martijn Rep als secretaris.

Cees Waalwijk

KNPV-werkgroep Phytophthora en Pythium 2003

De jaarlijkse bijeenkomst van de werkgroep werd dit jaar gehouden bij Praktijkonderzoek Plant en Omgeving (PPO) in Lelystad. Ruim twintig deelnemers woonden de vergadering bij.

In de ochtend werden lezingen gepresenteerd over ontwikkelingen in de bestrijding van *Phytophthora* in aardappelen (Huub Schepers, PPO, Lelystad), onderzoek aan *Phytophthora ramorum* (Hans de Gruyter, PD, Wageningen), hybridisatie en soortsvorming in *Phytophthora* (Laurens Kroon, PRI, Wageningen) en ethyleen-onge-



voeligheid bij planten in relatie tot vatbaarheid voor *Pythium* (Bart Geraats, promotie-onderzoek Universiteit Utrecht). Na de lunch volgde een rondleiding waarbij de deelnemers kennis konden maken met de werkzaamheden bij PPO in Lelystad.

Het middagprogramma bestond uit een aantal korte wetenschappelijke mededelingen. Martine Maes (Centrum Landbouwkundig Onderzoek, Merelbeke, België) vertelde over het *Phytophthora ramorum* onderzoek in België, Joeke Postma (PRI, Wageningen) over biologische bestrijding bij *Pythium* en André Bouma (Potato Promotion Team, Ulrum) bracht het probleem van roodrot bij aardappelen onder de aandacht van de werkgroep-leden.

Na de lezingen werd de plaats voor de bijeenkomst in 2004 vastgesteld: het Centrum voor Landbouwkundig Onderzoek te Merelbeke in België. Datum: de derde donderdag in september (16/9). De bijeenkomst besloten werd met een gezamenlijke borrel.

De werkgroep telde in 2003 drieënvijftig geregistreerde leden. Het bestuur van de werkgroep bestond dit jaar uit voorzitter Peter Bonants (PRI, Wageningen), Willem Man in 't Veld (P.D., Wagenin-

gen) en secretaris Arthur de Cock (CBS, Utrecht).

Arthur de Cock, secretaris

KNPV-werkgroep Onkruidkunde

(niet ontvangen)

KNPV-werkgroep Botrytis

De werkgroep is in 2003 niet bijeen geweest, maar heeft plannen voor 2004.

KNPV-werkgroep Phytophthora infestans

Het doel van de werkgroep *Phytophthora infestans* is het uitwisselen van informatie over onderzoek en praktijkervaringen gerelateerd aan de *Phytophthora* problematiek in aardappelen. De werkgroep telt momenteel 47 leden en 7 agendaleden. De voorzitter is Francine Govers (WU-Fytopathologie Wageningen) en de secretaris Huub Schepers (Praktijkonderzoek Plant en Omgeving, Lelystad).

In 2003 heeft de werkgroep één bijeenkomst georganiseerd voor leden en andere belangstellenden. Tijdens de KNPV-najaarsvergadering van 27 november 2003 is een parallelsessie gewijd aan het ParapluPlan *Phytophthora infestans*: een geïntegreerde aanpak van de aardappelziekte. Deze bijeenkomst werd bijgewoond door 70 leden en andere belangstellenden. Bijdragen werden geleverd door Piet Boonekamp (Het ParapluPlan *Phytophthora*: wording en organisatie), Huub Schepers (Integratie van alle kennis uit het ParapluPlan in een bestrijdingsstrategie voor

de praktijk), Geert Kessel (Epidemiologie en populatiegenetica van *P. infestans*), Ronald Hutten (Nieuwe bronnen van resistentie), Edwin van der Vossen (Met genomics op zoek naar de meest efficiënte resistentiestrategie) en Francine Govers (Met genomics op zoek naar nieuwe aangrijpingspunten voor bestrijding).

Huub Schepers, secretaris

KNPV-werkgroep *Rhizoctonia solani*

De werkgroep is *het* kennisplatform op het gebied van *R. solani* en heeft tot doel het uitwisselen en bevorderen van kennis en het afstemmen van onderzoek. De werkgroep streeft naar een open communicatie tussen onderzoek en bedrijfsleven. De werkgroep is in 2003 twee keer bijeengekomen.

Besproken onderwerpen waren: knoltoetsen voor bepalen lakschurftresistentie in aardappel, rhizoctonia in lelie, suikerbiet en in de rotatie lelie-suikerbiet, waardplantgeschiktheid diverse rhizoctonia isolaten, effect van bouwplan op rhizoctonia in suikerbiet, rhizoctonia en agrobiodiversiteit en rhizoctonia ziekteverende gronden in suikerbiet. De werkgroep kwam bijeen bij RZ-Research in Metzlavier en op het IRS te Bergen op Zoom.

Voorzitter van de werkgroep is P.H.J.F. van den Boogert (PRI), J.H.M. Schneider (IRS) is secretaris.

De werkgroep kent elf actieve leden: dr. P.J.H.F. van den Boogert (PRI), mw. A.W. Doornik (privé) A.Th.J. Koster (PPO-bloembollen), ir. J. G. Lamers (PPO-agv), mw. dr. ir. G. van Os (PPO-bloembollen), mw. dr.ir. J Postma (PRI), dr.ir. J.H.M. Schneider (IRS), ir. C.E. Westerdijk (PPO-agv), ing. M.



Schilder (PRI), ir. Y. Bakker (IRS), ir. J. van de Haar (RZ research).

J.H.M. Schneider, secretaris

KNPV-werkgroep *Meloidogyne*

Niet ontvangen, maar het volgende nummer van Gewasbescherming is geheel gewijd aan Nematoden, in het bijzonder *Meloidogyne*.

KNPV-werkgroep *Pratylenchus*

2003 was weer een rustig jaar voor de werkgroep *Pratylenchus*. Met één bijeenkomst, die overigens zeer goed bezocht werd, zijn alle activiteiten genoemd. Er moesten stoelen bijgezet worden om alle 25 mensen te plaatsen in de vergaderzaal bij de Plantenziektenkundige Dienst in Wageningen waar de vergadering op 3 november werd gehouden. Op deze vergadering hield Gerrit Karssen (PD) een lezing over "*Pratylenchus taxonomi*". Van PPO zijde waren er twee verhalen, zo vertelde Gerard Kort-hals (PPO-AGV) over zijn proeven met "Manipulatie van de bodem-

weerbaarheid tegen *Pratylenchus penetrans*" en Cor Conijn (PPO-BB) over de invloed bodemschimmels op *Pratylenchus* aantasting bij lelie. Ate de Heij en Hans Kok van, beide van PRI, presenteerden hun resultaten met glucosinolaten en van de experimenten met waardplantstatus van onkruiden voor *Pratylenchus penetrans*.

Afgesproken is geen voor én najaar vergadering meer te houden. Eenmaal per jaar zo een bijeenkomst organiseren is voldoende. De volgende bijeenkomst zal in het najaar worden georganiseerd.

KNPV-werkgroep *Trichodoriden en tabaksratelvirus*

Deze werkgroep is in 2003 niet bijeen geweest.

KNPV-werkgroep Graanziekten

G. H.J. Kema (voorzitter) en A.D. Hartkamp (secretaris)

De werkgroep Graanziekten is een platform van onderzoeksinstellingen en het bedrijfsleven waar er-

varingen op het gebied van graanziekten in Nederland uitgewisseld worden. De werkgroep Graanziekten is ontstaan in de tijd van de 'Stichting Nederlands Graan Centrum'. In 1996 is de Stichting Nederlands Graan Centrum opgeheven en worden de activiteiten van de stichting –waaronder het voeren van werkgroepsecretariaten – georganiseerd door het Productschap Granen, Zaden en Peulvruchten.

In 2002 heeft de werkgroep Graanziekten besloten aansluiting te zoeken bij de Koninklijke Nederlandse Plantenziektkundige Vereniging (KNPV). De werkgroep Graanziekten is sindsdien opengesteld voor deelname. In het kader van de aansluiting wordt jaarlijks een overzicht gemaakt worden van de activiteiten en het onderzoek op het gebied van graanziekten in Nederland door de organisaties en bedrijven die deelnemen aan de werkgroep.

1 Praktijkonderzoek, Plant en Omgeving, Postbus 430, 8200 AK Lelystad

H.T.A.M. Schepers, H.G. Spits & M.C. Plentinger
Afdeling Gewasgezondheid

Strobilurinen

Er zijn twee veldproeven aangelegd in een ras dat vatbaar is voor fusarium (Vivant). Bestrijdingsstrategieën werden toegepast met 3 strobilurinen + azolen die in verschillende gewasstadia werden toegepast. Op deze wijze kan inzicht worden verkregen over de invloed van het toepassingstijdstip van een strobilurine op het DON-gehalte van het graan.

Beslissingsondersteunende systemen

Het ontwikkelde prototype van een empirisch model (relatiediagram met input, output, processen en parameters) maakt een schat-

ting van het DON-gehalte aan het eind van het seizoen.. Op basis van de uitkomst kan besloten worden of en wanneer er gespoten dient te worden. Twee versies van het prototype (BOS-1 en BOS-2) en het systeem CERDIS van Opticrop zijn in twee veldproeven vergeleken met een aantal standaard behandelingen. Op de twee locaties werden ook *Fusarium* sporen gevangen, maar omdat BOS-1 en BOS-2 er (nog) niet op ingericht waren om tijdens het seizoen deze gegevens te verwerken worden de sporenvangsten achteraf gebruikt om het systeem te valideren.

Bewaring

In een detailexperiment wordt de invloed van besmettingsgraad bij de oogst, rasgevoeligheid, vochtgehalte en bewaarduur onderzocht op het DON-gehalte. Met de oogst van 2003 (Drifter en Kampa) is een nieuw experiment ingezet. Omdat de DON-gehalten bij de oogst erg laag waren is besloten de partijen te "besmetten" met geïnfecteerde korrels die uit een kunstmatig besmette proef waren verkregen.

Rassen

De relatie tussen de visueel waarneembare aarfusarium en het DON-gehalte is voor een tiental Nederlandse rassen, met variërende resistentieniveaus tegen *Fusarium*, bepaald.

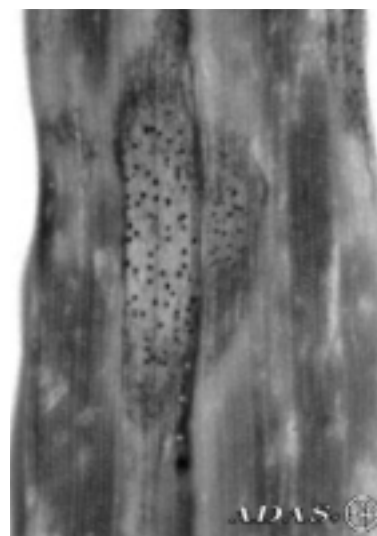
2 Plant Research International, Postbus 16, 6700 AA Wageningen

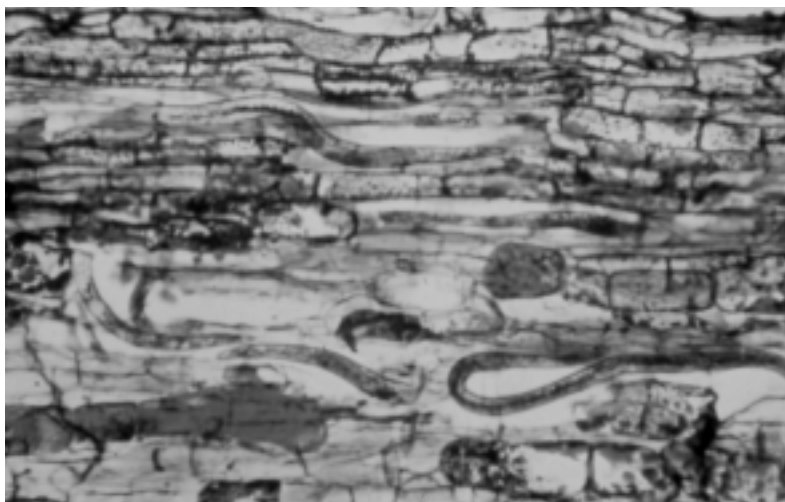
G.H.J. Kema, C. Waalwijk, O. Mendes, Ph.M. de Vries, Th.A.J. van der Lee, E.C.P. Verstappen, S. B. Ware, A. Mehrabi, H. Jalink, en R. van der Schoor
Business Units Biointeracties en Plantgezondheid en Bioscience

Het onderzoek van de cluster Genetica van Pathogenen concentreert zich op schimmelgenomica, -genetica en de ontwikkeling van

high throughput detectie technologie. In samenwerking met PPO-AGV worden kwantitatieve *Fusarium* TaqMan kits toegepast om individuele *Fusarium* populaties binnen het complex op tarwe te analyseren in relatie tot fungicidegebruik. In een KNAW samenwerkingsproject met China wordt de *Fusarium* populatie op gerst in kaart gebracht. Tevens vindt in het kader van het LNV Noord-Zuid programma uitbreiding plaats naar andere *Fusarium* soorten die op maïs voorkomen en geassocieerd worden met het voorkomen van slokdarmkanker in Zuid Afrika. Toepassing van deze techniek op individuele *Mycosphaerella graminicola* isolaten maakt het mogelijk deze individueel te kwantificeren. Hiermee kunnen fundamentele vragen rondom competitie en geïnduceerde resistentie onderzocht worden.

FusariumScreen™ is een high throughput techniek waarbij gebruik wordt gemaakt van hoogwaardige lasertechnologie en met GFP of RFP getransformeerde *Fusarium* isolaten om snel resistentiemechanismen te identificeren in tarwe- en gerstrassen. SeptoriaScreen™ is een vergelijkbare technologie die wordt ontwikkeld om de screens bij het agrochemische bedrijfsleven te optimaliseren. In samenwerking met de Universiteit van Parijs wordt deze





technologie ook ingezet om pathogeniteitsmutanten van *Fusarium* en *Mycosphaerella* te genereren en te identificeren.

Het onderzoek aan de isolering en functionele analyse van het eerste avirulentiegen in *M. graminicola* werd voortgezet en tevens werden enkele genen in de signaaltransductie route uitgeschakeld waaruit naar voren kwam dat deze genen een cruciale rol spelen bij de pathogeniteit van deze schimmel. In verband met internationale initiatieven om het genoom van deze schimmel te sequencen wordt er gewerkt aan een genetische koppelingskaart die verzadigd zal worden met DArT markers. Het geslachtelijke stadium van de sterk gerelateerde gerst schimmel *Septoria passerinii* is in kaart gebracht en de onbekende teleomorph wordt beschreven. Tenslotte is het onderzoek naar *Mycosphaerella* ziekten in banaan gestart en worden momenteel de mating type genen van deze schimmels geïsoleerd in samenwerking met het KNAW-CBS te Utrecht en het CICY te Mexico.

O.E. Scholten, H.D. Mastebroek, P. Groot, M. Mukanga, B. van Kronenburg-van der Ven, H.J.M. Löffler
Business Unit Biodiversiteit en Veredeling

In het kader van een samenwer-

kingsproject met Louis Bolk Instituut te Zeist en PPO Lelystad, hebben we opnieuw een set zomertarwerassen getoetst op resistentie tegen fusarium aarziekte. Ook in dit tweede jaar is gebleken dat zomertarwerassen duidelijk verschillen in hun niveau van resistentie tegen *Fusarium* en in de mate waarin na infectie DON geproduceerd wordt door de schimmel in de plant. Er is een hoge correlatie gevonden tussen aantasting door de schimmel en gehalte aan DON ($r=0.77$).

Voor de praktijk van de biologische boer is deze kennis van groot belang, omdat dit hem in staat stelt een keuze te maken uit het bestaande rassensortiment voor de meest resistente rassen. Er is een proef uitgevoerd met winter-tarwerassen om de onderliggende resistentiemechanismen tegen *Fusarium* spp. beter in kaart te krijgen. Het onderzoek richtte zich op onderscheid tussen resistentietype I (resistentie tegen binnendringing van de schimmel) en type II (resistentie tegen verspreiding van de schimmel). Drie genotypen vertoonden zowel resistentietype I als type II. Twee genotypen bleken een hoog niveau van type II te bezitten, maar niet van type I. De meeste genotypen met een hoog niveau van type I resistentie, leken nauwelijks type II resistentie te bezitten, met andere woorden: zodra de schimmel kans ziet om de planten te infecteren, groeit de-

ze binnen korte tijd uit om andere pakjes of zelfs de gehele aar te infecteren.

In het EU-INCO project Safemaize, onderzoeken we een collectie van ongeveer 70 *Fusarium* isolaten, overwegend afkomstig uit Zuid Afrika en Zambia, met behulp van soort specifieke primers (zie werk Waalwijk) en RAPDs en AFLPs op verschillen. Het merendeel van de isolaten bleek te behoren tot *Fusarium verticillioides*. Een gastmedewerker uit Zambia heeft gewerkt aan het gebruik van RAPDs om verschillen tussen isolaten op te sporen. Dit wordt in 2004 verder uitgewerkt.

J. Köhl, Lia de Haas, Pieter Kastelein
Business Unit Gewas en Productie-ecologie

Het onderzoek heeft zich in 2003 geconcentreerd op de epidemiologie van aarfusarium (kafjesrood), vooral op de inoculum opbouw van de ziekte. De populatiedynamica van *Fusarium* soorten wordt in diverse tarwegewassen en in gewasresten afkomstig van de tarwegewassen gevolgd. Ook is de kolonisatie van maïsstoppels door *Fusarium* spp. gekwantificeerd.

In laboratoriumproeven is de groei bij temperaturen tussen 1 en 33 °C van een groot aantal isolaten van *F. culmorum* en *F. graminearum* afkomstig uit Nederland en Italië vergeleken.

3 Wageningen Universiteit & Research Centrum, Postbus 386, 6700 AJ Wageningen

R.E. Niks
Laboratorium voor Plantenveredeling

Volledige resistentie in gewassen die gebaseerd is op een overgevoeligheidsrespons is in veel gevallen niet duurzaam effectief. Er bestaat

een alternatieve vorm van resistentie die niet berust op zo'n overgevoeligheidsreactie. Deze resistentie is kwantitatief en erft vaak polygeen over. Een dergelijke, mogelijk duurzame, resistentie is het onderwerp van onderzoek aan het laboratorium van Plantenveredeling en wel aan het model systeem gerst-dwergroest (*Puccinia hordei*). In gerst erft deze "partiële resistentie" inderdaad polygeen over en met behulp van moleculaire merkers is de positie van deze genen voor enkele gerstrassen vastgesteld.

Via merker gestuurde terugkruisingen zijn afzonderlijke genen voor partiële resistentie in een zeer vatbare lijn ingebracht. De resulterende bijna-isogene lijnen, elk dus met een verschillend gen (QTL), worden gebruikt voor de karakterisering van de effecten van de verschillende QTLs. Ook worden de lijnen gebruikt voor fijn kartering van de QTLs. De resultaten bevestigen de werking van de QTLs zoals eerder gevonden: de bijna-isogene lijnen hebben inderdaad een hoger niveau van resistentie dan de lijn, waarin ze ingebracht zijn. Als er voldoende QTLs in een gerstgenotype worden samengebracht ontstaat een niveau van resistentie die de gerst economisch gezien afdoende beschermt. Uiteindelijk is het de bedoeling een dergelijk kwantitatief gen te isoleren en op DNA niveau te vergelijken met reeds geïsoleerde genen voor overgevoeligheidsresistentie.

Een geval van volledige resistentie die zeer duurzaam effectief is, is de niet-waard resistentie: resistentie van een plantensoort tegen een pathogeen dat normaal gesproken niet in staat is die soort aan te tasten. Als voorbeeld kunnen we gerst noemen, dat volledig resistent is tegen de bruine roest van rogge. Er is materiaal ontwikkeld uit gerst dat vatbaar is voor twee "verkeerde" roestsoorten (nl. de bruine roest van tarwe en die van het kruipertje, *Hordeum murinum*).

Dit onderzoeksmateriaal is gekruist met "gewone" gerst, met volledige resistentie tegen deze roesten. De nakomelingschap uit die kruisingen wordt gebruikt om de genen die gerst beschermen tegen de tarwe bruine roest en de roest van het kruipertje in kaart te brengen. Dit onderzoek zal ons inzicht geven in de specificiteit van dergelijke niet-waardresistentie genen, en het mechanisme dat ze reguleren.

De kennis van AFLP merkers in gerst maakt het mogelijk DNA-fingerprints van een set gerstrassen te maken en te analyseren op associatie tussen de merkers en bepaalde landbouwkundige eigenschappen. Een dergelijke set van West-Europese gerstrassen wordt geanalyseerd op associatie tussen de merkers, resistentie tegen dwergroest en opbrengststabiliteit. Het blijkt dat inderdaad op deze manier efficiënt achterhaald kan worden welke resistentiegenen in welke rassen geïncorporeerd zijn.

4 Centrum voor Genetische Bronnen (WUR), Postbus 16, 6700 AA Wageningen

L. J. M. van Soest en Noor Bas
Cluster Planten Genetische Bronnen van de WOT unit CGN

Het CGN, de nationale genenbank van Nederland, beheert de volgende collecties van graangewassen:
Tarwe: 5494 accessies
Gerst: 3455 accessies
Haver: 536 accessies
Mais: 488 accessies
Naast oude en meer moderne rassen en oude landrassen, komen in deze collecties ook wilde verwanten en op beperkte schaal oud veredelingsmateriaal voor info: www.cgn.wur.nl.

In november 2002 zijn 48 wintergerst, 217 wintertarwe en 17 accessies van andere *Triticum* (sub)species uitgezaaid voor

vermeerdering en karakterisering volgens minimum descriptors in 2003. Van 260 accessies werd in 2003 voldoende zaad voor opname in de genenbank gewonnen.

5 Louis Bolk Instituut, Hoofdstraat 24, 3972 LA Driebergen

E. T. Lammerts van Bueren,
A. Osman

Passende Rassen (in samenwerking met PPO-AGV en SPNA)

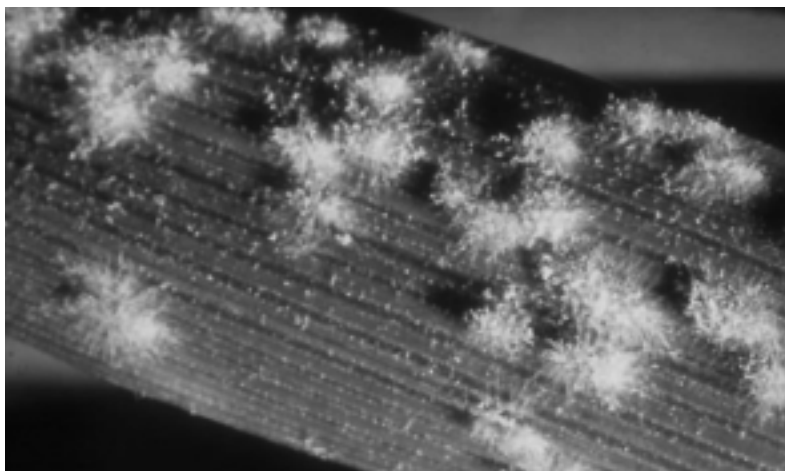
Dit project onderzoekt de meerwaarde voor biologische landbouw van Cultuur en Gebruiks-waarde Onderzoek Zomertarwe volgens een door de biologische sector aangepast protocol. Op drie biologische locaties en een gangbare locatie worden rassen onderzocht. Naast de gevoeligheid voor ziekten wordt ook gekeken naar opbrengst en bakkwaliteit.

Verhoging van weerbaarheid van zomertarwe tegen fusarium (DLO programma 388-II, in samenwerking met PRI).

De afgelopen twee jaar heeft PRI het niveau van resistentie van de zomertarwerassen uit het project "Passende Rassen" onderzocht. In dit pilot project wordt onderzocht of het resistentieniveau gerelateerd is aan morfologische planteigenschappen. Daarnaast onderzoeken we of symbiose met mycorrhiza een invloed op resistentie heeft.

Behandelingsmethoden voor biologisch zaaizaad van zomertarwe tegen fusarium (in samenwerking met PRI)

In dit onderzoek vergelijken we het effect van fysische behandelingsmethoden (warm water, hete lucht) op fusarium besmetting van het zaad, opkomst en opbrengst van zomertarwe bij verschillende zaaidichtheden. Aan zaad en gewas- en oogstmonsters uit de proef van 2003 onderzoekt PRI of



de schimmel die met het zaad het veld ingebracht is nog terug te vinden is in hogere plantdelen.

Verder zijn we partner in de COST actie "Sustainable low-input cereal production: required varietal characteristics and crop diversity". Epidemiologie en beheersing van ziekten en plagen zijn onderdeel van deze actie.

**6 Cebeco Seeds B.V.,
Postbus 139,
8200 AC Lelystad**

H.C. de Jong, C. Boot

De werkzaamheden zijn in het verslagjaar ongewijzigd voortgezet. Als gevolg van de weersomstandigheden was de aantasting voor de meeste ziekten in wintertarwe en wintergerst echter lager dan gewoonlijk.

Cebeco Seeds heeft bij de granen veredelingsprogramma's voor wintertarwe, zomergerst en wintergerst. Bij de selectie wordt veel aandacht geschonken aan de resistentie tegen verschillende pathogenen.

Bij wintertarwe zijn de belangrijkste ziekten: aarfusarium, bladseptoria, bruine roest, meeldauw, gele roest, DTR en aarseptoria.

Op meerdere locaties in binnen- en buitenland worden de selecties

beoordeeld onder een natuurlijke infectiedruk. De selectie proefvelden in Lelystad worden geïnoculeerd met gele en bruine roest. Voor aarfusarium vindt in Lelystad een speciale toets met kunstmatige besmetting tijdens de bloei plaats. Speciale projecten voor de overdracht van resistenties uit wild materiaal richten zich momenteel vooral op *Triticum tauschii* voor diverse ziekten.

De belangrijkste schimmelziekten bij gerst zijn: meeldauw, *Rhynchosporium*, netvlekkenziekte, dwergroest en gele roest. Sinds kort wordt bovendien aandacht geschonken aan *Ramularia collo-cygni*. De meeste ziekten worden beoordeeld bij natuurlijke infectiedruk op diverse locaties in binnen- en buitenland. Alleen gele roest wordt getest in een proef met kunstmatige infectie in Lelystad. Bij wintergerst wordt bovendien routinematig op besmette percelen getoetst op resistentie tegen barley yellow mosaic virus.

**7 Landbouwbureau
Wiersum, Postbus 94,
8250 AB Dronten**

B.E. Schuiling

Landbouwbureau Wiersum is een veredelingsbedrijf waarbij in de volgende gewassen veredeling plaatsvindt: wintertarwe, zomertarwe, zomergerst, haver en vezelvas.

Wintertarwe / Zomertarwe:

Het inkruisen van resistenties tegen verschillende pathogenen is een belangrijk veredelingsdoel, aangezien aantasting van planten door pathogenen een negatieve invloed heeft op opbrengst en kwaliteit. Daarom wordt hier veel aandacht aan geschonken. Belangrijke pathogenen zijn:

- Gele roest (*Puccinia striiformis*)
- Bruine roest (*Puccinia recondita*)
- Bladvlekken (*Septoria tritici*)
- Meeldauw (*Erysiphe graminis*)
- Fusarium (*Fusarium* spp.)
- DTR (*Pyrenophora tritici repentis*)

Tijdens het winterseizoen wordt er een kastoets uitgevoerd, waarbij kiemplanten van verschillende lijnen op jeugdresistentie tegen meeldauw worden getoetst. Verder wordt in het veld tijdens het groeiseizoen waarnemingen gedaan ten aanzien van bovengenoemde pathogenen. Ook worden er speciale ziekte-toetsen uitgevoerd om te toetsen op resistenties tegen de volgende pathogenen:

bruine roest (inoculatie met complex races), gele roest (inoculatie met complex races), fusarium.

Om tijdens het groeiseizoen een gelijkmatige verspreiding van de gele- en bruine roest te waarborgen worden er wintertarwe planten, welke in de vegetatieve fase blijven, verspreid over het veld uitgeplant.

Zomergerst:

De belangrijkste pathogenen zijn: Meeldauw
Netvlekken ziekte
Rhynchosporium
Naast veldselectie wordt er via de kas ook geselecteerd op jeugdresistentie voor meeldauw.

Haver:

In de haver vindt, via natuurlijke infectie, selectie plaats op meeldauw en kroonroest.

A.D. Hartkamp, secretaris

Nieuws

Natuurlijke middelen voor ontsmetting van biologisch zaad

Vanaf 1 januari 2004 moet de biologische landbouw volgens EU-regels gebruik maken van op biologische wijze geproduceerd zaad. In een studie van Plant Research International (PRI) van Wageningen UR worden de mogelijkheden voor ontsmetting van biologisch zaaizaad geïnventariseerd.

Van de middelen lijken de etherische oliën het meest interessant voor zaadontsmetting. Ze zijn breedwerkend tegen bacteriën en schimmels, weinig persistent en het gevaar van resistentieontwikkeling is gering. Toevoeging van natuurlijke hulpstoffen, zoals detergentia, emulgatoren en chelatoren, kan de oplosbaarheid en effectiviteit van deze oliën verbeteren. Verder zou toepassing in dampvorm interessant kunnen zijn, omdat hierna de zaden niet teruggedroogd hoeven te worden. Deze toepassingen zijn niet toegelaten en is ook onder de 'Regeling Uitzondering Bestrijdingsmiddelen' niet toegestaan, maar bij behandeling van zaden in een afgesloten ruimte, waarbij de toepasser niet in aanraking komt met het middel, lijkt een eenvoudige toelatingsprocedure waarschijnlijk.

Voor verbetering van de werking van natuurlijke middelen en het tegengaan van een resistentieopbouw kan een combinatie van oliën, organische zuren zoals mierenzuur, azijnzuur, melkzuur en propionzuur en nisine gebruikt worden, met name een combinatie van stoffen die synergistisch werken, of samen met fysische methoden. Geregistreerde (toegelaten) middelen mogen wel na elkaar worden toegepast, maar het

combineren van natuurlijke middelen leidt tot een 'nieuwe formulering'.

Dit resulteert weer in nieuwe dosiervereisten voor toelating. Combinaties met warmtebehandelingen, die nu al binnen de biologische sector worden toegepast, lijken ook een goede optie. Verwacht wordt dat bijvoorbeeld de toepassing van vluchtige etherische oliën, en ook organische zuren, met een warmtebehandeling de effectiviteit van de behandeling verder kan vergroten en het risico op fytoxische effecten kan verminderen.

Bron: Wageningen-UR, PRI februari 2004

Verbodsgebieden oppervlaktewater bruinrot verder uitgebreid

Het onderzoek naar de aanwezigheid van bruinrot heeft opnieuw geleid tot een aantal uitbreidingen van verbodsgebieden in 2004, volgens de Plantenziektenkundige Dienst (PD). Het oppervlaktewater in Nederland wordt sinds 1996 jaarlijks bemonsterd en getoetst op bruinrot. Aan de hand van de uitslagen worden de verbodsgebieden voor het nieuwe seizoen vastgesteld. Binnen deze gebieden is het gebruik van oppervlaktewater voor de teelt van aardappelen en tomaten verboden. Omdat bruinrot gemakkelijk met water kan worden verspreid, is een aantal regels gesteld voor het gebruik van oppervlaktewater voor de teelt van aardappelen en tomaten. In de regeling staan ook de gebieden genoemd waarbinnen het gebruik van dit water geheel is verboden voor of bij de teelt van aardappel,

tomaat, aubergine, raketbladige nachtschade, geranium (*Pelargonium zonale*) en postelein. Binnenkort wordt de Regeling bruinen ringrot 2000 officieel gewijzigd. Daarop vooruitlopend meldt de PD dat hierin is voorzien in een dertiental uitbreidingen van verbodsgebieden.

Bron: Plantenziektenkundige Dienst 22/04/04

Beleid voor bestrijding knolcyperus aangescherpt

Uit onderzoek van de Plantenziektenkundige Dienst (PD) en Naktuinbouw over 2003 blijkt dat de besmetting met knolcyperus hand over hand toeneemt. Daarom stelt het Hoofdproductschap Akkerbouw (HPA) voor om het beleid voor de bestrijding in Nederland te verscherpen. Het HPA is landelijk coördinator en heeft ook met de betrokken brancheorganisaties overlegd. Voortaan mogen geen akker- en tuinbouwgewassen meer worden geteeld op een besmet perceel.

Telers en loonwerkers worden dit jaar beter geïnformeerd over knolcyperus en de locaties waar dit onkruid voorkomt. Verder zal de Bloembollenkeuringsdienst in heel Nederland ingeschakeld worden voor de opsporing van knolcyperus in de gewassen lelies, gladiolen en bijgoed.

Bron: Productschap Tuinbouw, 13/04/04

NIEUWS

Naktuinbouw en PRI ontwikkelen nieuwe detectie- en inoculatiemethode voor freesiabladnecrose

De Naktuinbouw werkt samen met PRI aan de ontwikkeling van een detectiemethode en een inoculatiemethode voor de veroorzaker van freesiabladnecrose en de toepassingen ervan in de praktijk. Het onderzoek wordt betaald door het Productschap Tuinbouw en Naktuinbouw. De aanleiding voor het onderzoek waren de successen die PRI BV behaalde met het maken van een antiserum tegen het slabobbelbladagens.

Dit agens vertoont een aantal kenmerkende eigenschappen die nauw overeenkomen met die van het agens dat freesiabladnecrose veroorzaakt.

Bladnecrose van Freesia is een ernstige ziekte waarvoor nog geen afdoende oplossing is gevonden.

Er zijn al lang aanwijzingen dat de veroorzaker(s) van freesiabladnecrose mogelijk nauw verwant is met de veroorzakers van slabobbelblad. In slaplanten met symptomen is altijd het Mirafiori lettuce virus (MiLV), van het genus Ophiovirus, aanwezig. Daarnaast komt in sla vaak het lettuce bigvein virus voor, maar dat is niet gecorreleerd met de symptomen. Beide virussen zijn ondertussen gezuiverd en ze zijn nu aan te tonen met specifieke antilichamen.

Bron: Naktuinbouwnieuws maart 2004

Internetsite over ziekten en plagen in boom- en vaste plantenteelt

DLV Plant, de Nederlandse Bond van Boomkwekers (NBvK) en Praktijkonderzoek Plant & Omgeving (PPO) hebben een internetsite geopend om boomkwekers goed en tijdig te informeren over ziekten en plagen in boomkwekerijgewassen en vaste planten. Uitgangspunt is dat ziekten en plagen zoveel mogelijk voorkomen worden.

Via waarschuwingen worden boomkwekers gewaarschuwd voor een groot aantal ziekten en plagen. Bij achtergrondinformatie staat informatie over de aantastingen en de mogelijkheden voor een gerichte geïntegreerde aanpak. Hierbij is gekozen voor een opzet waarbij achtereenvolgens preventie, waarnemen, niet-chemische bestrijding en chemische bestrijding aan bod komen.

Zie voor meer informatie de site www.gezondeboomteelt.nl.

Bron: Agriholland, maart 2003

Gewassen staan bloot aan ziekten en plagen

Gewassen staan dit seizoen bloot aan vele ziekten en plagen waarvoor bestrijdingsmiddelen ofwel zijn verboden ofwel nog niet toegelaten. Landbouworganisatie LTO Nederland signaleert ruim honderdtwintig knelpunten. Uit een inventarisatie van LTO blijkt dat er honderdtwintig knelpunten zijn die worden veroorzaakt doordat sommige gewasbeschermingsmiddelen niet zijn toegelaten. Voor een derde daarvan heeft het ministerie van Landbouw een oplossing, het ministerie van LNV

is nog aan het werk met het verlenen van vrijstellingen

Bron: Financiële Dagblad 01/05/2004

Komkommerteelt kampt vaker met Fusarium

De afgelopen jaren is het aantal komkommerbedrijven dat te maken heeft met de schimmelziekte Fusarium gestegen. De ziekte kan sluimerend aanwezig zijn en dan ineens toeslaan. Vooral groei-krachtige meeldauwtolerante rassen in een herfstteelt zijn extra gevoelig voor Fusarium.

Bedrijven die eenmaal met de ziekte zijn besmet, kunnen er moeilijk weer vanaf komen. Het is belangrijk dat zieke planten zorgvuldig van het bedrijf worden verwijderd. Telers hebben echter vaak moeite om Fusarium te herkennen, zij denken eerder aan Pythium. Bij Fusarium blijven de potten daarbij echter vast op het substraat staan en kleurt de poot tot grotere hoogte en bleker door. Daarnaast vergelen de onderste bladeren eerder.

Bron: Groenten & Fruit, 04/03/04

Veerman: Nieuwe bestrijdingsmiddelen wet heeft geen zin

Minister Veerman van LNV vindt een nieuwe bestrijdingsmiddelenwet zinloos. Hij schrijft dat in een brief aan de Tweede Kamer. De VVD wil een initiatiefwet gewasbeschermingsmiddelen indienen, omdat de huidige bestrijdingsmiddelenwet uit 1962 in de ogen van de partij sterk verouderd is en leidt tot slecht beleid.

De VVD doelt daarbij op de schorsing van de vrijstellingsregeling gewasbeschermingsmiddelen af-

gelopen januari door het College van Beroep voor het bedrijfsleven (CBB). Volgens het CBB is de regeling in strijd met de Europese gewasbeschermingsrichtlijn.

Volgens Veerman heeft een nieuwe wet echter geen zin omdat deze van dezelfde uitgangspunten zal uitgaan als de geschorste vrijstellingsregeling. Er is volgens de minister pas duidelijkheid nadat de juridische procedures in verband met de schorsing volledig zijn doorlopen.

Zie voor meer informatie de brief van Veerman op de website van LNV, correspondentie met het parlement (www.minlnv.nl/infomart/parlemnt/2004/par04066.htm).

Bron: Ministerie van LNV, 27/02/04

Tabakswittevlieg ook probleem voor paprikateelt

De problemen met de tabakswittevlieg (*Bemisia tabaci*) nemen toe in de paprikateelt. Deze wittevlieg kwam in de zomer van 2003 op bijna alle paprikabedrijven in het Westland voor. Door het warme weer gedijde de vlieg goed. De plaag breidde zich uit naar andere gebieden en teelten, zoals tomaat, komkommer en sierteeltgewassen.

Er zijn verschillende oorzaken van de toename van de tabakswittevlieg. Ten eerste is deze vlieg moeilijk te onderscheiden van de kaswittevlieg (*Trialeurodes vaporariorum*). Ook verschuiven door belichte teelten de teeltcycli en wordt de ontwikkeling van de tabakswittevlieg versneld door de hogere teelttemperaturen bij een belichte teelt.

De tabakswittevlieg kan een aantal weken zonder bladgroen in een kas overleven, langer dan de kaswittevlieg. Uit praktijkproeven in

2003 is gebleken dat de tabakswittevlieg in paprika met biologische bestrijding kan worden aangepakt. De sluipwesp *Eretmocerus mundus* en de roofwants *Macrolophus caliginosus* voldoen daarbij het best en kan het gebruik van chemische middelen achterwege blijven.

Bron: *Groenten & Fruit*, 26/02/04

Onderzoek naar interactie bestrijdingsmiddelen

Elk afzonderlijk zijn de bestrijdingsmiddelen in ons eten doorgaans betrekkelijk onschuldig. Maar welke effecten combinaties van deze middelen hebben, weet niemand. Het Europees Parlement heeft eind april meer dan honderd amendementen aangenomen die beogen de hoeveelheid resten van bestrijdingsmiddelen in voedsel te verminderen.

In Nederland worden zeshonderd verschillende bestrijdingsmiddelen gebruikt, Nederland behoort daarmee vergeleken met andere Europese landen nog steeds tot de relatieve grootverbruikers. Een van de belangrijkste amendementen van het Europees Parlement is de aandacht voor de effecten van minieme hoeveelheden bestrijdingsmiddelen die in een cocktail voorkomen. Ook de Commissie Toelating Bestrijdingsmiddelen (CTB) bepleit meer aandacht voor gecombineerde effecten.

Bron: *Volkskrant*, 01/05/2004

Bayer introduceert coating tegen maïswortelkever

Bayer Crop Science heeft in samenwerking met het Japanse bedrijf Takeda een coating voor maïszaden ontwikkeld met een specifieke werking tegen de maïswortelkever. De

werkzame stof van de coating, clothianidine, wordt door de maïsplant opgenomen en biedt enkele weken bescherming tegen vraat door de larven. Dat meldt Bayer in haar Researchmagazine.

Bayer heeft voor de met 'Poncho' gecoate maïszaden al een toelating in Oostenrijk. In Nederland loopt de aanvraag ook. Poncho biedt volgens Bayer bescherming tegen vraat van allerlei insecten, zoals ritnaalden. Het middel is vergelijkbaar met Gaucho, dat al wel is toegelaten in Nederland. Gaucho (met imidacloprid als werkzame stof) is echter nog niet apart onderzocht op z'n werking de maïswortelkever.

In Nederland zijn vorig jaar de eerste twee maïswortelkevers gevonden in een maïspaneel bij Schiphol. De Plantenziektenkundige Dienst houdt voorlopig vast aan het eliminatieprogramma: de kevers bij vondst vernietigen. Mocht de maïswortelkever echter ook in Nederland voor grote problemen gaan zorgen, dan zou een dergelijke coating in beeld komen als 'beheersmaatregel', aldus sectormanager akkerbouw Frans Janssen van de PD.

Bron: *Agrarisch Dagblad maart 2004*

Uitheemse ziekten en plagen rukken op

In kersenboomgaarden wordt incidenteel de Noord-Amerikaanse kersenboorvlieg gevonden. Het is een nieuwe plaag, overgewaaid vanuit Amerika. In 1999 werd het eerste exemplaar gevonden. Inmiddels heeft deze boorvlieg – die op de Europese quarantainelijst staat – zich ongemerkt gevestigd op Amerikaanse vogelkers in de duinen en op de Veluwe. En vormt van daaruit dus een permanente bedreiging voor de kersenteelt. Maarten Steeghs van de Planten-

ziektenkundige Dienst (PD) noemt de vlieg als voorbeeld van een invasieve soort in het blad Gewasbescherming. Dat is een soort die zich buiten zijn oorspronkelijke gebied vestigt en in korte tijd massaal verspreid met een flinke economische schade. Sinds 1950 hebben zich alleen al bij de ongewervelde dieren (waaronder insecten) 104 van zulke invasieve soorten in Nederland gevestigd. Plaaginsecten maar ook bijvoorbeeld het veelkleurig Aziatisch lieveheersbeestje dat ingezet wordt als biologische bestrijder van bladluis, maar inmiddels in de open lucht in Zuid-Nederland voorkomt.

Het probleem neemt toe. Dat komt doordat de internationale handel in planten nog steeds groeit, en voor een klein deel door de klimaatverandering. De PD krijgt dan ook steeds meer werk, ook al omdat we niet alleen de land- en tuinbouw maar ook onze natuur willen beschermen tegen invasieve soorten. Zo kan dat lieveheersbeestje inheemse soorten verdringen. Vroeg erbij zijn, is het halve werk. Anders kan uitroeiing of beheersing een moeizaam en kostbaar proces worden. Dat leert het voorbeeld van de knol-cyperus. Recent zijn de maatregelen tegen dit probleemkruid aangescherpt omdat het anders niet onder controle te krijgen is.

De enige manier om de invasie af te remmen is zorgvuldig handelen van importeurs plus een goede controle aan de grens, hoe vervelend dat ook kan zijn voor het importerende bedrijf.

De inzet van biologische bestrijders is nog een apart punt. De Flora- en Faunawet verbiedt tegenwoordig uitzetten zonder ont-heffing. Het feit dat biologische bestrijders in de natuur gevonden worden, zal op termijn wellicht de discussie hierover aanscherpen.

Bron: Agrarisch Dagblad 14-05-2004, Achtergrond door Tijs Kierkels

Lidmaatschap van de KNPV

Het lidmaatschap biedt u:

- Vrije deelname aan de gewasbeschermingsdagen
- Gratis abonnement op 'Gewasbescherming'
- Deelname aan de algemene ledenvergaderingen met stemrecht; statuten worden op verzoek toegezonden
- Mogelijkheid van een collectief abonnement (tegen gereduceerd tarief) op het European Journal of Plant Protection

Het lidmaatschap loopt van 1 januari tot en met 31 december. Bij tussentijdse toetreding is een evenredig gedeelte van de contributie verschuldigd.

Opzeggen van het lidmaatschap dient voor 1 december schriftelijk te geschieden.

Aanmeldingen:

Mevr. M. Roseboom

Adm. Koninklijke Nederlandse Plantenziektkundige Vereniging,

Postbus 31,

6700 AA Wageningen

E-mail: m.roseboom2@chello.nl

Het secretariaat van de KNPV is telefonisch bereikbaar op 0317-483654

Als nieuw lid ontvangt u als welkomstgeschenk de 'Lijst van Gewasbeschermingskundige Termen' (verkoop-prijs € 12,50). Na acceptatie door het bestuur volgt een acceptgiro



of copie

Ondergetekende meldt zich aan als:

	Nederland/België	Overige landen
<input type="checkbox"/> Gewoon lid van de KNPV	€ 25,-	€ 35,-
<input type="checkbox"/> Gewoon lid van de KNPV inclusief een abonnement op het EJPP	€ 146,-	€ 156,-
<input type="checkbox"/> Lid-donateur van de KNPV	€ 65,-	

Naam : _____

Straat : _____

Postcode : _____ Plaats : _____

Land : _____

Datum : _____ Handtekening : _____

Binnenlandse bijeenkomsten

woensdag 3 november 2004

De KNPV-werkgroep Graanziekten zal dan een themamiddag organiseren over DTR en Septoria.
Plaats: Proefboerderij Ebelsheerd, Hoofdweg 26, 9687 PL Nieuw Beerta

Buitenlandse bijeenkomsten

131 juli-4 augustus 2004

Annual meeting of the American Phytopathological Society 2004. Anaheim, California
Info: <http://www.apsnet.org/meetings/2004/>

1-6 augustus 2004

Society for Invertebrate Pathology 27th Annual Meeting, Helsinki, Finland
Info: Heikki Hokkanen, University of Helsinki, Department of Applied Biology, Box 27, FIN-00014, Finland
E-Mail heikki.hokkanen@helsinki.fi;
Web: www.honeybee.helsinki.fi. More information: www.sipweb.org

10-12 augustus 2004

57th New Zealand Plant Protection Conference will be held from Tuesday,
Info: Lois McKay, AgResearch, Gerald St., PO Box 60, Lincoln, Canterbury, New Zealand.
Tel.: (03) 983 3940, fax: (03) 983 3904, E-mail: lois.mckay@agresearch.co.nz

15-21 augustus 2004

22nd International Congress of Entomology 'Strength in Diversity', Brisbane, Australië
Info: J. Cullen, CSIRO Entomology, GPO Box 1700, Canberra, ACT 2601, Australië; Phone: 61-2-6246-4025; E-mail: J.Cullen@ento.csiro.au;
<mailto:J.Cullen@ento.csiro.au>;
Fax: 61-2-6246-4000; Web: www.ento.csiro.au/ice2004/index.html,
<http://www.ento.csiro.au/ice2004/index.html>

5-9 oktober 2004

Second European Whitefly Symposium, Cavtat, Kroatië
Info: H. Aras, Inst. for Adriatic Crops and Karst Reclam., PO Box 288, 21000 Split, Kroatië Email: Helenka@krs.hr;
<mailto:Helenka@krs.hr>.
Fax: 385-213-16584. Web: <http://www.whitefly.org/EWSII-info.htm>.
Phone: 385-213-16579.

11-13 oktober 2004

Fourth meeting of the *Melolontha* subgroup of the IOBC/WPRS working group Entomopathogens and ento-

moparasitic nematodes Innsbruck, Oostenrijk.

Info: Dr. Hermann Strasser and Dr. Barbara Pernfuss, Institute of Microbiology, Leopold-Franzens University Innsbruck, Working group BIPESCO Technikerstraße 25, 6020 Innsbruck, Oostenrijk;
Tel: ++43-512-507 - 6008 or 6012
Fax: ++43-512-507 - 2938
E-mail: Hermann.Strasser@uibk.ac.at or Barbara.Pernfuss@uibk.ac.at

15-18 oktober 2004

Joint Annual Meeting Entomological Society of Canada/Acadian Entomological Society Rodd Charlottetown Hotel, Charlottetown, P.E.I., Canada
Info: <http://www.acadianes.org/aesesc04.html>

25-31 oktober 2004

XIII International *Botrytis* Symposium
Info: Dr. Figen Yildiz fyildiz@ziraat.ege.edu.tr
Symposium home page: <http://www.agri.gov.il/events/Botrytis-Sym/BotrytisSymposium.html>

1-3 november 2004

The BCPC Seminars 2004 - Crop Science & Technology, Incorporating the BCPC Exhibition SECC, Glasgow, UK
Info: e-mail: lizzy.white@bcpc.org ;
web: <http://www.bcpc.org/>

8-12 november 2004

7th International Symposium on Adjuvants for Agrochemicals. Kaapstad Zuid Afrika
Info: Deidre Cloete, Conferences et.a.l, P.O. Box 452, Stellenbosch, 7599 Zuid Afrika
Tel.: 272188544496; fax: 27218838177; e-mail: Deidre@iafrica.com

14-18 november 2004

Annual Meeting of the Entomological Society of America. Salt Lake City, Utah, Verenigde Staten
Info: ESA, 9301 Annapolis Rd., Lanham, MD 20706-3115, Verenigde Staten, E-mail: esa@entsoc.org;
<mailto:esa@entsoc.org>,
Fax: 1-301-731-4538, Web: www.entsoc.org <http://www.entsoc.org>,
Phone: 1-301-731-4535

november 2004

British Crop Protection Conference. Venue: Brighton Centre/Stakis Brighton Metropole Hotel
Info: Contact: British Crop Protection Council

11-15 december 2004

2nd International Symposium on fusarium head blight: Incorporating the 8th European Fusarium Seminar December Wyndham Orlando Resort, Orlando, Florida USA
Info: e-mail: scabusa@scabusa.org,
web: http://www.scabusa.org/fhb_symposium.html

3 mei 2005

56th International Symposium on Crop Protection. Gent België.
Info: K. De Jonghe e-mail: Kris.DeJonghe@rug.ac.be

31 October - 2 November 2005

The BCPC Seminars 2005 - Crop Science & Technology, Incorporating the BCPC Exhibition SECC, Glasgow, UK
Info: e-mail: lizzy.white@bcpc.org ;
web: <http://www.bcpc.org/>

6-10 november 2005

Annual Meeting of the Entomological Society of America. 2005 Fort Lauderdale Convention Center, Fort Lauderdale, Florida Verenigde Staten
Info: ESA, 9301 Annapolis Rd., Lanham, MD 20706-3115, Verenigde Staten, E-mail: esa@entsoc.org;
<mailto:esa@entsoc.org>,
Fax: 1-301-731-4538, Web: www.entsoc.org <http://www.entsoc.org>,
Phone: 1-301-731-4535

23 October - 25 October 2006

The BCPC Seminars 2006 - Crop Science & Technology, Incorporating the BCPC Exhibition SECC, Glasgow, UK
Info: e-mail: lizzy.white@bcpc.org ;
web: <http://www.bcpc.org/>

19-14 november 2006

Annual Meeting of the Entomological Society of America. 2006 Indianapolis Convention Center, Indianapolis, Indiana, Verenigde Staten.
Info: ESA, 9301 Annapolis Rd., Lanham, MD 20706-3115, Verenigde Staten, E-mail: esa@entsoc.org;
<mailto:esa@entsoc.org>,
Fax: 1-301-731-4538, Web: www.entsoc.org <http://www.entsoc.org>,
Phone: 1-301-731-4535

15-18 oktober 2007

XVI International Plant Protection Congress, In association with the BCPC International Congress - Crop Science & Technology 2007. SECC, Glasgow, Verenigd Koninkrijk
Info: e-mail: md@bcpc.org;
web: <http://www.bcpc.org/>

AGENDA

ARTIKELN

Recente ontwikkelingen in detectie en identificatie van plantenpathogenen: van microscopie naar moleculaire diagnostiek Tini, J.M.A. Grauwer, Bruo, P.A. Cammue, Bart, P.H.J. Thomma	201
Naar een Economische Onderbouw van Plantgezondheid A. Oude Lansink	208

PROMOTIES

Genetische analyse van <i>Phytophthora infestans</i> Theo A.J. van der Lee	214
--	-----

COLUMN

Hoe komt het, dat soms jonge planten na 't verpoten zo slecht vooruit willen? J. Ritzema Bos	217
--	-----

WILLIE COMMELIN SCHOLTENDAG 2004

Hosts, species and genotypes Pedro W. Crous	219
Downy mildew genomics: identification and functional analysis of genes encoding secreted proteins Karin Posthuma, J. Elberse, P. Weisbeek and G. van den Ackerveken	219
New bacterial strains for the control of tomato foot and root rot Faina D. Kamilova, Ine H.M. Mulders and Ben J.J. Lugtenberg	220
Boosting plant defense by beneficial microorganisms María J. Pozo, L.C. van Loon and Corné M.J. Pieterse	220
Suppression of take-all disease in soils from organic versus conventional farms in relation to native and introduced 2,4-diacetylphloroglucinol-producing <i>Pseudomonas fluorescens</i> Ariena H.C. van Bruggen, Gerbert Hiddink, Alexandre V. Semenov, Anne D. van Diepeningen, Aad J. Termorshuizen, Jos M. Raaijmakers and Alexandre M. Semenov	221
Characterization of an MFS transporter from <i>Mycosphaerella graminicola</i> as a potent multidrug transporter Ramin Roozparvar, Lute-Harm Zwiers, Gert H.J. Kema and Maarten A. De Waard	221
Molecular characterization of MAP kinase signaling genes in <i>Mycosphaerella graminicola</i> and their role in pathogenicity Rahim Mehrabi, C. Waalwijk, T. van der Lee, S. Ben M'Barek, S. Ware and G.H.J. Kema	222
A small, cysteine-rich protein secreted by <i>Fusarium oxysporum</i> during colonization of xylem vessels in required for I-3-mediated resistance in tomato Martijn Rep, Charlotte van der Does, Michiel Meijer, Petra Houterman and Ben J.C. Cornelissen	222
Molecular phylogeny of <i>Phytophthora</i> species; impact of reticulation and ecological parameters Laurens, P.N.M. Kroon, F.T. Bakker, G.B.M. van den Bosch, P.J.M. Bonants and W.G. Flier	223
Characterisation of the signal transduction pathway resulting in the hypersensitive response in planta Iris Stulemeijer	223

KNPV-WERKGROEPEN

Werkgroep <i>Fusarium</i>	
Indeling <i>Fusarium</i> -stammen geïsoleerd uit patiënten met opportunistische infecties Richard Summerbell, Kris Honraet, Hans-Josef Schroers en Mieke Starink-Willemse	224
FusariumScreen™: een niet-destructieve analyses van de pathogenese van aarfusarium Theo van der Lee, Gert Kema, Ineke de Vries, Henk Jalink, Rob van der Schoor en Cees Waalwijk	224
Syntenie in toxine producerende <i>Fusarium</i>-soorten: het gencluster verantwoordelijk voor het mycotoxine fumonisine en het mating type locas als voorbeelden Cees Waalwijk, Theo van der Lee, Ineke de Vries, Tamara Hesseling, Joop Arts and Gert H.J. Kema	225
Het eiwit Six1 van <i>Fusarium oxysporum</i> wordt uitgescheiden in tomaten planten gedurende infectie en is vereist voor volledige virulentie Lotje van der Does, Mark Opdam, Michiel Meijer, Ben J.C. Cornelissen en Martijn Rep	225
<i>Fusarium</i> in bloembollen: veelzijdig onderzoek aan een praktisch probleem Rik de Werd, Marjan de Boer, Suzanne Breeuwsma en Martin van Dam	225
Visualisatie van de interacties tussen de tomatenwortel, een pathogene en een biocontrole <i>Fusarium</i>-stam onder zieke reducerende condities Annouschka Bolwerk, Anastasia L. Lagopodi, Ben J.J. Lugtenberg en Guido V. Bloemberg	226
Werkgroep Bodempathogenen en Microbiologie	
Compost in potgrond: ziekteverendheid en beperkingen Dirk Jan van der Gaag, Cees de Kreij en Roel Hamelink	226
Agrobiodiversiteit en ziektevering van bodempathogenen Joeke Postma en Mirjam Schilder	227

VERENIGINGSNIEUWS

Jaarverslag over 2003 van het KNPV-bestuur, redactie en werkgroepen	228
Secretaris van het KNPV-bestuur	228
Redactie van het blad Gewasbescherming	228
KNPV-werkgroep Bodempathogenen en bodemmicrobiologie	229
Penningmeester van het KNPV-bestuur	230
KNPW-werkgroep <i>Fusarium</i>	231
KNPV-werkgroep <i>Phytophthora</i> en <i>Pythium</i> 2003	231
KNPV-werkgroep Onkruidkunde	231
KNPV-werkgroep <i>Botrytis</i>	231
KNPV-werkgroep <i>Phytophthora infestans</i>	231
KNPV-werkgroep <i>Rhizoctonia solani</i>	232
KNPV-werkgroep <i>Meloidogyne</i>	232
KNPV-werkgroep <i>Pratylenchus</i>	232
KNPV-werkgroep Trichodoriden en tabaksratelvirus	232
KNPV-werkgroep Graanziekten	232

NIEUWS

Natuurlijke middelen voor ontsmetting van biologisch zaad	237
Verbodsgebieden oppervlaktewater bruinrot verder uitgebreid	237
Beleid voor bestrijding knolcyperus aangescherpt	237
Naktuinbouw en PRI ontwikkelen nieuwe detectie- en inoculatiemethode voor freesiabladnecrose	238
Internetsite over ziekten en plagen in boom- en vaste plantenteelt	238
Gewassen staan bloot aan ziekten en plagen	238
Komkommerteelt kampt vaker met <i>Fusarium</i>	238
Veerman: Nieuwe bestrijdingsmiddelenwet heeft geen zin	238
Tabakswittevlieg ook probleem voor paprikateelt	239
Onderzoek naar interactie bestrijdingsmiddelen	239
Bayer introduceert coating tegen maïswortelkever	239
Uitheimse ziekten en plagen rukken op	239

AGENDA