



SAMENVATTING PROJECTEN 31 MAART 2023

PROJECT 1

BESTRIJDING BLADLUIZEN IN POOTAARDAPPELEN

Johan Wander, DELPHY

Inleiding

Een goede preventie en bestrijding van bladluizen in pootaardappelen is van groot belang in verband met het tegengaan van virusoverdracht. Een hoge kwaliteit pootgoed is van groot belang voor de Nederlandse exportpositie. Vooral de laatste jaren is er vaak sprake van afkeuring of verlaging van de klasse vanwege een te hoge besmetting met Yn virus. De adviezen om virusoverdracht te voorkomen zijn verschillend. De inzet van minerale virusolie (olie H) is essentieel maar kent ook nadelen. De inzet van luisdoders en pyrethroïde (Sumicidin) komt steeds meer onder druk vanwege milieuwetgeving. Het is daarom van belang om ook te kijken naar andere oplossingsrichtingen.

Onderzoek Delphy

Sinds 2018 voert Delphy jaarlijks een proef uit om het effect van diverse strategieën en methoden op de virusbesmetting van het nieuwe pootgoed na te gaan. De inzet van verschillende combinaties minerale virusolie, luisdoders en pyrethroïde wordt vergeleken met o.a.:

- Effect kleur gewas:
 - Extra kalibemesting
 - Wit maken gewas
- Effect kleur bodem:
 - Wit maken bodem
 - Haver tussen zaai
- Toevoeging hulpstoffen
 - Plantversterker
 - Geurstof

Daarnaast is het ook de bedoeling om verder onderzoek te doen met de nog niet toegelaten spuitsysteem met hangpijpen (droplegs). Daarmee kan de onderkant van aardappelblad – waar de luizen bij voorkeur zitten) – goed geraakt worden. Zodoende zal een betere effectiviteit verkregen worden.

De resultaten van dit soort onderzoek zijn over het algemeen sterk wisselend omdat de druk van bladluizen binnen een proef sterk kan variëren. De virusdruk wordt opgevoerd door langs alle veldjes viruszieke aardappelknollen te poten. Jaarlijks worden van de oogst knollen bewaard waarmee in de nateelt de virusbesmetting per plant wordt bepaald. Deze resultaten worden getoond op de jaarlijkse velddag pootaardappelen.

Projectplan

Om de onderzoeksresultaten betrouwbaarder te maken is het nodig om de proeven in meer herhalingen (6) uit te voeren en om de proeven op meerdere locaties (2 à 3) aan te leggen. Ook is het mogelijk om de onderzoeksresultaten sneller beschikbaar te krijgen door de geoogste knollen te laten onderzoeken met Elisa.

De kosten van een onderzoek met 14 objecten in 6-voud op 2 locaties - inclusief nateelt van 60 knollen per veldje - bedragen ongeveer €40.000 (ex BTW). Dit is exclusief een ELISA toetsing. De exacte invulling van het onderzoek doen we in overleg met de

financiers. Op basis daarvan zal het te financieren bedrag berekend worden. Ook onderzoek met droplets is mogelijk.

PROJECT 2

Screening novel source of resistance to the virulent Dutch potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, from wild potato accessions (project idea)

Misghina Teklu Goitom, WUR

After 30 years of using a resistant cultivar the presence of virulent *G. pallida* populations throughout the potato growing area has now been observed. The molecular characterization of the virulent Dutch *G. rostochiensis* population is undergoing in the **Rostofitt** project (from 2020 – 2025), however, searching for new source of resistance is not yet started unlike that for the virulent *G. pallida* and is hence one of the major reasons for this project initiation.

As the use of nematicides is not an option anymore, the only option left for the Dutch growers is to prevent introduction and spread. The use of tolerant cultivar is hampered both by the currently used methodology and the fact that a breeding program for tolerance is far more complicated compared to obtaining resistance. As proven already, and broadly supported solution is to introduce novel plant material that is resistant against virulent *G. rostochiensis*, into breeding programs.

In this project we will provide such resistant breeding material by screening an *in vitro* collection of crossable *Solanum* genotypes. Such *in vitro* collection, consisting of >350 accessions and > 700 genotypes is available at the lab of WUR-Plant Breeding, and was recently used successfully to identify genotypes with resistance against virulent *G pallida* isolates.

Major objectives

- i.** Screening, using a high throughput *in vitro* nematode inoculation assay, .of ~ >300 *Solanum* section *Petota* genotypes from the Plant-breeding *in vitro* collection
- ii.** Validation of the 20 – 40 most promising resistances against virulent *G. rostochiensis* isolate(s) in a pot experiment which is closer to the natural environment than the *in vitro* assay that will be used for the screening
- iii.** Based on the results of the resistance confirmed in the pot experiment, a selection of genotypes will be crossed with susceptible *S. tuberosum* genotypes.
- iv.** Phenotyping to select the populations (n = 50) that segregate for resistance. The genetic basis of the resistance will be analyzed using state of the art SNP discovery and detection technology.
- v.** Studying the resistance mechanisms of selected resistant genotypes to make an inventory of the resistance sources and to select for introgression breeding.
- vi.** Introgression breeding of the gene/genes causing resistance to the virulent *G. rostochiensis* population. To this purpose the selected genotypes from objective **v** and the molecular markers from objective **iv** will be used.

Organization

The project will be performed by Wageningen University and Research (Agrosystems Research as a lead in close collaboration with WUR-plant breeding). The collection of crossable *Solanum* wild potato genotypes proposed to be used for this project is highly diverse in genetic and geographic distribution throughout the potato and pathogen centers of origin (South and Central America). This *in vitro* collection is maintained clonally which warrants genotypic stability of the tested accessions. This collection was used successfully in the HIP-project for screening new source of resistance to the virulent Dutch *G. pallida*. The experience obtained in the HIP-project will allow a swift engagement into the screening for resistance to the virulent *G. rostochiensis* population. The project is organized in 5 work packages (WP):

WP1: Rigorous high throughput *in vitro* screening
 WP2: Pot validation experiments (bioassays)
 WP3: Genetic analysis of resistance
 WP4: The resistance mechanisms involved
 WP5: Pre-breeding

Total WUR budget:

Activity	2024	2025	2026	2027	2028	Total
WP1	100	100				200
WP2		100	100			200
WP3		60	100	80		240
WP4				100	100	200
WP5			in kind	in kind	in kind	
	100	260	200	180	100	840

Budget break down:

Activity	2024 may- dec	2025	2026	2027	2028 April	Jan	Total
companies (cash)	35	70	70	70	35		280
companies (in kind)	20	20	90	90	60		280
TKI	65	190	130	110	65		560
total	120	280	290	270	160		1120

PROJECT 3**Ontwikkeling van een methodologie voor de tolerantietests van aardappelcultivars tegen aardappelcysteaaltjes (Projectidee)**

Leendert Molendijk en Misghina Teklu Goitom

De inzet van resistente rassen is de belangrijkste pijler voor de beheersing van aardappelmoeheid. De inzet van de voor *Globodera pallida* hoog resistente rassen zoals Seresta en Festien heeft geleid tot de selectie van virulentere populaties van het witte aardappelcysteaaltje *G.pallida*. In de huidige situatie wordt dit probleem vooral ondervangen door de inzet van nematiciden in granulaatvorm. Steeds meer nematiciden worden van de markt terug getrokken of verboden. Er bestaat grote kans dat ook Vydate in 2024 niet meer beschikbaar is.

Een oplossing is dat er nieuwe resistenties worden gevonden en ingekruist in rassen met verder goede gebruikseigenschappen. Op dit moment is nog niet duidelijk hoe op welke termijn deze nieuwe generatie resistente rassen voor de telers beschikbaar zullen komen. Een tweede remedie zou zijn als er rassen beschikbaar zijn die tolerantie bezitten tegen *G.pallida*. Zo een ras kan wel vermeerderen (vatbaarheid) maar heeft minder schade dan andere rassen bij vergelijkbare besmettingsniveau 's.

In het verleden werd tolerantie ingeschat door toetsrassen te telen op al dan niet met Monam ontsmette banen. Behalve dat deze methodiek met het verdwijnen van Monam niet meer mogelijk is, heeft deze methodiek ook als nadeel dat er door de chemische behandeling veel meer verandert dan het besmettingsniveau van de aaltjes alleen.

In 2016 is deze problematiek door de Stichting NAO-Projecten opgepakt en is er een consortium gevormd bestaande uit Agrico, Averis, Meijer, Schaap en Peka Kroef. Medefinanciering van de BO akkerbouw maakte het mogelijk WUR|OT, WUR|

agrosysteemkunde en HLB aan het werk te zetten met als doel het ontwikkelen van een betrouwbare en betaalbare methode voor het bepalen van tolerantie van aardappelrassen tegen het witte aardappelcysteeltjes *Globodera pallida*.

Door een reeks aan beginbesmettingen aan te leggen en daar de opbrengst van de rassen op te meten kan een goede schatting van de tolerantie worden verkregen. Er zijn meerdere methoden om die reeksen te organiseren. De eerste is door de rassen op een besmettingshaard te telen. In het centrum van de haard zijn de dichtheden hoog en naar de randen loopt het af. Dit was de situatie op een aardappelperceel in Zeewolde waar in 2017 de test werd uitgevoerd.

Een andere methode is door de teelt van rassen met verschillende resistentie stroken met verschillende niveaus van besmetting aan te leggen en daar bij de volgende aardappelteelt gebruik van te maken door de te testen rassen dwars op deze besmette stroken te leggen. In Westerbork werd een perceel in 2017 volgens deze methodiek voorbereid en in 2019 gebruikt voor de test.

Dan is er de vraag of het mogelijk is om de test in potten uit te voeren. Het liefste in de 2 kg potten die ook gebruikt worden voor resistentie toetsing. Deze pottoets werd in 2018 uitgevoerd en werd in 2021 herhaald. Helaas kwamen er uit geen van deze vier experimenten bevredigende resultaten.

Het uitgevoerde onderzoek, ondersteunt met resultaten uit het verleden, geven voldoende aanleiding om te veronderstellen dat toetsing in 2 kg potten toch mogelijk moet zijn. Daarom leggen we onderstaand voorstel voor aan de stichting onderzoek van de NAO.

Opzet

De gekozen objecten zijn exact gelijk aan de proef in 2021. Opnieuw zal de NAK verzocht worden haar medewerking te verlenen. De proef in 2021 heeft laten zien dat het in de daar heersende klimaatomstandigheden mogelijk moet zijn om met voldoende significantie de verschillen aan te tonen.

Experimentele opzet en kosten

Seresta zal worden getest bij een volledige rage van 12 reeks van dichtheden x 5 herhaling x 3 potmaten = 360 potten. Desiree zal worden opgenomen om de kwaliteit van het inoculum te controleren en zal worden opgenomen bij 4 eieren (g droge grond)⁻¹ van 2, 5 en 10 kg potten = 15 potten. Het totale budget zal ongeveer 30k euro zijn.

PROJECT 4

Groene middelen tegen *Rhizoctonia*

Willem Spriensma, SPNA

Rhizoctonia solani is een groot probleem in de (biologische) pootaardappelteelt. De lakschurft die de schimmel veroorzaakt kan leiden tot hoge kosten bij het sorteren of kan leiden tot afkeuring van de betreffende partij. Veranderende toelatingen voor beschikbare bestrijdingsmaatregelen is voor SPNA de aanleiding om onderzoek te doen naar de mogelijkheden om met 'groene' middelen de aantasting van *Rhizoctonia* te beheersen. Hiervoor wordt er in teeltseizoen 2023 voor het achtste teeltseizoen op rij een instaproef aangelegd. Graag stellen we u in de gelegenheid deel te nemen aan dit gezamenlijke proefveld.

Tot 2017 is het proefveld op biologische grond aangelegd, daarna op gangbare grond. Vanwege wet- en regelgeving is het doen van onderzoek met een proef-ontheffing op SKAL-gecertificeerde biologische gronden aangescherpt, en om hiermee geen risico's te lopen is ook besloten om in 2023 deze proef weer op gangbare grond aan te leggen, zonder chemische toepassingen op/in/over de knol/rug bij het poten. Wilt u uw object graag op

biologische grond aanleggen, dan vernemen we dat graag zodat er gekeken kan worden of uw middel op SKAL-gecertificeerde grond kunnen toepassen, en/of er hiervoor een instaproef of een individuele proef zal worden uitgezet.

De opzet van het groene Rhizoctonia proefveld zal er als volgt uit zien:

- De veldproef wordt uitgevoerd in het ras Carolus. *(Dit i.p.v. 2 rassen zoals voorgaande jaren, inzet is hiermee een betrouwbaar betere proef).*
- De veldgrootte is 3 x 10 meter, waarbij er wordt gereden met de breedspoor trekker, waarbij er niet door de proefveldjes wordt gereden (spoorbreedte 3,20m).
- Het uitgangsmateriaal dat voor de proef gebruikt wordt, wordt zodanig gesorteerd dat de rhizoctonia-aantasting licht is.
- Op het proefveld wordt reguliere gewasbescherming toegepast, met uitzondering van middelen die een werking tegen Rhizoctonia hebben.
- Er wordt door SPNA één onbehandeld object in de proef aangelegd, met het standaard pootgoed (met lichte aantasting).
- De behandeling van het uitgangsmateriaal, grond of gewas gebeurt volgens de door u aangegeven instructie.
- Gedurende het groeiseizoen wordt het gewas regelmatig beoordeeld en gecontroleerd op symptomen van *rhizoctonia*. Daarnaast wordt het gewas tijdens het groeiseizoen 2-3 keer beoordeeld op stand (1= slechte stand, 10= goede stand). Tevens wordt het aantal stengels en planten in de netto veldjes bepaald.
- Direct na loofdoding vindt het eerste oogstmoment plaats. Hierbij worden 100 knollen in de maat 35/55 geoogst. Na twee weken worden er nogmaals 100 knollen geoogst, dit gebeurt vier weken na loofdoding nog een keer. Van de knollen van elk veldje wordt de lakschurftbezetting vastgesteld. Hiertoe worden de knollen naar de mate van lakschurftbezetting verdeeld (en vervolgens geteld) in vrij, zeer licht, licht, matig en zwaar. Op basis hiervan wordt de lakschurftindex en het percentage uit te lezen knollen berekend.
- Op basis van het rooien en vervolgens sorteren van de netto velden (1,5x6 meter) wordt er een opbrengstindicatie en bijbehorende maatsortering bepaald.
- Na afronding van de proef wordt er een verslag in de Nederlandse taal opgesteld, over het verloop en de resultaten van de proef. Deze zal met de opdrachtgevers worden gecommuniceerd en op de website van SPNA worden gepubliceerd. Er wordt naar gestreefd dit verslag uiterlijk 31 december 2023 af te hebben.
- De door u aangemelde objecten worden getoond bij excursies en de resultaten ervan worden gepubliceerd. Verder wordt het proefveld getoond tijdens een centrale "veld-dag" (invulling nog nader vast te stellen) waarbij u de gelegenheid krijgt om deel te nemen, en de aanwezige geïnteresseerden te informeren over uw product.
- Desgewenst worden objecten onder nummer opgenomen. U dient dit bij aanmelding aan te geven.
- De kosten voor deelname aan de proef bedragen € 1.100,- (excl. BTW.) per object. Deelname met meerdere objecten is mogelijk.
- Mocht u aanvullende afspraken over waarnemingen, verslaglegging, data analyse of discretie willen maken, dan zal dit gebeuren op nacalculatie van de extra benodigde arbeidsuren.
- Als er geen proefonthefing is voor het toepassen van het middel, zullen wij ons best doen een proefonthefing te krijgen, de kosten hiervan worden doorberekend.

PROJECT 5

Toepassen bladmeststoffen

Willem Spriensma, SPNA

De huidige pootgoedteler is zich meer en meer bewust van de uitdagingen waarvoor hij/zij staat. Veranderende wet- en regelgeving, een kritisch wordende maatschappij en bovenal het besef dat er een meerwaarde gecreëerd kan worden door het toepassen van

bladmeststoffen. Door het toepassen van deze (groene) middelen, wordt de efficiëntie van het gebruik van voedingsstoffen door de plant beïnvloed, of kunnen aanwezige voedingsstoffen vanuit de bodem op een efficiëntere manier voor de plant beschikbaar komen. De verkregen meerwaarde voor de teler komt voort uit een verbeterde (interne) kwaliteit van het product, verhoogde opbrengst (eventueel door betere maatsortering) en/of door een duurzamere inzet van beschikbare voeding- en bestrijdingsstoffen.

In navolging van afgelopen jaren, willen we ook graag dit veldseizoen (2023) als proefboerderij de Kollumerwaard een instapproefveld realiseren, waarin de verschillende bladmeststoffen worden toegepast. Enerzijds ter demonstratie van de beschikbare middelen, en anderzijds voor het beproeven van de middelen, onder de omstandigheden van aanstaande teeltseizoenen. In het proefveld zal een onbehandeld object liggen, waarbij alleen reguliere landbouwpraktijk wordt toegepast zonder toepassing van extra bladmeststoffen. Door het gewas aanleggen van dit proefveld is het mogelijk om verkregen data statistisch te kunnen analyseren en zo uw object te kunnen vergelijken met het onbehandelde object. Hierdoor heeft u de beschikking over referentiemateriaal, onder de praktijkomstandigheden van het aankomende groeiseizoen. Bij voldoende animo wordt het proefveld in een volgend teeltseizoen herhaald, en kunnen data op basis van meerjarig onderzoek worden bepaald. De proef wordt op het gangbare deel van het bedrijf aangelegd.

De opzet van het bladmeststoffen-instapplatform zal er als volgt uit zien :

- Het platform wordt aangelegd met het ras Innovator, in vier herhalingen.
- De veldgrootte is 3 x 10 meter, waarbij er wordt gereden met de breedspoor trekker, waarbij er niet door de proefveldjes wordt gereden (spoorbreedte 3,20m).
- Op het gehele proefveld wordt reguliere landbouwpraktijk toegepast, zonder extra bladmeststoffen.
- Er wordt door SPNA één onbehandeld object in de proef opgenomen.
- De behandeling van het uitgangsmateriaal, grond of gewas gebeurt volgens de door u als deelnemer aangegeven instructie, *op basis van de door SPNA beschikbaar gestelde toepassings-momenten.*
- Gedurende het groeiseizoen wordt het gewas 2-3 keer beoordeeld op stand (1= slechte stand, 10= goede stand). Tevens zal het aantal gevormde planten en stengels worden bepaald van de planten.
- Op 2 momenten in het groeiseizoen (ca. 1-2 week na start knolzetting en +2wk na dit eerste moment) worden er van 5 planten in ieder veldje de knol-aanzet (aantal+maatsortering) en knolbehoud beoordeeld.
- Wanneer de aardappelen de juiste (pootgoed-) maatsortering hebben bereikt, worden deze doorgemaakt volgens reguliere landbouwpraktijk. Referentie hierbij is het onbehandelde object.
- Op basis van het rooien en vervolgens sorteren van de netto velden (1,5x6 meter) wordt er een opbrengstindicatie en bijbehorende maatsortering bepaald.
- Na afronding van de proef wordt er een verslag in de Nederlandse taal opgesteld, over het verloop en de resultaten van de proef. Deze zal met de opdrachtgevers worden gecommuniceerd en ook op de website van SPNA worden gepubliceerd. Er wordt naar gestreefd dit verslag uiterlijk 31 december 2023 af te hebben.
- De door u aangemelde objecten worden getoond bij excursies en de resultaten ervan worden gepubliceerd. Verder wordt het proefveld getoond tijdens een centrale "veld-dag" (invulling nog nader vast te stellen) waarbij u de gelegenheid krijgt om deel te nemen, en de aanwezige geïnteresseerden te informeren over uw product.
- Desgewenst worden objecten onder nummer opgenomen. U dient dit bij aanmelding aan te geven.
- De kosten voor deelname aan deze instapproef bedragen €1.080,- (excl. BTW) per object. Deelname met meerdere objecten is mogelijk. De proef zal doorgang vinden bij minimaal 4 aangemelde objecten, en er is ruimte voor maximaal 12 objecten in de proef.

PROJECT 6

Silicium; verhogen en/of vervroegen van (ouderdoms)resistentie in aardappel; werkt het?

Martin Verbeek, Klaas van Rozen, René van der Vlugt, WUR

In de PPS Virus & Vector is in twee veldproeven vastgesteld dat op aardappelplanten behandeld met een silicium product, significant minder ongeveugelde bladluizen voorkomen. Trendmatig zijn ook minder gevleugelde bladluizen waargenomen na een veurbehandeling. In de literatuur wordt eenzelfde effect aangegeven, waarbij een siliciumbehandeling resulteerde in verminderde vruchtbaarheid, levensduur en reproductie van ongeveugelde bladluizen, terwijl op behandelde planten minder gevleugelde bladluizen voorkwamen. Het werkingsmechanisme kan zowel gebaseerd zijn op fysieke veranderingen in het blad en/of als trigger voor planten om natuurlijke beschermende stoffen aan te maken.

Ouderdomsresistentie tegen het aardappelvirus Y (PVY) in aardappelplanten is een bekend fenomeen. Planten worden tijdens en na de bloeitijd minder vatbaar voor virusinfecties. Er is dus een hogere virusdruk (en dus ook vectordruk) nodig is om de plant ziek te maken. Het fenomeen mag dan al heel lang bekend zijn, hoe het werkt is niet bekend. Wel is er recent onderzoek gepubliceerd waarin er verschillen zijn gemeten in ouderdomsresistentie tegen de verschillende isolaten PVY, welke de verschillende stammen O, N, NTN en Wilga vertegenwoordigden. Ook waren er sterke verschillen in ouderdomsresistentie tussen de verschillende rassen die werden gebruikt in het onderzoek.

Onderzoeksvraag: heeft silicium een effect op het tijdstip en/of niveau van het optreden van (ouderdoms)resistentie tegen PVY?

Fase 1 2023 labproef (30k€)

- Verschillende aardappelrassen met hoge en lagere gevoeligheid voor PVY worden onder gecontroleerde omstandigheden (kas/tunnel) onderzocht;
 - Planten in potten.
 - Verschillende siliciumtoepassingen (dosering, moment, methodiek, frequentie).
 - Planten worden op verschillende tijdstippen geïnfecteerd met PVY-NTN en PVY-N-Wilga virusstammen; mechanisch of met PVY geïnfecteerde groene perzikluizen.
 - De virusinfectie wordt in de verschillende behandelingen gemonitord.
 - Na de oogst wordt per plant een knollentoets op PVY worden uitgevoerd.

Fase 2 veldproef uitvoering in 2024 (30k€)

- Op basis van de labproef worden de objecten voor een geblokte veldproef gekozen;
 - Er wordt geen gebruik gemaakt van insecticiden en minerale olie.
 - Op verschillende momenten worden kooitjes met PVY geïnfecteerde groene perzikluizen op de PVY-planten geplaatst -> groene perzikluizen worden gemonitord.
 - De virusinfectie onder veldomstandigheden wordt getest en in de verschillende behandelingen gemonitord.
 - Na de oogst wordt van een aantal planten per plot een knoltoets op PVY uitgevoerd.
 - Additioneel worden de bladluispopulatie (kolonievorming) en de natuurlijke vijanden gemonitord.

PROJECT 7

De invloed van weersextremen op ziektedruk in de aardappelteelt

Jan van der Wolf en Florian Gorter, WUR

Doel en beoogde resultaten

Achtergrond

Door klimaatverandering krijgt Nederland steeds vaker te maken met extreem weer. De afgelopen jaren hebben meermaals zware hoosbuien, langdurige droogte en hittegolven plaatsgevonden, en klimaatmodellen voorspellen dat dit in de toekomst geen uitzonderingen meer zullen zijn. Het is onduidelijk wat de precieze gevolgen van dergelijke weersextremen zijn voor de ziektedruk in de aardappelteelt, hoewel er aan de hand van ecologische kennis over de plant en ziekteverwekkers wel een aantal algemene verwachtingen geformuleerd kunnen worden.

De afweer van planten neemt af onder stressvolle omstandigheden zoals hitte en droogte, en hoe extremer en variabelere de omstandigheden (bijv. meerdere korte, extreme droogtes in plaats van één langere, meer gematigde droogte), hoe sterker dit effect is. Ziekteverwekkers van aardappel hebben elk een eigen set aan condities waaronder ze zich optimaal kunnen handhaven en vermenigvuldigen. Bacteriën zoals *Ralstonia solanacearum* en *Pectobacterium spp.* houden van nat en warm weer, net als de schimmels *Fusarium spp.* en *Synchytrium*, en Potato Virus Y. Daarentegen hebben schimmels zoals *Alternaria solani* en *Verticillium spp.* weliswaar nat en warm weer nodig voor kieming, maar verspreiden ze zich juist beter bij droog weer. *Streptomyces scabies* doet het het best bij droog en warm weer, terwijl traditioneel belangrijke ziekteverwekkers zoals *Phytophthora infestans* en *Rhizoctonia solani* voor de grootste problemen zorgen onder natte en koude omstandigheden.

Alles bij elkaar lijkt het waarschijnlijk dat klimaatverandering voor een verschuiving in de samenstelling van de pathogeenpopulatie op aardappel zal zorgen. Wat het effect van weersextremen is, is minder evident. Meer variatie in weersomstandigheden zou voor een algehele verhoging van de ziektedruk kunnen zorgen, en de kans op een epidemie kunnen vergroten, bijvoorbeeld wanneer velden langdurig onder water komen te staan. Aan de andere kant kunnen sommige – tijdelijke - omstandigheden zoals droogte juist ook schade als gevolg van bepaalde ziekteverwekkers kunnen beperken.

Doelstelling. Het doel van dit project is om meer inzicht te genereren in de invloed van weersextremen - zoals deze in Nederland steeds vaker voor zullen komen - op de ziektedruk in de aardappelteelt. Door middel van longitudinale surveys (d.w.z. surveys op dezelfde locatie door de tijd heen) wordt vastgesteld wat de relatie is tussen (variatie in) weersomstandigheden en ziektedruk van een breed scala aan pathogenen. Voor een beperkter aantal pathogenen zal experimenteel worden vastgesteld wat het effect van verschillende vocht- en temperatuurregimes (veel *versus* weinig variatie) is op hun overleving en groei. Tot slot wordt onderzocht in hoeverre maatregelen voor waterberging en waterremming negatieve effecten van droogte en wateroverlast op de ziektedruk kunnen tegengaan.

Globale aanpak

In surveys die gedurende de hele looptijd van het project worden uitgevoerd, wordt met behulp van metagenomica vastgesteld welke ziekteverwekkers endemisch aanwezig zijn in het veld en hoe de overleving en groei van deze ziekteverwekkers samenhangt met (variatie in) weersomstandigheden. Hierbij wordt gekeken naar al het microbieel leven, inclusief virussen. Er wordt tevens gekeken naar de mate van co-infectie dan wel competitieve uitsluiting tussen pathogenen.

De timing van de surveys wordt afgestemd op de weersomstandigheden, zodat verschuivingen in pathogeenpopulaties direct aan deze omstandigheden gelinkt kunnen

worden. Surveys worden uitgevoerd op verschillende grondsoorten om vast te stellen in hoeverre negatieve effecten gebufferd kunnen worden door lokale groeiomstandigheden. In veldexperimenten met polytunnels wordt het effect van verschillende vocht- en temperatuurregimes op de ziektedruk bepaald voor een beperkter aantal pathogenen.

Hierbij wordt gekeken naar *Pectobacterium brasiliense*, *Alternaria solani*, *Streptomyces scabies*, *Phytophthora infestans* en PVY, als representanten van de verschillende ecologische gilden. Voor deze soorten wordt ook onderzocht wat het effect van extreme regenval en langdurige droogte is op overleving in gewasresten en verspreiding in grond.

In andere experimenten wordt gekeken in hoeverre verschillende beheersmaatregelen (zoals verruiging van aardappelruggen, toevoeging van compost of mulch, en het gebruik van gewasresten van groenbemesters) de effecten van weersextremen op de ziektedruk kunnen ondervangen.

PROJECT 8

Toetsingsmethodes voor, en de selectie van resistentie tegen verwelkingsziekte in aardappel, veroorzaakt door het *Ralstonia solanacearum* soorten complex

Jan van der Wolf, Jack Vossen, Vivianne Vleeshouwers) & Florian Gorter, WUR)

Achtergrond

Bacteriën die behoren tot het *Ralstonia solanacearum* species complex (RSSC) zijn de veroorzakers van 'verwelkingsziekte' in een brede reeks land- en tuinbouwgewassen. Hieronder vallen gewassen die wereldwijd van groot belang zijn voor de voedselproductie, zoals aardappel, tomaat en banaan. In de EU staan RSSC op de quarantaine lijst.

Bacteriën binnen het RSSC worden sinds 2005 op basis van *egl* sequenties onderverdeeld in vier fylotypes 3, die vanaf 2014 werden geclassificeerd in drie soorten: fylotypes I and III binnen de soort *R. pseudosolanacearum*, fylotype II als *R. solanacearum* en fylotype IV als *R. syzygii* 4, 5. *R. pseudosolanacearum* heeft de breedste waardplantenreeks en is fenotypisch zeer divers 6-8. *R. solanacearum* heeft een beperkte waardplantenreeks, maar is de belangrijkste veroorzaker van bruinrot in aardappel. *R. syzygii* komt alleen in Azië voor op een aantal tropische gewassen (kruidnagel, banaan), maar ook op aardappel en tomaat 9. Aardappel kan dus door alle fylotypes worden aangetast, maar de meeste problemen worden veroorzaakt door fylotype I, II en III.

Het gebruik van resistente aardappelrassen tegen de ziekteverwekker is in theorie een veelbelovende methode om schade te voorkomen. Echter, op dit moment bestaat er geen resistent ras, hoewel er wel verschillen in gevoeligheid zijn voor RSSC. Resistentie is vaak niet stabiel vanwege interacties met andere pathogenen en omgevingsfactoren. Knoldragende wilde *Solanum* soorten zijn een bron van natuurlijke resistentie tegen ziekten. Meerdere resistentiegenen uit wilde soorten, o.a. voor *Phytophthora*, zijn belangrijk gebleken voor de aardappelveredeling 10.

Er is dus een sterke behoefte aan aardappelrassen met een hoog resistentieniveau tegen verwelkingsziekte. Daarvoor zijn in de eerste plaats nieuwe resistentiebronnen nodig. Maar daarnaast ook bioassays waarmee resistente genotypes (kosten)effectief kunnen worden geselecteerd.

Doelen van het project

Dit project heeft de volgende doelen:

I) Het samenstellen van een representatief panel van RSSC stammen die de aardappel kunnen aantasten. Hierbij wordt het effectorrepertoire als uitgangspunt gebruikt, II) Het ontwikkelen van snelle, efficiënte methoden om onder quarantaine omstandigheden

genotypes te kunnen toetsen op resistentie, III) Het screenen van wilde *Solanum* soorten op resistentie, en IV) Genetisch onderzoek naar de resistentie en effector response genen

Beknopt werkprogramma

- I. Binnen WUR is een (IPO-) collectie beschikbaar van ca. 180 RSSC stammen behorend tot verschillende fylootypes, en afkomstig uit verschillende waardplanten en delen van de wereld. Van de meeste van deze stammen (ca. 140) zijn volledige sequenties beschikbaar (Kurm et al., 2021). M.b.v. pangenomics worden genomen geannoteerd en de effectoren geïdentificeerd. Een panel van stammen wordt samengesteld met een divers repertoire aan effectoren. Zo nodig wordt het panel gecompleteerd met stammen uit internationale collecties (Pensec et al., 2015). Bij de samenstelling van het panel wordt rekening gehouden met reeds bekende informatie uit de literatuur over de rol van verschillende effectoren. Geselecteerde stammen worden geïnoculeerd op aardappelplanten, en met behulp van RNAseq worden de effectors geïdentificeerd die hoog tot expressie komen.
- II. Reeds beschreven en nieuw ontwikkelde biotoetsen zullen worden geëvalueerd op snelheid, efficiëntie en betrouwbaarheid om het resistentieniveau van aardappelrassen en kruisbare wilde *Solanum* genotypen in kas of klimaatcel te kunnen bepalen. Hierbij wordt gebruik gemaakt van True Potato Seed, *in vitro* planten, en micro- of miniknollen als plantmateriaal. Zowel kunstmatige groeimedia (vast en vloeibaar) als (gesteriliseerde) (pot)grond zullen als substraat worden gebruikt (Wang et al., 2019). Het effect van verwonding, temperatuur en belichting op de symptoomontwikkeling zal onderzocht worden. Naast visuele waarnemingen worden ook bacteriële dichtheden in plantmateriaal met qPCR assays bepaald. De kolonisatie van de bacterie in de plant wordt onderzocht met gemerkte stammen ('green fluorescent protein' of luminescentie). Evaluatie van de geoptimaliseerde methode vindt plaats met genotypes die geselecteerd zijn op basis van bekende verschillen in gevoeligheid voor RSSC. Ook zal de bioassay worden geëvalueerd op geschiktheid om de agressiviteit van RSSC stammen te bepalen. De uitkomsten worden vergeleken met veldstudies die uitgevoerd worden met een test set van cultivars in een land waar de ziekte endemisch voorkomt in de grond.
- III. Screening van kruisbare verwanten van de aardappel voor RSSC resistentie. Binnen UR-Plant Breeding is een *in vitro* collectie van >500 wilde *Solanum* genotypes beschikbaar die een goede afspiegeling vormen van de soorten rijkdom uit Zuid en Midden Amerika. De WUR-PBR collectie wordt via klonale vermeerdering in stand gehouden. Dit waarborgt de beschikbaarheid van genetisch homogeen materiaal en is onafhankelijk van seizoensgebonden knolvermeerdering. De *Solanum* soorten worden eerst gescreend met geselecteerde effectors (uit punt I) door middel van functionele assays, zoals agroinfiltratie en agroinfectie. Specifieke herkenning van een effector door de een resistentie-eiwit in de plant leidt tot een overgevoeligheidsreactie (HR). Reagerende planten, met een potentieel resistentiegen tegen RSSC, worden vervolgens getest met de ziekte-toets (uit punt II). Deze collectie zal getoetst via het meest optimale toetsingssysteem, voortkomend uit punt II. Kosten, Q-ruimte en tijd efficiëntie zijn belangrijke selectiecriteria. Als ijkpunten voor resistentie worden in de screening *Solanum* soorten ingesloten waarvan uit de literatuur al bekend is dat ze RSSC resistentie bevatten (Otieno et al., 2020).
- IV. Genetisch onderzoek naar de resistentie en effector response genen - Selectie van niet overlappende resistentie bronnen. De WUR-PBR *Solanum* collectie is gesequenced via de amplicon sequencing methode SolSeq. Allelische varianten van >2000 loci zijn hierdoor beschikbaar voor een GWAS studie met de verzamelde resistentie en effector response data. Op basis van verwantschap kunnen clusters van resistente genotypes onderscheiden worden. Ook kunnen kandidaat loci in het genoom gevonden worden die

verder inzicht geven in de mate van overlap tussen potentiële resistentiebronnen.

- Genotypes met niet overlappende effector responsen en *in vitro* resistenties zullen geselecteerd worden om te testen hoe bruikbaar de resistentie is voor de praktijk. Dit zal gevalideerd worden via geoptimaliseerde bioassays. Indien mogelijk ook op locaties van betrokken partners in landen waar het RSSC endemisch voorkomt.

- Genetische kartering van resistentie en effector response genen. Op basis van de GWAS studie en de bioassays worden resistente *Solanum* genotypen geselecteerd en gekruist met *S. tuberosum* genotypen. In geval van sexuele incompatibiliteit zullen vatbare *Solanum* genotypes geselecteerd worden om segregerende populaties te ontwikkelen voor genetisch onderzoek. Nakomelingen zijn bruikbaar voor brugkruisingen naar *S. tuberosum* en voor de genetische kartering van de resistentie of effector reactie. Hiertoe wordt gebruik gemaakt van "state-of-the-art" sequence technieken (CoSSA, SolSeq). De resulterende SNPs worden omgezet naar KASP merkers voor fijnkartering van de resistentie genen en voor veredelingsdoeleinden.

Projectpartners

- Handelshuizen
- NAO
- Partners in landen waar RSSC endemisch aanwezig is
- WUR

Geschatte kosten

- Afhankelijk van de uitwerking

Literatuur (opgenomen in volledige projectbeschrijving)

PROJECT 9

Resistentie tegen insecten in aardappel

Lotte Caarls en Richard Visser (Plant Breeding, Wageningen Universiteit & Research)

Achtergrond: Insecten kunnen grote schade toebrengen aan planten en de oogst nadelig beïnvloeden. In aardappel zijn vraat door Coloradokever en schade en virusoverdracht door floem-zuigende insecten zoals luis en witte vlieg belangrijke problemen. Deze insecten worden nog grotendeels bestreden door het toepassen van gewasbeschermingsmiddelen. Deze middelen hebben echter nadelige effecten op mens en milieu, en worden daarom steeds minder toegelaten en ingezet. Bovendien ontwikkelen insecten vaak resistenties tegen deze middelen. Een alternatief is het gebruik van natuurlijk voorkomende resistenties in planten tegen insecten. De wilde verwanten van *Solanum tuberosum* zijn een rijke potentiële bron van deze resistenties. Binnen deze verwanten zijn een aantal soorten beschreven die resistentie vertonen tegen coloradokever en luis. Inhoudsstoffen zoals glycoalkaloiden (bijvoorbeeld leptines) en glandulaire klierharen (trichomen) zijn geassocieerd met resistenties tegen insecten, maar hier ontbreekt nog veel kennis.

In onderzoek binnen Plant Breeding van Wageningen Universiteit & Research, is een grote collectie van wilde aardappelaccessies beschikbaar, die onlangs is getoetst voor insectenresistentie. Hiervoor zijn diverse toetsen/protocollen opgezet die het mogelijk maken high-throughput screenings voor insectenresistentie uit te voeren. Er is gevonden dat een groot aantal wilde accessies resistentie vertoont tegen coloradokever, en een kleiner aantal tegen luis en witte vlieg. Van een kleine selectie is deze resistentie verder onderzocht, en is er correlatie gevonden met specifieke glycoalkaloiden met een

tetraose-suiker, dan wel met glandulaire trichomen. Ook zijn de eerste populaties gemaakt om moleculaire merkers te kunnen ontwikkelen.

Deze kennis willen we nu gebruiken in een nieuw project om resistenties tegen insecten te identificeren en te kunnen inzetten. Hierbij zijn de doelstellingen 1) resistente bronnen identificeren en karakteriseren 2) populaties ontwikkelen 3) ontwikkeling van moleculaire markers en 4) onderzoek van het precieze werkingsmechanisme van resistentie.

Het beoogde werk is verdeeld in vier werkpakketten (WPs):

WP1: Selectie en karakterisering van resistente accessies. De preliminaire kennis van resistentie zal gebruikt worden voor selectie van accessies die verder onderzocht worden. Waar dit nog niet bekend is, zal resistentie tegen insecten worden bepaald in bio-assays. Van resistente en vatbare verwanten zullen de glycoalkaloiden in knollen en bladeren bepaald worden, en klierharen worden beschreven. Accessies die geen van beide vertonen worden geselecteerd voor potentieel nieuwe resistentiemechanismen. Resultaat van dit WP is brede kennis over potentiële resistenties tegen insecten. Van elk resistentiemechanisme zullen accessies geselecteerd worden voor verdere populatieontwikkeling en onderzoek.

WP2: Populatieontwikkeling en gebruik van bestaande populaties. Van geselecteerde bronnen zullen kruisingen gemaakt worden met vatbare, verwante soorten en *S. tuberosum* materiaal. Van bronnen waar deze populaties al beschikbaar zijn kunnen direct moleculaire markers ontwikkeld worden in WP3. Van bestaande en ontwikkelde populaties wordt door phenotypering splitsing van de resistentie onderzocht om te komen tot chromosomale locaties en mogelijke opstap naar merker ontwikkeling.

WP3: Verdere ontwikkeling moleculaire merkers. Populaties die een duidelijke uitsplitsing vertonen voor een resistentie zullen gebruikt worden om een genetische kaart te maken en moleculaire merkers te ontwikkelen. Hierbij kan gebruik gemaakt worden van beschikbare genoomsequenties of nieuw te genereren genoomsequenties. Ontwikkeling van moleculaire merkers voor één of meerdere mechanismen zal het vervolgens mogelijk maken om het inkruisen van de geschikte resistentie te bewerkstelligen en te volgen.

WP4: Bepalen van mechanisme resistenties. Resistente bronnen en splitsende populaties worden hier onderzocht om te bepalen wat de werking van resistentie is. Daarbij wordt gebruik gemaakt van de high-throughput (in vitro) phenotyperings methoden die in ons insectenonderzoek al zijn ontwikkeld. Het effect van klierharen op insecten zal bepaald worden met video tracking, en kunstmatige voedingsexperimenten zullen gebruikt worden om effect van specifieke glycoalkaloiden, en minimale hoeveelheid die nodig is, te bepalen. De weefsel-specificiteit van resistentie (knollen, bladeren) en brede toepasbaarheid (verschillende insecten, verschillende populaties) zal hierbij ook meegenomen worden. Met dit WP kan kennis worden vergaard over mogelijke toepassing van de resistenties, noodzaak van stapelen en de duurzaamheid van resistentie.

Begroting

In k euro	Jaar 1	Jaar 2	Jaar 3	Jaar 4	
Personeel	140	146	157	164	609
Faciliteiten	17	27	27	27	98
Materieel	30	12	10	32	84
Totaal					791