

Rapportage – executive summary- methodiekenprojecten Raad voor plantenrassen 2020

Hieronder volgt het overzicht met de rapportages van de methodiekenprojecten die in 2020 met financiële ondersteuning door de Raad voor plantenrassen zijn uitgevoerd. Het betreft een inhoudelijke samenvatting.

De projectvoorstellen 2020 zijn door de vergadering van de Rvp beoordeeld in november 2019, en in schriftelijke rondes in april en augustus 2020.

‘Deze rapportage is opgesteld in opdracht van de Raad voor plantenrassen, maar geschiedt onder verantwoordelijkheid van de auteur(s) en vertegenwoordigt niet noodzakelijkerwijs de mening van de Raad.’

Samenvatting inhoudelijk:

Onderstaand project is vertraagd

2020 - 17 Zaaiknoflook blijkt later te worden afgerond dan vorig jaar doorgegeven. Daarom is er een tussenrapport en geen eindrapport aangeleverd.

Tussenrapportages

2018 - 2 B4EST Fraxinus excelsior (loopt door in 2021)
2019 - 7 DNA t.b.v. LMV én databaseopbouw in sla (loopt door in 2021)
2020 - 7 Referentiecollectie tomaat aanvullen (loopt door in 2021)
2020 - 9 Harmorescoll – harmoniseren van resistentiecollecties (loopt door in 2021)
2020 - 17 Uniformiteitsbeoordeling Zaaiknoflook (nog niet afgerond)

Eindrapportages

2020 - 2 DUS protocols for organic varieties, variety mixtures and populations
2020 - 3 SNP voor boon t.b.v. beheer referentiecollectie
2020 - 4 Inventarisatie DNA/genen gecorreleerd met groepsindelingskenmerken
2020 - 11 Virustoetsen in vegetatieve paprika ontwikkelen
2020 - 13 Ringtoets CGMMV in komkommer
2020 - 14 Inventarisatie DNA technieken voor genotyperen van zaadgaarden
[2020 - 15 Projectmanagement]
2020 - 16 Gebruikswaardeonderzoek TPS (aardappel)
2020 - 18 Roos DNA database

Van de onderstaande projecten zijn al in november 2020 de eindrapportages besproken. Deze zijn nu niet meer bijgevoegd.

- 2019 - 4 Geautomatiseerd inlezen rasbeschrijvingen en verplaatsen bestaande rasbeschrijvingen
- 2020 - 5 Bepalen pitlengte bij ijsbergsla
- 2020 - 8 Gebruik van digitale beeldanalysetechnieken voor automatiseren van rasbeschrijvingen
- 2020 - 12 Resistentie Echte meeldauw (*Leveillula taurica*) in paprika. (fase 1)

Tussenrapportages

Hieronder vindt u de tussenrapportages per project.

2018 – 2 CGN-WUR B4EST *Fraxinus excelsior* - CGN-WUR

De inhoud van deze rapportage is gelijk aan de rapportage uit november 2020.

Operationele conclusie: Het project loopt volgens planning. Het project loopt tot en met mei 2022 dus er zijn nog geen definitieve conclusies.

Doel: B4EST will develop adaptive novel tree breeding strategies taking into account new diseases (ash dieback) currently threatening European forests. New relevant breeding targets (for higher resistance, sustainable productivity, etc.) will be identified for *Fraxinus excelsior*. The project will also provide genomic-based methodologies and operational tools (e.g., genomic selection) to accelerate breeding cycles and integrate underused genetic diversity.

Voortgang: In het project wordt vooral samengewerkt met INRA (Frankrijk) betreffende de analyse van herkomsttoetsen van essen, de opzet van de SNP array, inoculatietoetsen en de ontwikkeling van een nieuwe screeningsmethode (NIR tool) gebaseerd op nabij Infrarood spectrometry om gevoeligheid voor essentaksterfte ziekte te voorspellen. In zomer 2020 is een nieuwe serie inoculatie toetsen uitgevoerd, waarbij vegetatief vermeerderde essen kunstmatig geïnfecteerd worden met de schimmel (*Hymenoscyphus fraxineus*) die de essentaksterfte veroorzaakt. De NIR-tool wordt samen met het INRA ontwikkeld, die hiervoor een metingen aan de essen in Wageningen heeft uitgevoerd. Door Covid kon INRA in zomer 2020 niet naar Wageningen komen en hebben wij zelf de tweede serie NIR metingen uitgevoerd. Dezelfde klonen die ook worden gebruikt voor de inoculatietoetsen zijn hiervoor gebruikt. Voor de SNP array zijn in 2020 1000 bomen geselecteerd en hiervan monsters verzameld, die eind 2020/begin 2021 worden gegenotypeerd. Daarnaast zijn groei en ziektegegevens van twee bestaande proefvelden van essen geanalyseerd op genetische correlaties (identificatie van trade-offs tussen productie en resistentie).

Geschatte datum afronding: Vierjarig project, eind datum mei 2022

Knelpunten: Geen.

Strategische conclusie: Het project loopt op schema.

2019 - 7 DNA t.b.v. LMV en database opbouw in sla - Naktuinbouw

Operationele conclusies: Zowel de merkertoets als het opbouwen van een database lopen voorspoedig. Er is nog steeds een goede (betrouwbare) correlatie tussen de biotoets en merkertoets. Er zijn geen tegenspraken tussen merkertoets en biotoets en geen tegenspraken tussen merkertoets/biotoets en TQ. DNA van 1.560 rassen ligt klaar voor opbouwen database.

Doel: Nieuwe aanvragen voor kwekersrecht en/of toelating in de biotoets op te nemen én tegelijkertijd op een beperkt aantal planten te toetsen met de in 2018 ontwikkelde merker voor LMV resistentie. Het verzamelde DNA is direct de start van de opbouw van een DNA-database voor sla.

Voortgang: Ook in het voorjaar van 2021 is van alle in de schietersproeven opgenomen rassen (270) een monster genomen en toegevoegd aan de DNA database t.b.v. de database opbouw. Per ras zijn 8 individuele planten bemonsterd. Tevens zal op alle nieuwe aanvragen een merkertoets worden uitgevoerd (2 planten per ras). De merker doet het tot nu toe heel goed: de resultaten zijn zwart-wit. Er is geen ruis en het resultaat is consistent. De resultaten uit deze merkertoets en de biotoets komen overeen. Daarmee is de correlatie tussen biotoets en merkertoets nog steeds 100%. De merker-resultaten van de rassen die in voorjaar 2021 zijn toegevoegd zijn echter nog niet bekend. Er worden later dit jaar nog meer nieuwe rassen toegevoegd aan de DNA database (bestaande rassen uit reguliere proeven). In de DNA database is nu materiaal opgeslagen van 1.560 rassen.

Geschatte datum afronding: 3-jarig project; december 2021.

Knelpunten: tot nu toe geen

Strategische conclusie: nog niet getrokken

2020 - 7 Referentiecollectie tomaat aanvullen voor *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* en TSWV resistentie in tomaat - Naktuinbouw

Operationele conclusies: Het project loopt conform het projectplan. De nieuwe informatie van de monsters van de rassen uit nacontrole keuringen op basis van de TSWV merker leveren de DUS medewerkers veel tijdswinst op: onnodige vergelijkers worden nu niet meer meegenomen.

Doel: Het doel van dit project is om de ontbrekende gegevens met betrekking tot beide resistenties (documentatiegat) aan te vullen met toetsresultaten voor *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* (FORL) en Tomatenbronsvlekkenvirus (TSWV).

Voor TSWV zal de merkertoets uitgevoerd worden.

Voor FORL is er nog geen merkertoets beschikbaar. Er zal in dit project een merkertoets ontwikkeld worden. Vervolgens wordt deze merkertoets benut om de rassen van algemene bekendheid te toetsen.

Voortgang:

In totaal zijn 300 ZCB rassen getoetst met de gevalideerde en internationaal geaccepteerde TSWV merker.

De ontwikkeling van een FORL merker is afgerond. Het is een co-dominante merker die voor 90% effectief is. Voor 90% van de 70 tot nu toe geteste rassen wordt een goed resultaat behaald met de merker. Er wordt een goede correlatie gevonden met de biotoets. Slechts voor 1 ras is er een tegenspraak geconstateerd (Biotoets-RES; Merkertoets-SUSC). Er wordt nu door middel van sequenzen achterhaald wat daarvan de oorzaak zou kunnen zijn. Voor 10% van de rassen is er geen resultaat. Er wordt wel een amplicon gevormd maar de probes doen het niet. Dus we kunnen hier niets over zeggen. De biotoets moet uitsluitel geven. Er worden nog 150 ZCB rassen met de FORL merker getoetst.

Geschatte datum afronding: 31 december 2021

Knelpunten: Geen. De merker is 90% effectief. Er zullen dus gevallen zijn die niet met de merker kunnen worden opgelost.

Strategische conclusie: Nieuwe aanmeldingen kunnen snel worden vergeleken met de database voor TSWV en FORL. Dit maakt het selecteren van vergelijkers veel efficiënter en voorkomt dat onnodige vergelijkers worden geselecteerd en opgenomen in een veldproef.

2020 - 9 *Harmorescoll – harmoniseren van resistentiecollecties*

Operationele conclusies: Het doel van het project wordt geleidelijk bijgesteld van integratie naar samenwerking via een centrale database en gemeenschappelijke validatieregels voor de zaden en isolaten.

Doel: Het doel van dit project is (of was) integratie tussen de Europese collecties van pathogenen en plantmateriaal voor de uitvoering van door CPVO verplichte resistentietoetsen.

Voortgang:

- Er is een Sharepoint-site ingericht voor uitwisseling van bestanden tussen partners.
- Het eerste Annual Report over 2020 is aangeboden aan CPVO.
- Raoul heeft Task 1.2 overgenomen van Diederik. Task 1.2: Definition in the governance of the Harmorescoll Network and List of material.
- De praatsessies in WP1 zijn bijna klaar. WP1: Characterization of the future Harmorescoll Network and associated list of material.
- De ringtoetsen in Task 2 dreigen wat te vertragen. WP2: Inventory/availability of material (isolates, controls, differentials).
- Nicolas Denance (GEVES) geeft een presentatie over Harmorescoll bij UPOV in mei 2021.

Flankerend:

- Een nieuw vijfjarig contract voor de Plantum isolatencollectie gaat in op 1-1-2021. De definitieve versie is nog niet getekend.
- De afspraken tussen de Plantum isolatencollectie en WUR zijn op papier gezet. Dit betreft eigendom van isolaten waarover tot nu toe niets was afgesproken.
- Bij IBEB en IWGP worden afspraken beter op papier gezet.

Geschatte datum afronding: maart 2023

Knelpunten: Praatsessies zijn soms moeizaam door contradicties tussen beleidslijnen in verschillende landen en organisaties.

Sommige taakpakketten blijken te overlappen. Concrete doelstellingen ontbreken soms en moeten dan alsnog gezamenlijk worden vastgesteld.

Strategische conclusie: kan nog niet worden getrokken

2020 - 17 *zaaiknoflook*

Operationele conclusies: In november is een verkeerde geschatte datum eindafronding gegeven.

Doel: het komen tot een betrouwbare uniformiteitsbeoordeling van zaai knoflook.

Voortgang: volgens de proefopzet, zoals omschreven in het projectplan, zijn de monsters gezaaid en uitgeplant in de kas. Bemonstering ten behoeve van het DNA onderzoek is uitgevoerd. DNA analyse en morfologische beoordeling moeten nog uitgevoerd worden.

Geschatte datum afronding: augustus 2021

Knelpunten: geen

Strategische conclusie: kan nog niet worden getrokken

Eindrapportages

Hieronder vindt u de eindrapportages per project.

2020 - 2 DUS protocols for Organic Varieties - Louis Bolk Instituut

Operationele conclusies:

- Aanmeldingen van biologische rassen voldoen vaak niet aan de eis van uniformiteit in het DUS onderzoek, terwijl deze wel van waarde zijn voor de gebruiker en uniform zijn voor markt relevante eigenschappen.
- Door het nastreven van uniformiteit van een biologisch ras op alle UPOV / CPVO kenmerken gaat de gebruikswaarde voor biologische teelt, deels gebaseerd op heterogeniteit binnen het ras (i.c. het aanpassingsvermogen aan een brede set aan biotische en a-biotische condities) verloren.
- Een flexibel DUS protocol wat aansluit bij de uniformiteit van eigenschappen met een waarde voor de markt en ruimte laat voor variabiliteit in de overige kenmerken is ontwikkeld met de stakeholders en geconfronteerd met de uitkomsten van de proeven.
- De protocollen voor koolrabi en peen zijn nog niet 'klaar voor gebruik', maar kunnen als mogelijk alternatief protocol verder door worden ontwikkeld of dienen als model voor andere species; bijvoorbeeld in het kader van het "Temporary Experiment on Organic Varieties".
- Peen is van nature een gewas met een lager niveau van uniformiteit. Er wordt gewerkt met "relatieve uniformiteit", d.w.z. dat de heterogeniteit niet significant hoger mag zijn dan die van de referentierassen in de proef (in dit geval in de groep van OP Nantes 2 types).
- Het hanteren van het begrip "relatieve uniformiteit" biedt voor peen wellicht mogelijkheden voor een passende beoordeling van biologische rassen binnen het bestaande protocol.
- Het huidige sortiment koolrabi rassen toont een hoog niveau van uniformiteit en is overwegend van het type F1 hybride. De uniformiteit van een biologisch OP ras wordt in deze context al snel als onvoldoende beoordeeld op grond van de bladkenmerken, terwijl het voldoende uniformiteit op markt relevante eigenschappen en een goede gebruikswaarde heeft. Dit maakt koolrabi tot een geschikt model gewas om een alternatief protocol voor te ontwikkelen.
- Om de beoordeling van biologische koolrabi rassen te vergemakkelijken wordt aanbevolen om met de veredelaars te zoeken naar een goede set OP referentie rassen.

Doel: Biologische rassen (Organic Varieties) worden gekenmerkt door aanpassing aan de teeltomstandigheden in de biologische teelt zonder synthetische inputs en met een hoge mate van weerbaarheid en veerkracht tegen een brede range aan biotische en a-biotische condities. Om hiervoor beter toegerust te zijn worden biologische rassen met een meer heterogeen karakter ontwikkeld. De aanmelding van biologische rassen is vaak onmogelijk, omdat dit lagere niveau van uniformiteit niet past binnen de huidige DUS protocollen. Het doel van dit project is het ontwikkelen van een alternatief protocol voor registratie van deze rassen:

- Het ontwikkelen van criteria voor het vaststellen van de identiteit van biologische rassen met een meer heterogeen karakter.
- Het communiceren van deze resultaten met de stakeholders die betrokken zijn bij de registratie van biologische rassen.
- Er is gekozen voor twee model gewassen: peen en koolrabi.

Voortgang: Afgerond

Datum afronding: 31 december 2020

Knelpunten: Door de beperkingen als gevolg van de Covid-19 pandemie is er een proef aangelegd in de DUS beproeving bij Naktuinbouw en slechts één parallelle proef bij Bingenheimer Saatgut. De proef met koolrabi bij Bingenheimer is mislukt wegens vraatschade. Veldbezoeken waren beperkt en de besprekingen vonden overwegend virtueel plaats. Bezoeken aan andere veredelaars en registratie autoriteiten konden niet plaatsvinden.

Strategische conclusie: Het project was een nuttige oefening voor het ontwerp van een alternatief DUS protocol voor biologische rassen vanuit de invalshoeken van de registratie en de markt / veredeling.

- De voorgestelde protocollen met de daarbij geformuleerde punten van discussie worden ingebracht in de uitvoering van het “temporary experiment on Organic Varieties” (beoogde startdatum december 2021); een 7 jarig EU programma voor de ontwikkeling van procedures voor de toegang tot de markt van biologische rassen.

2020 - 3 SNP voor boon t.b.v. beheer referentiecollectie - Naktuinbouw

Operationele conclusies: Het ontwikkelen van de SNP-set loopt vertraging op door technische uitdagingen in de primer design.

Doel: een SNP set ontwikkelen voor boon om daarmee een database te genereren die kan worden gebruikt voor het management van referentierassen in de toekomst.

Voortgang: Uitgevoerd is het opzoeken en uitzaaien van de te onderzoeken rassen die representatief zijn voor de diversiteit. Het DNA is geïsoleerd. GBS experimenten zijn uitgevoerd. GT-Seq primers zijn ontworpen, besteld en uitgetest. Bij het uitvoeren van het eerste GT-Seq experiment werd duidelijk dat er veel ‘off-target’ amplicons zijn gesequenced. Bij de analyse om te achterhalen waardoor die off-target amplicons zijn ontstaan, is ontdekt dat de primer design bioinformatica pipeline sub-optimaal functioneert. Dit heeft grote impact op alle GT-Seq onderzoeksprojecten in de diverse gewassen. De consequentie is dat het ontwerp van primers moet worden geoptimaliseerd en de bioinformatica pipeline moet worden herschreven. Hier wordt momenteel hard aan gewerkt. Nieuwe primers moeten worden ontworpen uitgaande van de bestaande GBS dataset. We verwachten dat deze generieke bioinformatica uitdagingen in het voorjaar van 2021 duurzaam zijn opgelost.

Datum afronding: het ontwikkelen van de SNP-set heeft vertraging opgelopen door technische uitdagingen met de primer design bioinformatica pipeline. Dit werk zal alsnog worden afgerond en is naar verwachting klaar in het voorjaar van 2021. Het heeft geen impact op het tijdsplan van een vervolgproject.

Knelpunten: De SNP set is noodzakelijk om verdere stappen in de ontwikkeling naar een DNA database voor boon te verwezenlijken. De verdere stappen om te komen tot een DNA database voor boon zijn ondergebracht in een vervolgproject (2021-9 – showcase boon). De voortgang van dit project loopt geen vertraging op door de vertraging van de SNP set.

Strategische conclusie: Bij het ontwikkelen van een SNP set voor boon zijn er enkele fundamentele technische problemen ontdekt die nu worden opgelost. Een nieuwe primer

design bioinformatica pipeline stelt Naktuinbouw in staat zijn om betere primer sequenties te voorspellen en te ontwerpen. De betrouwbaarheid van DNA-gegevens kan goed worden gecontroleerd. Betrouwbare data leveren een bijdrage aan de acceptatie van deze technieken in het DUS-onderzoek.

2020 - 4 Inventarisatie DNA/genen gecorreleerd met groepsindelingskenmerken - Naktuinbouw

Operationele conclusies: De inventarisatie is uitgevoerd door protocollen te beoordelen, interviews met DUS experts te voeren en literatuur te raadplegen. In totaal is er een lijst samengesteld met 40 kenmerken waarvoor een DNA merker toegevoegde waarde zou hebben. Voor 14 van deze kenmerken is ook literatuur beschikbaar waar informatie over sequentie, gen posities en/of merkers in beschreven worden.

Doel: DNA merkers die voorspellen voor een traditionele eigenschap, zijn door UPOV-BMT algemeen geaccepteerd om te gebruiken in het DUS onderzoek (model 1 DNA merkers). Voorwaarde is wel dat er een betrouwbare correlatie moet zijn tussen de merker en de traditionele eigenschap.

Aan de hand van vooraf vastgestelde criteria, wordt een lijst opgesteld van kenmerken/eigenschappen waar een wens is om het kenmerk/eigenschap met een merker waar te nemen in plaats van met een morfologische observatie. Aan de hand van de opgestelde lijst, wordt er gericht in literatuur gezocht naar merkers/sequenties.

Voortgang: Er is een lijst van eigenschappen waar de DUS onderzoekers graag merkers voor zouden willen hebben opgesteld. De lijst is gedurende het project systematisch nagelopen. Halverwege het project is een tweede ronde van interviews uitgevoerd met de gewasspecialisten om bevindingen uit artikelen te bespreken en te kijken of deze overeenkomen met wat er in de bioassay's wordt waargenomen/vastgesteld. In totaal zijn 14 kenmerken geïdentificeerd waarvoor ook genetische informatie beschikbaar is. Deze kenmerken komen in potentie in aanmerking voor DNA merkerontwikkeling.

Datum afronding: 31 december 2020

Knelpunten: Geen

Strategische conclusie: Van de lijst met 14 potentiële kenmerken zullen een aantal worden geselecteerd voor DNA merker ontwikkeling in de nabije toekomst. Deze ontwikkeling wordt gedeeld met de UPOV en het CPVO.

2020 - 11 Virustoetsen in vegetatieve paprika ontwikkelen - Naktuinbouw

Operationele conclusie: de projectdoelen zijn gedeeltelijk gehaald.

Doel: vegetatieve aanmeldingen in paprika op dezelfde manier toetsen op ziekteresistenties als generatieve aanvragen. De toetsen kunnen niet in de kas worden uitgevoerd vanwege verspreiding van trips; daarom worden de toetsen in klimaatkasten uitgevoerd.

Voortgang: De toets met PVY: 0 heeft uitgewezen dat het vatbare controle-ras onvoldoende symptoom laat zien. Dit was onverwacht omdat hetzelfde ras in dezelfde omstandigheden wel een symptoom liet zien in 2018. Er zijn verschillende verklaringen denkbaar. Vermoedelijk zijn de stekken niet altijd in dezelfde conditie bij aanvang van de resistentietoets.

In de kas is m.b.v. een extra tent een PVY: 0 toets uitgevoerd. Ook deze toets gaf onvoldoende resultaat.

De toets met Tobamo P0 is mislukt, omdat een vatbare standaard ontbrak. Er zijn wel vatbare standaarden beschikbaar. Het stekken t.b.v. de toetsing is erg moeilijk.

De toets met Tobamo P12 is wel gelukt.

Datum afronding: 1-4-2021

Knelpunten: De uitvoering is lastig vanwege drie à vier maanden aanlooptijd voor uitgroei van zaailingen, gevolgd door uitgroei van stekken. In deze periode staan de planten in de kas (locatie 1) en heeft het weer invloed op groei en ontwikkeling. Het is nodig om regelmatig te kijken en de planning aan te passen aan de groei. Inoculeren vanuit de inoculumvoorraad is niet altijd probleemloos, maar een aparte vermeerdering voor deze kleine proef is moeilijk in te passen.

Ook als de klimaatkast beschikbaar is, blijft het een krappe kast met vrij weinig licht van TL lampen aan de zijkant. Als de paprikaplanten al doorgroeien, geven ze veel schaduw aan elkaar.

Er wordt inmiddels nagedacht over nieuwbouw met cellen waarin we de planten meer ruimte en licht kunnen geven. Op termijn moet er sowieso worden gevalideerd met LED licht. Het valideren van een toets met TL is daardoor niet meer opportuun. Naar verwachting zullen de cellen in 2022 of 2023 beschikbaar komen.

Strategische conclusie: Het lukt niet om vegetatieve aanvragen voor paprika op dezelfde manier te toetsen op resistentieziektes als generatieve aanvragen. Met het in gebruik nemen van nieuwe cellen in 2022 of 2023 verwachten we dit probleem op te kunnen lossen. In de tussentijd zullen voor vegetatieve aanvragen niet alle resistenties getoetst kunnen worden.

2020 - 13 Ringtoets CGMMV in komkommer - Naktuinbouw

Operationele conclusies: De bedrijven zijn het eens geworden over het gebruik van cv. Bonaire als grens tussen vatbaar en intermediair resistent voor DUS, mits Topspin zwaar is aangetast in dezelfde proef. Hiermee kan Naktuinbouw een protocol indienen bij UPOV en CPVO.

Doel:

1. Het standaardiseren en harmoniseren van de resistentietoets tussen bedrijven onderling.
2. Het maken van een geharmoniseerd protocol.

Voortgang: De resultaten van de ringtoets zijn besproken in de Plantum WG Cucurbits op 9 maart 2021. Hoewel er grote verschillen zijn tussen verschillende IR rassen, willen de bedrijven die verschillen niet gebruiken voor DUS. De reden hiervoor is dat er ook veel kleine verschillen in IR zijn. Daardoor is het onmogelijk om een grove indeling te maken. Het benoemen van de kleine verschillen moet aan de markt en aan Euroseeds overgelaten worden.

Er zijn weinig rassen met een niveau van resistentie tussen de IR-ondergrens-standaard Bonaire en de vatbare standaard Topspin. Daarom is een protocol dat het bestaan van zulke rassen negeert waarschijnlijk wel uitvoerbaar. Een paar procent probleemgevallen is niet erg. Dit is ook staande praktijk bij andere komkommervirussen.

Uit de ringtoets blijkt dat een goede symptoomontwikkeling op Topspin vereist is om een proef af te ronden. Soms moet de proef daarvoor langer blijven staan. Als Topspin niet in klasse 5 zit, is er geen verschil tussen Bonaire en Bluesbrother. Je kunt dan nog steeds de goede conclusie trekken, maar het geeft geen volledig beeld.

Naktuinbouw kan met deze consensus van bedrijven een protocol indienen voor DUS.

Pathostat is toegepast bij de verwerking van de gegevens.

Datum afronding: 9 maart 2020

Knelpunten:

De volgende revisie van Komkommer in UPOV en CPVO is nog niet ingepland.

Strategische conclusie:

Het delen van sortimentstoetsing onder code zou vaker moeten gebeuren. Op deze manier krijgt Naktuinbouw inzage in de toekomst. Dat is beter dan valideren op materiaal van het verleden.

2020 - 14 Inventarisatie DNA technieken voor genotyperen van zaadgaarden - CGN

Operationele conclusie: De studie is volgens planning uitgevoerd. Uit literatuuronderzoek en gesprekken met onderzoekers, bedrijven, is informatie gekregen over het toepassen van genotyperingsmethoden bij de twaalf betreffende boomsoorten.

Project doel: Voor een goede documentatie en registratie van zaadgaarden die op de Rassenlijst Bomen staan is het gewenst om DNA fingerprints van individuele bomen in zaadgaarden te hebben. Het doel van dit project is uitzoeken welke genotyperingsmethoden hiervoor het beste gebruikt kunnen worden.

Voortgang: Uit de inventarisatie blijkt dat voor bijna alle twaalf boomsoorten (behalve Acer platanoides) microsatelliet merkers beschikbaar zijn die direct toepasbaar zijn voor fingerprinting. Daarnaast blijkt uit de inventarisatie dat SNP genotypering bij negen boomsoorten wordt gebruikt voor diverse onderzoeksdoelen. Voor ons doel, het DNA-fingerprints van zaadgaardmateriaal, gaat het om relatief kleine aantallen monsters (enkele honderden) en relatief weinig benodigde SNP's. Op basis van de literatuurstudie is ingeschat

dat het aantal SNP's dat nodig is voor onderscheidbaarheid van individuen/klonen, afhankelijk van de soort, tussen de 50 en 200 SNP's ligt. Gezien deze hoeveelheid monsters en merkers komen technieken als GT-seq, rhAmp en KASP niet in aanmerking. De kosten per monster zijn te hoog bij deze technieken door hoge ontwikkelkosten. GT-seq en SNP-arrays (bijv. Axiom array of MassArray) zouden wel een optie zijn, indien ze al door andere laboratoria zijn ontwikkeld of toegepast worden (bijv. Fraxinus excelsior genotypering met GT-seq door Naktuinbouw of 4Tree tool uit B4est). RADSeq is alleen interessant bij 500 monsters of meer en als er een vorm van verrijking plaatsvindt, bijvoorbeeld met MobiSeq, waardoor er meer monsters in een enkele analyse meegenomen kunnen worden.

Voor gebruik van microsatelliet analyses moet de beschikbaarheid van apparatuur en ondersteuning gegarandeerd zijn voor de komende jaren. Uit navraag bij Applied Biosystems blijkt dat dit het geval is, waardoor microsatelliet analyse voor de komende jaren een optie blijft.

Voor enkele soorten (Fraxinus excelsior, Picea abies, Pinus sylvestris en Pseudotsuga menziesii) zijn Axiom arrays of SNP's voor MassArray genotypering (Larix en Quercus robur) ontwikkeld. De kosten om monsters met deze arrays te laten analyseren moeten t.z.t. opgevraagd worden, maar ook hier geldt dat dit relatief duur is als weinig monsters worden geanalyseerd.

Datum afronding: Het project is in 2020 afgerond

Knelpunten: geen

Strategische conclusie: Er is een duidelijk beeld verkregen van de verschillende opties voor DNA fingerprints. Vooralsnog lijkt microsatellietanalyse het kosten-efficiëntst voor de betreffende boomsoorten. Voor soorten waarvoor SNP arrays beschikbaar zijn of GT-seq wordt toegepast door anderen kan te zijner tijd op basis van offertes bekeken worden of dit een alternatief is voor microsatellieten.

2020 - 16 Gebruikswaardeonderzoek TPS (aardappel) - NAK en Naktuinbouw .

Operationele conclusies: Het onderzoek is in 2020 volgens planning uitgevoerd.

Doel: Het doel van het onderzoek is om na te gaan of CGO aan TPS (True Potato Seed)-aardappellrassen op basis van zaailingen tot andere resultaten leidt dan CGO op basis van pootgoed. Dit ook in verband met acceptatie van TPS-rassen in de EU. Daarnaast wordt, in verband met de gevonden variatie tussen planten bij TPS-rassen in SGA-gehalte, onderzocht hoe groot de variatie in SGA-gehalte is tussen planten van een vegetatief vermeerderd ras. Het resultaat van dit onderdeel zal mede bepalend zijn voor de beoordeling van SGA-gehalten van TPS-rassen.

Voortgang: Alle proeven zijn uitgevoerd volgens planning. De resultaten zijn geanalyseerd en de volgende resultaten kunnen worden vermeld:

- Phytophthora-proef: de proef is geslaagd. Gebleken is dat de waarderingscijfers die verkregen worden bij zaailingen redelijk goed overeenkomen met die bij planten opgegroeid uit knollen. Door het kleinere bladapparaat van de zaailingen stijgt het percentage aangetast bladoppervlak wel iets sneller dan bij planten opgegroeid uit

knollen, waardoor de waarderingscijfers op basis van zaailingen iets lager zijn. De resultaten zijn duidelijk en er is geen aanleiding om deze proef te herhalen in 2021.

- **Y-virus-proeven.** In het proefveld in Wageningen was het aantastingsniveau duidelijk hoger dan in Tollebeek. De rasverschillen, zowel bij de standaardrassen als bij de TPS-rassen waren hierdoor kleiner dan in Tollebeek. De rasverschillen bij zaailingen waren in Wageningen daarnaast nog kleiner dan bij planten opgegroeid uit knollen. De proef in Tollebeek heeft voor de zaailingen geen betrouwbare resultaten opgeleverd. Het aantal reacties in de Elisa-test waaruit afgeleid wordt dat het virus al dan niet aanwezig was, lag veel te laag: slechts 15% van het maximaal haalbare (ter vergelijking: bij de TPS-planten uit knollen was dat 90%). Er kunnen dus geen conclusies getrokken worden uit de proef van Tollebeek. Dit, gecombineerd met het feit dat de rasverschillen bij zaailingen in Wageningen klein waren, maakt dat er behoefte aan is om in 2021 in Tollebeek opnieuw een Y-virusproef uit te voeren met TPS-zaailingen.
- **SGA-proeven.** In de proef van Urk bleek dat zowel het niveau van de gehalten als de rasverschillen bij zaailingen vrijwel niet afweken van die bij planten opgegroeid uit knollen. In Tollebeek waren de SGA-gehalten van alle rassen duidelijk hoger dan in Urk. De SGA-gehalten van de zaailingen waren bij drie van de vier TPS-rassen veel hoger dan bij de planten opgegroeid uit knollen, terwijl dit bij één ras duidelijk lager was. Ook de rasverschillen waren bij zaailingen veel groter dan bij planten uit knollen. Dit afwijkende gedrag van de zaailingen maakt dat er behoefte aan is om in 2021 in Tollebeek opnieuw een SGA-proef uit te voeren met TPS-zaailingen.
- Het onderzoek naar variatie tussen planten in SGA-gehalte heeft laten zien dat er ook bij een vegetatief vermeerderd ras een behoorlijke variatie bestaat. Deze variatie is echter wel minder groot dan bij een TPS-ras.

Datum afronding: Het onderzoek van 2020 is per 31 december 2020 afgerond. Het onderzoek van 2021 (vervolgproject) is opgestart en de geschatte datum van afronding is 31 december 2021.

Knelpunten: Geen. De Raad voor plantenrassen is in januari 2021 akkoord gegaan met de voortzetting van het onderzoek in 2021.

Strategische conclusie: Het onderzoek met betrekking tot resistentie tegen Phytophthora heeft laten zien dat cultuur- en gebruikswaarde onderzoek aan zaailingen vrijwel tot dezelfde conclusies leidt als onderzoek op basis van pootgoed. Over resistentie tegen Y-virus en over SGA-gehalte zijn nog geen conclusies te trekken.

2020 - 18 Roos DNA database - Naktuinbouw

Operationele conclusies: Er is een GT-Seq SNP panel beschikbaar voor roos. De nieuw ontwikkelde software maakt het mogelijk de GT-Sequence data voor tetraploïden te analyseren.

Doel: Ontwikkelen van een SNP set en de implementatie van GT-Seq voor roos

Voortgang: Het GT-Seq labprotocol is geoptimaliseerd. Vooral op bioinformatica gebied is er veel gedaan. De GT-Seq scripts zijn aangepast voor tetraploïden (op basis van fit tetra) en geïntegreerd in de geautomatiseerde GT-Seq pipeline. Ook op dit project hebben de technische problemen met de primer design een impact gehad. Van de 200 SNPs voor roos zal nog een deel afvallen. Het is nog even de vraag of er voldoende overblijven om een

database mee op te bouwen. Er moet nog worden gerapporteerd naar de projectpartners van CIOFORA-IRBA over de resultaten van het plantmateriaal dat iedere partner heeft ingebracht in het project. De validatie moet nog worden uitgevoerd. Dat staat op de planning voor 2021. Voorwaarde is dat de SNP set dan compleet en definitief moet zijn.

Datum afronding:

Voor Rvp project 2020: 31 december 2020

Voor Naktuinbouw: 31 december 2021

Knelpunten: geen

Strategische conclusie: Dit project levert belangrijke kennis en nieuwe tools op die breed voor andere tetraploide gewassen toepasbaar zijn.