

Samenvattingen werkgroep bijdragen

Samenvattingen werkgroep *Fusarium* 2 maart 2005 in het CBS, Utrecht

Heterogeneity of Dutch *Fusarium oxysporum* strains isolated as forma specialis *radicis-lycopersici*

Validov S.Z.¹, Kamilova F.¹, Azarova T.S.², Qi S.¹ and Lugtenberg B.¹

¹ Institute Biology, Leiden University, Wassenaarseweg 64, 2333 AL Leiden
² Institute of Agricultural Microbiology, Russian Academy of Agricultural Sciences, Shosse Podbelskogo 3, Pushkin-6, St. Petersburg, 189620, Russian Federation

Vijftien *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl) stammen die voet-en wortelrot veroorzaken bij tomaat, geïsoleerd uit kassen in Nederland (14) en Rusland, zijn geanalyseerd op basis van de 18S-28S intergenic spacer region (IGS) en phenotypische karakteristieken. Vergelijking van IGS sequenties leverde vijf groepen op. De voor tomaat meest agressieve stammen kwamen verspreid voor in vier groepen, dus virulentie is geen eigenschap van een bepaalde groep. Stammen die gevoelig zijn voor phenazines en 2,4-diacetylphloroglucinol werden ook in verschillende groepen gevonden. Vergelijking van de IGS sequenties van Forl met sequenties aanwezig in Genbank van *Fusarium oxysporum* f. sp. *lyco-*

persici (Forl) en *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (Fom) leverde clusters op van Forl en Fom met Forl. Op basis van IGS sequentie kan de stam PD87/245 worden beschouwd als Fom. Er zijn aanwijzingen dat voet- en wortelrot symptomen bij tomaat veroorzaakt kunnen worden door vertegenwoordigers van andere formae speciales dan Forl.

Een proteomics benadering om eiwitten te identificeren die door *Fusarium oxysporum* worden uitgescheiden in xyleemsap van tomaat

Petra M. Houterman¹, Dave Speijer³, Henk L. Dekker², Ben J.C. Cornelissen¹ and Martijn Rep¹

¹Plant Pathology
²Mass Spectrometry, Swammerdam Institute for Life Sciences
³Medical Biochemistry, Academic Medical Center (AMC), University of Amsterdam

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* is een schimmel die verwelkingsziekte veroorzaakt

in tomaat. *Fusarium* dringt de plant binnen via de wortels en koloniseert vervolgens de plant via de xyleemvaten. Het is aanmerkelijk dat eiwitten die een belangrijke rol spelen in de interactie tussen plant en schimmel uitgescheiden worden in het xyleemsap.

We hebben daarom de eiwitten geanalyseerd die zich ophopen in xyleemsap van tomaat na infectie met *Fusarium oxysporum*. Deze eiwitten werden geïdentificeerd met behulp van een combinatie van tweedimensionale gel electroforese, peptide mass fingerprinting (MALDI-MS) en massaspectrometrische sequentiebepaling van peptiden (LC-MS/MS).

We hadden eerder al laten zien dat een aantal *pathogenesis-related* (PR) eiwitten van tomaat alswel het Six1 eiwit ('secreted in xylem 1') van *Fusarium* in xyleemsap ophopen na infectie. We rapporteren hier de identificatie van nog andere planteneiwitten en mogelijke schimmeleiwitten. Van tomaat hebben we een polygalacturonase (endoPG), een aantal peroxidases, een xyloglucaan-specifiek endoglucanase inhibitor eiwit (XEGIP) en een xyloglucaan endotransglycosylase (XET) geïdentificeerd. Verder werden een aantal peptidesequenties verkregen van nog onbekende eiwitten, mogelijk afkomstig van de schimmel. Met behulp van deze peptide-

sequenties kunnen we 'gedegenereerde PCR' gebruiken om de corresponderende DNA sequenties te identificeren.

Ontwikkeling en implementatie van een moleculaire toets voor in planta detectie van *Fusarium foetens*

Linda Kox¹, Ilse Heurneman¹,
Marjanne de Weerd²,
Gerard van Leeuwen¹,
Carolien Zijlstra²

¹Plantenziektenkundige Dienst,
Postbus 9102, 6700 HC Wageningen

²Plant Research International,
Postbus 16, 6700 AA Wageningen

Fusarium foetens is een nieuw pathogeen voor *Begonia elatior* planten. Deze schimmel is op grond van morfologie lastig te onderscheiden van *Fusarium* species die deel uitmaken van het zeer verwante *F. oxysporum* species complex (FOC). Met behulp van RAPD-fingerprinting (Schroers *et al.*, Mycologia 2004, 96: 393-406) is het mogelijk om *F. foetens* te onderscheiden van FOC. Nadeel van de methode is dat een reïncultuur van de schimmel nodig is, hetgeen een tot twee weken in beslag neemt. Wij hebben twee specifieke moleculaire toetsen ontwikkeld voor de directe detectie van *F. foetens in planta*: (1) een real-time (Taqman) PCR methode gebaseerd op mitochondriële small subunit (mtSSU) rDNA sequenties en (2) een conventionele PCR met het elongatiefactor (EF) -1 alpha gen als target. De specificiteit van beide methoden werd bepaald met zestien isolaten van *F. foetens*, 28 isolaten van FOC species, een isolaat van *F. begoniae* en 1 isolaat van *F.*

commune. Alle *F. foetens* isolaten werden aangetoond. Er werd geen kruisreactie gevonden met de andere *Fusarium* species. Beide methoden gaven positieve resultaten met blad, stengel en basis van geïnfecteerde *Begonia* planten. Sinds december 2004 wordt de Taqman PCR op de PD ingezet voor routinematige toetsing op de aanwezigheid van *F. foetens in planta*. Tot nu toe zijn er 21 monsters getoetst met de Taqman PCR. Vier monster bleken positief in de Taqman PCR. Deze vier monsters waren ook de enige waaruit *F. foetens* kon worden geïsoleerd middels kweek. RAPD analyse op de reïncultures bevestigde de aanwezigheid van *F. foetens* in het plantmateriaal. Onze conclusie is dat de Taqman PCR een snelle en betrouwbare methode is voor het direct aantonen van *F. foetens* in *Begonia*.

Cytogenetica van *Fusarium* soorten

Cees Waalwijk, Masatoki Taga
en Gert Kema.

Plant Research International,
Droevendaalsesteeg 1,
6708 PB Wageningen

Chromosomen van schimmels zijn zo klein dat klassieke cytologie, zoals die wordt gebruikt bij planten en dieren niet mogelijk is. Met behulp van de Germ Tube Burst Method (GTMB) is dit inmiddels wel mogelijk. De kiembuizen van net ontkiemde sporen van verschillende schimmelsoorten worden hierbij opgeblazen, waarna de specimen met een DNA kleuring worden zichtbaar gemaakt. Deze methode is toegepast op verschillende soorten uit het geslacht *Fusarium*. In *Fusarium graminearum* zijn vier chromosomen geïdentifi-

ceerd, een aantal dat overeenkomt met het aantal koppelingsgroepen in de genetische kaart en het aantal fragmenten van de fysische kaart (<http://www.broad.mit.edu/annotation/funqi/fusarium/maps.html>). Dit aantal is het kleinste dat tot op heden is gevonden in filamenteuze schimmels. Verwante soorten zoals *F. pseudograminearum* en *F. culmorum* hebben eveneens vier chromosomen. Daarentegen bestaat het genoom van minder verwante soorten, zoals *F. oxysporum*, pathogeen van meer dan honderd verschillende plantensoorten, en *F. verticillioïdes* en *F. proliferatum*, berucht om hun vermogen tot de productie van het mycotoxine fumonisine, steeds uit twaalf chromosomen. Dit aantal komt overeen met de waarnemingen voor deze soorten mbv Pulsed Field Gel Electrophoresis en de genetische kaart van *F. verticillioïdes*.

Samenvattingen werkgroep *Phytophthora* & *Pythium*

Bijeenkomst van 23 september 2004 te Merelbeke (B)

Monitoring van *Pythium* en *Phytophthora* in de glastuinbouw

Adriaan Vermunt

Groen Agro Control, Delfgauw

Groen Agro Control (GAC) is een servicelaboratorium en adviesbureau voor de agrarische sector. Voor de diagnose van plantenziekten maakt GAC onder andere gebruik van micro-