

# Toetsontwikkeling op virussen in *Zantedeschia*

Maarten de Kock en Khanh Pham (Praktijkonderzoek Plant en Omgeving)

Ton van Schadewijk en Roberto Miglino (Bloembollenkeuringsdienst)

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit

Mei 2009

PT nr. 12951

PPO nr. 32 340420 00

© 2009 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.



PPO-BBF Projectnummer: 32 340420 00  
PT Projectnummer: 12951

**Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.**

Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit

Adres : Prof. van Slogterenweg 2, Lisse

: Postbus 85, 2160 AB Lisse

Tel. : 0252 – 462 121

Fax : 0252 – 462 100

E-mail : [infobollen.ppo@wur.nl](mailto:infobollen.ppo@wur.nl)

Internet : [www.ppo.wur.nl](http://www.ppo.wur.nl)

# Inhoudsopgave

	pagina
SAMENVATTING.....	5
1 INLEIDING .....	7
1.1 Toetsen op virus in <i>Zantedeschia</i> .....	7
1.2 Infectie van <i>Zantedeschia</i> met BYMV .....	7
1.3 Doelstellingen en opzet van onderzoek.....	8
2 VIRUSSEN IN <i>ZANTEDESCHIA</i> .....	9
3 DIAGNOSTIEK VAN VIRUSSEN IN <i>ZANTEDESCHIA</i> .....	11
3.1 Virustoetsen m.b.v. ELISA .....	11
3.2 Virustoetsen m.b.v. PCR.....	12
4 ANALYSE VAN PRAKTIJKMATERIAAL.....	15
4.1 Plan van aanpak.....	15
4.2 Resultaten en Discussie.....	15
4.2.1 PCR-analyse van praktijkmateriaal .....	15
4.2.2 ELISA-analyse van praktijkmateriaal .....	16
4.2.3 Visuele symptomen.....	19
4.3 Conclusie .....	20
5 VASTSTELLEN OF BYMV ZICH BLIJVEND KAN VESTIGEN IN <i>ZANTEDESCHIA</i> .....	21
5.1 Introductie.....	21
5.2 Proefopzet.....	21
5.3 Resultaten en discussie .....	21
5.4 Conclusies .....	24
6 ALGEMENE CONCLUSIES.....	25
BIJLAGE A – WETENSCHAPPELIJKE PUBLICATIES OVER VIRUSSEN IN <i>ZANTEDESCHIA</i> .....	27
BIJLAGE B – VIRUSSYMPTOMEN BIJ <i>ZANTEDESCHIA</i> .....	31
BIJLAGE C – SYMPTOMEN IN <i>ZANTEDESCHIA</i> DIE NIET DOOR VIRUS WORDEN VEROORZAAKT.....	37
BIJLAGE D – WAARDPLANTENREEKS VAN VIRUSSEN – GESORTEERD PER VIRUS.....	39
BIJLAGE E – WAARDPLANTENREEKS VAN VIRUSSEN S- GESORTEERD PER WAARDPLANT .....	43



# Samenvatting

*Zantedeschia* (=Calla) heeft zich ontwikkeld tot een belangrijk siergewas. Voor de productie van snijbloemen en potplanten is een goede kwaliteit vereist. Virus kan een sterk negatieve invloed hebben op de kwaliteit door o.a. groeimisvorming en kleurbreking op blad en bloem. Een kleine tien jaar geleden is de BKD op verzoek van het vak gestart met een keuring op o.a. zichtbaar virus. Sinds het groeiseizoen van 2003 zijn de virusproblemen ondanks de keuring alleen maar groter geworden. Het beperken van virusverspreiding in *Zantedeschia* is daarom recent in detail bestudeerd (PT-project 12048). Daarnaast is een goed toetsenpakket belangrijk om virusvrij uitgangsmateriaal te kunnen realiseren. Zonder robuuste toetsen op virussen in *Zantedeschia* is dit haast onmogelijk te verwezenlijken.

Er zijn veel verschillende virussen gevonden in *Zantedeschia* en dit aantal is de afgelopen jaren verder gestegen. Een aantal virussen in *Zantedeschia* kan prima via serologische methoden als ELISA worden aangetoond; andere virussen alleen door middel van PCR. Voor sommige virussen in *Zantedeschia* waren bij de Bloembollenkeuringsdienst (BKD) en Praktijkonderzoek Plant en Omgeving (PPO-BBF) geen goede detectiemethoden aanwezig, of was bekend dat ze slecht met de bestaande toetsmethoden te detecteren zijn. Dit was een onbevredigende situatie, met name voor bedrijven die schoon uitgangsmateriaal willen uitleveren. Daarom heeft dit project als belangrijkste doel de kennis over virussen in *Zantedeschia* te vergroten en het pakket aan toetsmogelijkheden compleet te maken. De ELISA- en PCR-toetsen zijn binnen dit project gevalideerd met praktijkmateriaal en het protocol voor het toetsen op uitgangsmateriaal is geëvalueerd.

Dit project heeft geleid tot een overzicht van 21 virussen waarvan tot en met april 2009 gerapporteerd was dat deze virussen in *Zantedeschia* kunnen voorkomen. Op aanvraag van de begeleidingscommissie is een overzicht gemaakt van de waardplanten van deze virussen en is informatie verzameld over de wijze van virusverspreiding. De meeste virussen hebben een redelijk beperkte waardplantenreeks. Daarentegen kan *Zantedeschia* ook geïnfecteerd worden door virussen met een zeer brede waardplantenreeks (bijv. AMV, ArMV en CMV). Virussen van *Zantedeschia* worden voornamelijk door bladluizen of trips verspreid. Ook zijn er enkele virussen waarvan bekend is dat deze door nematoden worden verspreid.

Voor zo ver als mogelijk zijn voor deze 21 virussen de beschikbare ELISA-toetsen bij de BKD op orde gebracht. Daarnaast is voor deze 21 virussen een overzicht gemaakt van beschikbare PCR-toetsen. Zowel een serie generieke PCR-toetsen zijn beschikbaar gekomen als ook een groot aantal virusspecifieke PCR-toetsen. Deze lijst met ELISA- en PCR-toetsen kunnen worden gebruikt voor de selectie van virusvrij uitgangsmateriaal en voor virusidentificatie van virusgeïnfecteerde planten.

Zowel door PPO-BBF als de BKD is praktijkmateriaal uitgebreid geanalyseerd met de beschikbare PCR- en ELISA-toetsen. Uit deze inventarisatie blijkt dat in Nederland in *Zantedeschia* vooral potyvirusen worden aangetroffen (voornamelijk ZaMMV en CLLV, regelmatig ZaMV, KoMV of DsMV, bijna geen TuMV). Sporadisch komt INSV voor. Veel van de virussen waarvan infectie in *Zantedeschia* ooit is beschreven, zijn niet aangetroffen bij deze analyse van praktijkmateriaal. De analyse van praktijkmateriaal heeft niet geleid tot onverwachte of onverklaarbare resultaten. Er kan dus geconcludeerd worden dat de beschikbare PCR- en ELISA-toetsen goed aansluiten bij de virussen die in de praktijk voorkomen.

Naast specifieke ELISA-toetsen voor TSWV, INSV, CMV en ArMV kan voor de potyvirusen in de praktijk worden volstaan met een potyA-toets in combinatie met een ZaMV-toets. De virusidentificatie door middel van ELISA is echter niet robuust; alleen met PCR kan een virus betrouwbaar worden geïdentificeerd. De systematiek die BQ-Support aanbiedt voor virustoetsing in *Zantedeschia* sluit daarom nog steeds aan bij deze up-to-date kennis. Een aanpassing van dit protocol is daarom niet nodig.

Voor diverse virussen zijn de typische virussymptomen in *Zantedeschia* beschreven. Op basis van symptomen kan er daarom voorzichtig een inschatting gemaakt worden met welk virus een *Zantedeschia* is geïnfecteerd. Omdat er tussen verschillende cultivars kleine verschillen zijn in virusbeeld, is alleen met PCR de identiteit van virus betrouwbaar te bepalen.

Als laatste is in dit project bepaald of BYMV zich blijvend kan vestigen in *Zantedeschia*. Overdrachtproeven van BYMV van gladiool naar *Zantedeschia* hebben bevestigd dat BYMV door bladluizen van gladiool kan worden overgedragen naar *Zantedeschia*. Daarnaast is voor de eerste keer een infectie

van gladiool en *Zantedeschia* met het potyvirus *Ornithogalum* mozaïekvirus (OrMV) gevonden. Net als andere potyvirusen kan OrMV door bladluizen van gladiool overgedragen worden naar *Zantedeschia*. Tweedejaarsinfecties met BYMV en OrMV zijn niet waargenomen waardoor er geen aanwijzingen zijn dat deze potyvirusen in *Zantedeschia*-knollen kunnen overleven. Alleen in het jaar van infectie met BYMV en/of OrMV zal dit virus symptomen veroorzaken. In het daaropvolgende seizoen zijn de knollen weer vrij van deze virussen. Met betrekking tot afkeuring of degradatie van teeltpartijen is het daarom zeker relevant om door middel van een PCR-toets te achterhalen met welk (poty)virus een partij is geïnfecteerd. Op basis van deze informatie kan men het risico inschatten of een virusgeïnfecteerde partij het volgende jaar nog steeds virusgeïnfecteerd is.

# 1 Inleiding

## 1.1 Toetsen op virus in *Zantedeschia*

*Zantedeschia* (synoniem=Calla) heeft zich ontwikkeld tot een belangrijk siergewas; de omzet bedroeg in 2005 € 35 miljoen euro en neemt jaarlijks nog toe. De afgelopen jaren is het opgeplante oppervlak gestegen naar een kleine 150 ha. De enorme uitbreiding van het areaal is mogelijk geworden door het gebruik van de knollen voor snijbloem- en potplantproductie. Voor de productie van snijbloemen en potplanten is een goede kwaliteit vereist. Enkele jaren geleden is de BKD op verzoek van het vak gestart met een keuring o.a. op zichtbaar virus. Virus kan een sterk negatieve invloed hebben op de kwaliteit door o.a. groeimisvorming en bloemkleurbreking. Sinds het groeiseizoen van 2003 zijn de virusproblemen ondanks de keuring alleen maar groter geworden. Het beperken van virusverspreiding in *Zantedeschia* is gedurende de jaren 2005 t/m 2007 in detail bestudeerd (zie ook PT project 12048). Daarnaast is een goed toetsenpakket belangrijk om virusvrij uitgangsmateriaal te kunnen realiseren. Zonder robuuste toetsen op virussen in *Zantedeschia* is dit haast onmogelijk te verwezenlijken.

Er zijn veel verschillende virussen gevonden in *Zantedeschia*. Veel van deze behoren tot de Potyviridae; andere virussen behoren tot o.a. de potex-, tospo-, cucumo-, nepo- en tobnaviridae. Er zijn echter aanwijzingen dat er meer en andere soorten virussen aanwezig zijn (persoonlijke mededelingen BKD). Er worden dus nog steeds nieuwe (poty-)virussen gevonden, die niet of nauwelijks gekarakteriseerd zijn. Een voorbeeld hiervan is "*Zantedeschia* mild mosaic virus" waarvan in 2005 melding werd gemaakt door een Taiwanese onderzoeksgroep.

Een aantal virussen in *Zantedeschia* kan prima via serologische methoden als ELISA worden aangetoond; andere virussen alleen door middel van PCR. Van sommige virussen in *Zantedeschia* zijn bij de Bloembollenkeuringsdienst (BKD) en Praktijkonderzoek Plant en Omgeving (PPO-BBF) geen goede detectiemethoden aanwezig, of is bekend dat ze slecht met de bestaande toetsmethoden te detecteren zijn. Dit is een onbevredigende situatie, met name voor bedrijven die schoon uitgangsmateriaal willen uitleveren.

Naast het probleem van onvoldoende toetsen op virussen in *Zantedeschia* zijn er vragen over welk moment in het groeiseizoen en in welke plantendelen men de toetsen moet toepassen om virussen te kunnen aantonen: een robuust protocol ontbreekt vooralsnog. Het bedrijfsleven heeft aangegeven hier veel belang aan te hechten.

## 1.2 Infectie van *Zantedeschia* met BYMV

Een specifiek voorbeeld van een potyvirusaantasting in *Zantedeschia* is bonenscherpmozaïekvirus (Bean Yellow Mosaic Virus, BYMV). In één groeiseizoen bleek een partij *Zantedeschia* voor 50% besmet met bonenscherpmozaïekvirus vanuit gladiolen (zie ook PT-project 12048; PPO-BBF project 32 321109 00). Het is van belang om deze waarneming te herhalen om vast te stellen of dit een normaal verschijnsel is bij dit virus in *Zantedeschia* of dat het toeval was.

### 1.3 Doelstellingen en opzet van onderzoek

Dit project moet resulteren in een uitgebreid toetsenpakket waarmee *Zantedeschia* betrouwbaar op mogelijk aanwezige virussen te toetsen is. Dit project heeft de volgende doelstellingen:

1. De kennis over virussen in *Zantedeschia* vergroten (Hoofdstuk 2).
2. Een overzicht geven over de beschikbare ELISA- en PCR-toetsen voor deze virussen (Hoofdstuk 3)
3. Ontwikkelen van PCR-toetsen voor die virussen waarvoor ELISA- of PCR-toetsen ontbreken (Hoofdstuk 3)
4. Analyseren van praktijkmateriaal om ELISA- en PCR-toetsen te valideren (Hoofdstuk 4). Naast een gedetailleerde laboratoriumanalyse van het praktijkmateriaal worden typische virussymptomen visueel vastgelegd (Bijlage B)
5. Opstellen van een robuust protocol voor het toetsen van uitgangsmateriaal van *Zantedeschia* op deze virussen (Hoofdstuk 4)
6. Vaststellen of BYMV zich blijvend kan vestigen in *Zantedeschia* (Hoofdstuk 5)

In aanvulling op het originele projectvoorstel is door de begeleidingscommissie gevraagd voor de virussen van *Zantedeschia* een overzicht te geven van alternatieve waardplanten. Dit overzicht is te vinden in Bijlage D en E.



## 2 Virussen in *Zantedeschia*

Voordat een overzicht van virustoetsen gemaakt kan worden, moet duidelijk zijn welke virussen *Zantedeschia* kunnen infecteren. Dit project is daarom gestart met een literatuurstudie voor virussen in *Zantedeschia* (Calla) (Tabel 1).

Tabel 1. Virussen waarvan bekend is dat ze *Zantedeschia* kunnen infecteren

Virus		Afkorting	Nederlandse naam	Referentie	
genus	soort				
Alfavirus	1. Alfalfa mosaic virus	AMV	Luzernemozaïekvirus	13	
Cucumovirus	2. Cucumber mosaic virus	CMV	Komkommermozaïekvirus	12	
Tospovirus	3. Calla lily chlorotic spot virus	CCSV	Latent Calla vlekkenvirus	11	
	4. Capsicum chlorosis virus	CaCV	Paprika chlorose virus	2	
	5. Impatiens necrotic spot virus	INSV	Impatiens-vlekkenvirus	13	
	6. Tomato spotted wilt virus	TSWV	Tomatenbronsvlekkenvirus	13	
	7. Watermelon silver mottle virus	WSMoV	Watermeloenenzilvervlekken-virus	4	
	Nepovirus A	8. Arabis mosaic virus	ArMV	Arabismozaïekvirus	13
	Potexvirus	9. Potato virus X	PVX	Aardappelvirus X	13
Potyvirus	10. Bean yellow mosaic virus	BYMV	Bonenschepmozaïekvirus	13	
	11. Calla lily latent virus	CLLV	Calla lelie latentvirus	5	
	12. Dasheen mosaic virus	DsMV	Dieffenbachia-mozaïekvirus	14, 7	
	13. Hippeastrum mosaic virus	HiMV	Hippeastrummozaïekvirus	eigen waarneming	
	14. Konjac mosaic virus	KoMV	Konjacmozaïekvirus	13	
	15. Ornithogalum mosaic virus	OrMV	Ornithogalum-mozaïekvirus	eigen waarneming	
	16. Turnip mosaic virus	TuMV	Knollenmozaïekvirus	3	
	17. <i>Zantedeschia</i> mild mosaic virus	ZaMMV	<i>Zantedeschia</i> mild mozaïekvirus	9	
	18. <i>Zantedeschia</i> mosaic virus	ZaMV	<i>Zantedeschia</i> mozaïekvirus	1, 10	
Carmovirus	19. Carnation mottle virus	CarMV	Anjervlekkenvirus	6	
Tombusvirus	20. Lisianthus necrosis virus	LNV	Lisianthus-necrosevirus	8	
Tobravirus	21. Tobacco rattle virus	TRV	Tabaksratelvirus	13	

Referenties (zie ook H.O, Bijlage A).

- ChangYC, ChenYL, ChungFC, 2001. Mosaic disease of calla lily caused by a new potyvirus in Taiwan. Plant Disease 85, 1289.
- ChenCC and HuangCH, 2007. First Report of Capsicum chlorosis virus Causing Yellow Stripes on Calla Lilies in Taiwan. Plant Disease 91: 1201.
- ChenCC, ChaoCH, ChenCC, YehSD, TsaiHT, ChangCA, 2003. Identification of Turnip mosaic virus isolates causing yellow stripe and spot on calla lily. Plant Disease 87, 901-905.
- ChenCC, ChenTV, YehD, HuangCH, ChengYH, ChangCA. Identification and molecular characterization of two new calla lily infecting potyviruses - CaCV and WSMoV, *personal communication*.
- ChenCC, HsuHT, ChengYH, HuangCH, LiaoJY, TsaiHT and ChangCA 2006. Molecular and serological characterization of a distinct potyvirus causing latent infection in calla lilies Botanical Studies 47:369-378.
- ChenCC, KoWF, JanWJ, LinCY and HsuHT. 2002.Characterization of Carnation mottle carmovirus isolated from calla lily (*Zantedeschia* spp.). Plant Pathol. Bull. 11:242
- ChenJ, ChenJ, ChenJ, AdamsMJ, 2001. Molecular characterization of an isolate of Dasheen mosaic virus from *Zantedeschia aethiopica* in China and comparisons in the genus Potyvirus. Archives of Virology 146, 1821-1829.
- ChenYK and JanFJ, 2006. A New Natural Host of Lisianthus necrosis virus in Taiwan. Plant Dis. 90:1112
- HuangCH, ChangYC, 2005. Identification and molecular characterization of *Zantedeschia* mild mosaic virus, a new calla lily-infecting potyvirus. Archives of Virology 150, 1221-1230.
- KwonSB, HaJH, YoonJY, RyuKH, 2002. *Zantedeschia* mosaic virus causing leaf mosaic symptom in calla lily is a new potyvirus. Archives of Virology 147, 2281-2289.
- LinYH, ChenTC, ChungMH, ChenCC, HsuHT, and YehSD. 2003. Serological and molecular characterization of Calla lily chlorotic ringspot virus, a new species of the genus Tospovirus belonging to WSMoV serogroup. Plant Pathol. Bull. 12: 289.
- MokraV, GotzovaB, 1994. Identification of virus infections in Dieffenbachia and *Zantedeschia* in Czechoslovakia. Acta Horticulturae 377, 361-362.
- PhamK, LangeveldSA, LemmersMEC, DerksAFLM, 2002. Detection and identification of potyviruses in *Zantedeschia*. Acta Horticulturae 568, 143-148.
- RanaGL, VovlasC, ZettlerFW, 1983. Manual transmission of dasheen mosaic virus from Richardia to nonaraceous hosts. Plant Disease 67, 1121-1122.

Negen van de 21 virussen behoren tot de potyvirusen; virussen waarvan bekend is dat zij door middel van bladluizen worden verspreid. Ook AMV en CMV worden door bladluizen verspreid. De tospovirusen (CCSV, CaCV, INSV, TSWV en WSMoV) worden door trips verspreid. Nematoden zijn betrokken bij de grondgebonden verspreiding van ArMV en TRV. Voor alle virussen bestaat de kans op mechanische verspreiding door middel van verwonding van plantenweefsel, maar mechanische verspreiding speelt vooral een rol bij de verspreiding van potexvirusen (PVX).

Een aantal van deze virussen hebben een grote waardplantenreeks (bijv. AMV, ArMV en CMV). Deze virussen kunnen dus voorkomen in bijvoorbeeld andere siergewassen, groentegewassen en wild levende planten (onkruiden). Daarentegen zijn er ook virussen met een zeer beperkte waardplantenreeks, zoals bijv. OrMV en WSMoV. Op verzoek van de begeleidingscommissie van dit project is een lijst samengesteld van waardplantenreeks voor deze 21 virussen (zie ook Bijlage D en E).

## 3 Diagnostiek van virussen in *Zantedeschia*

### 3.1 Virustoetsen m.b.v. ELISA

Serologische detectie van virussen door middel van ELISA is de meest gangbare manier. ELISA-analyse is geschikt voor de analyse van een groot aantal monsters en is daarnaast kostenefficiënt. Een probleem met het aantonen van virussen is de ongelijke verdeling van het virus over de planten. Binnen een knol treffen we zowel besmette als virusvrije groeipunten aan. Daarnaast zijn knollen niet geschikt voor een betrouwbare toetsing met ELISA vanwege de soms storende achtergrondreacties. Het toetsen van kleine weefselkweekplantjes levert daarentegen wel goede resultaten. Daarbij wordt sap gemaakt van het gehele plantje, inclusief de wortels.

Bij het toetsen van volwassen planten kan het probleem optreden van plaatselijke lokalisatie van het virus. Bij toetsing van een selectie van bladmateriaal van een plant kan door toeval geen virus aangetoond worden terwijl andere delen wel besmet zijn. Dit probleem geldt voor zowel ELISA als PCR. Echter, omdat PCR vele malen gevoeliger is dan ELISA, speelt dit probleem veel minder met PCR-analyse op virus.

Voor ELISA zijn antisera tegen desbetreffende virussen nodig. In het algemeen zijn voor lang niet alle virussen dergelijke antisera beschikbaar. Voor de in *Zantedeschia* voorkomende virussen zijn inmiddels de volgende ELISA-toetsen beschikbaar:

<b><i>Virus (Engels)</i></b>	<b><i>Afkorting</i></b>	<b><i>Virus (NL)</i></b>
Alfalfa mosaic virus	AMV	Luzernemozaïekvirus
Cucumber mosaic virus	CMV	Komkommermozaïekvirus
Impatiens necrotic spot virus	INSV	Impatiens-vlekkenvirus
Tomato spotted wilt virus	TSWV	Tomatenbronsvlekkenvirus
Arabis mosaic virus	ArMV	Arabismozaïekvirus
Potato virus X	PVX	Aardappelvirus X
Bean yellow mosaic virus	BYMV	Bonenscherpmozaïekvirus
Calla lily latent virus	CLLV	Calla lelie latentvirus *
Dasheen mosaic virus	DsMV	Dieffenbachia-mozaïekvirus
Hippeastrum mosaic virus	HiMV	Hippeastrummozaïekvirus
Konjac mosaic virus	KoMV	Konjacmozaïekvirus *
Turnip mosaic virus	TuMV	Knollenmozaïekvirus
<i>Zantedeschia</i> mild mosaic virus	ZaMMV	<i>Zantedeschia</i> mild mozaïekvirus *
<i>Zantedeschia</i> mosaic virus	ZaMV	<i>Zantedeschia</i> mozaïekvirus
Carnation mottle virus	CarMV	Anjervlekkenvirus
Tobacco rattle virus	TRV	Tabaksratelvirus

\* *deze antisera waren nog niet beschikbaar bij aanvang van het project.*

Een antiserum detecteert meestal het manteleiwit van een virus. De meeste virussen hebben een uniek manteleiwit waardoor veel antisera virusspecifiek zijn en weinig tot geen kruisreactie geven met virussen uit hetzelfde, laat staan een ander virusgenus. Potyvirussen vormen daarop een uitzondering. Het manteleiwit van potyvirussen is relatief geconserveerd binnen het genus van potyvirussen. Als gevolg hiervan is er een generiek antiserum voor potyvirussen beschikbaar (Poty-A: Agdia Incorporated-Elkhart-USA, en poty-D: DSMZ-Braunschweig-Duitsland). Daarnaast is het bekend dat antisera van specifieke potyvirussen kruisreactiviteit hebben. Als gevolg hiervan is het eenvoudig om op potyvirussen te screenen, maar is het lastig om potyvirussen specifiek te detecteren.

## 3.2 Virustoetsen m.b.v. PCR

Moleculaire detectie van virussen door middel van PCR is voor keuringsdoeleinden op dit moment nog weinig gangbaar. Dit wordt voornamelijk veroorzaakt door de relatief hoge reagentiakosten voor een PCR-toets en de benodigde apparatuur en de vaak ongelijke verdeling van het virus in de planten. Echter, omdat de PCR-toets in het algemeen een factor 100-1000x gevoeliger is dan ELISA, speelt ongelijke verdeling van virus een veel minder grote rol. Ook is analyse van knolmateriaal beter mogelijk dan via ELISA omdat tijdens de extractie van virus-RNA de storende componenten uit de knol grotendeels worden verwijderd. De aanwezigheid van zowel besmette als virusvrije groeipunten in de knol kan echter leiden tot misleidende resultaten. Het toetsen van weefselkweekmateriaal, blad- en bloemmateriaal met behulp van PCR is goed mogelijk.

Voor PCR zijn zogenaamde primers voor desbetreffende virussen nodig. Een aantal primers was bij aanvang van dit project reeds beschikbaar, maar de lijst van primers is gedurende dit project compleet gemaakt. In tegenstelling tot ELISA is het met PCR meestal mogelijk om generieke primers te ontwerpen waarmee virussen uit specifieke genera kunnen worden gedetecteerd (Tabel 2). Daarnaast is het juist met PCR goed mogelijk om met virusspecifieke primers een bepaald virus zeer specifiek te detecteren (Tabel 3). Voor veel virussen zijn meerdere forward en reverse primers bekend.

*Tabel 2. Generieke primersequenties voor PCR detectie van diverse virusgenera*

<b>Virus genus</b>	<b>Forward / Reverse primer</b>	<b>Primer sequentie 5'- 3'</b>
A. Cucumovirussen	F1.CPTALL-5CU R1.CPTALL-3CU	YASYTTTDRGGTTCAATTCC GACTGACCATTTTAGCCG
B. Tospovirussen	F1.J13plus R1.UHP	CCCGGATCCAGAGACATYGWG CACTGGATCCTTTTGTITTTTGTITTTTG
C. Nepovirussen (groep A)	F1.NepoAFor R1.NepoARev	GGHDTBCAKTMYSARRARTGG TGDCASWVARYTCYCCATA
D. Potexvirussen	F1.Potex5 R1.Potex2RC	CAYCARCARGCMAARGAYGA AGCATRGCNSCRTCYTG
E. Potyvirussen	F1.U335 F2.U341 R1.D335 R2.Oligo dT	GAATTCATGRTNTGGTGYATHGANAAYGG CCGGAATTCATGRTITGGTGYATIGAIAYGG GAGCTCGCNGYYTTCATYTGNRHDWKNCG TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
F. Tobravirussen	F1.TobraRNA2up F2,Tobra-F3 R1.TobraRNA2down R2.Tobra-R2	TWYWCTTWTGRAAATCGAYGACGC GGTGGKCAATGGTCTTWTGG GTCGGCCAAACACCATCTCAAAC GTCAGCTGYTGATCAGATAACC

Tabel 3. PCR primers voor specifieke detectie van virussen in *Zantedeschia*

Virus	Forward / Reverse primer	Primer sequentie 5'- 3'
1. Alfalfa mosaic virus	F1.AMV-F F2.AMV-F2 R1.AMV-R R2.AMV-R2	CCATCATGAGTTCTTCACAAAAG ATCATGAGTTCTTCACAAAAGAA TCGTCACGTCATCAGTGAGAC TCAATGACGATCAAGATCGTC
2. Cucumber mosaic virus	F1.CMV1556For F2.CMV1 R1.CMV1121Rev R2.CMV2	GAACGATCCACAACAGTTTCG CCACCCAACCTTTGTGGGTAGTG GGCAATCTTTCAGTCTCACG CCCACACGGTAGAATCAAATTCGGC
3. Calla lily chlorotic spot virus	Zie Tabel 2, B. Tospovirussen	
4. Capsicum chlorosis virus	Zie Tabel 2, B. Tospovirussen	
5. Impatiens necrotic spot virus	F1.INSV589F R1a.INSVRev R1b.TosR15	CCCAAGACACAGGATTTCA GCAGATCAAGATGAACAAAGCA GGGAGAGCAATYGWGKYR
6. Tomato spotted wilt virus	F1.TSWV709F F2.L2-TSWV R1.TSWVREV R2.L2-TSWVR	GTGTCATACTTCTTTGGGTC ATCAGTCGAAATGGTCGGCA GACACAAGGCAAAGACCTTGA AATTGCCTTGCAACCAATTC
7. Watermelon silver mottle virus	Zie Tabel 2, B. Tospovirussen	
8. Arabis mosaic virus	F1.ArMVFor R1.ArMVRev	CGGATTGGGAGTTCGTTGTCTG CCGTTCCATTCACTAACAACCTC
9. Potato virus X	Zie Tabel 2, D. Potexvirussen (Tabel 2)	
10. Bean yellow mosaic virus	F1.ByMV3for R1.ByMV3rev	CAGCAGCAGTYAGAGGTAAGTC GCTCACACGAGGYAACCTCAC
11. Calla lily latent virus	F1.CLLVFor R2.CLLVRev	ATCTGGCACGCTATGCTTTT CGTACTTCGACCACTCGTGA
12. Dasheen mosaic virus	F1.DsMV3 for F2.DSMV UP R1.DsMV3 rev R2a.DSMV down 1 R2b.DSMV down 2	TGGTACAAYGCCGTTAGMGGG ATGGGACATCACCTGATATTAACGGGGCT AAGTGATGCATWATCTGACGC CTAGTGGTAACGTTGGAGAGTGCAGCG ACCGTGACGAAGCATCTCGCCTACCG
13. Hippeastrum mosaic virus	F1.HiMV det UP F2.HiMV det UP2 R1.HiMV det DOWN R2.HiMV det DOWN2	AATGCCCCACTTTAGCAACATC GTGATGAAAGAGCTGTCGAAAAGG GACCGATTAATGACACCACGC ACAATATACGATTCAGCGATGTTGC
14. Konjac mosaic virus	F1.Konj for R1.Konj rev	TGCGAAGCGAACACGCGATG AGGACATGACTCATCAGGAGTG
15. Ornithogalum mosaic virus	F1.OMVdet up F2.OrMVFor R1.OrMVgen R2.OrMVRev	GGTTTAGATGGGAAAGTGG AGCCCGCTATGCATTTGATTT CTAGAACAGTCACCTAATC TTCATAGGAAAGGATGCTAACAGA
16. Turnip mosaic virus	F1.Tu8207For R2.Tu8822Rev	GTGGAATCCAAGTGAGTTGC TCCTTCTTCTCCTTCTCCGC
17. <i>Zantedeschia</i> mild mosaic virus	F1.Z3410For F2.ZaMMV up R1.Z3410Rev R2.ZaMMV down	CACACTGCTAARGAYGTAAGTC GGCAACTTACAACCCAAAGGCC GGTSAAACCACTCTACTGTGTC CATTTTTGATCGCATCATACC
18. <i>Zantedeschia</i> mosaic virus	F1.ZaMV 1 R2.ZaMV 2	GTTGTCTGGTGCATCGAGAATGG GCTGCTTTCATCTGCAAGTGAGC

<b>Virus (vervolg)</b>	<b>Forward / Reverse primer</b>	<b>Primer sequentie 5'- 3'</b>
19. Lisianthus necrosis virus	F1.LNVfor R1.LNVref	ATGGAAATCGTTAGG CTATAGCAATGTTGC
20. Tobacco rattle virus	F1.H42 up F2.TRV 1 R1.H42 down R2.TRV 3	TGTTTGAGATTGGCGTTTGGCC GGGCGTAATAACGCTTACGTAGGCGAGG GGGCGTAATAACGCTTACGTAG ATTTAAATTGTTATCTGTTTCTGTG

## 4 Analyse van praktijkmateriaal

Om de monsternamen, de kwaliteit, gevoeligheid, specificiteit en robuustheid van bestaande en nieuw ontwikkelde PCR-toetsen te testen, is praktijkmateriaal van *Zantedeschia* getoetst met zowel PCR als ELISA. In aanvulling hierop zijn vele weefselweekmonsters uitgebreid getoetst met ELISA. Naast het verkrijgen van ervaring met de betrouwbaarheid van de beschikbare toetsen, is inzicht verkregen in de virussen die vooral in Nederland voorkomen tijdens de teelt van *Zantedeschia*.

### 4.1 Plan van aanpak

Vanuit de praktijk zijn bij PPO-BBF in totaal 33 monsters aangeleverd welke mogelijk geïnfecteerd waren met virus. De eerste serie van 30 monsters betrof potplanten, de laatste 3 monsters waren veldmonsters. Naast verzameling van beeldmateriaal van symptomen (zie Bijlage B en C) zijn deze monsters op basis van de lijst van beschikbare PCR-toetsen in detail geanalyseerd. Ter controle zijn deze monsters tevens met diverse ELISA-toetsen geanalyseerd. De PCR-toetsen zijn door PPO-BBF uitgevoerd, de ELISA-analyse op deze monsters is door de BKD uitgevoerd.

Voorafgaand aan een PCR-analyse is van een bladmonster met virussymptomen RNA geïsoleerd. Voor de RNA-extractie is gebruik gemaakt van diverse commercieel verkrijgbare kits, te weten Gentra - Purescript RNA, QIAGEN - RNeasy Plant Mini Kit en uiteindelijk AGOWA's paramagnetische DNA / RNA isolatiekit voor semi-geautomatiseerde RNA/DNA extractie. PCR reacties zijn volgens gestandaardiseerde werkwijze uitgevoerd. Aanwezigheid van een virus werd gecontroleerd door agarose-gelelectroforese van PCR-producten. Ter bevestiging van de identiteit van een virus, zijn een aantal PCR-producten gesequenced. De verkregen sequenties zijn met behulp van het BLAST algoritme en de NCBI-databank geanalyseerd.

In aanvulling op de PCR-analyse van praktijkmateriaal zijn tevens bij de BKD op grote schaal planten, blaadjes en weefselweekplantjes met ELISA getoetst (in totaal 3826 eenheden). De monsters werden ingebracht door klanten van BQ-Support en door keurmeesters. De planten weerspiegelen niet de situatie bij de teelt omdat het hier inspanningen betreft om selectie toe te passen of planten in weefselweek te controleren.

Naast de door de inzender gevraagde toetsing op potyvirus (potyA, leverancier Agdia), Cucumber mosaic virus (CMV) en Tomato spotted wilt virus (TSWV) werd in het kader van dit project via ELISA aanvullend getoetst op aanwezigheid van potyD (leverancier DSMZ), Impatiens necrotic spot virus (INSV), Dasheen mosaic virus (DsMV), Turnip mosaic virus (TuMV), *Zantedeschia* mosaic virus (ZaMV), Bean yellow mosaic virus (BYMV), Arabis mosaic virus (ArMV) en in enkele gevallen Carnation mosaic virus (CarMV). Het betrof in totaal 95 inzendingen. De planten werden op gebruikelijke wijze getoetst en de extinctiewaarden werden gemeten. De resultaten van de tweede beoordeling werden in het eindoordeel meegenomen conform de praktijk in het BKD-lab.

### 4.2 Resultaten en Discussie

#### 4.2.1 PCR-analyse van praktijkmateriaal

De eerste dertig praktijkmonsters (Za-08001 t/m Za-08030) zijn allereerst geanalyseerd met de generieke potyvirus- en tospovirus PCR-toets en de specifieke ArMV PCR-toets (Tabel 4):

- Zeventien van de 30 monsters bleken geïnfecteerd te zijn met een potyvirus.
- Tospovirussen werden in deze 30 monsters niet aangetroffen
- ArMV werd in deze 30 monsters niet aangetroffen.

Aansluitend zijn de potyvirus-positieve monsters geanalyseerd met specifieke PCRs voor BYMV, KoMV, DsMV, ZaMV, ZaMMV en CLLV. Op basis van deze analyse bleek dat:

- één plant besmet was met KoMV of ZaMV,
- vijf planten bleken geïnfecteerd te zijn met CLLV,
- acht planten waren ZaMMV-positief,
- in twee planten werd een dubbelinfectie met CLLV en ZaMMV aangetroffen,
- één plant (Za-08019) bleek positief te zijn voor CLLV, ZaMMV en ZaMV,
- in deze analyse is geen BYMV en DsMV aangetroffen,
- in de eerste dertig praktijkmonsters zijn met PCR geen virussen uit andere virusgenera aangetroffen.

Sequentie analyse van diverse monsters bevestigde inderdaad dat CLLV en ZaMMV correct gedetecteerd werden. ZaMV en KoMV zijn genetisch zeer nauw aan elkaar verwant. In feite is ZaMV een isolaat van KoMV (Archives of Virology 2006, 151(8):1643-1650). De kans is daarom aanwezig dat de specifieke primers voor KoMV en ZaMV kruisreageren op het verwante virus. Dit is ook de situatie bij Za-08029. Op basis van de verkregen sequentie kon niet uitgemaakt worden of deze plant met ZaMV of KoMV was besmet. Plant Za-08019 bleek op basis van PCR besmet te zijn met drie potyvirussen (CLLV, ZaMMV en ZaMV). De identiteit van deze drie virussen is door middel van sequentieanalyse bevestigd.

In de loop van 2008 werden drie veldmonsters aangeleverd met typische symptomen voor tospovirussen (Za-08031 t/m Za-08033, zie ook Bijlage B). PCR-analyse met generieke tospovirusprimers, en met INSV-specifieke primers bevestigde een infectie met INSV. Deze infectie is zeer waarschijnlijk tijdens de teelt op het veld door trips geïntroduceerd in het gewas. PCR-analyse met TSWV-primers resulteerde voor alle drie de monsters in een negatief resultaat. Een dubbelinfectie met TSWV/INSV is met dit resultaat uitgesloten.

Naast een gedetailleerde PCR-analyse zijn monsters Za-08001 t/m Za-08025 tevens ter controle met behulp van ELISA geanalyseerd (Tabel 4):

- Met de poty-A toets werden 14 monsters positief bevonden. Twee monsters waarin met PCR een potyvirus was gedetecteerd, resulteerde in een negatief resultaat voor de poty-ELISA. Deze fout-negatieve resultaten werden waarschijnlijk veroorzaakt door het feit dat de ELISA-analyse minder gevoelig is dan een PCR-toets.
- ELISA-analyse met CLLV-antiserum resulteerde in vier positieve resultaten ten opzichte van acht monsters waarin met behulp van PCR de aanwezigheid van CLLV was aangetoond (als enkele of dubbelinfectie). Ook bij deze monsters zal verschil in gevoeligheid de oorzaak zijn van het verschil in aantal positieve planten.
- Ondanks dat ZaMV met PCR twee maal is aangetroffen, resulteerde ELISA met antiserum tegen ZaMV in zes, respectievelijk vier positieve resultaten (afhankelijk van de leverancier van het antiserum, Tabel 4). Het is eerder aannemelijk dat het antiserum van ZaMV niet specifiek genoeg is, dan dat de ZaMV-ELISA gevoeliger is dan de ZaMV PCR-toets. Kruisreactiviteit voor bepaalde antisera komt vaker voor wanneer virussen nauw aan elkaar verwant zijn.

Van alle plantmonsters waarin virus is aangetroffen, is bij PPO-BBF plantmateriaal in een -20°C vriezer opgeslagen dat in de toekomst voor PCR- en ELISA-toetsen als positieve controle kan worden meegenomen.

#### 4.2.2 ELISA-analyse van praktijkmateriaal

In totaal werd in 139 planten/bladeren virus aangetoond (Tabel 5). Hiervan betrof het 101 reacties met algemene antisera tegen potyvirus: potyD of potyA. De potyD-toets toonde overigens slechts 90 positieven daarvan aan. Ook waren de extinctiewaarden van de potyD-toets over de hele linie lager dan die van de potyA-toets behalve bij het aantreffen van TuMV. Vooral bij een lage virusconcentraties kan de potyD-toets resulteren in fout-negatieve uitslagen. De meeste potyvirus-positieve planten werden tevens geïdentificeerd als positief voor DsMV, TuMV of ZaMV. Echter, 19 poty-positieven konden aanvankelijk niet via ELISA met de door ons gebruikte antisera op naam worden gebracht.



Er werden 88 planten positief bevonden voor ZaMV. Alhoewel ZaMV tot de groep van potyvirusen behoort, reageerden 30 van de viruszieke planten niet met één van beide potyvirus toetsen (potyA- en potyD-toets). Voor zover er al sprake was van een positieve uitslag reageerden de potytoetsen slechts zwak bij aanwezigheid van ZaMV of haalden de drempelwaarde niet. DsMV en TuMV werden steeds zowel via de potytoets als via homologe antisera aangetoond. INSV werd eenmaal aangetoond maar TSWV, CMV, ArMV en BYMV werden niet aangetroffen.

Tabel 4. Analyse van praktijkmonsters met behulp van diverse PCR- en ELISA-toetsen<sup>1</sup>

Code	PPO-BBF <sup>2</sup>		BKD <sup>3</sup>			
	Generiek <sup>4</sup>	Specifiek <sup>5</sup>	ELISA			
Poty-A <sup>6</sup>			CLLV-T <sup>7</sup>	ZaMV-D <sup>8</sup>	ZaMV-T <sup>9</sup>	
Za-08001	-	-	-	-	-	-
Za-08002	-	-	-	-	-	-
Za-08003	poty	CLLV	+	+	-	-
Za-08004	poty	CLLV & ZaMMV	+	-	-	-
Za-08005	poty	ZaMMV	+	-	+	-
Za-08006	poty	CLLV	+	-	+	+
Za-08007	poty	CLLV & ZaMMV	+	-	+	+
Za-08008	poty	CLLV	+	-	+	-
Za-08009	-	-	-	-	-	-
Za-08010	poty	ZaMMV	+	-	-	-
Za-08011	poty	ZaMMV	+	-	-	-
Za-08012	poty	ZaMMV	-	-	-	-
Za-08013	poty	ZaMMV	+	-	+	+
Za-08014	poty	CLLV	+	+	-	-
Za-08015	poty	ZaMMV	-	-	-	-
Za-08016	-	-	-	-	-	-
Za-08017	-	-	-	-	-	-
Za-08018	poty	ZaMMV	+	-	-	-
Za-08019	poty	CLLV & ZaMMV & ZaMV	+	+	+	+
Za-08020	-	-	-	-	-	-
Za-08021	poty	CLLV	+	+	-	-
Za-08022	poty	ZaMMV	+	-	-	-
Za-08023	-	-	-	-	-	-
Za-08024	-	-	-	-	-	-
Za-08025	-	-	-	-	-	-
Za-08026	-	-	n.t. <sup>10</sup>	n.t.	n.t.	n.t.
Za-08027	-	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Za-08028	-	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Za-08029	poty	KoMV of ZaMV	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Za-08030	-	-	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Za-08031	n.t.	INSV	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Za-08032	n.t.	INSV	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Za-08033	n.t.	INSV	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.

<sup>1</sup> - = negatief resultaat, + = positief resultaat

<sup>2</sup> Activiteiten zijn uitgevoerd door PPO-BBF volgens standaard procedures voor PCR diagnostiek

<sup>3</sup> Activiteiten zijn uitgevoerd door BKD volgens standaard procedures voor ELISA diagnostiek

<sup>4</sup> M.b.v. generieke PCRs is getoetst op de aanwezigheid van potyvirusen en tospovirusen

<sup>5</sup> M.b.v. specifieke PCRs is getoetst op de aanwezigheid van BYMV, KoMV, DsMV, ZaMMV, ZaMV, CLLV, ArMV

<sup>6</sup> Generiek antiserum tegen potyvirusen (leverancier Agdia)

<sup>7</sup> Specifiek antiserum tegen CLLV (leverancier Mr. Chang, Taiwan)

<sup>8</sup> Specifiek antiserum tegen ZaMV (leverancier DSMZ)

<sup>9</sup> Specifiek antiserum tegen ZaMV (leverancier Mr. Chang, Taiwan)

Van de potyvirusen die regelmatig in Nederlandse *Zantedeschia*s worden aangetroffen, konden tot op heden niet alle virussen in beeld gebracht worden met specifieke antisera. Zo was het niet duidelijk of het Konjac mosaic virus (KoMV), het *Zantedeschia* mild mosaic virus (ZaMMV) en het Calla lily latent virus (CLLV) aangetoond konden worden met de beschikbare potyvirus-specifieke toetsen. Vanuit Taiwan ontving de BKD antisera die gericht zijn op ZaMV en CLLV. Binnen deze proef zijn drie potyvirus-positieve planten, die verder niet op naam gebracht konden worden, alsnog getoetst met Taiwanees ZaMV en CLLV antiserum. Daarbij werd CLLV aangetoond. De aanwezigheid van CLLV kon worden bevestigd via PCR. Dit resultaat heeft aangetoond dat CLLV via de potytoetsen kan worden aangetoond. Hierbij geeft potyA de sterkste waarden. Tevens heeft de uitgebreide ELISA-analyse bevestigd dat het ZaMV antiserum uit Taiwan qua specificiteit overeenkomt met het ZaMV antiserum afkomstig van DSMZ.

Uitgaande van de gedachte dat alle potyvirusen in *Zantedeschia* schadelijk en ongewenst zijn, zou een universele toets voor potyvirusen ideaal zijn voor het selecteren van gezond uitgangsmateriaal. Uit de huidige analyse blijkt echter dat niet alle potyvirusen in voldoende mate worden aangetoond. Pas bij zeer hoge concentratie ZaMV in de plant lijken de poty-toetsen te reageren. In de praktijk wordt nu door de BKD gewerkt met de potyA-toets, omdat deze sterkere reacties vertoont dan de potyD-toets, aangevuld met een toets voor ZaMV.

ZaMV lijkt het meest voorkomende virus te zijn maar uit andere proeven tijdens dit project is gebleken dat het antiserum ook reageert met *Zantedeschia* mild mosaic virus (ZaMMV) en Konjac mosaic virus (KoMV) dat sterk verwant is aan ZaMV. Dit zou verklaren waarom er deels overlap is tussen de potyA-toets en de ZaMV-toets en deels ook niet. Ook is gebleken dat de potyA-toets het CLLV aantoonde. Het is aannemelijk dat de positieve reacties met de poty-toets die niet op naam gebracht konden worden, uiteindelijk het CLLV betroffen. Op basis van deze overwegingen is de volgende inschatting van de frequentie van voorkomen van potyvirusen tot stand gekomen (uiteraard met overlappingsen):

- 20% DsMV en/of CLLV
- 30% ZaMV/KoMV enkelvoudige infectie
- 70% ZaMMV en/of CLLV
- 20% CLLV enkelvoudige infectie
- 5% TuMV enkelvoudige infectie

Het is verder nog van belang om te weten dat het Hippeastrum mosaic virus (HiMV), dat eenmalig is aangetroffen in Nederland, niet door de potyA toets wordt aangetoond maar wel door de potyD-toets. Zodra de gelegenheid zich voordoet, zal in de toekomst deze vraagstelling worden beantwoord.

Tabel 5. Analyse van praktijkmonsters met behulp van ELISA-toetsen door BKD.

Antiserum	Aantal planten getoetst	Aantal ELISA-positief	Opmerkingen
ArMV	3826	0	
TSWV	3826	0	
INSV	3826	1	
CMV	3826	0	
Potyvirus	3826	101	19 zijn niet op naam te brengen via specifieke antisera.
ZaMV	3826	88	30 planten geven geen overlap met poty-toets
DsMV	3826	20	overlap met poty-toets, niet met ZaMV-toets
TuMV	3826	5	overlap met poty-toets, niet met ZaMV-toets
BYMV	3826	0	
<b>Totaal aantal viruspositief</b>		<b>139 (3.63%)</b>	

### 4.2.3 Visuele symptomen

In het aangeleverde praktijkmateriaal werden voornamelijk potyvirusen aangetroffen. Het ZaMMV werd het meest aangetroffen gevolgd door CLLV. Daarnaast zijn er enkele gevallen van een dubbelinfectie van CLLV en ZaMMV. In één plant is KoMV of ZaMV aangetroffen en in één plant werd een triple infectie met CLLV, ZaMMV en ZaMV waargenomen. In de overige planten werden geen virussen gedetecteerd. Op basis van de virusstatus van het aangeleverde materiaal, kunnen de planten in groepen worden ingedeeld en de gemeenschappelijke symptomen voor een bepaald virus worden beschreven (zie ook Bijlage B):

#### Calla lily latent virus (CLLV)

Ondanks dat de naam van het virus aangeeft dat het virus latente (niet-zichtbare) symptomen veroorzaakt, zijn op de bladeren duidelijke mozaïeksymptomen waar te nemen. In een enkel geval is dit mozaïekpatroon ook op de steel zichtbaar (Za-08014). Bij Za-08021 zijn ronde, halo-achtige kringvlekken met een donkere kern zichtbaar op de bloem. Het patroon van mozaïeksymptomen varieert tussen de aangeleverde planten en is zeer waarschijnlijk cultivar afhankelijk. Soms is een fijn mozaïekpatroon zichtbaar (bijv. Za-08003, -08014 en -08021), maar CLLV kan ook een grof mozaïekpatroon veroorzaken (bij Za-08006 en -08008).

#### Zantedeschia mild mosaic virus (ZaMMV):

Ondanks dat de naam van het virus aangeeft dat het virus milde mozaïeksymptomen veroorzaakt, zijn bij een ZaMMV in het algemeen heftige mozaïeksymptomen waar te nemen. De mozaïeksymptomen bij een ZaMMV-infectie vertonen een hoger contrast dan de symptomen behorend bij een CLLV-infectie. Ook resulteerde een ZaMMV-infectie in enkele gevallen in duidelijke lichte vlekken in de bloem (Za08010 en -08011). Een uitzondering op deze heftige symptomen was Za-08022 waar juist milde mozaïeksymptomen zichtbaar waren die erg op een CLLV infectie leken.

#### Dubbelinfectie met CLLV en ZaMMV:

Een dubbelinfectie van CLLV en ZaMMV resulteerde in heftige mozaïeksymptomen die vergelijkbaar waren met symptomen veroorzaakt door een infectie met alleen ZaMMV.

#### Konjac mosaic virus (KoMV) of Zantedeschia mosaic virus (ZaMV):

Omdat ZaMV een isolaat is van KoMV, veroorzaken beide virussen vergelijkbare symptomen. Tijdens dit project is slechts één plant aangetroffen met een infectie met ZaMV of KoMV (Za-08029). Fijne spikkeligheid werd waargenomen in de bloem. Duidelijk mozaïeksymptomen op het blad bleven achterwege in deze cultivar.

#### Triple-infectie met CLLV, ZaMMV en ZaMV:

Tijdens dit project is één plant aangetroffen met een triple-infectie met CLLV, ZaMMV en ZaMV (Za-08019). Ondanks de infectie met drie verschillende virussen werd "slechts" een fijn mozaïekpartoon op het blad waargenomen. Heftige mozaïeksymptomen op het blad bleven achterwege bij deze plant.

#### Impatiens necrotic spot virus (INSV):

Topsovirussen waaronder INSV en TSWV veroorzaken in het algemeen heftige symptomen bij *Zantedeschia*. De INSV symptomen bij Za-08031, -08032 en -08033 (drie planten afkomstig uit één partij) vertoonden typerende contrastrijke ronde tot ovale vlekken op de bloem en necrotische vlekken op het blad.

De visusymptomen die voor CLLV, ZaMMV, KoMV en ZaMV zijn beschreven, lijken erg op elkaar. Op basis van symptomen is het daarom erg lastig onderscheid te maken tussen deze potyvirusen. Daarnaast is vanuit het verleden bekend dat virussen zoals BYMV (zie ook H. 5), DsMV en CMV (Cucumovirus) ook dergelijke mozaïeksymptomen veroorzaken. De identiteit van virussen is daarom uitsluitend met PCR te bepalen.

In een aantal planten met typische symptomen die regelmatig voorkomen bij *Zantedeschia* kon met PCR en ELISA geen virus worden aangetoond (zie ook Bijlage C). Omdat de PCR-analyse erg gevoelig is en het pakket aan beschikbare PCR-toetsen aansluit bij de 21 virussen die tot nu toe bij *Zantedeschia* zijn aangetoond, wordt er voorzichtig geconcludeerd dat deze typische symptomen een andere oorzaak hebben dan virus. Mogelijk zijn deze symptomen (gedeeltelijk) veroorzaakt tijdens de weefselkweekfase. Typische symptomen die niet door virus zijn veroorzaakt zijn:

Veterblad: smalle tot zeer smalle bladeren en bloemen. Soms is een zeer fijn mozaïekpatroon zichtbaar dat doet vermoeden dat er van een virusinfectie sprake is (Za-08001, -08002 en -08009). In planten met deze symptomen is in verleden vaak virus aangetoond (veelal DsMV of KoMV). Het is opvallend dat deze virussen tijdens de huidige analyse zowel met PCR als ELISA niet zijn gedetecteerd. In het verleden werd aangegeven dat dergelijke heftige symptomen horen bij secundair viruszieke planten. Op basis van deze analyse blijkt dat de visuele afwijking die veterblad heet, niet gerelateerd lijkt te zijn met virus.

Olifantenblad: in plaats van een plant met normale bladeren en bloemen ontstaan enkele, zeer grote bladeren.

Overige symptomen:

In plant Za-08016 werden lichte vlekken op het blad waargenomen welke normaal niet direct met virus in verband worden gebracht. Ook werden op de bloem lichte en donkere spikkels waargenomen. Virus kon echter niet worden gedetecteerd.

In plant Za-08-023 werd op enkele bladeren een licht en fijn-streperig mozaïekpatroon waargenomen. Symptomen die mogelijk door virus kunnen worden veroorzaakt. Echter, met behulp van de gevoelige PCR kon geen virus worden aangetroffen.

## 4.3 Conclusie

- Uit deze inventarisatie blijkt dat in Nederland in *Zantedeschia* vooral potyvirusen worden aangetroffen (voornamelijk ZaMMV en CLLV, regelmatig ZaMV, KoMV of DsMV, bijna geen TuMV). Sporadisch komt INSV voor. Veel van de virussen waarvan infectie in *Zantedeschia* ooit beschreven is, zijn niet aangetroffen bij deze analyse van praktijkmateriaal.
- De PCR-toetsen voor INSV en de diverse potyvirusen hebben tijdens deze analyse niet geleid tot onverwachte resultaten. Er kan dus geconcludeerd worden dat de beschikbare PCR-toetsen goed aansluiten bij de virussen die in de praktijk voorkomen.
- De systematiek die BQ-Support aanbiedt voor virustoetsing *Zantedeschia* (zie <http://www.bqsupport.nl/>) sluit aan bij de kennis en informatie die voorkomt uit dit project. Aanpassing van het toetschema en de werkinstructies voor virustoetsen Z-1, Z-2A en Z-2B zijn vooralsnog niet nodig. Als gevolg van dit project zijn de ELISA- en PCR-toetsen op orde gebracht op basis van de huidige kennis over virussen in *Zantedeschia*.
- Naast specifieke ELISA-toetsen voor TSWV, INSV, CMV en ArMV kan voor de potyvirusen in de praktijk worden volstaan met een potyA-toets in combinatie met een ZaMV-toets.
- Virusidentificatie door middel van ELISA is echter niet robuust. Alleen met PCR kan de identiteit van een virus betrouwbaar worden bepaald.
- Voor diverse virussen zijn typische symptomen beschreven. Op basis van symptomen kan er daarom mogelijk voorzichtig een inschatting gemaakt worden met welk virus een *Zantedeschia* is geïnfecteerd. Omdat er tussen verschillende cultivars kleine verschillen zijn in virusbeeld is alleen met PCR de identiteit van virus betrouwbaar te bepalen.

## 5 Vaststellen of BYMV zich blijvend kan vestigen in *Zantedeschia*

### 5.1 Introductie

In een voorgaand onderzoeksproject bleek in één groeiseizoen een partij *Zantedeschia* voor 50% besmet te zijn geraakt met Bonenscherpmozaïekvirus (BYMV). Het virus zou door bladluizen vanuit een belendend perceel met gladiolen zijn overgedragen (zie ook PT-project 12048; PPO-BBF project 32 321109 00). In dit onderzoeksproject is een dergelijke overdracht van BYMV vanuit gladiool door bladluizen naar *Zantedeschia* opnieuw bestudeerd. Tevens is bestudeerd of BYMV na besmetting van *Zantedeschia* de knol kan infecteren en in het daaropvolgende groeiseizoen virusgeïnfecteerde planten kan opleveren.

### 5.2 Proefopzet

In 2007 zijn 100 *Zantedeschia*-knollen van cv. Captain Volante en 50 *Zantedeschia*-knollen van cv. Pink Persuasion geplant naast een veld met gladiolen cv. Peter Pears welke besmet waren met BYMV. De *Zantedeschia*-knollen van beide cultivars waren in 2006 in een bladluisvrije gaaskas geteeld en waren via ELISA-analyse vrij van potyvirusen bevonden. Omdat BYMV tot de potyvirusen behoort, waren deze planten voor aanvang van het teeltseizoen 2007 daarom ook vrij van BYMV. Op enkele meters afstand van dit perceel met *Zantedeschia* en gladiool stond de *Zantedeschia*-opplant van CNB waar tevens visueel virusgeïnfecteerde planten tussen stonden. Dit kan mogelijk voor een extra virusdruk hebben gezorgd. Tijdens de teelt in 2007 zijn geen beschermende maatregelen uitgevoerd tegen virusverspreiding door bladluizen.

Gedurende het groeiseizoen in 2007 zijn de *Zantedeschia*-planten visueel gescreend op virussymptomen. Daarnaast is een gedeelte van de planten aan het eind van het teeltseizoen door middel van PCR getoetst op aanwezigheid van virussen. Zowel de BYMV-specifieke PCR-toets als de generieke potyvirus PCR-toets is toegepast.

Aansluitend op het teeltseizoen 2007 zijn de *Zantedeschia*-knollen geogst en volgens standaardprocedures bewaard. In 2008 zijn de *Zantedeschia*-knollen geteeld in een bladluisvrije gaaskaas. Deze planten zijn zowel met behulp van ELISA als PCR getoetst op de aanwezigheid van BYMV en eventuele andere virussen.

### 5.3 Resultaten en discussie

#### **Overdracht BYMV naar *Zantedeschia***

Vanaf begin september 2007 waren in het gewas typische mozaïeksymptomen zichtbaar. Planten zijn op 18 september en op 24 september 2007 bemonsterd voor PCR-analyse (Tabel 6).

Tabel 6. Overzicht van plantmonsters getoetst in 2007 met PCR voor diverse virussen. *Zantedeschia* planten groeiden naast BYMV-geïnfecteerde gladiolen.

Toetsdatum	Type monster	PCR <sup>1</sup>			
		Potyvirusen (generiek)	BYMV	KoMV	ZaMMV
18 sept '07 (planten met symptomen)	<i>Zantedeschia</i> cv. Captain Volante				
	plant 1	++	+	++	-
	plant 2	-	-	n.t.	n.t.
	plant 3	++	++	++	++
	plant 4	++	+	n.t.	n.t.
	plant 5	++	+	++	++
	plant 6	++	-/+	++	+
	plant 7	++	+	n.t.	n.t.
	<i>Zantedeschia</i> cv. Pink Persuasion				
	plant 1	-	-	n.t.	n.t.
plant 2	++	-/+	++	++	
plant 3	-	-	n.t.	n.t.	
	Gladiool cv. Peter Pears	+++	+++	-	-
24 sept '07 (planten zonder symptomen)	<i>Zantedeschia</i> cv. Captain Volante				
	plant 1	-	+		
	plant 2	-	++		
	plant 3	-	-		
	plant 4	-	+		
	plant 5	-	-		
	Gladiool	+++	+++		

<sup>1</sup> legenda: - is virus negatief; -/+ is zwak positief; + is virus positief; het aantal plusjes geeft de relatieve intensiteit weer van het PCR-product. N.t. = *not tested* (niet getoetst).

De PCR-analyses laten zien dat gladiool cv. Peter Pears inderdaad geïnfecteerd is met BYMV. Daarnaast is voor een groot aantal *Zantedeschia*-planten met virussymptomen een positief resultaat te zien voor zowel de generieke potyvirus-PCR als de specifieke BYMV-PCR. Dit resultaat bevestigde de overdracht van BYMV van gladiool naar *Zantedeschia*. Ook in planten die geen virussymptomen op het moment van bemonstering lieten zien, was met behulp van PCR BYMV aan te tonen. De detectie van BYMV in planten zonder symptomen duidt op een primaire en recente infectie met BYMV. De poty-PCR liet daarentegen weinig positieve resultaten zien. Dit wordt mogelijk verklaard door het feit dat de generieke poty-PCR minder gevoelig is dan de specifieke BYMV-PCR-toets.

Een aantal planten met virus symptomen resulteerde niet in een PCR-product voor potyvirusen of BYMV. Mogelijk dat de symptomen in deze planten veroorzaakt werden door een virus uit één van de anderen virusgenera (zie ook Tabel 1), of een andere oorzaak hebben dan virus (bijv. weefselkweek).

#### Andere virussen in Gladiool en *Zantedeschia*

Bij een aantal monsters was het opvallend dat de generieke poty-PCR-toets een intenser PCR-product opleverde dan de specifieke BYMV-PCR-toets. Dit duidde mogelijk op extra infecties met andere potyvirusen. Specifieke PCRs voor KoMV en ZaMMV lieten inderdaad zien dat een groot aantal van de getoetste planten positief was voor deze twee virussen. Mogelijk dat de ELISA-toets van deze partij in 2006 niet gevoelig genoeg was voor deze virussen. Als alternatief kan de KoMV- en ZaMMV-infectie al vroeg in het groeiseizoen door bladluizen in dit *Zantedeschia*-gewas zijn geïntroduceerd.

Tevens was op basis van de generieke poty-PCR en het agarose-gelelectroforese patroon een sterke aanwijzing voor de aanwezigheid van een tweede potyvirus in gladiool. Karakterisatie van dit specifieke PCR-product liet zien dat gladiool cv. Peter Pears naast BYMV ook geïnfecteerd was met

Ornithogalum mozaïekvirus (OrMV). Op basis van de verkregen OrMV-sequentie zijn specifieke PCR-primers voor OrMV ontworpen (OrMVFor/OrMVRev, zie Tabel 3). Met deze specifieke OrMV PCR-toets kon infectie van OrMV in gladiool en enkele planten van *Zantedeschia* cv. Captain Volante worden bevestigd. Dit is de eerste waarneming van een OrMV-infectie van gladiool en *Zantedeschia*. Vanwege mogelijke gevolgen voor de exportpositie van Nederland wordt hierover in internationaal verband niet verder gecommuniceerd.

### Overleving van BYMV en OrMV in de knol

De knollen van de *Zantedeschia*'s die in 2007 naast het BYMV/OrMV-geïnfecteerde perceel gladiool hebben gestaan, zijn in 2008 na opplant in een bladluisvrije gaaskas aan het blad met PCR en ELISA getoetst op aanwezigheid van BYMV en OrMV (Tabel 7). Tevens is getoetst op de aanwezigheid van KoMV en ZaMMV. Voor *Zantedeschia* cv. Captain Volante zijn 40 willekeurige planten getoetst, voor cv. Pink Persuation zijn 20 willekeurige planten getoetst. Voor ELISA-analyse op potyvirusen de planten per stuk geanalyseerd. Daarentegen zijn voor de PCR-analyse op potyvirusen, BYMV, OrMV, KoMV en ZaMMV mengmonsters van 5 planten geanalyseerd.

Tabel 7. Overzicht van *Zantedeschia*-monsters in 2008 getoetst met ELISA voor potyvirusen en PCR voor diverse virussen. Deze *Zantedeschia*-planten groeiden in 2007 naast BYMV-geïnfecteerde gladiolen.

Monster	Aantal positief met poty-ELISA	PCR <sup>1</sup>				
		Potyvirusen (generiek)	BYMV	OrMV	KoMV	ZaMMV
cv. Captain Volante						
mengmonster 1	1 van 5	+	-	-	-	-
mengmonster 2	1 van 5	-	-	-	-	-
mengmonster 3	3 van 5	-	-	-	-	-
mengmonster 4	0 van 5	-	-	-	-	-
mengmonster 5	0 van 5	+++	-	-	+	-
mengmonster 6	0 van 5	+	-	-	-	-
mengmonster 7	1 van 5	+++	-	-	+	-
mengmonster 8	0 van 5	++	-	-	+	-
cv. Pink Persuation						
mengmonster 1	4 van 5	+++	-	-	+	-
mengmonster 2	3 van 5	+++	-	-	+	-
mengmonster 3	5 van 5	++	-	-	+	-
mengmonster 4	1 van 5	+++	-	-	+	-

<sup>1</sup> legenda: - is virus negatief; -/+ is zwak positief; + is virus positief; het aantal plusjes geeft de relatieve intensiteit weer van het PCR-product.

Met behulp van ELISA kon in 19 van de 60 getoetste planten potyvirusen worden gedetecteerd. Analyse van 60 individuele monsters met PCR is te kostbaar, vandaar dat mengmonsters van 5 planten met PCR zijn geanalyseerd. In 9 van de 12 mengmonsters kon met de generieke PCR-toets voor potyvirusen daadwerkelijk virus worden aangetoond. In de meeste gevallen kon deze virusinfectie worden gekoppeld aan de aanwezigheid van KoMV. Gedetailleerde analyse op BYMV en OrMV in deze planten resulteerde in een negatief resultaat. Op basis van deze bevindingen wordt geconcludeerd dat de BYMV en OrMV infectie die in 2007 was opgetreden, niet kan overblijven (zich blijvend kan vestigen) in een *Zantedeschia* knol. Zeer waarschijnlijk is het virus niet in staat vanuit het blad de knol te infecteren. Dit verschijnsel is in het verleden door Toon Derks (PPO) zeer waarschijnlijk ook waargenomen voor een CMV-infectie in een partij *Zantedeschia*. Daarnaast komt dit verschijnsel ook bij tospovirusen (TSWV/INSV) in *Hippeastrum* en Iris. Tospovirusen komen bij deze gewassen alleen in het blad voor. Blijkbaar zijn deze gewassen niet ideale waardplanten voor deze virussen.

In een aantal gevallen is de ELISA-analyse op potyvirusen negatief, terwijl met PCR potyvirusen in het algemeen, en specifiek KoMV kan worden aangetoond (cv. Captain Volante mengmonster 5, 6 en 8). In dit geval is de PCR-toets op mengmonsters gevoeliger dan de ELISA-analyse op enkele planten. Bij mengmonster 2 en 3 van cv. Captain Volante worden daarentegen in diverse planten met ELISA

potyvirusen aangetoond. Echter, de PCR-toetsen zijn negatief bij deze mengmonsters. Zeer waarschijnlijk is de kwaliteit van het RNA voor deze twee specifieke monsters niet goed geweest voor een betrouwbare PCR-analyse. Bij cv. Captain Volante mengmonster 1 en 6 wordt een zwak PCR product gevonden, terwijl geen BYMV, OrMV, KoMV en ZaMMV kon worden gedetecteerd. Mogelijk dat deze planten vanuit de CNB-*Zantedeschia* beplanting zijn besmet met een ander potyvirus zoals CLLV of DsMV. Dit is echter niet in dit project onderzocht. Daarnaast is het opvallend dat in de analyse uit 2008 geen overleving van ZaMMV in *Zantedeschia*knollen kon worden aangetoond. Op basis van de toetsresultaten uit 2007 (Tabel 6) zijn hier echter wel sterke aanwijzingen voor. Ook ervaring uit de praktijk bevestigt de overleving van ZaMMV in knollen.

## 5.4 Conclusies

Kort samengevat hebben overdrachtproeven van BYMV van gladiool naar *Zantedeschia* tot de volgende conclusies geleid:

- BYMV kan door bladluizen van gladiool overgedragen worden naar *Zantedeschia*
- Voor de eerste keer is infectie van gladiool en *Zantedeschia* met OrMV gevonden
- OrMV kan door bladluizen van gladiool overgedragen worden naar *Zantedeschia*
- Er zijn geen aanwijzingen dat BYMV en OrMV in *Zantedeschia*knollen kan overleven.
- Alleen in het jaar van infectie met BYMV en/of OrMV zal dit virus symptomen veroorzaken. In het daaropvolgende seizoen zijn de knollen weer vrij van deze virussen. Dit heeft consequenties voor het keuringsresultaat van de BKD. Een partij die met bijv. BYMV of OrMV is geïnfecteerd (en daardoor tot een lagere kwaliteitsklasse behoort) kan in het daaropvolgende jaar alsnog virusvrij zijn. Met betrekking tot afkeuring of degradatie van partijen is het daarom zeker relevant om te weten met welk (poty)virus een plant is geïnfecteerd. Dit kan uitsluitend door middel van een PCR-toets worden bepaald.



## 6 Algemene conclusies

Dit project heeft geleid tot een overzicht van 21 virussen waarvan tot en met april 2009 gerapporteerd is dat deze virussen in *Zantedeschia* kunnen voorkomen. Op aanvraag van de begeleidingscommissie is een overzicht gemaakt van de waardplanten van deze virussen en is informatie verzameld over de wijze van virusverspreiding. De meeste virussen hebben een beperkte waardplantenreeks. Daarentegen kan *Zantedeschia* ook geïnfecteerd worden door virussen met een zeer brede waardplantenreeks (bijv. AMV, ArMV en CMV). Virussen van *Zantedeschia* worden voornamelijk door bladluizen of trips verspreid. Ook zijn er enkele virussen waarvan bekend is dat deze door nematoden worden verspreid.

Tijdens de uitgebreide analyse van praktijkmonsters zijn is één nieuw virus gevonden (OrMV). Het is niet uit te sluiten dat dit relatief nieuwe gewas bevattelijk is voor nog meer virussen. Dit risico wordt vergroot doordat *Zantedeschia* ook in bijv. Afrikaanse of Zuid-Amerikaanse landen wordt geteeld waar voor Nederland onbekende virussen voor kunnen komen. Een gedetailleerde analyse voor mogelijk onbekende virussen bij onverklaarbare toetsresultaten is daarom wenselijk.

Voor zover als mogelijk zijn voor deze 21 virussen de beschikbare ELISA-toetsen bij de BKD op orde gebracht. Daarnaast is voor deze 21 virussen een overzicht gemaakt van beschikbare PCR-toetsen. Zowel een serie generieke PCR-toetsen als ook een groot aantal virusspecifieke PCR-toetsen zijn beschikbaar gekomen. De lijst met ELISA- en PCR-toetsen kan gebruikt worden voor de selectie van virusvrij uitgangsmateriaal en voor virusidentificatie van virusgeïnfecteerde planten.

Zowel door PPO-BBF als de BKD is praktijkmateriaal uitgebreid geanalyseerd met de beschikbare PCR- en ELISA-toetsen. Uit deze inventarisatie blijkt dat in Nederland in *Zantedeschia* vooral potyvirusen worden aangetroffen (voornamelijk ZaMMV en CLLV, regelmatig ZaMV, KoMV of DsMV, bijna geen TuMV). Sporadisch komt INSV voor. Veel van de virussen waarvan infectie in *Zantedeschia* ooit is beschreven, zijn in de periode 2007-2008 tijdens deze analyse van praktijkmateriaal niet aangetroffen. De analyse van praktijkmateriaal heeft niet geleid tot onverwachte of onverklaarbare resultaten. Er kan dus geconcludeerd worden dat de beschikbare PCR- en ELISA-toetsen goed aansluiten bij de virussen die in de praktijk voorkomen.

Naast specifieke ELISA-toetsen voor TSWV, INSV, CMV en ArMV kan voor de potyvirusen in de praktijk worden volstaan met een potyA-toets in combinatie met een ZaMV-toets. De virusidentificatie door middel van ELISA is echter niet robuust; alleen met PCR kan een virus betrouwbaar worden geïdentificeerd. De systematiek die BQ-Support aanbiedt voor virustoetsing in *Zantedeschia* sluit daarom nog steeds aan bij deze up-to-date kennis. Een aanpassing van dit protocol is daarom niet nodig.

Voor diverse virussen zijn de typische virussymptomen in *Zantedeschia* beschreven. Op basis van symptomen kan er daarom voorzichtig een inschatting gemaakt worden met welk virus een *Zantedeschia* is geïnfecteerd. Omdat er tussen verschillende cultivars kleine verschillen zijn in virusbeeld, is alleen met PCR de identiteit van virus betrouwbaar te bepalen.

Als laatste is in dit project bepaald of BYMV zich blijvend kan vestigen in *Zantedeschia*. Overdrachtproeven van BYMV van gladiool naar *Zantedeschia* hebben bevestigd dat BYMV door bladluizen van gladiool kan worden overgedragen naar *Zantedeschia*. Daarnaast is voor de eerste keer een infectie van gladiool en *Zantedeschia* met het potyvirus OrMV gevonden. Net als andere potyvirusen kan OrMV door bladluizen van gladiool overgedragen worden naar *Zantedeschia*. Er zijn echter geen aanwijzingen dat BYMV en OrMV in *Zantedeschia*knollen kan overleven. Alleen in het jaar van infectie met BYMV en/of OrMV zal dit virus symptomen veroorzaken. In het daaropvolgende seizoen zijn de knollen weer vrij van deze virussen. Met betrekking tot afkeuring of degradatie van teeltpartijen is het daarom zeker relevant om door middel van een PCR-toets te achterhalen met welk (poty)virus een partij is geïnfecteerd. Op basis van deze informatie kan men het risico inschatten of een virusgeïnfecteerde partij het volgende jaar nog steeds virusgeïnfecteerd is.



# Bijlage A – Wetenschappelijke publicaties over virussen in *Zantedeschia*

## Referentie

- 1 ChangYC, ChenYL, ChungFC, 2001. Mosaic disease of calla lily caused by a new potyvirus in Taiwan. *Plant Disease* 85, 1289.

In 1998, a new mosaic disease of calla lily (*Zantedeschia* spp.) was found in Taichung County, Taiwan. Primary symptoms were mosaic and green islands on leaves and discolored spots on flowers. Symptomatic plants were negative in double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) for *Dasheen mosaic virus* (DsMV) polyclonal antibody (Agdia Inc., Elkhart, IN), but were positive in indirect ELISA using an anti-potyvirus group monoclonal antibody. Extracts from these plants were infective by mechanical inoculation to seedlings of calla lily and *Philodendron selloum*, which expressed veinal chlorosis, mosaic, and green island symptoms. Transmission electron microscopic analysis indicated that the virus particles purified from inoculated *P. selloum* were 695 to 845 nm long. In addition, potyvirus-specific cytoplasmic inclusions were observed in epidermal cells of infected calla lily. The 3'-terminal region of the virus was amplified by reverse-transcription polymerase chain reaction from total RNA or viral RNA using a potyvirus-specific degenerate primer and an oligo(dT) primer. A 1.6-kb amplified fragment was cloned, and three independent clones were sequenced. The sequences included a portion of NIb gene, the coat protein (CP) gene, the 3' untranslated region (3'UTR) and the poly(A) tail. This nucleotide sequence (GenBank Accession No. AF332872) was checked against the international sequence databases using the BLAST program (provided by National Center for Biotechnology Information online at [www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/)). The highest identity of the CP amino acid sequences between this unknown virus and other potyviruses is 68%. Amino acid sequence homologies for the CPs between individual potyviruses are 38 to 71%, while those between strains of a potyvirus are more than 90% (1). Therefore, this *Zantedeschia*-infecting virus is a previously undescribed potyvirus and is herein designated as *Zantedeschia mosaic virus* (ZaMV). In further analyses, the amino acid sequence identities of the CP gene between ZaMV and 13 other aphid-transmitted potyviruses were 46 to 61% and 9 to 23% for the nucleotide sequence of the 3'UTR. ZaMV and DsMV showed 46% identity in the CP amino acid sequence and 12% identity in the 3'UTR nucleotide sequence, indicating that they are two distinct members of the genus *Potyvirus*. To our knowledge, this is the first report of natural infection of *Zantedeschia* spp. by ZaMV, a new potyvirus identified in Taiwan.

- 2 ChenCC and HuangCH, 2007. First Report of *Capsicum chlorosis virus* Causing Yellow Stripes on Calla Lilies in Taiwan. *Plant Disease* 91: 1201.

*Tomato spotted wilt virus* (TSWV) and *Calla lily chlorotic spot virus* (CCSV) are two recognized species of the *Tospovirus* genus in the family *Bunyaviridae* infecting calla lily (*Zantedeschia* spp.). During 2005, 15 virus isolates were collected from different calla lily plants exhibiting yellow stripes on their leaves in Ho-Li, a major calla lily-production township in Taiwan. After three successive local lesion passages on *Chenopodium quinoa* Willd., diseased leaf tissues individually infected by these isolates were preserved in liquid nitrogen and used for subsequent identification studies. Using the tospovirus genus-specific primers gL3637 and gL4435c designed from the L RNA, an 800-bp DNA fragment was amplified in reverse transcription-PCR from all 15 isolates. Moreover, leaf extracts of the diseased calla lilies and the *C. quinoa* plants inoculated with the 15 virus isolates reacted with antisera against the nucleocapsid proteins (NP) of *Capsicum chlorosis virus* (CaCV)-gloxinia and *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV), but not to monoclonal antibodies against the NP of TSWV, CCSV, *Peanut chlorotic fan-spot virus* (PCFV), or *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) in indirect ELISA. These results indicate that the 15 virus isolates are tospoviruses belonging to the WSMoV serogroup. Additionally, we amplified and sequenced the full-length N gene from these tospovirus isolates using primers WN2328 (5'-CCATTGGTTTGCTCCG-3') and WN3534 (5'-CGTCGACAGAGCAATCGAGGC-3') designed from the S RNA of WSMoV. The deduced amino acid sequences of the N protein from these 15 tospovirus isolates showed a greater than 92% identity to that of CaCV (GenBank Accession No. NC-008301). Furthermore, results of phylogenetic analysis of the 15 isolates on the basis of amino acids sequences, both genetic distance and parsimony trees indicated that they were all genetically clustered within CaCV using INSV, TSWV, and WSMoV as outgroups. The results indicate that the virus causing yellow stripes in calla lilies is a strain of CaCV. To our

knowledge, this is the first evidence that CaCV can naturally infect calla lilies and cause yellow stripe symptoms.

- 3 ChenCC, ChaoCH, ChenCC, YehSD, TsaiHT, ChangCA, 2003. Identification of Turnip mosaic virus isolates causing yellow stripe and spot on calla lily. *Plant Disease* 87, 901–905.

Two virus cultures, RC4 and YC5, were isolated in Taiwan from calla lily (*Zantedeschia* spp.) cv. Black magic displaying yellow spot and stripe on leaves. Both isolates were mechanically transmitted to various hybrids of *Zantedeschia* and induced systemic symptoms similar to those observed on diseased Black magic. In addition to *Zantedeschia* spp., the two virus isolates also infected several cruciferous species and induced mosaic symptoms. Electron microscopy revealed the presence of flexuous virus particles about 750 nm in length. The two isolates were propagated in and purified from mustard plants and were used as immunogens for production of antisera in rabbits. In enzyme-linked immunosorbent assay and sodium dodecyl sulfate-immunodiffusion tests, both antisera reacted strongly with their homologous antigens and with antigens of two Turnip mosaic virus (TuMV) isolates from radish (TuMV-R) and lisianthus (TuMV-L), but not with 21 other different potyviruses tested. In reciprocal tests, antisera against TuMV-R and TuMV-L also reacted strongly with RC4 and YC5 antigens, indicating that these two calla lily isolates are serologically indistinguishable from other known TuMV strains. Cloning and sequence analyses confirmed that both isolates shared 95 to 99% of deduced amino acid sequence identities in the coat protein genes with those of various known TuMV strains. This investigation represents the first record of the natural infection of TuMV in calla lily.

- 4 ChenCC, ChenTV, YehD, HuangCH, ChengYH, ChangCA. Identification and molecular characterization of two new calla lily infecting tospoviruses - CaCV and WSMoV, personal communication.
- 5 ChenCC, HsuHT, ChengYH, HuangCH, LiaoJY, TsaiHT and ChangCA 2006. Molecular and serological characterization of a distinct potyvirus causing latent infection in calla lilies. *Botanical Studies* 47:369-378.

A virus (isolate: Ca-M19) capable of inducing local lesions on *Chenopodium quinoa* Willd. was isolated from calla lilies (*Zantedeschia* spp.). Subculture of Ca-M19 was easily maintained in *C. quinoa*, but a back inoculation from single lesion of *C. quinoa* to calla lilies has so far not been successful. Typical potyvirus-like flexuous particles were consistently detected in Ca-M19 infected plants, and a 1.3-kb DNA fragment was amplified from these plants by reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) using potyvirus degenerate primers. The PCR product was cloned and its sequence analyzed (AF469171). The amplicon was revealed to correspond to the 3' terminal region of a potyviral genome. After comparing this sequence with known potyvirus sequences in the GenBank, we considered the virus a new species of *Potyvirus* based on the uniqueness in its coat protein gene (CP) and the 3' non-coding region (NCR). Comparative studies showed that *Soybean mosaic virus* (SMV) and *Watermelon mosaic virus 2* (WMV2) were the two most similar potyviruses with Ca-M19, but they shared only 80% of nucleotide identities in CP and NCR with Ca-M19. Attempts to purify a sufficient quantity of Ca-M19 from *C. quinoa* for preparation of antibodies were unsuccessful. Alternatively, Ca-M19 CP was expressed by the vector pET28b and purified from *E. coli* culture, and polyclonal antibodies were prepared in rabbits. The antibody was applied in ELISA, Western blotting, SDS-immunodiffusion and immuno-specific electron microscopy for the detection of Ca-M19 in calla lilies. It did not react with at least five calla lily infecting potyviruses, including *Dasheen mosaic virus*, *Bean yellow mosaic virus*, *Konjak mosaic virus*, *Turnip mosaic virus*, and *Zantedeschia mild mosaic virus*. Indirect ELISA and SDS-immunodiffusion tests showed that Ca-M19 was serologically related, but distinct from *Bean common mosaic virus* (BCMV), *Black cowpea mosaic virus* (BICMV), *Melon vein banding mosaic virus* (MVbMV), *Passionfruit mottle virus* (PaMV), *Passionfruit crinkle virus* (PCV), *Passionfruit woodiness virus* (PWV), *Soybean mosaic virus* (SMV), *Watermelon mosaic virus 2* (WMV 2), and *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV). Besides serological techniques, a primer pair (M19u/M19d) and a DNA probe were designed which could also specifically detect and differentiate Ca-M19 from other viruses. By the use of specific antibodies in ELISA, Ca-M19 was frequently detected in calla lily plants collected from several major calla lily production townships in Taiwan. Among 86 field samples positively reacting to the antibody, 77 of them exhibited evident systemic mosaic symptoms, but these symptomatic plants were confirmed to be infected simultaneously by other viruses. Nine plants were found to be infected by Ca-M19 alone. These plants were confirmed to have remained symptomless throughout a 6-month observation period. Therefore, we propose naming this isolate *Calla lily latent virus* (CLLV) for its inability to develop any visible symptoms on calla lily.

- 6 ChenCC, KoWF, JanWJ, LinCY and HsuHT. 2002. Characterization of Carnation mottle carmovirus isolated from calla lily (*Zantedeschia* spp.). *Plant Pathol. Bull.* 11:242

- 7 ChenJ, ChenJ, ChenJ, AdamsMJ, 2001. Molecular characterization of an isolate of Dasheen mosaic virus from *Zantedeschia aethiopica* in China and comparisons in the genus *Potyvirus*. *Archives of Virology* 146, 1821–1829.

The complete nucleotide sequence of an isolate of *Dasheen mosaic virus* from *Zantedeschia aethiopica* in Zhejiang Province, China, was determined. The 9991 nucleotide genome was typical of the genus *Potyvirus* and phylogenetic analysis showed it to be a member of the *Bean common mosaic virus* subgroup. The 3'-terminal sequence, including the coat protein region, was determined for three further isolates from China and Japan. Variations in the length and composition of the N-terminus of the coat protein were not related to geographic origin or plant host. An analysis of all potyvirus cleavage sites revealed patterns related to phylogenetic groupings.

- 8 ChenYK and JanFJ, 2006. A New Natural Host of *Lisianthus necrosis virus* in Taiwan. *Plant Dis.* 90:1112

*Lisianthus necrosis virus* (LNV) was first identified as a fungus-borne virus that induced systemic necrosis in *Lisianthus* (*Eustoma russellianum*) in Japan (2). In Taiwan, LNV causes systemic bright yellow chlorosis followed by necrosis in *Lisianthus* (1). The disease was able to spread through the infested soil. Isolation of a fungus vector was attempted but was not successful (1). Calla lilies (*Zantedeschia* spp.) showing symptoms of systemic necrosis were observed in the fields of central Taiwan. A virus culture was established through single-lesion isolation from a local lesion host, *Chenopodium quinoa*, and maintained in *Nicotiana benthamiana*. Mechanical inoculation of the virus resulted in systemic infection in *E. russellianum* and *Datura stramonium* and local infection in *Celosia argentea*, *Gomphrena globosa*, *Chenopodium amaranticolor*, *Zinnia elegans*, *Cucumis melo*, *Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo*, *Vigna angularis*, and *Petunia hybrida*. Electron microscopic examination of ultrathin sections of infected plant tissues revealed the presence of spherical viral particles approximately 33 nm in diameter. Scattered and aggregated virion particles were frequently observed in the cytoplasm of infected cells. Results of enzyme-linked immunosorbent assay, western blotting, and immunoelectron microscopy indicate that the virus is serologically related to LNV (1). Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) with degenerate primers (forward primer 5'-ATGGAAATCGTTAGG and reverse primer 5'-CTATAGCAATGTTGC) for LNV coat protein gene produced a cDNA of approximately 1.1 kb. The RT-PCR product was cloned into pGEM-T vector (Promega, Madison, WI) and sequenced. Sequence analysis showed that the cloned fragment (GenBank Accession No. DQ523229) was 1,167 bp long and shared 99% identity at the nucleotide and deduced amino acid levels with that of the LNV isolated from *Lisianthus* (GenBank Accession No. DQ011234). To our knowledge, this is the first report of the natural occurrence of LNV infection in calla lily.

- 9 HuangCH, ChangYC, 2005. Identification and molecular characterization of *Zantedeschia mild mosaic virus*, a new calla lily-infecting potyvirus. *Archives of Virology* 150, 1221–1230.

Tissue-cultured seedlings of calla lily (*Zantedeschia* spp.) with mild mosaic symptom were observed in Taiwan. A new potyvirus, *Zantedeschia mild mosaic virus* (ZaMMV), was identified in the diseased plants based on the result of ELISA, virion morphology and sequence data. In the host range test, ZaMMV only infected *Philodendron selloum* and *Zantedeschia* spp. causing systemic mosaic and mild mosaic symptom, respectively. The 3'-terminal region of the virus was amplified by RT-PCR from total RNA using a potyvirus-specific degenerate primer and an oligo-dT primer. Sequence analysis revealed that the highest amino acid sequence identity of the capsid protein (CP) gene between ZaMMV and thirty potyviruses was 55%, and the highest nucleotide identity of 3' untranslated region (3' UTR) was 52%. Therefore, in terms of species demarcating criteria, ZaMMV is a new species of the genus *Potyvirus*. From the result of phylogenetic analysis, ZaMMV should be a member of the *Bean common mosaic virus* subgroup. According to the deduced amino acid sequence of ZaMMV, the N terminus of the CP contained 39 glutamine residues before DAG motif. This unique sequence has never been discovered in plant viruses.

- 10 KwonSB, HaJH, YoonJY, RyuKH, 2002. *Zantedeschia mosaic virus* causing leaf mosaic symptom in calla lily is a new potyvirus. *Archives of Virology* 147, 2281–2289.

A novel virus, *Zantedeschia mosaic virus* (ZaMV-KR), causing mosaic and malformation symptoms was isolated from calla lily (*Zantedeschia* spp.) in Korea and its biological and molecular properties were characterized. The virus was distinct from *Dasheen mosaic virus*, an Araceae-infecting potyvirus, by serological and sequence analyses. Multiple alignments of the CP amino acid sequence between the virus and other potyviruses showed 51.8 to 62.1% identity. Phylogenetic analyses of the CP revealed that the virus could be clustered with *Plum pox virus* and *Turnip mosaic virus*. Sequence comparison of the CP gene between the virus and three other ZaMV isolates from Taiwan showed over 93.9% identity, and most of amino acids changes occurred in the N-terminal region. Sequence comparison of 3' NTR revealed

homology levels of 27.0 to 47.9% between the virus and other potyviruses. Our results support ZaMV as a distinct species of the genus *Potyvirus*.

- 11 LinYH, ChenTC, ChungMH, ChenCC, HsuHT, and YehSD. 2003. Serological and molecular characterization of *Calla lily chlorotic ringspot virus*, a new species of the genus *Tospovirus* belonging to WSMoV serogroup. *Plant Pathol. Bull.* 12: 289.
- 12 MokraV, GotzovaB, 1994. Identification of virus infections in *Dieffenbachia* and *Zantedeschia* in Czechoslovakia. *Acta Horticulturae* 377, 361–362.

*Dieffenbachia maculata* belongs for many years to important species of pot plants in Czechoslovakia. There is also increasing demand for cut flowers of *Zantedeschia aethiopica*. Therefore growers are interested in improving the health stage of these cultures. Plants of *Dieffenbachia* with symptoms of stunting, deformed leaves and poor color clarity were collected in a nursery specialised for propagation of "green" pot plants. *Zantedeschia* plants with symptoms of chlorotic vein banding were sent to the Institute by several commercial growers for identification of the disease. The samples of *Dieffenbachia* and *Zantedeschia* leaves were examined by electron microscope. Elongated and spherical particles were detected in both species. For their further identification DAS-ELISA was applied using IgG and IgG conjugates to cucumber mosaic virus (CMV), tobacco mosaic virus (TMV), a tomato mosaic virus (ToMV) from the Phytopathological Institute - Aschersleben, Germany and to bean yellow mosaic virus (BYMV) from the Bulb Research Centre - Lisse, The Netherlands. Immunoelectron microscopy was used for detection of dasheen mosaic virus (DMV). The DMV antiserum was kindly supplied by A. A. Brunt, United Kingdom. The results of ELISA and IEM were confirmed by inoculation onto herbaceous plants including seedlings of *Anthurium*, which is a good test plant for DMV. It reacted on DMV infection by mosaic and leaf deformation. In *Dieffenbachia* we detected DMV, CMV, BYMV, TMV and ToMV. In *Zantedeschia* we found DMV and CMV, besides particles resembling a carlavirus were observed.

- 13 PhamK, LangeveldSA, LemmersMEC, DerksAFLM, 2002. Detection and identification of potyviruses in *Zantedeschia*. *Acta Horticulturae* 568, 143–148.

In a survey 4 *Zantedeschia* species and c. 30 hybrids were tested in DAS-ELISA and ACP-ELISA with DsMV-antiserum and two potyvirus-specific monoclonal antibodies (PTY 1 and AS-0228), respectively. Dasheen mosaic virus (DsMV), which has been reported earlier as the most prevalent virus in aroids, including *Zantedeschia*, was detected in only a limited amount of samples. Therefore potyviruses in *Zantedeschia* plants from different origins were further characterized by RT-PCR and sequence analysis. Four different potyviruses could be distinguished, viz. DsMV, konjac mosaic virus (KoMV), bean yellow mosaic virus and an hitherto unidentified potyvirus. In 50 samples tested with a virus specific RT-PCR this potyvirus and KoMV appeared to be more prevalent than DsMV. In *Zantedeschia* potyviruses are not equally distributed over the various parts of the plant either in single or mixed infections. Virus indexing was most reliable in the second half of the growing season when testing the middle or inner leaves. The four potyviruses can be detected by PTY 1 and AS-0228 antisera showing that the PTY 1 serum is the most sensitive serum.

- 14 RanaGL, VovlasC, ZettlerFW, 1983. Manual transmission of dasheen mosaic virus from *Richardia* to nonaraceous hosts. *Plant Disease* 67, 1121–1122.

Dasheen mosaic virus was isolated from diseased calla lily plants (*Richardia africana*) growing in southern Italy. *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *C. ambrosioides*, *Nicotiana benthamiana*, and *Saponaria vaccaria* were infected when inoculated with triturated epidermal strips from *R. africana*.  
Keyword(s): Araceae, *Zantedeschia* sp.

# Bijlage B – Virussyntomen bij *Zantedeschia*

*Zantedeschia* geïnfecteerd met Calla lily latent virus (CLVV)





**Zantedeschia geïnfecteerd met Calla lily latent virus (CLVV)**  
(vervolg)



**Zantedeschia geïnfecteerd met Zantedeschia mild mosaic virus (ZaMMV)**





**Zantedeschia** geïnfecteerd met **Zantedeschia mild mosaic virus (ZaMMV)**  
(vervolg)



**Zantedeschia** geïnfecteerd met **Calla lily laten virus en Zantedeschia mild mosaic virus (CLVV + ZaMMV)**



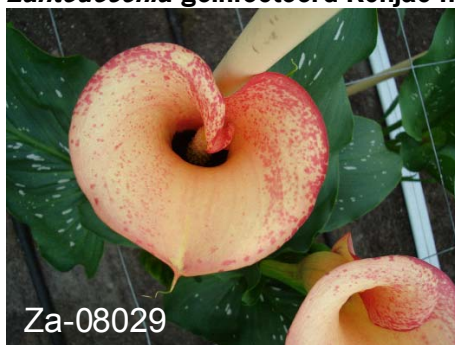
***Zantedeschia* geïnfecteerd met Calla lily laten virus en *Zantedeschia* mild mosaic virus (CLVV + ZaMMV) (vervolg)**



***Zantedeschia* geïnfecteerd met Calla lily laten virus en *Zantedeschia* mild mosaic virus en *Zantedeschia* mosaic virus (CLVV + ZaMMV + ZaMV)**

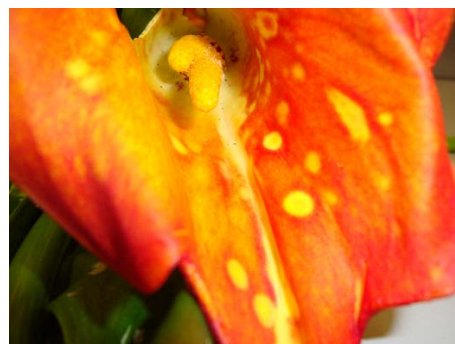


***Zantedeschia* geïnfecteerd Konjac mosaic virus (KoMV) of *Zantedeschia* mosaic virus (ZaMV)**





***Zantedeschia* geïnfecteerd met Impatiens necrotic spot virus (INSV)**



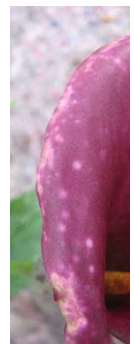


## Bijlage C – Symptomen in *Zantedeschia* die niet door virus worden veroorzaakt

“Veterblad”



“Olifantenblad”





## Bijlage D – Waardplantenreeks van virussen – gesorteerd per virus

Bron van deze lijst: Plant Viruses Online - Descriptions and Lists from the Virus Identification Data Exchange (VIDE) Database - <http://image.fs.uidaho.edu/videx/>. Het is belangrijk te realiseren dat deze lijst van waardplanten niet absoluut volledig is.

### **Alfalfa mosaic virus (AMV)**

*Abelmoschus esculentus*  
*Ageratum conyzoides*  
*Amaranthus caudatus*  
*Amaranthus retroflexus*  
*Antirrhinum majus*  
*Apium graveolens*  
*Apium graveolens var. rapaceum*  
*Arachis hypogaea*  
*Astragalus glycyphyllos*  
*Beta vulgaris*  
*Brassica campestris ssp. rapa*  
*Calendula officinalis*  
*Capsicum annuum*  
*Capsicum frutescens*  
*Caryopteris incana*  
*Catharanthus roseus*  
*Celosia argentea*  
*Cheiranthus cheiri*  
*Chenopodium album*  
*Chenopodium amaranticolor*  
*Chenopodium murale*  
*Chenopodium quinoa*  
*Cicer arietinum*  
*Cichorium endivia*  
*Coriandrum sativum*  
*Crotalaria spectabilis*  
*Cucumis melo*  
*Cucumis sativus*  
*Cucurbita pepo*  
*Cyamopsis tetragonoloba*  
*Daucus carota (var. sativa)*  
*Dianthus barbatus*  
*Dianthus caryophyllus*  
*Emilia sagittata*  
*Fagopyrum esculentum*  
*Glycine max*  
*Gomphrena globosa*  
*Helianthus annuus*  
*Lablab purpureus*  
*Lactuca sativa*  
*Lathyrus odoratus*  
*Lens culinaris*  
*Linum usitatissimum*  
*Lupinus albus*  
*Lycopersicon esculentum*  
*Macroptilium lathyroides*  
*Malva parviflora*

*Matthiola incana*  
*Medicago hispida*  
*Medicago sativa*  
*Melilotus albus*  
*Nicotiana bigelovii*  
*Nicotiana clevelandii*  
*Nicotiana debneyi*  
*Nicotiana glutinosa*  
*Nicotiana megalosiphon*  
*Nicotiana rustica*  
*Nicotiana sylvestris*  
*Nicotiana tabacum*  
*Ocimum basilicum*  
*Petunia × hybrida*  
*Phaseolus lunatus*  
*Phaseolus vulgaris*  
*Philadelphus*  
*Physalis floridana*  
*Physalis peruviana*  
*Phytolacca americana*  
*Pisum sativum*  
*Solanum demissum*  
*Solanum melongena*  
*Solanum nigrum*  
*Solanum nodiflorum*  
*Solanum rostratum*  
*Solanum tuberosum*  
*Sonchus oleraceus*  
*Spinacia oleracea*  
*Stellaria media*  
*Tetragonia tetragonioides*  
*Trifolium dubium*  
*Trifolium hybridum*  
*Trifolium incarnatum*  
*Trifolium pratense*  
*Trifolium repens*  
*Trifolium subterraneum*  
*Tropaeolum majus*  
*Viburnum opulus*  
*Vicia faba*  
*Vigna radiata*  
*Vigna unguiculata*  
*Vigna unguiculata ssp.*  
*Sesquipedalis*  
*Zantedeschia*  
*Zinnia elegans*

### **Arabidopsis mosaic virus (ArMV)**

*Anagallis arvensis*  
*Antirrhinum majus*  
*Apium graveolens*  
*Apium graveolens var. dulce*  
*Arabis hirsuta*  
*Armoracia rusticana*  
*Asparagus officinalis*  
*Astilbe*  
*Bellis perennis*  
*Beta vulgaris*  
*Brassica campestris*  
*Brassica campestris ssp. pekinensis*  
*Brassica campestris ssp. rapa*  
*Brassica juncea*  
*Brassica oleracea var. botrytis*  
*Buxus sempervirens*  
*Calendula officinalis*  
*Capsella bursa-pastoris*  
*Carum segetum*  
*Chamaecyparis lawsoniana*  
*Chenopodium album*  
*Chenopodium amaranticolor*  
*Chenopodium foetidum*  
*Chenopodium murale*  
*Chenopodium quinoa*  
*Cucumis melo*  
*Cucumis sativus*  
*Cucurbita pepo*  
*Cyamopsis tetragonoloba*  
*Cyphomandra betacea*  
*Daphne mezereum*  
*Datura stramonium*  
*Daucus carota*  
*Delphinium hybridum*  
*Dianthus barbatus*  
*Dianthus caryophyllus*  
*Emilia sagittata*  
*Euonymus europaeus*  
*Fagopyrum esculentum*  
*Forsythia × intermedia*  
*Fragaria vesca*  
*Fraxinus excelsior*  
*Glycine max*  
*Gomphrena globosa*  
*Humulus lupulus*  
*Jasminum officinale*  
*Lactuca sativa*

*Lamium amplexicaule*  
*Lathyrus odoratus*  
*Ligustrum vulgare*  
*Lobelia erinus*  
*Lycopersicon esculentum*  
*Melilotus officinalis*  
*Mentha arvensis*  
*Myosotis sylvatica*  
*Narcissus pseudonarcissus*  
*Nicandra physalodes*  
*Nicotiana clevelandii*  
*Nicotiana glutinosa*  
*Nicotiana rustica*  
*Nicotiana sylvestris*  
*Nicotiana tabacum*  
*Ocimum basilicum*  
*Petunia × hybrida*  
*Phaseolus coccineus*  
*Phaseolus vulgaris*  
*Phlox drummondii*  
*Physalis floridana*  
*Pisum sativum*  
*Plantago lanceolata*  
*Polygonum aviculare*  
*Polygonum persicaria*  
*Prunus avium*  
*Prunus domestica*  
*Prunus persica*  
*Ranunculus repens*  
*Rheum raphaniticum*  
*Ribes*  
*Rosa*  
*Rubus idaeus*  
*Rubus procerus*  
*Sambucus nigra*  
*Senecio vulgaris*  
*Solanum nigrum*  
*Solanum tuberosum*  
*Spinacia oleracea*  
*Stellaria media*  
*Syringa vulgaris*  
*Taraxacum officinale*  
*Tetragonia tetragonioides*  
*Torenia fournieri*  
*Trifolium repens*  
*Tropaeolum majus*  
*Tulipa*  
*Urtica dioica*  
*Urtica urens*  
*Vicia faba*  
*Vigna unguiculata*  
*Vitis vinifera*  
*Zantedeschia*  
*Zinnia elegans*

**Bean yellow Mosaic Virus (BYMV)**

*Amaranthus caudatus*  
*Arachis hypogaea*  
*Cajanus cajan*

*Canna*  
*Chenopodium album*  
*Chenopodium amaranticolor*  
*Chenopodium quinoa*  
*Cicer arietinum*  
*Crotalaria retusa*  
*Crotalaria spectabilis*  
*Cucurbita maxima*  
*Cyamopsis tetragonoloba*  
*Eustoma russellianum*  
*Freesia*  
*Gladiolus*  
*Glycine max*  
*Gomphrena globosa*  
*Lathyrus odoratus*  
*Lens culinaris*  
*Lupinus albus*  
*Lupinus angustifolius*  
*Lupinus luteus*  
*Macrotyloma uniflorum*  
*Medicago sativa*  
*Melilotus albus*  
*Nicotiana clevelandii*  
*Nicotiana debneyi*  
*Nicotiana glutinosa*  
*Nicotiana rustica*  
*Nicotiana sylvestris*  
*Nicotiana tabacum*  
*Papaver somniferum*  
*Petunia × hybrida*  
*Phaseolus lunatus*  
*Phaseolus vulgaris*  
*Physalis floridana*  
*Phytolacca americana*  
*Pisum sativum*  
*Robinia pseudoacacia*  
*Spinacia oleracea*  
*Stellaria media*  
*Tetragonia tetragonioides*  
*Trifolium hybridum*  
*Trifolium incarnatum*  
*Trifolium pratense*  
*Trifolium repens*  
*Trifolium subterraneum*  
*Trifolium vesiculosum*  
*Trigonella foenum-graecum*  
*Vicia faba*  
*Vicia sativa*  
*Vicia villosa*  
*Vigna angularis*  
*Vigna radiata*  
*Vigna unguiculata*  
*Zantedeschia*  
*Zinnia elegans*

**Calla lily latent virus (CLLV)**

*Zantedeschia*

**Calla lily chlorotic spot virus (CCSV)**

*Benincasa hispida*  
*Citrullus lanatus*  
*Cucumis melo*  
*Cucumis metuliferus*  
*Cucumis sativas*  
*Cucurbita pepo*  
*Gomphrena globosa subsp. Lanatus*  
*Lagenaria siceraria*  
*Luffa cylindrical*  
*Nicotiana benthamiana*  
*Nicotiana tabacum*  
*Capsicum annum*  
*Chenopodium album*  
*Chenopodium quinoa*  
*Datura stramonium*  
*Nicotiana glutinosa*  
*Nicotiana hybrida*  
*Nicotiana rustica*  
*Nicotiana tabacum cv. White Burley,*  
*Plantago major*  
*Solanum melongena*  
*Spathiphyllum kochi*  
*Syngonium podophyllum*  
*Zantedeschia*

**Capsicum chlorosis virus (CaCV)**

*Arachis hypogaea*  
*Capsicum annum*  
*Capsicum chinense*  
*Cassia occidentalis*  
*Cassia tora*  
*Catharanthus roseus*  
*Chenopodium amaranticolor*  
*Chenopodium quinoa*  
*Citrullus lanatus*  
*Cyamopsis tetragonoloba.*  
*Datura stramonium*  
*Gomphrena globosa*  
*Glycine max*  
*Gomphrena globosa*  
*Latuca sativa*  
*Leucanteum paludosum*  
*Lycopersicon esculentum*  
*Nicotiana benthamiana*  
*Nicotiana glutinosa*  
*Nicotiana occidentalis*  
*Nicotiana rustica*  
*Nicotiana tabacum*  
*Petunia hybrida*  
*Phaseolus mungo*  
*Phaseolus vulgaris*  
*Physalis floridana,*  
*Pisum sativum*  
*Sesbania cannabina*  
*Vigna unguiculata*  
*Zantedeschia*



**Carnation mottle virus (CarMV)**

*Amaranthus caudatus*  
*Anagallis arvensis*  
*Antirrhinum majus*  
*Atriplex hortensis*  
*Begonia elatior*  
*Begonia* × *cheimanthus*  
*Beta vulgaris*  
*Calandrinia grandiflora*  
*Catharanthus roseus*  
*Celosia argentea*  
*Chenopodium amaranticolor*  
*Chenopodium quinoa*  
*Cucumis sativus*  
*Daphne odora*  
*Dianthus barbatus*  
*Dianthus caryophyllus*  
*Dianthus chinensis*  
*Dianthus superbus*  
*Digitalis purpurea*  
*Glechoma hederacea*  
*Gomphrena globosa*  
*Lunaria annua*  
*Lychnis chalcedonica*  
*Lychnis dioica*  
*Lycopersicon esculentum*  
*Medicago sativa*  
*Nicandra physalodes*  
*Nicotiana clevelandii*  
*Petunia* × *hybrida*  
*Phytolacca americana*  
*Primula malacoides*  
*Rumex obtusifolius*  
*Saponaria officinalis*  
*Saponaria vaccaria*  
*Silene armeria*  
*Spinacia oleracea*  
*Stellaria media*  
*Tetragonia tetragonioides*  
*Torenia fournieri*  
*Trifolium repens*  
*Zantedeschia*

**Dasheen mosaic virus (DsMV)**

*Aglaonema*  
*Alocasia*  
*Amorphophallus*  
*Arisaema*  
*Caladium hortulanum*  
*Chenopodium amaranticolor*  
*Chenopodium ambrosioides*  
*Chenopodium quinoa*  
*Colocasia esculenta*  
*Cryptocoryne*  
*Cyrtosperma*  
*Dieffenbachia picta*  
*Nicotiana benthamiana*  
*Philodendron selloum*  
*Philodendron verrucosum*

*Richardia*  
*Saponaria vaccaria*  
*Spathiphyllum*  
*Tetragonia tetragonioides*  
*Xanthosoma caracu*  
*Zantedeschia elliotiana*

**Hippeastrum mosaic virus (HiMV)**

*Chenopodium quinoa*  
*Datura stramonium*  
*Eucharis grandiflora*  
*Hippeastrum hybridum*  
*Hyoscyamus niger*  
*Nicotiana clevelandii*  
*Nicotiana rustica*  
*Nicotiana tabacum*  
*Petunia* × *hybrida*  
*Zantedeschia*

**Impatiens necrotic spot virus (INSV)**

*Aconitum*  
*Alstroemeria*  
*Anemone*  
*Antirrhinum*  
*Asplenium nidus-avis*  
*Begonia*  
*Bouvardia*  
*Callistephus*  
*Capsicum annuum*  
*Cichorium endivia*  
*Columnea*  
*Cucumis sativus*  
*Cyclamen persicum*  
*Dahlia*  
*Dendranthema* × *grandiflorum*  
*Eustoma grandiflorum*  
*Exacum affine*  
*Fatsia japonica*  
*Gerbera*  
*Gladiolus*  
*Impatiens New Guinea hybrids*  
*Lactuca sativa*  
*Limonium*  
*Lobelia*  
*Ocimum basilicum*  
*Pittosporum*  
*Primula*  
*Ranunculus*  
*Senecio cruentus*  
*Sinningia speciosa*  
*Valerianella olitoria*  
*Zantedeschia*

**Konjac mosaic virus (KoMV)**

*Amorphophallus konjac*  
*Philodendron oxycardium*  
*Philodendron selloum*

*Zantedeschia*

**Lisianthus necrosis virus (LNV)**

*Chenopodium amaranticolor*  
*Chenopodium quinoa*  
*Cucumis sativus*  
*Cucurbita maxima*  
*Cucurbita moschata*  
*Cucurbita pepo*  
*Eustoma russellianum*  
*Gomphrena globosa*  
*Nicotiana clevelandii*  
*Nicotiana glutinosa*  
*Nicotiana tabacum*  
*Petunia* × *hybrida*  
*Phaseolus vulgaris*  
*Sesamum indicum*  
*Tetragonia tetragonioides*  
*Vigna unguiculata*  
*Vigna unguiculata ssp. sesquipedalis*  
*Zantedeschia*  
*Zinnia elegans*

**Ornithogalum mosaic virus (OrMV)**

*Chenopodium quinoa*  
*Iris*  
*Gladiolus*  
*Lachenalia*  
*Nicotiana clevelandii*  
*Ornithogalum thyrsoides*  
*Tetragonia tetragonioides*  
*Zantedeschia*

**Potato Virus X (PVX)**

*Brassica campestris ssp. rapa*  
*Cynara scolymus*  
*Datura stramonium*  
*Gomphrena globosa*  
*Nicandera physaloides*  
*Nicotiana tabacum*  
*Orychophragmus violaceus*  
*Petunia hybrida*  
*Physalis floridana*  
*Solanum nigrum*  
*Solanum tuberosum*  
*Zantedeschia*

**Tobacco rattle virus (TRV)**

*Allium cepa*  
*Amaranthus caudatus*  
*Amaranthus retroflexus*  
*Antirrhinum majus*  
*Arachis hypogaea*  
*Avena sativa*  
*Bellis perennis*  
*Beta vulgaris*  
*Brassica campestris*

*Brassica campestris ssp. napus*  
*Brassica campestris ssp. pekinensis*  
*Brassica juncea*  
*Calendula officinalis*  
*Capsella bursa-pastoris*  
*Capsicum annuum*  
*Catharanthus roseus*  
*Cheiranthus cheiri*  
*Chenopodium album*  
*Chenopodium amaranticolor*  
*Chenopodium foetidum*  
*Chenopodium quinoa*  
*Coriandrum sativum*  
*Cucumis melo*  
*Cucumis sativus*  
*Glycine max*  
*Gomphrena globosa*  
*Gypsophila elegans*  
*Helianthus annuus*  
*Hyacinthus*  
*Hyoscyamus niger*  
*Lactuca sativa*  
*Lathyrus odoratus*  
*Linum usitatissimum*  
*Lobelia erinus*  
*Lupinus mutabilis*  
*Lycopersicon esculentum*  
*Lycopersicon pimpinellifolium*  
*Melilotus albus*  
*Momordica balsamina*  
*Myosotis sylvatica*  
*Narcissus pseudonarcissus*  
*Nicandra physalodes*  
*Nicotiana benthamiana*  
*Nicotiana clevelandii*  
*Nicotiana glutinosa*  
*Nicotiana rustica*  
*Nicotiana sylvestris*  
*Nicotiana tabacum*  
*Nicotiana × edwardsonii*  
*Ocimum basilicum*  
*Petunia × hybrida*  
*Phaseolus vulgaris*  
*Phytolacca americana*  
*Pisum sativum*  
*Raphanus sativus*  
*Ricinus communis*  
*Salvia splendens*  
*Senecio vulgaris*  
*Solanum melongena*

*Solanum nigrum*  
*Solanum tuberosum*  
*Spinacia oleracea*  
*Stellaria media*  
*Trifolium pratense*  
*Trifolium repens*  
*Tropaeolum majus*  
*Tulipa*  
*Vicia faba*  
*Vicia villosa*  
*Viola arvensis*  
*Zantedeschia*

#### **Tomato spotted wilt virus (TSWV)**

*Amaranthus caudatus*  
*Amaranthus retroflexus*  
*Ananas comosus*  
*Arachis hypogaea*  
*Belamcanda chinensis*  
*Bidens pilosa*  
*Brassica oleracea var. botrytis*  
*Calendula officinalis*  
*Canavalia gladiata*  
*Canavalia obtusifolia*  
*Canavalia occidentalis*  
*Capsella bursa-pastoris*  
*Capsicum annuum*  
*Cassia occidentalis*  
*Cassia tora*  
*Catharanthus roseus*  
*Cheiranthus cheiri*  
*Cichorium endiva*  
*Crotalaria juncea*  
*Cucumis sativus*  
*Dahlia pinnata*  
*Datura stramonium*  
*Desmodium triflorum*  
*Glycine max*  
*Gomphrena globosa*  
*Helianthus annuus*  
*Hippeastrum hybridum*  
*Hyoscyamus niger*  
*Ipomoea congesta*  
*Lactuca sativa*  
*Lathyrus odoratus*  
*Lupinus mutabilis*  
*Lycopersicon esculentum*  
*Lycopersicon pimpinellifolium*  
*Malva parviflora*  
*Matthiola incana*

*Nicandra physalodes*  
*Nicotiana bigelovii*  
*Nicotiana clevelandii*  
*Nicotiana glutinosa*  
*Nicotiana rustica*  
*Nicotiana sylvestris*  
*Nicotiana tabacum*  
*Papaver nudicaule*  
*Petunia × hybrida*  
*Phaseolus vulgaris*  
*Phlox drummondii*  
*Physalis peruviana*  
*Pisum sativum*  
*Solanum capsicastrum*  
*Solanum melongena*  
*Solanum nigrum*  
*Solanum nodiflorum*  
*Solanum tuberosum*  
*Sonchus oleraceus*  
*Spinacia oleracea*  
*Stellaria media*  
*Tephrosia purpurea*  
*Trifolium subterraneum*  
*Tropaeolum majus*  
*Vicia faba*  
*Vigna mungo*  
*Vigna radiata*  
*Vigna unguiculata*  
*Zantedeschia*  
*Zinnia elegans*

#### **Watermelon silver mottle virus (WSMoV)**

*Citrullus vulgaris*  
*Cucumis melo*  
*Benincasa hispida*  
*Nicotiana glutinosa*  
*Zantedeschia*

#### **Zantedeschia mild mosaic virus (ZaMMV)**

*Arisaema spp.*  
*Philodendron selloum*  
*Zantedeschia*

#### **Zantedeschia mosaic virus (ZaMV)**

*Zantedeschia*

## Bijlage E – Waardplantenreeks van virussen S– gesorteerd per waardplant

Bron van deze lijst: Plant Viruses Online - Descriptions and Lists from the Virus Identification Data Exchange (VIDE) Database - <http://image.fs.uidaho.edu/videx/>. Het is belangrijk te realiseren dat deze lijst van waardplanten niet absoluut volledig is.

<i>Abelmoschus esculentus</i>	AMV, CMV
<i>Ageratum conyzoides</i>	AMV
<i>Aconitum</i>	INSV,
<i>Aglaonema</i>	DSMV
<i>Alliaria officinalis</i>	TuMV
<i>Allium cepa</i>	TRV
<i>Alocasia</i>	DSMV
<i>Amaranthus caudatus</i>	AMV, BYMV, CarMV, CMV, TRV, TSWV, TuMV
<i>Amaranthus retroflexus</i>	AMV, CMV, TRV, TSWV
<i>Amorphophallus</i>	DSMV
<i>Amorphophallus konjac</i>	KoMV
<i>Alstromeria</i>	INSV,
<i>Anagallis arvensis</i>	ArMV, CarMV
<i>Ananas comosus</i>	TSWV
<i>Annemone</i>	INSV,
<i>Antirrhinum majus</i>	AMV, ArMV, CarMV, CMV, INSV, TRV
<i>Apium graveolens</i>	AMV, ArMV, CMV
<i>Apium graveolens var. dulce</i>	ArMV
<i>Apium graveolens var. rapaceum</i>	AMV
<i>Arabis hirsuta</i>	ArMV
<i>Arachis hypogaea</i>	AMV, BYMV, CaCV, TRV, TSWV
<i>Arisaema</i>	DSMV
<i>Armoracia rusticana</i>	ArMV
<i>Asparagus officinalis</i>	ArMV
<i>Asplenium nidus-avis</i>	INSV,
<i>Astilbe</i>	ArMV
<i>Astragalus glycyphyllos</i>	AMV
<i>Atriplex hortensis</i>	CMV, CarMV
<i>Avena sativa</i>	TRV
<i>Begonia × cheimanthus</i>	CarMV
<i>Begonia elatior</i>	CarMV, INSV,
<i>Belamcanda chinensis</i>	TSWV
<i>Bellis perennis</i>	ArMV, TRV
<i>Benincasa hispida</i>	CCSV, WSMoV
<i>Beta vulgaris</i>	AMV, ArMV, CarMV, CMV, TRV, TuMV
<i>Bidens pilosa</i>	TSWV
<i>Biouvardia</i>	INSV,
<i>Brassica campestris</i>	ArMV, PVX, , TRV
<i>Brassica campestris ssp. chinensis</i>	TuMV
<i>Brassica campestris ssp. napus</i>	CMV, TRV, TuMV
<i>Brassica campestris ssp. pekinensis</i>	ArMV, CMV, TRV, TuMV
<i>Brassica campestris ssp. rapa</i>	AMV, ArMV, CMV, PVX, , TuMV
<i>Brassica japonica</i>	TuMV
<i>Brassica juncea</i>	ArMV, CMV, TRV, TuMV
<i>Brassica nigra</i>	TuMV
<i>Brassica oleracea var. botrytis</i>	ArMV, TSWV, TuMV
<i>Brassica oleracea var. capitata</i>	TuMV
<i>Brassica perviridis</i>	TuMV
<i>Buxus sempervirens</i>	ArMV
<i>Cajanus cajan</i>	BYMV
<i>Caladium hortulanum</i>	DSMV
<i>Calandrinia grandiflora</i>	CarMV
<i>Calanthe</i>	TuMV
<i>Callistephus</i>	INSV,
<i>Calendula officinalis</i>	AMV, ArMV, CMV, TRV, TSWV, TuMV
<i>Canavalia gladiata</i>	TSWV

<i>Canavalia obtusifolia</i>	TSWV
<i>Canavalia occidentalis</i>	TSWV
<i>Canna</i>	BYMV
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	ArMV, CMV, TRV, TSWV, TuMV
<i>Capsicum annuum</i>	AMV, CMV, INSV, CaCV, CCSV, TSWV, TRV
<i>Capsicum chinense</i>	CaCV
<i>Capsicum frutescens</i>	AMV, CMV
<i>Carum segetum</i>	ArMV
<i>Caryopteris incana</i>	AMV
<i>Cassia occidentalis</i>	CaCV, TSWV, TuMV
<i>Cassia tora</i>	CaCV, TSWV
<i>Catharanthus roseus</i>	AMV, CaCV, CarMV, CMV, TRV, TSWV
<i>Celosia argentea</i>	AMV, CarMV, TuMV
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>	ArMV
<i>Cheiranthus cheiri</i>	AMV, CMV, TRV, TSWV
<i>Cheiranthus cheiri (U.K. isolate)</i>	TuMV
<i>Chenopodium album</i>	AMV, ArMV, BYMV, CCSV, CMV, TRV
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	AMV, ArMV, BYMV, CaCV, CarMV, CMV, DSMV, LNV, TRV, TuMV
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	DSMV
<i>Chenopodium foetidum</i>	ArMV, CMV, TRV
<i>Chenopodium hybridum</i>	CMV
<i>Chenopodium murale</i>	AMV, ArMV, CMV, TuMV
<i>Chenopodium quinoa</i>	AMV, ArMV, BYMV, CaCV, CarMV, CCSV, CMV, DSMV, HiMV, LNV, OrMV, TRV, TuMV
<i>Chrysanthemum morifolium</i>	CMV
<i>Cicer arietinum</i>	AMV, BYMV, CMV, TuMV
<i>Cichorium endiva</i>	AMV, CMV, TSWV, TuMV
<i>Citrullus lanatus</i>	CaCV, CCSV, CMV
<i>Citrullus vulgaris</i>	WSMoV
<i>Clarkia amoena</i>	TuMV
<i>Colocasia esculenta</i>	DSMV
<i>Collumnea</i>	INSV,
<i>Coriandrum sativum</i>	AMV, CMV, TRV
<i>Crotalaria juncea</i>	TSWV
<i>Crotalaria retusa</i>	BYMV
<i>Crotalaria spectabilis</i>	AMV, BYMV, CMV
<i>Cryptocoryne</i>	DSMV
<i>Cucumis melo</i>	AMV, ArMV, CCSV, CMV, TRV, WSMoV
<i>Cucumis metuliferus</i>	CCSV
<i>Cucumis sativus</i>	AMV, ArMV, CarMV, CCSV, CMV, INSV, LNV, TRV, TSWV
<i>Cucurbita maxima</i>	BYMV, CMV, LNV
<i>Cucurbita moschata</i>	CMV, LNV
<i>Cucurbita pepo</i>	AMV, ArMV, CMV, LNV, TuMV
<i>Cyamopsis tetragonoloba</i>	AMV, ArMV, BYMV, CaCV
<i>Cyclamen persicum</i>	INSV,
<i>Cynara scolymus</i>	PVX,
<i>Cyphomandra betacea</i>	ArMV
<i>Cyrtosperma</i>	DSMV
<i>Dahlia pinnata</i>	INSV, TSWV
<i>Daphne mezereum</i>	ArMV
<i>Daphne odora</i>	CarMV
<i>Datura ferox</i>	CMV
<i>Datura metel</i>	CMV, TuMV
<i>Datura stramonium</i>	ArMV, CaCV, CCSV, CMV, HiMV, PVX, TSWV, TuMV
<i>Datura tatula</i>	CMV
<i>Daucus carota</i>	CMV, ArMV
<i>Daucus carota (var. sativa)</i>	AMV
<i>Delphinium hybridum</i>	ArMV
<i>Dendratherma gladiiflorum</i>	INSV,
<i>Desmodium triflorum</i>	TSWV
<i>Dianthus barbatus</i>	AMV, ArMV, CarMV
<i>Dianthus caryophyllus</i>	AMV, ArMV, CarMV
<i>Dianthus chinensis</i>	CarMV
<i>Dianthus superbus</i>	CarMV
<i>Dieffenbachia picta</i>	DSMV
<i>Digitalis purpurea</i>	CarMV
<i>Emilia sagittata</i>	AMV, ArMV, CMV
<i>Eucharis grandiflora</i>	HiMV
<i>Euonymus europaeus</i>	ArMV

<i>Eustoma russellianum</i>	BYMV, LNV, INSV
<i>Exanum affine</i>	INSV,
<i>Fagopyrum esculentum</i>	AMV, ArMV, CMV
<i>Fatsia japonica</i>	INSV,
<i>Forsythia × intermedia</i>	ArMV
<i>Fragaria vesca</i>	ArMV
<i>Fraxinus excelsior</i>	ArMV
<i>Freesia</i>	BYMV
<i>Gemphrema globosa</i>	CaCV
<i>Gerbera</i>	INSV,
<i>Gladiolus</i>	BYMV, INSV,
<i>Glechoma hederacea</i>	CarMV
<i>Glycine max</i>	AMV, ArMV, BYMV, CaCV, CMV, TRV, TSWW
<i>Gomphrena globosa</i>	AMV, ArMV, BYMV, CaCV, CarMV, CCSV, CMV, LNV, PVX, TRV, TSWW, TuMV
<i>Gossypium hirsutum</i>	CMV
<i>Gypsophila elegans</i>	TRV
<i>Helianthus annuus</i>	AMV, CMV, TRV, TSWW
<i>Hesperis matronalis</i>	TuMV
<i>Hippeastrum equestre</i>	HiMV
<i>Hippeastrum hybridum</i>	TSWW, HiMV
<i>Humulus lupulus</i>	ArMV
<i>Hyacinthus</i>	TRV
<i>Hyoscyamus niger</i>	CMV, HiMV, TRV, TSWW
<i>Impatiens</i>	INSV, , INSV,
<i>Ipomoea congesta</i>	TSWW
<i>Ipomoea nil</i>	CMV
<i>Jasminum officinale</i>	ArMV
<i>Lablab purpureus</i>	AMV
<i>Lachenalia</i>	OrMV
<i>Lactuca sativa</i>	AMV, ArMV, CaCV, INSV, TRV, TSWW, TuMV
<i>Lagenaria siceraria</i>	CCSV
<i>Lamium amplexicaule</i>	ArMV
<i>Lathyrus odoratus</i>	AMV, ArMV, BYMV, TRV, TSWW
<i>Lens culinaris</i>	AMV, BYMV, CMV, TuMV
<i>Leucanteum paludosum</i>	CaCV
<i>Ligustrum vulgare</i>	ArMV
<i>Limonium</i>	INSV,
<i>Linum usitatissimum</i>	AMV, TRV
<i>Lobelia erinus</i>	ArMV, TRV, INSV,
<i>Lotus corniculatus</i>	CMV
<i>Luyffa cylindrical</i>	CCSV
<i>Lunaria annua</i>	CarMV
<i>Lupinus albus</i>	AMV, BYMV, CMV, TuMV
<i>Lupinus angustifolius</i>	CMV, BYMV
<i>Lupinus luteus</i>	BYMV
<i>Lupinus mutabilis</i>	TSWW, TRV
<i>Lychnis chalcedonica</i>	CarMV
<i>Lychnis dioica</i>	CarMV
<i>Lycopersicon esculentum</i>	AMV, ArMV, CaCV, CarMV, CMV, TRV, TSWW
<i>Lycopersicon pimpinellifolium</i>	CaCV, CMV, TRV, TSWW, TuMV
<i>Macroptilium lathyroides</i>	AMV
<i>Macrotyloma uniflorum</i>	BYMV
<i>Malva parviflora</i>	AMV, TSWW
<i>Matthiola incana</i>	AMV, CMV, TSWW, TuMV
<i>Medicago hispida</i>	AMV
<i>Medicago sativa</i>	AMV, BYMV, CarMV, CMV
<i>Melilotus albus</i>	AMV, BYMV, CMV, TRV, TuMV
<i>Melilotus officinalis</i>	ArMV
<i>Mentha arvensis</i>	ArMV
<i>Momordica balsamina</i>	CMV, TRV
<i>Myosotis sylvatica</i>	ArMV, TRV
<i>Narcissus pseudonarcissus</i>	ArMV, TRV
<i>Nicandra physalodes</i>	ArMV, CarMV, PVX, TRV, TSWW, TuMV
<i>Nicotiana × edwardsonii</i>	CMV, TRV, TuMV
<i>Nicotiana benthamiana</i>	DSMV, TRV, CaCV, CCSV
<i>Nicotiana bigelovii</i>	AMV, CMV, TSWW
<i>Nicotiana clevelandii</i>	AMV, ArMV, BYMV, CarMV, CMV, HiMV, LNV, OrMV, TRV, TSWW
<i>Nicotiana debneyi</i>	AMV, BYMV, CMV

<i>Nicotiana glutinosa</i>	AMV, ArMV, BYMV, CaCV, CCSV, CMV, LNV, TRV, TSWV, TuMV, WSMoV
<i>Nicotiana glauca</i>	CCSV
<i>Nicotiana megalosiphon</i>	AMV, CMV
<i>Nicotiana occidentalis</i>	CaCV
<i>Nicotiana rustica</i>	AMV, ArMV, BYMV, CaCV, CCSV, CMV, HiMV, TRV, TSWV, TuMV
<i>Nicotiana sylvestris</i>	AMV, ArMV, BYMV, CMV, TRV, TSWV, TuMV
<i>Nicotiana tabacum</i>	AMV, ArMV, BYMV, CaCV, CCSV, CMV, HiMV, LNV, PVX, TRV, TSWV, TuMV
<i>Ocimum basilicum</i>	AMV, ArMV, INSV, TRV
<i>Ornithogalum thyrsoides</i>	OrMV
<i>Orychophragmus violaceus</i>	PVX
<i>Papaver nudicaule</i>	TSWV
<i>Papaver somniferum</i>	BYMV
<i>Petunia × hybrida</i>	AMV, ArMV, BYMV, CaCV, CarMV, HiMV, LNV, PVX, TRV, TSWV, TuMV
<i>Phalaenopsis</i>	TuMV
<i>Phaseolus coccineus</i>	ArMV
<i>Phaseolus lunatus</i>	AMV, BYMV, CMV
<i>Phaseolus mungo</i>	CaCV
<i>Phaseolus vulgaris</i>	AMV, ArMV, BYMV, CaCV, CMV, LNV, TRV, TSWV
<i>Philadelphus</i>	AMV
<i>Philodendron oxycardium</i>	KoMV
<i>Philodendron selloum</i>	KoMV
<i>Philodendron selloum</i>	DSMV
<i>Philodendron verrucosum</i>	DSMV
<i>Phlox drummondii</i>	TSWV, ArMV
<i>Physalis floridana</i>	AMV, ArMV, BYMV, CaCV, CMV, PVX, TuMV
<i>Physalis peruviana</i>	AMV, CMV, TSWV
<i>Phytolacca americana</i>	AMV, BYMV, CarMV, CMV, TRV, TuMV
<i>Pisum sativum</i>	AMV, ArMV, BYMV, CaCV, CMV, TRV, TSWV, TuMV
<i>Pittosporum</i>	INSV,
<i>Plantago lanceolata</i>	ArMV
<i>Plantago major</i>	CCSV
<i>Polygonum aviculare</i>	ArMV
<i>Polygonum persicaria</i>	ArMV
<i>Primula malacoides</i>	CarMV, INSV,
<i>Prunus avium</i>	ArMV
<i>Prunus domestica</i>	ArMV
<i>Prunus persica</i>	ArMV
<i>Ranunculus repens</i>	ArMV, INSV,
<i>Raphanus sativus</i>	CMV, TRV, TuMV
<i>Rheum rhaponticum</i>	ArMV
<i>Ribes</i>	ArMV
<i>Richardia</i>	DSMV
<i>Ricinus communis</i>	TRV
<i>Robinia pseudoacacia</i>	BYMV
<i>Rosa</i>	ArMV
<i>Rubus idaeus</i>	ArMV
<i>Rubus procerus</i>	ArMV
<i>Rumex acetosa</i>	CMV
<i>Rumex obtusifolius</i>	CarMV
<i>Salvia splendens</i>	TRV
<i>Sambucus nigra</i>	ArMV
<i>Saponaria officinalis</i>	CarMV
<i>Saponaria vaccaria</i>	DSMV, CarMV
<i>Secenio cruentis</i>	INSV,
<i>Senecio vulgaris</i>	ArMV, CMV, TRV, TuMV
<i>Sesamum indicum</i>	LVN
<i>Sesbania cannabina</i>	CaCV
<i>Silene armeria</i>	CarMV
<i>Sinningia speciosa</i>	INSV,
<i>Solanum capsicastrum</i>	TSWV
<i>Solanum demissum</i>	AMV, CMV
<i>Solanum melongena</i>	AMV, CCSV, CMV, TRV, TSWV
<i>Solanum nigrum</i>	AMV, ArMV, CMV, PVX, TRV, TSWV
<i>Solanum nodiflorum</i>	AMV, CMV, TSWV
<i>Solanum rostratum</i>	AMV, CMV
<i>Solanum tuberosum</i>	AMV, ArMV, CMV, PVX, TRV, TSWV
<i>Sonchus oleraceus</i>	AMV, CMV, TSWV
<i>Spathiphyllum kochi</i>	DSMV, CCSV

<i>Spinacia oleracea</i>	AMV, ArMV, BYMV, CarMV, CMV, TRV, TSWV, TuMV
<i>Stellaria media</i>	AMV, ArMV, BYMV, CarMV, TRV, TSWV, TuMV
<i>Syngonium podophyllum</i>	CCSV
<i>Syringa vulgaris</i>	ArMV
<i>Taraxacum officinale</i>	ArMV
<i>Tephrosia purpurea</i>	TSWV
<i>Tetragonia tetragonioides</i>	AMV, ArMV, BYMV, CarMV, CMV, DSMV, LNV, OrMV, TuMV
<i>Torenia fournieri</i>	ArMV, CarMV
<i>Trifolium dubium</i>	AMV
<i>Trifolium hybridum</i>	AMV, BYMV, CMV, TuMV
<i>Trifolium incarnatum</i>	AMV, BYMV, CMV, TuMV
<i>Trifolium pratense</i>	AMV, BYMV, CMV, TRV
<i>Trifolium repens</i>	CarMV
<i>Trifolium repens</i>	AMV, ArMV, BYMV, CMV, TRV
<i>Trifolium subterraneum</i>	AMV, BYMV, TSWV
<i>Trifolium vesiculosum</i>	BYMV
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	BYMV
<i>Tropaeolum majus</i>	AMV, ArMV, CMV, TRV, TSWV
<i>Tulipa</i>	ArMV, TRV
<i>Urtica dioica</i>	ArMV
<i>Urtica urens</i>	ArMV
<i>Valerianella olitoria</i>	INSV,
<i>Verbesina encelioides</i>	CMV
<i>Viburnum opulus</i>	AMV
<i>Vicia faba</i>	AMV, ArMV, BYMV, CMV, TRV, TSWV
<i>Vicia sativa</i>	CMV, BYMV
<i>Vicia villosa</i>	BYMV, TRV
<i>Vigna angularis</i>	BYMV
<i>Vigna mungo</i>	TSWV
<i>Vigna radiata</i>	AMV, BYMV, CMV, TSWV
<i>Vigna unguiculata</i>	AMV, ArMV, BYMV, CaCV, CMV, LNV, TSWV
<i>Viola arvensis</i>	TRV
<i>Vitis vinifera</i>	ArMV
<i>Xanthosoma caracu</i>	DSMV
<i>Zantedeschia elliottiana</i>	DSMV
<b>Zantedeschia spp.</b>	AMV, ArMV, BYMV, CaCV, CarMV, CCSV, CLLV, CMV, DsMV, HiMV, INSV, KoMV, LNV, OrMV, PVX, TRV, TSWV, TuMV, WSMoV, ZaMMV, ZaMV
<i>Zinnia elegans</i>	AMV, ArMV, BYMV, LNV, TSWV, TuMV