

ca' roos en een subtractie (SSH) bank van dit zelfde materiaal gesubtraheerd met niet geïnfecteerde binnenpetalen. Van de twee banken zijn gezamenlijk ruim 1800 clonen gesequenced. Na contig analyse konden de sequenties in 1300 unieke contigs gerangschikt worden wat betekent dat de redundantie in de banken niet hoog was. BlastX analyse resulteerde in ongeveer 70% betrouwbare homologie hits met sequenties aanwezig in de databank. Op basis van deze mogelijke functies zijn 1205 unieke ESTen geselecteerd om op een microarray te spotten waarbij sequenties die te maken hebben met DNA/RNA metabolisme en translatie niet geselecteerd zijn. Testhybridisaties hebben inmiddels uitgewezen dat de microarray van goede kwaliteit is.

De volgende stap is het hybridiseren van batches rozen die gesampled zijn op dag 1 (de dag dat ze bij de veiling afgeleverd zouden zijn) en die verschillen in ontwikkeling van *Botrytis* aantasting, waargenomen in uitbloeioproeven. Het afgelopen jaar zijn 25 batches 'Bianca' rozen geanalyseerd op het vóórkomen van *Botrytis*. Hiertoe worden de rozen afgesneden op veertig centimeter, in voedingsoplossing gezet en onder standaardcondities uitgebloeid. Tijdens de uitbloei werd het bloeistadium en de *Botrytis* aantasting gescoord. Er zijn geen kunstmatige besmettingen uitgevoerd, aantasting die gescoord wordt ontstaan dus van nature in het product. De resultaten gaven aan dat er mogelijk kleine telers- en seizoensinvloeden zijn die effect hebben op het vóórkomen van *Botrytis*.

Op basis van de *Botrytis* aantastinggegevens van dag 7 zijn alle geanalyseerde partijen rozen ingedeeld in verschillende kwaliteitsklassen. Meerdere monsters per kwaliteitsklasse zullen nu geanalyseerd worden met behulp van de microarray om indicatorgenen te identificeren die de kwaliteit kun-

nen voorspellen. Immers, de microarray analyses zullen uitgevoerd worden met materiaal van dag 1 waarin de verschillen in aantasting nog niet zichtbaar waren. De indicatorgenen die wij zoeken zijn dus geen genen van *Botrytis* zelf maar genen van de roos die gevoeligheid voor *Botrytis* verraden of genen die geïnduceerd worden in de roos door de eerste sporen van *Botrytis* die op het product geland zijn.

Self-protection of Botrytis against biocontrol agents

*Alexander Schouten,
Grady van den Berg,
Yaite Cuesta Arenas,
Olesya Maksimova and
Jos M. Raaijmakers*

*Laboratory of Phytopathology,
Wageningen University, P.O. Box 8025,
6700 EE Wageningen, The Netherlands,
E-mail: sander.schouten@wur.nl*

Antibiotics encompass a chemically heterogeneous group of organic, low-molecular weight compounds produced by microorganisms. At low concentrations, antibiotics are deleterious to the growth or metabolic activities of other microorganisms. In the past decades, numerous antibiotics have been isolated from various bacterial strains that are antagonistic to plant pathogenic fungi. Antibiotics are produced in plant-associated environments and play an important role in *in situ* interactions between antagonistic bacteria and plant pathogenic fungi. In the phyllosphere, antibiosis also plays a role in controlling fungal diseases, including "grey mould" caused by *Botrytis cinerea*. Its enormous host range and saprophytic and parasitic life style indicate that *B. cinerea* has the potential to cope with a variety of toxic compounds that are released by the host plants during colonization and infection. Recent

studies in our laboratory have shown that *B. cinerea* can also defend itself against antibiotics produced by antagonistic bacteria. Several *B. cinerea* isolates, obtained from different locations and host plants, were resistant to 2,4-diacetylphloroglucinol (2,4-DAPG) and phenazines, two structurally different antibiotics produced by strains of *Pseudomonas* bacteria. Biochemical analysis gene expression studie and targeted disruption of specific genes in *B. cinerea* showed that membrane-bound efflux pumps contribute to resistance to phenazines and 2,4-DAPG. In addition to this non-degradative resistance mechanism, studies with specific gene replacement mutants, induction assays and purified secreted proteins demonstrated that a laccase is involved in metabolizing the antibiotic and consequently also contributes to 2,4-DAPG resistance. It can therefore be concluded that the plant pathogenic fungus *B. cinerea* harbours multiple mechanisms to cope with antibiotic metabolites produced by antagonistic *Pseudomonas*.

Botrytis in bloembolgewassen: antagonististen in een geïntegreerde bestrijdingsstrategie

*Rik de Werd, Marjan de Boer,
Ineke Pennock en
Jan van der Bent*

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

Vuur, veroorzaakt door *Botrytis tulipae*, *B. elliptica* and *B. gladiolorum* kan opbrengstverliezen geven tot 80% in respectievelijk tulp, lelie en gladiool door vroegtijdige bovengrondse afsterving. Vuur kan bestreden worden met een combinatie van diverse maatregelen. Mogelijke bouwstenen van een