

renderende teeltsysteem draagt voor 75% bij tot de totale productie. Wegens de dalende water-voorraad wordt de duurzaamheid van dit teeltsysteem bedreigd, wat problematisch is gezien de aanhoudende populatiestijging in Azië. Spaarzamer omgaan met irrigatiewater, zonder aan productiviteit in te boeten, is mogelijk via de teelt van aërobe rijstvariëteiten. Daarom werd een aëroob rijstteeltsysteem ontwikkeld voor gematigde regio's zoals China en Brazilië. Jammergenoeg blijkt dit systeem niet te werken onder tropische omstandigheden, wegens een zogenaamde 'soil sickness' van onbekende etiologie met opbrengstverliezen tot honderd procent na het eerste jaar bij een continue teelt.

Het International Rice Research Institute (IRRI, Filippijnen) heeft recent een groot aantal *Pythium*-isolaten geïsoleerd uit geïnfecteerde aërobe rijstplanten, afkomstig van verschillende rijstvelden in de Filippijnen. Uit voorlopige pathogeniteitstesten bleek de meerderheid van deze isolaten zeer pathogeen op aërobe rijst en daarom leek het ons interessant om de identiteit van deze soorten na te gaan. Vier morfologische types konden onderscheiden worden, die op basis van ITS, COX II en -tubuline sequencing in vijf verschillende *Pythium*-soorten werden onderverdeeld: *P. arrhenomanes*, *P. graminicola*, *P. inflatum* en *P. torulosum/catenulatum*. *In vivo* en *in vitro* pathogeniteitstesten werden uitgevoerd met een selectie van de isolaten, waaruit bleek dat voornamelijk *P. arrhenomanes* en *P. graminicola* pathogene eigenschappen bezitten ten opzichte van de aërobe rijstvariëteit 'Apo'. Deze resultaten geven aan dat de twee bovenstaande *Pythium*-soorten, naast abiotische en andere biotische factoren, verantwoordelijk kunnen zijn voor de geobserveerde 'soil sickness'.

### **FES-project Detectie *Phytophthora* met behulp van padlock probes en micro-array**

Peter Bonants<sup>1</sup>, Cor Schoen<sup>1</sup>, Arthur de Cock<sup>2</sup>, Henk Brouwer<sup>2</sup>, Hans de Gruyter<sup>3</sup> en Ellis Meekes<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Plant Research International (PRI), Wageningen

<sup>2</sup> Centraal Bureau voor Schimmelcultures (CBS), Utrecht

<sup>3</sup> Plantenziektenkundige Dienst (PD), Wageningen

<sup>4</sup> Naktuinbouw, Roelofarendsveen

De laatste jaren heeft de ontwikkeling van (moleculaire) detectiemethoden van planten-pathogenen een hoge vlucht genomen en inmiddels vinden deze methoden hun weg naar toepassing in de praktijk. Werd in het begin alleen conventionele PCR ingezet voor moleculaire detectie, momenteel vindt real-time PCR met diverse

probes meer en meer ingang.

In het kader van het FES-programma 'Versterking infrastructuur plantgezondheid' worden talloze identificatie- en detectiemethoden ontwikkeld. Eén ervan is de ontwikkeling van een multiplex-*Phytophthora*-detectiemethode. Detectie van *Phytophthora* speelt een belangrijke rol bij het internationale handelsverkeer, maar ook in het openbaar groen. Er worden steeds meer *Phytophthora*-soorten beschreven. Hiervoor zijn nog geen goede detectiemethoden ontwikkeld. Dit project beoogt een diagnostische methode te ontwikkelen die toe te passen is *in planta*, en ook de meest recent beschreven (quarantaine-) soorten omvat. Dit zal leiden tot de ontwikkeling van een generieke *Phytophthora*-detectiemethode gevolgd door een *Phytophthora*-identificatiemethode. Er zal rekening gehouden worden met het geslacht *Pythium*, dat nauw verwant is aan *Phytophthora*, en voor *in planta*-toepassingen voor valse meeldauwgeslachten.

Op basis van DNA-sequentiegegevens (verkregen in WP2 van FES Schimmels en beschikbaar in internationale databases) zal een generieke TaqMan PCR-test voor *Phytophthora* worden ontwikkeld en gevalideerd. Op basis van sequentieverschillen zullen vervolgens 'padlock probes' voor vijftien tot twintig voor Nederland relevante *Phytophthora*-soorten worden ontwikkeld. De lijst zal worden samengesteld in nauw overleg met CBS en PD. Er zal een micro-array-platform worden opgezet om de individuele *Phytophthora*-specifieke 'padlock probes' te identificeren. Het kostenaspect van de te gebruiken procedure zal worden meegenomen in het project. De methode zal worden ontwikkeld door PRI. Validatie van de ontwikkelde methodes speelt een belangrijke rol in dit project en het te schrijven validatieplan zal door het Nationaal Referentie Laboratorium van de PD (PD-NRL) worden goedgekeurd. De methodevalidatie zal worden uitgevoerd door de ontwikkelaars van de methoden. Implementatie bij de uiteindelijke gebruikers (keuringsdiensten, PD-NRL, diverse laboratoria) maakt ook onderdeel uit van het werkplan en de eindgebruikers participeren dan ook als partner/onderaannemer in het voorstel en worden direct betrokken bij de opzet van het project. Zij zijn ook direct betrokken bij de ontwikkeling en validatie van de methoden als full-partner.

**De volgende bijeenkomst van de werkgroep *Phytophthora* en *Pythium* is op donderdag 18 maart 2010.**