



Nederlandse Voedsel- en
Warenautoriteit
*Ministerie van Landbouw, Visserij,
Voedselzekerheid en Natuur*

NVWA uitvoeringsprotocol resistentieonderzoek aardappelwratziekte

Dit protocol is een onderdeel van de Overeenkomst tussen de Nederlandse Voedsel en Waren Autoriteit en onderzoeksinstanties inzake het accepteren van gegevens van resistentieonderzoek naar aardappelwratziekte voor officiële doeleinden.

Versie: WZRES2024.3

Inhoud

1. Algemeen	3
1.1 Doel	3
1.2 Verklarende begrippen.....	3
1.3 Quarantaine eisen	3
2. Eisen aan onderzoeksinstanties die resistentieonderzoek uitvoeren	3
2.1 Algemeen.....	3
2.2 Organisatie	4
2.3 Kwaliteitsmanagement	4
2.4 Kwalificatie van personeel	4
2.5 Eisen aan monstercodering, registratie, administratie en archivering	4
3. Technische eisen aan onderzoeksmethode	5
3.1 Algemeen.....	5
3.2 Zuiverheid.....	5
3.3 Raschtheid	5
4. Technische uitvoering resistentietoets	6
4.1 Algemeen.....	6
4.2 Spieckermann-toets.....	6
4.3 Glynne-Lemmerzahl-toets (alleen voor fysio 1 (D1))	6
4.4 Beoordeling reactietypes.....	7
5. Verwerking van gegevens en dossier voor NVWA.....	7
5.1 Spieckermann methode	7
5.2 Glynne-Lemmerzahl methode	8
5.3 Mate van vatbaarheid	10
5.4 Bepaling van het eindresultaat.....	10
6. Tijdsplanning	11
7. Literatuur	11

1. Algemeen

1.1 Doel

Dit uitvoeringsprotocol voor het toetsen van aardappelcultivars op het niveau van resistentie tegen de verschillende pathotypen van *Synchytrium endobioticum*, de schimmel die wratziekte in aardappel veroorzaakt, is onderdeel van de overeenkomst inzake de afgifte van "verklaringen resistentieonderzoek aardappelwratziekte" en vormt de basis voor procedures en werkinstructies die bij de onderzoeksinstantie gebruikt worden voor het uitvoeren van het resistentieonderzoek. De naleving van dit protocol, zoals uitgewerkt in werkinstructies, wordt door middel van audits door de NVWA beoordeeld.

1.2 Verklarende begrippen

NVWA:	Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit
Pathotype:	fysio van <i>S. endobioticum</i> . Voor zover bekend komen in Nederland de volgende pathotypen voor: 1 (D1), 2 (G1), 6 (O1), 18 (T1) en 38 (Nevşehir).
Initiële audit:	audit uitgevoerd bij nieuwe aanvraag van een onderzoeksinstantie.
Jaarlijkse audit:	audit uitgevoerd bij een onderzoeksinstantie die reeds een "verklaring resistentie-onderzoek aardappelwratziekte" heeft.
Lichtkiemtoets:	identificatie van een aardappelras aan de hand van karakteristieken van de lichtkiem.
Q-afval:	quarantaine-afval.
WZ-resistentie:	resistentie tegen wratziekte in aardappel.

1.3 Quarantaine eisen

De onderzoeksinstantie beschikt over een geldige ontheffing in het kader van EU Verordening 2019/829, voorheen EU Richtlijn 2008/61/EG op basis waarvan mag worden gewerkt met *Synchytrium endobioticum*. Indien zich tijdens de uitvoering van werkzaamheden met deze schimmel of hiermee besmette materialen situaties voordoen die afbreuk doen aan de beoogde inperking, worden direct afdoende maatregelen genomen.

Tevens worden deze voorvallen in het desbetreffende logboek vermeld (hoofdstuk 4).

Er wordt onmiddellijk melding van deze voorvallen gedaan aan de coördinator van het desbetreffende procesonderdeel, daartoe aangewezen door de onderzoeksinstantie. Hierna wordt melding gedaan aan de teamleider van Team 3, afdeling NIVIP van de NVWA of diens vervanger, en aan de medewerker inspecteur akkerbouwgewassen van het team Expertise Fytopanitaire van de NVWA.

2. Eisen aan onderzoeksinstanties die resistentieonderzoek uitvoeren

2.1 Algemeen

- De onderzoeksinstantie beschikt over een vastgelegd kwaliteitsmanagementsysteem, onderhoudt dit en leeft dit na.
- Het kwaliteitsmanagementsysteem van de organisatie is geaccrediteerd volgens ISO 17025 (betreft organisatie in het algemeen om aan te tonen dat het bedrijf beschikt over een hoogwaardig kwaliteitssysteem. Het resistentieonderzoek behoeft niet in de scope van de accreditatie te zijn opgenomen). Ter verduidelijking zijn de minimum eisen voor het kwaliteitsmanagementsysteem vermeld in de paragrafen 2.2 t/m 2.5.
- De uitvoerende onderzoeksinstantie moet door de NVWA zijn aangewezen als Officieel Laboratorium (OL), volgens de EU Officiële Controle Verordening 2017-625 (OCR) artikel 37 eerste lid.
- De uitvoerende onderzoeksinstantie noch haar bij het resistentieonderzoek betrokken medewerkers hebben een aardappelkweekprogramma of zijn houder van enig kwekersrecht op aardappelrassen. Ook is de uitvoerende onderzoeksinstantie geen onderdeel van een rechtspersoon die zelf of via een (andere) dochteronderneming een aardappelkweekprogramma uitvoert/doet uitvoeren of houder is van enig kwekersrecht op aardappelrassen.

2.2 Organisatie

De onderzoeksinstantie

- a) beschikt over een organisatiestructuur en de middelen waardoor het in staat is de relevante werkzaamheden naar behoren uit te voeren;
- b) beschikt over voldoende leidinggevend - en technisch personeel met de nodige opleiding en bevoegdheden om zijn taken naar behoren uit te voeren;
- c) stelt de verantwoordelijkheden, taken, bevoegdheden, onderlinge verhoudingen en vervanging vast van alle personeelsleden die werkzaamheden beheren, uitvoeren of controleren m.b.t. relevante processen en draagt er zorg dat alle personeelsleden hiernaar handelen;
- d) wijst een verantwoordelijk manager aan voor het resistentieonderzoek wratziekte;
- e) zorgt ervoor dat personeel wordt gevrijwaard van ongepaste druk als gevolg waarvan de kwaliteit van het werk nadelig kan worden beïnvloed;
- f) zorgt ervoor dat het resultaat en de uitvoering van werkzaamheden in het kader van het resistentieonderzoek niet negatief beïnvloed worden door eventuele persoonlijke belangen die medewerkers hierbij kunnen hebben;
- g) voorziet in doeltreffende supervisie van personeel.

2.3 Kwaliteitsmanagement

- a) Vastleggen, bijhouden en uitvoeren van procedures en werkvoorschriften die ervoor dienen dat de kwaliteit (en waar van toepassing: de instelling) van alle relevante processen, ruimtes, uitrusting en materiaal voldoet en blijft voldoen aan het gestelde doel. De geautoriseerde procedures en werkvoorschriften zijn beschikbaar op alle relevante gebruikslocaties.
- b) Er is een procedure voor het behandelen van klachten en intern en extern gesignaleerde tekortkomingen.
- c) Voor het op peil houden van het kwaliteitsmanagementsysteem is een kwaliteitsmedewerker aangewezen die rechtstreeks toegang heeft tot de leiding van de afdelingen die betrokken zijn bij relevante processen en tot de directie van de onderzoeksinstantie.
- d) Voor wat betreft het resistentieonderzoek wratziekte houdt de onderzoeksinstantie een register bij van wijzigingen in procedures en werkinstructies.

2.4 Kwalificatie van personeel

- a) De voor uitvoering van het resistentieonderzoek benodigde kennis en vaardigheden, met name wat betreft de beoordeling van de reactietypen, is aantoonbaar aanwezig en wordt op peil gehouden.
- b) De taken en bevoegdheden van het personeel t.a.v. de verschillende uitvoeringsaspecten van het resistentieonderzoek wratziekte worden verleend op basis van relevante opleiding en vakbekwaamheid, training, vaardigheden en/of ervaring van de uitvoerende(n).
- c) Het kennisniveau wordt gecontroleerd door jaarlijkse deelname aan een (ring)onderzoek wratziekte (indien beschikbaar).

2.5 Eisen aan monstercodering, registratie, administratie en archivering

- a) Monsters worden anoniem verwerkt door de uitvoerende onderzoekers. Dit anonimiseren is belegd bij de coördinator/uitvoerder van het Cultuur- en gebruikswaardeonderzoek (CGO).
- b) De voorschriften en alle relevante registraties worden gedurende ten minste 10 jaar gearchiveerd, te rekenen vanaf ontvangst van het schriftelijk bericht van de coördinerende instantie, waarin is aangegeven dat het gehele resistentieonderzoek wratziekte (eerstejaars- en eindonderzoek) is afgerond. Alle gegevens zijn beschikbaar voor de NVWA (auditor).
- c) De gegevens bevatten onder andere: uitslagen van eerstejaars- en eindonderzoek, incl. labjournaal en logboek, uitslagen van zuiverheidsonderzoek, het verloop van temperatuur en luchtvochtigheid in de klimaatcel, personeelsregistraties en kalibratiegegevens.
- d) Waarnemingen worden geregistreerd op het moment dat ze worden gedaan en zijn door middel van identificatie herleidbaar tot de persoon die de registratie heeft uitgevoerd.
- e) Fouten in registraties worden niet gewist, onleesbaar gemaakt of verwijderd maar doorgestreept. Daarna wordt de juiste waarde ernaast aangegeven, voorzien van een paraaf van de persoon die de correctie aanbrengt. **In digitale logboeken kan als paraaf de initialen worden toegevoegd, al dan niet als opmerking bij de doorgestreepte tekst.**
- f) Alle geldende en vervallen kwaliteitsdocumenten en registraties m.b.t. het resistentieonderzoek wratziekte zijn duidelijk leesbaar en worden zodanig opgeslagen en bewaard dat ze eenvoudig

opvraagbaar zijn. Dit archief is opgeslagen in faciliteiten die een geschikte omgeving bieden om schade, achteruitgang en verlies te voorkomen.

3. Technische eisen aan onderzoeksmethode

3.1 Algemeen

- a) Het resistentieonderzoek wordt uitgevoerd gebruik makende van een hiervoor toegestane toets volgens artikel 7, lid 2 van uitvoeringsverordening (EU)2022/1195. Voor resistentieonderzoek kan de Spieckermann-methode (Spieckermann & Kotthoff, 1924) worden toegepast. Deze methode is beschreven in het EPPO-protocol 'Diagnostic protocols for regulated pests, Synchytrium endobioticum' (EPPO, 2017). Daarnaast kan voor toetsing op fysio 1(D1) ook de Glynne-Lemmerzahn methode worden toegepast (EPPO, 2017).
- b) Bij een initiële audit bestaat de te beoordelen proefopzet tenminste uit:
 - Twee verschillende pathotypen.
 - Vier toetsrassen per pathotype (eerstejaars- of eindonderzoek).
- c) Er wordt uitsluitend inoculum van zuivere populaties gebruikt. Voornoemd inoculum is geproduceerd door een instantie die in het kader van EU Verordening 2019/829, voorheen EG-richtlijn 2008/61/EG goedkeuring van de bevoegde instantie heeft verkregen. Indien de organisatie inoculum wil betrekken van een producent die het inoculum niet onder toezicht van de NVWA produceert, dient hieraan voorafgaand toestemming aan de NVWA te worden gevraagd.

3.2 Zuiverheid

- a) Het voor het onderzoek gebruikte inoculum is voorafgaande aan het resistentieonderzoek tenminste één maal op zuiverheid getoetst.
- b) Het inoculum voldoet aan de volgende eisen van zuiverheid: 'Op de voor het pathotype gevoelige rassen dienen zich wratten te vormen, op de resistente rassen niet (EPPO, 2017)'.
- c) De zuiverheid van het inoculum wordt bepaald door gebruik te maken van de volgende toetsrassen ('differentials'):

Ras	Fysio 1(D1)	Fysio 2(G1)	Fysio 6(O1)	Fysio 18(T1)	Fysio 38 (Nevşehir)
Tomensa/Evora/Deodara	+	+	+	+	+
Irga/ Producent	-	+	+	+	+
Talent	-	-	-	+	+
Saphir	-	+	-	-	+
Gawin/Karolin/Belita	-	-	-	-	-

+ = wratvorming
 - = geen wratvorming

- d) Voor pathotype 1 (D1) volstaat het om de zuiverheid vast te stellen met een vatbare controle (bijv. Deodara) + het ras Producent (eventueel Irga) met 54 oogstukjes van beide rassen. Voor de andere rassen genoemd in bovenstaande tabel is het voldoende om in dit geval 27 oogstukjes te toetsen.
- e) De identiteit van het inoculum dient gehandhaafd te blijven en door middel van productiejaar en code van de populatie geregistreerd te worden.
- f) Het zuiverheidsonderzoek wordt uitgevoerd onder toezicht van de NVWA. Indien het zuiverheidsonderzoek bij de toeleverancier is uitgevoerd, dient de organisatie over een verklaring te beschikken van de toeleverancier. Deze verklaring moet de volgende gegevens bevatten: de uitslag van het zuiverheidsonderzoek, jaar van toetsing en de verklaring dat het zuiverheidsonderzoek onder toezicht van de NVWA is uitgevoerd (volgens auditprotocol).

3.3 Rasechtheid

De rasechtheid van toetsrassen en controlerassen is voorafgaande aan het eindejaarsonderzoek door middel van een lichtkiemonderzoek en of DNA onderzoek vastgesteld. Voornoemd

rasedheids-onderzoek wordt uitgevoerd door een vooraf door de NVWA goedgekeurd onafhankelijk instituut.

4. Technische uitvoering resistentietoets

4.1 Algemeen

- a) Uitvoering van de in paragraaf 3.1 genoemde Spieckermann-toets en Glynne-Lemmerzahl toets vindt uitsluitend plaats in een kas, klimaatcel of klimaatkast (EPPO, 2020). De temperatuur en luchtvochtigheid in deze ruimtes moeten gedurende het gehele onderzoek geregistreerd worden. Er dient een gekalibreerde temperatuur- en hygrometer in de ruimte aanwezig te zijn. Afwijkingen van de optimale klimaatcondities moeten worden geregistreerd.
- b) Uitrusting, ruimten en materialen dienen geschikt te zijn voor het beoogde gebruiksdoel. Uitrusting wordt adequaat onderhouden en zo vaak gecontroleerd en gekalibreerd als nodig is. Ze wordt in zodanige staat gehouden dat ze goed functioneert. Defecte apparatuur wordt direct uit gebruik genomen. Defecten aan apparatuur die tijdens het onderzoek worden vastgesteld, dienen in een logboek te worden geregistreerd.
- c) Inoculum moet worden bewaard in goed afgesloten tonnen die met unieke codes gelabeld te zijn. Het inoculum dient in een andere ruimte te worden opgeslagen dan de ruimte waarin de proeven worden uitgevoerd.
- d) Er dienen effectieve maatregelen te zijn genomen tegen het gevaar van kruisbesmetting tussen proeven met verschillende pathotypen.
- e) Voor het beoordelen van de oogstekken dienen binoculair met een vergroting tot minimaal 25x te worden gebruikt. Relevante handelingen die in het kader van het WZ-resistentieonderzoek verricht worden, dienen geregistreerd te worden in een labjournaal met vermelding van tijdstip, plaats, uitvoerende persoon en verantwoordelijke persoon.

4.2 Spieckermann-toets

- a) De Spieckermann-toets wordt in twee verschillende jaren uitgevoerd, beide in 108 herhalingen. Hierbij worden per toetsbak twee verschillende rassen beproefd (2 x 54 oogstekken).
- b) In beide jaren dient het onderzoek te worden uitgevoerd onder code zonder vermelding van rasnaam. De codering van de rassen vindt plaats door een onafhankelijke, coördinerende instantie; dit ter beoordeling van de NVWA.
- c) Ter controle van de methode en zuiverheid van het inoculum worden vatbare en resistente controlerasen opgenomen in de toetsing. Per toetsbak 9 knolstukjes van een vatbaar controleras (bijvoorbeeld Corine of Deodara) en 9 knolstukjes van een resistent ras (bij voorkeur Producent voor fysio 1 (D1), Belita voor fysio 2 (G1), Belita of Saphir voor fysio 6 (O1), en Belita voor fysio 18 (T1) en fysio 38 (Nevşehir).
- d) De toetsen kunnen het best in de periode december-april worden uitgevoerd. Het pootgoed wordt eventueel voorgekiemd. De compost moet op het moment van inoculatie goed strooibaar zijn. Met het ponsapparaat worden oogstekken (ongeveer 2 x 2 x 2 cm) gesneden. Na verkurking gedurende 1 à 2 dagen (wondheling om ongewenste schimmelinfecties te voorkomen) worden de oogstekken, gescheiden door stokjes, per ras op de zachtboard bodemplaat in een bakje geplaatst. De oogstekken worden vervolgens natgemaakt en afgedekt met de geïnfecteerde compost (ongeveer 1 gram per oogststek).
- e) De toetsing vindt plaats in het donker, onder geconditioneerde omstandigheden. De luchtvochtigheid dient > 80% te bedragen, de streef temperatuur is 15-17 graden Celcius. De compost wordt vochtig gehouden door regelmatig sproeien met een fijne nevel. Wanneer de kiemen langer worden dan ca. 10 cm, worden ze teruggesnoeid tot ca. 1 cm. Na ongeveer 8 weken wordt de bio-toets beëindigd door met een broes de oude compost van de oogstekken te verwijderen.

4.3 Glynne-Lemmerzahl-toets (alleen voor fysio 1 (D1))

- a) Bij deze toets dienen per toetsjaar twee onafhankelijke toetsen, van elk 15 oogstekken, te worden uitgevoerd. In totaal zijn de uitslagen van twee verschillende toetsjaren noodzakelijk om tot een einduitslag te komen. Het onderzoek dient te worden uitgevoerd onder code zonder

vermelding van rasnaam. De codering van de rassen vindt plaats door een onafhankelijke, coördinerende instantie; dit ter beoordeling van de NVWA.

- b) Ter controle van de methode en zuiverheid van het inoculum worden een vatbaar en een resistent controleras opgenomen in de toetsing. Per bakje worden 5 oogstekken van een resistent ras (bijvoorbeeld Producent) en 5 oogstekken van een vatbaar ras (bijvoorbeeld Corine of Deodara) toegevoegd.
- c) Voor deze toetsing is vers wratmateriaal noodzakelijk, bijvoorbeeld verkregen uit een Spieckermann-toets.
- d) Met een mes of ponsapparaat worden oogstekken gesneden (ongeveer 3 x 3 x 3 cm), de oogstek moet horizontaal liggen. De kiem mag bij inoculeren maximaal 1-2 mm lang zijn, anders terugsnoeien.
- e) Laat de wonden helen/verkurken gedurende 1 à 2 dagen.
- f) Vervolgens wordt een ring van vaseline rondom de kiem gelegd; deze ringen laten uitharden (min. 0,5 uur).
- g) Vervolgens worden de ringen met water gevuld, en wordt gecontroleerd of ze waterdicht zijn.
- h) Vervolgens wordt een stuk vers, jong wratweefsel (ca. 1 cm³) in het water geplaatst (vermijd contact van het snijvlak v/d wrat met het water).
- i) Incubatie vindt plaats in het donker bij 8-12 °C, gedurende 2 dagen (infectie-proces).
- j) Daarna de stukjes wratmateriaal verwijderen en het water uit de ring laten weglopen.
- k) Indien gewenst kunnen de oogstekken worden bedekt met een laagje zand/potgrond.
- l) De oogstekken worden bij 16-18 °C in het donker weggezet en regelmatig bevochtigd.
- m) Na ongeveer vier á zes weken worden de oogstekken beoordeeld.

4.4 Beoordeling reactietypes

- a) De oogstekken worden bij een vergroting van 6 - 6,5 x (voor details bij een vergroting van 25x) beoordeeld op het aantastingstype.
- b) Bij de Spieckermann toets worden de volgende aantastingstypen onderscheiden (naar Hille, 1965):
 - 3 resistentietypen - vroege, late of zeer late afweernecrose (-, P en F); 1 overgangstype (weinig vatbaar) waarbij wel vorming van enkele sporangiën, maar geen vorming van wratten optreedt (type R);
 - 6 vatbaarheidstypen: wratvorming in oplopende grootte (typen I t/m V en X - wratten groter dan 15 mm).
- c) Bij de Glynne-Lemmerzahl toets wordt geen onderscheid in wratgrootte gemaakt. In totaal onderscheiden we daar vijf reactie-typen: -, P, F, R-type (als bij Spieckermann) en tot slot een vijfde klasse: type 'wrat'.
- d) De uitslagen van de toets worden weergegeven op een formulier. Hierbij wordt per herhaling het type afweer- of vatbaarheidsreactie aangegeven.

5. Verwerking van gegevens en dossier voor NVWA

De resistentie van een ras tegen wratziekte wordt in het laboratorium getoetst volgens de methode van Spieckermann, of -alleen voor fysio 1 (D1)- volgens de Glynne-Lemmerzahl methode.

5.1 Spieckermann methode

De betrouwbaarheid van een uitspraak over de WZ-resistentie van nieuwe aardappelrassen is afhankelijk van de identiteit en de kwaliteit van het inoculum, van de toetsomstandigheden en van de nauwkeurigheid van de bepalingen aan de getoetste rassen. Ze wordt per proef of per bakje/kistje beoordeeld. De betrouwbaarheid van een uitspraak over de WZ-resistentie wordt als volgt beoordeeld:

- a) de identiteit van het inoculum wordt gecontroleerd door onderscheidende referentierassen mee te laten lopen (9 oogstekken per kistje). De reacties van deze rassen (vatbaar of resistent) moet overeenstemmen met de bekende resistentie van die rassen tegen het fysio waarmee geïnoculeerd is. Om dit betrouwbaar vast te kunnen stellen, mag per resistent referentieras niet meer dan 22% (2 uit 9) van de oogstekken zijn uitgevallen door rot (of andere vormen van ontbrekende waarnemingen). Dit wordt getoetst voor elke proef en inoculumherkomst afzonderlijk. Eerstejaars- en eindejaarsonderzoek mogen hierbij worden gecombineerd. Wordt

de norm per proef niet gehaald, dan wordt per kistje beoordeeld op dit criterium. Bij een vatbaar ras volstaat het om te hebben aangetoond dat de reactie vatbaar is, ook al wordt de norm voor uitval (22%) overschreden.

- b) de vitaliteit van het inoculum wordt gecontroleerd door vast te stellen of het vatbare referentieras voldoende wratten type X heeft gevormd, dat wil zeggen op 33% (3 uit 9) van de oogstekken. Dit wordt getoetst voor elke proef en inoculumherkomst afzonderlijk. Eerstejaars- en eindejaarsonderzoek mogen hierbij worden gecombineerd. Wordt de norm per proef niet gehaald, dan wordt per kistje beoordeeld op dit criterium.
- c) bij resistente referentierassen zijn uitsluitend de reactietypen -, P en F toegestaan.
- d) de betrouwbaarheid van de toetsuitslagen van het onderzochte ras wordt afgemeten aan het aantal uitvallers. Maximaal 10% van de oogstekken van een toetsras mag rot zijn of op een andere manier een ontbrekende waarneming opleveren. Dit wordt bepaald per kistje. Eventuele problemen met de identiteit van een ras kunnen zo mogelijk achteraf worden gecontroleerd m.b.v. moleculaire technieken.
- e) In sommige gevallen kan er bij een onbesliste uitslag wel een bindende uitspraak worden gedaan over de einduitslag op basis van bovengenoemde criteria. Bijvoorbeeld: een onbesliste uitslag vanwege teveel rot, waarbij wratten van type X waren gevonden, kan tot de einduitslag 'Vatbaar' leiden.

De uitslag van het eerstejaarsonderzoek of van het eindonderzoek wordt bepaald op basis van de volgende normen:

Klasse	Waarnemingen
'niet aangetast' (NA; eerstejaarsonderzoek) 'resistent' (R; eindonderzoek)	Alleen resistentietypen: -, P en F
Weinig vatbaar (WV)	1 of meer R-typen
Weinig vatbaar/vatbaar (WV/V)	Max. 3 kleine wratten (type I tot V) en geen type X; al of niet samen met R-typen
Vatbaar (V)	Meer dan 3 kleine wratten (type I tot V) en/of grote wratten (type X)
Onbeslist	Proef met onbruikbare uitslagen

5.2 Glynne-Lemmerzahl methode

De betrouwbaarheid van een uitspraak over de WZ-resistentie van nieuwe aardappelrassen is afhankelijk van de identiteit en de kwaliteit van het inoculum, van de toetsomstandigheden en van de nauwkeurigheid van de bepalingen aan de getoetste rassen. Ze wordt per proef of per kistje beoordeeld. De betrouwbaarheid van een uitspraak over de WZ-resistentie wordt als volgt beoordeeld:

- a) de identiteit van het inoculum wordt gecontroleerd door onderscheidende referentierassen mee te laten lopen (5 oogstekken per kistje/bakje). De reacties van deze rassen (vatbaar of resistent) moet overeenstemmen met de bekende resistentie van die rassen tegen het fysio (1 (D1)) waarmee geïnoculeerd is. Om dit betrouwbaar vast te kunnen stellen mag per resistent referentieras niet meer dan 20% (1 uit 5) van de oogstekken zijn uitgevallen door rot of andere vormen van ontbrekende waarnemingen. Dit wordt getoetst voor elke proef en inoculumherkomst afzonderlijk. Eerstejaars- en eindejaarsonderzoek mogen hierbij worden gecombineerd. Wordt de norm per proef niet gehaald, dan wordt per kistje beoordeeld op dit criterium. Bij een vatbaar ras volstaat het om te hebben aangetoond dat de reactie vatbaar is, ook al wordt de norm voor uitval (20%) overschreden.
- b) de vitaliteit van het inoculum wordt gecontroleerd door vast te stellen of het vatbare referentieras voldoende wratten heeft gevormd. Dit wordt getoetst voor elke proef en inoculumherkomst afzonderlijk. Eerstejaars- en eindejaarsonderzoek mogen hierbij worden gecombineerd. Bij de Glynne-Lemmerzahl methode dient minimaal 40% (2 uit 5) van de oogstekken van het vatbare referentieras wratvorming te tonen ('type' wrat). Wordt de norm per proef niet gehaald, dan wordt per kistje beoordeeld op dit criterium.
- c) bij resistente referentierassen zijn uitsluitend de reactietypen -, P en F toegestaan.
- d) de betrouwbaarheid van de toetsuitslagen van het onderzochte ras wordt afgemeten aan het aantal uitvallers. Maximaal 2 uit 15 oogstukjes van een toetsras mogen rot zijn of op een andere manier een ontbrekende waarneming opleveren. Dit wordt bepaald per kistje.

e) Eventuele problemen met de identiteit van een ras kunnen zo mogelijk achteraf worden gecontroleerd m.b.v. moleculaire technieken.

In sommige gevallen kan er bij een onbesliste uitslag wel een bindende uitspraak worden gedaan over de einduitslag op basis van bovengenoemde criteria. Bijvoorbeeld: een onbesliste uitslag vanwege teveel rot, waarbij duidelijk wratten zijn gevormd op het toetsras, kan tot einduitslag 'Vatbaar' leiden.

De uitslag van de toetsen met Glynne-Lemmerzahl wordt bepaald op basis van de volgende normen:

Klasse	Waarnemingen
'niet aangetast' (NA; eerstejaaronderzoek) 'resistent' (R; eindonderzoek)	Alleen resistentietypen: -, P en F
Weinig vatbaar (WV)	1 of meer R-typen
Vatbaar (V)	1 of meer wratten
Onbeslist	Proef met onbruikbare uitslagen

5.3 Mate van vatbaarheid

Ten behoeve van de toelating van aardappelrassen in de verschillende preventiegebieden in Nederland (teeltvoorschrift wratziekte), wordt de klasse 'Vatbaar' in de Spieckermann-toets uitgesplitst in Licht, Matig en Zwaar Vatbaar. "Zwaar Vatbare" rassen worden niet opgenomen in de betreffende lijst(en) en zijn derhalve niet toegestaan. Voor bepaling van de einduitslag zijn twee toetsjaren nodig, waarbij in beide jaren 108 oogstukjes worden getoetst in een Spieckermann-toets. In sommige gevallen is nog een derde toetsjaar noodzakelijk om tot een einduitslag te komen; dit in geval er een jaar is met uitslag.

'Onbeslist'. De uitslag van het eerstejaars- en tweedejaars onderzoek wordt bepaald op basis van de volgende normen:

Vatbaarheidsklasse	Waarnemingen	Cijfer
Licht vatbaar (LV)	Max. 25 kleine wratten (type I t/m III); max. 5 grote wratten (type IV t/m X); max. 1 wrat type X	8
Matig vatbaar (MV)	Max. 25 wratten van type IV t/m X; max. 5 wratten type X	6
Zwaar vatbaar (ZV)	Meer dan 25 wratten van type IV t/m X; of meer dan 5 grote wratten (type	< 5

5.4 Bepaling van het eindresultaat

De uitslagen van het eerstejaaronderzoek en het eindonderzoek samen bepalen de einduitslag van een ras. De einduitslag wordt bepaald aan de hand van onderstaand schema (einduitslagen staan vetgedrukt). Wanneer de uitslag van één van de jaren onbeslist is, moet de toets worden herhaald.

Jaar 1	Jaar 2					
	NA/R	WV	WV/V	Licht vatbaar	Matig vatbaar	Zwaar vatbaar
NA	R	WV	WV	Licht vatbaar	Matig vatbaar	Zwaar vatbaar
WV	WV	WV	WV	Licht vatbaar	Matig vatbaar	Zwaar vatbaar
WV/V	WV	WV	WV	Licht vatbaar	Matig vatbaar	Zwaar vatbaar
Licht vatbaar	Licht vatbaar	Licht vatbaar	Licht vatbaar	Licht vatbaar	Matig vatbaar	Zwaar vatbaar
Matig vatbaar	Matig vatbaar	Matig vatbaar	Matig vatbaar	Matig vatbaar	Matig vatbaar	Zwaar vatbaar
Zwaar vatbaar	Zwaar vatbaar	Zwaar vatbaar	Zwaar vatbaar	Zwaar vatbaar	Zwaar vatbaar	Zwaar vatbaar

Omdat in de lijsten met toegelaten rassen (Lijst D, O en T) de mate van resistentie/vatbaarheid weergegeven wordt d.m.v. een cijfer, worden de volgende cijfers toegekend aan de eindresultaten:

Eindresultaat		Cijfer
R	Resistent	10
WV	Weinig vatbaar	9
LV	Licht vatbaar	8
MV	Matig vatbaar	6
ZV	Zwaar vatbaar	<5

Op de lijsten worden uitsluitend rassen opgenomen met minimaal een 6.

6. Tijdsplanning

Onderstaande tabel geeft de tijdlijn van de gegevensverwerking weer.

Onderdeel	Wie	Deadline
Rassen aanmelden voor resistentieonderzoek	kwekers	< 15 december
Coderen rassen	CGO coördinator	< 15 januari
Resistentieonderzoek + gegevensverwerking	onderzoekslaboratorium	<= 1 juni
Controleren gegevens + uitslag	NVWA	<= 15 juli
Bepalen vatbaarheidscijfers LV t/m ZV	NVWA	< 1 september
Uitslag naar kweker	CGO coördinator	< 15 september
Voorleggen concept totaallijst aan Plantum NL	NVWA	< 1 oktober
Reactie geven op totaallijst aan NVWA	Plantum NL	< 1 november
Concept-Naamlijst en de lijsten D, O en T voorleggen aan Plantum NL	NVWA	< 1 december
Reactie geven op conceptlijsten	Plantum NL	< 15 januari
Afgeven Engelstalige verklaring voor definitieve cijfers resistentieonderzoek aan kwekers	-	< 1 januari
Notificering naamlijst naar EU	NVWA	< 1 februari

De bedrijven die rassen aanmelden voor het officiële resistentieonderzoek zijn eigenaar van de uitslagen van het resistentieonderzoek, zijnde de ruwe toetsdata en de analyse daarvan. De coördinator van het gebruikswaardenonderzoek informeert de afzonderlijke bedrijven over de uitslagen van het resistentieonderzoek (en vatbaarheidsonderzoek) van de door hen aangemelde rassen.

De NVWA verstrekt geen ruwe toetsdata met vermelding van bijbehorend ras aan derden.

7. Literatuur

EPPO (2017) EPPO standards PM 7/28(2) *Synchytrium endobioticum*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 47(3),420-440

EPPO (2020) Phytosanitary procedures PM 3/88 (1) Testing of potato varieties to assess resistance to *Synchytrium endobioticum*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 50(3),364-371

Hille M (1965) Die Beurteilung von Kartoffelsorten hinsichtlich ihres Verhaltens gegenüber *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc., dem Erreger des Kartoffelkrebses. Nachrichtenblatt des deutschen Pflanzenschutzdienstes (Braunschweig) 17, 137-142.

Spieckermann A & Kotthoff P (1924) Die Prüfung von Kartoffeln auf Krebsfestigkeit. Deutsche Landwirtschaftliche Presse 51, 114-115.