



## Plan van Aanpak *Ditylenchus dipsaci*

### Tussenrapportage Plan van Aanpak Dd

#### Voortgang 2019/21 en programmering 2022

**\*Geel: gemarkeerd wat is toegevoegd t.o.v. vorig jaar**

*Er zijn geen nieuwe voorstellen voor sectie teelt juni 2022.*

#### Aanleiding

De schade door stengelaaltjes (*Ditylenchus dipsaci*) neemt volgens deskundigen de laatste jaren sterk toe. Stengelaaltjes zijn een probleem in meerdere belangrijke gewassen zoals ui, aardappel, suikerbiet, (industrie)groenten, tulp en narcis. Voor individuele bedrijven kunnen de financiële gevolgen van een besmetting met stengelaaltjes groot zijn. Per december 2019 verandert de Quarantaine status van *Ditylenchus* in die van een Regulated Non Quarantaine Pest, met als consequentie dat na een vondst voortaan wel de partij besmet wordt verklaard maar het perceel niet meer. Dit brengt als risico met zich mee dat bij verhuur de verhuurder niet op de hoogte is van het voorkomen van stengelaaltjes op een perceel of dat telers het risico nemen en uitgangsmateriaal of gevoelige gewassen blijven telen op besmette percelen. Met verdere verspreiding tot gevolg.

Ondanks de voormalige quarantainestatus en de grote problemen met dit aaltje is er maar beperkte kennis beschikbaar over de levenswijze, vestiging en natuurlijke sterfte en zijn er weinig beheersmaatregelen voorhanden. Besmettingen voorkomen, vroegtijdig detecteren en het monitoren van gevonden besmettingen wordt steeds belangrijker. Vanwege de brede waardplantenreeks zijn oplossingen binnen de vruchtwisseling moeilijk te vinden. Complicerende factor daarbij is dat deze aaltjessoort een twintigtal verschillende rassen kent die verschillen in waardplantenreeks. Morfologisch zijn ze niet te onderscheiden en moleculaire diagnostische technieken zijn niet beschikbaar. De mogelijkheden voor chemische bestrijding staan onder druk en hun effectiviteit is onzeker. Niet chemische oplossingen zijn gewenst in het kader van de maatschappelijke discussie omtrent gewasbescherming en onze uitvoering van het actieplan plantgezondheid.

#### Doel en relevantie

Doelstelling van het Plan van Aanpak Dd is om een effectieve beheersing van het probleem door *Ditylenchus dipsaci* mogelijk te maken. Het is de bedoeling om deze plaag beter te gaan voorspellen waardoor ook de beheersbaarheid mogelijk wordt en de schade uiteindelijk tot een minimum wordt beperkt (eigenlijk geen probleem meer is). De geleden schade moet

minimaal worden gehalveerd en telers in ons land hebben kennis van een geïntegreerde bestrijdingsstrategie en kunnen de problematiek beheersen.

- Het doel van dit programma is een start te maken met het ontwikkelen van praktische tools om stengelaaltjes op bedrijfsniveau te beheersen.
- De projecten binnen het programma moeten de telers handelingsperspectief bieden bij de preventie en beheersing van stengelaaltjes besmettingen. Misoogsten, afgekeurde partijen en kwaliteitsverlies moeten worden beperkt.

### **Activiteiten en resultaten**

De activiteiten worden in chronologische volgorde van initiatie besproken. Het nummer van de activiteit correspondeert met het nummer in de meerjarige begroting. Door deze vorm van presenteren blijft het totaalbeeld van het Plan van Aanpak behouden. Van de afgeronde activiteiten zullen minder uitvoeringsdetails worden gepresenteerd in het actuele document, die zullen immers in eerdere versies aan bod komen. Dit is dus een werkdocument waarin per activiteit de actuele ontwikkelingen en/of eindresultaten worden benoemd.

Het eerste jaar is gebruikt om een koepelplan op te stellen door deskundigen op het terrein van *Ditylenchus dipsaci*. De stuurgroep heeft vervolgens in overleg met de deskundigen de contouren van de programmering bepaald. Uitgaande van die prioriteiten heeft de groep deskundigen een serie projectvoorstellen uitgewerkt, die hebben geleid tot de volgende programmering voor de jaren 2020/21/22. Een aantal activiteiten zal volgen op anderen en kunnen pas van start als anderen zijn afgerond en resultaat hebben opgeleverd.

#### *1. Inundatie*

Op verzoek van de drie aardappelwerkgroepen van LTO Nederland is vorig jaar een haalbaarheidsstudie "*Ditylenchus dipsaci* op zoek naar aaltjeswol" door HLB BV gestart. Nadat het PPS projectidee "Fundament beheersing stengelaaltjes" niet van de grond kwam heeft de Sectie Teelt gevraagd om met een projectvoorstel te komen. Dit heeft geresulteerd in het projectvoorstel "Inundatie ter bestrijding van het stengelaaltje *Ditylenchus dipsaci* op zwaardere grondsoorten". Financiering zal geschieden uit de oude reserves voor uien en consumptieaardappelen van het voormalige Productschap Akkerbouw. De Stuurgroep Uireka is ook om advies gevraagd.

Parallel aan de besluitvorming over de uitvoering van het PvA Dd heeft de Sectie Teelt van de BO Akkerbouw besloten over de uitvoering van een inundatieproef gericht op *D. dipsaci*. In navolging van de PvA's AM en M.cf wordt inundatie onderzocht als bestrijdingsmethode van *D. dipsaci* besmettingen. De Sectie Teelt van de BO Akkerbouw heeft besloten om de inundatieproef *D. dipsaci* onderdeel te laten zijn van het *Ditylenchus* Plan van Aanpak. Het project is onderdeel van PPS Uireka. In die PPS wordt k€ 200 ondergebracht van de k€ 506, die bestemd was voor het PvA Dd. Het inundatieproject wordt gefinancierd met oude PA gelden, ter grootte van € 75.000.

#### *2: Rol zaaizaad en plantgoed*

Inventarisatie van werkwijzen keuringsinstanties en producenten van uitgangsmateriaal ter voorkoming van verspreiding van stengelaaltjes via zaaizaad en plantgoed.

Doel en relevantie:

Besmettingen met het stengelaaltje kunnen worden veroorzaakt via binnenkomst van besmet zaaizaad van bijvoorbeeld uien, luzerne en klaver, maar ook door plantmateriaal als plantuien of pootaardappelen. Uitgangsmateriaal wordt in principe gekeurd, maar sinds het

verdwijnen van phytosol als zaadontsmetter (met nematicide bijwerking) lijken de risico's op introductie via zaad sterk toegenomen.

Voor plantuien is er een verplichte perceelbemonstering. Voor pootaardappel geldt dat in bepaalde klassen een lichte besmetting is toegestaan. Het uitbouwen van de sterke- en het wegnemen van de zwakke kanten van de huidige protocollen voor de keuringen van uitgangsmateriaal kan de verspreiding van stengelaaltjes helpen beperken.

De stuurgroep heeft gevraagd de huidige routines bij keuringsinstanties en producenten van uitgangsmateriaal in beeld te brengen door op technische niveau in gesprek te gaan.

HLB en WUR zullen werkbezoeken aanvragen bij NAK-tuinbouw, NAK Emmeloord, NVWA en een producent van uienzaad. WUR zal hiervoor vanuit Uireka Bejo benaderen. Tijdens deze werkbezoeken is het de bedoeling om samen met de aaltjesspecialisten van deze instanties in een open gesprek de technische facetten van de gevolgde werkwijzen te bespreken en te bezien of er theoretisch gesproken verbeteringen mogelijk zijn. De bevindingen zullen kort worden gerapporteerd en met de stuurgroep worden beoordeeld of er verbetering mogelijk/nodig zijn.

### *3. Voorstudie randvoorwaarden vestiging*

Uit historische gegevens blijkt dat stengelaaltjes zich op sommige percelen kunnen vestigen, bijvoorbeeld door het gebruik van besmet zaaizaad of plantgoed, en zich over het hele perceel kunnen vestigen, c.q. verspreiden. Op andere percelen blijft de besmetting lokaal, in ZW-Nederland kroefplek genoemd, of verdwijnt deze spontaan. De kroefplekken breiden zich niet uit, in tegenstelling tot besmettingen van andere aaltjes, maar blijven wel permanent in het veld aanwezig. Het is niet duidelijk waarom een besmetting zich vestigt en zich al dan niet handhaaft. Daarom valt niet in te schatten welke percelen risico lopen. Wanneer de criteria voor vestiging duidelijk zouden zijn, kunnen risico's door telers worden ingeschat en biedt die kennis mogelijkheden om besmettingen te saneren. Het doel is om vast te stellen van mogelijke oorzaken die de verspreiding van stengelaaltjes binnen een perceel verhinderen.

#### Toelichting

- In de jaren 50/60 van de vorige eeuw is er ook getracht dit raadsel van de beperkte 'eigen' verspreiding op te lossen. Er zijn toen geen aanknopingspunten uit voortgekomen. Inmiddels zijn er veel meer metingen aan bodems mogelijk. Dit geldt voor alle bodemeigenschappen (fysisch, chemisch en biologisch). De eerste stap is om te inventariseren of er nu bodemkarakteristieken kunnen worden bepaald die een mogelijke verklaring zouden kunnen zijn. Dit moeten dan karakteristieken zijn die in het onderzoek van de jaren 50/60 niet zijn meegenomen. Op basis van literatuur en inventarisatie bij bodemspecialisten zal een meetprogramma worden opgesteld.
- Er zal in samenwerking met de relevante bemonsterende instanties grondmonsters worden verzameld van de percelen die via reguliere bemonstering besmet zijn gevonden of via zogenaamde diagnosemonsters bij schadegevallen (deelproject 3). Deze zullen worden gebruikt om van een tiental besmettingen de relevante parameters te bepalen. Op basis van project 3 zullen twee percelen met lokale besmettingen worden geselecteerd.
- Op twee percelen met beperkte verspreiding, zullen vergelijkende metingen worden uitgevoerd in centrum, rand en net buiten de besmetting of zullen zogenaamde transecten (raaien) door de besmetting worden gelegd om populatiedichtheden te relateren aan de onderzochte eigenschappen.

Voor 2020 is alleen de literatuurstudie (20 ke) geaccordeerd. Het rapport van de literatuurstudie is in 2022 afgerond. Voornaamste conclusie is dat het moeilijk te verklaren is.

Stengelaaltjes zijn in gesteriliseerde grond actiever zijn dan niet gesteriliseerde grond. Bodemleven is dus belangrijk. Het is ook bekend dat stengelaaltjes zich beter thuis voelen in zwaardere grond. Een vochtige bodem en niet te hoge temperatuur zijn bevorderlijk voor infectie. Het is niet duidelijk wat de rol van organische stof is op het besmettingsniveau. Er is weinig informatie beschikbaar over het effect van pH op stengelaaltjes, al zijn er aanwijzingen dat er effect is afhankelijk van de grondsoort. Wel zijn er sterke aanwijzingen dat micro-organismen en/of biochemische bestanddelen invloed hebben op de activiteit van stengelaaltjes.

Een nieuw ontwikkelde benadering om te bepalen of bodemactiviteit in het algemeen een relatie heeft met de activiteit van stengelaaltjes, zou een HWC-bepaling (heet-water extraheerbare koolstof) kunnen zijn van grond vanuit plekken met een hardnekkige besmetting in vergelijking met grond buiten deze besmettingshaarden. Deze meting is overigens alleen een maat voor de microbiële activiteit in algemene zin, maar geeft geen informatie over de betrokkenheid van specifieke bodemorganismen.

#### *4. Karakterisering van bodemeigenschappen in relatie tot *Ditylenchus dipsaci* besmetting en verzamelen populaties*

Met dit deelproject willen we inzicht krijgen in de bodemeigenschappen van percelen waar *D. dipsaci* wordt aangetroffen. Dit is belangrijk voor het kunnen voorspellen van gevoeligheid van percelen voor besmetting met *D. dipsaci*. Deze kennis kan bijvoorbeeld worden gebruikt voor het nemen van preventieve maatregelen om besmetting in de toekomst te voorkomen. De besmette percelen worden via de reguliere laboratoria opgespoord. Daarnaast worden monsters van de besmette percelen gebruikt voor het aanleveren van populaties t.b.v. de karakterisering van *D. dipsaci* rassen (deelproject 10; populaties uit vijf daar genoemde regio's) en het ontwikkelen van potproeven (deelproject 6).

In dit project worden fysische, chemische en biologische bodemparameters (dezelfde indicatoren als in project 2) van percelen waar *D. dipsaci* voorkomt in beeld gebracht. Van de teler wordt gevraagd om een enquête over de teelthistorie van dit perceel in te vullen. De bemonsteringsinstantie haalt extra monsters uit het perceel voor de aanvullende bodemanalyses.

Tijdens de groeiseizoenen van 2020 en 2021 was het de bedoeling om in totaal 30 valplekken, veroorzaakt door een *D. dipsaci* besmetting, te lokaliseren. Op 10 percelen met een valplek wordt een monster genomen binnen deze zwaar besmette valplek en op verschillende plaatsen erbuiten. De monsters worden geanalyseerd op de aanwezigheid van *D. dipsaci*, waarbij het monster zo dicht mogelijk bij de valplek maar zonder aantoonbare besmetting wordt geanalyseerd op chemisch/fysische en biologische parameters. Dezelfde analyses worden gedaan voor het monster dat in de valplek is genomen. Van alle 30 valplekken worden gewasmonsters genomen ten behoeve van de projecten 5 en 10. Dertig grondmonsters worden verzameld ten behoeve van project 5.

In 2020 zijn twee valplekken in uien gevonden, maar er zijn geen bodemeigenschappen bepaald. Dit was in afwachting van de resultaten van het literatuuronderzoek naar randvoorwaarden voor vestiging van stengelaaltjes. De plek van de valplekken is vastgelegd, zodat later eventueel bodemmonsters kunnen worden genomen. In 2020 zijn vijf van de dertig beoogde populaties stengelaaltjes verzameld, afkomstig van verschillende gewassen uit verschillende regio's. De vijf populaties waren afkomstig uit ui (3), tulp (1) en narcis (1). In 2021 zal extra aandacht worden gevraagd om actieve besmettingen uit het veld

te melden. Verder onderzoek naar karakteriseren van bodemeigenschappen vervalst. Er wordt wel verder ingezet op het verzamelen van populaties. Het huidige resultaat is dat er 22 populaties zijn verzameld na een oproep aan telers en erfbetreders. De aangeleverde populaties komen uit verschillende provincies.

### *5. Optimaliseren extractie stengelaaltjes uit grondmonsters*

#### Doel en relevantie

Er wordt aangenomen dat *D. dipsaci* vaak als een (ingedroogde) inactieve overlevingsstructuur in de grond voorkomt. Met de klassiek gebruikte Oostenbrink methode moeten de nematoden actief door een filter kruipen, wat een oorzaak kan zijn dat *D. dipsaci* moeilijk aan te tonen is. In dit deelproject wordt onderzocht of *D. dipsaci* in grondmonsters kan worden aangetoond door middel van de zonale centrifuge methode. In tegenstelling tot de Oostenbrink methode, sluit deze methode het aantonen van inactieve nematoden niet uit. Actieve en latente besmetting met *D. dipsaci* zouden zo met meer zekerheid kunnen worden aangetoond in monsters.

Naast het testen van de zonale centrifuge methode wordt ook gekeken naar de voorbereiding van monsters met latent aanwezige *D. dipsaci*, voordat deze worden gecentrifugeerd. Uit preliminaire experimenten is gebleken dat wanneer besmet materiaal eerst gedroogd wordt, er daarna meer aaltjes gevonden kunnen worden.

#### Uitwerking

##### Inventarisatie DD-protocollen (nationaal en internationaal)

Er wordt een inventarisatie gemaakt van protocollen die nationaal en internationaal worden gebruikt voor het extraheren van *D. dipsaci* uit grond.

##### Effectiviteit zonale centrifuge

Aantonen van actieve *D. dipsaci* die aan grond is toegediend (gespiket).

Door eerst te werken met *D. dipsaci* gespikete grond kunnen we onderzoeken of het lukt om de aaltjes te extraheren met de zonale centrifugemethode (WUR|OT). Na het centrifugeren wordt bekeken of *D. dipsaci* kan worden aangetoond in de suspensie. In eerste instantie worden fracties visueel bekeken. Wanneer we weten dat *D. dipsaci* terecht komt in een bepaalde fractie, dan kan worden onderzocht of de aaltjes ook met PCR kunnen worden aangetoond. Als de detectie met PCR werkt, kunnen ook lage dichtheden *D. dipsaci* worden aangetoond die bij visuele bepaling gemist zouden kunnen worden. De DNA-isolatie en PCR worden uitgevoerd op de suspensie die verkregen is door centrifugeren. Het testen en ontwikkelen van de PCR-methode wordt bij HLB uitgevoerd. Wanneer we *D. dipsaci* kunnen aantonen in gespikete grondmonsters, gaan we verder met grondmonsters die zeker met *D. dipsaci* zijn besmet, maar waarin de aaltjes via de Oostenbrinkmethode niet worden aangetoond.

- Analyseren van (verschillende) centrifugefracties met PCR

##### Vorbewerken van monsters voordat een extractiemethode wordt toegepast

Er zijn indicaties dat na het drogen van besmet materiaal hogere aantallen *D. dipsaci* aaltjes gevonden kunnen worden. Dit wordt verder onderzocht in een systematische opzet door monsters te drogen en op verschillende tijdstippen te spoelen met de Oostenbrinkmethode of op te werken met de zonale centrifuge.

Voor extractie van het ruststadium van stengelaaltjes uit grond is een begin gemaakt, door de extractie van actieve stengelaaltjes uit een watersuspensie met twee methoden te

vergelijken: Oostenbrinktrechter en zonale centrifuge. Met de eerste methode kunnen alleen actieve aaltjes worden geëxtraheerd, met de tweede methode mogelijk ook inactieve stadia. De terugwinning met de Oostenbrinktrechter was 75% en met de zonale centrifuge 60%. De uitdaging is nu om de methoden te vergelijken bij extractie van het ruststadium, zonder daarbij de aaltjes te activeren. De methode is immers bedoeld om ook de aaltjes die moeilijk geactiveerd kunnen worden te extraheren. De voorlopige conclusie is dat Zonale centrifuge ook dode stengelaaftjes extraheert, in tegenstelling tot Oostenbrinkmethode. Dauerlarven zijn inactief, als ze in water komen worden ze actief, maar de een sneller dan de andere. Er is geprobeerd om ze langer in rust te houden.

De visuele en PCR-bepaling komen niet volledig overeen. Bij visuele bepaling werden stengelaaftjes gevonden, bij PCR-bepaling meestal niet. De determinatie was niet altijd zeker. Mogelijk was de visuele bepaling in grond H1 niet correct. PCR-methode is gevalideerd om 1-5 stengelaaftjes aan te kunnen tonen. Het vergt nog wat optimalisatie. Soms worden er bij visuele methode trucjes uitgehaald. Stengelen zijn tolerant voor zout en soms ook voor bepaalde middelen. Wellicht dat ze ook beter tegen verzilting kunnen.

#### 6. Ontwikkelen pottoetsmethode ter bepaling waardplantstatus

Voor het werken met toetsplanten is het van belang om te weten hoe het uitgangsmateriaal kan worden verkregen en bewaard, hoe de planten kunnen worden geïnoculeerd en onder welke omstandigheden het experiment het beste kan worden uitgevoerd.

##### Doel en relevantie

Dit project levert een toetstechniek voor deelproject 10 om met differentiaten verschillende stengelaaftjesrassen te onderscheiden. Daarnaast is deze toetstechniek nodig om in de toekomst de waardplantstatus van belangrijke cultuurgewassen te bepalen. Voorwaarde is dan dat een betrouwbare bepaling van aaltjesrassen mogelijk wordt.

Voor het ontwikkelen van de pottoets is een literatuurstudie uitgevoerd en zijn een aantal preliminaire toetsen uitgevoerd. In de literatuur bestaat geen consensus over het uitvoeren van een pottoets ter bepaling van de waardplantstatus. Planten worden geïnoculeerd na een bepaalde tijd of in een bepaald groeistadium, het inoculum wordt direct op de plant aangebracht of in de grond, er wordt een mengsel van verschillende stadia van de nematode gebruikt of alleen J4, er worden verschillende groeimedia, temperaturen en groeiduur aangehouden. Ook verschilt de beoordeling van infectie: er wordt bepaald hoeveel aaltjes de plant binnendringen (na korte groeiduur), of de aaltjes zich vermeerderen (na langere groeiduur) en of de planten symptomen vertonen. De preliminaire toetsen leverden de volgende inzichten:

- Stengelaaftjes uit tulp waren goed te vermeerderen op tuinboon na inoculatie van de bladoksel;
- In tuinboon zijn stengelaaftjes voornamelijk te vinden in zwarte stengeldelen en nauwelijks in groene stengeldelen of het blad;
- Stengelaaftjes overleven wel wanneer een tuinboonplant wordt afgeknijpt, maar vermeerderen zich niet sterk in de opnieuw uitlopende plant;
- Niet alleen het vierde juveniele stadium (J4), maar ook andere stadia zijn in staat om uien te infecteren;
- Bij inoculeren via de grond zijn uien bestand tegen een hogere inoculumdichtheid dan bij inoculeren via de plant;

- Kweek van stengelaaltjes in knoflookteentjes onder steriele omstandigheden (volgens een beschreven methode voor *Ditylenchus destructor*) lukte niet.

De vraag is: wat is de juiste dichtheid stengelaaltjes per waardplant per type stengelaaltje? Er moet dus worden gemeten op een reeks dichtheden, dat betekent een veel groter onderzoek. Er wordt vooral gewerkt met de narcis populatie, omdat daar veel van beschikbaar is.

### 7. Moleculaire karakterisering stengelaaltjesrassen

Onder de microscoop (morfologisch) zijn de verschillende stengelaaltjesrassen niet uit elkaar te houden. Gezien het verschil in vermogen van populaties om op bepaalde gewassen wel of niet te vermeerderen, moeten er genetische verschillen zijn. De moleculaire technieken zijn inmiddels zover ontwikkeld dat het haalbaar is geworden de gehele genoom sequentie van een organisme in beeld te brengen. Door populaties genetisch te karakteriseren kunnen de cruciale verschillen in beeld worden gebracht. Op basis hiervan kunnen diagnostische technieken worden ontwikkeld, zodat telers weten met welk stengelaaltjesras (of combinatie) ze te maken hebben en ze hierop de keuze van gewassen/rassen en de gewasvolgorde kunnen baseren.

#### Doel en relevantie

Doel van dit deelproject is de ontrafeling van “het rassencomplex” van het stengelaaltje *Ditylenchus dipsaci* middels moleculaire karakterisering met behulp van DNA sequencing. Wereldwijd wordt gesproken over het voorkomen van minimaal twintig verschillende rassen op basis van reproductie op verschillende waardplanten.

Het in kaart brengen van de moleculaire diversiteit in Nederland is een belangrijke stap voor het verstrekken van betrouwbare teeltadviezen en het opstellen van duurzame bouwplannen. Het kunnen classificeren van *D. dipsaci* populaties op basis van moleculaire kenmerken heeft de volgende voordelen:

1. Gericht en efficiënt onderzoek naar waardplantreeksen van de moleculaire *D. dipsaci* groepen (“rassen”). Door een of meer vertegenwoordigers van elke moleculaire groep te testen op verschillende waardplanten wordt direct duidelijk hoe groot de variatie is in Nederland en in hoeverre de waardplantenreeksen overlappen tussen de verschillende groepen. Deze benadering vergroot de betrouwbaarheid van de biotoetsen, omdat het aantal te testen populaties sterk gereduceerd kan worden op basis van de groepsindeling. Daarnaast voorkomt de benadering ook ‘overbodig’ werk, omdat het niet zinvol is moleculair identieke populaties te testen op waardplanten en vooral meer aandacht besteed kan worden aan de meest uiteenlopende populaties.
  2. Gerichte resistentieveredeling op basis van de moleculaire groepering. Door vertegenwoordigers van elke groep mee te nemen in de resistentietoetsen is het mogelijk breed werkende resistenties te ontwikkelen.
  3. Inzicht in de “genetische stabiliteit” van de verschillende groepen. Selectie experimenten op waardplanten gevolgd door het testen van de nakomelingen op verschuivingen in reproductie capaciteit op verschillende waardplanten gecombineerd met DNA sequencing geeft niet alleen inzicht in de “stabiliteit” van de “*D. dipsaci* rassen”, maar biedt ook mogelijkheden de moleculaire basis van de variatie in waardplantgeschiktheid te achterhalen (dus welke effectoren/speekseleiwitten).
  4. Diagnostische DNA test *D. dipsaci* rassen. In de toekomst kunnen moleculaire analyses leiden tot een moleculaire (PCR) test voor de verschillende *D. dipsaci* rassen.
- Uitwerking

Het uiteindelijke doel van het project is: 1) inzicht te verkrijgen in de genetische diversiteit en stabiliteit van *D. dipsaci* populaties, en 2) ontwikkeling van een moleculaire (PCR) test voor de verschillende *D. dipsaci* rassen.

Het huidige budget is te gering om deze doelstellingen te realiseren, maar wel is het mogelijk een eerste inzicht te verkrijgen in de mate van de genetische diversiteit en een bescheiden, eerste stap te zetten naar een DNA test voor de identificatie van de *D. dipsaci*. Voor het bereiken van het einddoel, is het voornemen om in het voorjaar van 2020 een uitgebreider PPS project in te dienen. Het benodigde bedrag wordt in overleg later bepaald.

De stuurgroep stelt voor de uitgebreide PPS voor te bereiden en het uitvoeringsbudget van project 3 in te zetten. Het gaat om een strategisch programma waarin fundamentele kennis ontwikkeld wordt. De bedoeling is om consortiumpartners hierbij te betrekken met voldoende in kind bijdragen, waardoor de TKI-bijdrage toeneemt en er weer geld gealloceerd kan worden voor project 3. De PPS werd eind 2020 gehonoreerd.

Update 2022:

Niet alle doelen blijken haalbaar binnen dit project met dit budget. Er is herprioritering nodig. Er moet vooral worden ingezet op het karakteriseren van populaties. Daarvoor zijn meer populaties nodig, ongeveer 50. Daarnaast moet de methodiek van de waardplanttoets moet uitgebreider. Een andere optie is om te snijden in het aantal gewassen en populaties die onderzocht worden.

Er zijn nu ongeveer 30 populaties binnen gekomen, daarvan komen de meeste uit ui en suikerbiet. Er zijn nu 15 populaties gesequenced. Er zijn 6 miljoen genetische verschillen van de 160 miljoen DNA stukjes. Stengelaaltjes zijn genetisch meer divers dan *Globodera*. De tulpen- en narcispopulatie wijken af van de andere populaties stengelaaltjes. Het ziet er naar uit dat de vermeerdering van stengelaaltjes op tuinboon geen invloed heeft op de originele genetische karakteristieken. Dit kan nog niet significant worden bewezen, want het is aangetoond met steekproeven. Bloembollenpopulaties zijn anders dan uienpopulaties. Suikerbieten- en aardappelpopulaties hebben wel verwantschap met uienpopulaties.

Het eerste referentiegenoom wordt afgemaakt. Begin zomer 2022 een 2de run op verzamelde populaties. Er moet blijven gezocht worden naar andere populaties in het buitenland. 50 populaties zou haalbaar moeten zijn.

### *Communicatie*

In oktober 2022 wordt tijdens de stuurgroepsvergadering de meeste onderzoeken afgesloten. In oktober kan er een werkgroep communicatie worden ingesteld. Voor communicatie is een budget van ongeveer € 40.000 gereserveerd. Deze werkgroep gaat zich bezighouden met de volgende vragen:

- Wie zijn onze doelgroepen
- Welke boodschappen willen we communiceren
- Bepalen of er een externe communicatiespecialist moet worden betrokken
- Welke communicatiekanalen er worden ingezet

In 2022 wordt de communicatie vooral ingezet op het verzamelen van populaties. Bij het artikel moeten foto's met verschillende gewassen waar stengelalen in voor kunnen komen. Dat het onderzoek geldt voor een reeks gewassen. Verschillende momenten van publiceren; het moet telkens net voor de oogst. (juni bloembollen, augustus ui, oktober suikerbiet)



## Samenvatting programmering en begroting (k€)

No.	Item	2019	2020	2021	2022	2023	Totaal
1	Inundatie	55					55
2	Rol zaaizaad en plantgoed		pm				pm
3	Vorstudie randvoorwaarden voor vestiging		20	(45)	(45)	(20)	20 (130)
4	Karakterisering van bodemeigenschappen in relatie tot Ditylenchus dipsaci besmetting en verzamelen populaties		37,5	37,5			75
5	Optimaliseren extractie stengelaaltjes uit grondmonsters		50	10			60
6	Ontwikkelen pottoetsmethode ter bepaling waardplantstatus		75				75
7	Moleculaire karakterisering stengelaaltjesrassen			160	78	7	245
A.1	Bestuur	5	5	5	5	5	25
A.2	Projectleiding	10	10	10	10	10	50
A.3	Advies & communicatie	-	10	10	10	10	40
	<b>TOTAAL</b>	<b>70</b>	<b>207,5</b>	<b>167,5</b>	<b>148</b>	<b>52</b>	<b>645</b>

**Totaal 645 k€ ex btw. De toegezegde begroting door de BO Akkerbouw voor een periode van 3 jaar is k€ 508 ex btw.** Vaste lasten zijnde bestuur, projectleiding en advies & Communicatie zijn 115 ke (25+50+40). Het voorgestelde uitvoeringsprogramma is een evenwichtig basisprogramma voor een periode van vier jaar, maar overschrijdt licht het toegezegde budget.

Voor activiteit 7 werd een PPS ingediend en gehonoreerd: extra financiële ruimte kwam daardoor beschikbaar. Bovendien zullen niet alle onderdelen tegelijk van start gaan in 2020. Het is mogelijk later een besluit te nemen over uitvoering en/of aanvullend budget. De getoonde begroting voor punt 7 is exclusief de TKI-multiplier. (inclusief multiplier (568 ke)

Het Uireka werkprogramma 7 heeft met de 'multiplier' van de TKI een totale begroting van k€ 380. Dat betekent een extra k€ 180 bestedingsruimte voor het PvA D. dipsaci. Dankzij de multiplier van 180 ke is in totaal beschikbaar € 700 ke.

Toegezegd is 508 ke. Aan de PPS Uireka is 200 ke toegezegd. Blijft dus over 193 ke:  $508 - 115$  (vaste laste programma) - 200. De 12 ke Rol zaaizaad en plantgoed even buiten de discussie latend, daar is nog een extra potje voor.

Die 200 ke aan PPS Uireka wordt verhoogd met de multiplier van de TKI en komt in totaal 380 ke beschikbaar ( $200+180$ ). Die 380 ke gaan we uitgeven aan inundatie (55 ke), voorstudie huisvesting (20 ke), karakterisering bodemeigenschappen (75 ke), optimaliseren extractie (60 ke) en pottoets methode (75 ke). Dit is in totaal 285 ke. We stellen voor om stappen 1 en 3 van de PPS moleculaire karakterisering projectidee (zie bijlage) ook onder te brengen in de Uireka multiplier, dan hebben we  $285 + 85 = 370$  van de 380 ke ingevuld en de BO Akkerbouw toezegging in deze PPS tenminste voldaan.

Wat heeft de PPS moleculaire karakterisering nodig?

Stap 2: 50 ke

Stap 1 en 3 komt via PPS Uireka (85 ke)

Stap 4: 225 ke

Stap 5: 220 ke

Stap 6: 20 ke

In totaal dus nodig 515 ke, waarvan de helft door het bedrijfsleven en de helft door de TKI gefinancierd moet worden. Kortom wij hebben nodig 257,5 ke en hebben nog over 193 ke, dus een tekort van 64,5 ke. Laten we afronden op 70 ke extra nodig. De sectie teelt van de BO Akkerbouw heeft positief besloten over de € 70.

In totaal met de multipliers weten we bijna 1.000.000 euro aan onderzoek weg te zetten. Daarvoor hebben we geen aanvullend geld nodig boven op de reeds toegezegde middelen van de BO Akkerbouw.

### **Organisatie**

De stuurgroep van het Plan van Aanpak Dd is compleet en bestaat uit leden van NAV, LTO en adviseurs van WUR, PPO, HLP, Agrifirm. Het secretariaat van het Plan van Aanpak Dd wordt uitgevoerd door LTO en voor specifieke kennisvraagstukken is een consultancy begroting van maximaal € 10.000 per jaar gereserveerd.

Juni 2022