

SANNE MAAS - AERES HOGESCHOOL

VEREDELINGSMOGELIJKHEDEN TEGEN DE COLORADOKEVER



Literatuuronderzoek naar de veredelingsmogelijkheden tegen de coloradokever in aardappels.

Auteur: Sanne Maas
3026894@aeres.nl
Opleiding/Major: Tuinbouw en Akkerbouw
Klas: 4TA
Plaats: Dronten
Datum: 9 mei 2022
Opdrachtgevers: Aeres Hogeschool Dronten
Coach: Marnix Gijlers

DISCLAIMER

Dit rapport is gemaakt door een student van Aeres Hogeschool als onderdeel van zijn/haar opleiding. Het is géén officiële publicatie van Aeres Hogeschool. Dit rapport geeft niet de visie of mening van Aeres Hogeschool weer. Aeres Hogeschool aanvaardt geen enkele aansprakelijkheid voor enige schade voortvloeiend uit het gebruik van de inhoud van dit rapport.

Voorwoord

Als vierdejaars student Tuinbouw en Akkerbouw aan Aeres Hogeschool in Dronten heb ik gewerkt aan een afstudeeronderzoek over de veredelingsmogelijkheden tegen de coloradokever. Mijn interesses liggen voornamelijk bij plantenveredeling en plantenziektenkunde. Ik wilde graag deze twee onderwerpen samenvoegen voor mijn afstudeeronderzoek, met als resultaat dit literatuuronderzoek. Met dit onderzoek heb ik geprobeerd om de nodige theoretische informatie samen te brengen tot een rapport, wat door de veredelaars in de praktijk toegepast kan worden. Ik wil graag Marnix Gijlers bedanken voor de begeleiding en de nodige feedback tijdens het schrijven van het onderzoek. Daarnaast wil ik Kees Westerdijk bedanken als tweede beoordelaar binnen mijn afstudeeronderzoek.

Sanne Maas
9 mei 2022

Inhoudsopgave

Voorwoord	3
Samenvatting.....	6
Summary	7
Hoofdstuk 1 Inleiding	8
1.1 Geschiedenis van de aardappel(veredeling)	9
1.2 De Coloradokever	11
1.2.1 Schadebeeld	12
1.2.2 Levenscyclus coloradokever	12
1.2.3 Gedrag en gewenste omstandigheden	13
1.3 Veredelingsplan.....	14
1.4 Hoofd- en deelvragen	14
1.5 Doelstelling.....	14
1.6 Leeswijzer	15
Hoofdstuk 2 Aanpak	16
2.1 Zoekplan literatuuronderzoek.....	16
2.1.1 Beschikbaarheid literatuur	16
2.1.2 Zoekwoorden.....	16
2.1.3 Relevantie van bronnen	17
2.1.4 Beantwoorden van deelvragen en verwerken van bronnen.....	17
Hoofdstuk 3 Resultaten.....	18
3.1 Bronnen van resistentie	18
3.1.1 Wilde soorten met een resistentie tegen de coloradokever	18
3.2 Resistentiemechanismen	21
3.2.1 Glycoalkaloïden	21
3.2.2 Glandulaire trichomen.....	22
3.2.3 Duurzaamheid van de resistentie.....	23
3.2.4 Welke resistentiefactor?	23
3.3 Kruisingsproces.....	24
3.3.1 Bevruchtingsproces	25
3.3.2 Kruisingen met wilde soorten	26
3.3.3 Externe kruisingsbarrières.....	27
3.3.4 Interne kruisingsbarrières	27
3.3.5 Overwinnen interne kruisingsbarrières.....	28
3.3.6 Toelichting op de technieken	31
3.4 Ontwikkelen resistentietoets	32

3.4.1 Grootte van het toets	32
3.4.2 Ruimte/omgeving	32
3.4.3 Testmateriaal	33
3.4.4 Kweek en synchronisatie	33
3.4.5 Toets inzetten en beoordelen	34
3.4.6 Resultaten beoordelen	34
Hoofdstuk 4 Discussie	36
4.1 Discussie werkwijze en proces	36
4.2 Discussie resultaten	37
Hoofdstuk 5 Conclusie	39
5.1 Conclusie deelvragen	39
5.2 Conclusie hoofdvraag	42
Hoofdstuk 6 Aanbevelingen	43
6.1 Resistentietoets verfijnen	43
6.2 Aanvullen van informatie	43
Literatuurlijst	44
Bijlage 1 Planplaatje	50
Bijlage 2 Getoetste accessies met een resistentie tegen de coloradokever	51

Samenvatting

De aardappel is één van de belangrijkste voedselgewassen ter wereld. Als gevolg van de klimaatverandering en het wegvallen van chemische gewasbeschermingsmiddelen, stijgt de druk van de coloradokever in de Nederlandse aardappelteelt. Akkerbouwers zijn hierdoor op zoek naar alternatieven om de teelt gezond te houden. Eén van die alternatieven kunnen resistente aardappellrassen zijn. Door middel van een literatuuronderzoek is er gekeken naar wat de mogelijkheden zijn voor de ontwikkeling van een veredelingsprogramma in aardappels tegen de coloradokever. In dit onderzoek is er ook geprobeerd om een praktische inslag te geven voor de veredelaar.

In dit onderzoek is er gekeken naar:

- Resistentiebronnen, die bestaan uit verschillende wilde *Solanum*-soorten die in tabel 3.1 genoteerd zijn;
- Resistentiemechanismen en -factoren. De resistenties kunnen gebaseerd zijn op glandulaire trichomen die de mobiliteit van de kever beperken. De resistentie kan ook gebaseerd zijn op glycoalkaloïden die een toxische werking hebben op de kever;
- De obstakels rondom het kruisen van de planten. De externe kruisingsbarrières hebben invloed op de bloei van de plant. De interne kruisingsbarrières hebben invloed op de bestuiving, bevruchting of zaadproductie;
- Het overwinnen van deze kruisingsbarrières. Externe barrières moeten overwonnen worden door teeltmaatregelen uit te voeren die passen bij de wilde soort. Interne kruisingsbarrières moeten overwonnen worden door een ander soort kruising te maken en/of door de genetica van de plant te manipuleren;
- Het ontwikkelen van een opzet voor een resistentietoets. In deze toets kan er gekeken worden naar de voorkeur voor waardplant en de mogelijkheid tot het veroorzaken van vraatschade door de kever. Deze toets kan de veredelaar gebruiken om een coloradokever resistentie te toetsen in de gemaakte kruisingen.

Ondanks dat de auteur beperkt kan worden door de hoeveelheid tijd en literatuur, is het in dit onderzoek toch gelukt om gegevens te verzamelen over de mogelijkheden voor het veredelen van aardappels tegen de coloradokever. Deze punten zorgen ervoor dat de veredelaar genoeg informatie heeft om een veredelingsprogramma in aardappels tegen de coloradokever op te kunnen starten. De nieuwe rassen zouden akkerbouwers in de toekomst kunnen gebruiken, waardoor de aardappelteelt beschermd blijft. De aanbevelingen voor in de toekomst zijn om de resistentietoets te verfijnen naar de wensen van de veredelaar en om verder op zoek te gaan of onderzoek uit te voeren om meer nuttige informatie over deze onderwerpen te verzamelen.

Summary

The potato is one of the most important food crops in the world. As a result of climate change and the loss of chemical crop protection products, the pressure of the Colorado potato beetle in the Dutch potato cultivation is increasing. Arable farmers are looking for alternatives to protect the cultivation. One of those alternatives could be resistant potato varieties. By means of a literature study, the possibilities were examined for the development of a potato breeding program against the Colorado potato beetle. In this research, the author also tried to give this report a practical touch for the breeder.

In this study, the author looked at:

- Sources of resistance, consisting of several wild *Solanum* species listed in Table 3.1;
- Resistance mechanisms and factors. The resistances may be based on glandular trichomes that limit the mobility of the beetle. The resistance may also be based on glycoalkaloids that have a toxic effect on the beetle;
- The obstacles around crossing the plants. The external crossing barriers affect the flowering of the plant. The internal crossing barriers affect pollination, fertilization or seed production;
- Overcoming these crossing barriers. External barriers must be overcome by implementing cultivation measures that matches to the wild species. Internal crossing barriers must be overcome by creating a different type of crossing and/or by manipulating the genetics of the plant;
- Developing a setup for a resistance test. In this test, the breeder can look at the preference for host plant and the possibility of causing defoliation by the beetle. The breeder can use this test to evaluate a Colorado potato beetle resistance in the crosses made.

Despite the fact that the author may be limited by the amount of time and literature, this study nevertheless managed to collect data on the possibilities for breeding potatoes against the Colorado potato beetle. These points ensure that the breeder has enough information to be able to start a breeding program in potatoes against the Colorado potato beetle. The new varieties could be used by arable farmers in the future, so that potato cultivation remains protected. The recommendations for the future are to refine the resistance test and to continue searching or conducting research to gather more useful information about these topics.

Hoofdstuk 1 Inleiding

De aardappel (*Solanum tuberosum*) behoort in de top 4 van de belangrijkste voedselgewassen ter wereld, samen met rijst, tarwe en maïs. Hiermee is de aardappel een belangrijk onderdeel voor de wereldwijde voedselvoorziening. In 2016 is er vastgesteld dat er in totaal 815 miljoen mensen op de wereld ondervoed zijn (Wijeshinha-Bettoni & Mouillé, 2019). De gemiddelde wereldopbrengst van aardappels lag in 2018 op 20,9 ton per hectare (World Potato Congress, 2020). In Nederland was dit gemiddelde in 2018 bijna 2 keer zo groot, namelijk 41,2 ton per hectare (CBS, 2021). De landen die onder het gemiddelde produceren zijn in de meeste gevallen conflictgebieden met een beperkt teeltoppervlak. Wel is er sprake van een hoog aanbod aan arbeid in deze gebieden. Daarnaast hebben aardappels relatief weinig water nodig t.o.v. andere gewassen en de aardappel groeit relatief snel. Door middel van innovatie en kennisuitwisseling is er voor deze landen zeker verbetering mogelijk wat betreft de productie per hectare. Het beschermen en het verder ontwikkelen van de aardappelteelt is van groot belang voor de wereldwijde voedselvoorziening (Wijeshinha-Bettoni & Mouillé, 2019).

Voor Nederland is de aardappelteelt ook van groot economisch belang. De aardappel wordt gezien als een hoog salderend gewas en is naast graan het meest geteelde akkerbouwgewas in Nederland. In 2020 bestond $\frac{1}{3}$ van het Nederlandse akkerbouwareaal uit aardappels (CBS, 2021). Nederland is de grootste exporteurs van aardappels. Zo is er in 2018 825.000 ton pootgoed geëxporteerd. Hiermee beschikt Nederland over 60% van de wereldhandel in gecertificeerd pootgoed (AGF, 2018). Deze sterke positie is te danken aan de beschikbaarheid van kennis, het kwekerswerk en de hoge kwaliteit van het product (Wiskerke, 2019). Toch zijn er ook uitdagingen voor (Nederlandse) aardappeltelers die steeds meer invloed hebben op de teelt, zoals klimaatverandering en de verdwijning van gewasbeschermingsmiddelen.

De klimaatverandering zorgt in Nederland over het algemeen voor warmere seizoenen met verminderde neerslag. Vooral de jaren 2018 t/m 2020 hebben laten zien wat extreme droogte kan veroorzaken in de landbouw. De warmere seizoenen zorgen ervoor dat insecten in de winter beter kunnen overleven en in het voorjaar eerder uitvliegen. Hierdoor neemt de populatie insecten in de winter niet tot nauwelijks af en vindt aantasting in het voorjaar eerder plaats. Dit geldt ook voor de coloradokever. Waar er 5 tot 6 jaar geleden pas in augustus de eerste aantastingen door de coloradokever gevonden werden, worden de eerste kevers nu al in mei gevonden op opslagplanten in bijvoorbeeld bietenpercelen (Queisen, 2021). Dit maakt het voor de kevers ook mogelijk om meerdere generaties te produceren binnen één seizoen (Mulder & Turkensteen, 2008). Door de klimaatverandering worden de omgevingsfactoren voor de coloradokever aangenamer, waardoor aantasting eerder en in grotere getale voorkomt in de aardappelteelt.

Een akkerbouwer is voornamelijk afhankelijk van insecticiden om de coloradokever te bestrijden. Voorbeelden van middelen die daarvoor gebruikt worden zijn Coragen en Gazelle (Van Iperen, 2018). Het probleem in de agrarische sector is dat het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen onder druk staat. Bepaalde middelen zijn door nieuwe onderzoeken gelinkt aan milieubelasting en het schaden van menselijke gezondheid. Het gevolg hiervan is dat sommige middelen worden verboden of de regelgeving rondom het toepassen van het middel wordt strenger. Dit zorgt ervoor dat een akkerbouwer minder mogelijkheden heeft om de teelten te beschermen. Daarnaast kunnen coloradokevers gemakkelijk een resistentie ontwikkelen tegen insecticiden (Tönjes, 2015). Voor de bestrijding van coloradokever zijn er weinig andere maatregelen te treffen dan het toepassen van insecticiden.

Toch zijn er een aantal zaken die een (kleine) bijdrage kunnen leveren aan de bestrijding van de coloradokever:

- Vermijd vroege rassen, omdat deze over het algemeen gevoeliger zijn voor de coloradokever dan wat latere rassen (Luske & Schulting, 2019);
- Het verwijderen van aardappelopslag. Opslag kan namelijk dienen als vermeerderingsplek voor de coloradokever;
- Minimaal 5 keer per groeiseizoen het perceel monitoren op het aantal kevers en de hoeveelheid schade;
- De Colorado Beetle Catcher is een nieuwe machine waarbij er gebruik gemaakt wordt van kunststofflappen die tegen de aardappelplant geslagen worden. Deze slagen zouden ervoor moeten zorgen dat de kevers van de plant afgeslagen worden. De coloradokevers worden opgevangen in bakken waardoor er zo min mogelijk op het veld achterblijven. De bakken kunnen op een later moment worden geleegd om de kevers uit te schakelen door middel van vermalen of verbranding (Huiden, 2021).

Alle ontwikkelingen en factoren zorgen ervoor dat akkerbouwers op zoek zijn naar alternatieve vormen van gewasbescherming om de coloradokever te bestrijden.

Ook in de veredelingswereld is er in het verleden gekeken naar de mogelijkheden om rassen te ontwikkelen met een resistentie tegen de coloradokever. Een resistentie geeft de plant de mogelijkheid om de groei, ontwikkeling en reproductie van een ziekte of plaag te verminderen of te stoppen (Niks et al., 2019). Vanuit Wageningen Universiteit is er in 2010 gestart met een onderzoeksprogramma gericht op het verduurzamen van de gangbare en biologische landbouw, genaamd Groene Veredeling. In 2014 is er gestart met een project dat volledig gericht was op de problemen die er in de aardappelteelt ontstonden door de coloradokever. In dat project is er toen vastgesteld dat het coloradokever probleem voor Nederlandse akkerbouwers nog niet dusdanig groot was om een veredelingsprogramma te starten (Groene Veredeling, z.d.). Dit onderzoek is toen ook in 2014 weer stopgezet (Groene Veredeling, z.d.). Op dit moment stijgen de problemen met de coloradokever in Nederland, waardoor akkerbouwers op zoek gaan naar andere vormen van gewasbescherming. Zeker wanneer externe factoren, zoals klimaat en wetgeving, zorgen voor een grotere insectendruk. Een voorbeeld hiervan is de ontwikkeling van de Colorado Beetle Catcher. Meer informatie over het schadebeeld is te lezen in subparagraaf 1.2.1. Veredeling kan een optie zijn om akkerbouwers verder te helpen bij het weren van de kever. Het is van belang om vroeg te starten met het verzamelen van informatie over de verdelingsmogelijkheden. Deze informatie blijft namelijk in de meeste gevallen niet beperkt tot één rapport.

1.1 Geschiedenis van de aardappel(veredeling)

De aardappel deed intrede in Nederland als *Solanum tuberosum subsp. andigena* aan het einde van de 16^e eeuw, maar in Europa werd de plant toen nog gezien als een sierplant (Schneeberger, 2022). Pas halverwege de 18^e eeuw werd de aardappel gezien als volwaardig voedingsgewas, in de vorm van *Solanum tuberosum* zoals iedereen die kent. In de jaren tussen de 16^e en de 18^e eeuw, vond het eerste kweekwerk plaats. De ondersoort *andigena* is een kortedagplant, waarbij de knolzetting pas plaatsvond na de langste dag. Hierdoor was deze ondersoort niet geschikt voor het klimaat in Nederland. De Nederlandse kwekers van toen zijn het *andigena*-type gaan selecteren op vroegrijpheid, waardoor het *andigena*-type langzaam naar het *tuberosum*-type verschoof, het type dat beter past bij de daglengte in Nederland. Deze verschuiving wordt beschouwd als het eerste aardappelkweekwerk in Europa (Tiemens-Hulscher et al., 2016).

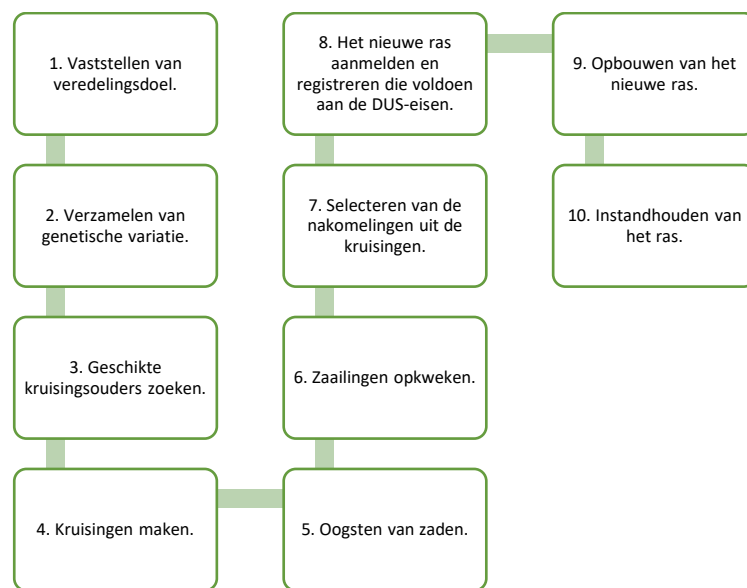
In de jaren daarna begonnen er steeds meer problemen te ontstaan in de aardappelteelt:

- Degeneratie van rassen door de ziekte 'krul'. 'Krul' is de oude benaming voor bladrol. Bladrol wordt veroorzaakt door het aardappelbladrolvirus dat door bladluizen wordt overgebracht. De degeneratie die er ontstond door infectie, uitte zich in een afname van kwaliteit, gezondheid, productiviteit en groeikracht van de planten (Tiemens-Hulscher et al., 2016);
- *Phytophthora* die intrede deed in de aardappelteelt en die zorgde voor desastreus gevolgen voor de opbrengst. In Ierland hebben de misoogsten gezorgd voor een hongersnood in 1845, in Nederland is dit nooit zover gekomen (Tiemens-Hulscher et al., 2016).

Bovenstaande problemen hebben ervoor gezorgd dat de aardappelkwekers steeds strenger zijn gaan selecteren en meer gebruik zijn gaan maken van andere genetische bronnen. Dit zorgde ervoor dat de rassenkeuze steeds uitgebreider werd. In 1888 zijn de kwekers echt gericht gaan kruisen om overdracht van gewenste eigenschappen plaats te laten vinden, ook wel introgressie genoemd. Daarnaast zorgde het heruitvinden van de wetten van Mendel voor meer kennis om gericht te kruisen. Nederlandse kwekers liepen in dit proces voorop. Een wel bekende kweker is Geert Veenhuizen, bekend van rassen zoals Eigenheimer en Rode Star (Van Loon, 2018). Het huidige veredelingsproces is in te delen in een aantal stappen. Deze stappen zijn te zien in figuur 1.1 (Tiemens-Hulscher et al., 2016).

Figuur 1.1

Stappenplan aardappelveredeling^a



^aTiemens-Hulscher et al. (2016, p.19-20)

Stappen 4 tot en met 8 behoeven enige toelichting. Wat belangrijk is om te benoemen, is dat de aardappel vegetatief vermeerderd kan worden. Dit betekent dat alle nakomelingen genetisch identiek zullen zijn aan de ouderplanten wanneer vegetatieve vermeerdering wordt toegepast. Bij veredeling uit zaad is er wel sprake van verschil in genetica onder de nakomelingen, omdat hier de genetica van de ouders vermengd zijn. Om tot een nieuw aardappelras te komen, wordt er dus gestart met het maken van kruisingen. Uit deze kruisingen ontstaat uiteindelijk zaad met allemaal verschillende soorten genotypen. Deze zaden worden opgekweekt, beoordeeld op landbouwkundige eigenschappen en de beste worden geselecteerd. De genotypen die elk jaar overblijven worden op grotere schaal vegetatief vermeerderd om daarna weer getoetst en geselecteerd te worden. Door de aardappels vegetatief te vermeerderen, zullen de genotypen niet veranderen. Na jaren van selectie kan er een nieuw ras ontstaan, dat gereed is om aangemeld en geregistreerd te worden (Tiemens-Hulscher et al., 2016).

De ontwikkeling van de hybride aardappelveredeling is vandaag de dag de belangrijkste ontwikkeling binnen de aardappelveredeling. De huidige aardappelveredeling bestaat uit het kruisen van tetraploïde ouderlijnen, dit betekent dat elk chromosoom vier keer voorkomt. Dit betekent tegelijkertijd dat ongewenste eigenschappen gemakkelijk meegenomen worden/achterblijven tijdens het veredelingsproces. Bij hybride veredeling wordt er gewerkt met homozygote diploïde ouderlijnen, waarbij elk chromosoom maar twee keer voorkomt. Hierdoor is het genen pakket van de ouderlijnen kleiner en zal de verscheidenheid van de nakomelingen minder groot zijn dan bij kruisingen tussen tetraploïde ouderlijnen. Daarnaast groeien de aardappelen vanuit zaad in plaats vanuit knollen. Het gerichter werken zorgt voor een sneller veredelingsproces. Deze techniek is nog volledig in ontwikkeling, maar er valt niet te ontkennen dat de techniek veelbelovend is (Van der Lee, 2016).

1.2 De Coloradokever

Taxonomisch gezien behoort de coloradokever (*Leptinotarsa decemlineata*) tot de familie van de bladkevers. De coloradokever is duidelijk te herkennen als 1 cm lange kever met zwart en gele strepen. De larven zijn ook ongeveer 1 cm met een oranje kleur en een zwarte kop. In figuur 1.2 is zowel de kever, als de larve afgebeeld. Beiden voeden zich met de planten uit de nachtschadefamilie, zoals aubergines, tomaat en de voorkeursplant: de aardappel. Daarnaast kunnen de kevers ook virussen en bacteriën overbrengen via de monddelen (Mulder & Turkensteen 2008).

De uit Amerika afkomstige coloradokever is in 1937 voor het eerst in Limburg gesignaleerd. In de jaren daarna werd de kever in grotere getalen in de rest van Nederland aangetroffen. De Nederlandse (aardappel)telers, zelfs de hobbyisten, waren verplicht om te helpen bij de bestrijding van de kever, omdat deze een gevaar vormde voor de voedselvoorziening in Nederland (Plantenziektenkundige Dienst, 1948). Bestrijding werd het meest uitgevoerd met een insecticide, genaamd DDT. Dit middel is in 1974 verboden vanwege de negatieve effecten op het milieu (Buijs & Mantingh, 2020; Hare, 1990). Er zijn in de loop der jaren verschillende wetten opgesteld die de (hobby)telers verplicht stellen om de coloradokever te bestrijden. De wet die vandaag de dag nog geldt, komt uit 1953 (Mulder & Turkensteen, 2008). In 1995 is het eerste genetische gemodificeerde aardappelras met een resistentie tegen de coloradokever op de markt gebracht door de Amerikaanse multinational Monsanto. Een dochteronderneming van Monsanto, NatureMark, werkte aan deze strategie van veredeling, waardoor er in de jaren daarna nog meer rassen op de markt zijn gebracht met resistenties tegen *Phytophthora infestans* en aardappelbladrolvirus. In de opvolgende jaren nam de weerstand vanuit de maatschappij tegen genetische modificatie steeds meer toe.

De restaurants zagen af van deze genetische gemodificeerde aardappels, waarna de verwerkende industrie volgde. Hierdoor trokken ook de telers zich terug, met als gevolg dat NatureMark in 2001 is gesloten (Halterman et al., 2015). Waar er in het begin van de 20^e eeuw vooral ingezet werd op chemische bestrijding, is er sinds het einde van de 20^e eeuw/begin 21^e eeuw een omslag te zien. Aangezien de coloradokevers de mogelijkheid hebben om resistenties op te bouwen tegen insecticiden en het aantal insecticiden steeds minder wordt, is het wel noodzakelijk om naar andere vormen van gewasbescherming te kijken.

Figuur 1.2

Coloradokever en larve



Opmerking. Overgenomen uit *Kevermepper klaar voor de markt* van R. Tholhuijsen, 2021 (<https://www.boerderij.nl/kevermepper-klaar-voor-de-markt>). Copyright 2021, Boerderij.

1.2.1 Schadebeeld

Zoals eerder is benoemd, zijn de waardplanten van de coloradokever afkomstig uit de *Solanaceae*. In totaal zijn er ongeveer 20 verschillende waardplanten, met als oorspronkelijke waardplant de *Solanum rostratum*. De overgang van *Solanum rostratum* naar *Solanum tuberosum* heeft het voor de kever mogelijk gemaakt om zich in grote getalen te vermenigvuldigen (Mulder & Turkensteen, 2008). Het schadebeeld uit zich in de vorm van vraatschade. De larven en de kevers komen op de plant terecht en voeden zich als eerste met de bladeren. Wanneer de bladeren aangevreten zijn, dan starten de kevers met de bladstelen en de stengels. Zonder het gebruik van insecticiden, kunnen de verliezen door vraat oplopen van 40 tot 80% (Skryabin, 2010). Het gevolg van vraat is dat er weinig bladgroen overblijft om fotosynthese plaats te laten vinden, waardoor er geen energie beschikbaar is om knollen te produceren (Heikkilä & Peltola, 2007). De schade kan zo groot worden dat er helemaal geen knollen worden geproduceerd (Hare, 1990). De shadedrempel is per gewasstadium verschillend. Bij bloei is de shadedrempel bereikt bij 10% bladaantasting en voor een afrijpend gewas geldt een drempel van 25% (Luske & Schultinga, 2019). Voor de akkerbouwer betekent de schade, minder opbrengsten en minder inkomsten. Exacte cijfers over de aantasting door de coloradokever zijn niet beschikbaar. In figuur 1.3 is er een afbeelding te zien van ernstige vraatschade.

1.2.2 Levenscyclus coloradokever

In figuur 1.4 is er een afbeelding te zien waarin de levenscyclus van de coloradokever wordt uitgebeeld. Eind april tot eind mei komen de vrouwelijke kevers naar de aardappelplanten om te eten, te paren en eieren te leggen. De eieren worden gelegd wanneer de dagtemperaturen boven de 17°C uitkomen. Deze worden aan de onderkant van het blad afgezet in partijen van 12 tot 25 eieren. Een vrouwtje kan in haar hele leven meer dan 500 eieren afzetten. Dit is vaak in een periode van 2 tot 3 weken. De eieren zijn oranje van kleur en zijn ongeveer 0,5 tot 1,5 mm groot. Wanneer de larven uit de eieren komen is afhankelijk van de temperatuur, maar vindt meestal plaats na 5 tot 21 dagen. Ook de jonge larven zijn al vraatzuchtig en brengen dus ook schade aan in het gewas. In een periode van 3 tot 5 weken vervellen de larven 3 keer. Per vervelling groeit de larve in grootte en in het laatste larvale stadium (L4) krijgt het de rood-oranje kleur (Mulder & Turkensteen, 2008; Verhiest, 2020).

Figuur 1.3

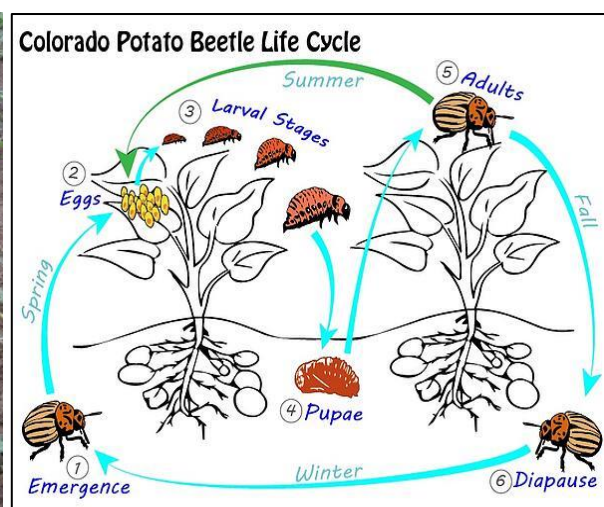
Ernstige schade door coloradokever



Opmerking. Overgenomen uit *Coloradokever en gevolgen voor het rendement* door PCA, 2013 (<https://www.pcainfo.be/Publicaties/Brochure-LCA/userid/3/coloradokevers-en-gevolgen-voor-het-rendement>). Copyright 2013, PCA.

Figuur 1.4

Levenscyclus van de coloradokever



Opmerking. Overgenomen uit *A day in the entomology lab: Beetles* door K. McCorkle, 2018 (<https://blog.agbiome.com/a-day-in-the-entomology-lab-beetles>). Copyright 2018, AgBiome.

In stadium L4 graaft de larve zich weer onder de grond om daar in popstadium te komen. Na ongeveer twee weken (eind juli – begin augustus) komt de kever weer boven de grond. Tot aan het einde van augustus hebben de zomerkevers de tijd om zich te voeden met de aardappelplanten, daarna trekken de kevers zich terug in de bodem om te overwinteren tot aan het voorjaar. Het proces van ei tot kever duurt in koude zomers ongeveer 80 dagen. In warme zomers kan dit verkort worden tot 35 dagen en daardoor hebben de kevers soms de kans om in hetzelfde seizoen nog een nieuwe generatie voort te brengen (Mulder & Turkensteen, 2008; Verhiest, 2020).

1.2.3 Gedrag en gewenste omstandigheden

Zoals hierboven is benoemd, is de ontwikkelingssnelheid sterk afhankelijk van de temperatuur. Wanneer de temperaturen constant tussen de 25°C en 33°C blijven, dan vindt de ontwikkeling het snelste plaats. Wanneer de temperaturen boven de 33°C uitkomen, dan vertraagt de ontwikkeling en kunnen de larven zelfs sterven (Hare, 1990). Voor ontwikkeling en verspreiding moeten de temperaturen in zomer het liefst boven de 17°C uitkomen. Om in de winter te overleven moeten de temperaturen in de winter niet onder de -8°C komen (Mulder & Turkensteen, 2008).

Zodra de volwassen coloradokevers in het voorjaar boven de grond komen, gaan deze op zoek naar voedsel. De kevers worden aangetrokken naar planten uit de *Solanaceae*, omdat deze planten een bepaalde geur afscheiden. Deze geur wordt voornamelijk geproduceerd wanneer er op een bepaalde manier schade aan de plant plaatsvindt. Dit kan komen door mechanische schade, maar het kan ook schade zijn die veroorzaakt wordt door een ander organisme. In de meeste gevallen produceren planten vluchtige stoffen om insecten te weren, maar in het geval van de coloradokever zijn de stoffen juist aantrekkelijk (Schütz et al., 1997). De kevers verspreiden zich door te lopen, te vliegen, via wind of via water (Liu et al., 2012). De meeste consumptie vindt plaats bij een temperatuur van 25°C (Bolter et al., 1997). Zodra schade van de coloradokever wordt gedetecteerd door de plant, dan wordt er door de plant jasmonzuur geproduceerd. Jasmonzuur wordt geproduceerd door planten om zich te weren tegen insecten en necrotrofen. Het speeksel van de coloradokever bevat bacteriën die de productie van het hormoon salicylzuur in de planten op gang brengt. De verhoogde productie van salicylzuur werkt negatief op de productie van jasmonzuur. In dit geval kan de aardappel dus minder jasmonzuur produceren om zich te weren tegen de coloradokever. Hierdoor krijgt de kever de kans om verdere schade aan te richten (Chung et al., 2013; Chung et al., 2017). Wanneer er een voedseltekort ontstaat voor de coloradokever, dan kunnen de larven en de volwassen kevers ook kannibalistisch gedrag vertonen. Voornamelijk worden de gewonde kevers en de eieren gegeten (Booth et al., 2016). Na het zomerseizoen gaan de kevers weer de grond in om te overwinteren. Het moment van overwintering wordt bepaald door de kortere daglengtes, de ouderdom van het gewas en de temperaturen (Hare, 1990).

Ook bestaat er een beslissingsondersteunend systeem (BOS) genaamd SIMLEP. Dit systeem is voornamelijk gericht op het voorspellen van de ontwikkelingsstadia binnen de levenscyclus. Het systeem bestaat uit twee onderdelen. SIMLEP 1 is een temperatuur gestuurd model dat berekent hoe snel ontwikkeling, sterfte, voorplanting en overgangssnelheden plaatsvinden. SIMLEP 1 wordt voornamelijk gebruikt om een voorspelling te doen over de eerste eierlegging van de coloradokever. Het tweede deel, SIMLEP 3, simuleert de ontwikkeling van de coloradokever vanaf de eierlegging tot aan de ontwikkeling van oudere larven. Dit gebeurt op basis van luchttemperatuur, datum waarop de eerste eieren zijn gevonden, datum van de vorige beoordeling toen er nog geen eieren aanwezig waren in het veld en het aantal clusters van eieren die er gevonden worden (Jörg et al., 2007). Er zijn geen bronnen bekend over het gebruik van het systeem bij Nederlandse telers.

1.3 Veredelingsplan

De klimaatverandering zorgt ervoor dat insectendruk groter wordt, aangezien de kevers eerder in het seizoen voorkomen en de mogelijkheid krijgen om een extra generatie te ontwikkelen. In combinatie met de afname van het aantal gewasbeschermingsmiddelen, worden de akkerbouwers indirect gedwongen om op zoek te gaan naar alternatieve vormen van gewasbescherming. Het gebruik van weerbare rassen is een goede basis voor de start van een gezonde teelt. Voor een veredelaar is het de taak om rassen te ontwikkelen die passen bij de wensen vanuit de praktijk.

In het geval van de coloradokever moet de veredelaar de vraag stellen: Wat zijn de mogelijkheden om een aardappelras te ontwikkelen met een resistentie tegen de coloradokever? Om deze vraag te beantwoorden, moeten er een aantal factoren worden uitgezocht:

- Resistentiebronnen;
- Resistentiemechanismen tegen insecten, in het speciaal de coloradokever;
- Kruisingsbarrières;
- Toetsen van resistenties.

Deze informatie is voor de veredelaar de basis voor de start van een veredelingsprogramma.

1.4 Hoofd- en deelvragen

Hoofdvraag: Wat zijn de veredelingsmogelijkheden tegen de coloradokever (*Leptinotarsa decemlineata*) in de aardappelteelt (*Solanum tuberosum*)?

Deelvragen:

- Welke wilde *Solanum*-soorten bevatten een resistentie tegen de coloradokever?
- Hoe zien deze resistentiemechanismen eruit?
- Wat zijn de obstakels wat betreft het kruisen van de wilde soorten met *Solanum tuberosum*?
- Hoe kunnen deze obstakels omzeild worden?
- Hoe kan een resistentie tegen de coloradokever getoetst worden in *Solanum*-soorten?

In hoofdstuk 2 wordt er beschreven hoe de hoofdvraag en de deelvragen beantwoord gaan worden door middel van een literatuuronderzoek.

1.5 Doelstelling

Het doel van dit onderzoek is in eerste instantie, door middel van literatuuronderzoek antwoord geven op de hoofdvraag: Wat zijn de veredelingsmogelijkheden tegen de coloradokever in de aardappelteelt? Aangezien dit een literatuuronderzoek wordt, betekent het dat er al eerder onderzoeken zijn gedaan naar de verschillende aspecten rondom deze vraag. Deze informatie is immers nodig om de deelvragen te beantwoorden. Vaak bieden deze wetenschappelijke rapporten alleen de onderzochte informatie, maar het stuk van praktische toepassing voor de doelgroep mist vaak. In dit onderzoek is het de bedoeling dat er wel een stuk praktische toepassing gegeven wordt voor de doelgroep, namelijk de veredelaars. Dit rapport kan dan dienen als handvat voor een (beginnend) veredelaar die wil starten met het veredelen van aardappels tegen de coloradokever. Het is dus van belang dat dit rapport duidelijk genoeg is voor een veredelaar om te starten met dit veredelingsprogramma.

Indirect is dit rapport ook van belang voor de (toekomstige) aardappeltelers. Zoals eerder is benoemd krijgen de aardappeltelers steeds meer te maken met moeilijkheden binnen de teelt. Hierbij gaat het voornamelijk om de klimaatverandering in combinatie met verhoogde insectendruk en het wegvallen van chemische gewasbeschermingsmiddelen. De coloradokever is door deze factoren minder gemakkelijk te bestrijden, wat zorgt voor druk op de Nederlandse en ook wereldwijde aardappelproductie. Toch is het belangrijk dat de aardappel geteeld kan blijven worden. Het is namelijk één van de belangrijkste voedselgewassen in de wereld en voor Nederland is het een belangrijk onderdeel van de economie. Het is de taak aan de veredelaars om rassen te ontwikkelen met eigenschappen die passen bij de vraag vanuit de praktijk, oftewel de telers. Met dit rapport wordt er informatie gegeven om aardappelrassen te ontwikkelen met een resistentie tegen de coloradokever, waardoor de teler in de toekomst een goede start kan maken bij het begin van het teeltseizoen.

1.6 Leeswijzer

In hoofdstuk 2 is de aanpak te lezen. Hierin staat beschreven hoe het onderzoek aangepakt en uitgevoerd gaat worden. In hoofdstuk 3 zijn de resultaten van het onderzoek weergegeven. In hoofdstuk 4 worden de resultaten uit hoofdstuk 3 ter discussie gesteld. In hoofdstuk 5 wordt er op basis van de resultaten en de discussie een conclusie vastgesteld. Hierbij worden deelvragen beantwoordt, waardoor de hoofdvraag ook beantwoord kan worden. In hoofdstuk 6 worden er aanbevelingen gegeven voor verder onderzoek naar dit onderwerp.

Hoofdstuk 2 Aanpak

In dit hoofdstuk wordt er beschreven hoe de aanpak van dit onderzoek eruit heeft gezien. Dit onderzoek is een literatuuronderzoek geworden om de hoofdvraag te beantwoorden. Er was dus in eerste instantie geen sprake van middelen en materialen die gefaciliteerd moesten worden. Hierdoor zal er in dit hoofdstuk worden besproken hoe er naar literatuur is gezocht.

Een literatuuronderzoek wordt uitgevoerd om zoveel mogelijke bestaande informatie over een bepaald onderwerp samen te brengen. Door het uitvoeren van literatuuronderzoek komt er naar voren wat er allemaal bekend is, maar daarbij kunnen dus ook de zaken naar voren komen die nog extra onderzocht moeten worden. Een literatuuronderzoek kan dan dienen als aanleiding voor een praktijkonderzoek, maar ook als informatiebron voorafgaand aan een praktijkonderzoek.

Om het onderzoek af te bakenen is er gebruik gemaakt van een planplaatje om alle zaken rondom het onderzoek naar voren te halen. Hierdoor is het voor de auteur visueel gemaakt hoe het onderzoek er in grote lijnen uit ging zien. In bijlage 1 is dit planplaatje te vinden. Zodra het onderwerp duidelijk was, was het belangrijk om het onderwerp te begrijpen. Om het onderwerp te begrijpen heeft de auteur zich ingelezen in (de geschiedenis van) het onderwerp. Een groot deel van die informatie is verwerkt in hoofdstuk 1. Op basis van hoofdstuk 1 is er een hoofdvraag met bijhorende deelvragen opgesteld. Deze vragen zijn beantwoord door middel van een zoekplan, dat beschreven is in paragraaf 2.1.

2.1 Zoekplan literatuuronderzoek

2.1.1 Beschikbaarheid literatuur

Vanuit Aeres Hogeschool waren er verschillende databanken ter beschikking gesteld om informatie te vinden. Deze databanken zijn Science Direct, Springer, Wiley en Green-I. Ook had de auteur toegang tot de WUR Library waar ook wat exclusievere bronnen te vinden zijn. Daarnaast is er ook altijd vrije toegang tot Google Scholar.

Ondanks de toegang tot de meerdere databanken, bestond er altijd nog een kans dat er bronnen waren waar de auteur geen toegang tot had. In de meeste gevallen waren dit soort bronnen alleen beschikbaar tegen betaling. Deze bronnen konden in dit onderzoek dus niet gebruikt worden.

2.1.2 Zoekwoorden

Het internet biedt een brede verscheidenheid aan bronnen, daarom was het belangrijk om zo efficiënt mogelijk op zoek te gaan naar bronnen die relevant waren voor dit onderzoek. In het onderzoek waren er een aantal begrippen die vaker naar zijn gekomen. Deze zogenaamde 'kernwoorden' konden gebruikt worden om te zoeken naar een specifieke bron. Deze woorden konden ingevoerd worden in de zoekbalk van een databank en daarmee werden de bronnen getoond die iets te maken hebben met dat kernwoord. De kernwoorden van dit onderzoek zijn samengevoegd in tabel 2.1.

Tabel 2.1

Kernwoorden literatuuronderzoek

Nederlands	Engels	Wetenschappelijk
Coloradokever	Colorado potato beetle	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>
Aardappel	Potato	<i>Solanum tuberosum</i>
Nachtschadefamilie	Nightshade family	<i>Solanaceae</i>
Plantenveredeling	Plant breeding	-
Resistentieveredeling	Resistance breeding	-
Resistentie bronnen	Sources of resistance	-
Wilde soorten	Wild species	-
Kruisingsbarrières	Crossing barriers/Breeding barriers	-
Resistentiemechanismen	Resistance mechanisms	-

2.1.3 Relevantie van bronnen

Om de betrouwbaarheid van de bronnen vast te kunnen stellen, waren er een aantal richtlijnen vanuit Aeres Hogeschool die aangeven hoe betrouwbaar een bron is. Met deze richtlijnen werd tijdens het onderzoek rekening gehouden. Zo zijn de zogenaamde ‘peer-reviewed’ bronnen de belangrijkste en de meest betrouwbare bronnen voor een onderzoek. In de handleiding van Aeres Hogeschool (2021, p.11) staat het volgende geciteerd:

“Als peer-reviewed bronnen gelden bijvoorbeeld:

- Artikel uit tijdschrift (refereed);
- PhD proefschrift;
- Rapport van onderzoeksinstituut, zoals bijvoorbeeld Wageningen UR of Milieudefensie (ook rapportnummer vermelden);
- Conference proceedings, paper presented at scientific conferences;
- Boek (hoofdstuk) geschreven door meerdere auteurs en voorzien van bronverwijzingen”.

Andere niet- peer-reviewed maar wel betrouwbare bronnen zijn bijvoorbeeld:

- Rapporten van erkende organisaties en instellingen zoals bijvoorbeeld WHO of FAO;
- Vaktijdschriften;
- Publicaties van overheidsinstellingen zoals bijvoorbeeld CBS of Eurostat;
- Handboeken voor methoden of technieken.”.

2.1.4 Beantwoorden van deelvragen en verwerken van bronnen

Elke deelvraag werd op dezelfde manier beantwoord, namelijk beantwoorden door middel van de informatie die er al bekend was. Er was dus geen sprake van een aparte aanpak per deelvraag. Wel verschilden de kernwoorden/zoekwoorden per deelvraag tijdens het zoeken naar geschikte informatie. Alle bronnen zijn uiteindelijk verwerkt in de literatuurlijst volgens de APA-normen. Dit geeft de auteur de mogelijkheid om de beschreven informatie te verdedigen en het geeft de lezer de mogelijkheid om de informatie te controleren.

Hoofdstuk 3 Resultaten

In dit hoofdstuk zijn de resultaten weergegeven die door middel van het literatuuronderzoek zijn verzameld. Deze resultaten zijn nodig voor het beantwoorden van de deelvragen en de hoofdvraag die geformuleerd zijn in hoofdstuk 1.

3.1 Bronnen van resistentie

Zodra het veredelingsdoel is vastgesteld, is het de volgende stap om op zoek te gaan naar bronnen die de gewenste eigenschappen bevatten. Over het algemeen kan er gekeken worden naar landrassen, commerciële rassen, mutaties, etc. Uit die genetische variatie worden uiteindelijk de beste kruisingsouders geselecteerd om toe te passen in het veredelingsprogramma.

Afhankelijk van de verscheidenheid aan geschikte kruisingsouders, kunnen er verschillende soorten kruisingen worden gemaakt:

- Intraspecifieke kruisingen. Dit zijn kruisingen tussen dezelfde soorten gewassen. In dit geval zou het dus gaan om *Solanum tuberosum* X *Solanum tuberosum*;
- Interspecifieke kruisingen. Dit zijn kruisingen tussen 2 verschillende soorten gewassen binnen hetzelfde geslacht. In dit geval zou het dus kunnen gaan om *Solanum tuberosum* X *Solanum acroglossum*;
- Intergenerische kruisingen. Dit zijn kruisingen tussen 2 planten die ieder tot een andere familie behoren. In dit geval zou het dus kunnen gaan om *Solanum tuberosum* X *Lycopersicon esculentum*.

In de literatuur worden er geen resistenties beschreven binnen de verschillende rassen in de soort *Solanum tuberosum*. Intraspecifieke kruisingen zijn daarom geen mogelijkheid voor het veredelen van de aardappel tegen de coloradokever. Resistenties tegen de coloradokever zijn gevonden in wilde soorten binnen het geslacht *Solanum* (Maharijaya & Vosman, 2015; Rondon et al., 2021).

Genetische variatie voor een aardappelveredelingsprogramma wordt meestal gezocht in de vorm van wilde soorten van de aardappel, voornamelijk als het gaat om resistentieveredeling. Deze wilde soorten zijn door middel van natuurlijke selectie overgebleven, omdat deze soorten vaak een resistentie bevatten tegen een ziekte of plaag. Tijdens expedities worden deze wilde soorten ontdekt en verzameld, meestal in het oorsprongsgebied Midden- en Zuid-Amerika (Tiemens-Hulscher et al., 2016). In deze paragraaf wordt er gekeken welke wilde *Solanum*-soorten er in de literatuur worden benoemd die een resistentie bevatten tegen de coloradokever. Deze *Solanum*-soorten zouden geschikt kunnen zijn als bron voor het inkruisen van een resistentie tegen de kever.

3.1.1 Wilde soorten met een resistentie tegen de coloradokever

Op basis van (literatuur)onderzoeken, zijn er een aantal wilde aardappelsoorten vastgesteld die beschikken over een vorm van resistentie tegen de coloradokever. In tabel 3.1 zijn deze wilde soorten weergegeven, inclusief de bronnen. Deze tabel is voor een groot deel overgenomen uit onderzoeken die in 2015 en 2021 zijn uitgevoerd. Aan deze tabel is extra informatie toegevoegd die door de auteur in andere wetenschappelijke bronnen zijn gevonden. Daarnaast is er onder de tabel nog extra nuttige informatie te vinden over andere zaken die in het onderzoek naar voren kwamen.

De informatie over ploëdie en het EBN-nummer is afkomstig uit het onderzoek van Spooner & Hijmans (2001). Het ploëdie-niveau zegt iets over het aantal sets van alle verschillende chromosomen in een cel. Vroeger werd er gedacht dat kruisingen pas konden slagen als het ploëdie-niveau van beide ouders overeenkwam. In latere onderzoeken is er gebleken dat het endosperm van de zaden toch kon ontwikkelen, ondanks het verschil in ploëdie-niveau tussen de kruisingsouders. Het slagen was namelijk afhankelijk van het zogenaamde Endosperm Balance Number (EBN). Het EBN is een nummer dat voorspelt of de ontwikkeling van het endosperm zal slagen bij interploëdie en interspecifieke kruisingen (Carputo et al., 1999).

Het ontwikkelen van het endosperm is belangrijk voor het ontwikkelen van het zaad. Het falen van de ontwikkeling van het endosperm wordt dan ook gezien als één van de belangrijkste redenen voor het falen van interploëdie en interspecifieke kruisingen. In de literatuur wordt benoemd dat wanneer het EBN van beide ouderplanten overeenkomen, de ontwikkeling van het endosperm in theorie zal slagen (Carputo et al., 1999). Het EBN van *Solanum tuberosum* is 4 (Camadro et al., 2004). Dit komt dus niet overeen met het EBN van de wilde soorten die in tabel 3.1 zijn genoteerd. Toch is het mogelijk om kruisingen te maken tussen de *Solanum tuberosum* (4EBN) en de wilde soorten (2EBN). Hoe dat kan, wordt beschreven in subparagraaf 3.3.5.

Tabel 3.1

Solanum soorten met een resistentie tegen de coloradokever ^{a, b, c}

Solanum-soort	Resistentiemechanisme	Resistentiefactor	Ploëdie-niveau	Endosperm Balance Number (EBN)	Bron
<i>S. acroglossum</i>	-	-	2X	2EBN	Pelletier et al. (2007)
<i>S. chomatophilum</i>	-	-	-	-	Pelletier et al. (2007)
<i>S. paucisectum</i>	-	-	2X	2EBN	Pelletier et al. (2007)
<i>S. piurae</i>	-	-	2X	2EBN	Pelletier et al. (2007)
<i>S. tarnii</i>	-	-	2X	-	Pelletier et al. (2007)
<i>S. pinnatisectum</i>	Antixenose	-	2X	2EBN	Chen et al. (2003); Pelletier et al. (1999); Pelletier & Tai (2001)
<i>S. tarijense</i>	Antibiose/antixenose	Trichomen en vluchtige stoffen op de trichomen	2X	2EBN	Pelletier et al. (1999); Pelletier & Tai (2001); Pelletier et al. (2001); Pelletier & Dutheil (2006); Fréchette et al. (2010)
<i>S. polyadenium</i>	Antixenose/Antibiose	Trichomen	2X	-	Pelletier et al. (1999); Pelletier & Tai (2001); Fréchette et al. (2010)
<i>S. okadae</i>	Antibiose	Glycoalkaloïde/Tomatine	2X	-	Pelletier et al. (2001)
<i>S. oplocense</i>	-	-	2X 4X 6X	2EBN 4EBN 6EBN	Pelletier et al. (2001)
<i>S. capsicibaccatum</i>	Antixenose	-	-	-	Pelletier et al. (1999); Pelletier & Tai (2001)
<i>S. jamesii</i>	Antixenose/antibiose	-	2X	1EBN	Pelletier et al. (1999); Pelletier & Tai (2001)
<i>S. trifidum</i>	Antibiose/antixenose	Giftige stoffen	2X	1EBN	Sikinyi et al. (1997); Pelletier et al. (1999); Pelletier & Tai (2001)
<i>S. neocardenasii</i>	Antibiose	Glycoalkaloïde/Tomatine. Glandulaire trichomen	2X	-	Dimock et al. (1986)
<i>S. berthaultii</i>	Antixenose/antibiose	Glandulaire trichomen Methyleenchloride	2X	2EBN	Pelletier et al. (1999); Pelletier & Tai (2001) Yencho et al. (1994)
<i>S. chacoense</i>	Antibiose	Glycoalkaloïde/Leptine	2X	2EBN	Sanford et al. (1996); Yencho et al. (2000); Hutvánger et al. (2001); Sagredo et al. (2009); Mweetwa et al. (2012)
<i>S. immite</i>	-	-	2X	1EBN	Jansky et al. (2009)
<i>S. albornozii</i>	-	-	2X	2EBN	Jansky et al. (2009)
<i>S. commersonii</i>	-	-	2X	1EBN	Jansky et al. (2009)

^aMaharijaya & Vosman (2015). ^bRondon et al. (2021). ^cSpooner & Hijmans (2001).

Opmerkingen per onderzoek die van belang (kunnen) zijn voor het kiezen van een ouderplant:

- In een onderzoek van Pelletier et al. (2007) is er vastgesteld dat voor de soorten *Solanum acroglossum*, *S. piurae*, *S. chomatophilum*, *S. paucisectum* en *S. tarnii* er geen significante genetische verschillen zijn wat betreft het resistentieniveau binnen één van de getoetste accessies (plantmateriaal);
- In een onderzoek van Chen et al. (2003) is er vastgesteld dat ook *Solanum bulbocastanum* wordt genoemd als een wilde soort met een lichte vorm van resistentie. De reden waarom deze niet in de tabel verschijnt, is omdat deze soort niet in de conclusie wordt benoemd. Waarschijnlijk omdat het resistentieniveau toch te laag is;
- In een onderzoek van Pelletier & Tai (2001) is er vastgesteld dat voor de soorten *Solanum berthaultii*, *S. capsicibaccatum*, *S. jamesii*, *S. pinnatisectum*, *S. polyadenium*, *S. tarijense* en *S. trifidum* er geen significante verschillen zijn wat betreft het resistentieniveau binnen één van de getoetste accessies;
- In een onderzoek van Pelletier et al. (2001) wordt benoemd dat niet alle accessies van *Solanum okadae* en *S. oplocense* een resistentie bevatten. De accessies van deze 2 soorten die in dit onderzoek worden getoetst, beschikken wel over een resistentie tegen de coloradokever;
- In het onderzoek van Hutmájer et al. (2001) is er gebruik gemaakt van 2 verschillende accessies van *Solanum chacoense*. In dit onderzoek is vastgesteld dat PI 320294 lage concentraties aan leptine produceert en dat PI 320287 de accessie is die hoge leptine concentraties produceert;
- In het onderzoek van Jansky et al. (2009) wordt benoemd dat *Solanum immite* wel een wilde soort is met een resistentie tegen de coloradokever. In andere bronnen wordt benoemd dat *S. immite* niet over een resistentie tegen de kever beschikt. Zoals Jansky et al. (2009) benoemd, ligt dit waarschijnlijk aan resistentieverschillen onder de verschillende accessies. Welke accessie van *S. immite* (en ook de andere soorten) in het onderzoek van Jansky et al. (2009) is getoetst, is niet bekend.

In bijlage 2 is er weergegeven welke accessienummers er gebruikt zijn in de verschillende onderzoeken. Ook is er in deze bijlage benoemd waar de accessies vandaan komen, waardoor de veredelaar weet bij welke databanken het plantmateriaal te verkrijgen is.

3.2 Resistentiemechanismen

Zoals in tabel 3.1 te zien is, zijn de mechanismen en factoren die zorgen voor een resistentie tegen de coloradokever uiteenlopend. Deze mechanismen en factoren zorgen ervoor dat de coloradokever op een bepaalde manier geen voeding kan verkrijgen en zich dus niet zal ontwikkelen en/of voortplanten. De mechanismen kunnen ingedeeld worden in 2 groepen, namelijk antibiose en antixenose (Pelletier et al. 2011). Wat betreft de mechanismen en de levenscyclus:

- Antixenose is een vorm van resistentie waarbij de kenmerken van een waardplant ervoor zorgen dat een insect geen interesse meer heeft om zich daarop voort te planten of zich ermee te voeden. Antixenose remt kolonisatie, wat normaal gesproken door volwassen insecten wordt uitgevoerd die zich voeden met loof voordat er eieren worden gelegd;
- Antibiose is een vorm van resistentie waarbij de waardplant ervoor zorgt dat ontwikkeling en reproductie van het insect nadelig wordt beïnvloed. Antibiose zorgt eerder voor een afname van larven in een later stadium (L3 en L4), dan voor een afname van eieren of larven in een vroeg stadium (L1 en L2) (Pelletier et al., 2011; Pelletier & Tai, 2001).

Het onderscheiden van deze 2 mechanismen is erg moeilijk, omdat beide mechanismen kunnen bestaan uit chemische stoffen waarvan de identiteit niet vastgesteld is. Daarnaast speelt de variatie van het uitvoeren van de onderzoeken ook een rol, waardoor het lastiger vast te stellen is of dat de reden is voor de verschillende resultaten. Het ene onderzoek laat meer een verloop van antibiose zien en het andere onderzoek juist een verloop van antixenose. Daarnaast is het ook mogelijk dat beide mechanismen voorkomen (Pelletier et al., 2013). De mechanismen geven niet zozeer weer hoe (schade door) de coloradokever geweerd wordt. Resistentiefactoren zijn de planteigenschappen die zorgen voor de daadwerkelijke wering. De resistentiefactoren die in *Solanum*-soorten voor een resistentie tegen de coloradokever zorgen, zijn glycoalkaloïden en glandulaire trichomen. Deze 2 factoren worden in de volgende subparagrafen verder toegelicht.

3.2.1 Glycoalkaloïden

Glycoalkaloïden zijn giftige organische verbindingen die gevonden worden in *Solanum*-soorten. Een wel bekende glycoalkaloïde is solanine. Solanine wordt geproduceerd wanneer er stress optreedt bij aardappels, zoals blootstelling aan licht of mechanische schade. Solanine kan in hoge concentraties giftig zijn voor de mens. Symptomen zoals misselijkheid, braken en verwardheid kunnen optreden bij een te hoge inname aan solanine (Nijkamp et al., 2017). Solanine wordt niet in verband gebracht met een resistentie tegen de coloradokever. In mindere mate zijn andere glycoalkaloïden toxisch voor insecten, ook voor de coloradokever. Glycoalkaloïden kunnen zorgen voor een ongewenste smaak van de gastheerplant, voor sterfte van insecten of voor afwijkingen van de nakomelingen (Flanders et al., 1992). In tabel 3.1 zijn er 3 wilde aardappelsoorten benoemd die beschikken over mogelijkheid tot de productie van glycoalkaloïden die zorgen voor een resistentie tegen de coloradokever. *Solanum okadae* en *S. neocardenasii* produceren tomatine als glycoalkaloïde. Tomatine zorgt ervoor dat vraat door volwassen kevers afneemt en dat de ontwikkeling van larven geremd wordt. Daarnaast zijn er nog een aantal andere glycoalkaloïden die in mindere mate voorkomen, maar die ook zorgen voor een resistentie tegen de coloradokever (Pelletier et al., 2013).

Veredelingsprogramma's waarbij er gefocust wordt op (een verhoogde) productie van glycoalkaloïden worden eigenlijk niet meer uitgevoerd, omdat de concentratie glycoalkaloïde in het blad sterk is gecorreleerd met de concentratie in de knol. Een hoge concentratie glycoalkaloïde in de knol is een ongewenste eigenschap, waardoor deze knollen niet op de markt zullen komen. Toch is er één uitzondering, namelijk de groep glycoalkaloïden genaamd leptine. Leptine zorgt voor een verhoogd sterfteaantal van de larven, de ontwikkeling van de larven wordt geremd, vraat door volwassen kevers wordt verminderd en er kunnen minder eieren gelegd worden. Daarnaast is er het voordeel dat leptine alleen geproduceerd wordt in de bladeren en niet in de knol (Pelletier et al., 2011; Pelletier et al., 2013).

3.2.2 Glandulaire trichomen

Trichomen zijn uitgroeisels die groeien op de opperhuid van de plant. In figuur 3.1 is er een foto te zien van trichomen op wilde tomatensoorten. Trichomen kunnen bij de wilde aardappelsoorten in 3 varianten voorkomen:

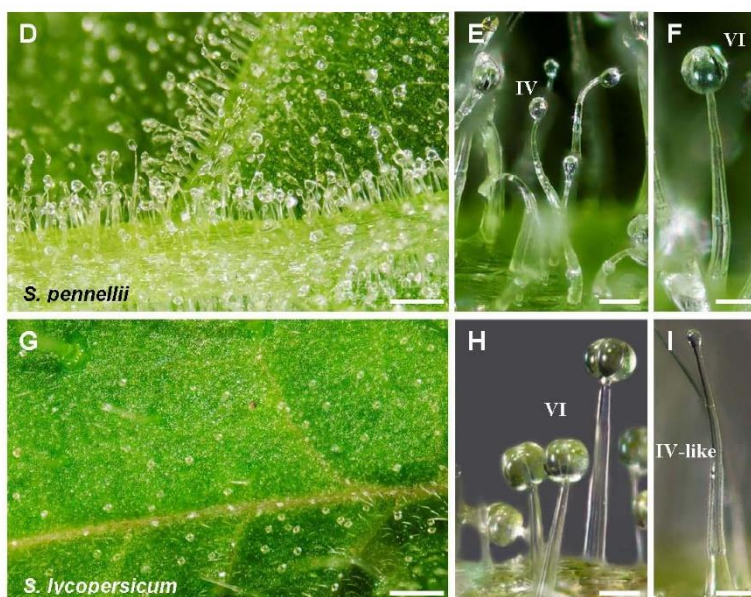
- De lange non-glandulaire haren;
- De A glandulaire trichomen met fenolische verbindingen;
- De B glandulaire trichomen die sucrose-esters uitscheiden.

Deze 3 groepen kunnen samen voorkomen op het blad, maar ook apart (Pelletier et al., 2013). Zoals in tabel 3.1 te zien is, zijn er 4 wilde aardappelsoorten die beschikken over trichomen. Dit zijn *Solanum berthaultii*, *S. tarijense*, *S. polyadenium* en *S. neocardenasii*. De meeste onderzoeken zijn uitgevoerd met *S. berthaultii*. Deze wilde soort lijkt ook de meest succesvolle soort wat betreft resistentie tegen de coloradokever door middel van trichomen. Resistentie tegen de coloradokever wordt voornamelijk gelinkt aan de A en B glandulaire trichomen. Wanneer beide soorten trichomen aanwezig zijn, dan is de resistentie ook groter. De resistentie is gebaseerd op mechanische en chemische bescherming van de plant. Wanneer het insect op het blad terecht komt, dan produceren de B-type trichomen exudaten die ervoor zorgen dat het insect vast blijft plakken aan het blad. Het insect probeert te ontsnappen en zorgt ervoor dat de toppen van de trichomen afbreken. Hierdoor ontstaat er een chemisch proces samen met de fenolische verbindingen van de A-type trichomen, wat zorgt voor een nieuw exudaat. Dit exudaat zorgt ervoor dat het insect nog meer aan het blad blijft plakken en dat de monddelen dichtgeplakt worden. Hierdoor wordt de mobiliteit van het insect beperkt, waardoor het uiteindelijk zal sterven (Flanders et al., 1992; Pelletier et al., 2013; Rondon et al., 2021).

Het voordeel van deze resistentiefactor is dat het ook effect heeft op andere plaaginsecten, zoals bladluizen. Toch zijn er ook een aantal nadelen aan deze resistentiefactor. De trichomen zijn niet aanwezig op bloemen, stof kan de trichomen bedekken en naast insectenplagen kunnen ook de natuurlijke vijanden aangetast worden (Flanders et al., 1992; Pelletier et al., 2013). Toch benoemd de literatuur, ondanks deze genoemde nadelen, dat trichomen als resistentiefactor een goede optie is als resistentie tegen de coloradokever in aardappels.

Figuur 3.1

Glandulaire trichomen op wilde tomatensoorten



Opmerking. Overgenomen uit "Plant Glandular Trichomes as Targets for Breeding or Engineering of Resistance to Herbivores" door J. Glas et al., 2012, *International Journal of Molecular Sciences*, 13, p. 17080. Copyright 2012, Glas et al.

3.2.3 Duurzaamheid van de resistentie

Zoals in hoofdstuk 1 is benoemd, beschikt de coloradokever over een groot aanpassingsvermogen. Zo is de voorkeur voor de waardplant al veranderd van *Solanum rostratum* naar *S. tuberosum*. De kever kan een resistentie ontwikkelen tegen insecticiden. Daarnaast heeft de kever door de klimaatverandering een grotere kans om sneller te reproduceren. Door het aanpassingsvermogen en de reproductiesnelheid, is het natuurlijk ook de vraag of de kever zich niet te snel kan aanpassen waardoor een plantenresistentie toch overwonnen kan worden.

Resistenties kunnen onderling verschillen van elkaar. Het verschil is voor een groot deel gebaseerd op het aantal genen die er betrokken zijn bij de resistentie. Zo kan een resistentie een overgevoelighedsreactie zijn, waarbij de plant zorgt voor afsterving van het plantenweefsel. Deze resistentievorm is vaak pathogeen-specifiek en de resistentie berust zich op één gen, waardoor het relatief makkelijk in te kruisen is. De andere vorm van resistentie is partiële resistentie. Deze resistentievorm heeft vaak effect op meerdere pathogenen en de resistentie berust zich op meerdere genen. Doordat partiële resistenties gebaseerd zijn op meerdere genen, is het moeilijk om deze resistentievorm te doorbreken. Deze vorm wordt dan ook beschouwd als een duurzame vorm van resistentie. Hierdoor is partiële resistentie een populaire resistentievorm bij het veredelen van planten tegen insecten (Niks et al., 2019).

Zowel voor de trichomen van *Solanum berthaultii*, als voor de glycoalkaloïden van *S. chacoense* is het vastgesteld dat deze factoren gebaseerd zijn op meerdere genen (Rondon et al., 2021; Ronning et al., 1998; Vallejo et al., 1994). Oftewel, deze twee *Solanum*-soorten zijn partieel resistent tegen de coloradokever. Wanneer deze genen ingekruist kunnen worden in *Solanum tuberosum*, dan ontstaat er in theorie ook een aardappelras met een partiële resistentie tegen de coloradokever.

3.2.4 Welke resistentiefactor?

Zoals in vorige subparagrafen beschreven is, zijn er meerdere vormen van resistenties. Glycoalkaloïden en trichomen zijn de 2 resistentiefactoren die dienen als een resistentie tegen de coloradokever in *Solanum*-soorten. Het is uiteindelijk aan de veredelaar om te kiezen welke soort er gekozen wordt om aan het veredelingsprogramma toe te voegen. In tabel 3.1 is er ook te zien dat er over de wilde soorten, weinig bekend is wat betreft de resistenties. Bronnen bevestigen ook dat er nog weinig bekend is over de resistentiemechanismen en -factoren rondom resistenties tegen de coloradokever in *Solanum*-soorten (Pelletier et al., 2013; Rondon et al., 2021). Toch zijn er 2 wilde soorten die een goede optie zijn voor in een veredelingsprogramma tegen de coloradokever. De vorige subparagrafen geven aan dat wanneer er gekozen wordt voor glycoalkaloïden als resistentiefactor, dat *Solanum chacoense* de meest geschikte optie is. Dit is, voor er zover bekend is, de enige wilde soort waarbij er geen glycoalkaloïden in de knol worden geproduceerd. Dit is een belangrijke voorwaarde. Wanneer er gekozen wordt voor trichomen als resistentiefactor, wordt *Solanum berthaultii* aangewezen als de soort met de krachtigste resistentie. Dit zijn de 2 soorten waarmee de meeste onderzoeken zijn uitgevoerd. Daarnaast zijn de resistenties in deze 2 soorten gebaseerd op meerdere genen, waardoor de resistentie moeilijker te doorbreken is. Niet alleen de resistentiefactor is van belang voor het kiezen van een wilde soort, maar ook het gemak rondom het kruisen van de wilde *Solanum*-soort met *Solanum tuberosum* kan doorslaggevend zijn. In de volgende paragrafen worden de obstakels benoemd die voor kunnen komen bij het kruisen van wilde *Solanum*-soorten met *Solanum tuberosum*.

3.3 Kruisingsproces

Wanneer de juiste kruisingsouders gevonden zijn, is het aan de veredelaar de taak om kruisingen te gaan maken. Toch kunnen er een aantal problemen ontstaan bij het kruisen van *Solanum tuberosum* met wilde *Solanum*-soorten. Dit worden kruisingsbarrières genoemd. Aangezien dit een literatuuronderzoek is, met een praktische inslag, is het voor de veredelaar ook van belang om een duidelijk beeld te hebben van het kruisingsproces. In deze paragraaf wordt er eerst beschreven hoe de aardappels gekruist moeten worden en hoe het bevruchtingsproces eruitziet. Hierop volgen de kruisingsbarrières die er binnen de aardappelveredeling voorkomen.

Als eerste is het belangrijk om de aardappelplanten in bloei te laten komen. Om de planten de juiste omgeving te geven, worden de planten meestal tot bloei gebracht in de kas. De knollen van de ouderplanten kunnen gepoot worden in de vollegrond. Om bodemgebonden ziektes te voorkomen, kunnen de aardappels ook gepoot worden in potten met potgrond. In de potgrond wordt een baksteen gelegd met daarboven op de knol en de knol wordt uiteindelijk afgedekt met grond. De steen moet ervoor zorgen dat er zo min mogelijk knollen worden geproduceerd, aangezien dit ten koste gaat van de energie die nodig is voor het produceren van bloemen. Wanneer er toch knollen gevormd worden, dan kunnen deze verwijderd worden. Zodra de eerste stengels naar boven komen en deze de hoogte in gaan groeien, dan is het van belang om een stok in de grond te steken. Deze stok geeft de mogelijkheid om de planten op te binden, waardoor de stengels niet zullen gaan hangen. Ook moeten de potten ruim uit elkaar gezet worden. Dit is belangrijk voor het vormen van bloemen en het voorkomt natuurlijk dat de planten die naast elkaar staan, elkaar niet zomaar bestuiven. Zodra de eerste planten in bloei staan, dan kunnen de eerste kruisingen gemaakt worden. De aardappel kan zichzelf bestuiven, oftewel de aardappel is zelfcompatibel. Om ervoor te zorgen dat er kruisingen gemaakt kunnen worden met een andere plant, is het van belang dat de mannelijke delen van de moederplant verwijderd worden. In de veredeling wordt dit emasculeren genoemd. Hierbij worden de meeldraden door middel van een pincet van de plant geplukt. Het emasculeren moet zeer secuur uitgevoerd worden, omdat de stamper gemakkelijk afbreekt. De stamper is het vrouwelijke deel van de plant dat belangrijk is voor het ontvangen van stuifmeel/pollen voor de bevruchting (Tiemens-Hulscher et al., 2016).

Voor het maken van kruisingen tussen 2 planten, is het winnen van stuifmeel van de vaderplant de volgende stap. Stuifmeel kan gewonnen worden door het stuifmeel van de bloem af te kloppen. Dit kan met de hand, maar ook met een trilapparaat. Het stuifmeel wordt meestal opgevangen op een glaasje. Het is belangrijk om bij het wisselen van de vaderplanten, de materialen weer schoon te maken. Stuifmeel kan bewaard worden. Het stuifmeel moet na het winnen een nacht drogen en dan kan het in kleine buisjes/epjes bewaard worden in de vriezer. Bij -20 °C, kan het stuifmeel 1 tot 3 jaar bewaard blijven. Het stuifmeel kan ook gelijk gebruikt worden voor het maken van kruisingen. Voor het vangen van stuifmeel en het bestuiven van de stamper, wordt er de voorkeur gegeven aan de ochtend bij een koele temperatuur. De bloemen staan dan nog open en de vaderplant kan ook gemakkelijker het stuifmeel loslaten. Het stuifmeel wordt aangebracht op de stamper van de bloemen van de moederplant. Niet alle bestuivingen zullen slagen, dus het is verstandig om per bloementros meerdere bloemen te bestuiven met hetzelfde stuifmeel. De bestoven bloemen worden gemarkeerd met een label en een code waardoor de kruising herkend kan worden (Tiemens-Hulscher et al., 2016).

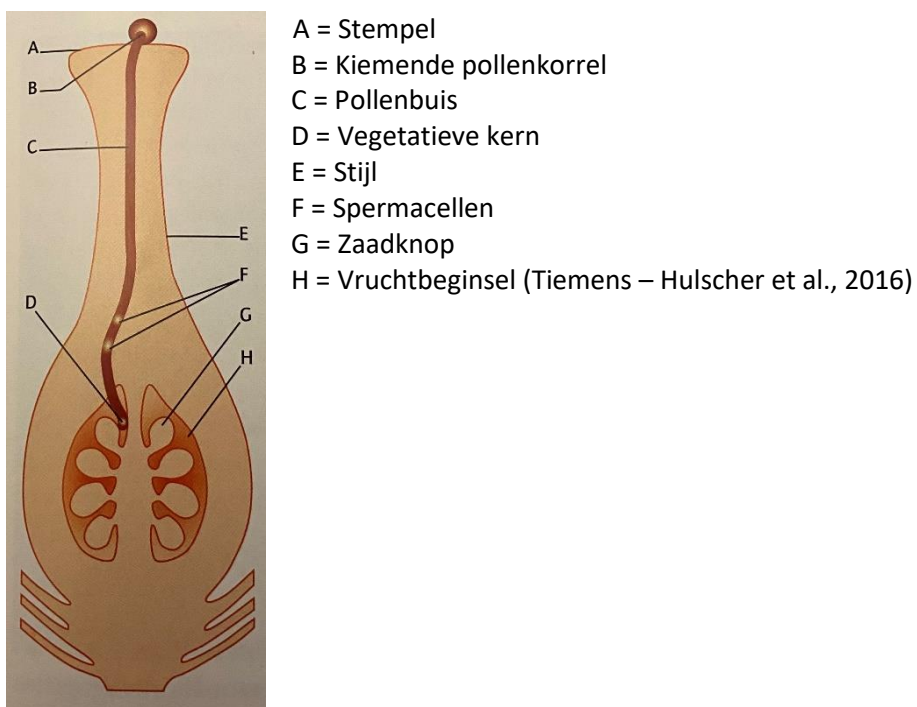
Na het kruisen zullen de bloemen bessen vormen die het zaad bevatten. Deze bessen kunnen ongeveer 6 weken na de bestuiving verzameld worden. Rotten bessen zijn niet geschikt. Om het zaad te winnen worden de bessen uitgeknepen in een kom met water. De zaden zakken naar de bodem. De resten, zoals vruchtvlees, worden verwijderd door het water steeds af te schenken, waardoor de zaden zullen overblijven. Uiteindelijk worden de zaden 2 dagen gedroogd op filterpapier. De zaden kunnen bewaard in de koelkast worden, waardoor deze wel 10 jaar kiemkracht kunnen behouden (Tiemens-Hulscher et al., 2016).

3.3.1 Bevruchtingsproces

In figuur 3.2 zijn de onderdelen van de plant benoemd die van belang zijn voor het bevruchtingsproces. Boven op de stamper van een bloem bevindt zich een stempel. De stempel is een plakkerig onderdeel die ervoor zorgt dat het stuifmeel wordt opgenomen. Bij aardappel kan er zowel zelfbestuiving, als kruisbestuiving plaatsvinden. Bij zelfbestuiving komt het helmhokje (waar de pollen geproduceerd worden) van de meeldraden tegen de stempel aan. Bij kruisbestuiving worden de pollen overgebracht door wind, insect of mens. Wanneer de stempel rijp genoeg is, dan vindt er een herkenning plaats en kunnen de pollen gaan kiemen. Zodra de pollen gaan kiemen, dan wordt er een pollenbuis gevormd die door de stijl naar onderen loopt tot aan het vruchtbeginsel. Dit gebeurt onder de leiding van een vegetatieve cel ($2n$) waar de pollenkorrel over beschikt. De pollenkorrel beschikt ook over een zogenaamde generatieve cel (n) die zich voor de bevruchting in tweeën deelt. Deze cellen moeten beschouwd worden als de spermacellen. In het vruchtbeginsel liggen zaadknoppen waar zich een embryozak in bevindt. De embryozak bestaat uit een eicel (n), 2 synergiden en een centrale cel. De pollenbuis, die op een gegeven moment de embryozak is bereikt, zal ervoor zorgen dat één van de synergiden openbreekt. Hierdoor komt de eicel vrij, waardoor deze bevrucht zal worden door één van de spermacellen. Uit deze gevormde zygote ($2n$), zal later een embryo groeien. De centrale cel zal bevrucht worden door de andere gevormde spermacel. Hierdoor ontstaat er een endosperm ($3n$), dat zal dienen als voeding voor het embryo. De droge zaadknop zal later het zaad vormen. Het zaad bestaat uiteindelijk uit een endosperm en een embryo omhuld door een zaadhuid (Tiemens-Hulscher et al., 2016). Rondom het proces van bevruchting van de aardappel kunnen er een aantal barrières voorkomen die de bevruchting verstoort. Deze barrières worden benoemd in subparagraaf 3.3.3 en 3.3.4.

Figuur 3.2

Bevruchtingsproces



Opmerking. Overgenomen uit *Aardappelweekboek – Praktijkhandboek voor de aardappelketen* (p. 89) door Tiemens – Hulscher et al., 2016, Aardappelwereld BV. Copyright 2016, Aardappelwereld BV.

3.3.2 Kruisingen met wilde soorten

Zodra er sprake is van het veredelen van cultuurgewassen samen met wilde soorten om bepaalde eigenschappen in te kruisen, dan noemt men dat introgressieveredeling. Introgressieveredeling wordt over het algemeen gezien als een moeilijk proces, aangezien wilde soorten ook eigenschappen kunnen dragen die niet gewenst zijn in het cultuurgewas. Dit wordt ook wel linkage drag genoemd. Zodra de wilde soort met het cultuurgewas, in dit geval *Solanum tuberosum*, is gekruist dan bestaan de genen van de nakomelingen (F1) voor 50% uit de genen van de wilde soort. Een groot deel daarvan zijn de ongewenste eigenschappen en dat betekent dat dit percentage verlaagd moet worden waarbij de gewenste eigenschap van de wilde soort in de nakomelingen overblijft (Tiemens-Hulscher et al., 2016).

Om dit percentage te verlagen, kan de veredelaar gebruik maken van zogenaamde terugkruisingen. Hierbij wordt de F1-hybride weer gekruist met het cultuurgewas. Dit wordt over een aantal jaren herhaald, waardoor het percentage wilde genen verminderd. In tabel 3.2 is het proces van terugkruisen weergegeven. Hierin zijn de verschillende generaties terugkruisingen weergegeven van de nakomelingen en het cultuurgewas. In de tabel is te zien dat na elke kruising, het percentage wilde genen afneemt. BC staat voor backcross, oftewel terugkruising. Na een aantal keer terugkruisen moet er een commerciële kruising ontstaan, die voornamelijk bestaat uit de gewenste landbouwkundige eigenschappen uit het oorspronkelijke cultuurgewas en de eigenschap uit de wilde soort die gewenst is voor het nieuwe ras. Wel moet erbij vermeld worden dat er niet elk jaar een terugkruising gemaakt kan worden. Er moeten namelijk een aantal jaren tussen zitten om de veredelaar de mogelijkheid te geven om de nakomelingen te beoordelen en te selecteren op landbouwkundige eigenschappen. Daarnaast moet er ook gekeken worden of de gewenste genen van de wilde soorten overblijven in de (terug)kruisingen. Zoals in de inleiding is benoemd, zullen er steeds meer genotypen in het veredelingsprogramma er uitgeselecteerd worden. Minder genotypen betekent ook dat de genotypen die overblijven op grotere schaal getoetst kunnen worden. Hierdoor krijgt de veredelaar een nog beter inzicht in de landbouwkundige prestaties (Tiemens-Hulscher et al., 2016).

Tabel 3.2

Percentage wilde genen in terugkruisinggeneraties

Generatie	% wilde genen
F1	50
BC 1	25
BC 2	12,5
BC 3	6,25
BC 4	3,125
Commerciële kruising	1,5675

Opmerking. Overgenomen uit Aardappelweekboek – Praktijkhandboek voor de aardappelketen (p. 91) door Tiemens – Hulscher et al., 2016, Aardappelwereld BV. Copyright 2016, Aardappelwereld BV.

3.3.3 Externe kruisingsbarrières

Externe kruisingsbarrières zijn de barrières die draaien om de bloei van de plant. Wanneer de planten niet tot bloei komen, is het ook niet mogelijk om stuifmeel van de mannelijke planten te vangen en de vrouwelijke planten te bevruchten. Problemen die zich voordoen zijn verschil in bloeitijd, verminderde bloei, etc. Deze barrières zijn vrij eenvoudig op te lossen. Door in een kas te werken, kan het klimaat aangepast worden naar de wens van de planten. Bij de aardappel, spelen de volgende externe kruisingsbarrières een rol:

- Problemen met bloei-inductie worden voornamelijk verholpen door ouderdomsprocessen in werking te stellen, zoals temperatuur en daglengte aan te passen naar wens van de plant;
- Ongelijke bloei kan ontweken worden door de ouderplanten elk op een ander moment te zaaien of te poten, waardoor deze tegelijkertijd in bloei komen. Wanneer de vaderplant eerder in bloei komt dan de moederplant, dan is het ook nog mogelijk om het stuifmeel droog en donker te bewaren om op een later moment te gebruiken;
- Problemen die ontstaan doordat de planten te weinig bloemen produceren, kan ook afhankelijk zijn van de energieverdeling in de plant. Voor alle processen in de plant is er energie nodig, dus ook voor het ontwikkelen van bloemen. Een veredelaar kan ervoor zorgen dat bepaalde ontwikkelingen geremd/gestopt worden, waardoor er meer energie overblijft. De meest bekende manier daarvoor is, om ontwikkelde stolonen te verwijderen waardoor de knolgroei wordt gestopt (Tiemens-Hulscher et al., 2016).

3.3.4 Interne kruisingsbarrières

Bij het falen van interspecifieke kruisingen, ligt er in de meeste gevallen een interne kruisingsbarrière ten grondslag. Interne kruisingsbarrières zijn barrières die zich voordoen rondom de bestuiving, bevruchting of zaadvorming. Bij de aardappel, spelen de volgende interne kruisingsbarrières een rol:

1. Interactie tussen stamper en stuifmeel.

Dit is een kruisingsbarrière waarbij er geen samensmelting kan plaatsvinden tussen de geslachtscellen. Dit komt omdat de zogenaamde herkenning, zoals in subparagraaf 3.3.1 is beschreven, niet kan plaatsvinden. Hierdoor valt deze kruisingsbarrière onder de prezygotische barrières. Het falen van de interactie tussen stamper en stuifmeel kan weer in 2 groepen worden ingedeeld. De eerste is incompatibiliteit, waarbij er geen kieming van de pollen plaats kan vinden omdat de genetische informatie van beide ouderplanten te dicht bij elkaar ligt. De tweede groep wordt incongruentie genoemd, waarbij er geen kieming van de pollen plaats kan vinden omdat de genetische informatie van beide ouderplanten te ver uit elkaar ligt. In diploïde *Solanum*-soorten is er voornamelijk sprake van incompatibiliteit (Camadro et al., 2004; Tiemens-Hulscher et al., 2016).

2. Mannelijke steriliteit.

Mannelijke steriliteit is een prezygotische barrière die een rol speelt rondom de mannelijke delen van de plant. Deze barrière uit zich in het falen van de mannelijke delen, zoals pollen of helmknoppen. De originele plant kan van zichzelf mannelijke steriel zijn, maar steriliteit kan ook optreden na een kruising. Bij de kruising ontstaat er dan een fout tussen het cytoplasma van de moederplant en de celkern van de vaderplant. Om nakomelingen te krijgen, is de bijdrage van de mannelijke plant wel noodzakelijk. Deze kruisingsbarrière zorgt er dus voor dat er geen kruising meer mogelijk is met de steriele plant. Hierdoor kan het veredelingsprogramma niet voortgezet worden met deze plant als ouderplant (Camadro et al., 2004; Tiemens-Hulscher et al., 2016).

3. Embryo-abortie/endosperm falen.

Embryo-abortie vindt plaats door een fout in de ontwikkeling van het endosperm. Het endosperm is een belangrijk onderdeel voor het produceren van zaad. Wanneer de ontwikkeling van het endosperm faalt, dan zal ook de productie van het zaad, en dus ook de nakomelingen falen. Embryo-abortie/endosperm falen wordt dan ook gezien als een post-zygotische barrière, aangezien het probleem zich pas afspeelt na de bevruchting. Zoals in subparagraaf 3.1.1 is benoemd, is het EBN een belangrijk nummer dat aangeeft of de ontwikkeling van het endosperm, en dus het ontwikkelen van zaad, succesvol kan zijn. In theorie is het zo dat wanneer het EBN van de ouderplanten gelijk zijn aan elkaar, het endosperm zich normaal zal ontwikkelen. Daarnaast wordt er ook de voorkeur gegeven aan ouderplanten die overeenkomen wat betreft ploïdie. Alleen komen het ploïdie-niveau en het EBN van de meeste wilde soorten niet overeen met *Solanum tuberosum* (4EBN). Hierdoor zal er een tussenstap gemaakt moeten worden om ervoor te zorgen dat het EBN en het ploïdie-niveau van beide ouderplanten gelijk zijn aan elkaar (Camadro et al., 2004; Carputo et al., 1999; Tiemens-Hulscher et al., 2016).

3.3.5 Overwinnen interne kruisingsbarrières

Om interne kruisingsbarrières in planten te overwinnen zijn er meerdere mogelijkheden beschikbaar. Deze verschillen ook sterk in kosten en in gemak. Voor de aardappel zijn er een paar specifieke mogelijkheden die het meest worden toegepast. Deze mogelijkheden zullen hierbeneden in willekeurige volgorde worden benoemd. Al deze mogelijkheden vallen niet onder genetische modificatie. De technieken voor genetische modificatie worden in dit geval buiten beschouwing gelaten, omdat het telen van genetische gemodificeerde gewassen in Europa niet is toegestaan (Rijksdienst voor Ondernemend Nederland, 2019).

1. Reciproke kruisingen.

Het maken van reciproke kruisingen is misschien wel de gemakkelijkste manier om een kruisingsbarrière te overkomen. Met reciproke kruisingen, wordt bedoeld dat beide ouderplanten een keer als vaderplant en een keer als moederplant worden gebruikt. Deze techniek kan helpen bij het overkomen van de barrière tussen de stamper en het stuifmeel. Het kan namelijk zijn dat de oorspronkelijke moederplant het stuifmeel van de vader niet kan ontvangen, maar andersom wel. Daarnaast kunnen reciproke kruisingen een oplossing bieden bij mannelijke steriliteit. Hierbij worden de mannelijke steriele planten gebruikt als de moederplant. De moederplant heeft de mannelijke delen niet nodig en het stuifmeel komt dan van de andere plant die als vaderplant zal dienen (Jansky, 2006; Tiemens-Hulscher et al., 2016). Een ander voordeel van reciproke kruisingen (dat in een ander gewas is bewezen) is het voorkomen van steriele nakomelingen. Zo zijn er in onderzoeken binnen uienveredelingsprogramma's ook reciproke kruisingen gemaakt tussen *Allium cepa* en *A. fistulosum*. Hieruit is gebleken dat wanneer *A. fistulosum* als moederplant werd gebruikt, dat alle nakomelingen steriel waren. Wanneer *A. cepa* als moederplant werd gebruikt, dan kunnen er wel een aantal vruchtbare nakomelingen ontstaan (Pathak et al., 2001).

2. Brugkruisingen.

Het komt soms voor dat kruisingen tussen 2 soorten (A en B) niet direct kunnen plaatsvinden. Soms kan een extra kruising met een andere soort (C) een tussenstap bieden om uiteindelijk de 2 oorspronkelijke soorten te laten kruisen. A wordt dan eerst met C gekruist. De nakomelingen die hieruit ontstaan worden dan weer gekruist met soort B. Deze tussenstap wordt een brugkruising genoemd. Deze methode kan gebruikt worden wanneer er problemen ontstaan wat betreft het ploïdie-niveau en het EBN. De brugkruisingen kunnen ervoor zorgen dat het ploïdie-niveau en het EBN veranderen in de nakomelingen ten opzichte van de ouders. Deze verandering kan ervoor zorgen dat de volgende kruisingen wel zullen slagen, omdat het ploïdie-niveau en het EBN nu wel overeenkomt met soort B. Daarnaast kan de methode ook gebruikt worden bij problemen tussen de interactie van de stamper en het stuifmeel (Jansky, 2006; Tiemens-Hulscher et al., 2016; Van de Wiel, 2010).

3. Dubbele bestuiving en embryo rescue.

Zoals is beschreven, kunnen de embryo's die na de bevruchting ontstaan, afgebroken worden. Om ervoor te zorgen dat het zaad gered kan worden, kan er een dubbele bestuiving in combinatie met embryo rescue uitgevoerd worden. Dubbele bestuiving betekent dat de moederplant op 2 momenten bestoven wordt. Als eerste wordt de moederplant bestoven met de vaderplant die gekozen is als ouderplant. Een dag na deze bestuiving, vindt er nog een bestuiving plaats met *Solanum phureja*. Deze extra bestuiving zorgt voor een stimulans om een embryo te produceren uit de eerste kruising, waarbij de 2 soorten normaal gesproken incompatibel zijn (Jansky, 2006; Van de Wiel, 2010). Na ongeveer 14 tot 27 dagen kunnen de ontwikkelde bessen worden verzameld. De bessen worden opengesneden en de embryo's worden verwijderd.

Embryo rescue is een techniek die bij meerdere gewassen wordt gebruikt om embryo's te redden van het afbreken of om bepaalde planten in stand te houden. Bij embryo rescue worden de embryo's uit de plant verwijderd en in-vitro op medium gehouden. Het embryo krijgt op het medium de kans om uit te groeien tot (een kleine) plant. Iwanaga et al. (1991, p.185) gebruikt de volgende techniek om de embryo's op medium te bewaren:

A maximum number of 30 embryos were explanted in each 5 cm petri dish containing nutrient medium A166 (Sonnino, personal communication). The medium consisted of Murashige and Skoog (MS) fortified with 1 g/l hydrolyzed casein, 1 mg/l thiamine, 1 mg/l nicotinic acid, 1 mg/l pyridoxine, 100 mg/l malic acid, 100 mg/l myo-inositol, 4% sucrose, 0.7% agar, and adjusted for pH 5.6. Culture was made at 18-22°C with a photoperiod of 16 hours with cool-white fluorescent light. After development and growth of plantlets from embryos, those showing embryo-spot were eliminated. All the plantlets that did not show the embryo-spot marker were used for counting chromosome number. Root tips were pretreated with 8-hydroxyquinolin (0.002 M) for 4 hours and then fixed in Farmer's solution (3 parts 95% ethanol : 1 part glacial acetic acid) for at least 24 hours. Hydrolization was made with 1 N HCl at 60°C for 8 minutes, and then root tips were stained with aceto-orcein.

Dit is een methode die gebaseerd is op het onderzoek van Spack (1985). Daarnaast wordt deze methode ook in andere onderzoeken toegepast (Ramon & Hanneman Jr., 2002). Vaak hebben onderzoeksinstituten een eigen protocol. Het is van belang dat embryo rescue wordt uitgevoerd door een medewerker met een laborantenopleiding inclusief ervaring met het uitvoeren van embryo rescue. Dit is namelijk een techniek die zeer steriel en precies uitgevoerd moet worden.

4. Ploidie en EBN-manipulatie.

Een groot deel van de wilde soorten komt wat betreft ploidie en EBN niet overeen met *Solanum tuberosum*. Voornamelijk het verschil in EBN is een reden voor het falen van de ontwikkeling van het endosperm. Het verschil in ploidie kan daar ook een aanleiding voor zijn. Daarnaast kan een verschil in ploidie ook zorgen voor onvruchtbare nakomelingen (Carputo et al., 1999).

Wanneer er gekozen wordt om op diploïd niveau te gaan veredelen, betekent dit dat de cultuuraardappel gehalveerd moet worden op het gebied van ploidie en EBN. Dit kan door middel van een zogenaamde prikkelbestuiving. Hiervoor wordt er weer gebruik gemaakt van *Solanum phureja*. *Solanum tuberosum* wordt bestoven door *S. phureja*. Bij deze bestuiving wordt alleen het endosperm bevrucht en niet de eicel. Wel wordt de eicel gestimuleerd om uit te groeien tot embryo met het halve aantal chromosomen en EBN. Dit betekent dat de nakomelingen diploïd (2EBN) zullen zijn. Hierdoor bevinden deze nakomelingen zich op hetzelfde niveau als de wilde soort.

Wel is het belangrijk dat de nakomelingen van de prikkelbestuiving geen eigenschappen bevatten van *S. phureja*. Dit kan gecontroleerd worden door te kijken of de dominante eigenschappen van *S. phureja* overgeërfd zijn. De eerste eigenschap is de zogenaamde nodalband. Deze nodalband is in het zaad te zien door een stip die door de zaadhuid heen schijnt. Bij zaailingen is de nodalband te herkennen aan een paarse band onder de zaadlobben en zaadoksels. Daarnaast is de paarse schilkleur ook een indicatie, maar dit is pas in een laat stadium te zien (Hutten et al., 1994; Jansky, 2006; Tiemens-Hulscher et al, 2016; Van de Wiel, 2010).

Veredelen op diploïd brengt een belangrijk nadeel met zich mee. Over het algemeen beschikken diploïde vormen van de aardappel over een verminderde groeikracht. Hierdoor is selectie op belangrijke landbouwkundige eigenschappen, zoals opbrengst, midden in het veredelingsprogramma erg lastig. Het veredelen op tetraploïd niveau, geeft een beter beeld van de landbouwkundige eigenschappen van de nakomelingen. Wanneer er wordt veredeld op tetraploïd niveau, dan is het van belang om het ploïdie-niveau en het EBN van de wilde soorten te verdubbelen. Voor het verdubbelen van het ploïdie-niveau en het EBN, zijn er een drietal technieken die toegepast kunnen worden (Tiemens-Hulscher et al, 2016).

De eerste manier om het ploïdie-niveau en EBN te verdubbelen, is door een behandeling met colchicine uit te voeren. Colchicine is een stof die ervoor zorgt dat de normale celdeling wordt 'verstoord', waardoor de nieuwe cel het dubbele aantal chromosomen bevat. Tegelijkertijd wordt ook het EBN in de nieuwe cel verdubbeld. Colchicine wordt in de vorm van een oplossing met water toegediend aan de zaden of aan jonge planten (die meestal in-vitro opgekweekt zijn). Colchicine dient in lage concentraties te worden toegediend, omdat bij te hoge concentraties er misvorming of zwakkere groeikracht kan optreden. Er is niet één methode voor het toedienen van colchicine op *Solanum*-soorten. In verschillende onderzoeken wordt er gebruik gemaakt van een eigen protocol voor het toedienen van colchicine. Een behandeling met colchicine is niet altijd succesvol. Om te checken of de behandeling heeft gewerkt, kan er visueel beoordeeld worden. De behandelde planten zijn dan over het algemeen wat grover en groter ten opzichte van de originele plant. Het meest verstandige is om bladmateriaal van de behandelde planten te verzamelen en het door een flowcytometer te laten bekijken. Dit is een apparaat dat verschillende eigenschappen van de plant kan analyseren, waaronder het aantal chromosomen/ploïdie-niveau (Hermsen & De Boer, Jansky, 2006; Tiemens-Hulscher et al, 2016; Van de Wiel, 2010).

De tweede techniek is het toepassen van wilde soorten die ongereduceerde gameten produceren. Normaal gesproken bestaan geslachtscellen/gameten voor de helft uit het aantal chromosomen van een normale/somatische cel. In de natuur zijn er een aantal wilde soorten waarbij het aantal chromosomen in de gameten gelijk zijn aan het aantal chromosomen in de somatische cel. De somatische cel van de meeste wilde soorten zijn $2x$ (2EBN). Wanneer een wilde soort ongereduceerde gameten kan produceren, dan kan deze gekruist worden met de geslachtscel van *Solanum tuberosum* waarbij de geslachtscel ook $2x$ (2EBN) is. Hierdoor is er geen verschil in EBN en ploïdie-niveau tussen de gameten van de ouderplanten, waardoor het endosperm in theorie ontwikkeld kan worden. Over de techniek van ongereduceerde gameten is nog weinig bekend en er is geen lijst met accessies die de mogelijkheid hebben om deze gameten te produceren. Wel zijn de pollen van de planten die ongereduceerde gameten kunnen produceren groter ten opzichte van planten die dit niet kunnen. Dit kan onder de microscoop bekeken worden (Carputo et al., 2003; Jansky, 2006; Tiemens-Hulscher et al, 2016; Van de Wiel, 2010).

De laatste techniek om het aantal chromosomen te verdubbelen is somatische hybridisatie. Bij somatische hybridisatie worden de celwanden van 2 somatische cellen opgelost. Het oplossen van de celwanden kan zowel chemisch, als mechanisch. De 2 somatische cellen zullen fuseren, waardoor er één nieuwe cel ontstaat met de chromosomen van beide originele cellen. Hierdoor is ook het ploïdie-niveau en het EBN verdubbeld. Deze nieuwe cel wordt opgekweekt op medium in de vorm van weefselkweek. Ook dit proces vindt weer plaats in een laboratorium, waarbij elk bedrijf een ander protocol heeft (Jansky, 2006; Linskens, et al., 1983; Tiemens-Hulscher et al, 2016; Van de Wiel, 2010).

3.3.6 Toelichting op de technieken

Het is natuurlijk aan de veredelaar om te kiezen welke wilde soorten er als ouderplanten gebruikt worden. Over de ene soort is minder bekend dan de andere, ook wat betreft kruisingsbarrières die er voorkomen (Maharijaya & Vosman, 2015, Rondon et al., 2021). Binnen het veredelingsprogramma kunnen er dus kruisingsbarrières voorkomen, die niet beschreven zijn voor deze soort. Het is dus de taak aan de veredelaar om uit te zoeken wat de barrière en de daarbij horende oplossing is om toch de kruisingen te laten slagen. Wel is er in het onderzoek van Jansky (2006) gekeken welke methoden er toegepast kunnen worden om kruisingsbarrières te overwinnen tussen een aantal soorten. Niet alle soorten kruisingen zijn hierin opgenomen.

Ook de keuze van de oplossing heeft invloed op het veredelingsproces. Zo behoeven de technieken, zoals embryo rescue en manipulatie van ploïdie en EBN, enige expertise. Veredelingsbedrijven zoals HZPC of onderzoeksinstituten zoals de WUR hebben daar mensen voor in dienst die een laboratoriumopleiding hebben afgerond. Deze medewerkers zijn niet tot minder betrokken rondom de werkzaamheden op plantniveau, maar zijn bezig met werkzaamheden op celniveau die onder steriele omstandigheden moeten plaatsvinden. Het is binnen een veredelingsbedrijf dus ook belangrijk om te kijken naar wat de mogelijkheden zijn voor het uitvoeren van de verschillende technieken. Over het algemeen zullen kleinere, nationale veredelingsbedrijven beperkter zijn in budget en personeel met een laborantenopleiding dan een organisatie zoals de WUR of een andere internationale organisatie.

3.4 Ontwikkelen resistentietoets

Zodra de planten, die uit de kruisingen zijn gemaakt, beginnen te groeien, moet er geselecteerd worden. Selectie vindt plaats op basis van de verschillende eigenschappen van de gemaakte hybriden. Op het eerste oog kan er geselecteerd worden op uiterlijke kenmerken, zoals grootte, schilkleur, vleeskleur, etc. Wanneer het gaat om eigenschappen die niet visueel vast te stellen zijn, dan moeten deze eigenschappen getoetst worden (Niks et al., 2019). Dit geldt ook voor het niveau van een resistentie tegen een ziekte of plaag. Voor de veredelaar is het belangrijk om een vast protocol te hebben om een resistentie tegen de coloradokever te toetsen. In deze paragraaf wordt er een opzet gegeven voor een resistentietoets om deze resistentie te toetsen in *Solanum*-soorten.

3.4.1 Grootte van het toets

De omvang van de toets is sterk afhankelijk van het bedrijf en van de grootte van het veredelingsproces. Grotere handelshuizen, zoals HZPC en Agrico, zullen over het algemeen meer kunnen investeren in bepaalde methoden, dan kleine veredelingsbedrijven. Verschillende factoren die invloed hebben op de grootte van de toets zijn:

- Budget van de veredelingsbedrijven;
- Beschikbare ruimte;
- Beschikbare middelen;
- Tijd;
- Geschikt personeel;
- Het aantal planten die getoetst moeten worden (Niks et al., 2019).

Over het algemeen geldt: hoe groter de toets, hoe groter de kostenposten worden. Het is dus belangrijk om een afweging te maken in de soort ruimte waar er getoetst gaat worden. Dit zal in de volgende subparagraaf besproken worden.

3.4.2 Ruimte/omgeving

Het onderzoeken van insectenresistenties kan op allerlei soorten niveaus. Het kan uitgevoerd worden op kleine schaal in het laboratorium, het kan uitgevoerd worden in een gecontroleerde ruimte zoals een kas. Op grotere schaal kan het uitgevoerd worden op het veld. Elk van de mogelijkheden heeft voordelen en nadelen (Niks et al., 2019).

In het veldonderzoek kan het beste beeld van het gewas worden weergegeven, omdat hier alle landbouwkundige eigenschappen volledig naar voren komen. Wel is deze toets sterk afhankelijk van het seizoen en van de omstandigheden die zich voordoen op het veld. Het kan namelijk voorkomen dat het pathogeen dat onderzocht wordt 'ontsnapt', dat het pathogeen zich niet homogeen verspreid of dat andere ongewenste pathogenen zich voordoen binnen de toets. Daarnaast brengt een veldonderzoek ook hoge kosten met zich mee (Niks et al., 2019).

Een toets in de kas is de eerste volgende ruimte waarbij er resistenties getoetst kunnen worden. Over het algemeen zal deze toets op kleinere schaal uitgevoerd worden dan bij een veldtoets. Er kan in dit geval gekozen worden voor volwassen planten, maar het is ook goed mogelijk om jongere planten of zaailingen in te zetten. Het voordeel van een kas is, is dat het klimaat aangepast kan worden naar de wensen van de plant of het pathogeen. Hierdoor zal een toets in de kas ook niet seizoensafhankelijk zijn. Een ander bijkomend voordeel is dat het pathogeen zich gelijkmatiger kan verdelen. Bij zorgvuldig gebruik zal het pathogeen niet ontsnappen en er zullen geen andere pathogenen de kas binnen treden. Het nadeel van een toets in de kas, is dat het een minder representatief beeld weergeeft van de praktijk en ook hier kunnen de kosten oplopen (Niks et al., 2019).

Daarnaast is het ook nog mogelijk om een toets op het laboratorium uit te voeren. Hiervoor wordt er in de meeste gevallen gebruikt gemaakt van losse plantendelen, zoals bladeren of kiemende zaden. De voordelen en nadelen zullen gelijk zijn aan de voordelen en nadelen van de kas, alleen in het geval van een laboratorium toets zullen de voordelen en nadelen wat uitgesprokener zijn. De kosten zullen over het algemeen wel lager zijn dan bij een veldtoets of kastoets (Niks et al., 2019).

Aangezien deze resistentietoets een opzet is, wordt er gekozen voor een laboratoriumtoets. De reden om niet voor een veldtoets of kastoets te kiezen, is voornamelijk gebaseerd op de lagere kosten van een laboratoriumtoets. Daarnaast is een laboratoriumtoets ook redelijk makkelijk in te zetten, omdat in de meeste gevallen hiervoor de materialen wel aanwezig zullen zijn. Uiteindelijk is dit ook een onderzoeksrapport dat de informatie geeft voor de start van een veredelingsprogramma van de aardappel tegen de coloradokever. Hierdoor zal de toets laagdrempelig blijven en zullen er kosten bespaard worden. Daarnaast kunnen laboratoriumtoetsen ook zeker een geschikt beeld geven over de verschillen tussen de genotypen. In de toekomst, wanneer het veredelingsprogramma wat verder gevorderd is, dan kan er natuurlijk altijd een veldtoets of een kastoets worden ingezet om een beter praktijkbeeld te geven.

3.4.3 Testmateriaal

De resultaten die de verschillende planten opleveren binnen de resistentietoets, moeten met elkaar te vergelijken zijn. Hiervoor is een zogenaamde positieve en negatieve controle nodig. In dit geval gaat het dan om een vatbare plant die wel aangetast wordt door de coloradokever en een plant met een resistentie die niet of in mindere mate wordt aangetast door de coloradokever. Als vatbare plant, kan er gebruik gemaakt worden van *Solanum tuberosum*, aangezien dit de belangrijkste gastheer is van de coloradokever. Als resistente plant kan er gebruik gemaakt worden van de oorspronkelijk wilde soort die er in dat veredelingsprogramma gebruikt wordt. Daarnaast kunnen de hybriden die getoetst moeten worden, toegevoegd worden aan de resistentietoets. De ontwikkelde hybriden bevatten ook genen van die ene wilde soort, waardoor de hybriden en de wilde soort ook weer met elkaar vergeleken kunnen worden binnen de toets. Deze planten moeten immers getoetst worden om uiteindelijke degene met het hoogste resistentieniveau en beste landbouwkundige eigenschappen te selecteren (Niks et al., 2019).

3.4.4 Kweek en synchronisatie

Om een toets in te kunnen zetten is het natuurlijk ook belangrijk om over een kweek van de coloradokever te beschikken. Een insectenkweek wordt in de meeste gevallen eenvoudig in potten of bakken met aardappelbladeren in stand gehouden. Deze kweek wordt dan meerdere dagen per week bijgehouden door de beschimmelde aardappelbladeren weg te halen en nieuwe bladeren toe te voegen om de kweek te voeden en in stand te houden. Hierdoor zullen de kevers blijven overleven en voortplanten in de pot, waardoor de populatie zal groeien. Uit deze kweek kunnen volwassen worden gevangen voor een toets. De kweek kan ook gebruikt worden voor het inzetten van een synchronisatie om larven te verkrijgen (Nandy et al., 2008; Sikinyi et al., 1997). Een synchronisatie is belangrijk voor het inzetten van toetsen waar larven voor nodig zijn. Bij een synchronisatie wordt er nieuw schoon aardappelblad toegevoegd aan een insectenkweek. Deze bladeren worden op één of andere manier gemarkeerd, zodat deze terug te vinden zijn in de pot. Na een bepaalde tijd (vaak 24 uur) worden deze bladeren uit de kweek gehaald en apart bewaard. Als het goed is hebben de larven dan eieren gelegd, die na een bepaalde tijd zullen uitkomen. Niet bij alle insecten is het even duidelijk of er eieren gelegd zijn. Bij coloradokevers is dit wel duidelijk te zien door de geeloranje stippen op het blad. Alle larven die uit deze gesynchroniseerde bladeren komen, zullen ongeveer dezelfde leeftijd hebben. Deze larven kunnen dan ingezet worden voor een toets. zijn. Een synchronisatie geeft de mogelijkheid om kennis te hebben over de leeftijd van de ouderen. Zo is het voor de uitvoerende persoon altijd duidelijk waarom een larve zich op een bepaalde snelheid ontwikkelt (Nandy et al., 2008; Sikinyi et al., 1997).

3.4.5 Toets inzetten en beoordelen

Aangezien de verschillende wilde soorten over verschillende resistentiemechanismen en -factoren beschikken, moet de toets zo opgezet worden dat het voor elke wilde soort inzetbaar is. De coloradokever kan door antixenose van de *Solanum*-soort een voorkeur/afkeer hebben voor/tegen een bepaalde soort. Het is dus verstandig om de coloradokever zelf de keuze te geven welke plant de voorkeur krijgt. Het zal dan gaan om een resistente wilde soort, het vatbare cultuurgewas *Solanum tuberosum* of de hybride die voortkomt uit een kruising tussen de 2 eerder benoemde planten. Daarnaast moet er ook gekeken worden of de coloradokever ook in staat is om van het blad te eten, ondanks de eventuele vorm van antibiose van de *Solanum*-soort. Dit betekent dus ook dat er gekeken moet worden naar de hoeveelheid vraatschade die er in de toets ontstaat. Op basis van de onderzoeken van Jansky et al. (1999) en Nandy et al. (2008) is er een opzet gemaakt waarin deze 2 aspecten zijn meegenomen. Deze opzet is hieronder beschreven.

Bij het gebruik van een petrischaal, is het zeker dat de coloradokever niet zal ontsnappen. In de petrischaal worden 2 bladeren gelegd op een laagje filtreerpapier. Dit filtreerpapier wordt iets vochtig gemaakt, om uitdroging in de schaal te voorkomen. De bladeren die gebruikt worden, zijn een blad van de vatbare controle plant (*Solanum tuberosum*) en een blad van de plant die getoetst moet worden. Daarnaast moet er ook nog een set ingezet worden waarbij er gebruik gemaakt wordt van een blad van de vatbare controle plant samen met een blad van de resistente ouderplant die gebruikt is om de hybriden te ontwikkelen. Het is belangrijk dat de bladeren onbeschadigd zijn en dezelfde afmeting hebben. Dit betekent ook dat het blad bijgesneden zal moeten worden. Ook wordt er de voorkeur gegeven om de 3^e of het 4^e blad onder de top van de plant te gebruiken. Op deze bladeren wordt er uiteindelijk een coloradokever losgelaten die zich in de volwassenfase bevindt. Het is van belang dat de kever 24 uur lang geen toegang toe voeding heeft gehad, om ervoor te zorgen dat de coloradokever zal moeten eten. De coloradokever krijgt in de petrischaal zelf de keuze welk blad de voorkeur krijgt om zich mee te voeden (Jansky et al., 1999; Nandy et al., 2008).

Het is de bedoeling dat één soort samenstelling van de petrischaal 10 keer herhaald wordt, om genoeg data te verkrijgen voor een statistische vergelijking. De petrischalen worden weggezet in een speciale ruimte, zoals een klimaatcel. De temperatuur van deze ruimte moet 25 °C zijn, bij deze temperatuur vindt namelijk de meest consumptie plaats (Bolter et al., 1997). Daarnaast is het gewenst dat de relatieve luchtvochtigheid rond de 70% ligt. Ook moet er een dag- en nachtritme nagebootst worden, dus het is gewenst om de verhouding licht en donker op 16 uur : 8 uur te houden (Nandy et al., 2008).

3.4.6 Resultaten beoordelen

In het onderzoek van Nandy et al. (2008) is er een soortgelijk onderzoek uitgevoerd. Hierin is vastgesteld dat de meest optimale wachttijd om de bladeren te beoordelen, 8 uur na het inzetten van de toets is. Hierdoor wordt in deze opzet ook geadviseerd om pas 8 uur na het inzetten van de toets, de bladeren te beoordelen.

Na de 8 uur is het de bedoeling dat de kever verwijderd wordt en dat de bladeren een score toebedeeld krijgen op basis van de vraatschade. De bladeren krijgen een score van 0 tot 100, waarbij 0 betekent dat er geen schade is en 100 betekent het hele blad verorberd is. Het scoren kan visueel plaatsvinden, maar dit kan vrij lastig zijn voor zo'n klein blad. Ook is het mogelijk om het verschil in bladgewicht te meten met een zeer gevoelige weegschaal. Hoe groter het verschil in gewicht tussen het begin- en het eindgewicht, hoe meer vraat er plaats heeft gevonden. Een andere optie is om rasterpapier te gebruiken. Hierop kan het verorberde bladoppervlak uitgetekend en doorgerekend worden (Jansky et al., 1999; Nandy et al., 2008).

Alle petrischalen worden op dezelfde wijze beoordeeld. Hierdoor zullen er 10 verschillende waarden verkregen worden, die uiteindelijk door een formule worden gehaald om een relatieve weerstandswaarde te berekenen. Hiervoor wordt op basis van het onderzoek van Nandy et al. (2008), de volgende formule toegepast:

$$R = \frac{C}{(C + L)}$$

R = relatieve weerstandswaarde

C = Score van de controleplant

L = Score van de testplant

In het onderzoek van Nandy et al. (2008) wordt benoemd dat wanneer de R-waarde van de testplant gelijk is aan 0,50, dan betekent dat de vatbaarheid gelijk is aan de vatbaarheid van de controleplant. Dit betekent dat er R van de controleplant ook 0,50 is.

Deze 10 waarden moeten vergeleken worden met de R = 0,50 van de controleplant om te bepalen of het resistentieniveau van de testplant significant verschilt van de vatbare controleplant. Wanneer de waarden van de testplant zorgen voor een significant verschil ten opzichte van de vatbare controleplant, dan betekent het dat de testplant als resistent kan worden beschouwd. In dit geval is de t-toets met een betrouwbaarheid van 95%, de geschikte statistische toets om dit verschil te bepalen (Nandy et al., 2008).

Hoofdstuk 4 Discussie

Dit onderzoek is gefocust op het verzamelen van informatie uit de literatuur over het opzetten van een veredelingsprogramma voor het ontwikkelen van een nieuw aardappelras met een resistentie tegen de coloradokever. Deze informatie wordt verzameld voor een veredelaar, om een praktisch beeld te geven over hoe een dergelijk veredelingsprogramma eruit kan komen te zien. In dit hoofdstuk wordt het onderzoek ter discussie gesteld. Hierbij wordt er niet alleen gekeken naar de resultaten die naar voren zijn gekomen uit het onderzoek. Er wordt ook gekeken naar de werkwijze van de auteur tijdens het onderzoek.

Als allereerste is er gekeken naar welke planten beschikken over een resistentie tegen de coloradokever. Uit het onderzoek is er gebleken dat er resistenties te vinden zijn in de wilde *Solanum*-soorten, die dus verwant zijn aan de aardappel (*Solanum tuberosum*). Deze wilde soorten zijn genoteerd in tabel 3.1. Hierin staat ook genoteerd over welke resistentiemechanisme en -factor deze soorten beschikken. Deze mechanismen en factoren worden verder uitgewerkt in paragraaf 3.2. De belangrijkste factoren die zorgen voor de resistentie zijn de glandulaire trichomen en glycoalkaloïden. Deze 2 factoren zorgen allebei voor een andere vorm van resistentie. De glycoalkaloïden zorgen voor een toxische werking op insecten en de trichomen zorgen voor een beperking in de mobiliteit van het insect. Zodra het tijd is om kruisingen te maken tussen de aardappel en de wilde soorten, is het van tevoren nuttig om te weten welke kruisingsbarrières zich kunnen voordoen. Deze barrières zorgen ervoor dat er geen kruisingen gemaakt kunnen worden of dat er geen nakomelingen geproduceerd worden uit de kruisingen. Er kunnen externe kruisingsbarrières zijn die zich voordoen rondom de bloei van de planten, zoals geen bloei-inductie of ongelijke bloei. Daarnaast kunnen zich ook interne kruisingsbarrières voordoen, waarbij de problemen zich voordoen rondom bestuiving, bevruchting of zaadvorming. De interne kruisingsbarrières die zich bij *Solanum*-soorten kunnen voordoen zijn dat er geen herkenning plaats kan vinden van het stuifmeel door de stamper, de plant is mannelijk steriel waardoor er geen mannelijke geslachtcellen geproduceerd kunnen worden of het embryo wordt geaborteerd omdat er geen endosperm ontwikkeld kan worden. Om toch de kruisingen te kunnen maken, is het dus van belang dat die barrières overwonnen kunnen worden. De manieren om externe kruisingsbarrières op te lossen zijn het klimaat in de kas veranderen, de verschillende planten op een ander moment zaaien/poten of de energieverdeling in de plant aanpassen. De manieren om interne kruisingsbarrières op te lossen zijn het maken van reciproke kruisingen maken, het maken van brugkruisingen, zorgen voor een dubbele bestuiving in combinatie met embryo rescue of het ploïdie-niveau en het EBN manipuleren. Als laatste is het natuurlijk belangrijk om de resistentie te kunnen toetsen. In paragraaf 3.4 is er een opzet gemaakt waarbij de coloradokever de mogelijkheid krijgt om een keuze te maken tussen 2 verschillende gastheren. Daarnaast wordt er gemonitord of de coloradokever de mogelijkheid krijgt om die gastheren aan te tasten.

4.1 Discussie werkwijze en proces

Aangezien dit een literatuuronderzoek is, betekent het dat er al eerder onderzoeken zijn gedaan naar de aspecten die ook in dit onderzoek naar voren komen. Denk hierbij aan het analyseren van resistenties of kruisingsbarrières. In die onderzoeken wordt er ook weer gebruik gemaakt van literatuur. Hierdoor staat er in elke onderzoek wel een stuk dat 'overgenomen' is uit een ander onderzoek. De auteur kan in principe de informatie die in een conclusie of in een citaat/parafrase staat, voor waarheid aannemen. Toch heeft de auteur ervoor gekozen om de methode, de resultaten en de bronnen zelf ook te analyseren. Ten eerste draagt het analyseren van de onderzoeken bij aan het begrijpen van de materie, aangezien het vrij ingewikkeld kan worden. Ten tweede helpt het analyseren om een beter beeld te krijgen van waarom er een bepaalde conclusie wordt getrokken. Een goed voorbeeld waarbij het analyseren positief bijdraagt aan het onderzoek is:

In een literatuuronderzoek van Rondon et al. (2021) wordt benoemd dat *Solanum cardiophyllum* (in het onderzoek van Rondon et al. (2021) al verkeerd gespeld als *Solanum chardiophyllum*) beschikt over een resistentie tegen de coloradokever waarbij het onderzoek van Jansky et al. (2009) als bron wordt aangehaald. Deze informatie kan niet kloppen, omdat in de bron van Jansky et al. (2009) er geen onderzoek is gedaan naar een resistentie tegen de coloradokever in *Solanum cardiophyllum*. Deze soort wordt zelfs niet benoemd in het onderzoek van Jansky et al. (2009). Dit maakt dat specifieke deze informatie niet klopt in het onderzoek van Rondon et al. (2021).

Ondanks dat het analyseren van (alle) gegevens in een bron veel tijd kost, draagt het wel bij aan de betrouwbaarheid van het onderzoek. Dat blijkt wel uit dit voorbeeld. De beperkte hoeveelheid tijd maakt het wel moeilijk om alle bronnen mee te nemen. Er zullen zeker nog bronnen op het internet staan, die in zekere zin te maken zullen hebben met dit onderwerp. Hierdoor bestaat er natuurlijk een kans dat er informatie ontbreekt die als nuttige aanvulling kan dienen voor dit onderzoek. Wel is de belangrijkste basis in dit rapport opgenomen, waardoor het rapport zeker wel bruikbaar is.

Iets waar de auteur geen invloed op heeft, maar wat wel ook voor een deel bepalend kan zijn voor het onderzoek, is de beschikbaarheid tot informatie. De auteur heeft toegang tot verschillende online databanken om informatie te verzamelen. Deze online databanken hebben in dit onderzoek voor het overgrote deel van de informatie gezorgd. Daarnaast is er ook gebruik gemaakt van tastbare literatuur in de vorm van boeken. De online databanken kunnen alleen niet alle informatie gratis verstrekken. Hierdoor ontstond er soms het probleem dat de bron alleen tegen betaling werd verstrekt. De databank WUR Library is een wat exclusievere databank die alleen beschikbaar is voor medewerkers van de WUR. De auteur loopt stage bij de WUR en heeft daarom wel toegang tot deze databank. Hierdoor werd de toegang tot de bronnen al vergroot, maar er zijn ook zeker bronnen die niet gelezen konden worden. Dit heeft als gevolg dat er misschien nog andere nuttige informatie beschikbaar is op het internet. Deze informatie is op dit moment niet overgenomen. Dit is een punt van aandacht waar in de toekomst opgelet kan worden. Toch heeft de auteur wel het idee dat de informatie die wel verzameld is, van waarde is voor dit onderzoek.

Ondanks de enige beperking tot informatie, is het onderzoek wel volgens de wensen van de auteur verlopen. De auteur had aan het begin van het onderzoeksproces een planning gemaakt. Er kan vastgesteld worden dat er gewerkt is volgens de planning. Natuurlijk zijn er altijd verbeterpunten in elk proces. Zo is er in dit onderzoek, volgens de auteur, te veel tijd besteed aan het inventariseren van bronnen voor het verzamelen van informatie over de resistente bronnen. Het zoeken van resistente bronnen is een belangrijk startpunt, maar de ongelijke tijdverdeling heeft ervoor gezorgd dat de andere onderdelen wat minder tijd hebben gekregen. De auteur had liever gezien dat deze onderdelen net zoveel de tijd hadden gekregen als de rest van de onderdelen.

4.2 Discussie resultaten

Niet alleen de werkwijze, maar ook de resultaten kunnen ter discussie gesteld worden. In deze paragraaf worden er een paar punten uit hoofdstuk 3 gepakt waarover gediscussieerd kan worden. De resultaten die enige toelichten behoeven zijn de betrouwbaarheid van de resultaten in het algemeen, de vormen van de resistenties, het overwinnen van kruisingsbarrières, de resistentietoets en welke resultaten nou zorgen voor de praktische inslag voor dit onderzoeksrapport.

Als eerste de betrouwbaarheid van de informatie. Zoals in het voorbeeld in de vorige paragraaf is benoemd, is het dus een keer voorgekomen dat de informatie in een bron niet juist was. Door zelf de bronnen te analyseren is de auteur tot deze ontdekking gekomen. In het verloop van het onderzoek is deze strategie doorgezet om elke bron zelf te analyseren. Hierdoor is de belangrijkste en juiste informatie uit de bronnen geselecteerd om te benoemen in dit rapport.

In paragraaf 3.2 worden de resistentiemechanismen en factoren besproken. De informatie over resistentiemechanismen en -factoren is vrij beperkt. Dit geldt niet alleen voor de informatie soortspecifiek gezien, maar in het algemeen. Voor meerdere soorten kan het niet specifiek vastgesteld worden, welke van de 2 resistentiemechanismen bij de soort hoort, omdat de soort kenmerken van beide mechanismen laat zien. Ook kan het voorkomen dat bij het toetsen van de resistentiefactor er niet duidelijk geconcludeerd kan worden of trichomen, glycoalkaloïden of een andere factor zorgt voor een resistentie.

In paragraaf 3.3 is er uitgezocht wat de problemen kunnen zijn rondom het kruisen van de aardappel met de wilde soorten. Hierin zijn de verschillende kruisingsbarrières benoemd die zich voor zouden kunnen doen. Alleen is er niet benoemd welke barrière zich voor kan doen bij welke soort. Er is namelijk weinig bekend over welke barrière zich voordoet bij welke soort. Ook is er gekeken naar hoe de verschillende barrières vermeden kunnen worden bij het kruisen. Zoals in paragraaf 3.3 ook al is benoemd, verschillen de oplossingen sterk in expertise. Voor een aantal oplossingen, zoals somatische fusie, is het van belang dat deze techniek wordt uitgevoerd door een personeelslid dat opgeleid is tot laborant waarbij enige ervaring gewenst is. Deze technieken kunnen in theorie dus niet uitgevoerd worden door de veredelaar zelf. Toch kunnen deze technieken een belangrijke oplossing zijn om nakomelingen te produceren tussen de aardappel en de wilde soorten.

Zoals in paragraaf 3.4 wordt benoemd, is de resistentietoets een opzet voor een toets die op het laboratorium uitgevoerd moet worden. Het kiezen van een bepaalde ruimte is voornamelijk afhankelijk van de fase in het veredelingsprogramma en de kostenposten rondom de toets. Aangezien dit een onderzoeksrapport is voor het starten van een veredelingsprogramma, is het nog te voorbarig om een opzet te ontwikkelen voor een grootschalige veldtoets waarbij hoge kostenposten verwacht zullen worden. Een veredelaar/veredelingsbedrijf werkt in de meeste gevallen met een resistentietoets die ontwikkeld is binnen het eigen programma. Dit is ook wel te zien tussen de verschillende bronnen die aangehaald worden in subparagraaf 3.1.1, waarbij de wilde *Solanum*-soorten getoetst zijn op een resistentie tegen de coloradokever. Daarnaast moet er duidelijk vermeld worden dat de resistentietoets die in paragraaf 3.4 is gegeven, een opzet is. Deze opzet is gebaseerd op eerder uitgevoerde onderzoeken. Er zijn dus zeker wel aspecten die zullen werken in de resistentietoets. Daarnaast zijn de verschillende factoren, die benoemd zijn in subparagraaf 3.4.1 ook van belang. Het is dus belangrijk dat er in de toekomst gewerkt wordt aan het verfijnen van deze opzet, om op de manier een toets te ontwikkelen die het beste past bij het soort bedrijf en veredelaar.

Een belangrijk onderdeel van dit rapport is het geven van een praktische inslag. Deze praktische inslag is op een aantal manieren gegeven aan de veredelaar. Hieronder worden deze punten benoemd:

- Gezocht naar *Solanum*-soorten met een resistentie tegen de coloradokever. Hierbij is er een bijlage 2 ook weergegeven welke accessies er daadwerkelijk over een resistentie beschikken en welke genenbanken over dit materiaal beschikken om te bestellen. Hierdoor hoeft de veredelaar zelf niet meer op zoek te gaan naar de juiste accessies;
- Niet alleen benoemen wat de kruisingsbarrières zijn, maar er is ook gezocht hoe deze kruisingsbarrières in de praktijk vermeden kunnen worden;
- Het maken van een opzet voor een resistentietoets, om een resistentie tegen de coloradokever te testen in *Solanum*-soorten en kruisingen tussen *Solanum*-soorten.

Hoofdstuk 5 Conclusie

Door de klimaatverandering en de strengere wetgeving rondom het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen, stijgt de insectendruk in Nederland. Dit geldt ook voor de druk van de coloradokever in de aardappelteelt. Akkerbouwers zijn momenteel op zoek naar alternatieven om de aardappels te beschermen. Een alternatief dat ontwikkeld zou kunnen worden, is een aardappelras met een resistentie tegen de coloradokever. In dit onderzoek is er gekeken naar de mogelijkheden zijn voor het starten van een veredelingsprogramma voor aardappels tegen de coloradokever. Het doel van dit onderzoek is om door middel van een literatuuronderzoek de juiste informatie te verzamelen die een veredelaar nodig heeft om te starten met een aardappelveredelingsprogramma. Normaal gesproken kunnen de onderzoeken die in de literatuur te vinden zijn, niet zomaar toegepast worden. Hier mist namelijk vaak een stuk praktische toepassing. In dit literatuuronderzoek is er zoveel mogelijk geprobeerd om wel een stuk praktische toepassing te bieden, zodat de veredelaar weet hoe er gestart kan worden met het veredelingsprogramma. De rassen die in de toekomst uit een dergelijk veredelingsprogramma ontwikkeld worden, kunnen door akkerbouwers gebruikt worden om de teelt te beschermen tegen de coloradokever. In dit hoofdstuk wordt er een conclusie getrokken op basis van de resultaten en de discussie. Hiermee wordt er antwoord gegeven op de deelvragen, waarna uiteindelijk de hoofdvraag beantwoordt kan worden. De hoofd- en deelvragen zijn geformuleerd in hoofdstuk 1.

5.1 Conclusie deelvragen

Deelvraag 1: Welke wilde *Solanum*-soorten bevatten een resistentie tegen de coloradokever?

Resistenties kunnen in allerlei soorten planten gevonden worden, zoals mutaties, landrassen, wilde planten, etc. In het geval van resistentieveredeling in aardappel, worden de meeste resistenties gevonden in wilde *Solanum*-soorten. Deze soorten zijn door middel van natuurlijke selectie overgebleven, omdat deze beschikken over een resistentie tegen een ziekte of plaag. Kruisingen tussen planten die niet tot hetzelfde geslacht behoren, maar wel tot dezelfde soort, worden interspecifieke kruisingen genoemd. Er zijn ook een aantal wilde soorten beschreven die beschikken over een resistentie tegen de coloradokever. Deze soorten zijn beschreven in tabel 3.1, inclusief belangrijke informatie zoals ploëdie-niveau, Endosperm Balance Number en resistentiefactor. Het Endosperm Balance Number is een nummer dat voorspelt of de ontwikkeling van het endosperm zal slagen bij planten van verschillende soorten. Daarnaast is in bijlage 2 weergegeven welke plantnummers van de wilde soorten er getoetst zijn, die beschikken over een resistentie tegen de coloradokever.

Deelvraag 2: Hoe zien deze resistentiemechanismen eruit?

Zoals in tabel 3.1 weergegeven is, kan elke wilde soort worden ingedeeld bij een resistentiemechanisme en een resistentiefactor. De resistentiemechanismen zijn antixenose en antibiose. Antixenose is een vorm van resistentie waarbij de kenmerken van een waardplant ervoor zorgen dat een insect geen interesse meer heeft om zich daarop voort te planten of zich ermee te voeden. Antibiose is een vorm van resistentie waarbij de waardplant ervoor zorgt dat ontwikkeling en reproductie van de insect nadelig wordt beïnvloed. De mechanismen geven niet zozeer weer hoe (schade door) de coloradokever geweerd wordt.

Resistentiefactoren zijn de planteigenschappen die zorgen voor de daadwerkelijke wering. De resistentiefactoren die in *Solanum*-soorten voor een resistentie tegen de coloradokever zorgen, zijn glycoalkaloïden en glandulaire trichomen. Glycoalkaloïden zijn giftige organische verbindingen die gevonden worden in de *Solanum*-soorten. Glycoalkaloïden kunnen bij insecten zorgen voor een ongewenste smaak, voor sterfte van insecten of voor afwijkingen van de nakomelingen. De glycoalkaloïde leptine is populair als resistentie tegen de coloradokever, omdat deze stof alleen in de bladeren voorkomt. Leptine zorgt voor een verhoogd sterfteaantal van de larven, de ontwikkeling van de larven wordt geremd, vraat door volwassenen wordt verminderd en er kunnen minder eieren gelegd worden.

De tweede resistentiefactor is de glandulaire trichoom. Dit zijn uitsteeksels die op de plant voorkomen. Resistentie tegen de coloradokever wordt voornamelijk gelinkt aan de zogenaamde A en B glandulaire trichomen. De resistentie is gebaseerd op mechanische en chemische bescherming van de plant. De stoffen die vrijkomen bij het landen van de coloradokever op het blad, zorgt ervoor dat de kever aan het blad blijft plakken en dat de monddelen dichtgeplakt worden. Hierdoor wordt de mobiliteit van het insect beperkt, waardoor het uiteindelijk zal sterven.

Deelvraag 3: Wat zijn de obstakels wat betreft het kruisen van de wilde soorten met *Solanum tuberosum*?

Bij de veredeling van *Solanum tuberosum* met andere wilde soorten, kunnen er een aantal barrières voorkomen die voor problemen zorgen bij het krijgen van nakomelingen. Kruisingsbarrières kunnen ingedeeld worden in externe en interne kruisingsbarrières. Externe barrières zijn de barrières die een rol spelen bij de bloei van de plant. Binnen de aardappelveredeling kunnen de volgende externe barrières zich voordoen:

- Geen bloei-inductie doordat ouderdomsprocessen nog niet op gang komen;
- Ongelijke bloei van de ouderplanten;
- Te lage productie van bloemen door een verkeerde energieverdeling.

Interne barrières zijn de barrières die een rol spelen rondom de bestuiving, bevruchting of zaadvorming. Interne kruisingsbarrières worden daarom ook gezien als de oorzaak voor het falen van interspecifieke kruisingen. Binnen de aardappelveredeling kunnen de volgende interne barrières zich voordoen:

- Interactie tussen stamper en stuifmeel faalt. Hierbij is er sprake van incompatibiliteit, waarbij de genetische informatie van beide ouderplanten te dicht bij elkaar ligt, of van incongruentie, waarbij de genetische informatie van beide ouderplanten te ver uit elkaar ligt;
- Mannelijke steriliteit. Hierbij produceert een plant geen mannelijke delen, waardoor deze plant niet toegepast kan worden als vaderplant. De mannelijke delen zijn namelijk essentieel voor het bevruchten van de moederplant;
- Embryo-abortie/endosperm falen. In dit geval kan er geen endosperm gevormd worden, wat een belangrijk onderdeel is voor het vormen van zaad. Hierdoor zal het gevormde embryo geaborteerd worden, waardoor er dus ook geen nakomelingen kunnen ontstaan. Het falen vindt meestal plaats omdat er een disbalans is ontstaan rondom het ploëdie-niveau en/of Endosperm Balance Number van de ouderplanten.

Deelvraag 4: Hoe kunnen deze obstakels omzeild worden?

Tegen de externe kruisingsbarrières kunnen de volgende maatregelen genomen worden:

- Ouderdomsprocessen in werking stellen, door temperatuur en daglengte aan te passen naar de wens van de plant;
- Op een ander moment zaaien of poten zodat de bloei van de ouderplanten gelijkgetrokken wordt;
- Stuifmeel bewaren om op een later moment toe te passen;
- Energieverdeling aanpassen door stolonen weg te snijden en daarmee de knolgroei te stoppen.

Tegen de interne kruisingsbarrières kunnen de volgende maatregelen genomen worden:

- Het maken van reciproke kruisingen, waarbij beide ouderplanten beide een keer als vader- en als moederplant gebruikt worden;
- Brugkruisingen maken, waarbij er een extra kruising gemaakt wordt met een andere soort als tussenstap wanneer de 2 originele ouderplanten niet direct kruisbaar zijn;

- Dubbele bestuiving en embryo rescue. Eerst wordt één van de ouderplanten gekruist met de andere ouderplant uit het veredelingsprogramma. Een dag na deze kruising, wordt de moederplant weer gekruist met *Solanum phureja*. Deze extra bestuiving zorgt voor een stimulans om een embryo te produceren uit de eerste kruising. Bij embryo rescue worden de embryo's uit de planten gehaald en op medium gezet. Op dit medium krijgen de embryo's de kans om verder te groeien tot jonge plant;
- Het manipuleren van het ploïdie-niveau of het Endosperm Balance Number. Het halveren van het ploïdie-niveau en het Endosperm Balance Number kan door middel van een prikkelbestuiving met *Solanum phureja*. De eerste manier voor verdubbelen van het ploïdie-niveau en het Endosperm Balance Number is door middel van een behandeling met de stof colchicine. De tweede manier, is het toepassen van planten die ongereduceerde gameten produceren. Dit zijn planten waarbij het aantal chromosomen in de geslachtscel gelijk zijn aan het aantal chromosomen in de 'normale' cel. De laatste manier is het toepassen van somatische hybridisatie, waarbij de celwanden van 2 cellen worden afgebroken en de 2 cellen samen worden gevoegd tot 1 cel.

Deelvraag 5: Hoe kan een resistentie tegen de coloradokever getoetst worden in *Solanum*-soorten?

Op basis van verschillende onderzoeken is er een opzet gemaakt voor het uitvoeren van een toets om een resistentie tegen de coloradokever te toetsen in *Solanum*-soorten. Deze opzet is hieronder weergegeven.

Plantmateriaal	Bladeren van <i>Solanum tuberosum</i> als vatbare soort, de wilde resistente soort die gebruikt is voor het maken van kruisingen en de gemaakte hybriden die de veredelaar wil toetsen. 2 bladeren per petrischaal, waarvan 1 altijd <i>Solanum tuberosum</i> is.
Ruimte	Petrischaal met vochtig filtreerpapier. De schalen worden bewaard in een afgesloten ruimte, zoals een klimaatcel.
Klimaat in de ruimte	Temperatuur op 25 °C, RV rond de 70%. Verhouding licht : donker van 16 uur : 8 uur.
Insecten	De coloradokever (<i>Leptinotarsa decemlineata</i>) in de volwassenfase. 1 per petrischaal. Het is van belang dat de kevers 24 uur lang geen toegang gehad hebben tot voeding.
Aantal herhalingen	10 herhalingen per soort petrischaal.
Moment van beoordelen	8 uur na het inzetten van de toets.
Wijze van beoordelen	De bladeren krijgen een score van 0 tot 100 toebedeeld op basis van de vraatschade. 0 betekent dat er geen schade is en 100 betekent het hele blad verorberd is. De beoordeling kan visueel, door middel van gewichtsverschil of door middel van verschil in oppervlakte. Daarna moet de R-waarde van de testplanten berekend worden, volgens de formule in subparagraaf 3.4.6. Deze 10 R-waarden moeten vergeleken worden met de $R = 0,50$ van de controleplant om te bepalen of het resistentieniveau van de testplant significant verschilt van de vatbare controleplant. Dit gebeurt in een t-toets met een betrouwbaarheid van 95%. Wanneer de waarden van de testplant zorgen voor een significant verschil ten opzichte van de vatbare controleplant, dan betekent het dat de testplant als resistent kan worden beschouwd.

5.2 Conclusie hoofdvraag

Hoofdvraag: Wat zijn de veredelingsmogelijkheden tegen de coloradokever (*Leptinotarsa decemlineata*) in de aardappelteelt (*Solanum tuberosum*)?

Op basis van dit literatuuronderzoek, kan er vastgesteld worden dat er wel degelijk mogelijkheden zijn voor het ontwikkelen van een veredelingsprogramma in aardappels tegen de coloradokever. Zodra het veredelingsdoel is vastgesteld, is het aan de veredelaar de taak om te zoeken naar kruisingsouders met een resistentie tegen de coloradokever. In totaal zijn er in de literatuur 19 wilde *Solanum*-soorten met een resistentie tegen de coloradokever beschreven. Deze soorten kunnen gebruikt worden om een resistentie in te bouwen voor een nieuw aardappelras. Ook is het voor een aantal soorten bekend hoe de resistentie werkt, waardoor de veredelaar deze vorm van resistentie later in het proces kan toetsen.

Zodra de kruisingsouders gekozen zijn, is het de taak om kruisingen te maken. Tijdens het kruisen van wilde *Solanum*-soorten met de aardappel, kunnen er zich kruisingsbarrières voordoen. In dit onderzoek zijn de kruisingsbarrières genoteerd die zich in *Solanum*-soorten kunnen voordoen, maar deze barrières kunnen overwonnen worden. De technieken die ervoor zorgen dat de barrières overwonnen kunnen worden, zijn ook in dit rapport benoemd. Doordat de barrières en de eventuele oplossingen bekend zijn, is het voor de veredelaar mogelijk om vruchtbare nakomelingen te produceren.

Zodra de kruisingen opgekweekt zijn, is het tijd om te gaan selecteren. Selectie op landbouwkundige eigenschappen is belangrijk, maar het is ook belangrijk dat de nakomelingen beschikken over een resistentie tegen de coloradokever. In dit onderzoek is er ook gewerkt aan het ontwikkelen van een resistentietoets waarbij een resistentie tegen de coloradokever kan worden vastgesteld in het veredelingsprogramma.

Met deze praktische informatie zou een veredelaar een veredelingsprogramma kunnen opstarten voor aardappels tegen de coloradokever, want:

- Er zijn resistente bronnen voor het inkruisen van een resistentie tegen de coloradokever;
- Het is (voor een aantal soorten) bekend hoe de resistentie er precies uitziet;
- Er kunnen kruisingen gemaakt worden, waar vruchtbare nakomelingen uit voortkomen;
- Resistenties kunnen getoetst worden.

Zoals benoemd is, zijn er een aantal zaken die verder uitgezocht moeten worden. Ondanks dat, kan een veredelaar zeker beginnen met het starten van een dergelijk veredelingsprogramma. Daarnaast bevat dit rapport ook een praktische inslag, waardoor een veredelaar zelf niet meer op zoek hoeft te gaan naar literatuur. Indirect is dit rapport ook van belang voor akkerbouwers in de toekomst. Klimaatverandering en de beperking rondom chemische gewasbeschermingsmiddelen, maken het voor een akkerbouwer steeds lastiger om de gewassen te beschermen tegen het stijgende aantal insecten. Dit geldt ook voor de stijgende druk van de coloradokever in de aardappelteelt. Aangezien de aardappel één van de belangrijkste voedselgewassen ter wereld is, is het zeker van belang om deze teelt te kunnen beschermen. Akkerbouwers zijn daarom op zoek naar andere mogelijkheden om de aardappels te beschermen. Met dit rapport kan de veredelaar een aardappelras met een resistentie tegen de coloradokever ontwikkelen. Dit ras kan een akkerbouwer gebruiken om de teelt te beschermen tegen vraatschade van de coloradokever.

Hoofdstuk 6 Aanbevelingen

In dit hoofdstuk worden er aanbevelingen gegeven aan de doelgroep, namelijk de veredelaars. Deze aanbevelingen kunnen in de toekomst als advies worden toegepast rondom de veredeling van aardappels tegen de coloradokever. De aanbevelingen zijn gebaseerd op de conclusies die in het vorige hoofdstuk getrokken zijn.

6.1 Resistentietoets verfijnen

In paragraaf 3.4 is er op basis van verschillende onderzoeken een opzet gemaakt voor een resistentietoets. In de discussie is ook al benoemd, dat dit voorlopig nog een opzet is. Er zijn natuurlijk richtlijnen gegeven voor het uitvoeren, maar er zullen zeker ook punten zijn in de uitvoering die voor de ene veredelaar beter werken dan voor de andere veredelaar. Denk hierbij aan het meten van de hoeveelheid vraat, dat op meerdere manieren uitgevoerd kan worden. Het is dus aan de veredelaar nog de taak om de toets te verfijnen. Wel is het belangrijk dat alle metingen op dezelfde manier uitgevoerd worden, om de resultaten met elkaar te kunnen vergelijken.

6.2 Aanvullen van informatie

In de vorige hoofdstukken is het een aantal keer naar voren gekomen, dat er zeker nog informatie zou kunnen missen die nuttig kan zijn voor de verdere invulling van dergelijk veredelingsprogramma. Zo zou het kunnen zijn dat er in de natuur nog een aantal wilde *Solanum*-soorten zijn die over een resistentie tegen de coloradokever beschikken. Ook is het nog niet duidelijk voor elke soort welk mechanisme of factor zorgt voor een resistentie tegen de coloradokever. En als laatste is er in de literatuur ook geen concrete informatie te vinden over welke kruisingsbarrières zich voordoen bij elke soort. Wanneer deze informatie wel beschikbaar is, kan het voor de veredelaar makkelijk zijn om bepaalde keuzes te maken binnen het veredelingsprogramma, zoals het kiezen van kruisingsouders. De voorkeur voor bijvoorbeeld een bepaalde resistentiefactor of het gemak van kruisen, kan voor elke veredelaar anders zijn. Het is dus van belang om in de toekomst zeker ook te werken aan het verder verzamelen van nuttige informatie.

Zoals in hoofdstuk 4 is benoemd, is het mogelijk dat er nog bronnen zijn die de auteur nog niet gevonden heeft, maar die wel nuttig kunnen zijn voor dit onderzoek. Op de kortere termijn is het mogelijk dat er door middel van het voortzetten van dit literatuuronderzoek, verder gezocht wordt naar informatie voor het aanvullen van dit rapport. Daarnaast is het mogelijk dat er nieuwe informatie verworven kan worden door het uitvoeren van praktijkonderzoeken. Eventueel in samenwerking met een onderzoeksinstituten zoals de WUR. De veredelaar kan natuurlijk zelf onderzoeken doen, zodat de resultaten theoretisch gezien op korte termijn verzameld kunnen worden. Hiervoor zou eventueel het protocol van de andere onderzoeken overgenomen kunnen worden. Het is natuurlijk ook mogelijk om toekomstige onderzoeken in de gaten te houden en af te wachten. Het afwachten kan als gevolg hebben dat de resultaten pas op de lange termijn beschikbaar zijn.

Literatuurlijst

Aeres Hogeschool. (2021). *Handleiding Afstudeerwerkstuk (AAFW)* [Studiehandleiding]. Canvas. Geraadpleegd op 29 december 2021, van <file:///C:/Users/sanne/Downloads/Handleiding%20afstudeerwerkstuk,%202021-2022,%20versie%20sept2021-1.pdf>

AGF. (2018, 23 april). Aardappel wint aan populariteit in Azie en Afrika. AGF. Geraadpleegd op 12 januari 2022, van <https://www.agf.nl/article/173101/aardappel-wint-aan-populariteit-in-azie-en-afrika/>

Bolter, C. J., Dicke, M., Van Loon, J. J. A., Visser, J. H., & Posthumus, M. A. (1997). Attraction of Colorado Potato Beetle to Herbivore-Damaged Plants During Herbivory and After Its Termination. *Journal of Chemical Ecology*, 23(4), 1003–1023. <https://doi.org/10.1023/b:joec.00000006385.70652.5e>

Booth, E., Alyokhin, A., & Pinatti, S. (2016). Adult cannibalism in an oligophagous herbivore, the Colorado potato beetle. *Insect Science*, 24(2), 295–302. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12286>

Buijs, J., & Mantingh, M. (2020, oktober). *Inventarisatie van de aanwezigheid en risico's van bestrijdingsmiddelen in begraasde natuurgebieden in Gelderland: toxicologische risico's voor mestkevers* (Nr. 2298195). Bennekom: Buijs Agro-Services. https://www.wecf.org/nl/wp-content/uploads/2020/11/20201118_Report_Gelderland_Online.pdf

Camadro, E. L., Carputo, D., & Peloquin, S. J. (2004). Substitutes for genome differentiation in tuber-bearing Solanum: interspecific pollen-pistil incompatibility, nuclear-cytoplasmic male sterility, and endosperm. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(7), 1369–1376. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1753-2>

Carputo, D., Frusciante, L., & Peloquin, S. J. (2003). The role of 2n gametes and endosperm balance number in the origin and evolution of polyploids in the tuber-bearing Solanums. *Genetics*, 163(1), 287–294. <https://doi.org/10.1093/genetics/163.1.287>

Carputo, D., Monti, L., Werner, J. E., & Frusciante, L. (1999). Uses and usefulness of endosperm balance number. *Theoretical and Applied Genetics*, 98(3–4), 478–484. <https://doi.org/10.1007/s001220051095>

CBS. (2021, 29 oktober). *Akkerbouwgewassen; productie naar regio*. Geraadpleegd op 12 januari 2022, van <https://opendata.cbs.nl/statline/#/CBS/nl/dataset/7100oogs/table?fromstatweb>

CBS. (2021, 19 november). *Landbouw; gewassen, dieren en grondgebruik naar gemeente*. Geraadpleegd op 12 januari 2022, van <https://opendata.cbs.nl/#/CBS/nl/dataset/80781ned/table?searchKeywords=landbouwbedrijven>

Chen, Q., Kawchuk, L. M., Lynch, D. R., Goettel, M. S., & Fujimoto, D. K. (2003). Identification of late blight, Colorado potato beetle, and blackleg resistance in three Mexican and two South American wild 2x (1EBN) Solanum species. *American Journal of Potato Research*, 80(1), 9–19. <https://doi.org/10.1007/bf02854552>

Chung, S. H., Rosa, C., Scully, E. D., Peiffer, M., Tooker, J. F., Hoover, K., Luthe, D. S., & Felton, G. W. (2013). Herbivore exploits orally secreted bacteria to suppress plant defenses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(39), 15728–15733. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308867110>

- Chung, S. H., Scully, E. D., Peiffer, M., Geib, S. M., Rosa, C., Hoover, K., & Felton, G. W. (2017). Host plant species determines symbiotic bacterial community mediating suppression of plant defenses. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/srep39690>
- Dimock, M. B., Lapointe, S. L., & Tingey, W. M. (1986). *Solanum neocardenasii*: A New Source of Potato Resistance to the Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 79(5), 1269–1275. <https://doi.org/10.1093/jee/79.5.1269>
- Flanders, K. L., Hawkes, J. G., Radcliffe, E. B., & Lauer, F. I. (1992). Insect resistance in potatoes: sources, evolutionary relationships, morphological and chemical defenses, and ecogeographical associations. *Euphytica*, 61(2), 83–111. <https://doi.org/10.1007/bf00026800>
- Fréchette, B., Bejan, M., Lucas, É., Giordanengo, P., & Vincent, C. (2010). Resistance of Wild *Solanum* Accessions to Aphids and Other Potato Pests in Quebec Field Conditions. *Journal of Insect Science*, 10(161), 1–16. <https://doi.org/10.1673/031.010.14121>
- Glas, J. J., Schimmel, B. C. J., Alba, J. M., Escobar-Bravo, R., Schuurink, R. C., & Kant, M. R. (2012). Plant Glandular Trichomes as Targets for Breeding or Engineering of Resistance to Herbivores. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(12), 17077–17103. <https://doi.org/10.3390/ijms131217077>
- Groene Veredeling. (z.d.). *Coloradokever in Oekraïne en Nederland*. Geraadpleegd op 7 november 2021, van <https://www.groeneveredeling.nl/nl/groeneveredeling/Projecten/Afgesloten-projecten/Coloradokever-in-de-Oekraïne-en-Nederland-1.htm>
- Halterman, D., Guenther, J., Collinge, S., Butler, N., & Douches, D. (2015). Biotech Potatoes in the 21st Century: 20 Years Since the First Biotech Potato. *American Journal of Potato Research*, 93(1), 1–20. <https://doi.org/10.1007/s12230-015-9485-1>
- Hare, J. D. (1990). Ecology and Management of the Colorado Potato Beetle. *Annual Review of Entomology*, 35(1), 81–100. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.35.010190.000501>
- Heikkilä, J., & Peltola, J. (2007). *Phytosanitary measures under uncertainty: a cost-benefit analysis of the Colorado potato beetle in Finland*. Geraadpleegd op 22 december 2021, van <file:///C:/Users/sanne/Downloads/1286-Article%20Text-987-1-10-20070215.pdf>
- Hermesen, J. G. T., De Boer, A. J. E. (1971) The effect of colchicine treatment on *Solanum acaule* and *S. bulbocastanum*; A complete analysis of ploidy chimeras in *S. bulbocastanum*. *Euphytica*, 20, 171–180. <https://doi-org.ezproxy.library.wur.nl/10.1007/BF00056077>
- Huiden, F. (2021, 26 juli). Kever niet spuiten maar meppen. *Nieuwe oogst*. Geraadpleegd op 11 november 2021, van <https://www.nieuweoogst.nl/nieuws/2021/07/26/kever-niet-sputen-maar-meppen>
- Hutten, R. C. B., Scholberg, E. J. M. M., Huigen, D. J., Hermesen, J. G., & Jacobsen, E. (1994). Analysis of dihaploid induction and production ability and seed parent x pollinator interaction in potato. *Euphytica*, 72, 61–64. <https://doi.org/10.1007/BF00023773>
- Hutvágner, G., Bánfalvi, Z., Milánkovics, I., Silhavy, D., Polgár, Z., Horváth, S., Wolters, P., & Nap, J. P. (2001). Molecular markers associated with leptinine production are located on chromosome 1 in *Solanum chacoense*. *Theoretical and Applied Genetics*, 102(6–7), 1065–1071. <https://doi.org/10.1007/s001220000450>

- Iwanaga, M., Freyre, R., & Watanabe, K. (1991). Breaking the crossability barriers between disomic tetraploid *Solanum acaule* and tetrasomic tetraploid *S. tuberosum*. *Euphytica*, 52(3), 183–191. <https://doi.org/10.1007/bf00029395>
- Jansky, S. (2006). Overcoming hybridization barriers in potato. *Plant Breeding*, 125(1), 1–12. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01178.x>
- Jansky, S., Austin-Phillips, S., & McCarthy, C. (1999). Colorado Potato Beetle Resistance in Somatic Hybrids of Diploid Interspecific *Solanum* Clones. *HortScience*, 34(5), 922–927. <https://doi.org/10.21273/hortsci.34.5.922>
- Jansky, S. H., Simon, R., & Spooner, D. M. (2009). A Test of Taxonomic Predictivity: Resistance to the Colorado Potato Beetle in Wild Relatives of Cultivated Potato. *Journal of Economic Entomology*, 102(1), 422–431. <https://doi.org/10.1603/029.102.0155>
- Jörg, E., Racca, P., Preiß, U., Butturini, A., Schmiedl, J., & Wójtowicz, A. (2007). Control of Colorado Potato Beetle with the SIMLEP Decision Support System. *EPPO Bulletin*, 37(2), 353–358. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2007.01137.x>
- Linskens, H. F., Van Zeist, W., Zeven, A. C., Parlevliet, J. E., Snee, J., & Schilperoort, R. A. (1983). *Plantenveredeling en genenmanipulatie*. Pudoc, Centrum voor Landbouwpublikaties en Landbouwdocumentatie, Wageningen. Geraadpleegd op 22 maart 2022, van <https://www.renevanmaarsseveen.nl/wp-content/uploads/overig8/Plantenveredeling%20en%20genenmanipulatie%201983.pdf>
- Liu, N., Li, Y., & Zhang, R. (2012). Invasion of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, in China: dispersal, occurrence, and economic impact. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 143(3), 207–217. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2012.01259.x>
- Luske, B., Schulting, M. (2019). *Plaaginsecten en natuurlijke vijanden in de aardappelteelt* [Factsheet]. Geraadpleegd op 8 november 2021, van <https://edepot.wur.nl/479074>
- Maharijaya, A., & Vosman, B. (2015). Managing the Colorado potato beetle; the need for resistance breeding. *Euphytica*, 204(3), 487–501. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1467-3>
- McCorkle, K. (2018, 4 oktober). *A day in the entomology lab: Beetles*. Geraadpleegd op 3 mei 2022, van <https://blog.agbiome.com/a-day-in-the-entomology-lab-beetles>
- Mulder, A. & Turkensteen, L. J. (2008). *Aardappel ziektenboek*. Den Haag: Aardappelwereld BV.
- Mweetwa, A. M., Hunter, D., Poe, R., Harich, K. C., Ginzberg, I., Veilleux, R. E., & Tokuhisa, J. G. (2012). Steroidal glycoalkaloids in *Solanum chacoense*. *Phytochemistry*, 75, 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.12.003>
- Nandy, S., Chen, Q., Yang, J., Beasley, D., Li, H., & Goettel, M. S. (2008). Use of a detached leaf screening method for segregating Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) resistant *Solanum* hybrid lines. *Canadian Journal of Plant Science*, 88(4), 633–638. <https://doi.org/10.4141/cjps07047>
- Nijkamp, M. M., Asselt, E. D., Janssens, B., Razenberg, L., Wit-Bos, L., Der Fels-Klerx, H. J., Van Asselt, E. D., De Wit-Bos, L., & Van der Fels-Klerx, H. J. (2017). *Chemische en fysische gevaren in de Nederlandse aardappelketen*. Amsterdam University Press.

Niks, R. E., Parlevliet, J. E., Lindhout, P., Bai, Y. (2019). *Breeding crops with resistance to diseases and pests*. Wageningen Academic Publishers.

Pathak, C., Black, L., Cheng, S., Wang, T., & Ko, S. (2001). BREEDING ONIONS FOR STEMPHYLIUM LEAF BLIGHT RESISTANCE. *Acta Horticulturae*, 555, 77–81. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2001.555.7>

PCA. (2013, 23 december). *Coloradokever en gevolgen voor het rendement* [Illustratie]. PCA. Geraadpleegd op 7 januari 2022, van <https://www.pcainfo.be/Publicaties/Brochure-LCA/userid/3/coloradokevers-en-gevolgen-voor-het-rendement>

Pelletier, Y., Clark, C., & De Koeyer, D. (2007). Level and Genetic Variability of Resistance to the Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata* (Say)) in Wild Solanum Species. *American Journal of Potato Research*, 84(2), 143–148. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2006.00432.x>

Pelletier, Y., Clark, C., & Tai, G. C. (2001). Resistance of three wild tuber-bearing potatoes to the Colorado potato beetle. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 100(1), 31–41. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2001.00845.x>

Pelletier, Y., & Dutheil, J. (2006). Behavioural responses of the Colorado potato beetle to trichomes and leaf surface chemicals of Solanum tarijense. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 120(2), 125–130. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2006.00432.x>

Pelletier, Y., Grondin, G., & Maltais, P. (1999). Mechanism of Resistance to the Colorado Potato Beetle in Wild Solanum Species. *Journal of Economic Entomology*, 92(3), 708–713. <https://doi.org/10.1093/jee/92.3.708>

Pelletier, Y., Horgan, F. G., & Pompon, J. (2011). Potato resistance to insects. *The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology*, 5(1), 37 – 52. Geraadpleegd op 28 maart 2022, van [file:///C:/Users/sanne/Downloads/Pelletieretal2011%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/sanne/Downloads/Pelletieretal2011%20(2).pdf)

Pelletier, Y., Horgan, F. G., & Pompon, J. (2013). Potato Resistance Against Insect Herbivores: Resources and opportunities. *Insect Pests of Potato*, 439–462. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-386895-4.00015-6>

Pelletier, Y., & Tai, G. C. C. (2001). Genotypic Variability and Mode of Action of Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) Resistance in Seven Solanum Species. *Journal of Economic Entomology*, 94(2), 572–578. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.2.572>

Plantenziektenkundige Dienst. (1948). *De Coloradokever-wet*. Wageningen: Plantenziektenkundige Dienst.

Queisen, G. (2021, 5 juni). Coloradokever steekt steeds vroeger en in grotere getale de kop op. *Akkerwijzer*. Geraadpleegd op 7 november 2021, van <https://www.akkervijzer.nl/artikel/406043-coloradokever-steekt-steeds-vroeger-en-in-grotere-getale-de-kop-op/>

Ramon, M., & Hanneman Jr., R. E. (2002). Introgression of resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) from Solanum pinnatisectum into S. tuberosum using embryo rescue and double pollination. *Euphytica*, 124(2), 421–435. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1715-4>

Rijksdienst voor Ondernemend Nederland. (2019, 7 oktober). *Genetisch gemodificeerde gewassen*. Rijksdienst voor Ondernemend Nederland. Geraadpleegd op 12 april 2022, van <https://www.rvo.nl/onderwerpen/genetisch-gemodificeerde-gewassen>

- Rondon, S. I., Feldman, M., Thompson, A., Oppedisano, T., & Shrestha, G. (2021). Identifying Resistance to the Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) in Potato Germplasm: Review Update. *Frontiers in Agronomy*, 3. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.642189>
- Ronning, C. M., Sanford, L. L., Kobayashi, R. S., & Kowalski, S. P. (1998). Foliar leptine production in segregating F1, Inter-F1, and backcross families of *Solanum chacoense* bitter. *American Journal of Potato Research*, 75(3), 137–143. <https://doi.org/10.1007/bf02895848>
- Sagredo, B., Balbyshev, N., Lafta, A., Casper, H., & Lorenzen, J. (2009). A QTL that confers resistance to Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) in tetraploid potato populations segregating for leptine. *Theoretical and Applied Genetics*, 119(7), 1171–1181. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1118-y>
- Sanford, L. L., Kobayashi, R. S., Deahl, K. L., & Sindén, S. L. (1996). Segregation of leptines and other glycoalkaloids in *Solanum tuberosum* (4x) × *S. chacoense* (4x) crosses. *American Potato Journal*, 73(1), 21–33. <https://doi.org/10.1007/bf02849301>
- Schneeberger, K. (2022, 3 maart). Potato genome decoded. Max-Planck-Gesellschaft. Geraadpleegd op 7 mei 2022, van <https://www.mpg.de/18386613/potato-genome#:~:text=More%20than%2020%20years%20after,complex%20genome%20of%20the%20potato>.
- Schütz, S., Weißbecker, B., Klein, A., & Hummel, H. E. (1997). Host Plant Selection of the Colorado Potato Beetle as Influenced by Damage Induced Volatiles of the Potato Plant. *Naturwissenschaften*, 84(5), 212–217. <https://doi.org/10.1007/s001140050381>
- Sikinyi, E., Hannapel, D. J., Imerman, P. M., & Stahr, H. M. (1997). Novel Mechanism for Resistance to Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in Wild *Solanum* Species. *Journal of Economic Entomology*, 90(2), 689–696. <https://doi.org/10.1093/jee/90.2.689>
- Skryabin, K. (2010). Do Russia and Eastern Europe need GM plants? *New Biotechnology*, 27(5), 593–595. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2010.07.019>
- Spack, V. (1985). *Cultivo de ovarios y embriones de papa*. [MSc Thesis]. Universidad Nacional Agraria.
- Spooner, D. M., & Hijmans, R. J. (2001). Potato systematics and germplasm collecting, 1989–2000. *American Journal of Potato Research*, 78(4), 237–268. <https://doi.org/10.1007/bf02875691>
- Tholhuijsen, R. (2021, oktober 9). *Kevermepper klaar voor de markt* [Illustratie]. Boerderij. Geraadpleegd op 7 januari 2022, van <https://www.boerderij.nl/kevermepper-klaar-voor-de-markt>
- Tiemens-Hulscher, M., Delleman, J., Eising, J., & Lammerts van Bueren, E. T. (2016). *Aardappelweekboek – Praktijkhandboek voor de aardappelketen*. Aardappelwereld BV.
- Tönjes, J. (2015, 24 februari). Resistente colordadokever bij eenzijdig middel. *Akkerwijzer*. Geraadpleegd op 7 november 2021, van <https://www.akkervijzer.nl/artikel/110574-resistentie-coloradokever-door-eenzijdige-middelen/>
- Vallejo, R. L., Collins, W. W., & Moll, R. H. (1994). Inheritance of A and B Glandular Trichome Density and Polyphenol Oxidase Activity in Diploid Potatoes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119(4), 829–832. <https://doi.org/10.21273/jashs.119.4.829>

Van de Wiel, C., Schaart, J., Niks, R., & Visser, R. (2010). *Traditional plant breeding methods* (338). Wageningen UR Plant Breeding. Geraadpleegd op 18 maart 2022, van <https://edepot.wur.nl/141713>

Van der Lee, H. (2016). Hybride aardappel moet zich bewijzen. *Akker magazine*. Geraadpleegd op 7 januari 2022, van <https://edepot.wur.nl/395142#:~:text=Toch%20zijn%20er%20een%20aantal,d%20heeft%20voor%2D%20en%20nadelen.>

Van Iperen. (2018). *Aardappelen – Phytophthora – bestrijding en coloradokever*. Geraadpleegd op 7 november 2021, van <https://www.iperen.com/2018/05/23/aardappelen-phytophthora-bestrijding-en-coloradokever/>

Van Loon, J. (2018). Door eendrachtige samenwerking - De geschiedenis van de Aardappelveredeling in Nederland, van hobby tot industrie 1888-2018 [Proefschrift]. Wageningen University & Research, Wageningen

Verhiest, G. (2020). Coloradokever en larven zijn opnieuw massaal aanwezig. *Boer&tuinder*, 126(27), 26-29. Geraadpleegd op 22 december, van <https://edepot.wur.nl/525684>

Wijesinha-Bettoni, R., & Mouillé, B. (2019). The Contribution of Potatoes to Global Food Security, Nutrition and Healthy Diets. *American Journal of Potato Research*, 96(2), 139–149. <https://doi.org/10.1007/s12230-018-09697-1>

Wiskerke, P. J. (2019, 14 mei). *De Nederlandse aardappel dankt zijn unieke positie aan brede samenwerking en continue vernieuwing*. WUR. Geraadpleegd op 12 januari 2022, van <https://www.wur.nl/nl/nieuws/De-Nederlandse-aardappel-dankt-zijn-unieke-positie-aan-brede-samenwerking-en-continue-vernieuwing.htm>

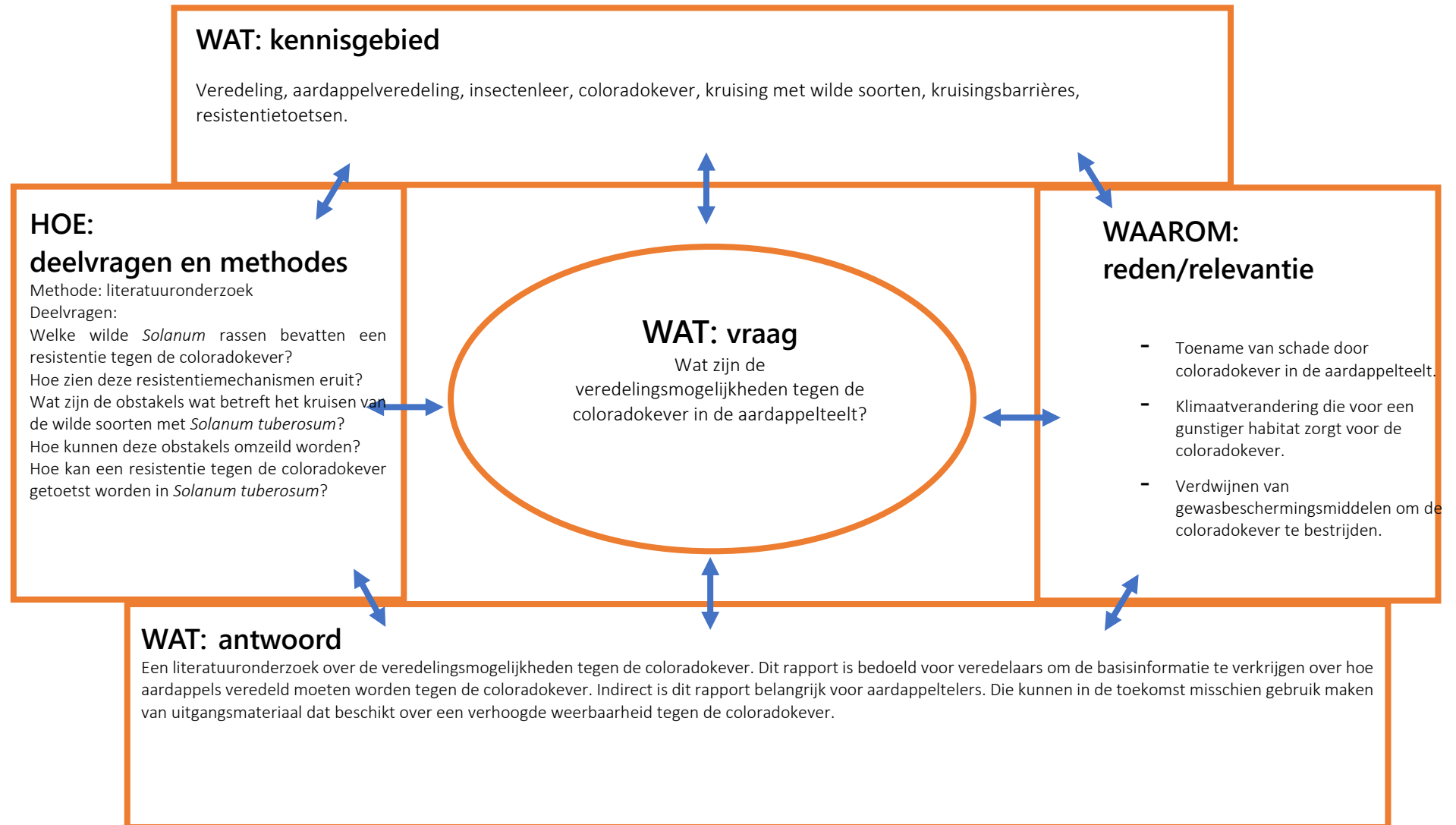
World Potato Congress. (2020, 20 februari). World revised figures show halt in rise in potato production. *World Potato Congress*. Geraadpleegd op 12 januari 2022, <https://potatocongress.org/news/world-revised-figures-show-halt-in-rise-in-potato-production/>

Yencho, G. C., Kowalski, S. P., Kennedy, G. G., & Sanford, L. L. (2000). Segregation of leptine glycoalkaloids and resistance to Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* (Say)) in F2 *Solanum tuberosum* (4x) × *S. chacoense* (4x) potato progenies. *American Journal of Potato Research*, 77(3), 167–178. <https://doi.org/10.1007/bf02853941>

Yencho, G. C., Renwick, J. A. A., Steffens, J. C., & Tingey, W. M. (1994). Leaf surface extracts of *Solanum berthaultii* hawkes deter colorado potato beetle feeding. *Journal of Chemical Ecology*, 20(5), 991–1007. <https://doi.org/10.1007/bf02059737>

Bijlage 1 Planplaatje

Jong, J. C. (2015). Handboek academisch schrijven. In stappen naar een essay, paper of scriptie. Coutinho BV. P. 4



Bijlage 2 Getoetste accessies met een resistentie tegen de coloradokever

Soort	Nummer accessie (nummer genotype)	Databank	Bron
<i>Solanum acroglossum</i>	PI 498204	Potato Introduction Station, NRSP-6, Sturgeon Bay, Wisconsin	Pelletier et al. (2007)
<i>S. chomatophilum</i>	PI 310991 PI 365325	Potato Introduction Station, NRSP-6, Sturgeon Bay, Wisconsin	Pelletier et al. (2007)
<i>S. paucissectum</i>	PI 365340	Potato Introduction Station, NRSP-6, Sturgeon Bay, Wisconsin	Pelletier et al. (2007)
<i>S. piurae</i>	PI 473501	Potato Introduction Station, NRSP-6, Sturgeon Bay, Wisconsin	Pelletier et al. (2007)
<i>S. tarnii</i>	PI 498044	Potato Introduction Station, NRSP-6, Sturgeon Bay, Wisconsin	Pelletier et al. (2007)
<i>S. pinnatisectum</i>	PI 253214 (005-3, 005-4, 005-6, 005-9) PI 275236 (006-4, 006-5, 007-7) PI 275233 (007-2, 007-4, 007-7) PI 275232 (019-7, 019-8) PI 184764 (020-6, 020-7) PI 186553 PI 186553	Potato Introduction Station, NRSP-6, Sturgeon Bay, Wisconsin ? USDA Germplasm Resources Information	Chen et al. (2003) Pelletier et al. (1999), Pelletier & Tai (2001)
<i>S. tarijense</i>	PI 414150 PI 473336 PI 473336 PI 414150	Potato Introduction Station, NRSP-6, Sturgeon Bay, Wisconsin ? USDA Germplasm Resources Information Potato Introduction Station, NRSP-6, Sturgeon Bay, Wisconsin	Fréchette et al. (2010) Pelletier et al. (1999) Pelletier & Tai (2001) Pelletier et al. (2001)
<i>S. polyadenium</i>	PI 230463 PI 230463 PI 230463	Potato Introduction Station, NRSP-6, Sturgeon Bay, Wisconsin ? USDA Germplasm Resources Information	Fréchette et al. (2010) Pelletier et al. (1999) Pelletier & Tai (2001)
<i>S. okadae</i>	PI 458367	Potato Introduction Station, NRSP-6, Sturgeon Bay, Wisconsin	Pelletier et al. (2001)
<i>S. oplocense</i>	PI 473368	Potato Introduction Station, NRSP-6, Sturgeon Bay, Wisconsin	Pelletier et al. (2001)
<i>S. capsicibaccatum</i>	PI 210036 PI 210036	? USDA Germplasm Resources Information	Pelletier et al. (1999) Pelletier & Tai (2001)
<i>S. jamesii</i>	PI 498407 PI 498407	?	Pelletier et al. (1999) Pelletier & Tai (2001)
<i>S. trifidum</i>	PI 283104 PI 255538 PI 255538	Potato Introduction Station, NRSP-6, Sturgeon Bay, Wisconsin ? USDA Germplasm Resources Information	Sikinyi et al. (1997) Pelletier et al. (1999) Pelletier & Tai (2001)
<i>S. neocardenasii</i>	PI 502642	?	Dimock et al. (1986)
<i>S. berthaultii</i>	PI 473331 PI 473331	? USDA Germplasm Resources Information	Pelletier et al. (1999) Pelletier & Tai (2001)
<i>S. chacoense</i>	PI 458310 PI 320287 PI 320294	? ? ?	Sanford et al. (1996) Hutvángner et al. (2001)
<i>S. immite</i>	-	-	Jansky et al. (2009)
<i>S. albornozii</i>	-	-	Jansky et al. (2009)
<i>S. commersonii</i>	-	-	Jansky et al. (2009)