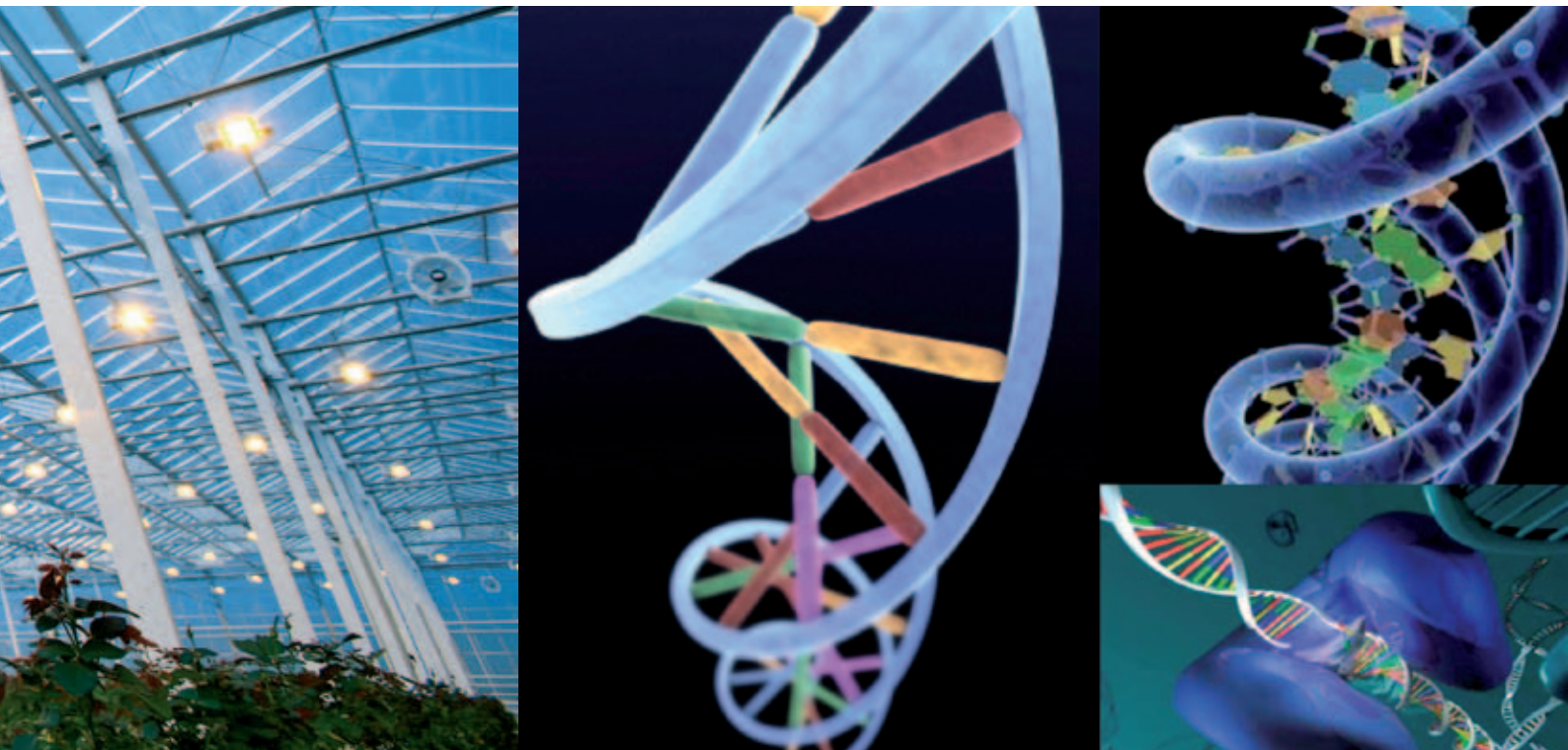




Moleculaire analyse van *Amblyseius* (*Neoseiulus*) *cucumeris* van verschillende bronnen

Anton van der Linden¹, Khanh Pham², Pierre Ramakers¹

¹ Wageningen UR Glastuinbouw, ² Wageningen UR Praktijkonderzoek Plant & Omgeving



© 2010 Wageningen, Wageningen UR Glastuinbouw

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Wageningen UR Glastuinbouw

Wageningen UR Glastuinbouw

Adres : ViolierenweG 1, 2665 MV Bleiswijk
: Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk
Tel. : 0317 - 48 56 06
Fax : 010 - 522 51 93
E-mail : glastuinbouw@wur.nl
Internet : www.glastuinbouw.wur.nl

Inhoudsopgave

1	Inleiding	4
2	Materiaal en Methode	5
	2.1 Mijtenkweken	5
	2.2 DNA isolatie	5
	2.3 PCR (Polymerase Chain Reaction)	6
	2.4 Sequentie analyse	6
3	Resultaten en Dicussie	7
	3.1 PCR resultaten met ITS primers	7
	3.2 PCR resultaten met 12S primers	8
4	Conclusies	9
5	Literatuur	10
Bijlage I.	CLUSTAL 2.0.12 multiple sequence alignment	11
Bijlage II.	BLAST analyse van 12S fragment, 5 basen verschil te zien	18

1 Inleiding

In de glastuinbouw, de fruitteelt en de boomkwekerij vormen roofmijten de basis van de geïntegreerde bestrijding. Bij de geïntegreerde bestrijding van trips wordt de roofmijt *Amblyseius (Neoseiulus) cucumeris* al tientallen jaren losgelaten in allerlei kasgewassen. In sommige gewassen zoals paprika vestigt deze soort zich zeer gemakkelijk. Zelfs als er geen of weinig trips aanwezig is, vermeerderen de roofmijten zich op paprikastuifmeel. Na loslating in roos echter wordt *N. cucumeris* nauwelijks of helemaal niet meer teruggevonden. Deze roofmijt lijkt zich op (kas)roos niet goed thuis te voelen. Het was dus verrassend dat roofmijten die waren verzameld van wilde rozen in Hongarije, werden gedetermineerd als *N. cucumeris*. De vraag rees of dit mogelijk een andere soort is, die op morfologische kenmerken niet te onderscheiden is. Traditioneel worden roofmijten gedetermineerd aan de hand van microscoppreparaten. Dit kan alleen met volwassen roofmijten. Deze worden eerst opgehelderd, waarna met doervallend licht de uiterlijke en inwendige kenmerken worden bekeken. Sommige soorten verschillen slechts op minieme details. In zo'n geval biedt DNA-onderzoek een welkome ondersteuning. In een voorafgaand project heeft PPO Bloembollen, Boomteelt en Fruitteelt in Lisse de verschillende in kassen gebruikte roofmijten onderzocht, en waar nodig de ontbrekende soort-specifieke primers gedefinieerd. Daarmee konden alle roofmijtsorten eenduidig van elkaar worden onderscheiden. De verwantschap tussen de soorten stemde ook goed overeen met de "stamboom" die op basis van morfologische kenmerken was opgesteld.

In de hier gerapporteerde consultancy werd via een DNA-vermenigvuldigingsmethode (PCR-toets) onderzocht of er genetisch verschil aangetoond kon worden tussen vier verschillende herkomsten van *Amblyseius (Neoseiulus) cucumeris*.

2 Materiaal en Methode

2.1 Mijtenkweken

Vier herkomsten van *Amblyseius (Neoseiulus) cucumeris* werden geanalyseerd (Tabel 1):

N(aaldwijk): Deze roofmijten werden aan het eind van de jaren 70 uit een paprikakas van het Proefstation in Naaldwijk verzameld en tot op heden in het laboratorium doorgekweekt. Deze kweeklijn is indertijd ter beschikking gesteld aan een Nederlandse (Koppert) en een Engelse (Bunting & Sons) producent.

K(oppert): Deze populatie is in het begin van de jaren 90 verzameld van *Thunbergia* in Nieuw-Zeeland (van Houten *et al.*, 1995). N en K bleken onderling gemakkelijk kruisbaar. Daarmee rijst de vraag of K origineel inheems materiaal was, dan wel ingevoerd met plantmateriaal uit b.v. Europa. Uit deze lijn werd een diapauzevrije stam geselecteerd, die later door Koppert in kweek is genomen.

C(hina): Dit materiaal wordt geleverd door een instituut in Fuzhou, maar is niet in China geïsoleerd. Het uitgangsmateriaal was een klein aantal individuen van een Engelse producent. Het is niet bekend of dit nog de N-stam dan wel reeds de K-stam betrof.

H(ongarije): Dit is een recent isolaat van wilde roos in het Noordoosten van Hongarije.

Alle roofmijten voor dit onderzoek werden voorgekweekt op voorraadmijten als prooi; bij N en H was dat dezelfde soort (zie Tabel 1). *Amblyseius cucumeris* wordt wereldwijd op grote schaal gekweekt door verschillende producenten. De onderlinge verwantschap van al die kweken is onduidelijk. Producenten hebben materiaal uitgewisseld, elkaars materiaal doorgekweekt, mogelijk eigen selecties uitgevoerd en mogelijk teruggeïsoleerd uit het veld waarbij vermenging met inheems materiaal kan hebben plaatsgevonden. Alleen bij N en H is de geografische herkomst zeker.

2.2 DNA isolatie

Voor het isoleren van DNA uit groepen (tientallen) mijten is gebruikt gemaakt van een commerciële verkrijgbare isolatie-kit (PureGene genomic DNA purification kit, Gentra/Qiagen Systems). Dit onderdeel is in duplo uitgevoerd.

Voor het isoleren van DNA uit afzonderlijke mijten is de kookmethode met lysisbuffer toegepast. Deze methode is afkomstig van aaltjesonderzoek, waarbij gebruik is gemaakt van de Thermomixer Comfort (Eppendorf).

Tabel 1: Geanalyseerde *Amblyseius (Neoseiulus) cucumeris* isolaten.

N=Naaldwijk, C=China, H=Hongarije, K=Koppert

Nr.	Isolaat Code	Gekweekt op	Jaar van analyse	Aantal mijten
1	N1	Acarus	2009	10-tallen
2	N2	Acarus	2009	10-tallen
3	C1	Aleuroglyphus	2009	10-tallen
4	C2	Aleuroglyphus	2009	10-tallen
5	H1	Acarus	2009	10-tallen
6	H2	Acarus	2009	10-tallen
7	K1	Tyrophagus	2009	10-tallen
8	K2	Tyrophagus	2009	10-tallen
9	C4	Aleuroglyphus	2010	1
10	H4	Acarus	2010	1
11	K3	Tyrophagus	2010	1
12	N3	Acarus	2010	1

2.3 PCR (Polymerase Chain Reaction)

PCR's werden uitgevoerd volgens de standaard procedure met PCR Mastermix (Promega, Madison, USA) met de generieke primers die beschreven zijn in de literatuur. Dat zijn de primers die ITS Internal transcript spacers (Navajas et al, 1999) en 12S (Jeyaprakash & Hoy, 2002) fragmenten van roofmijten kunnen amplificeren. In eerste instantie werden alleen de ITS fragmenten geanalyseerd via sequentie bepaling. In een enkel geval werden ook 12S fragmenten geanalyseerd.

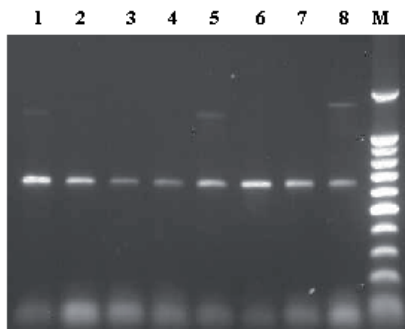
2.4 Sequentie analyse

De PCR fragmenten werden opgezuiverd m.b.v de Qiaquick PCR purification kit (Qiagen), daarna opgestuurd voor sequentie bepaling naar Baseclear in Leiden. De verkregen sequenties werden geanalyseerd met behulp van een BLAST-analyse (vergelijken met sequenties uit de GenBank, NCBI) en onderling vergeleek met de software ClustalW2 van EBI.

3 Resultaten en Discussie

3.1 PCR resultaten met ITS primers

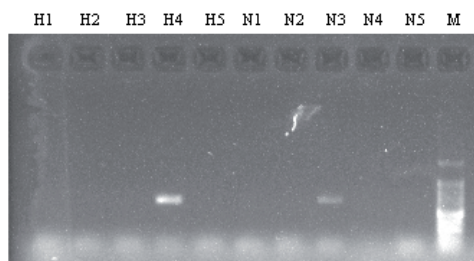
De resultaten verkregen met ITS primers (Navajas *et al.*, 1999): Van elke mijtenisolaat (Naaldwijk, China, Hongarije, Koppert) van januari 2009 werden 2 DNA-isolaten gemaakt. Hierdoor zijn er in totaal 8 ITS fragmenten gekregen (Figuur 1). De sequenties van deze fragmenten werden later bepaald. Met For en Rev primers werden de sequentie bepaald, in totaal 16 reacties)



Figuur 1. Gezuiverde PCR producten (ca.650bp) zoals geamplificeerd met ITS primers op de eerste 8 monsters uit Tabel 1.

De bepaling gaat gemakkelijker als er meerdere roofmijten worden gebruikt (Figuur 1) in plaats van 1 roofmijt (Figuur 2).

Van de mijten isolaten (enkele mijten) van begin 2010 werden met aanpassingen toch weinig fragmenten gekregen (1 op de 5 mijten). Zie Figuur 2, alleen H4 en N3 positief). Deze zijn opgenomen in Tabel 1, later ook C4 en N3 (foto niet getoond).

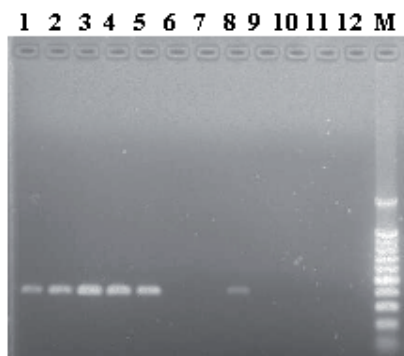


Figuur 2. PCR producten (ca.650bp) zoals geamplificeerd met ITS primers, alleen H4 en N3 met positieve reactie

Sommige roofmijten (H1-H3, H5, N1-N2, N4-N5) zijn mogelijk bij de voorbereiding onbedoeld verwijderd, waarna de bepaling geen reactie gaf. De roofmijten H4 en N3 waren aanwezig en gaven een positieve reactie.

3.2 PCR resultaten met 12S primers

De resultaten verkregen met 12 S primers (Jeyaprakash & Hoy, 2002):



Figuur 3. PCR producten (ca.400bp) zoals geamplificeerd met 12S primers op individuele mijt van Koppert isolaat (laan 1-5)

De bepaling in figuur 3 is gebaseerd op 12S fragmenten, omdat het niet altijd lukt om ITS fragmenten te verkrijgen. Door technische redenen is de bepaling aan Naaldwijk isolaten (laan 6-10) niet gelukt.

De ITS sequenties van *Amblyseius (Neoseiulus) cucumeris* isolaten werden verwerkt en de alignment staan vermeld in Bijlage 1. Hierin staat ook de sequentie van *Neoseiulus (Amblyseius) cucumeris* isolaat uit GenBank (AY121985).

Bij BLAST analyse van 12S sequentie van fragment K3 (Koppert-isolaat) is de homologie met de enige *Neoseiulus cucumeris* sequentie van de GenBank 99% (5 basen verschil in een fragment van 329 bp groot). Dit is ook een Koppert-isolaat (Jeyaprakash & Hoy, 2002). Het is dus niet duidelijk of *N. cucumeris* mijten van Koppert altijd het zelfde zijn (Bijlage 2).

Jeyaprakash & Hoy (2002) gaat uit van 20 mijten. In principe is een mijt voldoende, maar als deze ene mijt tijdens de bewerking verloren gaat komt er niets uit de bepaling.

De alignment van de ITS sequenties van *Amblyseius (Neoseiulus) cucumeris* van verschillende herkomst (China, Hongarije, Naaldwijk, Koppert), die morfologisch identiek zijn, zijn ook moleculair identiek. Een verschil in slechts 1 à 2 nucleotiden is niet significant te noemen, bijvoorbeeld isolaat Hongarije 1 heeft in C i.p.v een G op positie 309, een C i.p.v een G bij positie 413. Uit de GenBank blijkt dat bij plaatselijke isolaten van een verwante roofmijt, *Amblyseius (Neoseiulus) swirskii*, uit Egypte wél significante verschillen bestaan. Een alignment hiervan is gemaakt en op grond daarvan ook een fylogenetische boom. Bijlage 3.

Het kan ook zijn dat in dit geval ITS sequentie niet geschikt is voor onderscheiden van *N. cucumeris* op isolaat-nivo. Bij enige analyse op 12S sequentie van K3 fragment lijkt dat het verschil tussen isolaten wel bestaat. Het was echter niet gemakkelijk om 12S fragment te amplificeren wegens de PCR condities (Jeyaprakash & Hoy., 2002). Onderscheid m.b.v RAPD-PCR techniek (Yli-Mattila *et al.*, 2000) is een mogelijkheid maar niet toepasbaar binnen kleine projecten.

4 Conclusies

- Er zijn geen genetische verschillen aangetoond tussen de verschillende herkomsten van *Neoseiulus cucumeris* gebaseerd op ITS sequenties;
- Het is mogelijk dat in dit geval ITS sequentie niet geschikt is voor onderscheiden van *N. cucumeris* op isolaat-nivo;
- Bij enige analyse op 12S sequentie van K3 fragment lijkt dat het verschil tussen isolaten wel bestaat. Het was echter onmogelijk om 12S fragment te amplificeren onder de gegeven PCR condities;
- Onderscheid m.b.v RAPD-PCR techniek is een mogelijkheid, maar niet toepasbaar binnen kleine projecten.

5 Literatuur

Cruickshank, R.H.

Molecular markers for the phylogenetics of mites and ticks. *Systematic & Applied Acarology* (2002)7: 3-14

Houten, Y.M. Van, P. van Stratum, J. Bruin & A. Veerman.

Selection for non-diapause in *Amblyseius cucumeris* and *Amblyseius barkeri* and exploration of the effectiveness of selected strains for thrips control. *Entomologia Experimentalis et Applicata* (1995) 77: 289-295.

Jeyaparakash, A. and M. A. Hoy.

Mitochondrial 12S rRNA sequences used to design a molecular ladder assay to identify six commercially available phytoseiids (Acari: Phytoseiidae). *Biological Control* (2002) 25: 136–142

Navajas, M., J. Lagnel, G. Fauvel and G. de Moraes.

Sequence variation of ribosomal Internal Transcribed Spacers (ITS) in commercially important Phytoseiidae mites. *Experimental and Applied Acarology* (1999)23: 851–859

Ramakers, P., A. van der Linden & K. Pham.

Rovers ontmaskerd via hun DNA-profiel. *Onder Glas* (2009) 3: 12-13.

Yli-Mattila, T., S. Paavananen-Huhtala, B. Fenton and T. Tuovinen.

Species and strain identification of the predatory mite *Euseius finlandicus* by RAPD-PCR and ITS sequences. *Experimental and Applied Acarology* (2000) 24: 863–880

Bijlage I. CLUSTAL 2.0.12 multiple sequence alignment

```

Hongarije1 -----
Koppert1 -----
Naaldwijk1 -----
China1 -----
Naaldwijk2 -----
China2 -----
Hongarije2 -----
Koppert2 -----
C4-2010 -----
N3-2010 -----
H4-2010 -----
K3-2010 -----
N.cucumeris_AY121985_ AAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTG 50
Naaldwijk1RC AAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTG 50
China1RC AAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTG 50
China2RC AAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTG 50
C4-2010RC AAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTG 50
Naaldwijk2RC AAAGTTGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTG 50
Hongarije2RC AAAGTTGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTG 50

*****

Hongarije1 -----TACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 34
Koppert1 -----TACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 34
Naaldwijk1 -----TACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 34
China1 -----TACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 34
Naaldwijk2 -----TACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 34
China2 -----TACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 34
Hongarije2 -----TACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 34
Koppert2 -----TACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 34
C4-2010 -----TCCCTACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 38
N3-2010 -----TCCCTACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 38
H4-2010 -----TCCCTACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 38
K3-2010 -----TCCCTACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 38
N.cucumeris_AY121985_ ATAAAAATCCATTCCTACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 100
Naaldwijk1RC ATAAAAATCCATTCCTACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 100
China1RC ATAAAAATCCATTCCTACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 100
China2RC ATAAAAATCCATTCCTACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 100
C4-2010RC ATAAAAATCCATTCCTACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 100
Naaldwijk2RC ATAAAAATCCATTCCTACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 100
Hongarije2RC ATAAAAATCCATTCCTACTTCTGTAGGTGAGTGGTCGATGTATGATGCA 100

*****

```

Hongarije1	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	84
Koppert1	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	84
Naaldwijk1	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	84
China1	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	84
Naaldwijk2	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	84
China2	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	84
Hongarije2	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	84
Koppert2	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	84
C4-2010	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	88
N3-2010	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	88
H4-2010	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	88
K3-2010	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	88
N.cucumeris_AY121985_	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	150
Naaldwijk1RC	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	150
China1RC	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	150
China2RC	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	150
C4-2010RC	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	150
Naaldwijk2RC	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	150
Hongarije2RC	CTATCTTAGACTCCCACAGCTCAGTTCGCTGACTGTTTGTGTCTTCGAG	150

Hongarije1	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	134
Koppert1	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	134
Naaldwijk1	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	134
China1	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	134
Naaldwijk2	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	134
China2	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	134
Hongarije2	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	134
Koppert2	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	134
C4-2010	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	138
N3-2010	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	138
H4-2010	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	138
K3-2010	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	138
N.cucumeris_AY121985_	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	200
Naaldwijk1RC	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	200
China1RC	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	200
China2RC	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	200
C4-2010RC	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	200
Naaldwijk2RC	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	200
Hongarije2RC	AGGCATGTGACAAACTTGTATTTCAAATACGTAGTGCGACTCGTTTGGTC	200

Hongarije1	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	184
Koppert1	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	184
Naaldwijk1	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	184
China1	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	184
Naaldwijk2	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	184
China2	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	184
Hongarije2	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	184
Koppert2	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	184
C4-2010	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	188
N3-2010	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	188
H4-2010	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	188
K3-2010	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	188
N.cucumeris_AY121985_	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	250
Naaldwijk1RC	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	250
China1RC	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	250
China2RC	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	250
C4-2010RC	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	250
Naaldwijk2RC	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	250
Hongarije2RC	CGTGGCACACTGCTCAATTGTGGTGTTCCTCCACAGGAACGGGCGAGG	250

Hongarije1	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	234
Koppert1	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	234
Naaldwijk1	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	234
China1	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	234
Naaldwijk2	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	234
China2	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	234
Hongarije2	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	234
Koppert2	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	234
C4-2010	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	238
N3-2010	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	238
H4-2010	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	238
K3-2010	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	238
N.cucumeris_AY121985_	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	300
Naaldwijk1RC	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	300
China1RC	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	300
China2RC	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	300
C4-2010RC	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	300
Naaldwijk2RC	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	300
Hongarije2RC	CGTGAGTCGGTAACCAATTCGACAACACCTTCACTTCTGT AAGAAGTCGT	300

Hongarije1	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	284
Koppert1	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	284
Naaldwijk1	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	284
China1	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	284
Naaldwijk2	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	284
China2	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	284
Hongarije2	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	284
Koppert2	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	284
C4-2010	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	288
N3-2010	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	288
H4-2010	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	288
K3-2010	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	288
N.cucumeris_AY121985_	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	350
Naaldwijk1RC	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	350
China1RC	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	350
China2RC	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	350
C4-2010RC	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	350
Naaldwijk2RC	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	350
Hongarije2RC	TTGTGCTATTGAGAAGAAAAAATCAAGACTCAATATGGGGGATCACTTA	350

Hongarije1	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATACTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	334
Koppert1	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	334
Naaldwijk1	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	334
China1	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	334
Naaldwijk2	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	334
China2	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	334
Hongarije2	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	334
Koppert2	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	334
C4-2010	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	338
N3-2010	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	338
H4-2010	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	338
K3-2010	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	338
N.cucumeris_AY121985_	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	400
Naaldwijk1RC	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	400
China1RC	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	400
China2RC	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	400
C4-2010RC	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	400
Naaldwijk2RC	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	400
Hongarije2RC	GTCCTTAAATCGATGAAAAACATAGTAATTTGTGGAAATTGATGTGAGTT	400

Hongarije1	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	384
Koppert1	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	384
Naaldwijk1	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	384
China1	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	384
Naaldwijk2	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	384
China2	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	384
Hongarije2	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	384
Koppert2	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	384
C4-2010	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	388
N3-2010	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	388
H4-2010	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	388
K3-2010	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	388
N.cucumeris_AY121985_	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	450
Naaldwijk1RC	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	450
China1RC	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	450
China2RC	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	450
C4-2010RC	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	450
Naaldwijk2RC	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	450
Hongarije2RC	GTGAAATTTTGTGAGCATTGTGTTTTGAATGAAAATTTTCAGCATGGACA	450

Hongarije1	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	434
Koppert1	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	434
Naaldwijk1	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	434
China1	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	434
Naaldwijk2	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	434
China2	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	434
Hongarije2	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	434
Koppert2	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	434
C4-2010	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	438
N3-2010	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	438
H4-2010	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	438
K3-2010	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	438
N.cucumeris_AY121985_	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	500
Naaldwijk1RC	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	500
China1RC	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	500
China2RC	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	500
C4-2010RC	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	500
Naaldwijk2RC	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	500
Hongarije2RC	CTTCTGTATCTGTGCTACATTTGTTTCACTATATAAACCGTATCATACGT	500

Hongarije1	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCGCCGCTATGCAATGGTATAAAAT	484
Koppert1	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTATAAAAT	484
Naaldwijk1	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTATAAAAT	484
China1	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTATAAAAT	484
Naaldwijk2	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTATAAAAT	484
China2	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTATAAAAT	484
Hongarije2	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTATAAAAT	484
Koppert2	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTATAAAAT	484
C4-2010	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTATAAAAT	488
N3-2010	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTATAAAAT	488
H4-2010	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTATAAAAT	488
K3-2010	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTATAAAAT	488
N.cucumeris_AY121985_	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTATAAAAT	550
Naaldwijk1RC	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTAT----	546
China1RC	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTAT----	546
China2RC	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTAT----	546
C4-2010RC	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTAT----	546
Naaldwijk2RC	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTAT----	546
Hongarije2RC	ATTTACCTTTGCTGCAGCCCTCGTCGGCACCGCTATGCAATGGTAT----	546

Hongarije1	TCTCTTTGGTCACAAGAGTGATACCAAAACCAAACCATTTGACGTGTAT	534
Koppert1	TCTCTTTGGTCACAAGAGTGATACCAAAACCAAACCATTTGACGTGTAT	534
Naaldwijk1	TCTCTTTGGTCACAAGAGTGATACCAAAACCAAACCATTTGACGTGTAT	534
China1	TCTCTTTGGTCACAAGAGTGATACCAAAACCAAACCATTTGACGTGTAT	534
Naaldwijk2	TCTCTTTGGTCACAAGAGTGATACCAAAACCAAACCATTTGACGTGTAT	534
China2	TCTCTTTGGTCACAAGAGTGATACCAAAACCAAACCATTTGACGTGTAT	534
Hongarije2	TCTCTTTGGTCACAAGAGTGATACCAAAACCAAACCATTTGACGTGTAT	534
Koppert2	TCTCTTTGGTCACAAGAGTGATACCAAAACCAAACCATTTGACGTGTAT	534
C4-2010	TCTCTTTGGTCACAAGAGTGATACCAAAACCAAACCATTTGACGTGTAT	538
N3-2010	TCTCTTTGGTCACAAGAGTGATACCAAAACCAAACCATTTGACGTGTAT	538
H4-2010	TCTCTTTGGTCACAAGAGTGATACCAAAACCAAACCATTTGACGTGTAT	538
K3-2010	TCTCTTTGGTCACAAGAGTGATACCAAAACCAAACCATTTGACGTGTAT	538
N.cucumeris_AY121985_	TCTCTTTGGTCACAAGAGTGATACCAAAACCAAACCATTTGACGTGTAT	600
Naaldwijk1RC	-----	
China1RC	-----	
China2RC	-----	
C4-2010RC	-----	
Naaldwijk2RC	-----	
Hongarije2RC	-----	

Hongarije1	CTGAAATCAAGTGTGACGACCCCC	558
Koppert1	CTGAAATCAAGTGTGACGACCCCC	558
Naaldwijk1	CTGAAATCAAGTGTGACGACCCCC	558
China1	CTGAAATCAAGTGTGACGACCCCC	558
Naaldwijk2	CTGAAATCAAGTGTGACGACCCCC	558
China2	CTGAAATCAAGTGTGACGACCCCC	558
Hongarije2	CTGAAATCAAGTGTGACGACCCCC	558
Koppert2	CTGAAATCAAGTGTGACGACCCCC	558
C4-2010	CTGAAATCAAGTGTGACGACCCCC	562
N3-2010	CTGAAATCAAGTGTGACGACCCCC	562
H4-2010	CTGAAATCAAGTGTGACGACCCCC	562
K3-2010	CTGAAATCAAGTGTGACGACCCCC	562
N.cucumeris_AY121985_	TTGAAATCAAGTGTGACGACCCCC	624
Naaldwijk1RC	-----	
China1RC	-----	
China2RC	-----	
C4-2010RC	-----	
Naaldwijk2RC	-----	
Hongarije2RC	-----	

Bijlage II. BLAST analyse van 12S fragment, 5 basen verschil te zien

61779	1	TCCACATCAATAAGAAATTGAATTTCTTATTTACTATCAAATCCAATTTCAAATAAAATT	60
AY099366	60C.....	119
61779	61	AATTTTATACAAAAAGTAGCTCATTAAAACCACTTTATAATTTACACATTGACCTGAAT	120
AY099366	120G.....	179
61779	121	TAAACACTAACGTAAAAAGCAATAACCTGTATGTTAAACTTAACAGCCGTACATAAAA	180
AY099366	180	239
61779	181	ACAAAAGTGGTGAAATTAAGGGGGTTATCAAATTAATTAACAAGCTCCTCTGCTAGA	240
AY099366	240A.....	299
61779	241	GTAGTGAACCGCCAGAAGAATTAAGTTTAGAAAAATAATTTACTACTTTAAAGCAACCT	300
AY099366	300T..	359
61779	301	TTAATAATAGGGTATCTAATCCTAGTTT	329
AY099366	360G.....	388

Tabel 2: Geanalyseerde *A.swirskii* isolaten (gegevens uit GenBank)

Isolate	Source	Acc. Number	Note
<i>A.swirskii</i> -M1	citrus orchard	EU 924212	1
<i>A.swirskii</i> -M3	citrus orchard	EU 924215	2
<i>A.swirskii</i> -M4	citrus orchard	EU 924213	3
<i>A.swirskii</i> -M5	citrus orchard	EU 924214	4
<i>A.swirskii</i> -M9	grape	EU 924216	5
<i>A.swirskii</i> -PPO		EU 310505	6

1. Egypt: Alazizia Village (farm one), Sharkia governorate
2. Egypt: Alazizia Village (farm two), Sharkia governorate
3. Egypt: Shobra Bokhoom (farm one), Monufia governorate
4. Egypt: Shobra Bokhoom (farm two), Monufia governorate
5. Egypt: Monufia governorate
6. Netherlands: Bleiswijk

- 1-5: Ramadan, H.A.I., El-Banhawy, E.M. and Afa, S.I.; Nuclear sequence variations in the predacious phytoseiid mite, *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae); Unpublished. Cell Biology, National Research Center, El Tahrir Street, 12622 Dokki, Giza, Giza 12622, Egypt
- 6: Pham, K.T.K., Linden, A. van der, Kuik, F., Molecular characterization and detection of *Amblyseius andersoni* and *A. swirskii* (Acari: Phytoseiidae), Wageningen UR, The Netherlands.

CLUSTAL 2.0.12 multiple sequence alignment

```

A.swirskii-M4      GTAAGTCGGTAACCAATTCCGACCAACCTTTTCCCCTCCTTTGGAAGTAAGTTGTGCTATC      60
A.swirskii-M5      -----GTAACCAATTCCGACCAACCTTTTCCCCTCCTTTGGAAGTAAGTTGTGCTATC      52
A.swirskii-M3      GTAAGTCGGTAACCAATTCCGACCAACCTTTTCACTTCCTTTGGAAGTAAGTTGTGCTATC      60
A.swirskii-M1      GTAAGTCGGTAACCAATTCCGACCAACCTTTTCACTTCCTTTGGAAGTAAGTTGTGCTATC      60
A.swirskii-PPO     GTAAGTCGGTAACCAATTCCGACCAACCTTTTCACTTCCTTTGGAAGTAAGTTGTGCTATC      59
A.swirskii-M9      -----TTTTCACTTCCTTTGGAAGTAAGTTGTGCTATC      33

*****

A.swirskii-M4      GAGAAGAAAAAACAAGACTCAATGGAGGGGATCACTTAGTCCTTAAATCGATGAAAA      120
A.swirskii-M5      GAGAAGAAAAAACAAGACTCAATATAGGGGGATCACTTAGTCCTTAAATCGATGAAAA      112
A.swirskii-M3      GAGAAGAAAAAACAAGACTCAATATAGGGGGATCACTTAGTCCTTAAATCGATGAAAA      120
A.swirskii-M1      GAGAAGAAAAAACAAGACTCAATAT-GGGGGATCACTTAGTCCTTAAATCGATGAAAA      119
A.swirskii-PPO     GAGAAGAAAAAACAAGACTCAATAT-GGGGGATCACTTAGTCCTTAAATCGATGAAAA      118
A.swirskii-M9      GAGAAGAAAAAACAAGACTCAATAT-GGGGGATCACTTAGTCCTTAAATCGATGAAAA      92

*****

A.swirskii-M4      ACATAGTAAATTTTCGTGAAATTGACCATAGAGTTGTGAAATTCCTGTGAGCATTGTGTTT      180
A.swirskii-M5      ACATAGTAAATTTTCGTGAAATTGACCATAGAGTTGTGAAATTCCTGTGAGCATTGTGTTT      172
A.swirskii-M3      ACATAGTAAATTTTCGTGAAATTGATCATAGAGTTGTGAAATT-TTGTGAGCATTGTGTTT      179
A.swirskii-M1      ACATAGTAAATTT-GTGAAATTGATG--TGAGTTGTGAAATT-TTGTGAGCATTGTGTTT      175
A.swirskii-PPO     ACATAGTAAATTT-GTGAAATTGATG--TGAGTTGTGAAATT-TTGTGAGCATTGTGTTT      174
A.swirskii-M9      ACATAGTAAATTT-GTGAAATTGATG--TGAGTTGTGAAATT-TTGTGAGCATTGTGTTT      148

*****

A.swirskii-M4      TCGAATGAAAATTTTCAGCACGGACACTTCAAGTATACTGTGCGACATTTGTTTCGAGTAT      240
A.swirskii-M5      TCGAATGAAAATTTTCAGCACGGACACTTACAGTATACTGTGCGACATTTGTTTC-AGTAT      231
A.swirskii-M3      TCGAATGAAAATTTTCAGCACGGACACTTCAAGTATACTGTGCGACATTTGTTTCGAGTAT      239
A.swirskii-M1      TTGAATGAAAATTTTCAGCACGGACACTTACTGTAT-CTGTGCTACATTTGTTTCGAGTAT      234
A.swirskii-PPO     TTGAATGAAAATTTTCAGCACGGACACTT-CTGTAT-CTGTGCTACATTTGTTTC-AGTAT      231
A.swirskii-M9      TTGAATGAAAATTTTCAGCACGGACACTT-CAGTCTACTGTGCGACATTTGTTTC-AGTAT      206

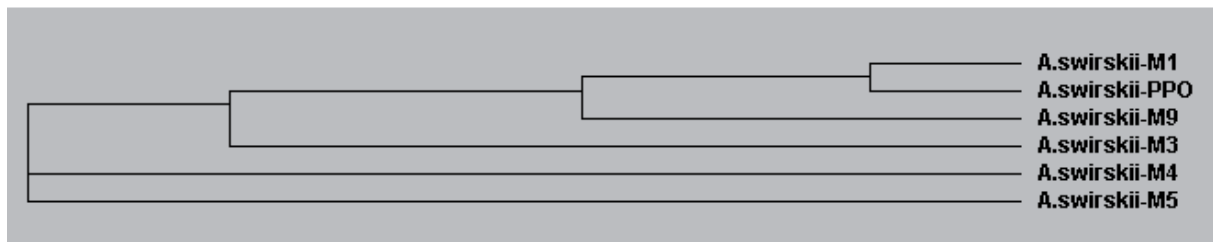
*****

```

A.swirskii-M4	ATAAACCGTATCATACGTATTCACCTTTGCAGCTAGCCCTCGTCGGAAATCGCCATGCAAC	300
A.swirskii-M5	ATAAACCGTATCATACGTATTCACCTTTGCAGCTAGCCCTCGTCGGAAATCGCCATGCAAC	291
A.swirskii-M3	ATAAACCGTATCATACGTATTCACCTTTGCAGCTAGCCCTCGTCGGAAATCGCCATGCAAC	299
A.swirskii-M1	ATAAACCGTATCATACGTATTTACCTTTGTGTC-AGCCCTCGTCGGATATCGCCATGCAA-	292
A.swirskii-PPO	ATAAACCGTATCATACGTATTTACCTTTGTGTC-AGCCCTCGTCGGATATCGCCATGCAA-	289
A.swirskii-M9	ATAAACCGAATCATACGTATTTACCTTTGTGTC-AGCCCTCGTCGGATATCGCCATGCAAC	265

A.swirskii-M4	TGGCATCAATCTCAGT--GGCACAAGAGTGAGCCAAAACAA	340
A.swirskii-M5	TGGCATCAATCTCAGT--GGCACAAGAGTGAGCCAAAACAA	331
A.swirskii-M3	TGGCATAAATCTCAGT--GGCACAAGAGTGAGCCAAAACAA	339
A.swirskii-M1	TGGTATAAATTCTCTT-GGTCACAAGAGTAA--CCAAAACAA	331
A.swirskii-PPO	TGGTATAAATTCTCTTTGGTCAACAAGAGTGATACAAAACAA	331
A.swirskii-M9	TGGTATCAATTCTCAT-GGGCACGAGAGTGATCCAAAACAA	306

Figuur 4. Alignment van partiële ITS sequenties van *A. swirskii* isolaat van PPO en verschillende *A. swirskii* isolaten uit Egypte (GenBank gegevens)



Figuur 5. Fylogenetische boom verkregen uit analyses van partiële ITS sequenties van *A. swirskii* isolaat van PPO en verschillende *A. swirskii* isolaten uit Egypte (GenBank gegevens)

