

## PPS Fytosanitair Belangrijk

### Karakterisatie van wratziektepathotypes in mengpopulaties.

**Betrokken partijen:** NVWA, , LTO Nederland, WUR

#### Vraagstelling:

Wratziekte bij aardappels wordt veroorzaakt door de quarantaineschimmel *Synchytrium endobioticum*. Deze schimmel kan meer dan 30 jaar in aangetaste bodems overleven, zelfs in afwezigheid van de waardplant. De productie van poot- en consumptieaardappelen is verboden op besmette percelen. Beheersing van de ziekte is alleen mogelijk door het gebruik van resistentie rassen in ingeperkte gebieden en door het toepassen van strikte hygiënemaatregelen.

Het doorbreken van resistenties of het introduceren van nieuwe pathotypes is een bedreiging voor de aardappelketen. Ook de recente uitbraak in het noorden van Nederland duidt mogelijk op de introductie van een nieuw pathotype, welke zich binnen de Europese populatie lijkt te hebben ontwikkeld. Het streven is om uitbraaklocaties in Nederland en in Europa genetisch te karakteriseren. Hierdoor kan de bedreiging voor het Nederlandse teeltareaal tijdiger in beeld gebracht worden. Dit is onder andere van belang gebleken bij de recente uitbraak in Noord Nederland.

Dit werk wordt voor een belangrijk deel uitgevoerd binnen het EUPHRESKO-project 'SendoTrack'. Hierin worden monsters en bijbehorende metadata van collecties uit de hele wereld verzameld en moleculair gekarakteriseerd. In aanvulling is gebleken dat de genetische variatie in het veld en de (moleculaire) pathotypering erg relevant is, omdat een veldpopulatie kan bestaan uit meerdere pathotypes naast elkaar. Dit kan zelfs binnen één enkel isolaat voorkomen. De recente wratziekte-uitbraak in het noorden van het land lijkt hier een voorbeeld van te zijn. Dit soort populaties zijn riskant, omdat er door het telen van partieel resistente aardappel rassen mogelijk een selectie ontstaat ten faveure van de nieuwe pathotypen. De ontwikkelde technieken en methodieken kunnen ook voor andere monsters worden toegepast. Het sluit daarom goed aan bij het resistentie onderzoek zoals momenteel wordt uitgevoerd door het HLB. Het gegenereerde materiaal kan nu op moleculair/sequentie en populatie niveau worden onderzocht.

Om deze mengpopulaties te karakteriseren is een andere moleculaire benadering noodzakelijk. Hiervoor moeten protocollen voor sporenextractie uit grond en knollen verder worden ontwikkeld omdat gestart wordt met kleinere hoeveelheden (sub-monsters). Ook DNA- en RNA-extracties en genotyperingsmethoden moeten daarom worden geoptimaliseerd. De resultaten uit dit project (genetische gegevens) zullen worden geïntegreerd in een online, publiek beschikbare tool die genomische diversiteit, geografische oorsprong en epidemiologische kenmerken combineert. Deze tool wordt ontwikkeld binnen bovengenoemd Sendotrack-project en kan worden gebruikt voor track-and-trace van isolaten of (deel-) populaties. De gegenereerde sequenties richten zich vooral op kandidaat avirulentiegenen. Daarmee kan eenduidiger een (volledig) resistent ras worden gekozen bij een eventuele vervolgteelt, en kan gericht veredeld worden op nieuwe Wratziekteresistente aardappelrassen.

#### Plan van aanpak op hoofdlijnen

Allereerst worden de bestaande DNA- en RNA-extractieprocedures geëvalueerd, geoptimaliseerd en gevalideerd. Omdat de hoeveelheid materiaal vaak extreem beperkt is, zijn efficiënte extractiemethoden van grote waarde. Om het DNA voor karakterisering en sequentiebepaling te kunnen delen, zullen technieken voor volledige genoomamplificatie worden toegepast en gecontroleerd. Daarnaast wordt er een tool ontwikkeld voor moleculaire pathotypering analoog aan het avirulentie gen *AvrSen1*. Wanneer er ook andere genen avirulentie genen worden geïdentificeerd kunnen deze aanvullende informatie verschaffen voor moleculaire pathotypering van (meng-)isolaten. Dit zorgt ervoor dat eerder een beeld ontstaat van het pathotype en dat sneller en gericht biotoetsen kunnen worden ingezet.

#### Gevraagd budget 2021, 2022, 2023

- Geef een indicatie van het benodigde budget voor 2021 en ev. volgende jaren ex btw
- |      |          |
|------|----------|
| 2021 | 28 Keuro |
| 2022 | 35 Keuro |

#### Uitgevoerde activiteiten 2021:

- Controle kwaliteit/kwantiteit van DNA ingestuurd door de partners van SendoTrack
- Controle amplificatie van DNA en RNA middels qPCR (150 monsters)
- Controle amplificatie van DNA en RNA middels NGS 2 monsters
- Design sequencing strategie op basis van sanger sequencing van amplicons voor pathotype 1
- PCR en sanger sequencing van *AvrSen1* van (80 monsters)
- Deelname aan de SendoTrack progress meeting

#### Onderverdeling kosten WR:

|                     |          |
|---------------------|----------|
| Personeel:          | 22 Keuro |
| Materieel:          | 4 Keuro  |
| Laboratoriumkosten: | 2 Keuro  |

#### Planning van de activiteiten in 2022

- DNA/RNA extractie van materiaal beschikbaar gesteld door de partners
- Amplificatie van beschikbare hoeveelheid DNA en RNA
- Controle amplificatie van DNA en RNA middels qPCR
- Controle amplificatie van DNA en RNA middels NGS
- Design sequencing strategie op basis van sanger sequencing van amplicons voor andere pathotype op basis van kandidaat *Avr* genen
- PCR en sanger sequencing van *AvrSen1* en andere kandidaat *Avr* genen
- Beschikbaar stellen van protocollen via de portal
- Deelnemen aan overleg en slotmeeting SendoTrack

#### Onderverdeling kosten

|                    |          |
|--------------------|----------|
| Personeel          | 25 Keuro |
| Materieel          | 6 Keuro  |
| Laboratoriumkosten | 4 Keuro  |