



PPS-jaarrapportage 2018

De PPS-en die van start zijn gegaan onder aansturing van de topsectoren dienen jaarlijks te rapporteren over de inhoudelijke en financiële voortgang. Voor de inhoudelijke voortgang dient dit format gebruikt te worden. Voor PPS-en die in 2018 zijn afgerond is een apart format "PPS-eindrapportage" beschikbaar.

De jaarrapportages worden integraal gepubliceerd op de websites van de TKI's/topsector. Zorg er s.v.p. voor dat er geen vertrouwelijke zaken in de rapportage staat.

De PPS-jaarrapportages dienen voor 1 maart 2019 te worden aangeleverd bij de TKI's via info@tkitu.nl of info@tki-agrifood.nl. Voor Wageningen Research loopt de aanlevering via een centraal punt.

Algemene gegevens	
PPS-nummer	KV 1605-082
Titel	Preventie van <i>Ralstonia solanacearum</i> uitbraken in de Nederlandse land- en tuinbouw
Thema	T&U Meer met Minder, Plantgezondheid
Uitvoerende kennisinstelling(en)	WUR, BU Biointeracties & Plantgezondheid
Projectleider onderzoek (naam + emailadres)	Dr. P. Bonants, WUR, peter.bonants@wur.nl
Penvoerder (namens private partijen)	Mevr. H. Verberkt, Glastuinbouw Nederland
Contactpersoon overheid	Mevr. A. Zweep, LNV-DANK
Totale projectomvang (k€)	1002.2
Adres projectwebsite	https://www.wur.nl/nl/Onderzoek-Resultaten/Topsectoren/show/TU-16012-Preventie-Ralstonia-uitbraken.htm
Startdatum	1-1-2017
Einddatum	31-12-2019

Goedkeuring penvoerder/consortium

De jaarrapportage dient te worden besproken met de penvoerder/het consortium. De TKI's nemen graag kennis van eventuele opmerkingen over de jaarrapportage.

De penvoerder heeft namens het consortium de jaarrapportage

goedgekeurd

niet goedgekeurd

Eventuele opmerkingen over de jaarrapportage:

Planning en voortgang (indien er wijzigingen zijn t.o.v. het projectplan svp toelichten)

Loopt de PPS volgens planning?	Grotendeels wel; onderdeel A2 enige vertraging
Zijn er wijzigingen in het consortium/de projectpartners?	Nee
Is er sprake van vertraging en/of uitgestelde opleverdatum?	Ja RNA seq experimenten verliepen niet succesvol. E.e.a. zal begin 2019 worden herhaald en we verwachten dan voor juli 2019 de TaqMan assays beschikbaar te hebben voor evaluatie door de NVWA in Euphresco verband.
Is er sprake van inhoudelijke knelpunten, geef een korte beschrijving	Ja, RNA seq data. Zie resultaten 2018.

Is er sprake van afwijkingen van het ingezette budget/de begroting?	Mogelijk. Door herhalen van RNA seq exp. komt de begroting voor 2019 onder druk te staan. Dit mag echter niet ten koste gaan van de andere onderdelen die van groot belang zijn voor de sector.
---	---

Korte omschrijving inhoud/doel PPS

Wat is er aan de hand en wat doet het project daaraan?

Wat gaat het project opleveren en wat is het effect hiervan?

In 2015 is een variant van *Ralstonia solanacearum* (Rsol) gevonden in kasrozen bij zowel kwekers als telers. Binnen dit project wordt innovatieve kennis gegenereerd op drie vlakken: A. Ontwikkeling van diagnostische methoden; B. Epidemiologie van Rsol in roos; C. Preventie en weerstandsverhoging.

Op de diverse onderdelen gaat het project kennis opleveren voor *Ralstonia solanacearum* in roos:

- kennis van het genoom van de bacterie,
- kennis over verspreiding van de bacterie in de rozenteelt,
- kennis over verbetering diagnostiek
- kennis over preventie maatregelen en
- kennis over weerstandsverhoging tegen *Ralstonia*.

Daarnaast wordt deze kennis uitgerold naar andere gewassen die waardplant kunnen zijn van *Ralstonia* (o.a. Gerbera en potplanten).

Resultaten 2018

Geef een korte beschrijving van de high-lights van 2018

Geef een korte beschrijving van de projectdeliverables 2018

Er is in 2018 gewerkt aan verschillende onderwerpen:

A: Diagnostiek

A1: WUR: Een gedegen analyse van alle beschreven TaqMan assay detectietoetsen is uitgevoerd en wordt verwerkt in een publicatie. De twee meest geschikte TaqMan assays worden in 2019 verwerkt in een triplex TaqMan assay, waarin naast assays voor detectie van Rsol gebaseerd op twee specifieke loci, ook een interne extractie- en amplificatie controle is meegenomen.

Ontwikkeling en gebruik van detectie toetsen word afgestemd met NAK, Naktuinbouw, NVWA en SSCF.

A2: WUR: Om genen te selecteren die een relatie met virulentie hebben, zijn er groeiproeven ingezet met Rsol op medium. Op twee tijdstippen met twee Rsol isolaten en twee media (SMSA +/- tomatenblad extract) is er in duplo RNA geëxtraheerd. Deze 16 RNA extracten zijn gesequenced. Helaas waren de sequentie data niet goed. Er wordt nog uitgezocht wat de oorzaak is van de problemen.

A3: WUR: Verbetering gevoeligheid: experimenten zijn gestart om de detectie te verbeteren en zal in 2019 worden vervolgd: monstergrootte/filtreren/centrifugeren/verrijken van drainwater. De nieuw ontwikkelde TaqMan assay zal hiervoor worden ingezet.

B1: Waardplanten

WUR: In 2018 werden er kasexperimenten uitgevoerd bij 28 °C met 3 rozencultivars gegroeid op steenwol en gebruik makend van drie *Ralstonia pseudosolanacearum* stammen, nl. uit roos, anthurium en curcuma. De stammen uit roos en anthurium waren virulent op tomaat, maar die uit curcuma liet slechts een zwakke symptoomontwikkeling zien. Besmettingen van rozenplanten zijn aangebracht via stengelinoctulatie en via het aangieten van de steenwol blokken dichtbij de wortels van de plant. Na stengelinoctulatie konden de stammen uit roos en anthurium zich verspreiden in de plant, onafhankelijk van het cultivar, maar de stam uit curcuma kon 50 dagen na inoculatie alleen in het inoculatiepunt teruggevonden worden.

De experimenten lieten ook zien dat de bacteriën van de rozenstam vanuit de wortels in de voedingsoplossing lekte. Hierdoor kan potentieel een verspreiding van de ene naar de andere plant in de rij plaatsvinden. De mate van ziekte-expressie was sterk afhankelijk van het cultivar. De planten van het meest gevoelige cultivar geïnoculeerd met de stam uit roos stierven binnen 50 dagen na inoculatie af terwijl het meest resistente cultivar slechts een beperkte ontwikkeling van de ziekte liet zien. Met de stam uit anthurium werden milde symptomen gezien in het gevoelige cultivar van roos, terwijl de stam uit curcuma sporadisch lichte symptomen liet zien. Wortelinoculaties werden uitgevoerd met drie dichtheden van de rozenstam. Alleen het gevoelige cultivar liet symptomen zien bij gebruik van de hoogste dichtheden van de bacterie (10^6 cellen/ml).

SCFF: De gevoeligheid van vier gerberarassen voor de rozenstam van *Ralstonia* (PD7123) is bepaald. In een van de rassen was sprake van een groeivertraging. In de overige drie rassen zijn geen symptomen gevonden en is ook geen latente infectie aangetoond.

B2: Infectieroutes

SCFF: De effectiviteit van Menno Florades en Hyperclean X m.b.t. het ontsmetten van besmette mesjes met opgedroogd plantsap is bepaald. Beide middelen waren effectief wanneer gebruikt volgens voorschrift. De overleving van *Ralstonia* buiten de kas onder Nederlandse winterse omstandigheden is getest in slootwater, grond en plantmateriaal. Onder gemiddelde Nederlandse omstandigheden zijn de overwinteringskansen van *Ralstonia* buiten de kas klein. Op dit moment wordt getest of er sprake kan zijn van een viable but non culturable state (VBNCs) van de cellen. Bacteriën kunnen in een VBNC staat gaan. Dat betekent dat ze nog wel levend zijn maar niet meer op te kweken zijn in groeimedium.

C2: Weerstandsverhoging

UU: Er is een volledige sequentiebepaling van het genoom uitgevoerd op de 17 *Ralstonia pseudosolanacearum*-isolaten verkregen van *Rosa* sp. welke duiden op lokale adaptieve genomische diversificatie van het pathogeen. Er zijn bacteriofagen geproduceerd met een verbeterde effect tegen alle *Rsol* isolaten wanneer ze worden toegevoegd in een mengsel. Bovendien hebben we verschillende bacterieel-endofytische stammen verkregen uit materiaal van gezonde rozenplanten en uit water met antagonistische effecten tegen *Rsol*. Eerste experimenten met een mengsel van bacteriofagen en antagonistische bacteriën in een opeenvolgende en simultane behandeling hebben een effectieve pathogeen-onderdrukking aangetoond. De effectieve mixen en de beste toedieningsmethode zullen in 2019 i.s.m. WUR worden gebruikt in planta-experimenten om de plantenresistentie tegen *Ralstonia pseudosolanacearum* te beoordelen.

Communicatie allen

- Meetings, presentaties publicaties (wetenschappelijke publicaties en vakbladen)

Er is in Euphresco verband een project opgestart met 11 projectpartners op het gebied van vervanging biologische virulentie assay voor *Rsol* door een moleculaire toets.

Presentaties:

Diverse presentaties uit de PPS meetings zijn op de portal geplaatst.

Viola Kurm, Odette Mendes, Peter Bonants, Jan van der Wolf, Claudia Coipan, Ilse Houwers, Cees Waalwijk. Use of whole genome sequencing data in the taxonomy and diagnostics of plant pathogenic *Ralstonia* species, KNPV werkgroep phytobacteriën, 18 oktober 2018.

Van der Wolf, J., Kurm, V. Mendes, O, Bonants, P., Coipan, C., Houwers, I. and Waalwijk, C. 2018. Diagnostics and epidemiology of the *Ralstonia solanacearum* species complex. Meeting of the Plant Pathology Organization of Chile (SOCHIFIT) from 28-30 November 2018 in Valdivia, Chile.

Vakblad Bloemisterij:
Viola Kurm en anderen, Hans Neeffjes. Variatie in vatbaarheid snijroos voor *Ralstonia* 23 nov 2018.

Aantal opgeleverde producten in 2018 (geef in een bijlage de titels en/of omschrijvingen van de producten of een link naar de producten op de projectwebsite of andere openbare websites)			
Wetenschappelijke artikelen	Rapporten	Artikelen in vakbladen	Inleidingen/workshops
1 in voorbereiding		1	
Titels/omschrijvingen van belangrijkste producten in 2018 (max. 5) en hun doelgroepen			
Presentaties: Presentaties aan de projectcommissie.			
Viola Kurm, Odette Mendes, Peter Bonants, Jan van der Wolf, Claudia Coipan, Ilse Houwers, Cees Waalwijk. Use of whole genome sequencing data in the taxonomy and diagnostics of plant pathogenic <i>Ralstonia</i> species, KNPV werkgroep phyto bacteriën, 18 oktober 2018.			
Van der Wolf, J., Kurm, V. Mendes, O, Bonants, P., Coipan, C., Houwers, I. and Waalwijk, C. 2018. Diagnostics and epidemiology of the <i>Ralstonia solanacearum</i> species complex. Meeting of the Plant Pathology Organization of Chile (SOCHIFIT) from 28-30 november 2018 in Valdivia, Chile.			

Bijlage: Titels/omschrijvingen van alle producten in 2018 of een link naar deze producten op de projectwebsite of andere publieke websites

Publicaties, Presentaties

Presentaties:

Viola Kurm, Odette Mendes, Peter Bonants, Jan van der Wolf, Claudia Coipan, Ilse Houwers, Cees Waalwijk. Use of whole genome sequencing data in the taxonomy and diagnostics of plant pathogenic *Ralstonia* species, KNPV werkgroep phyto bacteriën, 18 oktober 2018.

Van der Wolf, J., Kurm, V. Mendes, O, Bonants, P., Coipan, C., Houwers, I. and Waalwijk, C. 2018. Diagnostics and epidemiology of the *Ralstonia solanacearum* species complex. Meeting of the Plant Pathology Organization of Chile (SOCHIFIT) from 28-30 November 2018 in Valdivia, Chile.

Vakblad Bloemisterij:

Viola Kurm, Hans Neeffjes. Variatie in vatbaarheid snijroos voor *Ralstonia* 23 nov 2018.

Posters:

Puentes-Tellez PE., Jousset A. Evolutionary training of bacteriophages as an strategy to obtain enhanced-virulence consortium against a diversified bacterial pathogen. International Society of Microbial Ecology, ISME2018, Leipzig, Germany, 12-17 August 2018.

Puentes-Tellez PE., Jousset A. Evolutionary training of bacteriophages as an strategy to obtain enhanced-virulence consortium against a diversified bacterial pathogen. Microbial Eco-Evolutionary Dynamics , IGC Symposium 2018 . Oeiras, Portugal, 22-24 October 2018.