

## Werkgroep Graanziekten

Theo van der Lee

Er zijn in 2012 geen activiteiten geweest. Theo van der Lee van PRI Biointeracties en Plantgezondheid

heeft de rol van werkgroepsecretaris overgenomen van Huub Schepers.

secretaris

## Werkgroep Fytobacteriologie

### Activiteiten 2012 – 2013

Jos Raaijmakers

Deze KNPV-werkgroep heeft plantenpathogene bacteriën als onderwerp. De leden komen zowel uit het fundamentele als het toegepaste onderzoek bij universiteiten, overheid, bedrijfsleven, en keuringsdiensten.

voorzitter

Joop van Doorn

### Bijeenkomst 2012

Het thema voor de bijeenkomst op 22 maart 2012 bij de NVWA te Utrecht was 'Emerging bacterial diseases: epidemiology and diagnostics'. Dit is een terugkerend thema aangezien oude en nieuwe bacterieziekten telkens weer opduiken.

Gastvrouw Maria Bergsma-Vlami verwelkomde negentien deelnemers en informeerde de aanwezigen over de organisatie en missie van de NVWA. Belangrijk aandachtspunt voor de toekomst is de koppeling tussen microbiologisch/bacteriologisch onderzoek aan plant-dier-mens. Maria gaf tevens een overzicht van het NVWA onderzoek aan *Dickeya* in oppervlaktewater in Nederland. Hierbij worden diverse technieken gebruikt waaronder een nieuw semi-selectief medium gekoppeld aan vetzuuranalyse en PCR met soortspecifieke primers. In het oppervlaktewater dat bemonsterd was werden zowel *Pectobacterium* als *Dickeya*-soorten aangetroffen, soms wel in dichtheden van 5000 CFU per ml. Chiel Pel, promovendus aan de Universiteit Utrecht, gaf een interessante presentatie over hoe plantenpathogene bacteriën herkenning door de waardplant proberen te omzeilen. Zijn onderzoek laat zien dat door uitscheiding van een specifiek enzym (AprA) het flagelline afbreekt en dat de bacterie daardoor buiten het bereik van de radar blijft. Zijn werk spitst zich nu toe op het blokkeren van dit enzym zodat de plant zijn afweermechanismen kan activeren om infectie te voorkomen.

Leon Tjou-tam-sin van het NVWA verzorgde een korte update van zijn onderzoek aan Candidatus Liberibacter, een groot probleem met name in Spanje maar ook in de wortelteelt in zuid Zweden en Noorwegen. Beheersing van de insectvectoren is essentieel in het tegengaan van deze ziekte. Na de lunch vergastte Leo van Overbeek (PRI) de leden op een overzichtsverhaal betreffende de ziekte van Lyme die veroorzaakt wordt door *Borrelia*,

een bacterie behorende tot de Spirocheten. Deze bacterie wordt overgedragen door teken, met name de nymfen, die parasiteren op knaagdieren. Het onderzoek richt zich o.a. op de effecten die vegetatie en fauna kunnen hebben op de verspreiding van de bacterie. Er blijkt een sterke correlatie te zijn tussen het percentage besmette teken en oorinfecties van de bosmuis.

Harrie Koenraadt (NAK Tuinbouw) gaf een overzichtsverhaal over de diagnostiek, epidemiologie en diversiteit van *Acidovorax citrulli*, de veroorzaker van 'bacterial fruit blotch' op met name meloen, watermeloen en andere cucurbitaceeën. In samenwerking met Turkije en diverse zaadbedrijven werkt de NAK momenteel aan het karteren van de genetische diversiteit en optimalisatie van detectie.

Tot slot presenteerde Jan van der Wolf (PRI) een paper over de rol van maaien en beregening op de verspreiding van *Xanthomonas fragariae* in een aardbeigewas. Jan toonde met zijn onderzoek aan dat beide factoren hierbij belangrijk zijn en dat *Xanthomonas* hoge dichtheden op het aardbei-blad (> 10E6 CFU/g) kan bereiken.

De datum voor de volgende meeting werd vastgelegd op donderdag 21 maart 2013.

### Bijeenkomst 2013

Deze bijeenkomst had als thema zaadgebonden pathogenen: diversiteit, detectie en beheersing. Dit onderwerp wist 28 onderzoekers te trekken, afkomstig van zaadbedrijven, keuringsdiensten, NVWA en universiteiten, met speciale vermelding van onze Belgische collega's van het ILVO en KUL. De locatie was in De Lier bij Rijk Zwaan, met als gastvrouw Jessica Oosterhof.

Na enig oponthoud door file-leed trapte Jan van der Wolf (PRI) af met de toepassing van GFP-gelabelde *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) voor onderzoek naar besmetting in tomatenzaad. Enkele dagen na zaadinoculatie bleek, met behulp van TaqMan PCR en confocale lasermicroscopie van coupes, Cmm in het endosperm en zelfs in het embryo aantoonbaar te zijn. Opvallend was de hoge bacteriedichtheid in de tomatenplantjes! Na 'drop'-inoculatie van *in vitro* tomatenplantjes werden binnen twee weken de karakteristieke Cmm-symptomen zichtbaar. Waarschijnlijk kan Cmm via de wortel penetreren. Deze modelsystemen lijken toepasbaar voor het zichtbaar maken van de infec-

tieroute van deze bacterie en voor het bestuderen en screenen van resistentie in tomaat tegen Cmm. Sofie Rombouts (ILVO-KUL) presenteerde een interessant verhaal over de detectie en beheersing van de koolpathogeen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc), en de voor prei pathogene *Pseudomonas syringae* pv. *porri* (Pspo). Xcc bleek een genetisch diverse groep, zoals bepaald werd met behulp van BOX-PCR en het gyrB gen. Ook bij Pspo bleek de diversiteit hoog, gebaseerd op het rpoD gen. Er zijn PCR-toetsen gebruikt om in praktijkmateriaal deze pathogenen in plantmateriaal te detecteren. De ins en outs betreffende het bestrijden van deze pathogenen via (cocktails van) bacteriofagen leverde een levendige discussie op.

Bart Cottyn (ILVO) gaf een gedegen overzicht van *Xanthomonas*-soorten en hun pathovars, en de verwarring die de zogenaamde 'look-alikes' veroorzaken bij de taxonomische indeling en identificatie op basis van gyrB-sequentie-analyse. Deze 'look-alikes' kunnen problemen geven bij het aantonen van quarantaine-pathovars en zorgen voor vals-positieve reacties. Bart gaf een treffend voorbeeld hiervan in de rijstteelt voor *X. oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) waar soms tot meer dan 60% niet-Xoo look-alikes worden gevonden die niet pathogeen zijn maar wel zorgen voor onterechte afkeuring van zaadpartijen.

Na de lunch gaf Leo van Overbeek een historisch overzicht van potentieel humaan-pathogene Enterobacteriaceae zoals *Salmonella* en *E. coli*. Door de EHEC-affaire is in het nieuws gekomen dat deze bacteriën samen met echte plantenpathogenen, zoals *Erwinia* en *Dickeya* en endofyten in groenten kunnen voorkomen. Dit was al jaren geleden bekend, onder meer uit Wagenings onderzoek van Jim van Vuurde. Momenteel staan enkele projecten in de startblokken, waaronder onderzoek in samenwerking met het bedrijfsleven, naar o.a. mogelijk-

heden om deze humaan-pathogene bacteriën in zaad te kunnen aantonen en (indien aanwezig) te kunnen behandelen.

Bert Woudt (Syngenta) en Bart Geraats (Nunhems) presenteerde vervolgens gebroederlijk (de twee B's) een praktijkverhaal over de drie D's: Detectie, Direct-PCR en Diversiteit van de bacteriën die 'bacterial fruit blotch' in komkommerachtigen (watermeloen en meloen) kunnen veroorzaken: *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. De ontwikkeling naar specifieke detectiemethoden en de problemen met look-alikes (vals-positieve reacties in zaadpartijen) werden geschetst door Bert. Bart ging in detail in op de praktische problematiek van het testen van zaadpartijen en de aspecten van real-time PCR-uitslagen. Duidelijk werd dat bij ringtesten vooral de variatie tussen labs, maar bijvoorbeeld ook de mastermix gebruikt in PCRs een rol speelt. Als laatste presenteerde Harrie Koenraadt (Naktuinbouw) resultaten over de detectie van *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in zaden die een warmwaterbehandeling hebben ondergaan. De ISTA-methode (uitplaten van deze pathogene bacterie) vertoonde een goede correlatie met een ontwikkelde triplex Taqman. Een terugkerende discussie bij deze real-time PCRs is het vaststellen van de Ct-threshold-waarde om vast te stellen wat nu een positieve dan wel een negatieve uitslag is. Een betrouwbare interne controle is hierbij belangrijk.

**Bestuurswisseling.** Vier jaar na de oprichting van de KNPV-werkgroep Fytobacteriologie, geven Jos Raaijmakers (voorzitter) en Joop van Doorn (secretaris) het stokje door aan Jan van der Wolf (secretaris) en Leo van Overbeek (voorzitter), beiden werkzaam bij PRI. Hun nominatie werd goedgekeurd door de aanwezige werkgroepleden. De volgende bijeenkomst zal in maart 2014 in Wageningen worden gehouden.

