

Moleculaire identificatie en detectie van Europese en Amerikaanse *Phytophthora ramorum* isolaten

Peter Bonants, Els Verstappen, Laurens Kroon, Hans de Gruyter, Linda Kox, Kelly Ivors

Uitgangspunt

Het genus *Phytophthora* bevat momenteel meer dan 70 soorten en het aantal neemt verder toe door intensievere bemonstering. *P. ramorum*, een van de nieuwe soorten, wordt beschouwd als een hoog fyto-sanitair risico. In Europa komt de ziekte hoofdzakelijk voor op *Rhododendron*, *Viburnum* en *Camellia*, hoewel recentelijk ook in openbaar groen de ziekte is aangetroffen in geïnfecteerde bomen.

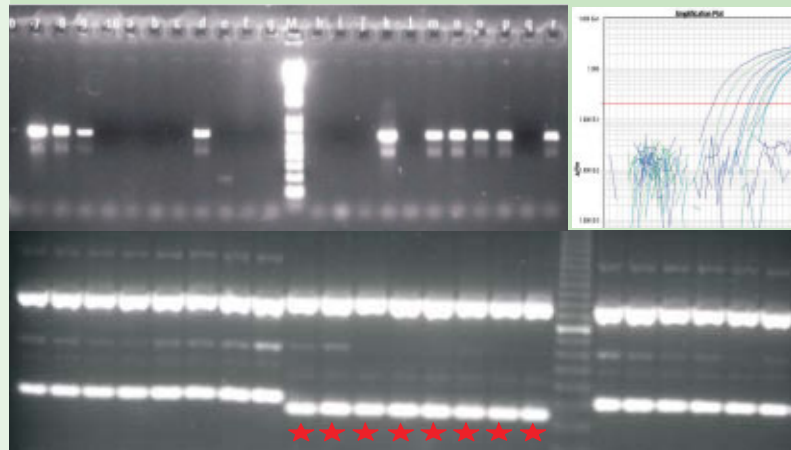
P. ramorum is een heterothallische soort en het is bekend dat er twee verschillende populaties bestaan: één in de VS (A2) en één in Europa (A1 mating type).

Maatregelen moeten worden genomen om verspreiding te voorkomen, alsmede de vermenging van beide types.

Onderzoek

De ontwikkeling van adequate identificatie- en detectiemethodes.

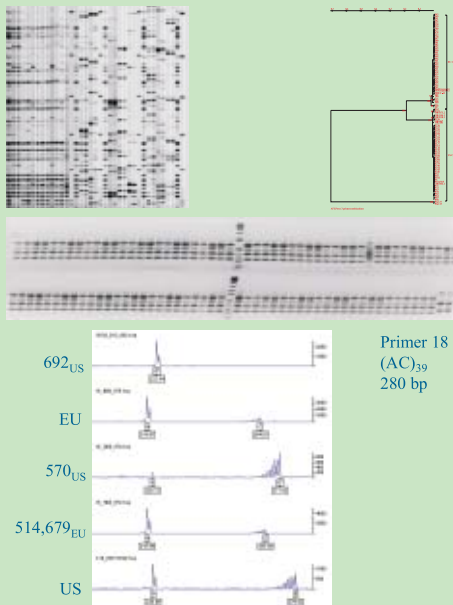
<i>P. ramorum</i> OakVS478	AGGTCAAATTCATTTTGGTT
<i>P. ramorum</i> OakVS479	AGGTCAAATTCATTTTGGTT
<i>P. ramorum</i> RhodEU233	AGGTCAAATCCATTTTGGTT
<i>P. ramorum</i> RhodEU98	AGGTCAAATCCATTTTGGTT
<i>P. ramorum</i> ViburEU474	AGGTCAAATCCATTTTGGTT



Figuur boven: Sequentieverschil van het Cox 1-gen voor een aantal EU en VS *P. ramorum* isolaten.

Figuur midden: ITS-PCR (links) op een aantal plantmonsters. TaqMan PCR amplificatie (rechts).

Figuur onder: -RFLP-patternen voor een aantal EU- en US- (*) isolaten van *P. ramorum*.



Figuur boven: AFLP-patternen van *P. ramorum* isolaten (links) en dendrogram (rechts).

Figuur midden: ISSR-patternen van EU- en US-isolaten van *P. ramorum*.

Figuur onder: Voorbeeld van SSR-profiel met primer 18 van diverse *P. ramorum* isolaten.

Resultaten

Enkele voorbeelden van de ontwikkelde methodes:

- AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism
- ISSR: Inter Simple Sequence Repeats
- Microsatellieten (SSR: Simple Sequence Repeats)
- Sequentie analyse van verschillende genen
- ITS-PCR en
- TaqMan PCR (real-time PCR)
- PCR-RFLP

De praktijk

Diverse moleculaire methodes zijn ontwikkeld om *Phytophthora ramorum* te identificeren en detecteren. Moleculaire verschillen tussen Europese en Amerikaanse isolaten van *P. ramorum* bestaan en kunnen met de beschikbare methodes worden gedemonstreerd.

Deze methodes geven de Plantenziektenkundige Dienst het benodigde gereedschap ter beheersing van dit pathogeen.