

Rapportage – executive summary – methodiekenprojecten Raad voor plantenrassen 2021

Hieronder volgt het overzicht met de rapportages van de methodiekenprojecten die in 2022 met financiële ondersteuning door de Raad voor plantenrassen zijn uitgevoerd

Samenvattingen inhoudelijk:

Eindrapportages

2020-01	Oriëntatie DNA met Tulp
2021-09	Boon-showcase
2022-01	Spinazie nieuwe kenmerken
2022-05	Merkerontwikkeling Verticillium resistentie in tomaat
2022-06	Ontwikkelen DNA merker voor bloemkleur in bloemkool
2022-07	Nieuwe meettechniek voor cultuur- en gebruikswaarde onderzoek bosbouwgewassen
2022-08	Nieuwe methodes voor vegetatieve vermeerdering van gewone es
2022-09	SNP database ter ondersteuning voor DUS onderzoek in ui
2022-10	Hennep database
2022-11	Verbetering Rassenlijst Bomen website
2022-12	Proces herregistraties en verificaties verbeteren

Tussenrapportages

2021-01	(Vervolgproject) rasafstanden tulp
2021-17	DUS onderzoek voor TPS rassen
2022-02	ToBRFV resistentietoetsen (TMT/PPS) +Aphis (MLN)
2022-04	Merkerontwikkeling Tobamo-resistentie in paprika

Eindrapportages

Hieronder vindt u de eindrapportages per project.

2020-01 Oriëntatie DNA met Tulp

Operationele conclusies:

Project afgerond

Op basis van de uitgevoerde inventarisatie en uitgewerkte scenario's is het project team van mening dat scenario 4 het beste uitgangspunt is bij een vervolg.

Scenario 4	We gaan de gepubliceerde KASP merkers van de WUR re-designen naar GT-Seq en als dat succesvol is een SNP database opbouwen.
Wat levert het op	De informatie is beschikbaar. We hoeven zelf niet meer te investeren in SNP discovery. Als het lukt de KASP merker om te zetten naar een GT-Seq SNP panel met een goed onderscheidend vermogen, kan daarmee een database worden opgezet.
Risico's	Er is een kans dat de flanking sequence van de SNPs niet geschikt is voor GT-Seq primers design. De huidige analyse pipeline is nog niet in staat diploïden en polyploïden tegelijk te analyseren.
Kosten	De KASP merkers moeten worden ge-re-designed naar GT-Seq. We zullen ook moeten uittesten of de SNPs werken in ons lab en voldoende onderscheidend vermogen. Dus er is eerst voorwerk nodig voordat de methode kan worden ingezet. Dit vooronderzoek moet worden gefinancierd (project). (€30.000)
Baten	GT-Seq is zeer kosten efficiënt. De methode kan worden ingezet bij twijfelgevallen en daarmee kan de DUS beslissing worden verbeterd. Daarnaast is de methode geschikt voor het opbouwen van databases. In andere gewassen hebben we daar al ervaring mee.

De wens voor een DNA database ter ondersteuning van het DUS onderzoek is groot. Uitgaan van gepubliceerde SNP merkers lijkt op dit moment de best haalbare optie. Uitbreiding van de SNP set met meer of andere SNP kan in de toekomst altijd. De GT-Seq methode is flexibel. Uitbreiding of aanpassing van een SNP panel is zeker mogelijk. Er zal wel wat optimalisatie en validatie werk verricht moeten worden.

Doel: Haalbaarheidsstudie voor het ontwikkelen van een DNA database voor tulp.

Voortgang:

Eindverslag geschreven

Financiële verantwoording:

Het budget voor 2022 is volledig benut

Knelpunten:

De reden dat deze oriëntatiestudie 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 en een database 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 wel of niet haalbaar is, op welke termijn en voor welke prijs en wat de randvoorwaarden zijn. Deze informatie is belangrijke input voor een eventueel vervolgproject.

Strategische conclusie:

Naktuinbouw heeft nog geen besluit genomen of er een DNA database moet worden opgebouwd voor tulp.

2021-09 Boon- showcase

Operationele conclusies:

Project is afgerond

Op dit moment ligt er een SNP set (versie 1.0) die suboptimaal is. De primer design was niet stringent genoeg waardoor veel primer interacties plaatsvinden. Uitgaande van 192 initiële SNPs (= 384primers) moest na uittesten in het lab 50% worden verwijderd. De resterende 94 SNP functioneren naar behoren. Er zijn inmiddels 700 rassen gegenotypeerd met de SNP set 1.0. Daarvan zijn 74 rassen niet van elkaar onderscheidbaar. Hieruit kunnen we concluderen dat de huidige SNP set niet voldoende onderscheidend vermogen heeft. Het is nodig om de SNP set uit te breiden en het onderscheidend vermogen te verhogen om:

- Een DNA database op te bouwen voor boon
- Om de Database te gebruiken voor de genetische pre-selectie van vergelijkers voor de eerste DUS proef

De eerste resultaten met zijn veelbelovend

In dit project is al geëxperimenteerd met het selecteren van vergelijkers op basis van genetische similariteiten. Ondanks dat de SNP set 1.0 suboptimaal is, blijkt nu al dat er potentie zit in de methode. Er is geëxperimenteerd met welke (harde) threshold voor similariteit we zouden kunnen werken. Bij een threshold van 80% similariteit vinden we in 82% van de gevallen precies dezelfde vergelijker met DNA als op basis van de traditionele manier van vergelijkers zoeken. Op basis van deze 80% similariteit threshold kunnen we nu al met 25% minder vergelijkers toe zonder verlies aan kwaliteit en betrouwbaarheid. Dit zal in het vervolgproject verder worden uitgezocht en geoptimaliseerd.

Doel: Het zoeken en selecteren van referentierassen op basis van SNP profielen (UPOV-model 2). Het nieuwe model in de praktijk uittesten als voorbeeld binnen CPVO/UPOV

Voortgang:

Nieuw project voorstel is geschreven en ingediend.

Financiële verantwoording:

Het budget voor 2022 is volledig benut

Knelpunten:

Onvoldoende onderscheidend vermogen van de huidige SNP set.

Strategische conclusie:

Naktuinbouw heeft de werkwijze aangepast en gaat gebruik maken van SNP profielen voor het zoeken van mogelijke referenties. Er is er een vervolgproject geschreven voor het ontwikkelen van een SNP set met meer onderscheidend om zo een DNA database voor boon op te bouwen die gebruikt kan worden voor de preselectie van vergelijkers.

2022-01 Nieuwe DUS kenmerken in Spinazie

Operationele conclusies:

Er is informatie opgehaald die bijdraagt aan harmonisatie van resistentietoetsen met valse meeldauw: voor harmonisatie wordt gewezen op een gebrekkig CPVO protocol. Dit wordt meegenomen bij overleg met fyto-pathologen.

Ook is er commentaar op de faciliteiten van Naktuinbouw, waardoor planten in onze toets vaak slap en geel zijn. Dit nemen we mee in onze bouwplannen. We verwachten dit te kunnen oplossen als we meer cellen hebben met kleinere afmetingen. We kunnen mogelijk inoculum vermeerderen in de cel en toetsen in de kas. Toetsen in de kas kan alleen in de winter.

Daarnaast is er informatie opgehaald over andere kenmerken. De meningen over bladdikte, bladglans en bladvorm zijn verdeeld. Bij al deze kenmerken zijn er een paar bedrijven voor en een paar bedrijven tegen. Er zijn genetische verschillen, en er wordt op gelet in de veredeling, maar het is moeilijk te meten en waarschijnlijk niet goed reproduceerbaar.

Er is geen perspectief voor gebruik van CMV of Stemphylium-resistentie in DUS. Er is totaal geen steun voor een kenmerk over inhoudsstoffen. Er is wel enige steun voor een project over DNA (model 1 of 2), met de kanttekening dat bedrijven hun kennis op dit gebied niet willen delen.

Doel: een enquête over nieuwe DUS-kenmerken in spinazie; brede steun voor aanbevelingen die voortvloeien uit de enquête

Voortgang:

De enquête is rondgestuurd en beantwoord. Een samenvatting is via de IWGP verspreid bij bedrijven. Er is geen feedback ontvangen hierop. Een afsluitende bijeenkomst van gewasspecialisten bij Naktuinbouw wordt gepland. Hiervoor is nog een klein beetje budget over. Dat is toereikend.

Financiële verantwoording:

Het budget voor 2022 is volledig benut.

Knelpunten:

Relevante kennis zit bij verschillende partijen.

Strategische conclusie:

Er is nog niet duidelijk of er extra kenmerken zijn.

- De mogelijkheid van een vervolgproject over DNA moet besproken worden met de gewasdeskundigen.
- Wolftoetsing in de kas (in de winter) wordt overwogen.
- Gewasdeskundigen gaan na hoe reproduceerbaar de nieuwe bladkenmerken zijn.

2022-05 Merker ontwikkeling Verticillium resistentie in tomaat

Operationele conclusies:

Project succesvol afgerond, vervolg project inmiddels geschreven.

Alle genotypen kunnen goed voorspeld worden. Aan de hand van een beslissingsmatrix kan de merker al op routine matige basis worden toegepast. Voor de genotypen **Ve1Ve1ve2ve2** en **Ve1ve1ve2ve2** kan in een biotoets vastgesteld worden of het ras vatbaar of resistent is. Deze genotypen komen gezamenlijk in ongeveer 10% van de rassen voor.

Doel: Tetra primer-ARMS Merkers omzetten in Taqman merkers voor Verticillium resistentie genen Ve1 en Ve2 en correlatie bepalen van de haplo-typen met het Verticillium biotoets fenotype.

Voortgang:

In dit project is aangetoond dat de Ve/ve1 merker op positie 706bp niet consistent correleert met het biotoets fenotype. Aan de hand van het artikel van Fradin et al 2009 zijn nieuwe merkers ontwikkeld. Deze nieuwe merker laat voor de beschreven genotypen een 100% correlatie zien.

Financiële verantwoording:

Het budget voor 2022 is volledig benut

Knelpunten:

De Tetra arms merkers ontwikkeld in een internationaal project bleken in dit project onvoldoende correlerend. Er is daarom veel tijd verloren gegaan, omdat halverwege het project nieuwe merkers ontwikkeld moesten worden.

Voor de niet beschreven genotypen Ve1Ve1ve2ve2 en Ve1ve1ve2ve2 is de correlatie nu nog moeilijk te bepalen. Het biotoets fenotype voor rassen met dit genotype is door de geringe symptoom ontwikkeling moeilijk vast te stellen. In zware toets neigen deze rassen naar vatbaar, in een lichte toets neigen deze rassen meer naar resistent. Het kan ook zijn dat andere externe factoren invloed hebben op de symptoomontwikkeling.

Er zijn aanwijzingen dat specificiteit van de Ve1/ve1 forward primer zorgt voor problemen bij een aantal biotoets vatbare rassen. Dit zou opgelost kunnen worden door de primer 20bp op te schuiven. Naast de specificiteit, wordt er bij deze rassen geen ve1 aangetoond, wat wel verwacht wordt bij biotoets vatbare rassen. Waarschijnlijk is dat er meerdere ve1 (vatbare)allelen in tomaat aanwezig kunnen zijn.

Strategische conclusie:

In 2023 is het gebruik van deze merkers al standaard in het DUS onderzoek.

2022-06 Ontwikkelen DNA merker voor bloemkleur in bloemkool

Operationele conclusies:

Eindrapportage is geschreven

Doel: Merkers ontwikkelen die voorspellend zijn voor de Bloemkleur in Bloemkool rassen

Voortgang:

Het functionele CCD4 gen, zet carotenoïden (gele kleur) om in niet gekleurde componenten. Een ras met een functionerend CCD4 gen is daardoor wit. Indien een niet functionerend CCD4 gen in homozygote vorm aanwezig is, is de bloem geel. De ontwikkelde merkers zijn correlerend met de in literatuur beschreven functionele en niet functionele allelen.

Aan de hand van deze informatie konden er merkers ontwikkeld worden die correleren met de bloemkleur. Deze kleur merkers zijn succesvol samengevoegd met de CMS merkers.

De merkers zijn gevalideerd aan de hand van ongeveer 100 rassen.

Tijdens de validatie van de merkers zijn 3 tegenspraken gevonden in de 101 getoetste rassen. 1 tegenspraak kon door de gewasspecialist verklaard worden, waardoor er nog 2 tegenspraken over blijven (merker correlatie met bio-assay/opgave van 98%).

Bij deze overgebleven tegenspraken is de ene opgave geel en de andere wit, maar merker voorspelt wit, resp. geel. In een bloeioproef kan evt. onderzocht worden of de bloemen van deze rassen wit of geel zijn.

Financiële verantwoording:

Het budget voor 2022 is volledig benut

Knelpunten:

Er zijn nog 2 tegenspraken met buitenlandse aanmeldingen. Er is navraag gedaan bij de betreffende E.O.'s, maar er is geen reactie gekomen. Naktuinbouw zal in een extra bloeioproef de bloemkleur moeten beoordelen. Indien in de bloeioproef deze rassen blijken te bloeien als opgave (de merker spreekt dus tegen), kan er in een vervolg project gezocht worden naar aanvullende SNP's.

Strategische conclusie:

De merker is bij UPOV voorgedragen voor opname in het DUS protocol voor Bloemkool.

2022-07 Nieuwe meettechnieken voor cultuur- en gebruikswaarde onderzoek bosbouwgewassen

Operationele conclusie:

Het project is volgens planning uitgevoerd

Doel

Het inventariseren en testen van nieuwe meettechnieken en data opslagmethoden t.b.v. cultuur- en gebruikswaarde (CGO) onderzoek bosbouwgewassen.

Voortgang

In de inventarisatiefase is er overleg geweest met WUR collega's die betrokken zijn bij het netwerk van Bosreservaten en de Nationale Bos Inventarisatie. Daarnaast hebben zij ook diverse meettechnieken gedemonstreerd. Hierbij is o.a. gekeken naar geprogrammeerde Haglöf boomklemmen in combinatie met afstandmeters, Terrestrial laser scanning (TLS), Mobile laser scanning (MLS) en drone LIDAR. Van de laser scanning methodes hebben TLS en MLS de meeste potentie om op een nauwkeurige en redelijk snelle manier informatie te verkrijgen over stamvolume en stamvorm van individuele bomen uit proefvelden. Vervolgens is de TLS methode in november in samenwerking met de Laboratory of Geo-information Science and Remote Sensing (GRS groep) van de Wageningen universiteit getest in een CGO-proefveld van beuk. De MLS methode is binnen plots van de Nationale Bos Inventarisatie verder getest. De methoden hebben veel potentie als aanvulling van huidige methodes of in de toekomst ter vervanging van verschillende metingen of beoordelingen. Dit aangezien naast DBH en hoogte ook bijvoorbeeld stamvolume direct gemeten kan worden. Ook kan de beoordeling van stamvorm en betakking objectiever uitgevoerd worden. Om dit mogelijk te maken dienen standaard methodes opgesteld te worden en de verwerking van de data zou gebruiksvriendelijk moeten worden. Deze methoden zijn minder geschikt voor bos/proefvelden met veel ondergroei van bijvoorbeeld struiken of bramen. Hoewel de TLS in het veld relatief weinig tijd kost, is de verwerking specialistisch en kost dit veel rekentijd. Daarom is de verzamelde data in de beukenproef niet volledig geanalyseerd. Aangezien de scans beschikbaar blijven kan dit in de toekomst alsnog gebeuren.

Met behulp van de in ArcGIS Fieldworker app is gekeken of de kwaliteit van veldmetingen verbeterd kon worden. Dit is gedaan door data van eerdere metingen van hetzelfde beukenproefveld in de app te zetten, zodat er een waarschuwing gegeven wordt als bomen in DBH zijn afgenomen of dode bomen weer opgemeten zijn. De app is getest in het veld door in een gedeelte van het proefveld een nieuwe meting uit te voeren. De app is beoordeeld op gebruiksvriendelijkheid en of het inderdaad lukt om mogelijke fouten direct in het proefveld op te sporen. De app is veelbelovend, zeker wanneer bomen minder goed in het plantverband zijn geplant waardoor individuen moeilijker terug te vinden zijn. Om de app in de praktijk te kunnen gaan gebruiken moet deze aangepast worden om het gebruiksgemak te verhogen.



Figuur 1: Links: Terrestrial laser Scan (TLS) in de beukenproef. Rechts: boomcomposities in het beukenproefveld in de ArcGIS app (geel = levende boom; blauw = dode boom).

Datum afronding:

Het project is eind 2022 afgerond.

Knelpunten:

n.v.t.

Strategische conclusies

Terrestrial and mobile laser scanning zijn veelbelovende technieken voor toekomstig gebruik in CGO proefvelden. De belangrijkste voordelen zijn o.a. objectieve beoordeling van stam- en spijkwaliteit, directe metingen van stamvolume en goede data vastlegging voor toekomstig gebruik. Voor verdere toepassing binnen het CGO onderzoek is het van belang dat er standaard methodes worden opgesteld en dat de verwerking van data gebruiksvriendelijker en efficiënter wordt.

Het gebruik van de ArcGIS app voor metingen in proefvelden levert betere kwaliteit data op uit de proefvelden, zeker wanneer individuen moeilijker terug te vinden zijn. Voor daadwerkelijke toepassing is het noodzakelijk om nog enkele aanpassingen te doen waarmee de app gebruiksvriendelijker wordt.

2022-08 Nieuwe methodes voor vegetatieve vermeerdering van gewone es

Operationele conclusie:

Het project is volgens planning uitgevoerd, Echter gedurende de proef is gebleken dat de duur van het experiment te kort is en er wordt voorgesteld om de proef nog een groeiseizoen te volgen.

Doel

Het vermeerderen van de gewone es (*Fraxinus excelsior*) door middel van stek.

Voortgang

In de inventarisatie fase is er overleg geweest met collega's van o.a. de Forest Ecology and Forest Management groep (WUR) en de Royal Botanic Gardens Kew. In Engeland wordt gewerkt aan een stekprotocol binnen het 'Living Ash Project'. In juni 2022 hebben we ervaringen gedeeld met onderzoekers van Kew en op basis hiervan een experiment opgezet. Het is belangrijk om jong stekmateriaal te hebben aangezien eerdere proeven (KEW & WUR) laten zien dat stekmateriaal (zowel zomer- als winterstek) van oude bomen niet werkt in tegenstelling tot stekmateriaal van zaailingen. Besloten is om stekmateriaal te knippen van 14 2 à 3-jarige essenziekte-tolerante klonen, die vermeerderd zijn via oculatie. Hierbij worden 2-jarige zaailingen gebruikt als referentie. Voor het stek experiment zijn twee grondmedia geselecteerd: een op basis van zand en potgrond en de andere op basis van kokosvezel en perliet. Qua locatie is voor een onverwarmde kas gekozen in tegenstelling tot Kew waar men voor een mistkamer heeft gekozen. Op 6 juli 2022 is de stekproef ingezet in samenwerking met de Forest Ecology and Forest Management groep. De hitte in de zomer heeft tot zeer hoge temperaturen geleid in de kas, waardoor verwelking optrad in een gedeelte van de proef. Meerdere stekken zijn hierdoor waarschijnlijk afgestorven.

In december 2022 zijn de stekken beoordeeld op overleving, callus- en wortelvorming. Van de 830 stekken leefden er nog 664 (80%) waarvan 376 (56%) callus (Figuur 1) hebben gevormd. Wortelformatie trad alleen op bij 21% van de zaailingen (Figuur 1) en was lager dan verwacht. Het percentage overleving en callus vorming verschilt per genotype maar ook per krat wat mogelijk werd veroorzaakt door verschillen in bodemvocht. In het zand/potgrond substraat was het percentage stekken met callus hoger (65 %) dan in het kokos/perliet substraat (50%). Gebruik van stekpoeder resulteerde in een bijna verdubbeling van het aantal stekken met callus. De resultaten zijn onlangs teruggekoppeld met de Royal Botanic Gardens Kew. Zij hadden voor de zaailingen een hoger percentage stekken met wortels maar voor stek van (tolerante) klonen hadden zij minder stekken met callusvorming. Wel kwam uit hun eerdere experimenten naar voren dat stekken met callus in het volgende groeiseizoen alsnog wortels kunnen vormen. Ervaring met andere boomsoorten leert ook dat als stekken eenmaal wortels hebben gevormd deze ook goed als (rejuvenated) uitgangsmateriaal kunnen dienen om nieuwe stek van te knippen, waarbij wortelvorming vermoedelijk sneller optreedt en resulteert in een hoger slagingspercentage.



Figuur 1. Wortelvorming (links) trad enkel op bij enkele zaailingen die als controle werden meegenomen in het experiment. Callusvorming (rechts) trad op bij 56 % van de levende stekken.

Datum afronding:

Hoewel het project met de december waarneming eind 2022 is afgerond, is de proef in stand gehouden voor vervolg waarnemingen in 2023.

Knelpunten:

De hitte in de zomer heeft tot zeer hoge temperaturen geleid in de kas, waardoor verwelking optrad in een gedeelte van de proef. Meerdere stekken zijn vermoedelijk hierdoor afgestorven. Mogelijk heeft dit de slaging van de proef beïnvloed. Wortelvorming trad niet op in het eerste groeiseizoen na stekken.

Strategische conclusie

De duur van het experiment was te kort om een definitieve uitspraak te kunnen doen over slaging. Voorgesteld wordt om in het groeiseizoen van 2023 nogmaals een beoordeling te doen. Hiervoor is inmiddels een voorstel ingediend.

2022-09 SNP database ter ondersteuning voor DUS onderzoek in Ui

Operationele conclusies:

Project doelstellingen zijn voor alsnog niet behaald.

Doel: Ontwikkelen van SNP genotype database voor ui ter ondersteuning van DUS onderzoek.

Voortgang:

Ongeveer 100 rassen uit een oud project R14-415 zijn geGT-seqt om de database mee te vullen.

Data is geanalyseerd en de genotypes staan nu in een database. Het doel is bereikt.

- Zoeken naar vergelijkers en thresholds. Daarvoor moet nog wat meer werk worden gedaan. Dat eerst uitzoeken in andere gewassen.

Financiële verantwoording:

het budget voor 2022 is volledig benut

Knelpunten:

De resultaten van oude open-pollinated (OP) rassen gaan alle kanten op. De individuen van een ras clusteren niet bij elkaar in een cluster. Hier kan de methode niets aan doen, dit zagen we ook al in alle voorgaande projecten met andere toetsmethoden.

Strategische conclusie:

Voor 1 op 1 identiteitsvraagstukken zijn de merkers geschikt. De merkers zijn al toegepast in een project waarin de ras echtheid van nieuwe zaadpartijen van een ras is onderzocht door de nieuwe zaadpartijen met oude zaadpartijen genetisch te vergelijken.

Om de merkers te kunnen gebruiken voor het zoeken naar vergelijkers, vergt meer onderzoek naar de geschikte thresholds, hiervoor zijn op dit moment nog te weinig rassen onderzocht.

2022-10 Hennep SNP database ontwikkeling

Operationele conclusies:

project afgerond

De SNP-set en de initiële DNA-database met 291 rassen heeft al bewezen DUS-testen te kunnen ondersteunen. Naar aanleiding van de vergelijkingen van rassen met de database, zijn 5 rassen opnieuw vergeleken met een referentie waar een 100% genetische match mee was verkregen. Deze rassen bleken ook morfologisch onvoldoende onderscheidend te zijn. Nullificatie van het Kwekersrecht wordt nu overwogen.

Voor een aantal rassen wordt een 2^e jaars onderzoek overwogen, omdat door de vergelijking met de database rassen in beeld zijn gekomen die bijvoorbeeld verschillen in THC gehalte. Deze rassen worden in het morfologisch onderzoek normaal gesproken buiten beschouwing gelaten.

Omdat de DNA-database cannabisrassen van alle soorten en types bevat, kunnen er onverwachte overeenkomsten optreden. Voor vier vegetatief vermeerderde rassen is een 100% match gevonden met een individuele plant uit een zaad vermeerderd ras. Of deze vegetatieve vermeerderde rassen morfologisch te onderscheiden zijn van deze zaailing, zal blijken uit het DUS-onderzoek, aangezien morfologie leidend is. Het is mogelijk dat deze vier aanmeldingen mutanten zijn, en dus morfologisch verschillend.

Doel: Ontwikkeling van een SNP merker set in medicinale hennep voor gebruik in DUS.

Voortgang:

SNP set ontwikkeld en GT-Seq methode opgezet en gevalideerd voor cannabis SNP database voor vezel hennep en medicinale hennep.

Financiële verantwoording:

Het budget is volledig benut.

Knelpunten:

De toegevoegde waarde van de DNA-database ter ondersteuning van het DUS-onderzoek zal toenemen naarmate de DNA-databank vollediger wordt. Het is belangrijk om te investeren in het verzamelen van cannabisrassen en het kunnen beschikken over rassen van algemene kennis van de hele wereld. Het inventariseren van alle bestaande Cannabisrassen en het verzamelen van plantmateriaal van deze rassen wordt mede door de strenge regelgeving een omvangrijke operatie. Dit wordt de eerste uitdaging waar we ons in de nabije toekomst op gaan richten.

Daarnaast is er meer onderzoek nodig om te onderzoeken hoe het DUS-onderzoek naar Cannabis kan worden verbeterd door het gebruik van een DNA-database. Binnen goedgekeurde UPOV-modellen is ruimte voor de ontwikkeling van een (nieuwe) DUS-procedure inclusief DNA die de efficiëntie en kwaliteit van de DUS-besluiten verbetert. Ook de ontwikkeling van DNA-merkers om bepaalde eigenschappen en kenmerken te voorspellen (bijv. om mannelijke/vrouwelijke planten in het zaailingstadium te voorspellen) zal bijdragen om de DUS-testen efficiënter te maken.

Strategische conclusie:

Naktuinbouw gaat de database voor DNA hennep verder aanvullen. Het zoeken van referentierassen op basis van DNA wordt toegepast.

2022-11 Verbetering Rassenlijst Bomen website

Operationele conclusies:

Het project is volgens planning uitgevoerd

Doel

Het verbeteren van de communicatie over de Rassenlijst Bomen en informatievoorziening op de website Rassenlijst Bomen

Voortgang

Eind 2021 heeft een groep studenten in het kader van het vak Academic Consultancy Training (ACT) onderzoek gedaan naar communicatie rondom de Rassenlijst Bomen. Interviews die binnen dit project zijn gedaan met gebruikers waren voldoende informatief, waardoor geen verdere interviews zijn uitgevoerd. Op basis van de output van het ACT project, waaronder identificatie van de grootste knelpunten en suggesties voor verbeteringen van de website is samen met een communicatie-expert en website-redacteur de nieuwe structuur en vormgeving voor de website bepaald.

De website ziet er nu moderner uit door een nieuw beeldmerk en het vernieuwde design. De structuur van de website is aangepast met enkele nieuwe headers en sub pagina's hieronder. Zo heeft het 'aanmelden van een opstand' een prominenter plek gekregen in de bovenbalk. Ook is de uitleg over EU-richtlijnsoorten weggehaald bij 'over Rassenlijst' en toegevoegd onder de 'soorten' button. Als nu een soort gezocht wordt kan er gelijk meer uitleg over de EU-richtlijn worden gevonden. Er is een nieuwe pagina 'Frequently Asked Questions' gemaakt, met daarin de begrippenlijst en vragen over gebruik van de website en materiaal. Gebruikers gaven aan moeite te hebben met de categorieën, deze zijn nu beter uitgelegd op een eigen pagina 'uitleg categorieën en typen uitgangsmateriaal'. Ook is er een button 'over' toegevoegd waar meer te vinden is over de Raad voor plantenrassen en het Centrum voor Genetische Bronnen Nederland. Hier worden beide organisaties beschreven en staat wie welke werkzaamheden uitvoert en waar verantwoordelijk voor is.

Verder zijn de teksten geredigeerd voor het begrijpelijker en toegankelijker maken van de website. Er is een video ontwikkeld die op een heldere en begrijpelijke manier de Rassenlijst uitlegt en promoot. Deze is op de homepage van de website geplaatst, maar kan ook gebruikt worden in communicatie over de Rassenlijst. Hiernaast is een communicatieplan opgesteld. Dit plan is vooral gericht op het bereiken van nieuwe/potentiële gebruikers en het bekend maken van deze groep met de Rassenlijst Bomen. In het plan staan grote en kleinere communicatie-activiteiten, zoals: een video maken over de werkzaamheden van CGN, meer berichten op sociale media plaatsen over het werk dat CGN doet voor de Rassenlijst en over onderwerpen die hier aan relateren, aanhaken bij gerelateerde evenementen, oproepen doen voor het aanmelden van nieuwe opstanden. Verder staan de primaire (bijv. terrein beherende organisaties, boomkwekerijen, gemeentes) en secundaire (bijv. provincies, onderwijsinstellingen) doelgroepen van de Rassenlijst beschreven en ook waar deze (mogelijk) bereikt kunnen worden.

Datum afronding:

Het project is eind 2022 afgerond.

Knelpunten:

Een aantal technische zaken met betrekking tot de website is nog niet uitgevoerd. Bijvoorbeeld de herkomsttabellen op de Rassenlijst Bomen website hebben nog niet de juiste vormgeving. Dit komt door vertraging bij team SODA (verantwoordelijk voor technische ondersteuning van de website) om dit te regelen. Dit wordt in 2023 alsnog door hen uitgevoerd.

Strategische conclusie

De vernieuwde Rassenlijst Bomen website is moderner, toegankelijker en begrijpelijker. Belangrijke veranderingen en toevoegingen zijn: structuur, uitstraling, meer achtergrondinformatie, verduidelijking van begrippen en een actuele promotievideo. Deze vernieuwing draagt bij aan bevorderen van het gebruik van de website. Het helpt (nieuwe) gebruikers om gemakkelijker door de website te navigeren en te vinden waar ze naar zoeken. Het communicatieplan bevat zowel eenmalige/onregelmatige als regelmatige/continue communicatie-acties om nieuwe gebruikers(groepen) bekend te maken met de Rassenlijst Bomen en het gebruik hiervan te stimuleren. Deze kunnen de komende jaren uitgevoerd worden.

2022-12 Proces herregistraties en verificaties verbeteren

Operationele conclusies:

Tomaat:

Er is een SNP panel geselecteerd die internationaal wordt gevalideerd. Op basis van onderscheidend vermogen, genoom coverage, betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid zijn 297 SNP geselecteerd. Deze set is gebruikt voor het genotyperen van de instandhoudingsmonsters.

Genetisch kunnen we constateren dat in de meeste gevallen de twee monsters die hetzelfde ras vertegenwoordigen niet van elkaar te onderscheiden zijn en dus rasecht zijn. Alleen de monsters van 3 rassen laten diversiteit zien tussen de twee Monsters die samen de set vormen.

Alle verschillende rassen zijn goed onderscheidbaar.

Van alle in deze pilot opgenomen sets die uiteindelijk op basis van morfologie rasecht zijn beoordeeld, vinden wij datzelfde resultaat op basis van DNA.

In een aantal rassen zien we dat de genetische variatie in het nieuwere keuringsmonster kleiner is dan in het oorspronkelijke monster. Dat kan erop wijzen dat het ras in de loop van de tijd stabiel/uniformer is geworden en/of er in de loop van de tijd bewust of onbewust is geselecteerd

Ui

Er is gebruik gemaakt van de eerder ontwikkelde SNP-set. Ui: Analyse is afgerond. De resultaten zijn gedeeld met het projectteam. In 100% van de gevallen komt de DNA conclusie overeen met de conclusie op basis van morfologie.

Doel

Herregistratie is een wettelijke taak. De Raad voor plantenrassen gaat deze taak vanaf 2022 actief uitvoeren. De registratie van groente- en landbouwrassen loopt volgens de wet na tien jaar af. De raad geeft vanaf 2022 de mogelijkheid om deze rassen te herregistreren. Het doel hiervan is om de handelspositie van deze rassen met een termijn van tien jaar te verlengen.

Op verzoek van de Raad voor plantenrassen moet de keuringsdienst gegevens leveren over de rasechtheid en raszuiverheid. Dit gebeurt op basis van morfologisch onderzoek. Dit project kan ervoor zorgen dat verificatieonderzoek voor een deel van de gewassen anders en sneller kan worden uitgevoerd.

Voortgang

Het project is afgerond in 2022

Datum afronding:

Het project is eind 2022 afgerond.

Knelpunten:

Geen

Financiële verantwoording

Het budget is uitgeput

Strategische conclusie

Naktuinbouw gaat de methode gebruiken voor nacontrole in tomaat en ui. Voor de Rvp betekent dit dat in tomaat en ui verificatieonderzoek t.b.v. herregistratie goedkoper is uit te voeren.

Tussenrapportages

2021-01 (Vervolg) Rasafstanden tulp

Operationele conclusies: in 2022 is het project inhoudelijk conform projectplan uitgevoerd.

Doel: inzicht krijgen in de geschiktheid van de 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: de geselecteerde rassen zijn voor de 2^e keer beoordeeld op de, in het eerste jaar, vastgestelde set met kenmerken.

Financiële verantwoording: het budget voor 2022 is aangepast van € 15.000,= naar € 7.500,=.

Knelpunten: geen

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

2021–17 DUS onderzoek voor TPS rassen

Operationele conclusies: Het onderzoek wordt volgens planning uitgevoerd

Doel: Een erkende DUS test voor aardappelen uit zaad

Voortgang: In 2022 is het tweede jaar onderzoek aan de TPS aanvragen gestart.

Op 8-2-2022 is van alle aanvragen 1 knol per plant opgeprikt. De knollen zijn geoogst van de DUS proef 2021. Aandachtspunt is dat knollen die worden bewaard van gelijke grootte zijn.

Na 9 weken zijn de lichtkiemkenmerken beschreven. Opvallend is dat de lichtkiemen gevoelig zijn voor het strekken waardoor ze niet meer te beoordelen zijn. In 2023 zal de ontwikkeling nauw gevolgd worden om het juiste moment van beoordelen vast te stellen.

Er is extra aandacht geweest voor de opkweek van de zaailingen. Na evaluatie is vastgesteld dat er nog steeds verbeteringen noodzakelijk zijn voor een goede opkweek. Duidelijk is dat de zaaitrays na het vullen met potgrond beter aangedrukt dienen te worden. Hierdoor is de plug beter te planten in het veld en is de doorworteling optimaal. Op advies van een aanvrager is de periode tussen zaaien en uitplanten verkort met een week. Hierdoor zijn de planten kleiner tijdens het uitplanten en slaan beter aan.

Op 12-4-2022 is de proef gezaaid in de kas en op 27-5-2022 zijn de planten uitgeplant op het veld. Na het planten is de gaastunnel geplaatst en de druppel irrigatie aangelegd. De omstandigheden tijdens het planten zijn optimaal, d.w.z. voldoende vocht in de grond, gematigde temperatuur en na het planten met enige regelmaat een regenbui.

De waarnemingen zijn in het tweede jaar ook op plantniveau waargenomen. Afhankelijk van de ploïdie kunnen we na twee onafhankelijke onderzoeksjaren stellen dat de observaties aan diploïde aanvragen goed mogelijk is op veldniveau. En dat de observaties aan tetraploïde aanvragen meer uitdaging met zich meebrengt. De variatie van de tetraploïde aanvragen is groter waardoor het aanmerken van off-types niet mogelijk is. Wat uiteindelijk de definitieve observatie methode zal worden is afhankelijk van de discussie die zal plaatsvinden tussen de verschillende E.O.'s en het CPVO.

Na twee jarig onderzoek zal in samenspraak met de andere E.O.'s en het CPVO besproken worden welke criteria voor uniformiteit wenselijk zijn. Na het eerste onderzoeksjaar is de uniformiteit beoordeeld met de relatieve variantie methode. Deze methode is ongeschikt voor VS gescoorde kenmerken en daarom niet toegepast in jaar 2. Hoe de uniformiteit wel op de juiste manier vastgesteld dient te worden zal in overleg met de E.O.'s en het CPVO bepaald worden. Vanuit Naktuinbouw zal een "proposition paper" worden geschreven dat als basis kan worden gebruikt voor een mogelijke revisie van het huidige CPVO aardappel protocol.

Datum afronding: driejarig project, einddatum september 2023

Knelpunten: Discussie punten met CPVO en Examination Offices, voor zover geaccrediteerd voor aardappel. De eventuele aanpassingen van het TP blijven als voorheen gericht op:

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

Financiële verantwoording: Het budget voor 2022 is volledig benut.

Strategische conclusie: Het schrijven van een “proposition paper” richting het CPVO en de aangesloten E.O.’s die verantwoordelijk zijn voor het DUS aardappel onderzoek. Dit voorstel zal gebruikt worden om aan te sturen op een revisie van het huidige CPVO protocol TP-023/3 in de periode 2023-2024.

2022-02 ToBRFV resistentietoetsen (TMT/PPS) +Aphis (MLN)

Operationele conclusies:

Project loopt stroef en traag als gevolg van problemen met het onder tekenen van de Consortium agreements, de MUA's (Material Use Agreement) en door de verfijning van de biotoets.

Doel:

Het ontwikkelen van een of meerdere merkertesten voor resistente genetica van ToBRFV.

De toets zal minimaal worden ontwikkeld voor de monogene HR genetica van de ENZA zaden.

Omdat Syngenta al als enige bestaande rassen met resistente tegen ToBRFV bezit, zal worden bekeken aan de hand van de aan Syngenta gevraagd informatie of het zinvol is om ook daarvoor een merker te ontwikkelen.

Mogelijk komen tijdens de loop van het project nog andere resistentiebronnen bovendrijven waarvoor het ook gunstig lijkt een merker te ontwikkelen.

Voor maximaal 2 andere dan de ENZA genetica zal worden geprobeerd een merkertest te ontwikkelen.

Voortgang:

ToBRFV tomaat

Besloten om de Zinger merker niet te gaan valideren, werkt niet goed.

GEVES heeft inmiddels wel een biotoets ontwikkeld en wij hebben merkers ontwikkeld voor de HR resistentie van ENZA en de IR resistentie van Nunhems (Zinger publicatie).

Helaas bleek na een terugkoppeling met onze bevindingen van de Zinger merker met GEVES en Nunhems dat de merker niet goed werkt. Sommige rassen die de merker hebben zijn in de biotoets (en ook in het veld) helemaal niet resistent. Kennelijk ligt deze merker toch iets af van het betreffende gen. Nunhems had dezelfde problemen.

Ook bleek daaruit dat de biotoets van GEVES nog wel enige verfijning nodig heeft.

Nunhems heeft daarvoor wel aangeboden te willen overleggen in januari. Al zal dat volgens hen ook best lastig blijven omdat er niet altijd een goede correlatie is tussen de biotoets met kiemplanten en de reactie in het veld.

Maar het heeft volgens hen geen zin hun merker ter beschikking te stellen. Er is zoveel andere genetica dat dat geen zin heeft.

Op 3 Februari is er een overleg met de deelnemers in Parijs over het project geweest. Daar zijn de merker resultaten gepresenteerd.

Het blijft erg lastige materie omdat het erg prematuur is en erg concurrentiegevoelige informatie betreft.

Bedrijven kunnen daardoor begrijpelijkerwijs niet volledig open meewerken, al is toch al wel veel informatie gedeeld. Maar de devil is in the details en het blijft de vraag of we hier wel uit gaan komen.

Aphis meloen

De verschillende stammen zijn inmiddels verzameld door INRAE maar door de MUA problemen nog steeds niet verstuurd. Naktuinbouw doet alleen mee aan het merker deel. Verder is er nog niets gebeurd voor dit deel van het project.

VAT merker: is conventioneel en erg lang. Er lijkt dus helaas geen Taqman mogelijk. Er worden gegevens opgevraagd. Er zou bovendien een licentie op gebruik van de VAT merker zitten. Wordt nagegaan.

Financiële verantwoording: het budget voor 2022 is volledig benut

Knelpunten:

Er waren grote problemen met de ondertekening van de Consortium agreements en de MUA's. Dat is pas net opgelost. Daarom kon nog niet eerder worden gestart.

Strategische conclusie:

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

2022-04 Merkerontwikkeling Tobamo-resistentie in paprika

Operationele conclusies:

Project doelstellingen zijn voor alsnog niet behaald.

Doel: Het ontwikkelen van een multiplex assay voor het aantonen van de L1, L2, L3, L4-genen voor resistentie tegen Tobamovirus pathotype P0, P1,2 en P1,2,3.

Voortgang:

De genen liggen in een cluster met homologen, hierdoor is heel lastig om goede sequenties te krijgen met Sanger sequencing. Aan de hand van de sequenties in NCBI zijn primers ontwikkeld. Deze worden op dit moment uitgetest en geoptimaliseerd.

Financiële verantwoording:

Het budget voor 2022 is volledig benut.

Knelpunten:

Sanger sequencing levert onbruikbare data op. Assay op basis van NCBI data. Dit kan een risico zijn, als de NCBI data niet correct is.

Strategische conclusie:

Kan nog niet worden getrokken.