

Ralstonia pseudosolanacearum: risico's van de aanwezigheid van deze nieuwe Q-bacterie in het Nederlandse oppervlaktewater voor akker- en tuinbouwgewassen

Martijn Vogelaar,^{1*}
 Florian Gorter,³
 Jeroen van de Bilt,¹ Nathalie Blom,¹ Chiel Pel,¹
 Bo van Doorn,¹
 Tom Raaymakers,¹
 Robert Vreeburg,²
 Maria Bergsma-Vlami¹
 en Jan van der Wolf³

¹Nederlands Instituut voor Vectoren, Invasieve planten en Plantgezondheid (NIVIP), Geertjesweg 15, 6706 EA, Wageningen, Nederland

²Nederlandse Algemene Keuringsdienst voor zaaizaad en pootgoed van landbouwgewassen (NAK), Randweg 14, 8304 AS, Emmeloord, Nederland

³Wageningen Plant Research, Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB, Wageningen, Nederland

*Auteur correspondentie
 M.A.W. Vogelaar; E-mail: m.a.w.vogelaar@nvwa.nl

Ralstonia solanacearum (fylotype II), de veroorzaker van bruinrot in aardappel (*Solanum tuberosum*), is een quarantainebacterie die sinds de jaren '90 voorkomt in het Nederlandse oppervlaktewater. Bitterzoet (*Solanum dulcamara*), een inheemse wilde plant die langs waterwegen groeit, is ook een waardplant van de ziekteverwekker en speelt een belangrijke rol in de vermeerdering van de bacterie en de overleving tijdens de winterperiode. In het voorjaar komt de bacterie vanuit de besmette bitterzoet planten in het water terecht. De bacterie kan ca. 5 weken buiten de plant in het oppervlaktewater overleven (Janse 1996). Er wordt jaarlijks een grote survey uitgevoerd om besmetting van de Nederlandse watergangen in kaart te brengen (Janse et al. 2009). Vondsten kunnen leiden tot een beregeningsverbodsgebied; het oppervlaktewater in deze gebieden mag niet gebruikt worden voor de teelt van aardappelen en tomaten (zie www.nvwa.nl/onderwerpen/plantenziekten-en-plagen/bruinrot/verbodsgebieden-gebruik-oppervlaktewater). In 2020 werd tijdens deze survey in twee afzonderlijke gebieden (omgeving Midden-Regge en omgeving Breukelen) niet *R. solanacearum* (fylotype II), maar een andere *Ralstonia* soort aangetoond, namelijk *Ralstonia pseudosolanacearum*.

De oppervlaktewatermonsters worden onderzocht door het water te concentreren en dit concentraat uit te platen op semi-selectief SMSA medium. Vervolgens worden typische kolonies aanvullend getoetst met real-time PCR (Vreeburg et al. 2018). Voor de *R. pseudosolanacearum* verdachte kolonies zijn ook matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) (van de Bilt et al. 2018) en een pathogeniteitstoets op tomatenplanten uitgevoerd volgens de EPPO standard PM7/21 (OEPP/EPPO 2018) om een volledige diagnose te kunnen stellen. De identiteit van de isolaten van *R. pseudosolanacearum* uit watermonsters is later nog een keer bevestigd door sequentie analyse van het *egl* gen.

R. pseudosolanacearum (fylotype I en III) vormt sinds 2014 samen met *R. solanacearum* (fylotype II) en *R. syzygii* (fylotype IV) het *Ralstonia solanacearum* Species Complex (RSSC) (Safni et al. 2014). Alle soorten binnen de RSSC veroorzaken verwelkingsziekte en verkleuring van het vaatweefsel (Figuur 1).

Echter, *R. pseudosolanacearum* heeft een veel bredere waardplantenreeks dan *R. solanacearum*, en kan, onder andere, belangrijke gewassen zoals aardappel, tomaat, paprika, blauwe bes en roos infecteren. *R. pseudosolanacearum* komt van oorsprong voor in Afrikaanse en Aziatische landen met een (sub) tropisch klimaat, maar is inmiddels ook wijdverspreid in Zuid-Amerika (Fegan and Prior 2005; Lopes and Rossato 2018; Salcedo et al. 2017). In Europa waren meldingen tot nu toe beperkt tot vondsten in kasgewassen, met name in *Curcuma*, roos en gember (Bergsma-Vlami et al. 2018; EPPO 2015, 2021; Tjou-Tam-Sin et al. 2017). De vondsten van *R. pseudosolanacearum* (fylotype I) in het Nederlandse oppervlaktewater zijn de eerste vondsten in de buitenlucht binnen de EU.

Het feit dat deze twee gebieden geografisch gescheiden zijn roept behoorlijk wat vragen op. Eén van deze vragen is waar de infectie vandaan komt. De NVWA heeft in beide gebieden in de nabije omgeving geen teelt van potentiële waardplanten vast kunnen stellen, die als mogelijke bron zou kunnen dienen. Wel kan op basis van genomische data een link gelegd worden tussen de vondsten in het oppervlaktewater en eerdere vondsten van fylotype I in kasroos in 2015. Fylogenetische analyse op basis van het *egl* gen van *Ralstonia* liet zien dat isolaten verkregen uit het oppervlaktewater genetisch nauw verwant zijn aan de isolaten uit kasroos. Traceringsonderzoek naar een mogelijke bron van de besmetting in beide gebieden heeft tot nu toe echter geen resultaten opgeleverd.

Na de eerste vondsten in 2020 rees ook de vraag of *R. pseudosolanacearum* (fylotype I), net als *R. solanacearum*, in het Nederlandse oppervlaktewater kan overleven. Hiervoor zijn 2021 en 2022 gedurende twee perioden in het jaar extra oppervlaktewater monsters genomen in de betreffende gebieden. De monsters zijn getoetst volgens het hierboven beschreven diagnostische schema en in beide gebieden werd in 2021 en 2022 zowel *R. solanacearum* (fylotype II) als *R. pseudosolanacearum* (fylotype I) teruggevonden. *R. pseudosolanacearum* (fylotype I) kan zich dus handhaven in het Nederlandse oppervlaktewater. Voor *R. solanacearum* (fylotype II) is het verder bekend



Figuur 1: Typische verwelkingssymptomen bij tomatenplanten 5 dagen na inoculatie met *R. solanacearum* fylogtype II (links), *R. pseudosolanacearum* fylogtype I (midden) en PBS 0.01M buffer (negatieve controle) (rechts).

dat deze zich in bitterzoet (*Solanum dulcamara*) kan vermeerderen (Elphinstone et al. 1998) en dat deze plant zou kunnen dienen als overwinteringsreservoir. In de herfst van 2021 zijn er uit de twee besmette gebieden bitterzoetplanten met symptomen bemonsterd en hierin werd *R. pseudosolanacearum* (fylogtype I) gevonden (Figuur 2). Bitterzoetplanten kunnen dus ook een reservoir zijn voor *R. pseudosolanacearum* (fylogtype I).



Figuur 2: Stengeldelen van bitterzoetmonsters, positief getest op *R. pseudosolanacearum* (fylogtype I), uit 2021 met vaatverkleuring.

Het is nog onbekend wat de gevolgen zijn van de introductie van *R. pseudosolanacearum* (fylogtype I) in het Nederlandse oppervlaktewater. Tot nu toe is *R. pseudosolanacearum* (fylogtype I) gedurende de laatste jaren niet aangetroffen in gewassen in de besmette gebieden. Bij de integrale toetsing van pootaardappelen door de NAK is deze bacterie ook nog niet gevonden. Gedurende de laatste jaren zijn er wel steeds meer waardplanten van *R. pseudosolanacearum* (fylogtype I) gevonden (Jiang et al. 2016; Lin et al. 2015; Norman et al. 2017; Prieto Romo et al. 2012; Tjou-Tam-Sin et al. 2017), wat het risico voor verspreiding van *R. pseudosolanacearum* (fylogtype I) binnen Nederland vergroot. Daarnaast is *R. pseudosolanacearum* (fylogtype I) ook bij surveys in het Hongaarse oppervlaktewater aangetroffen (EPPO 2022). Een bredere verspreiding in de EU is daarmee aannemelijk.

Omdat de recent gevonden variant van *R. pseudosolanacearum* (fylogtype I) in het Nederlandse oppervlaktewater (Vogelaar et al., 2023) grote gevolgen kan hebben voor de totale akkerbouwsector en daarbuiten, hebben sectorpartijen*, de WUR en de NVWA initiatief genomen voor een PPS onderzoek naar *R.*

* In samenwerking met sectorpartijen BO Akkerbouw, Stichting NAO-Projecten, Glastuinbouw Nederland, Stichting Kennis in je Kas, Deliflor Chrysanten B.V., Stichting Aardbei Onderzoek en HZPC Research B.V.

pseudosolanacearum. De keuringsdiensten NAK en Naktuinbouw zijn als partners bij dit project betrokken. Dit PPS project heeft als doel kennis te genereren over de biologie van *R. pseudosolanacearum* (fylotype I) met het oog op maatregelen die verspreiding kunnen voorkomen en daardoor besmettingen van akker- en tuinbouwgewassen kunnen tegengaan. Binnen dit project zal onder andere gekeken worden naar de potentiële waardplantenreeks van *R. pseudosolanacearum* (fylotype I) van belangrijke

Nederlandse gewassen, het risico op verspreiding van de bacterie en de overleving onder Nederlandse klimaatcondities. Daarnaast wordt een toets ontwikkeld om beide *Ralstonia* soorten binnen het *Ralstonia solanacearum* Species Complex (RSSC) tegelijkertijd te kunnen detecteren in oppervlaktewatermonsters en wordt er gekeken wat de diversiteit van de Nederlandse *R. pseudosolanacearum* (fylotype I) populaties is. Dit PPS project start in 2023 en heeft een looptijd van 4 jaar.

Referenties

- Bergsma-Vlami, M., van de Bilt, J. L. J., Tjou-Tam-Sin, N. N. A., Westenberg, M., Meekes, E. T. M., Teunissen, H. A. S., and Van Vaerenbergh, J. 2018. Phylogenetic Assignment of *Ralstonia pseudosolanacearum* (*Ralstonia solanacearum* Phylotype I) Isolated from *Rosa* spp. *Plant Dis* 102:2258-2267.
- Elphinstone, J. G., Stanford, H., and Stead, D. E. 1998. Survival and transmission of *Ralstonia solanacearum* in aquatic plants of *Solatum dulcamara* and associated surface water in England. *EPPO Bulletin* 28:93-94.
- EPPO. 2015. *Ralstonia solanacearum* (race 1) detected in *Rosa* in the Netherlands. EPPO Reporting Service.
- EPPO. 2021. First report of *Ralstonia pseudosolanacearum* in Germany. EPPO Reporting Service.
- EPPO. 2022. First report of *Ralstonia pseudosolanacearum* in Hungary. EPPO Reporting Service.
- Fegan, M., and Prior, P. 2005. How complex is the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex* 1:449-461.
- Janse, J. D. 1996. Potato brown rot in western Europe – history, present occurrence and some remarks on possible origin, epidemiology and control strategies. *EPPO Bulletin* 26:679-695.
- Janse, J. D., Bergsma-Vlami, M. M., and Wenneker, M. 2009. Bruinrot bij aardappel. *Gewasbescherming* 40:176-187.
- Jiang, Y., Li, B., Liu, P., Liao, F., Weng, Q., and Chen, Q. 2016. First report of bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* on fig trees in China. *Forest Pathol* 46:256-258.
- Lin, C.-H., Chuang, M.-H., and Wang, J.-F. 2015. First report of bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* on chard in Taiwan. *Plant Dis* 99:282-282.
- Lopes, C. A., and Rossato, M. 2018. History and status of selected hosts of the *Ralstonia solanacearum* species complex causing bacterial wilt in Brazil. *Frontiers in microbiology* 9:1228.
- Norman, D. J., Bocsanczy, A. M., Harmon, P., Harmon, C. L., and Khan, A. 2017. Bacterial wilt outbreaks of multiple sequevars on blueberries in Florida. *Phytopathology* 107:102-102.
- OEPP/EPPO. 2018. PM 7/21 (2) *Ralstonia solanacearum*, *R. pseudosolanacearum* and *R. syzygii* (*Ralstonia solanacearum* species complex). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 48:32-63.
- Prieto Romo, J., Morales Osorio, J. G., and Salazar Yepes, M. 2012. Identification of new hosts for *Ralstonia solanacearum* (Smith) race 2 from Colombia. *Revista de Protección Vegetal* 27:151-161.
- Safni, I., Cleenwerck, I., De Vos, P., Fegan, M., Sly, L., and Kappeler, U. 2014. Polyphasic taxonomic revision of the *Ralstonia solanacearum* species complex: proposal to emend the descriptions of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia syzygii* and reclassify current *R. syzygii* strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* subsp. nov., *R. solanacearum* phylotype IV strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* subsp. nov., banana blood disease bacterium strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* subsp. nov. and *R. solanacearum* phylotype I and III strains as *Ralstonia pseudosolanacearum* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 64:3087-3103.
- Salcedo, S., Santiago, T., Colman, A., and Barreto, R. 2017. First report of bacterial wilt of chickpea caused by *Ralstonia pseudosolanacearum* in Brazil. *Plant Disease* 101:629-629.
- Tjou-Tam-Sin, N. N. A., van de Bilt, J. L. J., Westenberg, M., Gorkink-Smits, P., Landman, N. M., and Bergsma-Vlami, M. 2017. Assessing the Pathogenic Ability of *Ralstonia pseudosolanacearum* (*Ralstonia solanacearum* Phylotype I) from Ornamental *Rosa* spp. *Plants. Front Plant Sci* 8:1895.
- van de Bilt, J. L. J., Wolsink, M. H. L., Gorkink-Smits, P. P. M. A., Landman, N. M., and Bergsma-Vlami, M. 2018. Application of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for rapid and accurate identification of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia pseudosolanacearum*. *Eur J Plant Pathol* 152:921-931.
- Vogelaar M.A.W., van de Bilt J.L.J., Blom N.I., Pel M.J.C., van Doorn B.J.A., Landman N.M., Gorkink-Smits P.P.M.A., Raaymakers T.M., Vreeburg R.A.M. and M. Bergsma-Vlami, 2023. Presence of *Ralstonia pseudosolanacearum* (phylotype I) in aquatic environments in the Netherlands, *Plant Disease*, doi.org/10.1094/PDIS-11-22-2628-SC
- Vreeburg, R., Zendman, A., Pol, A., Verheij, E., Nas, M., and Kooman-Gersmann, M. 2018. Validation of four real-time TaqMan PCR s for the detection of *Ralstonia solanacearum* and/or *Ralstonia pseudosolanacearum* and/or *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in potato tubers using a statistical regression approach. *EPPO Bulletin* 48:86-96.