

## Eindrapportage methodiekenprojecten Raad voor plantensoorten 2019 – Executive summary

Hieronder volgen de rapportages van de methodiekenprojecten die in 2019 met financiële ondersteuning door de Raad voor plantensoorten zijn uitgevoerd. Het betreft een inhoudelijke samenvatting.

### **Samenvatting inhoudelijk:**

Hieronder vindt u de inhoudelijke projectrapportages.

De doelstellingen zoals die in deze rapportage staan genoemd komen uit de oorspronkelijke projectaanvragen.

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

### *Lijst met projecten:*

R17-401	Essentaksterfte.
2018 - 2	B4EST Fraxinus excelsior.
2018 - 4	Ontwikkeling van een SNP detectie methode op basis van targeted re-sequencing ter ondersteuning van het DUS onderzoek in Engels raaigras.
2019 - 1	Japan. Harmonisatie protocollen 11 grote gewassen (vervolg).
2019 - 3	Inventarisatie protocollen regelgeving en registratie met betrekking tot nieuwe rasconcepten voor de biosector: de casus veldresistentie in sla.
2019 - 4	Verplaatsen rasbeschrijvingen naar de website van de Raad voor plantensoorten.
2019 - 5	Rassenproef Sojabonen in het kader van de EU-ringtest “VCU-testing soybean in Europe”.
2019 - 7	DNA t.b.v. LMV én database-opbouw in sla.
2019 - 8	Ontwikkeling van een SNP merkerset in medicinale hennep voor gebruik in DUS.
2019 - 10	Opzetten nieuwe resistentietoets nematoden in paprika.
2019 - 11	Fusariumresistentie in sla.
2019 - 13	Valideren en gebruiken merker Ff in tomaat.
2019 - 14	Projectmanagement.

Van onderstaande projecten is de rapportage nog niet afgerond:

2019 - 10 ‘Opzetten nieuwe resistentietoets nematoden in paprika’. De toetsen zijn niet geslaagd en worden middels eigen financiering van Naktuinbouw opnieuw gedaan in 2020. Het eindrapport volgt in november 2020.

2019 - 13 ‘Valideren en gebruiken merker Fulvia fulva tomaat’. Na afronding van de merkertoetsen is de biotoets mislukt. Dit levert vertraging op. De toetsen worden opnieuw gedaan in 2020. Het eindrapport volgt in november 2020.

### **R17-401 Essentaksterfte - CGN**

#### **Eindrapport**

**Operationele conclusies:** De inoculatie-experimenten hebben laten zien dat er grote verschillen zijn in isolaten qua virulentie. Op basis van de resultaten is een geschikt test-isolaat ontwikkeld en een methode voor lange-termijnbewaring van het isolaat. De bladsteel-inoculatie, die een meer natuurlijke infectie via het blad benadert, blijkt geen geschikte inoculatiemethode te zijn.

**Doel:** Ontwikkeling van een inoculatieprotocol voor het toetsen van gevoeligheid voor essentaksterfte bij essen (*Fraxinus excelsior*).

**Voortgang:** In het voorjaar van 2018 heeft er een destructieve eindwaarneming (meting lesielengte) plaatsgevonden aan de essen die in het najaar van 2017 zijn geïnoculeerd (stamwondinoculatie) met verschillende isolaten (repeated measures design). Op basis van deze test is één isolaat (Vaartbos) geselecteerd voor verder gebruik vanwege de hoge virulentie. Dit isolaat is tevens opgenomen in de CBS cultuurcollectie van het Westerdijk Instituut. Het materiaal in de collectie kan dan telkens als startmateriaal worden gebruikt (om verlies van virulentie tegen te gaan) voor de inoculatie-toetsen in de komende jaren. Daarnaast is samen met het Westerdijk Instituut gewerkt aan het standaardiseren van het inoculum (groei schimmel, aantal houtjes per plaat, etc.).

Conform projectplan is in de zomer van 2018 een tweede inoculatie ingezet. In samenwerking met Plant Research en het Westerdijk Instituut is ditmaal een bladsteel versus stamwondinfectie ingezet met de twee meest virulente isolaten (test isolaat Vaartbos en bestaand isolaat uit de CBS collectie). Daarnaast zijn enkele bomen die in de zomer van 2017 zijn verzameld en vermeerderd, geïnoculeerd.

In juli 2019 is de eindwaarneming van het 2<sup>e</sup> experiment uitgevoerd. De bladinoculatie met mycelium op houtjes gaf significant slechtere resultaten (niet of nauwelijks symptomen) vergeleken met inoculatie via een stamwond (bij beide isolaten). Ook dit jaar bleek het isolaat Vaartbos de duidelijkste symptomen te geven. De nieuwe inoculumbereiding is duidelijk een verbetering (minder variatie in symptomen binnen een kloon en minder mislukte inoculaties).

**Datum afronding:** juli 2019

**Knelpunten:** geen

**Strategische conclusie:** Er is een goede samenwerking opgestart tussen WUR en het Westerdijk Instituut voor het toetsen van essen op essentaksterfte, waarbij het Westerdijk instituut de inoculumbereiding uitvoert. De stam-inoculatie en testisolaat Vaartbos zullen de komende jaren gebruikt worden in het CGO-onderzoek voor het toetsen van essen op essentaksterfte.

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

### Tussenrapport

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

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

**Voortgang:** In februari 2019 heeft er een overleg plaatsgevonden met het INRA om de samenwerking door te spreken betreffende de analyse van herkomsten toetsen van essen, de opzet van de SNP array, inoculatie-toetsen en de ontwikkeling van een nieuwe screeningsmethode (NIR tool) gebaseerd op nabij Infrarood (NIR) spectrometry om gevoeligheid voor essentaksterfte ziekte te voorspellen. Er is een start gemaakt met inoculatie-toetsen, waarbij vegetatief vermeerderde essen kunstmatig geïnfecteerd worden met de schimmel (*Hymenoscyphus fraxineus*) die de essentaksterfte

veroorzaakt. In het najaar heeft een eerste beoordeling plaatsgevonden van symptomen. De NIR-tool wordt samen met het INRA ontwikkeld, dat hiervoor een bezoek heeft gebracht aan Wageningen. Dezelfde klonen die ook worden gebruikt voor de inoculatietoetsen zijn hiervoor gebruikt. Voor het ontwikkelen van de SNP array zijn in 2019 86 bomen geselecteerd voor de test-array. In totaal zullen 1000 bomen in de definitieve array worden gegenotypeerd (in 2020). Met de verzameling hiervan is een start gemaakt. Dit voorjaar zijn al monsters van blad en cambium genomen van de meeste van deze bomen. Daarnaast zijn metagegevens van bestaande proefvelden van essen gedeeld met het INRA.

**Geschatte datum afronding:** Vierjarig project, einddatum mei 2022

**Knelpunten:** geen

**Strategische conclusie:** het project loopt op schema. Er is een prettige samenwerking met INRA.

#### 2018-4 Ontwikkeling van een SNP detectiemethode op basis van targeted re-sequencing ter ondersteuning van het DUS onderzoek in Engels raaigras (2018-2019) – Naktuinbouw

##### Eindrapport

**Operationele conclusies:** Er zijn specifieke SNPs nodig voor rassen uit gazontype en voedertype. M.b.v. deze genotype-database zijn alle rassen die bekend zijn te identificeren.

**Doel:** Moleculaire data voor DUS onderzoek in de kruisbevruchter *Lolium perenne*.

- Selectie van SNPs op basis van opgestelde criteria uit de GBS data.
- Ontwikkelen van targeted primers voor SNP detectie m.b.v. GT-Seq.
- Maken van GT-seq libraries en testen SNP panel.
- Optimaliseren SNP panel.
- Sequentie-analyse en ontwikkeling en optimalisatie van GT-seq bioinformatica pipeline.
- Bioinformatica pipeline ontwikkelen voor rassenidentificatie op basis van allel-frequenties.

**Voortgang:** De doelen zijn gehaald. In december is het eindverslag geleverd. Na afronding van het project is er een bijeenkomst gehouden met alle stakeholders om de resultaten te bespreken en om na te denken hoe we deze nieuwe tool kunnen gebruiken in het DUS onderzoek. Er is een klein vervolgonderzoek aan dit project toegekend binnen Naktuinbouw om de volgende resultaten te bereiken: een geoptimaliseerde GT-seq methode voor grassen, geschikt voor zowel voeder- als gezontypes en een geoptimaliseerde bioinformatica pipeline voor grassen GT-seq sequencingdata.

**Datum afronding:** 31 december 2019

**Knelpunten:** geen

**Strategische conclusie:** De ontwikkeling van een SNP set voor raaigras heeft geleid tot een SNP genotype database die het DUS onderzoek gaat ondersteunen bij vragen. In de toekomst wordt samengewerkt met INVITE waar ook aan raaigras gewerkt zal worden. De methode wordt in 2020 geoptimaliseerd. Naktuinbouw gebruikt de set in de komende jaren in het geval er bij het morfologisch onderzoek problemen zijn.

#### 2019 – 1 Harmoniseren DUS onderzoek met Japan (vervolg) – Naktuinbouw

## Eindrapport

**Operationele conclusies:** Het meerjarig project zou medio 2020 worden afgerond. Door de Covid-19 crisis is het maken van de Tulp Calibration Manual echter tot begin 2021 uitgesteld.

**Doel:** Het oorspronkelijke doel uit 2016, het intensiveren van de samenwerking met Japan die leidt tot het uitwisselen van rapporten tussen Japan en Nederland en Japan en het CPVO, is inmiddels gehaald. De EU uitvoeringsverordening kwekersrecht is gewijzigd en het is mogelijk geworden om rapporten over te nemen in geharmoniseerde gewassen. De Japanse overheid heeft aangeboden om bij overname af te zien van het overnametarief. De Calibration Manuals voor sla, roos, anjer, watermeloen, *Anthurium*, aubergine, tomaat en *Gerbera* zijn afgerond. Aan de Calibration Manuals voor chrysanthe en tulp wordt gewerkt.

**Voortgang:** Het deel van het project gefinancierd door de Rvp is afgerond. De volgende Calibration Manuals staan op de Website van Naktuinbouw: sla, roos, anjer, watermeloen, aubergine, tomaat, *Anthurium* en *Gerbera*. In 2020 is er verder gewerkt aan het harmoniseren van de protocollen van tulp en chrysanthe. Besloten is om voorlopig geen Calibration Manual voor paprika te maken, om dat de UPOV richtlijn voor dit gewas in revisie is.

**Datum afronding:** 31 december 2019

**Knelpunten:** geen

**Strategische conclusie:** Er is een duurzame relatie opgebouwd met Japan om samen met Nederland de kwaliteit van het DUS onderzoek blijvend hoog te houden. Het project wordt voortgezet om de kalibratie van de laatste gewassen af te ronden. In mei 2020 staat een overleg gepland met het CPVO. Naktuinbouw zal aan het CPVO melden welke “Calibration Manuals” met Japan zijn afgerond en vragen hoe het CPVO met overnames om zal gaan.

## 2019 – 3 Inventarisatie protocollen regelgeving en registratie met betrekking tot nieuwe rasconcepten voor de biosector: de casus veldresistentie in sla - Louis Bolk Instituut (LBI)

### Eindrapport

**Datum afronding:**  
1 maart 2020

**Knelpunten:**

Door personele wisseling bij LBI was er vertraging opgetreden bij de uitvoering.

### Executive summary.

In de biologische landbouw is de bewegingsvrijheid voor het tegengaan of verminderen van biotische en abiotische stress beperkter dan in de gangbare landbouw. In de biologische sector bestaat daarom een nog grotere behoefte aan ‘robuuste’ rassen, ofwel rassen die onder een brede range aan groeiomstandigheden en stressfactoren tot een stabiele productie kunnen komen. Voor veel gewassen is het palet aan biologische rassen summier of überhaupt niet voorhanden. Een biologisch ras (Organic Variety) wordt gedefinieerd als een ras, geschikt voor biologische productie a) met een hoge mate van genetische en fenotypische diversiteit tussen de individuen, en b) voortkomend uit biologische veredeling.

Het doel is te onderzoeken hoe regelgeving en rassenregistratie aangepast zou kunnen worden tot een alternatief protocol voor slarassen met veldresistentie tegen *Bremia*. Zowel de reguliere, homogene rassen als alternatieve, synthetische rassen zijn meegenomen. Als case is gekozen voor slarassen met veldresistentie tegen *Bremia* of valse meeldauw (*Bremia lactucae*); een oömyceet met een frequente ontwikkeling van nieuwe stammen, wat een gevoelig slaras compleet te gronde kan richten.

### Combinatie HR en IR

De gangbare veredeling is erop gericht om HR resistenties tegen de gangbare stammen te stapelen; een voortdurende inspanning om de evolutie van het pathogeen te volgen. Bij de grotere zaadbedrijven wordt ook gezocht naar Intermediaire Resistentie (IR) tegen *Bremia*, met een genetische en een fysiologische component. Dit leidt tot een oogst- en vermarktbaar product en hooguit beperkte infectie met kleine laesies op het oude blad en minder sporulatie. Genetische merkers (in ontwikkeling) gaan de ontwikkeling van IR resistente rassen helpen, met eerste resultaten in het Batavia en het Kos type. Combinatie van IR en HR resistentie in een ras lijkt een veelbelovende strategie voor de ontwikkeling van robuuste, veldresistente slarassen. Wanneer HR doorbroken wordt, is het gewas door IR nog steeds beschermd. Voor deze rassen is grote belangstelling in de biologische en in de gangbare teelt.

Rassen van een zelfbevruchtend gewas als sla met een robuuste combinatie van HR en IR zijn zeer homogeen en passen binnen het 'gangbare' rasconcept. Omdat er geen protocol voor een toets op IR resistentie tegen *Bremia* bestaat, komen er nog geen IR resistente sla rassen op de markt. De International *Bremia* Evaluation Board (IBEB) is hiervoor verantwoordelijk en er is een werkgroep actief.

In Duitsland werkt een bij Kultuuraan aangesloten kweker aan twee alternatieve veredelingsprogramma's, met als strategie het introduceren van heterogeniteit in resistentiemechanismen tegen *Bremia*. Dit materiaal kan worden gezien als synthetische rassen, vergelijkbaar met synthetische rassen in granen.

### Teelt van populaties

Bij de eerste casus worden twee ouderlijnen gekruist met verschillende veldresistenties en 'gelijke' fenotypische eigenschappen. Van deze kruising wordt het zaad steeds in bulk geoogst en tot in de F3 nageteeld tot zaad voor de slaproductie. De hypothese is dat door natuurlijke selectie de resistentie in de populatie meebeweegt met de evolutie van het pathogeen. De verschillende mechanismen zijn verspreid door deze 'kruisingspopulatie', terwijl de marktrelevante eigenschappen, conform de ouderlijnen, min of meer homogeen zijn. Populaties met een goede veldresistentie en voldoende uniformiteit voor de markt worden geselecteerd voor de sla-teelt. Veldproeven (hoewel beperkt van opzet) laten zien dat de veldresistentie van kruisingspopulaties inderdaad is toegenomen ten opzicht van de kruisingsouders en referentierassen. Voor het Batavia type is deze voldoende in het hele teeltseizoen; voor botersla alleen in de minder *Bremia* gevoelige voorjaarsteelt. Hoewel voldoende voor de markt, is de uniformiteit van de kruisingspopulatie 'een uitdaging' voor de eisen voor registratie. Maar het grootste bezwaar is dat het uitgangsmateriaal nog sterk uitsplitst en dus niet stabiel is. Bovendien moeten voor de kruisingspopulatie steeds de ouderlijnen opnieuw worden opgezet en nageteeld tot in de F3.

### Teelt van lijnenmengsels

In de tweede casus wordt een mengsel van meerdere fenotypisch 'gelijke' ouderlijnen, die veldresistentie hebben laten zien, uitgezaaid en in bulk geoogst. Omdat sla een strikte zelfbevruchter is, zal het lijnenmengsel vooral bestaan uit de oorspronkelijke ouderlijnen –de diversiteit aan

resistentiemechanismen inclus. Dit 1 jaar gemengd afgebloeide lijnenmengsel wordt als productiezaad gebruikt. Evenals bij de kruisingspopulatie, moeten ouderlijnen worden onderhouden door de kweker en elk jaar opnieuw worden opgezet. De verschillen in veldresistentie van het lijnenmengsel laat in de proeven dezelfde trend zien: deze is toegenomen ten opzichte van de ouderlijnen afzonderlijk. Voor Batavia wordt een voldoende niveau bereikt; voor botersla alleen in de voorjaarsteelt. De zuivere lijnen die aan dit concept ten grondslag liggen, zouden waarschijnlijk afzonderlijk te registreren zijn. Dit is praktisch gezien veel te kostbaar voor de kleine markt (een niche binnen de biologische markt). Bovendien wordt niet het mengsel van zuivere lijnen, maar het zaad na gemengde afbloeï voor de productie van sla gebruikt. Door de verschillen in zaadopbrengst tussen de ouderlijnen is de mengverhouding niet stabiel.

De hoeveelheid oogstbaar product van veldresistente, heterogene rasconcepten haalt niet het niveau van traditionele, HR resistente rassen. De diversiteit in resistentiemechanismen laten wel de trend zien dat deze beter bestand is tegen een *Bremia* infectiedruk dan de resistenties van de ouderlijnen afzonderlijk.

### Conclusies

De grotere zaadbedrijven zetten in op het verkrijgen van een robuuste veldresistentie door het combineren van IR en HR resistenties, al dan niet voor de biologische teelt. De introductie wordt echter belemmerd, omdat voor het registratie onderzoek geen toets voor IR resistentie in *Bremia* bestaat. Vanuit de zaadsector wordt sterk aangedrongen op de ontwikkeling van deze toets. Een toets op basis van een infectiemethode werkt niet meer, wanneer IR resistentie 'verborgen' zit achter een aantal HR resistenties. Een mogelijke toets voor het registratie onderzoek zou kunnen bestaan uit het controleren of de merkers voor de IR resistentie aanwezig zijn.

Op grond van een grotere heterogeniteit op verschillende eigenschappen van kruisingspopulaties en lijnenmengsels zou een alternatief protocol aan kunnen sluiten bij de ideeën die bestaan voor een alternatief protocol voor biologische rassen (Organic Varieties); te weten: 1) beperking van het aantal criteria met focus op marktrelevantie, eventueel op aanvraag van de veredelaar en 2) het toelaten van een zekere bandbreedte, waarbinnen de criteria zich moeten bevinden. De grootste bottleneck voor registratie van de beschreven rasconcepten is echter de stabiliteit. Elk seizoen wordt het oudermateriaal opnieuw opgezet en onder natuurlijke selectie in bulk geoogst. De eigenschappen van de kruisingspopulatie en het lijnenmengsel zijn dus van jaar tot jaar in zekere zin onvoorspelbaar.

De beschreven kruisingspopulaties en lijnenmengsels zijn concepten die ver verwijderd zijn van de definitie van een ras. De voorgestelde aanpassingen aan de DUS protocollen zijn daarmee ongeschikt voor registratie van deze rasconcepten. Omdat het product niet stabiel reproduceerbaar is, ligt het meer voor de hand deze rasconcepten te behandelen als Organic Heterogenous Material (OHM). Omdat OHM geen rassen betreft, is een beschrijving van bijvoorbeeld herkomst en het proces van veredeling en selectie voldoende. Dit neemt niet weg dat het zinvol blijft om het onderzoek naar alternatieve DUS protocollen voor biologische rassen (Organic Varieties) voort te zetten, omdat de sector behoefte heeft aan uitbreiding van het rassenpakket voor de biologische landbouw.

## 2019 – 4 Geautomatiseerd inlezen rasbeschrijvingen en verplaatsen bestaande rasbeschrijvingen – Naktuinbouw

### Tussenrapport

De projecttitel is op verzoek van de secretaris van de Raad voor plantenrassen aangepast. De originele projecttitel was: Verplaatsen rasbeschrijvingen naar website Raad voor plantenrassen.

**Operationele conclusies:** Het zichtbaar maken van de rasbeschrijvingen op de Website van de Rvp heeft vertraging opgelopen. De kosten voor het project waren verkeerd ingeschat. In september 2019 is een aangepast projectplan door de Raad goedgekeurd en is het budget voor het project verhoogd. Het project wordt deels in 2020 uitgevoerd.

**Doel:**

- a. Rasbeschrijvingen van in het NRR ingeschreven rassen staan sinds 2009 op de website van Naktuinbouw. Na overleg tussen Raad en Naktuinbouw en n.a.v. de tripartite-overeenkomst is de conclusie dat de rasbeschrijvingen van rassen in het NRR eigendom zijn van de Raad voor plantenrassen. Rasbeschrijvingen dienen verplaatst te worden naar de website van de Raad.
- b. Op dit moment is de website en/of het online NRR van de Raad daar niet op ingericht.
- c. We willen dat de rasbeschrijvingen op een gebruikersvriendelijke manier geraadpleegd kunnen worden.
- d. Verder dient het huidige handmatige proces van plaatsen of verwijderen van rasbeschrijvingen op de website een volledig geautomatiseerd proces te worden.
- e. Daarnaast dient rekening gehouden te worden met de omvang van de rasbeschrijvingen. Maandelijks worden ca. 120 rasbeschrijvingen toegevoegd.

**Voortgang:** het project is in het voorjaar 2019 gestart. Er bleek echter dat de uitvoering veel duurder is dan in de oorspronkelijke projectaanvraag was ingeschat. Het besluit is genomen om het project stop te zetten en eerst na te gaan of het project afgerond moest worden of niet. De onderschatting van de kosten werd duidelijk bij het uitwerken van de userstories. In overleg met en in opdracht van de Raad is het project inmiddels weer opgestart.

Een userstory is een korte, eenvoudige beschrijving van wat een gebruiker wil. Userstories worden gebruikt bij het ontwikkelen van software of producten. Aan een user story zijn vaak meerdere onderliggende taken gekoppeld.

In het voorjaar van 2019 zijn de userstories uitgewerkt. Daarna werd in een aantal sessies met het ICT-team nagegaan wat er technisch gezien nodig is om de userstories en onderliggende taken af te handelen. Voor de uitvoering is ook de inzet van een externe partij (Verdel ICT & Media) nodig.

Na deze refinementsessies werd duidelijk dat voor een volledige en goede afronding van het project meer budget noodzakelijk is.

Hiervoor werd een motivering en kostenuitsplitsing aangeleverd bij de Raad voor plantenrassen.

Wij verwachten in maart 2020 verder te kunnen gaan met de uitvoering van het project. Projecten worden pas ingepland in de ICT projectenplanning van Naktuinbouw na ontvangst van de goedkeuring. In de planning van ICT-projecten hebben we ook rekening te houden met andere, lopende ICT-projecten en ICT-onderhoudspunten. Daarnaast houden we ook rekening met de capaciteit en beschikbaarheid van het ICT-team van Naktuinbouw en van Verdel ICT & Media.

23 maart wordt gestart met de verdere uitvoering.

**Geschatte datum afronding:** 1 juli 2020

**Knelpunten:** kosten. Dit knelpunt is inmiddels opgelost.

**Strategische conclusie:** De strategische conclusie kan nog niet worden getrokken.

## 2019 -5 Rassenproef Sojabonen in kader van EU-ringtest “VCU-testing soybean in Europe” – Naktuinbouw

### Eindrapport

**Operationele conclusie:** Het onderzoek is volgens planning uitgevoerd en leverde bruikbare conclusies op ten aanzien van de eisen die aan sojarassen in Nederland gesteld moeten worden.

**Doel:** De teelt van sojabonen komt in verschillende EU-landen steeds meer in de belangstelling te staan, o.a. ook vanwege het streven om de EU meer zelfvoorzienend te maken voor plantaardig eiwit. In verschillende EU-landen wordt daarom Cultuur- en Gebruikswaarde Onderzoek (CGO) aan sojarassen opgestart. Tijdens het VCU-Seminar in Gent (27 en 28 juni 2018), waar vertegenwoordigers van het CGO in alle EU-landen bijeen waren, werd door de meeste landen uitgesproken dat zij behoefte hebben aan een ringtest voor CGO Sojabonen. Het doel van de ringtest was, om gezamenlijk methodieken en protocollen te ontwikkelen voor het CGO Sojabonen en om resultaten uit te wisselen. Tijdens het Seminar werd besloten dat er in 2019 een ringtest georganiseerd zou worden door Polen. Elk EU-land werd verzocht om minimaal één rassenproef sojabonen uit te voeren met rassen die in meerdere landen onderzocht zouden worden.

**Voortgang:** In de ringtest van 2019 waren 12 rassen opgenomen, geen van deze rassen is in Nederland ontwikkeld. In Nederland is de proef uitgevoerd in Lelystad. De proef is gezaaid op 9 mei. In juni kwam vanuit Polen bericht dat één van de rassen een lichte verontreiniging met GMO bevatte. In overleg met de andere landen is besloten om al het plantmateriaal van het betreffende het ras voor de bloei te vernietigen. De andere 11 rassen zijn voorspoedig opgegroeid. Er kwamen geen ziekten of legering voor in de proef. De afrijping van de proef verliep in september/oktober traag. De proef is geoogst op 31 oktober.

**Datum afronding:** 31-12-2019

De gegevens zijn in december 2019 opgestuurd naar Polen, waar de analyse van de resultaten wordt uitgevoerd en waar ook conclusies getrokken zullen worden over de geschiktheid van de rassen in de verschillende klimaatregio's van de EU.

**Knelpunten:** Een belangrijk knelpunt is dat 5 á 6 rassen duidelijk te laat zijn voor Nederland. In 2019 is het nog wel gelukt om zelfs van deze te late rassen rijp zaad te oogsten, maar het oogsttijdstip van 31 oktober is extreem laat. Voor teelt op praktijkpercelen is dit niet realistisch. In tabel 1 staan de belangrijkste resultaten van de proef in Lelystad. Op voorstel van Nederland is het ras Alexa opgenomen in de set rassen. Met Alexa zijn in verschillende jaren ervaringen opgedaan en met dit ras zijn redelijke resultaten te behalen. De rassen RGT Shouna, Bolgar, ES Mentor, Lenka, Demetra en Ika zijn te laat voor Nederland (Van Demetra en Ika kon in de proef van 2019 geen zaad geoogst worden). Hiernaast zaten er in de set rassen ook rassen die vroeger zijn dan Alexa, maar in productiviteit te kort schieten (m.n. Erica, maar ook Sculptor en Tiguan).



Table 1. Results of soybean variety trial Lelystad 2019

	beginning of flowering (days after 1 jan.)	harvesting maturity (9 = early; 1 = late)	lodging (1 = no lodging; 9 = all plants lodged)	plant height (cm)	height low pods (cm)	seed humidity at harvest (%)	seed yield at 14% humidity (dt/ha)	protein % (dm)	fat % (dm)
Erica	179	9,0	8,7	88	12,7	20,1	23,9	37,1	17,6
Sculptor	188	9,0	8,0	95	13,0	21,4	34,2	39,6	19,2
Tiguan	185	9,0	9,0	97	12,7	19,2	33,9	38,1	20,8
Alexa	182	9,0	7,2	102	11,7	22,8	36,6	41,9	17,5
Aurelina	185	8,7	7,3	103	13,7	22,3	35,6	43,8	17,4
RGT Shouna	188	6,7	4,3	97	12,0	24,4	37,8	41,8	18,0
Bolgar	203	4,0	6,3	110	16,3	27,9	28,6	41,1	15,8
ES Mentor	191	6,0	7,2	105	16,7	25,1	41,7	43,0	16,6
Lenka	185	5,7	7,8	110	12,0	22,8	34,4	43,5	16,1
Demetra	203	1,7	6,3	110	14,0				
Ika	203	2,0	6,0	118	19,3				
PR91M10									

**Strategische conclusie:** De proef in Nederland laat duidelijk zien dat bepaalde rassen vanwege hun laatheid niet geteeld kunnen worden in Nederland, terwijl er daarnaast ook rassen zijn die te vroeg zijn en daardoor in opbrengst teveel achterblijven. De gebruikte set rassen is voor Nederland niet interessant genoeg. Er wordt niet meegedaan met de ringtest soja 2020.

## 2019 – 7 DNA t.b.v. LMV én databaseopbouw in sla – Naktuinbouw

### Tussenrapport

**Operationele conclusies:** Zowel de merkertoets als het opbouwen van een database zijn goed gestart. Van de getoetste rassen kwamen alle resultaten overeen met de biotoets. De merkertoets bleek een mooie stok achter de deur om, bij foutieve opgaves, mee te nemen in de communicatie richting bedrijven.

**Doel:** Nieuwe aanvragen voor kwekersrecht en/of toelating in de biotoets op te nemen én tegelijkertijd op een beperkt aantal planten te toetsen met de in 2018 ontwikkelde merker voor LMV resistentie (mo1<sup>1</sup> en mo1<sup>2</sup>). Het verzamelde DNA is direct de start van de opbouw van een DNA-database voor sla.

**Voortgang:** in 2019 is van alle in de proef opgenomen rassen een monster genomen t.b.v. de database opbouw in sla. Op 24 maart 2020 was bij 893 monsters de merkertoets uitgevoerd. Tevens is bij alle nieuwe aanvragen een merkertoets uitgevoerd. De merker doet het heel goed: de resultaten zijn zwart-wit, er is geen ruis en het resultaat is constant. De resultaten uit deze merkertoets zijn vergeleken met de biotoets. Tot nu toe is er geen tegenspraak gevonden tussen de uitslag van de biotoets en de merkertoets. De schietersproef sla is in maart bemonsterd (228 monsters).

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

**Knelpunten:** geen.

**Strategische conclusie:** Afwachten wat de resultaten zijn. Een strategische conclusie is nog niet te trekken.

## 2019-8 Ontwikkeling van een SNP merker set in medicinale hennep voor gebruik in DUS – Naktuinbouw

### Eindrapport

**Operationele conclusies:** Het project verloopt volgens plan.

**Doel:** Verbeteren van het collectiebeheer voor medicinale hennep.

Naktuinbouw is door CPVO entrusted als Examination Office voor medicinale hennep. In 2017 is de eerste DUS proef bij Naktuinbouw uitgevoerd.

Risico's in het huidige DUS onderzoek:

- Onvolledige referentiecollectie. Het bezit, de teelt en transport van plantmateriaal vallen onder de Opiumwet en zijn aan strikte regelgeving gebonden. Voor transport van plantmateriaal tussen Europese landen zijn import- en exportvergunningen nodig. Dit vergt extra inspanning in tijd en geld, niet alleen voor Naktuinbouw maar ook voor de aanmelders. De verkrijgbaarheid van referentierassen komt daarmee onder grote druk te staan. Aanmelders zijn wel bereid om deze molen te doorlopen voor nieuwe rassen, maar het valt te verwachten dat vooral de kleine bedrijfjes dit niet zullen doen voor het leveren van alleen referentiemateriaal. Het eerste geval van het niet leveren van referentiemateriaal om die reden is in het tweede onderzoeksjaar al voorgekomen.

Door de strikte wetgeving is het vrijwel onmogelijk om stekmateriaal uit landen buiten Europa te ontvangen, waardoor deze rassen van common knowledge niet in de DUS proef kunnen worden opgenomen.

- Subjectiviteit rasbeschrijvingen buitenland. De huidige UPOV richtlijn/CPVO protocol is gemaakt voor industriële hennep (zaadvermeerderd, buitenteelt). Een redelijk aantal kenmerken leent zich niet voor medicinale hennep (niet van toepassing). Door de andere teeltwijze zijn de huidige voorbeeldrassen niet geschikt. Dit maakt dat buitenlandse rasbeschrijvingen niet makkelijk te vertalen zijn naar de Nederlandse situatie.

**Voortgang:** Er is een uitgebreide inventarisatie gedaan van de rassen die de brede genetische diversiteit vertegenwoordigen, zowel voor vezelhennep als medicinaal. Er is contact gelegd met de Examination Offices in Frankrijk en Hongarije en daarvan zijn zaden ontvangen. Tevens is contact gelegd met Bedrocan en wetenschappelijke groepen in Canada om kennis te verkrijgen over moleculaire merkers. Een groot deel van de rassen is al bemonsterd en DNA is geïsoleerd. De rest van de geselecteerde rassen is bemonsterd voor DNA isolatie. Er is een GBS experiment uitgevoerd. Daarvoor zijn dezelfde condities gebruikt als Bedrocan in hun experimenten heeft gebruikt. Na het tekenen van een MTA (wordt nu voorbereid), kunnen beide datasets samengevoegd worden en op basis van de bioinformatica SNPs worden gefilterd. Het testen van de gefilterde SNPs in een GT-Seq zal in 2020 worden uitgevoerd.

**Datum afronding:** het project is voor de Rvp afgerond. Het project wordt vervolgd in een 2-jarig project gefinancierd door het CPVO.

**Knelpunten:** geen.

**Strategische conclusie:** er is voor het onderzoek in 2020 een subsidieaanvraag ingediend bij het CPVO (IMODDUS). Deze is gehonoreerd. Het belang van dit onderzoek wordt ook internationaal gezien, niet alleen voor medicinale hennep maar ook voor vezelhennep. Voor 2020 is er geen subsidie aangevraagd bij de Rvp.

## 2019 – 10 Opzetten nieuwe resistentietoets nematoden in paprika – Naktuinbouw

### Tussenrapport

**Operationele conclusies:** Het project is door het moeizame opstarten van de ziekte vertraagd en een proef waaruit onvoldoende conclusies getrokken kunnen worden vertraagt het proces verder.

**Doel:** Bij aanvragen wordt resistentie voor nematoden als enig onderscheidbaar kenmerk aangegeven.

Bij de teelt van paprika kunnen nematoden (wortelknobbelaaltjes) voor grote problemen zorgen. Geïnfecteerde planten blijven achter in groei en productie en zijn gevoeliger voor andere infecties.

Resistentie tegen nematoden is voor het eerst beschreven in 1947. Sindsdien is een groeiend aantal major en minor genes in detail beschreven en geanalyseerd. Geen van deze genen is gekloneerd. Het paprikagenoom is gesequenced in 2014. Het stapelen van resistentiegenen wordt hierdoor steeds makkelijker. Waar in het verleden voornamelijk gebruik gemaakt is van de introgressie van één major gene, Me1, verwachten we in de nabije toekomst meer variatie. Het is belangrijk om hierop bedacht te zijn tijdens de toetsontwikkeling. In de praktijk betekent dat dat Naktuinbouw in sommige gevallen in staat moet zijn om de genetica op te helderen met merkers.

Paprika-veredelingsbedrijven verwachten in de komende jaren rassen aan te gaan melden waarbij alleen nematodenresistentie de onderscheidbare factor zal zijn. Zij hopen daarom dat Naktuinbouw deze claim kan onderbouwen met een onafhankelijke toets. Anders kunnen zij hun rassen niet goed beschermen. Bovendien draagt de onafhankelijke toetsing bij aan de betrouwbaarheid van de claim.

Gezien de complexe genetica en de sterk gesegmenteerde marktomstandigheden is het mogelijk dat Naktuinbouw geen toets kan ontwikkelen die altijd overeenstemt met de nodige claims. We zullen dat per geval met de bedrijven moeten bespreken.

**Voortgang:** Er is vertraging opgelopen omdat de nematoden moeilijk bleken te vermeerderen op het gewas paprika. Toetsen in november/december leverden onvoldoende besmetting op voor een betrouwbare conclusie. Inmiddels is duidelijk dat vermeerdering van de nematoden op verwarmde tafels mogelijk is, maar ook te traag is. Bedrijven geven aan dat vermeerdering op tomaat en toetsen op paprika wel een optie is. In april tot juni 2020 worden aaltjes van tomaat en paprika vergeleken op 2 vatbare rassen, een resistent ras en een referentieras voor intermediaire resistentie, verkregen via MATREF. Daarna kunnen we een vervolgexperiment ontwerpen met 10 rassen. Als dat goed gaat, wordt de toets overdragen aan routine team voor resistentietoetsen bij Naktuinbouw.

**Datum afronding:** Rapportage voor 31 maart 2020 lukt niet. Eindrapport wordt november 2020 geleverd.

**Knelpunten:** Laat gestart, moeilijkheden bij de vermeerdering.

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

## 2019 – 11 Fusariumresistentie in sla – Naktuinbouw

### Eindrapport

**Operationele conclusies:** De test is goed uit te voeren.

**Doel:** Fusariumresistentie in sla is een belangrijk veredelingsdoel. Er is grote vraag naar rassen die resistent zijn tegen alle fysio's. De toetsing met *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* (Fol/s) is niet zonder problemen. De reproduceerbaarheid laat te wensen over: genetisch zuivere lijnen kunnen fenotypische splitsing vertonen. De mate van resistentie is van belang voor de marktwaarde van het ras in een bepaald teeltgebied. Resistentieclaims in de rasbeschrijving kunnen dus verwarring zaaien.

Het huidige CPVO protocol (21/03/2018) lost het probleem van de slechte reproduceerbaarheid op door een verwijzing naar standaardrassen. Voor uniformiteitsproblemen is dat soms niet voldoende. Dit onderzoek kan op termijn bijdragen aan verduidelijking op dit punt.

Het officiële CPVO protocol geeft veel vrijheid: de toets kan in de kas of in een klimaatcel worden uitgevoerd, en inoculatie kan via besmette grond of dompelen in sporensuspensie. We kiezen in eerste instantie voor dompelen in de kas, omdat dit het beste aansluit bij onze mogelijkheden, en doen de toets alleen in het zomerhalfjaar vanwege adviezen hierover.

**Voortgang:** Alle toetsen afgerond. Naktuinbouw kan deze toets bij de meeste rassen met voldoende betrouwbaarheid uitvoeren. Sommige intermediair resistente rassen lijken te splitsen. In dat geval kunnen we de uniformiteitsbeoordeling standaardiseren door toepassing van de Cochrane-Armitage test, verwerkt in Pathostat, een recent gepubliceerd statistisch hulpprogramma van GEVES. De toepasbaarheid van dit hulpprogramma moet verder onderzocht worden.

**Datum afronding:** 31 maart 2020

**Knelpunten:** geen

**Strategische conclusie:** Naktuinbouw kan resistentie tegen fusarium in sla conform de protocoleisen van het CPVO testen met betrouwbare uitslagen. Dit geeft de mogelijkheid om dit kenmerk beter te benutten bij het beheer van de referentiecollecties in sla. De toets wordt in 2020 overgedragen aan het routine team voor resistentietoetsen.

## 2019-13 Valideren en gebruiken merker *Fulvia fulva* tomaat – Naktuinbouw

### Tussenrapport

**Operationele conclusies:** de merkertoets is uitgevoerd. De resultaten van de biotoets zijn nog niet bekend.

**Doel:** Het DUS-onderzoek in diverse gewassen kan efficiënter verlopen als bepaalde kenmerken getoetst worden met een merker in plaats van met een op morfologie gebaseerde werkwijze. Het is door UPOV geaccepteerd om in geval van 100% correlatie een merkertoets te gebruiken in plaats van een biotoets of veldproef. Hierbij kan gedacht worden aan resistenties die vaak goedkoper en sneller getoetst kunnen worden met een merker.

Eén van de resistenties die niet altijd even gemakkelijk is te toetsen, is die tegen *Fulvia fulva* in tomaat. De biotoets kan soms beïnvloed worden door omgevingsfactoren waardoor een minder

reproduceerbaar beeld ontstaat. Ondersteuning van de resistentietoets met een merker in het geval van tegenstrijdige resultaten of problemen met de biotoets kan dan zeer behulpzaam zijn. Als de tijd rijp is kan zelfs worden gedacht aan vervanging van de biotoets door een merkertest in een deel van de gevallen.

- moeilijke gevallen met zowel de biotoets als de merker toetsen;
- data verzamelen om internationale acceptatie van de merker te kunnen onderbouwen.

**Voortgang:** Het project is gestart in de zomer van 2019; er zijn 96 rassen getoetst met merkers. In deze merkertoetsen zijn alle probleemgevallen en resistentie onbekend bij aanvraag opgenomen. Deze lijst is aangevuld met 22 monsters die uit het buitenland zijn ontvangen, want juist bij die monsters is merkervalidatie nodig. Er wordt gewerkt met een 6-tal gedefinieerde isolaten in de biotoetsen. Helaas is de eerste biotoets met *Fulvia fulva* isolaat 0 (Ff: 0) in december mislukt. Mede hierdoor moet het project verlengd worden. Inmiddels is de biotoets met isolaat Ff: 0 ingezet. Daarnaast zijn 9 aanvragen voor toetsing met isolaat Ff: E aangemaakt. Het is mogelijk dat sommige toetsen met Ff: 0 en Ff: E onverwachte resultaten geven. Dat kan betekenen dat de merker niet voldoet. Om die conclusie te kunnen trekken, moet in dat geval ook getoetst worden met de isolaten Ff: A, B, C, en D. De toetsen zullen rond 1 juli afgerond zijn. Wanneer er extra toetsen nodig blijken, moet het project verlengd worden tot ca. 1 november.

**Datum afronding:** 1 november 2020

**Knelpunten:** Bij de start van het project: Monsters verzamelen. Na afronding van de merkertoetsen is de biotoets mislukt. Dit levert vertraging op.

**Strategische conclusie:** die kan worden opgesteld nadat de resultaten uit de merkertoets naast die van de biotoets zijn gelegd.

## 2019-15 Promotie 10e Rassenlijst bomen – WUR

### Eindrapport

**Operationele conclusies:** Dit project verloopt volgens planning

**Doel:** Promotie van de 10e rassenlijst bomen. Voor uitgifte van de 10e rassenlijst is besloten om meerdere evenementen in 2019 en 2020 aan te grijpen om de herziene rassenlijst onder de aandacht te brengen bij gebruikers. Hiervoor zijn nieuwe promotiematerialen nodig.

**Voortgang:** Er zijn diverse promotiematerialen geproduceerd om infomarkten aan te kleden en de rassenlijst bekend te maken bij een grote potentiële gebruikersgroep. Er is een nieuwe folder ontworpen en gedrukt over de 10<sup>e</sup> Rassenlijst Bomen (A4 drieslag folder). Er is een banner gemaakt en er zijn diverse posters over het achterliggende keuring- en CGO werk ontworpen en gedrukt. De promotiematerialen worden momenteel gebruikt op netwerkdagen en vakbeurzen. In het najaar 2019 zijn tevens stands/infomarkten gehuurd op de beheerdersdag en de Groot Groen Beurs. Er zijn magneten gekocht met 'www.rassenlijstbomen.nl' om uit te delen op netwerkdagen/groenbeurzen.

**Datum Afronding:** 31 december 2019

**Knelpunten:** geen

**Strategische conclusie:** De promotiematerialen zijn ingezet bij meerdere evenementen in 2019, maar ook in de aankomende jaren worden de materialen gebruikt om de herziene rassenlijst onder de aandacht te brengen bij gebruikers.