

## **Rapportage – executive summary – methodiekenprojecten Raad voor plantenrassen 2021**

Hieronder volgt het overzicht met de rapportages van de methodiekenprojecten die in 2021 met financiële ondersteuning door de Raad voor plantenrassen zijn uitgevoerd.

### ***Samenvatting inhoudelijk:***

Onderstaand project is vertraagd

2021 – 3 Oriëntatie DNA met Tulp – (Naktuinbouw/KAVB). Door het wegvallen van de projectmedewerker bij de KAVB is het project in het najaar niet afgerond. Daarom is er een tussenrapport en geen eindrapport aangeleverd.

### Tussenrapportages

2020 – 9 Harmorescoll tussenrapportage (Naktuinbouw)  
2021 – 1 Vervolgproject rasafstanden tulp (Naktuinbouw/KAVB)  
2021 – 3 Oriëntatie DNA met Tulp – (Naktuinbouw/KAVB)  
2021 – 9 SNP database boon showcase (Naktuinbouw)  
2021 – 17 DUS onderzoek voor TPS rassen (Naktuinbouw/NAK)

### Eindrapportages

2018 - 2 B4EST Fraxinus excelsior (CGN-WUR)  
2019 - 7 DNA ten behoeve van het toetsen van LMV resistentie met de merker en database opbouw in sla (Naktuinbouw)  
2020 - 7 Referentiecollectie tomaat aanvullen voor Fusarium oxysporum f. sp. radidis lycopersici en TSWV resistentie in tomaat (Naktuinbouw)  
2021 – 4 Digitaliseren van DUS materiaal (Naktuinbouw)  
2021 - 5 Merker ontwikkeling FF Tomaat (Naktuinbouw)  
2021 - 6 Classificatie van plantenrassen in groepen (Naktuinbouw)  
2021 - 10 Oplossen technische problemen in de GT-Seq SNP set voor ui (Naktuinbouw)  
2021– 11 Vernieuwing van het rasseninformatiesysteem t.b.v. de Rassenlijst Bomen. (CGN-WUR)  
2021 – 12 GIS-app voor keuring uitgangsmateriaal t.b.v. de Rassenlijst Bomen (CGN-WUR)  
2022 – 16 CGO methodiekenonderzoek aan TPS rassen (Naktuinbouw/NAK)

Van de onderstaande projecten zijn al in november 2021 de eindrapportages besproken. Deze zijn nu niet meer bijgevoegd.

2021 - 8 Leveren data Engels Raaigras t.b.v. INVITE  
2019 - 7 DNA ten behoeve van het toetsen van LMV resistentie met de merker en database opbouw in sla - Naktuinbouw

## Tussenrapportages

*Hieronder vindt u de tussenrapportages per project.*

### 2020 – 9 Harmorescoll tussenrapportage

**Operationele conclusies:** De contouren van een gemeenschappelijke database van referentiematerialen staan op papier. Materialen in de database zullen decentraal worden uitgeleverd. Toegang tot de database wordt bewaakt door een commissie aan de hand van validatieregels. GEVES geeft aan dat MATREF blijft bestaan en waar mogelijk zal worden uitgebouwd. Naktuinbouw geeft aan dat de Plantum isolatencollectie zal blijven bestaan. Daarnaast wil Naktuinbouw zich sterk maken voor het toevoegen van differentials aan het systeem. In eerste instantie alleen van sla en spinazie. Andere mogelijkheden worden nog onderzocht. Bedrijven zijn bereid om hierbij mee te denken.

**Doel:** Het doel van dit project is integratie tussen de Europese collecties van pathogenen en plantmateriaal voor de uitvoering van door CPVO verplichte resistentietoetsen

**Voortgang:** Belangrijkste mijlpalen waren de bijeenkomst van het Steering Committee in November 2021 en het schrijven van het jaarverslag in januari 2022. Het jaarverslag is afgerond in februari, en ligt nu ter beoordeling bij CPVO. De voortgang in de verschillende werkgroepen is beschreven in het jaarverslag. Ook zijn er presentaties geweest in CPVO en UPOV vergaderingen. Er is sprake van vertraging op centrale onderdelen van het project. Prioritering van materialen voor validaties is nog niet afgerond. Hierdoor zijn tot op heden geen concrete validatietoetsen gepland. De vertraging wordt deels veroorzaakt door de coronacrisis. Alle overleg heeft tot nu toe plaatsgevonden via online bijeenkomsten. Om de projectdoelen te kunnen halen, lijkt een verlenging van het project de enige oplossing. Daarom is een verlenging van het project aangevraagd bij het CPVO.

**Knelpunten:** In de toekomst zal een validatiedossier nodig zijn om isolaten en controles via Harmorescoll aan te kunnen bieden aan derden. Voor Naktuinbouw is het belangrijk dat we onze eigen controlerassen kunnen blijven gebruiken na een interne validatietoets. Dit knelpunt is besproken met GEVES en heeft geleid tot een strategisch document over flexibiliteit in DUS. Door een getrapte validatie houden we flexibiliteit en efficiency, zonder in te leveren op kwaliteit.

**Strategische conclusie:** Kan nog niet worden getrokken

### 2021 – 1 Vervolgproject rasafstanden tulp

**Operationele conclusie:** in verband met Corona is het project met één jaar uitgesteld. In 2021 is een start gemaakt met het vervolgproject rasafstanden tulp en dit loopt conform projectplan.

**Doel:** inzicht krijgen in de geschiktheid van de (additionele) kenmerken en kenmerkexpressies in de UPOV-richtlijn / CPVO-protocol bij het vaststellen van de onderscheidbaarheid. Op basis van dit onderzoek zal er worden gekeken naar een beleidslijn om de rasafstand in de praktijk beter hanteerbaar te maken.

**Voortgang:** in het voorjaar van 2021 zijn de rassen geselecteerd die bij dit project betrokken worden. Aan deze rassen zijn de eerste waarnemingen gedaan en verwerkt. Hierbij is een formulier besproken, ontworpen en vastgesteld om de waarnemingen voor alle

geselecteerde cultivars zo rechthoekig/uniform mogelijk te houden. De eerste observaties werden gedaan aan de hand van de referentiecollectie tulp op de KAVB proeftuin in Lisse en een aantal relevante nieuwe aanmeldingen voor het kwekersrecht seizoen 2020-2021. In april 2022 beginnen de waarnemingen voor dit onderzoeksjaar. Kenmerken die in 2021 zijn genoteerd worden in 2022 opnieuw beoordeeld op hun stabiliteit. Daarnaast is een kleine proef ingezet om de invloed van de bolmaat op bepaalde kenmerken te testen.

**Geschatte datum afronding:** 31-12-2023

**Knelpunten:** geen.

**Strategische conclusie:** het is nog niet mogelijk om een strategische conclusie te trekken.

### 2021 – 3 Oriëntatie DNA met Tulp (Naktuinbouw/KAVB)

**Operationele conclusies:** Slechts een deel van de geplande werkzaamheden is uitgevoerd. Tot en met juli 2021 zijn er werkzaamheden verricht aan dit project, daarna niet meer. De redenen daarvoor zijn: tijdgebrek bij de projectleider van Naktuinbouw en het feit dat de projectmedewerker van de KAVB een andere baan heeft en niet meer deelneemt aan dit project. Er is meer tijd nodig om dit project af te ronden.

**Doel:** Een oriëntatiestudie

Voorafgaand aan het traject om een SNP-set te ontwikkelen en een DNA database op te zetten (zoals dat voor andere gewassen al loopt), zal er eerst een oriëntatiestudie (haalbaarheidsstudie) worden uitgevoerd. De reden dat deze oriëntatiestudie voor tulp nodig is terwijl er al aan een DNA database van andere gewassen wordt gewerkt is voornamelijk het gevolg van de grote complexiteit van het genoom van tulp en het grote gehalte aan repeterende sequenties. Dit maakt dat de standaard werkwijze die voor andere gewassen wordt gehanteerd om tot een SNP set te komen voor tulp niet zal werken. Daarnaast is een goed referentiegenoom noodzakelijk. Er is op dit moment geen gepubliceerd referentiegenoom van tulp beschikbaar. Deze oriëntatie zal ons leren of het ontwikkelen van een SNP set voor tulp en het opbouwen van een DNA database haalbaar is, op welke termijn, voor welke prijs en wat de randvoorwaarden zijn. Deze informatie is belangrijke input voor het eventuele vervolgproject.

- Literatuurstudie
- Oriënteren op technologische mogelijkheden door gesprekken met onderzoeksinstituten; welke informatie is publiek beschikbaar of waartoe kunnen wij toegang krijgen? Welke sequence informatie kunnen we zelf, of met partners, genereren?
- Oriënteren op potentiële samenwerkingen met partijen uit de sector, gesprekken met Anthos, BQ, Floricode en BKD.
- Er zal worden nagegaan bij Baseclear en/of Dümmer Orange of het bestaande, bij hen bekende referentiegenoom voor dit doel mag worden gebruikt.
- Inventarisatie van probleemgevallen in DUS en andere problemen die betrekking hebben op onderscheidbaarheid
- Voorbereiden Business case als opmaat voor een vervolgproject

**Voortgang:** De literatuurstudie is uitgevoerd. Tevens zijn diverse gesprekken gevoerd met Dümmer Orange, WUR, Naturalis, Iribov, Brett Wilson.

Er zijn 3 meetings geweest met alle projectteamleden.

Tijdens de Ornamental Expert Meeting (OEM) van het CPVO is over dit project gerapporteerd.

Nog uit te voeren: Oriënteren op potentiële samenwerkingen met partijen uit de sector, gesprekken met Anthos, BQ, Floricode en BKD; Inventarisatie van probleemgevallen in DUS en andere problemen die betrekking hebben op onderscheidbaarheid; Voorbereiden business case als opmaat voor een vervolgproject.

**Datum afronding:** Eind 2022

**Knelpunten:** Tijdgebrek

**Strategische conclusie:** het is nog niet mogelijk om een strategische conclusie te trekken.

### 2021 – 9 SNP database boon showcase (Naktuinbouw)

**Operationele conclusies:** Het project loopt goed en is op schema. Er is veel werk verricht aan het ontwikkelen van de SNP set en het genotyperen van 560 rassen. Daarmee hebben we een database opgebouwd.

**Doel:** DUS onderzoek voor boon verbeteren

**Voortgang:** Van 560 rassen zijn zaden uitgezocht in de zaadkelder, zaden gezaaid, kiemplanten bemonsterd, blaadjes bemonsterd voor DNA extractie, GT-Seq uitgevoerd met een set van 162 SNPs, sequence libraries gemaakt en zij de rassen vervolgens gesequenced. Uit de voorafgaande pilot sequence experimenten waarin de SNP set werd geoptimaliseerd en een klein deel van de rassen is onderzocht, bleek al dat de rassen van elkaar kunnen worden onderscheiden. Zelfs binnen de 'groep 98' waar het afstrepen van vergelijkers lastig is. Nadat de grote bulk aan sequence data is geanalyseerd zijn we klaar voor de volgende fase in het project: het uittesten van de nieuwe DUS procedure met DNA. Daarvoor is een plan doorgesproken.

De DUS medewerkers blijven bijhouden hoeveel tijd ze kwijt zijn aan het zoeken van vergelijkers, zodat de kosten-baten analyse straks ook met terugwerkende kracht kan worden gedaan.

**Datum afronding:** eind 2023

**Knelpunten:** We weten nu nog niet of het onderscheidend vermogen van de SNP set goed genoeg is. Daarover kunnen we meer zeggen als de sequentie data zijn geanalyseerd.

**Strategische conclusie:** Het is nog niet mogelijk om een strategische conclusie te trekken.

### 2021 – 17 DUS onderzoek voor TPS rassen (Naktuinbouw/NAK)

**Operationele conclusies:** Het onderzoek wordt volgens planning uitgevoerd.

**Doel:** Een erkende DUS test voor aardappelen uit zaad.

**Voortgang:** In 2021 zijn er 3 proeven aangelegd om risico's te spreiden. 2 proeven op de locatie in Tollebeek en 1 proef op de locatie Roelofarendsveen. Uiteindelijk is 1 proef op de locatie Tollebeek gekozen waar de waarnemingen in gedaan zijn.

De proef is direct na het planten afgedekt met luizengaas om vroegtijdige virusoverdracht te voorkomen. Na 6 weken is dit luizendoek verwijderd zodat de waarnemingen konden starten. Vlak voor het plaatsen van het luizendoek is de proef voorzien van druppelirrigatie zodat de planten onder optimale omstandigheden konden aanslaan en groeien.

Alle veldwaarnemingen zijn uitgevoerd aan individuele planten. Na de oogst zijn de knollen ook per plant beoordeeld en zijn er per plant 2 knollen bewaard. Februari 2022 is er 1 knol per plant opgeprikt om de lichtkiemen te kunnen beschrijven. De definitieve beschrijving van de lichtkiemen zal afhankelijk van de groei plaatsvinden in de derde week april 2022.

De veldwaarnemingen zijn geanalyseerd en op basis van 1 jaar kunnen we nog geen duidelijke conclusie trekken welk type waarneming het beste past per kenmerk: visuele waarneming per veld of visuele waarneming per plant

Voor seizoen 2022: de opkweek verder optimaliseren en de waarnemingen op dezelfde manier als 2021 uitvoeren. Dit seizoen worden het CPVO en de desbetreffende Examination Offices (EO's) uitgenodigd voor een veldbezoek om ervaringen te delen. Het Bundessortenamt heeft met ingang van 2022 ook een aanmelding waardoor de samenwerking intensiever zal worden.

**Datum afronding:** Driejarig project, einddatum december 2023

**Knelpunten:** Discussiepunten met CPVO en Examination Offices, voor zover geaccrediteerd voor aardappel. De eventuele aanpassingen van het Technical Protocol (TP) blijven als voorheen gericht op:

- Opkweek en teelt TPS
- Uniformiteitseisen (mogelijk verschillende normen voor 2n en 4n hybrides)
- Mogelijke 'off-types' benadering voor 2n hybrides en '(relatieve) variantie' benadering voor 4n hybrides.
- Waarnemingen per individuele plant, (VS), of per veld, (VG).
- Relevantie verschillende kenmerken (inclusief lichtkiemkenmerken)

**Strategische conclusie:** kan nog niet getrokken worden

## Eindrapportages

Hieronder vindt u de eindrapportages per project.

### 2018 – 2 B4EST Fraxinus excelsior (CGN-WUR)

**Operationele conclusie:** Het project loopt volgens planning. Momenteel loopt er een aanvraag vanuit de projectcoördinator (INRAE) bij de EU om het project enkele maanden te verlengen i.v.m. met vertragingen door corona. Het project loopt contractueel tot mei 2022, maar zou dan 30 september 2022 worden afgesloten.

**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:**

- WP 1: binnen dit werkpakket heeft CGN, samen met het Franse Nationale Instituut voor Landbouwkundig Onderzoek (INRAE) zich gericht op het kwantificeren en evalueren van genetische variatie voor resistentie tegen essentaksterfte. CGN heeft hiervoor gegevens geanalyseerd van groei en natuurlijke infectie van essentaksterfte uit twee bestaande toetsproeven binnen het CGO onderzoek. De resultaten zijn verwerkt in de Deliverable D1.4 - Evidence of genetic variation for resistance and tolerance to abiotic and biotic stresses in FRM and breeding populations. Daarnaast zijn in de periode 2018 – 2021 kunstmatige infectieproeven uitgevoerd op klonaal materiaal. Tweehonderd individuen (genotypen) van Fraxinus excelsior afkomstig uit CGO toetsproeven, genenbank, zaadgaarden en bosgebieden met hoge infectiedruk werden vegetatief vermeerderd en geïnoculeerd met de schimmel. Een deel van deze klonen is ook gebruikt voor ontwikkeling van een nieuwe screeningsmethode gebaseerd op nabij infrarood spectroscopie (NIR spectrometry) om gevoeligheid voor de ziekte te voorspellen. In samenwerking met INRAE zijn twee NIR experimenten (2019 en 2020) uitgevoerd. De resultaten van laesielengte en topscheut sterfte-symptomen in de klonen in combinatie met de NIR-spectrometrie data worden nu geanalyseerd. De resultaten worden gebruikt voor een manuscript 'First demonstration of NIRS as a predictive tool for Fraxinus excelsior susceptibility to Hymenoscyphus fraxineus'. Het klonale materiaal dat in het inoculatie-experimenten en NIR metingen wordt gebruikt, is ook binnen WP3 gegenotypeerd.
- Daarnaast zijn data uit bestaande toetsproeven van CGO geanalyseerd om te kijken of er een correlatie is tussen gevoeligheid voor essentaksterfte en productie- (overleving, diameter- en hoogte groei) en kwaliteitskenmerken (stamvorm, vorken) (WP2 identificatie van trade-offs tussen productie en resistentie). In totaal werden 50 nakomelingschappen en 17 herkomsten gebruikt op twee locaties die verschillen in infectiedruk. Er werden matige tot hoge correlaties gevonden tussen de kenmerken. Hoge mortaliteit als gevolg van de impact van essentaksterfte verhinderde verdere analyses van deze proeven. De analyses en resultaten zijn gerapporteerd in de deliverable D2.1.
- WP3: voor de 4TREE SNP array zijn in totaal 1000 bomen geselecteerd en monsters verzameld door CGN, die in 2021 zijn gegenotypeerd. INRAE heeft ook ongeveer 1000 genotypen gegenotypeerd. De 1000 genotypen zijn gekozen omdat ze een zoveel mogelijk genetisch diverse genepool vertegenwoordigen, bestaande uit potentieel

tolerante/resistente en niet-tolerante genotypen, waaronder materiaal dat afkomstig is uit Nederland maar ook afkomstig is uit andere geografische regio's in Europa. Alle individuen zijn ook gefenotypeerd door CGN voor essentaksterfte op basis van natuurlijke infectie en (een deel) op basis van kunstmatige infectie. De SNP data van deze 2000 individuen worden momenteel gebruikt voor een gezamenlijke GWAS analyse. In 2021 is besloten om nog een seizoen met waarnemingen toe te voegen om de snelheid van ziekteontwikkeling beter in kaart te brengen, zowel voor de proeven in Nederland als in Frankrijk.

Datum afronding: Vierjarig project, eind datum mei 2022 volgens contract. Waarschijnlijk wordt het project verlengd met 5 maanden.

**Knelpunten:** Geen.

**Strategische conclusie:** In het project wordt vooral samengewerkt met INRAE (Frankrijk) betreffende de analyse van herkomsttoetsen van essen, de opzet van de SNP array, inoculatioetsen en de ontwikkeling van een nieuwe screeningsmethode (NIR tool) gebaseerd op nabij Infrarood spectrometry om gevoeligheid voor essentaksterfte ziekte te voorspellen. Het doel is uitgangsmateriaal te selecteren dat kan dienen als bronpopulatie voor verdere selectie en aanleg van zaadgaarden. De inoculatieproeven en NIRmetingen geven duidelijke verschillen tussen genotypen voor symptoomvorming van essentaksterfte. Over het voorkomen van essentaksterteresistentie in het geanalyseerde materiaal op basis van de GWAS kan nog geen conclusie getrokken worden. Wel is duidelijk dat de 4TREE SNP- array goed te gebruiken is voor het in kaart brengen van populatie genetische structuur en familie relaties en daarmee het bewaken van de genetische diversiteit in uitgangsmateriaal van essen.

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

**Operationele conclusies:** Het project is volgens plan afgerond.

**Doel:** Een deel van de (iets) oudere tomatenrassen en/of kwekersrechtenaanmeldingen onderzocht in het buitenland zijn nog steeds onbekend in hun resistentie tegen *Fusarium oxysporum f. sp. radicis lycopersici* (FORL) en Tomatenbronsvlekkenvirus (TSWV). Deze resistenties worden tegenwoordig getoetst en gebruikt om vergelijkers af te kunnen strepen t.b.v. DUS onderzoek in tomaat.

Het doel van dit project is om de ontbrekende gegevens met betrekking tot beide resistenties (documentatiegat) aan te vullen met toetsresultaten voor beide ziekten.

**Voortgang:** In totaal zijn 300 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% voorspellend is. In ongeveer 10% wordt er geen resultaat verkregen. Voor deze 10% is het niet mogelijk om een conclusie voor deze rassen via een merkertoets voor FORL te geven. De biotoets moet uitsluitend geven.

Er zijn 70 rassen met de FORL merker getoetst. Er is +/-90% correlatie met de biotoets. Bij 1 ras is er een tegenspraak geconstateerd (Biotoets resistent; Merkertoets vatbaar).

Er is contact geweest met de raseigenaar deze gaf aan dat de introgressie van het FORL locus kan verschillen tussen rassen. De huidige merkers zitten buiten het gen, waardoor bij een korte introgressie de merker niet voorspellend is. Op dit moment is er nog te weinig bekend over het FORL locus, waardoor een specifiekere merker nog niet mogelijk is.

**Geschatte datum afronding:** 31 december 2021

**Knelpunten:** De merker voor FORL is 90% effectief. Deze 90% geeft een betrouwbare uitslag. Van 10% van de rassen kan niet via de FORL merkers worden bepaald of het ras vatbaar of resistent is. Hiervoor worden biotoetsen uitgevoerd.

**Strategische conclusie (voorlopig):** Het ontwikkelen van merkers is een effectieve methode om sneller een betrouwbaar resultaat voor het betreffende kenmerk vast te stellen. Het levert voor DUS-onderzoeker tijdswinst op voor deze kenmerken van ongeveer 6 maanden.

Voor TSWV levert de nieuwe informatie van de rassen uit de algemene bekendheid die buiten Nederland zijn toegelaten (en/of met KWR beschermd) de DUS medewerkers veel tijdswinst op. Onnodige vergelijkers worden nu niet meer meegenomen.

Voor FORL is de winst veel minder omdat er voor 10% van de rassen geen resultaat via de merker wordt verkregen. Er is voor de 300 rassen een biotoets uitgevoerd of ingepland. Er wordt niet getoetst met de merkers voor FORL. Een andere reden om de 300 rassen niet met de FORL merker te toetsen, is dat in minder dan 20% van de gevallen het resistente allel verwacht zou worden. Dat zou betekenen dat de andere 80% alsnog in de biotoets zou moeten worden gezet.

#### 2021-4 Digitaliseren van DUS materiaal (Naktuinbouw)

**Operationele conclusies:** Het project is volgens de planning verlopen, m.u.v. het opzetten van een trainingsmodule voor de Technical Questionnaires.

##### **Doel:**

- 1) DUS bezoek op afstand organiseren
- 2) Lesmateriaal digitaliseren
- 3) E-learning modules opzetten
- 4) Technical Questionnaires: het invullen van de TQ verbeteren door het opzetten van een trainingsmodule.
- 5) Video toolbox werk

##### **Voortgang:**

- 1) Bezoek op afstand is tot nu toe georganiseerd met mobiele telefoons. Er is een hololens aangeschaft om bezoek op afstand te vergemakkelijken (handen vrij en communicatie via scherm mogelijk). Bij het experimenteren met bezoek blijkt dat deze manier van werken te weinig toevoegt. Voor trainingen blijkt het nuttig, voor technische bezoeken veel minder. Deze manier van werken wordt niet standaard geïmplementeerd voor bezoeken.
- 2) Er zijn verschillende video's gemaakt die gebruikt worden in de e-learning modules (zie volgende punt). Het uitbreiden van het bestand zal doorlopend zijn.



3) Naktuinbouw Academy is opgezet. Hierbij zijn al verschillende modules beschikbaar. PVP cursus, Naktuinbouw cursussen voor extern bezoek (scholen) en modules voor intern gebruik (o.a. nieuwe medewerkers). Het uitbreiden van de Naktuinbouw academy met nieuwe modules zal doorlopend zijn.

4) Niet uitgevoerd. Staat nu in de planning bij Naktuinbouw voor 2023.

5) Afgerond is de video voor Toolbox-werk. Deze is beschikbaar op Vimeo. De financiering voor dit onderdeel is via de PVP-toolbox gelopen.

**Datum afronding:** 31-12-2021

**Knelpunten:** Het gebruik van de Hololens moet nog in geïmplementeerd worden. De licentie is opnieuw geactiveerd zodat de functionaliteit videobellen ook in 2022 beschikbaar is.

**Strategische conclusie:** Digitalisering processen DUS: Nuttig en bij crises noodzakelijk. Rassenonderzoek Naktuinbouw zal er gestructureerd op blijven inzetten. Het maakt trainingen efficiënter. Het aantal reisbewegingen wordt kleiner.

### 2021 – 05 Merker ontwikkeling FF Tomaat (Naktuinbouw)

**Operationele conclusies:** In dit project zijn er succesvol merkers ontwikkeld voor de *Passalora fulva* genen Cf-2 en Cf-5.

**Doel:** Ontwikkelen van merker toets gebaseerd op 'allelic discrimination' voor Cf-2 en Cf-5

**Voortgang:** Van Cf-2 zijn verschillende homologen/paralogen bekend [1]. In de zoektocht naar een geschikte merker zijn de homologen/paralogen met elkaar vergeleken, op zoek naar polymorfismes.

De homologen Cf-2.1 en Cf-2.2 verschillen 3 aminozuren in de coderende sequentie. Dixon [1] heeft aangetoond dat beide genen functioneel zijn voor het verzorgen van resistentie. De ontwikkelde merker maakt geen onderscheid tussen Cf-2.1 of Cf-2.2.

Van Cf-5 zijn verschillende homologen/paralogen bekend [2]. Het functionele Cf-5 gen heeft veel overeenkomsten met deze homologen/paralogen. Dixon [2] heeft aangetoond dat het resistente Cf-5 allel en het meest gelijkende niet functionele homoloog (Hcr2-5D) 1 aminozuur verschillen van elkaar. De Cf-5 probe voor resistentie is ontwikkeld op dit aminozuur verschil.

**Datum afronding:** December 2021

**Knelpunten:** Door repeterende sequenties rondom het Cf-5 gen, kunnen de primers op meerdere plekken binden, hierdoor ondervinden andere assay's in een multiplex reactie met Cf-5 veel hinder (ook vals negatief en vals positieve resultaten).

**Strategische conclusie:** nog niet te trekken.

Voor de validatie van de merkers worden in 2022 van alle aanmeldingen 2 planten per aanmelding getoetst met de merkers Cf-9, Cf-5, Cf-4 en Cf-2.

De merkers Cf-9, Cf-4 en Cf-2 zijn geschikt om uit gevoerd te worden in 1 multiplex. Na de validatie kan besloten worden om alleen te toetsen op Cf-5 bij rassen waarbij Cf-9, Cf-4 en Cf-2 afwezig zijn.

## 2021 - 6 Classificatie van plantenrassen in groepen (Naktuinbouw)

**Operationele conclusies:** Het onderzoek is in 2021 volgens planning uitgevoerd. De resultaten zijn bevredigend. Er was een lichte uitloop. Het heeft minder tijd gekost dan verwacht.

**Doel:** Het doel van het onderzoek is om met UPOV en CPVO oplossingen te bedenken voor het classificeren van plantenrassen in groepen. In hoeverre kan groepsclassificatie de bestaande botanische classificatie (conform UPOV / GRIN) aanvullen of vervangen?

**Voortgang:** Er is volgens planning meegedacht met UPOV en CPVO. De volgende acties zijn uitgevoerd:

- Er is een basispresentatie gemaakt voor de UPOV TWO. Hierin is vanuit taxonomisch perspectief en vanuit DUS perspectief het probleem in kaart gebracht en zijn mogelijke oplossingen aangedragen. De presentatie is met meedenken van een aantal technische experts gemaakt.
- UPOV is voortvarend te werk gegaan: Er is een concreet voorstel gedaan om groepen te implementeren in de UPOV codering. Dit werd in alle werkgroepen gedragen.
- Met deze nieuwe mogelijkheid om groepen toe te voegen in de UPOV code, is meteen de vraag gesteld (ook bij de CPVO expert meetings): Welke gewassen komen in aanmerking?
- Op basis van de resultaten en discussies en vragen bij de UPOV en CPVO technische meetings is door Naktuinbouw een intern discussiestuk gemaakt. Dit is besproken met enkele technische experts. De gewassen die in aanmerking komen en prioriteit hebben zijn in kaart gebracht.

**Datum afronding:** Het project heeft in 2021 plaatsgevonden en is in januari 2022 afgerond.

**Knelpunten:** Geen specifieke knelpunten. Het is wel een nieuw onderwerp dat een iets andere manier van denken vraagt over classificeren van planten. Dit heeft tijd nodig en extra uitleg.

**Strategische conclusie:** Groepsclassificatie heeft potentie. Er is een goede basis gelegd met de implementatie van de groep in de UPOV code. Het is nu aan de examination offices en de technische experts om de voordelen te pakken. Naktuinbouw zal hierin een voortrekkersrol blijven vervullen.

## 2021 - 10 Oplossen technische problemen in de GT-Seq SNP set voor ui (Naktuinbouw)

**Operationele conclusies:** Het is in 2021 niet gelukt om op basis van de originele genotyping-by-sequencing (GBS) data uit project R18-408 nieuwe SNPs te selecteren en toe te voegen aan de originele set van 83 KASP SNPs (samenwerking WUR). Eind 2021 is er voor een andere strategie gekozen en nieuwe SNPs te selecteren op basis van een lijst van KASP SNPs van de WUR. Uit deze lijst is een selectie van 96 SNPs gemaakt die verspreid liggen over het genoom. Deze nieuwe SNPs worden toegevoegd aan de originele 83 KASP SNPs en zullen worden getest met de GT-seq methode. Het was niet meer gelukt om deze SNPs binnen dit project te testen. Dit zal gedaan worden in het vervolgproject 2022.

**Doel:** Het originele doel was om nieuwe SNPs te selecteren voor ui op basis van de GBS data en toe te voegen aan de originele set van 83 KASP SNPs. Deze nieuwe set zou een beter onderscheiden vermogen moeten hebben om uienrassen te kunnen onderscheiden.

**Voortgang:** In 2019/2020 was er een selectie gemaakt van extra SNPs op basis van GBS data om toe te voegen aan de bestaande set van 83 KASP SNPs. Hier was een set uitgekomen van 208 SNPs (inclusief de 83 KASP SNPs). Uit een eerste GT-seq experiment bleek dat een groot deel van deze 208 SNPs niet goed werkte doordat ze op repetitieve genomeregio's lagen. Deze SNPs waren verwijderd en dit resulteerde in een set van 107 SNPs (inclusief de 83 KASP SNPs). Met deze set zijn in 2020 twee GT-seq experimenten uitgevoerd. Hieruit bleek dat er nog een aantal SNPs overgerepresenteerd zijn, waarschijnlijk door ligging op een repeterende regio, en er ook een aantal SNPs monomorf zijn en dus geen onderscheidend vermogen hebben. Van de werkende SNPs kwamen de meeste uit de originele KASP set van 83 SNPs. Het was dus lastig om uit de GBS data werkende SNPs te selecteren en de set uit te breiden.

Omdat SNPs selecteren op basis van GBS data erg lastig was door de vele repetitieve regio's in het uiengenoom en een goed referentiegenoom lange tijd niet beschikbaar was, was er voor nieuwe strategie gekozen, namelijk extra SNPs selecteren uit een lijst van ruim 1200 gepubliceerde KASP SNPs (via Olga Scholten (WUR) en artikel Scholten et al., 2016, SNP-markers in Allium species to facilitate introgression breeding in onion, BMC Plant Biology 16 (187)). Eind 2021 was hieruit een set van 96 SNPs geselecteerd die verspreid over het genoom lagen. Het voordeel van deze strategie was dat de KASP SNP loci afkomstig waren van EST cDNAs en zich niet in repeterende regio's bevonden. Een nadeel is wel dat het niet bekend is wat het onderscheidend vermogen van deze set KASP SNPs is voor de uienrassen die wij willen testen. Primers voor de set van 96 nieuwe KASP SNPs zijn binnen dit project besteld, maar de nieuwe set was binnen dit project nog niet getest met de GT-seq methode. Dit wordt momenteel gedaan in het vervolgproject in 2022.

**Datum afronding:** December 2021

**Knelpunten:**

- Lastig om goede SNPs te selecteren uit de uien GBS data.
- Onbekend of de nieuw geselecteerde KASP SNPs genoeg onderscheidend zijn voor de uienrassen die wij willen testen. Dit wordt uitgezocht in vervolgproject 2022.

**Strategische conclusie:** Is nog niet te trekken. Hiervoor zijn de resultaten uit het vervolgproject nodig.

## 2021– 11 Vernieuwing van het rasseninformatiesysteem t.b.v. de Rassenlijst Bomen. (CGN-WUR)

**Operationele conclusies:** Het project is uitgevoerd conform projectplan.

**Doel:** Verbetering van het informatiesysteem van de Rassenlijst Bomen. Het huidige database-managementsysteem in Postgres is verouderd en voldoet niet meer aan de gewenste functionaliteiten. Ook lopen migraties naar hogere versies vast, terwijl dit wel gewenst is vanuit ICT-WUR vanuit veiligheid technische redenen.

**Voortgang:**

- Begin 2021 is samen met WEnR database beheerders, ICT-WUR en team Soda van WUR (ondersteuning webbeheer) geïnventariseerd wat de beste opties zijn voor het oplossen van de problemen met het huidige informatiesysteem. Zowel het aanpassen van de huidige PostgreSQL database als het overstappen op een nieuw systeem is onderzocht. Op basis van deze gesprekken is besloten de rassenlijst database over te

zetten naar MySQL. Dit heeft een aantal voordelen. Het CMS waarin de website van Rassenlijst Bomen draait, ondersteunt alleen MySQL, MSSQL en Oracle. Deze systemen worden alle drie ook ondersteund door ICT-WUR, echter Oracle wil men op den duur uifaseren. Aangezien er ook al een MySQL database wordt gebruikt voor het ontsluiten van de gegevens op de rassenlijst-website is gekozen voor MySQL.

- Vervolgens is een ontwerp gemaakt voor een nieuwe inrichting van de database en is de data van de 'Rassenlijst bomen' ondergebracht in een MySQL-database (versie 4.1). Hierbij is tevens redundante informatie verwijderd, zijn de tabellen met voorkeursnamen en synoniemen herzien en is de structuur van het geslacht Populus in de database aangepast. In de nieuwe database omgeving zijn drie databases ondergebracht. In de database 'basis' wordt alle basisgegevens en administratie bijgehouden, de structuur daarvan is sterk vereenvoudigd. Daarnaast is er een database 'rassenlijst' met uitsluitend de tabellen bedoeld voor de website, en een database 'tstrassenlijstdb'. Deze laatste database is identiek aan de database 'rassenlijst' en is bedoeld om de testomgeving te voeden. Bij het testen van de vernieuwde database in de testomgeving bleek alles te functioneren en is besloten om het geheel ook in productie te nemen.
- Er is documentatie aangelegd over de nieuwe database, over de verbinding met de server, gebruikersrollen etc. en een handleiding waarin wordt beschreven hoe de database moet worden onderhouden, back-ups moeten worden gemaakt, hoe updates van de website moeten worden uitgevoerd en documentatie van SQL-scripts voor verschillende uitdraaien.  
Aangezien MySQL versie 4.0 door ICT niet meer als veilig kan worden beschouwd is de database recent overgezet naar versie 8.0.
- De koppeling van de database met het CMS-systeem (website) is getest door Team Soda en sinds december 2021 wordt de nieuwe database gebruikt om de rassenlijst website te actualiseren.

**Datum afronding:** Eénjarig project, eind datum december 2021

**Knelpunten:** geen.

**Strategische conclusie:** Omzetting van de rassenlijst database in MySQL heeft geleid tot een sterk vereenvoudigde en stabiele database die makkelijker te onderhouden is en ook ondersteund wordt door ICT-WUR.

## 2021 – 12 GIS-app voor keuring uitgangsmateriaal t.b.v. de Rassenlijst Bomen (CGN-WUR)

**Operationele conclusies:** Het project is volgens planning uitgevoerd

**Doel:** Het opzetten van een gebruiksvriendelijk geografisch informatiesysteem (GIS-app) voor veldkeuringen van opstanden en plusbomen t.b.v. de Rassenlijst Bomen.

**Voortgang:** Tijdens de inventarisatiefase zijn verschillende GIS apps vergeleken o.a. QField en ArcGIS online. Daarnaast is overleg gevoerd met GIS specialisten en veldmedewerkers. Hieruit kwam o.a. naar voren dat het vooral in bosgebieden van belang is dat de app (gedeeltelijk) offline moet kunnen functioneren en dat er een goede ondersteuning moet zijn. Gezien beheerders zoals SBB al met ArcGIS online werken, is gekozen voor ArcGIS online in combinatie met een fieldworker account.

In de ontwikkelingsfase van de app zijn keuringsformulieren van de verschillende categorieën uitgangsmateriaal digitaal beschikbaar gemaakt, zodat deze tijdens het veldwerk kunnen worden ingevuld en opgeslagen worden in een database. Binnen de app kunnen polygonen van (potentiële) rassenlijstlocaties worden toegevoegd en aangepast. Daarnaast

zijn verschillende GIS-lagen toegevoegd zoals de Topografische Militaire Kaart van 1850 en Atlas Groen erfgoed voor keuringen van opstanden in de categorie SI (autochtoon). Ook is een GIS-laag gemaakt met alle rassenlijst opstanden waarbij onderscheid is gemaakt tussen de verschillende categorieën uitgangsmateriaal. Technisch gezien zou het mogelijk moeten zijn om deze laag met rassenlijstlocaties te delen met de NAKtuinbouw via ArcGIS online (niet getest). Ook kan de app direct gekoppeld worden aan nauwkeurige GPS waardoor (plus)bomen gemakkelijk teruggevonden kunnen worden. De app is eind 2021 getest en een eerste verbeterde versie is begin 2022 in gebruik genomen voor veldkeuring t.b.v. de Rassenlijst bomen.

**Datum afronding:** Het project is eind 2021 afgerond.

**Knelpunten:** Geen

**Strategische conclusie:** De GIS-app voor keuring uitgangsmateriaal t.b.v. de Rassenlijst Bomen is een handige tool om veldkeuringen nauwkeuriger en efficiënter te kunnen verrichten. De GIS-app biedt mogelijkheden om de kaartlaag met rassenlijstlocaties in de toekomst te delen met de Naktuinbouw.

## 2021 – 16 CGO methodiekenonderzoek aan TPS rassen (Naktuinbouw/NAK)

**Operationele conclusies:** Het onderzoek is volgens planning uitgevoerd.

**Doel:** Het doel van het onderzoek was om na te gaan of CGO aan TPS-rassen op basis van zaailingen tot andere resultaten leidt dan CGO op basis van pootgoed.

**Voortgang:** Het onderzoek is uitgevoerd volgens planning. In 2020 zijn de volgende proeven met zaailingen van TPS-rassen uitgevoerd: 2 SGA-proeven, 2 Y-virusproeven en 1 *Phytophthora*-proef. Omdat in dat jaar 1 SGA-proef en 1 Y-virusproef geen bruikbare resultaten opleverde, is het onderzoek in 2021 voortgezet door nog 1 SGA-proef en 1 Y-virusproef uit te voeren. In januari/februari 2022 zijn alle resultaten geanalyseerd en is er een eindrapport opgeleverd bij de Raad voor plantenrassen.

**Datum afronding:** 1 maart 2022

**Knelpunten:** geen

**Strategische conclusies:**

CGO aan TPS-rassen uitgevoerd op basis van zaailingen heeft de volgende conclusies opgeleverd:

- Bij resistentie tegen *Phytophthora* leverde het CGO op basis van zaailingen iets lagere rassenlijstcijfers op dan op basis van pootgoed.
- Vanwege de grotere stressgevoeligheid van zaailingen was het SGA-gehalte van TPS-rassen in het CGO op basis van zaailingen vaak hoger dan op basis van pootgoed.
- Vanwege de hoge virusdruk was het niet mogelijk om in de tot nu toe uitgevoerde CGO-proeven met zaailingen rassenlijstcijfers te geven voor resistentie tegen Y-virus.
- In 2022 zal geëvalueerd worden of het nodig is om het CGO aan TPS-zaailingen verder te ontwikkelen of te beslissen dat het CGO aan TPS-rassen in de toekomst alleen op basis van pootgoed uitgevoerd zal worden.