

# KNPV-werkgroep *Phytophthora infestans*

## Samenvattingen van voordrachten gehouden op de vergadering van 11 november 1999 te Wageningen

### Het Masterplan *Phytophthora*

J. Dogterom

DLV Adviesgroep, Postbus 7001,  
6700 CA Wageningen

De problemen met *Phytophthora infestans* in aardappelen zijn de laatste jaren behoorlijk toegenomen. De schimmel is agressiever dan voorheen, en kan zich sinds enkele jaren ook geslachtelijk voortplanten. De combinatie van deze factoren maakt de schimmel veel moeilijker te bestrijden. Zeker als de weersomstandigheden voor *Phytophthora* gunstig zijn.

Op zich is *Phytophthora* met fungiciden in de hand te houden. Het probleem is echter dat het vrij veel bespuitingen vraagt en milieubelasting veroorzaakt. De oplossing om *Phytophthora* met minder milieubelasting beheersbaar te houden, is een brede en preventieve aanpak. Immers, als alle mogelijke bronnen van de schimmelziekte aangepakt worden en alle mogelijke kennis ingezet wordt, zal de schimmel zich niet zo vroeg openbaren en zich minder snel verspreiden.

Medio 1998 heeft LTO het initiatief genomen om met aardappelonderzoekers, voorlichters, overheid, milieuorganisaties, industrie en het landbouwbedrijfsleven gezamenlijk een plan van aanpak op te stellen hoe de ziekte vooral ook op bedrijfsniveau te beheersen. Dat moet leiden tot een vermindering van de milieubelasting met 35% in 2001 en met 50% in 2005 ten opzichte van de periode 1996 t/m 1998. Het Masterplan *Phytophthora* stelt ook nadrukkelijk als doel dat de continuïteit van de aardappelteelt niet in gevaar mag komen.

Het Masterplan startte voorjaar 1999 en gaat drie jaar lopen. De aardappeltelers dragen voor het uitvoeren van het plan tien gulden per hectare per jaar bij. Binnen het Masterplan zijn circa vijftien deelprojecten te onderscheiden. Het gaat om korte, middenlange en lange termijn projecten. Voorbeelden zijn het verbeteren van waarschuwingssystemen, het organiseren van een Open Meteo Netwerk, invloed nagaan van aardappels onder plastic als ziektebron en het opzetten van een meldsysteem voor afvalhopen (het zogenaamde gele en rode kaarten systeem). Daarnaast zijn diverse voorlichtings- en bewustwordingsactiviteiten georganiseerd en zijn ook onderzoeksactiviteiten opgestart die resultaten op lange termijn moeten gaan opleveren.

Nagegaan wordt wat de rol van oosporen is. Verder is in samenwerking met NILB een project naar duurzame resistentie gestart en is de rol en betekenis van Citrex als biologische middel op praktijkbedrijven getoetst. Samenvattend kan gezegd worden dat het Masterplan *Phytophthora* een samenhangend programma is, waarbij door de projectleiding maximaal gestuurd wordt op het uitwisselen van kennis en het samenwerken tussen de diverse partijen die bij de *Phytophthora* problematiek betrokken zijn.

### Resistentie tegen *Phytophthora infestans* in verouderende aardappelplanten

M.H.P.W. Visker<sup>1,2</sup>, L. Sijpkens<sup>1</sup>, P.C. Struik<sup>2</sup> & L.T. Colon<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Plant Research International, Postbus 16,  
6700 AA Wageningen,

<sup>2</sup>Laboratorium voor Theoretische Productie-  
Ecologie en Onderzoekschool Productie  
Ecologie, Wageningen Universiteit

*Phytophthora infestans* is wereldwijd de belangrijkste ziekte in aardappel. Van resistentie tegen deze ziekte gebaseerd op R-genen is gebleken dat deze niet duurzaam is. Van partiële resistentie wordt gedacht dat deze wel duurzaam is, maar deze vorm van resistentie blijkt alleen voor te komen in laatrijpende rassen. Deze rijptijd is gebaseerd op de afrijping van het loof in het veld. Ons onderzoek richt zich op deze relatie tussen laatheid en resistentie tegen *P. infestans* in aardappel. Het belangrijkste doel is een antwoord te vinden op de vraag of deze relatie genetisch of fysiologisch van aard is. Hiertoe hebben we een aantal populaties gecreëerd die uitsplitsen voor zowel laatheid van het loof als ook voor resistentie tegen *P. infestans*. In deze populaties zoeken we moleculaire merkers die gekoppeld zijn aan laatheid van het loof, of aan resistentie tegen *P. infestans*. Met deze merkergegevens zullen we kunnen vaststellen of de relatie tussen laatheid en resistentie tegen *P. infestans* genetisch is of niet.

Een tweede doel van ons onderzoek is het begrip rijptijd of vroegheid in aardappel fysiologisch nauwkeuri-

ger te karakteriseren. De cijfers voor vroegheid in de rassenlijst zijn gebaseerd op afrijping van het loof in het veld. Wij zoeken meer eenduidige parameters voor vroegheid in aardappel die zich manifesteren op het moment dat in het veld de verschillen in vatbaarheid ontstaan. In 1998 en 1999 hebben we een aantal experimenten uitgevoerd waarin de resistentie tegen *P. infestans* in verouderende aardappelplanten is bestudeerd. Het is bekend dat aardappelgenotypen verschillen in hun niveau van resistentie tegen *P. infestans*: er zijn resistente en vatbare genotypen. De duurzame, partiële resistentie tegen *P. infestans* is voor een bepaald genotype echter niet constant gedurende de groei en ontwikkeling van de plant. Publicaties over het verloop van partiële resistentie in verouderende aardappelplanten zijn niet eenduidig. Zo is gevonden dat planten vatbaarder worden naarmate ze ouder worden, maar ook is beschreven dat planten juist resistenter worden naarmate ze ouder worden. Uit de literatuur komt ook de suggestie dat de relaties tussen plantleeftijd en resistentie verschillend zijn voor genotypen met een verschillende genetisch bepaalde resistentie tegen *P. infestans*. Wij willen graag meer inzicht in het verloop van partiële resistentie in verouderende aardappelplanten en met dit doel is een drietal experimenten uitgevoerd. Het eerste experiment werd uitgevoerd met planten van het ras Alpha (gemiddelde vatbaarheid, gemiddelde vroegheid) die werden opgekweekt in een klimaatruimte. Het blad werd van de planten gesneden en in het laboratorium geïnoculeerd met een complex fyso van *P. infestans* (IPO-complex), waarna de lineaire lesiegroeisnelheid (mm/dag) werd bepaald als maat voor de resistentie. In dit experiment bleken oude Alpha-planten resistenter tegen *P. infestans* dan jonge Alpha-planten. Deze toename in resistentie was geleidelijk van jonge naar steeds oudere planten. Het tweede experiment werd uitgevoerd met planten van vier verschillende rassen: Eersteling (vatbaar, vroeg), Spunta en Alpha (beide gemiddelde vatbaarheid, gemiddelde vroegheid) en Robijn (resistent, laat). Deze planten werden ook opgekweekt in de klimaatruimte en de resistentie werd op vergelijkbare manier bepaald als in de eerste proef. Ook in dit tweede experiment bleken oude planten resistenter tegen *P. infestans* dan jonge planten en dit werd gevonden in alle vier de getoetste rassen. Ook hier was de toename in resistentie geleidelijk van jonge naar steeds oudere planten. In het laatste experiment werden dezelfde vier rassen getoetst als in het tweede experiment, maar nu werden de planten opgekweekt in het veld. De resistentie werd weer op vergelijkbare wijze bepaald als in de beide eerdere proeven. Ook in dit laatste experiment bleken de oude planten resistenter tegen *P. infestans* dan de jonge planten, wederom in alle vier de getoetste rassen en wederom was de toename in resistentie geleidelijk. Uit deze resultaten hebben we geconcludeerd dat in het algemeen oude aardappelplanten resistenter zijn tegen *P. infestans* dan jonge aardappelplanten. We zijn nu op zoek naar het mechanisme achter dit verschijnsel.

Met dank aan: IPO en Technologiestichting

## Geniteurenontwikkeling met betrekking tot resistentie tegen *Phytophthora infestans*

R.C.B. Hutten

Laboratorium voor Plantenveredeling,  
Departement Plantenwetenschappen,  
Wageningen Universiteit, Lawickse Allee 166,  
6709 DB Wageningen

Op het Laboratorium voor Plantenveredeling worden voor een aantal Nederlandse aardappelkweekbedrijven geniteuren ontwikkeld. Hierbij wordt met betrekking tot de resistentieveredeling aandacht besteed aan resistentie tegen *Phytophthora infestans*, *Globodera pallida* en diverse *Meloidogyne* soorten. Resistentieveredeling tegen *P. infestans* vindt zowel op diploid als tetraploid niveau plaats. Op diploid niveau worden onder andere de *Solanum* soorten *S. phureja*, *S. microdontum* en *S. berthaultii* als bron voor resistentie gebruikt, op tetraploid niveau *S. bulbocastanum* en *S. edinense*. Van deze vijf *Solanum* soorten is door herhaald kruisen, met diploïde dan wel tetraploïde *S. tuberosum* klonen, materiaal verkregen dat, bij een vergelijkbare afrijping, een betere resistentie tegen *P. infestans* bezit dan de huidige aardappelrassen. De verkregen resistenties uit *S. microdontum*, *S. berthaultii*, *S. bulbocastanum* en *S. edinense* berusten op hoofdgenen. In de resistentieveredeling m.b.t. *P. infestans* bestaat een zekere terughoudendheid ten aanzien van het gebruik van hoofdgenen gezien de ervaringen met R-genen uit *S. demissum*. Desalniettemin wordt er veel met de genoemde resistenties gewerkt en zullen op korte termijn de eerste rassen in de handel komen met resistentie tegen *P. infestans* uit *S. bulbocastanum*.

## AFLP mapping van het *Phytophthora infestans* genoom en positionele clonering van avirulentiegenen

T. van der Lee, J. van 't Klooster en  
F.P.M. Govers

Laboratorium voor Fytopathologie, Wageningen  
Universiteit en Onderzoekschool Experimentele  
Plantenwetenschappen, Binnenhaven 9,  
6709 PD Wageningen

Doel van dit onderzoek is het cloneren van avirulentiegenen van *P. infestans* op basis van hun positie in het genoom. Deze positie wordt bepaald met behulp van een koppelingsanalyse van avirulentie en AFLP markers in de nakomelingen van een kruising. We hebben

gebruik gemaakt van kruising 71, een reeds bestaande kruising van twee *P. infestans* veldisolaten (80029 A1 paringstype fysio 2.4.7 x 88133 A2 paringstype fysio 1.3.7.10.11). In de nakomelingen van deze kruising was reeds uitsplitsing gevonden voor virulentie op aardappelplanten met het R1, R2, R3, R4, R10 en R11 gen. De kruising is geanalyseerd met AFLP merkers en deze leken volgens de wetten van Mendel te vererven.

Om merkers te verkrijgen die nauw gekoppeld zijn met avirulentie, is een groot aantal AFLP fragmenten gegenereerd (zo'n 30.000) van pools van nakomelingen. De nakomelingen werden gepoold op basis van hun virulentie of avirulentie op aardappellijnen met een bepaald R gen. AFLP fragmenten die verschillen tussen de pools van virulente en avirulente nakomelingen zijn mogelijk genetisch gekoppeld met avirulentie. De nakomelingen zijn op meerdere manieren gepoold en dit leverde nauw gekoppelde merkers op met *Avr1* (een merker), *Avr4* (tien merkers) en met een cluster van avirulentiegenen, *Avr3-Avr10-Avr11* (negentien merkers). Zonder gebruik te maken van zo'n poolingstrategie werden merkers gevonden die nauw gekoppeld bleken met *Avr2* (twee merkers). De verschillen tussen de aantallen gekoppelde merkers zijn opmerkelijk en hebben waarschijnlijk te maken met verschillen in het percentage polymorfisme of met de recombinatiefrequentie in de verschillende regio's in het genoom. Met behulp van de merkers konden de avirulentiegenen op

de kaart geplaatst worden. Ook werd duidelijk dat de fysiospecifieke avirulentie monogeen overerft en dat avirulentie een dominante eigenschap is. Een aantal van de AFLP merkers gekoppeld met *Avr3-Avr10-Avr11* en *Avr4* is gekloneerd en gebruikt voor RFLP analyse en screening van een genomische bank (BAC-bank). Uit de RFLP analyse van de nakomelingen van kruising 71 bleek dat merker M5.1, die nauw gekoppeld is met het *Avr3-Avr10-Avr11* cluster, afwezig is in de virulente ouder en in de virulente nakomelingen. Dit betekent dat van dit gedeelte van het genoom slechts een homolog aanwezig is in de avirulente ouder. Deze ouder is hemizyoot voor dit locus. We weten echter nog niet wat de grootte is van de deletie en of de avirulentiegenen ook gedeleteerd zijn. Wel is gekeken of er in veldisolaten een correlatie is tussen deze merker en virulentie op aardappellijnen met het R3, R10 en R11 gen. Inderdaad bleek dat isolaten die deze merker niet hebben meestal virulent zijn op aardappellijnen met R3, R10 en R11. Daarnaast werd gevonden dat deze merker in oude isolaten die genetisch sterk op elkaar lijken maar wel verschillen in virulentie, met andere DNA fragmenten hybridiseert. Mogelijk dat snelle mutatie van een avirulent fysio naar een virulent fysio verklaard kan worden door de instabiliteit van deze regio die telomeer ligt op koppelingsgroep VIII.

Met dank aan Associatie van Biotechnologische Onderzoekscholen in Nederland (ABON).