

Jaarverslagen van de KNPV-werkgroepen over 2014

Werkgroep Bodempathogenen en bodemmicrobiologie

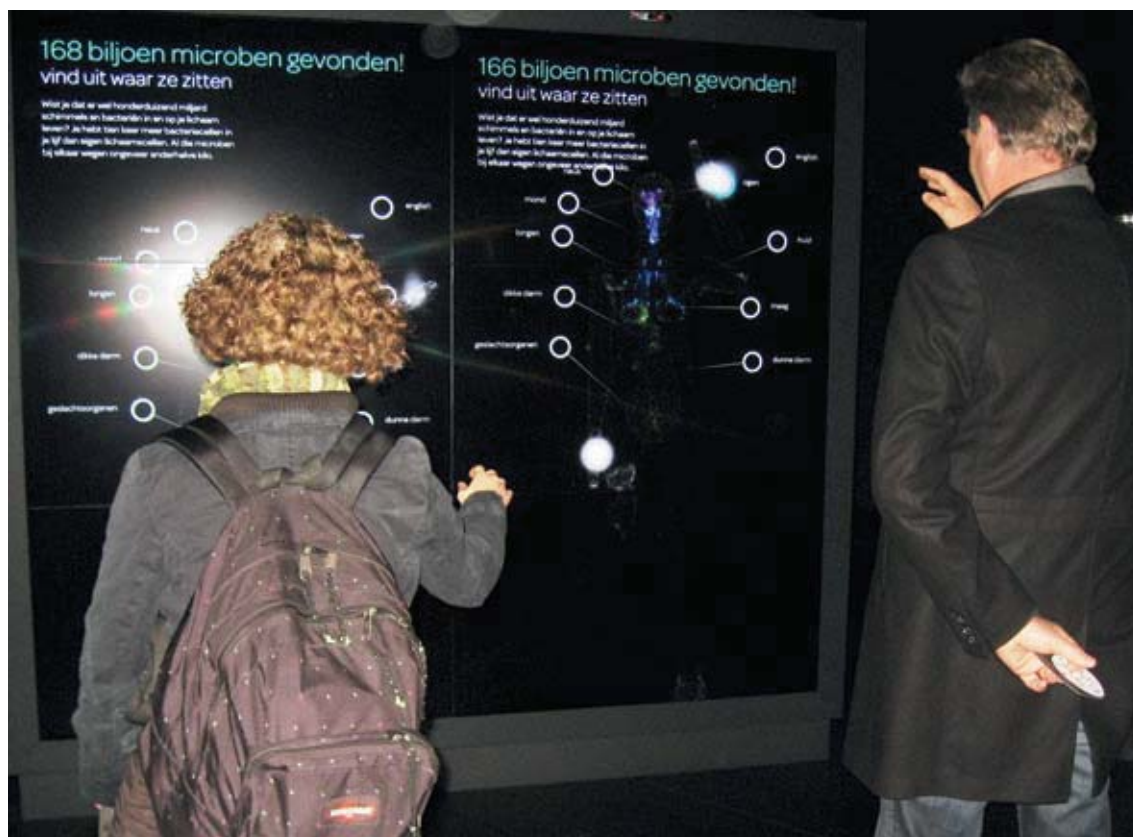
Bijna jarig en nu al feest

Gera van Os
Secretaris

Joeke Postma
Voorzitter

In 2014 zijn de 88^e en 89^e bijeenkomst gehouden van de werkgroep Bodempathogenen en bodemmicrobiologie. In dit jaar werd ook 's werelds eerste 'micro-zoo' geopend bij Artis. Dit was een uitgelezen gelegenheid om iets te vieren, zoals de (bijna) 90^e jubileumbijeenkomst en het 46-jarige bestaan van de werkgroep. De allereerste vergadering vond exact 46 jaar eerder plaats op 30 oktober 1968, en op 30 oktober 2014 werden de leden onthaald op een exclusieve bijeenkomst in het kersverse museum. In Gewasbescherming 45(6):181-182 hebben we uitgebreid verslag gedaan van het museum. De KNPV heeft financieel bijgedragen om dit mogelijk te maken. Waarvoor dank!

Het ledenaantal van de werkgroep in 2014 was 65; wederom een record voor de werkgroep. De 88^e bijeenkomst is gehouden op 27 maart 2014 gehouden bij PPO-AGV in Lelystad. En op 30 oktober 2014 was bovengenoemde, heugelijke 89^e bijeenkomst in Micropia, Amsterdam. De samenvattingen van de presentaties zijn gepubliceerd in resp. Gewasbescherming 45(4):120-121 en Gewasbescherming 45 (6):183-185.



Werkgroep Fusarium

Martijn Rep
Secretaris

De KNPV-werkgroep *Fusarium* is sterk gericht op internationaal wetenschappelijk onderzoek. Naast plantenziekte-veroorzakende *Fusarium*-soorten is er binnen de werkgroep ook aandacht voor humaan-pathogene *Fusarium*. De werkgroep bestaat uit ongeveer vijftig leden. In 2014 is de werkgroep op 29 oktober bij elkaar geweest op het Centraal Bureau voor Schimmelcultures in Utrecht. Samenvattingen van de presentaties zijn gepubliceerd in Gewasbescherming 46 (1): 14-18.

Werkgroep Oömyceten

Arthur de Cock
Secretaris

De werkgroep is in 2014 niet bijeen geweest. Het bestuur van de werkgroep is ongewijzigd: voorzitter Peter Bonants (PRI, Wageningen) en secretaris Arthur de Cock (CBS-KNAW, Utrecht). Momenteel staan 40 personen op de ledenlijst van de werkgroep.

Peter Bonants
Voorzitter

Werkgroep Nematoden

De nematodenwerkgroep in actie

Rolf Folkertsma
Secretaris

Afgelopen kalender jaar is de KNPV-werkgroep Nematoden tweemaal bijeengekomen: op 14 april 2014 op de Naktuinbouw-lokatie in Roelofarendsveen en op 21 november 2014 bij het IRS te Bergen op Zoom. Beide vergaderingen werden goed bezocht.

Tijdens de vergadering in april stonden de volgende presentaties op de agenda:

- Anton Grim (Naktuinbouw) gaf een introductie over geschiedenis en onderzoek bij de Naktuinbouw.
- Elma Raaijmakers (IRS) presenteerde werk aan de beheersing van wortelrot door stengelaaftjes in suikerbieten.
- Loes den Nijs (NVWA) gaf een presentatie over Internationale handel van 'Plants for planting': nematologisch een luilekkerland (test-presentatie voor bijeenkomst in Zuid Afrika later in 2014).
- Willemien Runia (PPO-Lelystad) zette in een presentatie de beheersingsmogelijkheden voor AM op een rij.
- Thomas Been (WUR) gaf twee presentaties; een over resistentiebepaling tegen plant-parasitaire nematoden en een over *Meloidogyne chitwoodi* en *Pratylenchus penetrans* in peen.
- Johnny Visser (PPO-Lelystad) tenslotte gaf een presentatie over de Optimalisatie, oorsprong en beheersing van *Meloidogyne chitwoodi*; introductie en vestiging.

Tijdens de vergadering in november stonden de volgende presentaties op de agenda:

- Elma Raaijmakers (IRS) gaf een introductie over de historie en het onderzoek van het IRS.
- Loes den Nijs (NVWA) gaf een presentatie over 'Alles wat je al wilde weten over 2008/61/EC, maar bang was te vragen' en later over Hoogte- (en diepte?)-punten van het nematologen-congres in Zuid-Afrika.
- Natasja Poot (Blgg) presenteerde diagnostisch werk over Stengelaaftjes in grondmonsters.
- Gera van Os (PPO-Lisse/CAH Dronten) gaf een presentatie over de effecten van diverse grondbehandelingen op de bestrijding van *Pratylenchus penetrans* en op de bodemweerbaarheid in duinzandgrond.
- Harm Keidel (Lios) deelde onderzoek betreffende de Beheersing van *Meloidogyne minor* in bouwplanverband.
- Willemien Runia (PPO-Lelystad) presenteerde werk aan de karakterisering van *Meloidogyne chitwoodi*-populaties in Nederland.
- Hans Helder (WUR) hield tenslotte een presentatie met de titel *Effects of biofumigation on target and non-target nematodes & soil sampling revisited: towards practically feasible & statistically sound examination of nematodes communities*.

De presentaties leidden tot een levendige discussie. Na de presentaties zijn korte rondleidingen verzorgd in de onderzoeksfaciliteiten van Naktuinbouw en het IRS waar plantenziektekundige activiteiten plaatsvinden. Daarna keerde de groep huiswaarts.

Omdat ook voor 2015 het aantal aanmeldingen voor presentaties groot was is wederom besloten in 2015 zowel een voor- als najaarsvergadering te plannen. De datum voor de voorjaarsvergadering is 17 april 2015 bij het PPO in Lelystad. Voor meer informatie:

Leendert Molendijk (voorzitter); e-mail: leendert.molendijk@wur.nl
Rolf Folkertsma (secretaris); e-mail: rolf.folkertsma@monsanto.com

Erwin Mol
Secretaris

Werkgroep Onkruidbeheersing

KNPV-werkgroep Onkruidbeheersing is de nieuwe naam van de voormalige sub-werkgroep Onkruidbestrijding, die onderdeel was van de overkoepelende werkgroep Onkruidkunde. De werkgroep onkruidkunde is nu opgeheven en de sub-werkgroepen herbicidenresistentie en onkruidbestrijding gaan nu verder als zelfstandige KNPV werkgroepen.

Afgelopen jaar hebben we een inventarisatie gehouden onder de leden of ze bij de werkgroep willen blijven. Veel leden hebben aangegeven niets meer te doen met onkruidbeheersing, waardoor we van ongeveer 30 leden naar 18 leden zijn gegaan. De meeste leden van de werkgroep zijn gelinkt aan de Wageningen UR. De andere leden werken voor de NVWA, IRS, Universiteit van Gent en een onderzoeksinstantie uit België.

Afgelopen jaar is er op 30 juni een bijeenkomst geweest in Wageningen. Er waren 8 leden aanwezig. Tijdens deze bijeenkomst is er veel informatie en kennis uitgewisseld op het gebied van onkruiden en de bestrijding hiervan. Een belangrijk punt op de agenda was een discussie over het voortbestaan van onze werkgroep. De reden hiervoor is dat in de loop der jaren de werkgroep kleiner en minder actief is geworden.

Belangrijke punten die tijdens de discussie naar voren kwamen:

- Een doel van de werkgroep blijft het informeren van elkaar over het vakgebied.
- We zouden meer willen gaan doen aan promotie, PR, acquisitie, enz.
- De werkgroep is belangrijk voor ons netwerk.
- In de toekomst moeten we proberen om meer naar buiten te treden, bijv. door het organiseren van themadagen.
- Onkruidbeheersing is helaas niet zo populair, omdat het een chronisch probleem is.
- Als werkgroep kunnen we in de toekomst meer gaan samenwerken bij het maken van effectieve projectvoorstellen.
- Verbreding van de werkgroep met personen van buiten de landbouw, van andere onderzoeksinstellingen, uit de voorlichting, enz. Voorwaarde van verbreding is wel dat de nieuwe personen ook iets komen brengen.

We hebben ook een aantal afspraken gemaakt:

- Onze werkgroep wordt in ieder geval niet opgeheven.
- Onze voorzitter Corné Kempenaar gaat met het KNPV-bestuur de mogelijkheden bespreken over een onkruidsessie op de KNPV-dag.
- We gaan onderzoeken of we meer samen kunnen gaan werken met de KNPV-werkgroep herbicidenresistentie.
- We willen in 2015 weer een vergadering organiseren, waarbij we ons breder open zullen gaan stellen; ook voor niet leden.
- Toekomst van de werkgroep komt in 2015 weer terug op de agenda van de vergadering.

Werkgroepen middelenresistentie

De KNPV heeft momenteel drie werkgroepen op het gebied van resistentie:

Afgelopen jaar is de werkgroep Insecticidenresistentie toegetreden tot de KNPV. Deze werkgroep is opgericht in 2007 en heeft ongeveer dertig leden. Voorzitter van deze werkgroep is Guy Smagghe van de Universiteit van Gent en secretaris is Claudia Jilesen van de NVWA.

Tevens is afgelopen jaar de werkgroep Fungicidenresistentie toegetreden tot de KNPV. Deze werkgroep is opgericht in 2004 en heeft ongeveer twintig leden. Voorzitter van deze werkgroep is Huub Schepers van Wageningen UR en secretaris is Dorin Poelmans van de NVWA.

Erwin Mol
Secretaris werkgroep
herbicidenresistentie

De werkgroep herbicidenresistentie heeft ongeveer 25 leden en viel al onder de vlag van de KNPV. Deze werkgroep was voorheen een onderdeel van de werkgroep onkruidkunde, maar gaat vanaf dit jaar zelfstandig verder. Voorzitter van deze werkgroep is Bernard Weickmans van de CRA-W te Gembloux en secretaris is Erwin Mol van de NVWA.

Ongeveer de helft van de leden van deze werkgroepen is gelinkt aan de industrie. De andere helft bestaat met name uit vertegenwoordigers vanuit het onderzoek, de voorlichting en de overheden uit zowel Nederland als België. Doelen van deze werkgroepen zijn onder andere het uitwisselen van kennis, het onderhouden van een goed netwerk, resistentie op de kaart zetten en het eventueel delen en oplossen van problemen op het gebied van resistentie. Afgelopen jaar zijn er geen bijeenkomsten geweest en er staan vooralsnog geen bijeenkomsten gepland voor 2015.

Werkgroep gewasbescherming en Maatschappelijk Debat

Door de werkgroep

De KNPV-werkgroep Gewasbescherming en Maatschappelijk Debat verschilt van andere werkgroepen, omdat ze niet bijeen komen rondom een onderwerp, maar discussie onder alle KNPV-leden willen stimuleren. In 2014 is dit vormgegeven door het faciliteren van regelmatige blogs op de verenigingswebsite. Een bloemlezing daarvan is gepubliceerd in het verenigingsblad. Een groot project van de werkgroep was de organisatie van de KNPV-voorjaarsbijeenkomst 'Gewasbescherming en omwonenden – wie of wat bepaalt?'. Deze middag, die de opzet had van een Lagerhuisdiscussie werd geleid door Felix Rottenberg. Van dit debat is uitgebreid verslag gedaan in Gewasbescherming.

Werkgroep Jongeren

*Kees Westerdijk
Namens de werkgroep*

In Nederland zijn veel studenten die zich interesseren voor plantgezondheid, maar elkaar op dat vakgebied eigenlijk nooit ontmoeten. Om deze ontmoeting mogelijk te maken werd op 21 mei het *Crossing Borders Event* georganiseerd, voorafgaand aan de KNPV-voorjaarsvergadering. Studenten van verschillende opleidingen, zowel HBO als Universitair, werden uitgenodigd om elkaar te ontmoeten om te netwerken en te discussiëren.

Tijdens deze bijeenkomst presenteerde Piet Boonekamp de KNPV en werd een aantal stellingen bediscussieerd door de studenten in gemengde groepen van CAH, HAS en WUR. Het was een levendige middag waarin duidelijk werd dat verschillende invalshoeken vanuit zowel theorie als praktijk nodig zijn om problemen op gebied van plantenziekten op te kunnen lossen. Wageningse student: "Landbouw zou de landschapsdiversiteit moeten verhogen, zodat planten in een diverse omgeving staan waardoor ziekten door natuurlijke vijanden worden geweerd." CAH-student: "Maar de boer moet uiteindelijk ook kunnen verdienen aan z'n grond." In de namiddag werden de studenten naar de voorjaarsbijeenkomst van de KNPV gebracht, waar verder gediscussieerd werd over Gewasbescherming en Omwonenden.

Werkgroep Fytobacteriologie

*Leo van Overbeek
Voorzitter*

Binnen het KNPV-werkgroep Fytobacteriologie-overleg worden uiteenlopende zaken besproken over de rol van bacteriën die leven in associatie met planten. De meest besproken groep blijft die van de plant-pathogene bacteriën, maar ook bacteriegroepen die een 'positieve' interactie met planten aangaan krijgen aandacht, zoals endofyten. Onder 'positieve' interacties wordt verstaan plantengroei-stimulatie, onderdrukking van plantenpathogenen en het verminderen van stress. Bacteriën in en rondom planten hebben dus uiteenlopende relaties met planten, maar ook met elkaar en mogelijk met andere micro-organismen in planten, zoals schimmels en oömyceten. We verwachten dat door de komst van nieuwe

*Jan van der Wolf
Secretaris*

technologieën, waaronder *'next generation sequencing'*, de kennis van deze interacties sterk zal toenemen. Tijdens onze bijeenkomsten wordt dan ook rekening gehouden met de laatste ontwikkelingen op dit gebied en in 2014 is er een speciaal thema geweest over 'Toepassing van next generation sequencing in de bacteriologie'. Voor de aankomende bijeenkomst op 2 september 2015 is als thema gekozen 'Onderscheid tussen levende en dode bacteriën'.

Bijeenkomsten worden twee keer per jaar gehouden waarbij er een algemene bijeenkomst wordt afgewisseld met een bijeenkomst rondom een speciaal thema. De opkomst is groot (minimaal 20 – 30 personen) en de herkomst van de deelnemers is loopt uiteen van bedrijfsleven, keuringsdiensten, onderzoeksinstituten tot universiteiten. De diversiteit in de samenstelling van de deelnemers is een uniek kenmerk voor onze werkgroep. Er is altijd een uitwisseling van kennis uit het fundamenteel en toegepaste onderzoek, en kennis en ervaringen vanuit de praktijk, iets wat goed past in de huidige tijdsbestek van topsectoren. De werkgroep is opgezet door Jos Raaijmakers (WUR, nu NIOO) en Joop van Doorn (PPO-Lisse, nu ENZA) en meer dan een jaar geleden is het bestuur overgenomen door Leo van Overbeek (WUR) en Jan van der Wolf (WUR). De opzet van de werkgroep is na de bestuurswisseling hetzelfde gebleven, maar het huidige bestuur vindt het belangrijk om discussies tussen werkgroepleden te vergroten. Het blijft tenslotte een werkgroep. Eén van de ideeën is om tijdens de algemene vergadering iedere deelnemer 5 tot 10 minuten de gelegenheid te geven om een presentatie te geven over hun huidige werkzaamheden. Dat kan gaan over onderzoek, maar kan ook over nieuwe technieken of over opkomende ziekten. Presentaties zijn dus geen afgeronde studies, maar betreffen de actuele zaken die betrekking hebben op het thema fyto bacteriologie. De structuur van jaarlijkse themavergaderingen blijft ongewijzigd met een introductie door een uitgenodigde specialist, aangevuld met presentaties door de werkgroep leden. Speciale thema's worden gekozen in overleg met de werkgroepleden.

De werkgroep fyto bacteriologie is dus een dynamische werkgroep waarbij onderwerpen van uiteenlopende aard worden besproken. Omdat de deelnemers afkomstig zijn uit bedrijven, keuringsdiensten en instituten zijn interesses en belangen verschillend waardoor discussies boeiend zijn. Binnen de werkgroep fyto bacteriologie is er sprake van raakvlakken tussen onderzoek, overheid en bedrijfsleven. Onze ambitie is om deze interacties te koesteren en uit te bouwen naar internationale samenwerking bijvoorbeeld door overleg met vergelijkbare werkgroepen in de Duitstalige regio en België.

Verlag van de halfjaarlijkse bijeenkomst van de werkgroep Fytobacteriologie op 3 september 2014 bij de Naktuinbouw

Deze halfjaarlijkse bijeenkomst werd dit keer gehouden met een speciaal thema: 'De weg van genomics in de fyto bacteriologie'. Wij zijn ontvangen door de Naktuinbouw en we bedanken onze gastheren voor hun ontvangst. De werkgroep heette twee nieuwe leden welkom in haar midden: Ruud Barnhoorn en Ricardo Coevoets, beiden van Monsanto.

Door de snelle ontwikkelingen van de moderne *'high throughput DNA sequencing'* -technologieën worden de vakgebieden genomics en metagenomics steeds interessanter voor de fyto bacteriologie. Er zijn daar nog wel vragen over, zoals: wegen kosten op tegen de baten, en voor welk type vraagstukken zijn deze vakgebieden het meest geschikt? Dit soort vragen proberen we te beantwoorden tijdens deze werkgroep-bijeenkomst.

Theo van der Lee (WUR) was de eerste spreker die aan bod kwam. In zijn verhaal werd het belang van op DNA of RNA gebaseerde identificatiemethoden in de fytopathologie onderstreept. Karakterisering en identificatie van plantenpathogenen werd voor het eerst uitgevoerd met behulp van anonieme sequenties, vervolgens met geselecteerd barcode-genen en nu steeds vaker met een multi-locus sequentie-analyse (MLSA). De ontwikkeling van nieuwe methoden om DNA-sequenties te bepalen maakt het mogelijk om snel en kosteneffectief de sequentie van complete genomen te bepalen. Waar de eerste generatie *sequencing*-methodieken (Sanger sequentie-analyses) PCR-amplicons kon analyseren, kunnen met *Next Generation Sequencing* (NGS), en met name de Illumina-sequencing, zeer efficiënt miljoenen sequenties van kleine fragmenten worden gegenereerd in een hoge kwaliteit tegen een

lage kostprijs. De derde generatie sequencing-methoden (zoals met de PacBio) maken het mogelijk de sequentie te bepalen van een enkel molecuul. Dit werkt real-time en is dus erg snel en biedt de mogelijk lange fragmenten te sequencen, maar wel met een hoger foutenpercentage. Van der Lee: “We hebben alle drie benaderingen voor vergelijkingen van bacteriële-isolaten toegepast. Hierbij konden we met succes NGS gebruiken voor het verkrijgen van een volledige genomesequentie. We hebben geautomatiseerde pijpleidingen voor genomassemblage en genomvergelijkingen getest en verfijnd. Daarnaast ontwikkelden we specifieke pijpleidingen om NGS-data te gebruiken voor de identificatie van soorten, identificatie van unieke merkers voor ‘*track and trace*’, beoordeling van diversiteit en identificatie van functioneel polymorfisme, *in silico* TaqMan-analyses en *in silico* SSR-genotypering. De identificatie van soorten lijkt triviaal als een volledige genomesequentie beschikbaar is. Echter, zoals eerder bij het uitvoeren van multi-locus sequentie-analyse werd waargenomen, kunnen verschillende regio's tegenstrijdige antwoorden geven over de identiteit van een stam. Fylogenetische bomen tonen vaak ‘*discordance*’ voor de verschillende *loci*. Voor robuuste analyse geeft een volledige genomesequenties een uitgebreider overzicht en we gebruiken deze strategie om gevallen waar de identificatie werd betwist, beter uit te zoeken. Daarnaast is het belangrijk te melden dat fylogenetische relaties niet altijd te vertalen zijn in pathogeniteit. Nauw verwante soorten kunnen sterk verschillen in de fytopathologie.” Naast fylogenetische markers, zijn functionele merkers vereist voor de juiste karakterisering en identificatie van plantenpathogenen. Dit is nog steeds een enorme opgave omdat de functie van veel genen in de pathogenese nog niet bekend is. Dit vereist een verdere analyse van genen waarbij ze één voor één uitgeschakeld worden en aan een functie-onderzoek worden onderworpen. Ook hier kan NGS een belangrijk hulpmiddel zijn omdat het helpt om snel geschikte kandidaatgenen te vinden. Bijvoorbeeld in gebieden in het genoom die specifiek zijn voor plantenpathogenen, of genen die coderen voor eiwitten die op basis van hun verwachte functie betrokken zijn in het proces van infectie.

De volgende presentatie was een duo-presentatie door Jessica Oosterhoff (RijkZwaan) en Margreet Asma (Bejo). Zij presenteerden een alternatieve Fingerprinting-methode voor *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) in kool.

Fingerprinting (typering) van bacteriën binnen een soort kan worden toegepast om onderzoek te doen naar de genetische diversiteit, geografische verspreiding en epidemiologie. Daarnaast kan fingerprinting worden gebruikt bij klachtenonderzoek ('*tracking and tracing*'). De huidige AFLP-techniek voor typering van Xcc heeft als nadeel dat reproduceren van data moeilijk is, de kosten hoog zijn en de techniek bewerkelijk is en dus moeilijk te implementeren.

Voor een alternatieve methode zijn Rijk Zwaan en Bejo Zaden gezamenlijk op zoek gegaan naar SNP's (*Single Nucleotide Polymorphism*) die de variatie binnen de soort vertegenwoordigen. Om deze SNP's te vinden, is van 21 Xcc- en Xcr-isolaten, die op basis van AFLP een grote variatie bestrijken, de sequentie bepaald. Tussen de 21 isolaten bleek 2,6% van de baseparen te variëren (=133.709 bp op 5,14MBp). Er werden 147 SNP's geselecteerd die de variatie vertegenwoordigden binnen het hele genoom, en vervolgens geïmplementeerd in een KASP-assay.

Bejo Zaden en Rijk Zwaan hebben beide een isolaten-collectie van honderden isolaten getest. Zowel Bejo Zaden als Rijk Zwaan toonde een grote correlatie aan tussen de AFLP en de nieuwe KASP-resultaten. Uit de resultaten blijkt een grote genetische diversiteit. Op met Xcc besmette zaadpartijen kunnen isolaten voorkomen uit verschillende SNP clusters. Verder lijkt het erop dat Xcc-isolaten afkomstig van inwendige zaadbesmettingen niet clusteren. Kruisbesmetting in een 'grow-out' kan eenvoudig en snel worden getraceerd. Fingerprinting op basis van SNP typering is een alternatief voor AFLP-typering. In de toekomst zal moeten blijken of de geselecteerde SNP's daadwerkelijk voldoende variatie weergeven of dat aanvullende SNP's nodig zullen zijn.

Daarna was de tweede duo presentatie door Debby Beugelsdijk (Enza Zaden) en Hedwich



V-vormige chlorotische en necrotische lesie op koolblad, een typisch symptoom van *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Foto: David B. Langston - USDA Forest Service, Bron Wikipedia/Forestry Images, CC BY 3.0.

Teunissen (Naktuinbouw) over 'next generation sequencing' van *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm).

Cmm is een ziekteverwekkende bacterie in tomaat, met een quarantainestatus in de Europese Unie en in veel andere landen. Uit analyses is gebleken dat de genetische diversiteit tussen de verschillende stammen van Cmm heel groot is. Door het bepalen van de sequentie van het volledige genoom met behulp van 'next generation sequencing' van zowel stammen van *Clavibacter* als bacteriën die verwant zijn en/of heel veel op Cmm lijken (de zogenaamde 'look-alikes') is het mogelijk om DNA-sequenties te ontdekken die specifiek zijn voor de ziekteverwekker. Met deze Cmm-specifieke DNA-sequenties is het mogelijk toetsprotocollen voor detectie van Cmm in zaad verder te verbeteren. Dit gaat met name om een onderdeel uit het protocol waarbij de PCR-techniek gebruikt wordt.

De een na laatste presentatie was van Sebastiano Nigris, Italiaanse gastmedewerker bij WUR. Sebastiano gaf een overzicht over het effect van introductie van plantengroei-bevorderende stammen op de endofytische samenstelling van tomatenplanten. Zijn werk was nog niet afgerond, maar het is zijn bedoeling om het effect op de samenstelling van endofytische levensgemeenschappen te bepalen met behulp van een 'high throughput sequencing' technologie.

Deze zogenaamde metagenomische aanpak moet het mogelijk maken om veranderingen op taxonomisch familie of zelfs geslacht niveau te kunnen meten. De eerste aanwijzingen dat introductie van de groeibevorderende stammen een effect hadden op de endofytische levensgemeenschap van tomaat heeft hij aangetoond met behulp van een moleculaire fingerprinting-techniek (PCR-DGGE). Deze techniek is helaas te beperkt in het identificeren van de verschillende taxonomische groepen die leven als endofyten in tomatenplanten.

Hekken sluitert van de dag was Leo van Overbeek (WUR). In zijn presentatie gaf Leo een overzicht van methoden om nog niet gekweekte bacterie-soorten uit grond toch te kunnen kweken.

Metagenomica is een goede techniek om ecosystemen te kunnen screenen op soorten, maar daarmee zijn nieuwe soorten nog niet opgekweekt. De combinatie van nieuwe kweekmethoden met metagenomica brengt het onderzoek naar nieuwe soorten in de bodem een stap verder. Via deze aanpak zijn er twee nieuwe groepen van met planten geassocieerde bacteriën geïsoleerd en gekarakteriseerd. Een groep behoorde tot de groep van Acidobacteria en de ander tot de groep van Verrucomicrobia. Beide groepen staan er bekend om dat ze moeilijk kweekbaar zijn. Verder onderzoek zal moeten uitwijzen wat de exacte rol van de soorten is in hun associatie met planten.

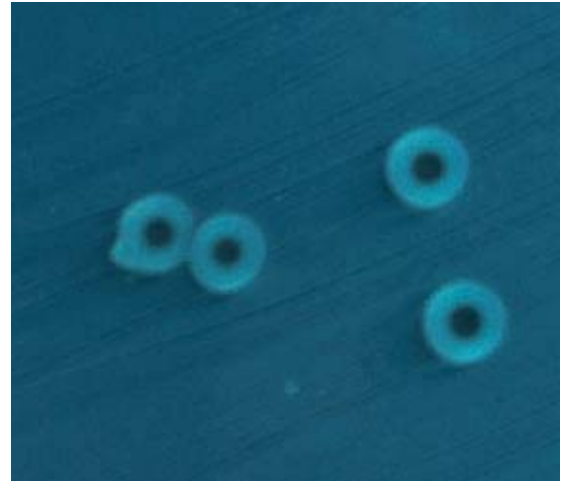
Verlag van de halfjaarlijkse bijeenkomst van de werkgroep Fytobacteriologie op 6 maart 2015 bij Enza zaden

Het laatste algemene werkgroepoverleg was 6 maart jongstleden, gehouden bij Enza zaden *seed operations* te Enkhuizen. De sprekers van die dag, Maria Bergsma-Vlami en Leon Tjou-Tam-sin (beiden NVWA), Gerbert Hiddink (Enza zaden), Reindert Nijland (WUR laboratorium voor fytopathologie), en Leo van Overbeek (WUR, Plant Research International) gaven uiteenlopende presentaties over plant-pathogene bacteriën (*Candidatus Liberibacter solanacearum* en *Xylella fastidiosa*), endofyten en humaan pathogenen in planten.

Uitbraken van *Candidatus Liberibacter solanacearum* en Zebra chip zijn de afgelopen twee decennia gemeld in Midden- en Noord-Amerika en Nieuw-Zeeland. Recentelijk (2010) werd *Candidatus Liberibacter solanacearum* aangetroffen in Europa in wortel (*Daucus carota*) en selderij (*Apium graveolens*). Insecten (psylliden) zijn als vectoren verantwoordelijk voor de overdracht van *Candidatus Liberibacter solanacearum* naar gezonde planten. Indeling van *Candidatus Liberibacter solanacearum* in vijf verschillende haplotypen vindt plaats op basis van gastheer. Bij de NVWA worden door Leon Tjou-Tam-sin gevoelige kwantitatieve testen ontwikkeld op basis van haplotype om aanwezigheid en dichtheid van het pathogeen in vegetatieve plantendelen te kunnen meten. Recentelijke meldingen van overdracht van *Candidatus Liberibacter solanacearum* via wortelzaad naar wortelplanten werd gemeld in de literatuur en was aanleiding tot ontwikkeling van zaadtesten bij Enza zaden door Gerbert Hiddink. Echter, de melding was eenmalig en niet reproduceerbaar wat leidde tot discussie tussen werkgroepleden over het



EM-opnamen van *Xylella fastidiosa* in de xyleemvaten van koffie. Bron: Wikipedia/PaDIL, Australië; CC 3.0.



Kolonies van *Salmonella enterica* op agar.

belang voor het bedrijfsleven van reproduceerbaarheid van experimenten beschreven in de wetenschappelijke literatuur.

De grote uitbraak van *Xylella fastidiosa* in olijfbomen in Zuid Italië die aanleiding gaf tot een EU-noodmaatregel waarbij lidstaten verplicht zijn om een jaarlijkse survey uit te voeren is beschreven door Maria Bergsma-Vlami van de NVWA. In Nederland leidde dit tot onderschepping van *Coffea* sp. sierplanten uit Costa Rica en Honduras die waren besmet met *X. fastidiosa*.

Interacties tussen plantpathogenen en het plantenmicrobioom wordt onderzocht door Reindert Nijland van het WU laboratorium fytopathologie. Meer dan 120 bacterie-isolaten, geïsoleerd uit stengels en bladeren van tomatenplanten na oppervlakteresterilisatie, zogenaamde endofyten, werden getest op onderdrukkend vermogen van plant-pathogene bacteriën, schimmels en oömyceten. Ongeveer de helft van de verkregen endofyten vertoonde onderdrukkende eigenschappen. Meer dan 75% behoorde tot de groep van Gram-positieve bacteriën. Kennelijk spelen Gram-positieve bacteriën een belangrijke rol in het plantenmicrobioom, en de ziektemechanismen van Gram-positieve pathogene bacteriën, zoals *Clavibacter michiganensis* subspecies *michiganensis*, worden onderzocht. De centrale vragen over de rol van biofilmvorming en *quorum sensing* in planten zal het antwoord moeten geven over de vraag wat een bacterie tot een succesvolle endofyt maakt.

Overdracht van humaan pathogenen behorend tot de taxonomische klasse van *Enterobacteriaceae*, waaronder *Escherichia coli* (ehc) en *Salmonella enterica*, tussen dierlijke en plantaardige productiesystemen wordt onderzocht door Leo van Overbeek van Plant Research International. Verondersteld wordt het bestaan van een cyclus waarbij humaan pathogenen via veevoeding in dierlijke productieketens terecht komen en vandaar via mest weer terug in plantaardige productieketens. Om dit aan te tonen werd er een veeteelt-bedrijf geselecteerd waar mest vanuit een mestkalverenstal in weidegrond werd geïnjecteerd. In de wei liepen ten tijde van het onderzoek pinken, en in samenwerking met andere DLO-instituten waaronder Centraal Veterinair Instituut Lelystad, Food en Biobased Research Wageningen en Bomen, Bollen, Fruit Lisse werden grond-, gras- en mestmonsters geanalyseerd op aanwezigheid van *E. coli* en *S. enterica* en hun resistentie- en virulentiegenen. *E. coli* isolaten met virulentiegenen typisch voor ehc (*stx2* en *hly*) zijn aangetroffen in gras. Dit onderzoek loopt nog tot het einde van dit jaar.

Werkgroep Graanziekten

Theo van der Lee
Secretaris

De werkgroep graanziekten is op 13 maart 2014 bij elkaar geweest voor wetenschappelijke presentaties en een gezamenlijke lunch.