

Rapportage – executive summary – methodiekenprojecten Raad voor plantensoorten 2025

Hieronder volgt het overzicht met de eindrapportages van de methodiekenprojecten die in 2025 met de financiële ondersteuning door de Raad voor plantensoorten zijn uitgevoerd.

Samenvattingen inhoudelijk:

Van de volgende projecten is geen verslag aanwezig, deze projecten lopen door in 2026:

2024-14a	Protocol verification and future protocol revision for seed shallot varieties
2025-03a	Internationale harmonisatie en validatie SNP set sla
2025-07c	Digitaal platform voor gegevenscontrole van de rassenlijst bomen
2025-10a	Selecting similar varieties with image analysis and AI

In de voorjaarsvergadering van 2025 van de Raad voor plantensoorten, is het project “2024-15a Preliminary study of Naktuinbouw vision on DNA” gepresenteerd en besproken.

Eindrapport	Pagina
2023-01a Showcase Boon 2.0	1
2024-01a Onderzoek t.b.v. toestaan van vegetatieve vermeerdering van uit zaad verkregen bosbouwkundig teeltmateriaal	3
2024-04a Ontwikkeling van een SNP-merker set voor rassenonderzoek in Courgette	5
2024-09b Filling the DNA-database of greenhouse cut roses	6
2024-12a Identification and implementation of DNA markers for morphological traits in tomato	7
2025-04b Verificatieonderzoek DNA met morfologie in tomaat en ui	8
2025-08a Resistance marker development for fusarium (FOC1) in brassica	9

Eindrapportages

2023-01a SNP-database bean showcase 2.0

Operational conclusions:

The project aimed to advance international acceptance of a DNA-based method for selecting appropriate similar varieties in bean DUS trials. Operationally, the project made significant progress despite technical issues. The DNA database now includes all group 98 varieties and new 2025 applications. Group 98 is a group of reference varieties with similar characteristics. Collaborative work with the DUS expert is ongoing to define thresholds and integrate SNP data with field trial assessments.

Goal of the project

- International acceptance of a method in which DNA research is used in bean to arrive at the right set of similar varieties in the field.
- Collect DNA from new bean varieties, to keep the collection complete.
- Optimization of the SNP set compared to previous set used in previous projects R20-002 and R21-009.

Progress:

A new set of primers designed based on the DNALink data was tested and validated in the lab, and the bean collection was genotyped. Due to sequencing problems with the sequence provider, not all varieties from the reference collection were sufficiently sequenced to be analyzed. To draw a conclusion on how efficiently the SNP set could serve to distinguish varieties, focus was then given to varieties from group 98, the most difficult to be genetically separated. Our goal is now to use these results to extrapolate the usefulness of the SNP set in bean.

The database is now filled with all varieties from group 98 that were stored in the freezer, and the new applications of 2025. Analysis on how to use the database and setting up a potential threshold is ongoing together with the DUS expert. In the beginning of September, the trial of 2025 was assessed and will be correlated with the SNP data results. .

Bottlenecks:

Poor sequencing results were delivered by the sequencing provider for part of the plates. After internal discussions, a new strategy was devised with focus only on group 98. This group represents the most difficult to be genetically distinguished and will be used to prove the efficiency of this SNP set. Project is finalized in December, and a conclusion will be drawn on the group 98 instead of the whole collection.

Strategic conclusion:

The development of a DNA database will help the DUS expert by helping in the selection of more meaningful similar varieties and consequently reducing the size of field trials. It may also reduce, in some cases, the duration of the DUS field-examination from 2 years to 1.

2024-01a Onderzoek t.b.v. toestaan van vegetatieve vermeerdering van uit zaad verkregen bosbouwkundig teeltmateriaal

Operationele conclusies:

Het project is volgens planning uitgevoerd. Een terugkoppeling over de uitkomsten van het project richting de adviescommissie Rassenlijst Bomen moet nog plaatsvinden.

Doel

Ondersteuning standpuntbepaling over toestaan van in de handel brengen van vegetatief vermeerderd plantsoen uit zaad.

Voortgang

Er is een literatuurstudie uitgevoerd naar de stand van zaken rondom weefselkweek bij boomsoorten. De literatuursearch is uitgevoerd in Web of Science en richtte zich op de 46 belangrijkste Europese bosboomsoorten die onder de EU-bosbouwrichtlijn vallen. Er is gezocht welke methoden per soort worden toegepast, met welk doel, in welke ontwikkelings- of commercialisatiefase de techniek zit, en of er problemen zijn bij de overgang naar het veld (acclimatisatie). Ook is gekeken of de literatuur melding maakt van complicaties, somaklonale variatie of langetermijneffecten en risico's bij uitplant. Daarnaast zijn interviews afgenomen met experts, onderzoekers en bedrijven in zowel Nederland als omringende landen (Finland, Zweden, Oostenrijk, Duitsland, België). De gesprekken richtten zich op gebruik van *in vitro* vermeerdering, ervaringen, wetgeving en mogelijke kwaliteitseisen voor *in vitro* vermeerderd bosbouwkundig teeltmateriaal en specifiek voor via somatische embryogenese vermeerderd zaad. De bevindingen uit de literatuur zijn ook besproken met de geïnterviewden. Het geplande bezoek aan SilvaSelect, een Duits *in vitro* bedrijf, kon helaas niet doorgaan i.v.m. overname. Zij vermeerderen loofboomsoorten zoals Populus, Prunus avium, Pyrus pyraeaster, Robinia en Betula. Als alternatief staat een bezoek gepland met NW-FVA (Göttingen, Duitsland), een onderzoeksinstelling die aan *in vitro* vermeerdering van bosboomsoorten werkt.

Mogelijkheden en beperkingen van *in vitro* vermeerdering bij bosboomsoorten

In vitro vermeerdering is op experimentele schaal mogelijk voor alle onderzochte boomsoorten, maar niet voor elk soort even eenvoudig. Vooral langzaam groeiende loofboomsoorten (Quercus en Tilia) zijn lastiger. Voor sommige soorten (bijv. Fagus en Tilia) is er beperkte informatie over *in vitro* vermeerdering. Vermeerdering via axillair knopvorming of adventieve knopvorming wordt al decennialang toegepast. Dit is een natuurlijke en stabiele vorm van vermeerdering, maar niet efficiënt. Somatische embryogenese is efficiënter en wordt met wisselend succes toegepast. Toepassing op operationele schaal beperkt zich tot enkele soorten, met name naaldhout (Picea en Pinus soorten). De belangrijkste belemmering voor grootschalige *in vitro* vermeerdering is de relatief hoge kosten per boom. Ook zijn genotypeverschillen in relatie tot *in vitro* response en overgang naar levensvatbare planten beperkende factoren. Als het gaat om opschaling, dan is het gebruik van bioreactorsystemen zoals Temporary Immersion Systems (TIS) en Continuous Immersion Systems (CIS) het meest belovend. Deze systemen verbeteren de plantkwaliteit en verminderen de kosten, maar hyperhydriciteit blijft een uitdaging.

Toepassingen van *in vitro* vermeerdering

In vitro vermeerdering richt zich op materiaal van superieure kwaliteit en wordt voornamelijk toegepast in het veredelingsproces zelf en voor grootschalige productie van hoogwaardig plantmateriaal voor de bosbouw. Daarnaast worden *in vitro* technieken gebruikt voor onderzoek, productie van virusvrij plantmateriaal en cryopreservatie van bedreigde boomsoorten. In de gevonden voorbeelden in de literatuur over toepassing voor massaproductie gaat het in alle gevallen om de vermeerdering van zogenaamde 'elite genotypes', zoals cultivars, onderstammen, klonen met bewezen goede kwaliteit, plusbomen voor zaadgaarden of om de vermeerdering van zaden uit 'elite crosses' (family forestry). Somatische embryogenese wordt als belangrijke techniek gezien voor deze manier van veredelen, omdat klonale lijnen langdurig in een juveniele staat kunnen worden bewaard voor latere selectie en het de productie van een groot aantal planten uit elitekruisingen mogelijk maakt.

Genetische stabiliteit en somaklonale variatie

Voor een beperkt aantal soorten, vooral naaldhout, worden in de literatuurstudies genoemd over de genetische stabiliteit en somaklonale variatie na *in vitro* kweek. De meeste veldproeven om langetermijneffecten te onderzoeken hebben een looptijd van maximaal 15 jaar. Zeer langetermijneffecten van *in vitro* vermeerdering zijn dan ook niet beschreven, maar er worden genoeg voorbeelden genoemd in

de literatuur dat *in vitro* vermeerderd materiaal qua morfologie en vitaliteit niet verschilt van regulier vermeerderd materiaal. Fenotypische variatie, zoals dwerggroei, vertakking, bonte patronen, hoogte afwijkingen, gewijzigde takhoek en struikachtige vorm, komt voor, maar blijft binnen de grenzen die ook bij landbouwgewassen wordt waargenomen. De belangrijkste factoren voor het ontstaan van somaklonale varianten zijn de cellijn en tijdsduur in cultuur. De algemene opvatting is dat door gebruik te maken van geoptimaliseerde *in vitro* protocollen en door de tijd in cultuur te beperken negatieve effecten van *in vitro* vermeerdering op de ontwikkeling van planten kan worden vermeden.

Wet- en regelgeving

In verschillende landen is wetgeving van kracht die het gebruik van klonen, waaronder *in vitro* vermeerderd materiaal, reguleert. Deze nationale wetgeving bepaalt o.a. hoeveel en welke mix van klonen ingezet moet worden, hoe groot het gebied mag zijn dat met klonen beplant mag worden, in welke categorie klonaal materiaal mag worden verhandeld of legt een beperking op het aantal planten per kloon. Bijvoorbeeld in Zweden gelden beperkingen op het percentage vegetatief vermeerderd materiaal per bosgebied en worden richtlijnen gegeven voor genetische diversiteit, maar de uiteindelijke beslissing ligt bij de boseigenaar. In Finland bijvoorbeeld, zijn er geen areaalbeperkingen, maar strenge eisen die bepalen hoe klonen op de markt gebracht mogen worden en hoeveel planten er per kloon geproduceerd mogen worden, afhankelijk van de categorie (T en Q).

Binnen de OECD wordt somatische embryogenese (SE) gezien als een nieuwe productietechniek die gereguleerd moet worden. Momenteel wordt gediscussieerd over een mogelijke aanpassing van de regels en voorschriften van het OECD Forest Seed and Plant Scheme aan een dergelijke nieuwe productietechniek. Volgens de huidige OECD-regels (rule 3.4) kan vegetatief vermeerderd zaadmateriaal dezelfde certificeringscategorie krijgen als het originele zaad (Geselecteerd, Gekwalificeerd of Getest). Echter met vermeerdering via SE in de categorie 'geselecteerd' is er een risico dat er materiaal wordt vermeerderd dat niet de gewenste eigenschappen heeft als het niet op individueel niveau is getest. Dit probleem speelt niet in de "Tested" en "Qualified" categorieën, waar bomen individueel worden geselecteerd. Daarnaast gaat de discussie over het aanpassen van de regels met betrekking tot het testen van basismateriaal als technieken als SE worden gebruikt.

Knelpunten:

N.v.t.

Strategische conclusie

De literatuurstudie en expertinterviews tonen aan dat *in vitro* vermeerdering een veelbelovende techniek is binnen de Europese bosbouw, maar de commerciële toepassing blijft beperkt door hoge kosten, genotypeafhankelijke *in vitro* respons en de complexiteit van acclimatisatie. Hoewel somaklonale variatie geen groter risico lijkt te vormen dan bij andere niet-houtige gewassen, is het toepassen van geoptimaliseerde protocollen voor *in vitro*cultuur en het beperken van de cultuurtijd essentieel om ongewenste effecten te voorkomen. Langetermijneffecten zijn maar bij een beperkt aantal soorten onderzocht.

De techniek wordt voornamelijk ingezet voor de vermeerdering van hoogwaardig plantmateriaal. In de interviews en literatuur zijn geen voorbeelden beschreven van *in vitro* vermeerdering van uit zaad in de categorie 'Source identified' (de laagste categorie teeltmateriaal).

Enkele landen hebben wetgeving rondom het gebruik van klonen in de bosbouw, die gericht is op het waarborgen van de genetische diversiteit en kwaliteit bij vegetatieve vermeerdering.

Aangeraden wordt om de ontwikkelingen binnen de OECD nauwlettend te volgen, met name de discussie over herziening van regel 3.4 van het OECD Forest Seed and Plant Scheme, om de toepassing van somatische embryogenese tot de categorieën "Qualified" en "Tested" te beperken.

2024-04a Ontwikkeling van een SNP-merker set voor rassenonderzoek in Courgette

Operationele conclusie:

Het project is volgens planning afgerond

Doel:

Het doel is het efficiënter selecteren van vergelijkende rassen voor donkergroene courgette aanmeldingen, gebaseerd op DNA-profielen (UPOV-model 2).

Voortgang:

Het onderzoek heeft geresulteerd in een set van 139 SNP-markers, waarmee – op twee rassen na – alle 192 onderzochte rassen van elkaar konden worden onderscheiden.

De rassen opgenomen in het project, zijn een representatieve afspiegeling van het volledige courgettesegment, met extra aandacht voor de “donkergroene zucchini” groepen (type A, B, A/B en E). Voor deze groepen biedt de huidige Technical Guideline relatief weinig morfologische kenmerken om onderscheid op papier te kunnen maken, wat het lastig maakt om vergelijkers uit te sluiten om in een veldproef op te planten.

Met de ontwikkelde SNP-set kon voor nieuwe aanvragen succesvol de meest geschikte vergelijker worden voorspeld. Daarnaast wijzen de resultaten erop dat het aantal benodigde vergelijkers op basis van de similariteitswaarden kan worden gereduceerd. Door gebruik te maken van de SNP-set tijdens regulier DUS werk, kan de similariteitsdrempel worden vastgesteld. Om dit mogelijk te maken zal de database eerst moeten worden uitgebreid met rassen van algemene bekendheid.

Knelpunten:

N.v.t.

Strategische conclusie:

De ontwikkelde SNP database voldoet waar het voor ontwikkeld is. Nu moeten er meer rassen, van algemene bekendheid, vooral van de groep donkergroene zucchini, worden toegevoegd. Validatie van de SNP-set kan ook leiden tot het gebruik van de SNP-set voor het beoordelen van de rasechtheid van instandhouding monsters.

Het gebruik van de SNP-database voor courgette leidt tot meer efficiency in het DUS-onderzoek (minder vergelijkers) en in sommige gevallen (door het snel ontdekken van verkeerde informatie in de TQ) kan extra onderzoek worden voorkomen.

2024-09b Filling the DNA database of greenhouse cut roses

Operational conclusions

A total of 294 varieties (out of the 400 varieties that we estimated upfront) have been added to the database, which were directly requested from breeders. Some were delivered as cuttings and planted in the greenhouse, while others were provided as bunches of flowers. Additionally, 937 varieties were added to the database that had been stored as leaf material in the freezer. These are varieties sampled from the DUS trials conducted between 2002 and 2010. All varieties have been checked for trueness to type, and similarities in the database have been investigated. There are still a few varieties that require clarification, and those matters are ongoing. Currently, there are more than 2600 varieties present in the database.

Goal of the project

There is a well-functioning DNA-database for greenhouse cut roses available within Naktuinbouw. This database was created out of several previous projects from 2017 to 2022. The database has been set up to make the quality of the distinctness decision even more reliable. As a result, the chance of wrongful granting Plant Breeders' Rights is reduced and Plant Breeders' Rights in general is strengthened as a result. In addition, Naktuinbouw became less dependent on the External Crop Experts. In the DUS test of greenhouse cut roses, other quantities of plants are included in the trial when a candidate variety is a mutation variety. In the DUS tests on cut roses 10 plants are transplanted for varieties that are the result of a crossing and 20 plants for varieties that are the result of a mutation. Differences between a crossing and mutation can be determined based on DNA.

As a result of the above, it becomes clear that it is very important to have as many varieties as possible available in the DNA database. In this way there is a maximum benefit from the DNA-analysis. DNA is available of the varieties that have been in DUS trials since 2011. The database must be completed with varieties that were not included in DUS trials (varieties without Plant Breeders' Rights that were not needed as a similar variety) and varieties that were included in our trials before 2011. The expectation (based on counts from our database and Plantscope) is that there are still approximately 400 varieties available that need to be included in the database.

Progress

The available varieties are included in the database. There are still a few varieties that require clarification about trueness to type and/or if they concern a mutation variety or not, and those matters are ongoing. New varieties will be added into the database, and non PBR varieties will be added to database. This will be a continues process.

Bottlenecks

No bottlenecks have emerged within the project

Strategic conclusion

In this project, 1231 rose varieties were successfully added to the database. The varieties genetic relations were calculated and checked. If matches were found between varieties, they were reported to the crop specialist for further investigation. After this project the database contains in total the genotypes of more than 2600 different varieties. These genotypes are available for use to support the DUS trials in cut-rose and for variety owners in case of infringements or other identification questions.

The outcome of this project is successfully integrated into the DUS testing process, The SNP database of cut rose will be use as a tool to select similar varieties of common knowledge for new applications. It will reduce the number of similar varieties, in the greenhouse DUS-tests, to strictly the very close ones.

2024-12a Identification and implementation of DNA markers for morphological traits in tomato

Operationele conclusie:

Het project is volgens planning afgerond

Doel:

Het doel is het ontwikkelen van twee merkers, één voor zelf-toppen en één merker voor uniforme rijping (groenkraag).

Voortgang:

Voor beide kenmerken zelf-toppen en groenkraag zijn merkers ontwikkeld. Met beide merkers zijn 467 rassen getest en is een 100% correlatie vastgesteld.

Doorgroeiend



Zelftoppend



Kenmerk doorgroeiend of zelftoppend

Tomaten zonder en met groenkraag

Knelpunten:

Geen.

Strategische conclusie:

De merkers voor zelf-toppen en uniforme rijping (groenkraag) helpen in een vroegstadium om te bepalen of een ras zelf-toppend is en de aan- of afwezigheid van een groenkraag (uniforme rijping).

Een vroege controle, nog voordat de DUS-proef begint, leidt in het DUS-onderzoek tot meer efficiency. Door met de juiste informatie en de juiste vergelijkers te beginnen aan een proef, wordt voorkomen dat er onnodige vergelijkers worden meegenomen en proeftuinruimte in beslag wordt genomen. De ontwikkelde merkers voor zelf-toppen en uniforme rijping worden toegevoegd aan de bestaande set van merkers. Hierdoor worden de kosten van DNA-bemonstering verdeeld worden over meer kenmerken.

2025-04b Verificatieonderzoek DNA met morfologie in tomaat en ui

Operationele conclusie:

Het project is volgens planning afgerond

Doel:

Het doel van dit project is vast stellen of het routinematige mogelijk is de rasechtheid verifiëren van instandhoudingsmonsters of verificatiemonsters op basis van het genotype in plaats van het fenotype van tomaat en ui.

Voortgang:

De rasechtheid is vastgesteld door het nieuwe instandhoudingsmonster te vergelijken met het goedgekeurd instandhoudingsmonster op basis van de ontwikkelde GT-seq SNP-panels. Vervolgens heeft er een verificatie in het veld plaats gevonden om te kijken of de resultaten met elkaar correleren.

In tomaat (383) en in ui (119) zijn nieuwe instandhoudingsmonsters met beide methoden geverifieerd op rasechtheid. Dus zowel via een veldonderzoek als een moleculair onderzoek. In beide gewassen zijn de resultaten zeer positief. In tomaat komt in 95% van de gevallen de DNA-conclusie over rasechtheid overeen met de beoordeling van rasechtheid op basis van morfologie. En in ui is dat 99%. Er worden met deze methode worden geen rassen over het hoofd gezien die op morfologische basis duidelijk niet rasecht zijn

Knelpunten:

N.v.t.

Strategische conclusie:

Voor het rasechtheidonderzoek van nieuwe instandhoudingsmonsters van hybride rassen wordt vanaf 2026 gebruikt te maken van de GT-seq SNP -panels. De uniformiteit wordt beoordeeld in een veldproef. Voor open bestoven rassen wordt nog wel een Goedgekeurd zaaizaad monster meegenomen.

Rassen waarbij twijfel bestaat op -basis van DNA worden altijd beoordeeld in een veldproef.

2025-08a Marker development for fusarium (FOC1) in brassica

Operational conclusions:

The project is performed conform project plan and finalized.

Purpose:

The aim of this project is:

- to develop a TaqMan marker targeting the FOC1 gene
- to determine the correlation with the bioassay and
- to validate the developed markers

Progress:

Two SNPs were selected for marker development, based on the paper of Lv et al., 2014.

Primer sets for both SNPs have been successfully developed and validated to perform in a multiplex PCR. For the validation of the multiplex PCR the applications between 2019 and 2025 of white cabbage, red cabbage and savoy cabbage (in total 176 varieties) were tested, showing 100% correlation compared to information on the TQ, or bioassay results.

The protocol was validated by a second person by testing several varieties, leading to the same results as found the first-time testing.

Bottlenecks:

With the current test, it cannot be determined on which allele the detected mutations are located. If both mutations are present on the same locus, the resulting phenotype could be resistant rather than susceptible, because an intact dominant gene would still be present on the other chromosome. This possibility is noted in the protocol; however, such a haplotype has not yet been observed.

In the article of Sato et al. 2019, an additional susceptible allele was described. This allele does not have the 1bp insertion or the 10 bp deletion. This allele has a single mismatch within the 10bp resistance probe binding site. This can lead to two possible outcomes: Firstly, the probe fails to bind, causing no signal in homozygous varieties. Secondly, the probe binds although with less efficiency. This would cause a resistant call on a susceptible cultivar. The extend of the presence of this allele in commercial cultivars is unknown.

Strategic conclusion:

The markers will be used in DUS testing and allow an early check of the TQ characteristics of applications, allowing to start trials with accurate data and with similar varieties selected on the basis of correct and controlled information.