

Epidemiologie en beheersing van virusziekten in bloembolgewassen

Peter Vink, Miriam Lemmers, Joop van Doorn, Toon Derks, Gerry Blom en
Vincent Bijman

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector bollen
mei 2006
PPO nr. 320676

© 2006 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden veeelvoudigd, 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.



Projectnummer: 36116

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Sector Bloembollen

Adres : Professor van Slogterenweg 2, Lisse
: Postbus 85, 2160 AB Lisse
Tel. : 0252 - 462121
Fax : 0252 - 462100
E-mail : infobollen.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

Pagina

SAMENVATTING.....	5
1. INLEIDING.....	7
2. TULPENGRIJSVIRUS (TSMV)	9
2.1 Materialen en methoden	10
2.1.1 Verzamelen van plant- en grondmateriaal en epidemiologische gegevens	10
2.1.2 Bladluizenproeven.....	10
2.1.3 Proeven met “besmette” grond.....	11
2.1.4 Toetsing van andere gewassen uit een besmet gebied 2002/2003.....	11
2.2 Resultaten.....	12
2.2.1 Epidemiologische gegevens	12
2.2.2 Bladluisproeven	12
2.2.3 Proeven met “besmette” grond.....	12
2.2.4 Toetsing andere gewassen uit een besmet gebied	12
2.3 Conclusies en discussie	13
3. IDENTIFICATIE VAN VIRUSSEN IN ALLIUM	15
3.1 Materialen en methoden	16
3.2 Resultaten.....	16
3.3 Conclusies en discussie	19
4. BEHEERSSTRATEGIE VOOR VIRUSSEN IN LELIE EN INVENTARISATIE VAN VIRUSPROBLEMEN IN ANDERE TEELTGEBIEDEN EN BOLGEWASSEN.....	21
5. OPGELEVERDE PRODUCTEN.....	23
5.1 Lezingen	23
5.2 Vakbladartikelen	24
5.3 Wetenschappelijke artikelen.....	25
5.4 Posters.....	25
5.5 Persberichten.....	26
6. LITERATUUR	27
6.1 Tulpengrijsvirus (TSMV)	27
6.2 Streepmozaïek in Allium	27
6.3 Beheersstrategiën	28

Samenvatting

Virussen vormen een continue bedreiging voor de teelt en handel van (vegetatief vermeerderde) bolgewassen. Daarom is het belangrijk, wanneer in bepaalde bolgewassen sprake is van een “nieuwe” of “onbekende” virusziekte, daarover zoveel mogelijk kennis en informatie te vergaren om zo te kunnen komen tot een goede beheersstrategie.

Doel van dit project was dan ook om kennis te vergaren over een aantal virusziekten in bolgewassen (met name tulpengrijsvirus en het streepmozaïek in *Allium*) waar tot dan toe nog maar weinig over bekend was. Middels diverse infectieproeven met bladluizen en teelt op “besmette” grond is geprobeerd om de vector van het tulpengrijsvirus aan te tonen. Dit is echter niet gelukt omdat via bladluizen en besmette grond geen overdracht van het tulpengrijsvirus op gezonde tulpenplanten kon worden bewerkstelligd en aangetoond. Daarmee is voornamelijk onbekend gebleven waardoor het tulpengrijsvirus wordt verspreid. Ook kon niet worden aangetoond dat bepaalde onkruiden of gewassen, die groeiden op of naast percelen waar tulpen met het tulpengrijsvirus waren gevonden, besmet waren met dit virus.

Door middel van identificatie en detectie van virussen in *Allium giganteum* en andere *Allium*-soorten en cultivars is geprobeerd meer inzicht te krijgen in deze voor teelt en handel nadelige virusziekten. Uit dit onderzoek is bekend geworden dat alle planten van *Allium giganteum* besmet zijn met het latent sjalottenvirus (SLV). Als echter sprake is van een streperig mozaïek op het blad dan is tevens sprake van een besmetting met het zogenaamde sieruienstreepmozaïekvirus (OOSMV) en/of het preigeelstreepvirus (LYSV). Als belangrijkste beheersstrategie kan men aangetaste *Allium*-planten met duidelijke virussymptomen in het blad het beste verwijderen. Daarmee kunnen de meeste partijen grotendeels gezond worden gehouden. Ook is het verstandig om visueel gezonde sieruien niet te telen naast partijen met strepenziekte, of naast prei, ui of sjalot. Verspreiding van de virussen kan mede worden voorkomen door een regelmatige bespuiting met een insecticide (pyrethroïde).

Met de verplaatsing van de leliebollenteelt naar andere gebieden kan de aard en de omvang van de virusproblemen veranderen (andere vruchtwisseling, belending, grondsoort, etc.). Daarom is bij het gewas lelie gezocht naar andere en nieuwe beheersstrategieën bij een beperkt gebruik van gewasbeschermingsmiddelen. Daarbij is aandacht besteed aan diverse bestrijdingsmiddelen tegen virusverspreiding (o.a. plantaardige oliën), luiswaarschuwingssystemen (NAK), het gebruik van een verzwakte virusstam van leliemozaïekvirus (in Japan), gebruik maken van virusresistente cultivars, luisbestrijding met een luisdodend virus en beperking van virusverspreiding in lelie door middel van stimulering van natuurlijke vijanden van bladluizen in akkerranden.

Van de diverse hierboven genoemde benaderingen ter beheersing van virussen in lelie zijn de mogelijkheden (o.a. het verwijderen van zieke planten) en onmogelijkheden (zoals het werken met verzwakte virusstammen of luisaantastende bacteriën) voor een groot deel in kaart gebracht. Tevens zijn deze aspecten gecommuniceerd met het bestuur van KAVB-lilie, telers, delergroeperingen en op een brainstormmiddag bij PT over virus in tulp middels lezingen en voordrachten.

De resultaten van dit onderzoek zijn aanleiding geweest voor enkele nieuwe projecten op het gebied van virusproblemen in tulp.

Ook zijn binnen het kader van dit project KAVB-productgroepen en de Bloembollenkeuringsdienst geadviseerd over epidemiologische problemen in bloembolgewassen en beheersstrategieën voor virussen. Tevens is een overzicht van onderzoekresultaten over effecten van pyrethroïde en minerale olie op de virusverspreiding (en gewasschade) in tulp en een overzicht van virusverspreiding en bestrijding in dahlia gepubliceerd.

1. INLEIDING

Virussen vormen een continue bedreiging voor de teelt en handel van (vegetatief vermeerderde) bolgewassen. Daarom is het belangrijk, wanneer in bepaalde bolgewassen sprake is van een “nieuwe” of “onbekende” virusziekte, daarover zoveel mogelijk kennis en informatie te vergaren om zo te kunnen komen tot een goede beheersstrategie.

Van met name het tulpengrijsvirus en het streepmozaïek in Allium is echter nog maar weinig bekend over de ziekteverwekker en de wijze van verspreiding zodat ook niet duidelijk is welke beheersstrategieën bij deze virussen eigenlijk moeten worden toegepast.

Voor andere virussen (in het bijzonder voor lelie) moeten juist andere maatregelen onderzocht worden dan de nu gebruikelijke om tot beheersing van de virusproblemen te komen bij een beperkt gebruik van gewasbeschermingsmiddelen.

Met de verplaatsing van de bollenteelt naar andere gebieden verandert de aard en de omvang van de virusproblemen (andere vruchtwisseling, belending, grondsoort, etc.), hetgeen invloed heeft op te nemen maatregelen.

Doelstellingen van dit onderzoek zijn, om kennis te verzamelen over de mogelijkheden van identificatie, detectie en verspreidingswijze van bepaalde virusziekten (tulpengrijsvirus en streepmozaïek in Allium) en het ontwikkelen van beheersstrategieën voor virussen in bloembolgewassen. Verder wordt geïnventariseerd welke mogelijkheden er zijn om tot een vermindering te komen in het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen en welke problemen zich voor (kunnen) gaan doen bij verplaatsing van de bollenteelt naar andere teeltgebieden.

2. TULPENGRIJSVIRUS (TSMV)

Tulpengrijsvirus, welke behoort tot de zogenaamde Closterovirussen, is een virusziekte in tulpen waarover nog maar weinig bekend is. Het virus werd voor het eerst gevonden in 1974 en is sindsdien incidenteel gevonden in op zandgrond geteelde tulpen. Over het tulpengrijsvirus zelf is weinig bekend en van wat er bekend is, is deels tegenstrijdige informatie. Bij deze virussen zijn diverse vectoren bekend, die allemaal het virus bovengronds overbrengen. Telers geven echter aan dat de virusziekte een grondgebonden karakter heeft. De symptomen van tulpengrijsvirus bestaan uit ovale kringvlekken in een vrij vaag licht- en donkergroen mozaïek (fig. 1.), waarbij een ruw bladoppervlak kenmerkend is voor het grijs. Tegen het einde van het seizoen zijn aangetaste planten gemakkelijker te herkennen doordat zij grijs zijn. Planten kunnen dwergvorm vertonen en vroegtijdig afsterven. Bij zeer gevoelige cultivars, bijvoorbeeld 'Kees Nelis', kunnen bloemen klein en frommelig van uiterlijk worden, waarbij bloembreking in kleine streepjes aan de bloembladranden zichtbaar wordt. Bij ernstige aantasting van zeer gevoelige cultivars kan aanzienlijk bolopbrengstverlies optreden.

De symptomen in een bovengronds tulpengewas zijn het gevolg van een aantasting in het vorige groeiseizoen.

De identiteit van de overbrenger (vector) van het virus is tot nu toe niet bekend.

Als algemene bestrijdingsmaatregel wordt geadviseerd om te velde de zieke planten te verwijderen en te vernietigen.

Tot voor kort werd dit virus (draadvormig met een lengte van 1500 – 2000 nm.) voornamelijk gedetecteerd middels elektronenmicroscopie. Omdat deze techniek veel tijd vraagt en duur is, is gelijktijdig met dit project onder PPO-projectnummer 320677 een PCR-toets ontwikkeld om dit virus op een snellere en betrouwbare manier te kunnen detecteren. Deze toetsmethode kon in de loop van dit project worden gebruikt voor de identificatie en detectie van het tulpengrijsvirus en de plaatsing van dit virus in de juiste groep binnen de familie van Closteroviridae (zie schema op pag. 13).



Fig. 1: Bladsymptomen van het tulpengrijsvirus

2.1 Materialen en methoden

De opzet van dit deelonderzoek binnen het project beheersing van virusziekten in bolgewassen is, om te achterhalen wat nu de vector is van dit virus. Hiertoe is ziek plantmateriaal uit de praktijk verzameld en getoetst op tulpengrijsvirus. Daarna is grond van “besmette” partijen tulp verzameld en gebruikt voor experimenten om te zien of de verspreiding onder- dan wel bovengronds plaatsvindt.

2.1.1 Verzamelen van plant- en grondmateriaal en epidemiologische gegevens

Tulpenplanten van verschillende cultivars met symptomen van het tulpengrijsvirus zijn bij een aantal telers in de N.O.P. en later bij de Hortus Bulborum in Lisse te velde uitgetekend en verzameld en volgens standaard protocollen verwerkt en bewaard als ziek controlemateriaal. Het bolmateriaal van de zieke planten is bewaard om te kunnen gebruiken in de experimenten binnen dit project. Tevens is met het verzamelde tulpenmateriaal binnen project 320677 een snelle detectiemethode (PCR) ontwikkeld voor het tulpengrijsvirus.

Grond afkomstig van percelen waarop tulpen met tulpengrijsvirus hebben gestaan, is verzameld om te kunnen worden gebruikt voor de infectieproeven binnen dit project.

Bij telers waar tulpen met het tulpengrijsvirus zijn aangetroffen zijn epidemiologische gegevens verzameld om tot een beter inzicht te komen van deze virusziekte.

2.1.2 Bladluizenproeven

Uit de eerste analyses m.b.v. PCR-toetsen die zijn ontwikkeld binnen project 320677 was nog niet duidelijk tot welke groep het tulpengrijsvirus binnen de “Closteroviridae” behoort. Van de meeste virussen binnen de “Closteroviridae” is bekend dat de overdracht plaats vindt via bladluizen. Dit geldt bijv. voor een virus in suikerbiet.

Daarom is middels een aantal infectieproeven geprobeerd om aan te tonen of overdracht van het virus met bladluizen kan plaatsvinden.

Daartoe zijn gedurende een drietal seizoenen (2003 t/m 2005) gezonde tulpenbollen van cultivars die bekend staan als gevoelig voor het tulpengrijsvirus in Lisse en Ens te velde opgeplant. Per veldje/behandeling werden ook steeds zieke tulpen (Kaufmaniana's) in aparte rijen mee geplant. Per veldje werden zo 64 gezonde en 32 zieke tulpen geplant in aparte rijen.

Na opkomst werden steeds over de veldjes/behandelingen zogenaamde “luizenkooien” geplaatst, enerzijds om de controleveldjes te beschermen tegen bladluizen en anderzijds om in bepaalde veldjes onder gecontroleerde omstandigheden een behandeling met bladluizen mogelijk te maken.

Onder de daartoe bestemde kooien werden perzikbladluizen (*Myzus persicae*) uitgezet op zieke tulpen om te zorgen voor een mogelijke verspreiding van het tulpengrijsvirus naar de aanwezige gezonde tulpen.

Omdat er in 2004 via een teler in de N.O.P. aanwijzingen waren dat mogelijk de plataanbladluis (*Drepanosiphum platanooides*) ook een rol zou kunnen spelen bij de overdracht van het tulpengrijsvirus is in dat jaar ook deze luizensoort naast de perzikbladluis getest op zijn vermogen om tulpengrijsvirus te verspreiden. Op het betreffende veld waren er veel zaailingen van de esdoorn aangetroffen met uitgebreide kolonies van de plataanbladluis. Dit deel van het perceel leverde volgens de teler steeds in nateelt de meeste zieke tulpenplanten op.

Gedurende de verschillende teeltseizoenen zijn steeds visuele waarnemingen gedaan aan de tulpenplanten en is het bladmateriaal van de aanvankelijk gezonde en zieke tulpen apart getoetst op aanwezigheid van het tulpengrijsvirus. Dit is uitgevoerd volgens de standaardprocedures van elektronenmicroscopie en later met de in project 320677 ontwikkelde PCR-technieken.

Na elk groeiseizoen zijn de tulpenbollen van de aanvankelijk gezonde en zieke tulpen steeds apart gerooid en onder voor tulp gebruikelijke omstandigheden gedroogd, geschoond en bewaard. De aanvankelijk

gezonde tulpenbollen zijn daarna steeds weer opgeplant voor nateelt en tijdens het teeltseizoen in het voorjaar visueel beoordeeld op symptomen van tulpengrijsvirus (symptoomexpressie in het tweede jaar) en daarna getoetst op dit virus. Daarmee is nagegaan of overdracht van het tulpengrijsvirus van zieke naar gezonde planten middels bladluizen had plaatsgevonden.

2.1.3 Proeven met “besmette” grond

Uit veldobservaties van telers hebben zij het vermoeden dat het tulpengrijsvirus zich verspreidt middels een ondergrondse vector. Dit is in tegenstelling met de wetenschap dat de Closterovirussen, waartoe het tulpengrijsvirus wordt gerekend, zich middels bladluizen, witte vlieg of wolluizen verspreiden. Het doel van deze proeven was om een mogelijke vector aan de tonen die het virus ondergronds verspreid. Daartoe zijn binnen de looptijd van dit project gedurende een 3-tal seizoenen tulpenbollen van cultivars die bekend staan als gevoelig voor het tulpengrijsvirus (zoals King's Orange en Sevilla) geplant in mandjes met zandgrond uit een “besmet” gebied (N.O.P.) en onbesmette zandgrond uit Lisse (ter controle).

Na opkomst van de tulpen werden steeds over de mandjes/behandelingen zogenaamde “luizenkooien” geplaatst om het bovengrondse tulpengewas te beschermen tegen luizen om zo een mogelijke bovengrondse routing van virusoverdracht te voorkomen.

Tevens zijn te Ens, N.O.P. op een perceel, waar tulpen met tulpengrijsvirus zijn vastgesteld, stroken met tulpen van cultivar Sevilla afkomstig uit een niet besmet gebied opgeplant. Ook deze stroken zijn afgedekt met zogenaamde “luizenkooien” om een mogelijke infectie van het tulpengrijsvirus via bovengrondse vectoren te voorkomen. Ter controle zijn ook tulpen uit een besmette partij op dezelfde manier te Ens opgeplant.

Tijdens opvolgende groeiseizoenen zijn de tulpen en de nateelt daarvan visueel beoordeeld en is middels electronenmicroscopie en/of PCR-technieken het plantmateriaal getoetst op aanwezigheid van het tulpengrijsvirus.

2.1.4 Toetsing van andere gewassen uit een besmet gebied 2002/2003

Om na te gaan of ook andere gewassen die op een met tulpengrijsvirus besmet perceel groeien of in de directe nabijheid daarvan besmet kunnen zijn met dit virus, zijn monsters verzameld van aardbeienplanten, monnikskappen (*Aconitum*) en diverse onkruiden. Aansluitend zijn deze planten getoetst op aanwezigheid van het tulpengrijsvirus. Daartoe is gebruik gemaakt van electronenmicroscopie en/of PCR-technieken.

2.2 Resultaten

2.2.1 Epidemiologische gegevens

Tulpengrijsvirus is aangetoond in tulpen in de N.O.P. bij enkele telers. Tot nu toe leek het verspreidingsgebied van het tulpengrijsvirus beperkt tot de N.O.P. (in het verleden ook geconstateerd op Texel). In 2005 werd het virus echter ook vastgesteld in de tulpencollectie van de Hortus Bulborum in Limmen in 10 verschillende cultivars (zie de resultaten van onderzoek binnen PPO-project 320677).

2.2.2 Bladluisproeven

In de lopende groeiseizoenen (2003 t/m 2005) is in geen enkel object van de bladluisproeven virusoverdracht door bladluizen van zieke naar gezonde tulpenplanten waargenomen. Dit geldt voor zowel de perzikbladluis *Myzus persicae* als de plataanbladluis *Drepanosiphum platanoides*. Er zijn in de gezond geplante tulpen visueel nooit symptomen van het tulpengrijsvirus gevonden. Ook werd in de gezond geplante tulpen nooit het virus middels elektronenmicroscopie of PCR-toetsing aangetoond. Ook in de nateelt van tulpenbollen afkomstig uit de diverse bladluisproeven zijn nooit tulpenplanten gevonden met symptomen van het tulpengrijsvirus. Ook is in de nateelt nooit het tulpengrijsvirus aangetoond middels elektronenmicroscopie of PCR-technieken. In de zieke controleplanten werd het tulpengrijsvirus wel steeds visueel en middels elektronenmicroscopie of PCR-technieken vastgesteld.

2.2.3 Proeven met “besmette” grond

Tijdens de duur van dit project is geen virusoverdracht vanuit “besmette”grond afkomstig uit de N.O.P. naar gezonde tulpenplanten vastgesteld. Niet in de mandjesproeven op het proefveld in Lisse en ook niet bij een teler in de N.O.P.

Alle voor tulpengrijsvirus gevoelige tulpen hebben geen symptomen van een aantasting door dit virus laten zien. Ook werd in de planten het tulpengrijsvirus niet aangetoond middels elektronenmicroscopie en later in de PCR-toets.

In de controleobjecten met “gezonde “ grond werd evenmin virusoverdracht vastgesteld.

2.2.4 Toetsing andere gewassen uit een besmet gebied

Er is geen tulpengrijsvirus aangetoond in zowel gladiool, gerst, aardbei, monnikskap (*Aconitum*) als diverse onkruiden (zoals melkdistel, melde, herderstasje, zwarte nachtschade, varkensgras, muur en Christusbloed) die zijn verzameld op percelen of in de directe nabijheid van percelen met tulpen waarin tulpengrijsvirus was vastgesteld.

De diverse detectiemethoden(electronenmicroscopie en PCR-methoden) en de visuele waarnemingen aan tulpengrijsvirus zijn binnen dit project en dat van project 320677 in beperkte mate met elkaar vergeleken. De detectiemethoden bleken met elkaar overeen te komen.

2.3 Conclusies en discussie

Uit de diverse infectieproeven gedurende de looptijd van dit project is gebleken dat op geen enkele wijze gezonde tulpen door bladluizen konden worden geïnfecteerd met het tulpengrijsvirus. Ook kon dit virus niet worden overgebracht op gezonde tulpen wanneer deze op “besmette” grond waren geplant. Op grond van de resultaten van project 320677 wordt het tulpengrijsvirus nu ingedeeld bij de “ampellovirussen” en zal er in vervolgonderzoek meer gekeken moeten worden naar wolluizen als mogelijke vector.

Het tulpengrijsvirus is evenmin aangetoond in ander plantmateriaal wat op of rond percelen was verzameld waar tulpen met tulpengrijsvirus waren waargenomen. Er zijn dan ook nog steeds geen andere waardplanten voor het tulpengrijsvirus bekend. Verspreiding vindt dan ook zeer waarschijnlijk alleen vanuit zieke tulpen plaats.

Daarmee is vanuit alle uitgevoerde experimenten onbekend gebleven welke vector verantwoordelijk is voor de verspreiding en overdracht van het tulpengrijsvirus in tulpen en is voornamelijk ook geen beheersstrategie aan te geven om het tulpengrijsvirus in tulpen onder controle te houden. Het verwijderen van zieke tulpen blijft de enige aangewezen bestrijdingsmethode.

Wel is parallel met dit project in project 320677 een snelle en betrouwbare toetsmethode ontwikkeld om het tulpengrijsvirus in tulpen middels een PCR-toets aan te tonen. De nieuwe PCR-toets is vergeleken met de visuele waarnemingen en waarnemingen met de elektronenmicroscopie en is een gevoeliger en betrouwbare toetsmethode gebleken (zie eindverslag project 320677). De PCR-toets voor het tulpengrijsvirus kan dan ook goed worden gebruikt voor detectie- en toetsingsdoeleinden.

Schema van de Closteroviridae

Familie van de Closteroviridae			
Genera: →	Closterovirus ↓	Crinivirus ↓	Ampellovirus (voorheen vitivirus) ↓
	overdracht door bladluizen (semi persistent)	overdracht door witte vlieg	overdracht door wolluis (semi persistent) ↓
			voor toekomst ook onderzoek doen in bewaar ruimten: controleren op wolluis

3. IDENTIFICATIE VAN VIRUSSEN IN ALLIUM

In *Allium giganteum*, de belangrijkste sierui die in Nederland wordt geteeld, en in andere sieruien komt een virusziekte voor met symptomen variërend van lange lichtgroene tot gele strepen (fig. 2) tot een lichtgroen mozaïek op de bladeren die in een later stadium grijskleurig kan worden. Ook is vaak sprake van kleinere bloeiwijzen en/of gedraaide bloemstengels, met eventueel lichtgroene tot gele strepen.

De symptomen vertonen veel overeenkomst met ziektebeelden bekend van prei, ui en sjalotten. De ziekte werd voorheen toegeschreven aan het uienmozaïekvirus. Bij eerder onderzoek bleek dat de antisera gemaakt tegen de virussen uit prei en ui niet reageerden met het virus uit *Allium giganteum*. Wel werd in de zieke, maar ook in de groene planten van *Allium giganteum* het latent sjalottenvirus (SLV) aangetroffen. Dit laatste virus werd in de zieke planten in grotere hoeveelheden aangetroffen dan in de groene planten en werd daarom verantwoordelijk gehouden voor de streepvormige verkleuringen. Met het beschikbaar komen van nieuwe moleculaire toetsmethoden, zoals ELISA en PCR, is een nauwkeuriger en snellere identificatie van virussen mogelijk geworden. In het kader van dit project zijn daarom de ziektebeelden in *Allium giganteum*, maar ook die in andere sieruien, opnieuw geanalyseerd om na te gaan of in alle gevallen wel sprake is van eenzelfde virusziekte of dat meerdere virussen een rol spelen bij de ziekteverschijnselen.



Fig. 2: Virussympptomen in het blad van *Allium giganteum*.

3.1 Materialen en methoden

Doel van deze experimenten is, om Allium-planten te verzamelen met virussymptomen, te toetsen op de aanwezigheid van virus(9sen) en eventueel onbekende virussen nader te karakteriseren met behulp van PCR.

Gedurende de looptijd van dit project zijn bij 8 telers van 15 partijen Allium giganteum, geteeld in verschillende regio's op klei- en zandgronden, Alliumplanten met en zonder symptomen verzameld. Tevens zijn ook Alliumplanten verzameld van diverse andere Alliumcultivars- en soorten. Daarnaast zijn Alliumsoorten en -herkomsten uit de eerder bij PPO aangelegde collectie gebruikt in dit onderzoek. Alle monsters Alliumplanten zijn middels de ELISA-methode getoetst op de aanwezigheid van latent sjalottenvirus (SLV), preigeelstreepvirus (LYSV) en potyvirusen (algemene toets). Daarbij is steeds gebruik gemaakt van de standaard werkwijze zoals die bij de ELISA-toetsmethode wordt toegepast. Nadat bleek dat een onbekend virus in sommige Alliumplanten werd aangetroffen is middels PCR-technieken de basenvolgorde gedeeltelijk bepaald voor vergelijking met gegevens van alle in databanken voorkomende virussen. Op basis van aminozuur sequenties van het manteleiwit van het onbekende virus is een zogenaamd phylogram gemaakt om de verwantschap tussen het nieuwe virus en andere gerelateerde potyvirusen in kaart te brengen. Daarnaast is op beperkte schaal getoetst op tabaksnecrosevirus (TNV) en tabaksratelvirus (TRV), namelijk in geval de Alliumplanten symptomen in de vorm van necrose vertoonden.

3.2 Resultaten

In alle onderzochte planten van Allium giganteum met lichtgroene tot gele strepen en met en zonder mozaïeksymptomen werd het latent sjalottenvirus aangetoond. Dit betekent dat dit virus algemeen in Allium giganteum wordt aangetroffen zonder dat sprake hoeft te zijn van duidelijke virussymptomen in het blad. In alle planten met een (streperig) mozaïek werd tevens een onbekend potyvirus vastgesteld. Dit virus werd niet aangetroffen in de groene, symptoomloze planten van Allium giganteum. Van dit virus is de basenvolgorde gedeeltelijk bepaald middels PCR-technieken en vergeleken met gegevens van alle in databanken voorkomende virussen.

De aminozuurvolgorde van een gedeelte van het manteleiwit van dit virus vertoonde daarbij minder dan ca. 60% overeenkomst met verwante potyvirusen, waaronder potyvirusen die in Allium soorten bekend zijn (zie tabel 1 en figuur 3). Uit deze analyse bleek dat het om een nieuw virus ging.

Dit nieuwe potyvirus heeft sieruienstreepmozaïekvirus (OOSMV) als naam meegekregen.

In andere onderzochte sieruien met lichtgroene tot gele strepen of soms een mozaïekbeeld werd hetzelfde sieruienstreepmozaïekvirus aangetoond. Dat zijn de soorten Allium atropurpureum, A. altissimum, A. karataviense en Nectaroscordum siculum en de Alliumcultivars 'Firmament', 'Purple Giant', 'Sweet Surprise' en 'Venus'.

In planten met een ernstig streperig mozaïek, vaak in combinatie met necrotische strepen die naderhand grijs verkleuren, werd naast het SLV en OOSMV ook nog een tweede potyvirus vastgesteld, namelijk het preigeelstreepvirus (LYSV).

Dit is vastgesteld in enkele partijen Allium giganteum en in een beperkt aantal planten van A. atropurpureum, A. sphaerocephalon en Nectaroscordum siculum (zie tabel 2).

Opvallend is dat de cultivars waarin het sieruienstreepmozaïekvirus is aangetoond, zijn ontstaan uit kruisingen met de vatbare soorten A. giganteum of A. atropurpureum.

Op meer bedrijven werden diverse soorten en/of cultivars naast elkaar geteeld. In de nabijheid van zieke planten werden cultivars en soorten geteeld die niet werden aangetast en waarin ook geen virus werd aangetroffen. Daarbij gaat het om de soorten A. jesdianum en A. hirtifolium en cultivars ontstaan uit de kruising van deze soorten, en van A. macleanii, A. christophii, A. stipitatum en A. aflatunense onderling.

De kans is daarom groot dat er resistentie tegen het sieruienstreepmozaïekvirus voorkomt in deze soorten. Van deze kennis kan gebruik gemaakt worden bij het maken van nieuwe kruisingen om virusproblemen in de toekomst te voorkomen.

TNV en TRV zijn slechts incidenteel aangetoond en zijn niet gerelateerd aan de streepmozaïek-symptomen in Allium-soorten.

Acronym	Species		Accession nummer
	<i>Ornamental onion stripe mosaic virus</i>	OOSMV	
		(partiële) CP gen	
ENMV	<i>Endive necrotic mosaic virus</i>	59.6	CAA11564
SuCSV	<i>Sunflower chlorotic spot virus</i>	55.8	AA037457
SuCMoV	<i>Sunflower chlorotic mottle virus</i>	54.4	AAQ21400
SuMV	<i>Sunflower mosaic virus</i>	53.7	AAL73971
LMV	<i>Lettuce mosaic virus</i>	54.4	CAD32466
PepYMV	<i>Pepper yellow mosaic virus</i>	54.4	AAK58863
PepSMV	<i>Pepper severe mosaic virus</i>	53.1	S23842
PepMoV	<i>Pepper mottle virus</i>	53.1	AAM74061
PVY	<i>Potato virus Y</i>	53.1	S26631
JYMV	<i>Japanese yam mosaic virus</i>	53.1	BAA97660
LYSV	<i>Leek yellow stripe virus</i>	49.6	NP734102
GaMV	<i>Garlic mosaic virus</i>	48.5	AAQ91387
SYSV	<i>Shallot yellow stripe virus</i>	48.9	CAD32464
WoYSV	<i>Welsh onion yellow stripe virus</i>	48.9	CAA72419
OYDV	<i>Onion yellow dwarf virus</i>	46.9	NP871747

Tabel 1: identiteit (%) van aminozuur sequenties tussen het sieruienstreepmozaïekvirus (OOSMV) en andere potyvirussen.

Phylogram

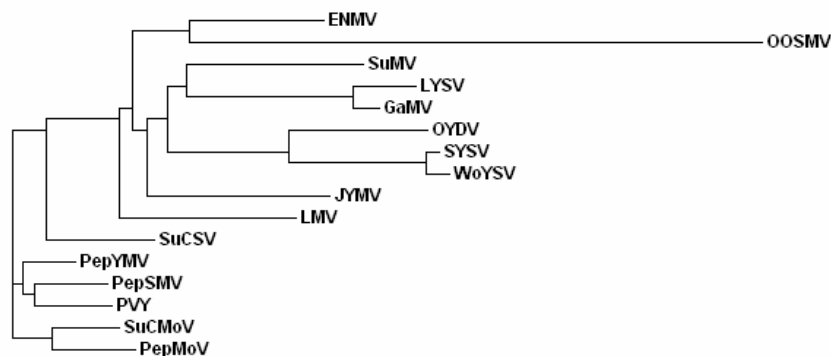


Fig. 3: Phylogenetische boom verkregen uit analyses van aminozuursequenties van het (partiële) manteleiwit van sieruienstreepmozaïekvirus (OOSMV) en gerelateerde potyvirussen

Allium-soort of cultivar	OOSMV	SLV	LYSV
<i>A. altissimum</i>	+	-	-
<i>A. atropurpureum</i>	+	-	+
<i>A. giganteum</i>	+	+	+
<i>A. jesdianum</i>	-	-	-
<i>A. hirtifolium</i>	-	-	-
<i>A. karataviense</i>	+	+	-
<i>Nectaroscordum siculum</i>	+	+	+
<i>A. sphaerocephalon</i>	-	+	+
'Ambassador'	-	-	-
'Atlas'	-	-	-
'Firmament'	+	-	-
'Gladiator'	-	-	-
'Globemaster'	-	-	-
'His Excellency'	-	-	-
'Mercurius'	-	-	-
'Mont Blanc'	-	-	-
'Mount Everest'	-	-	-
'Pinball Wizard'	-	-	-
'Purple Giant'	+	+	-
'Purple Sensation'	-	-	-
'Sweet Surprise'	+	+	-
'Universe'	-	-	-
'Venus'	+	+	-

Tabel 2: Overzicht van de drie meest voorkomende virussen in sieruien.
OOSMV = sieruienstreepmozaïekvirus
SLV = latent sjalottenvirus
LYSV = preigeelstreepvirus

3.3 Conclusies en discussie

Het latent sjalottenvirus (SLV) komt in *Allium giganteum* algemeen voor, ook in de groene planten. Ook wordt dit virus aangetroffen in bijna alle cultivars die ontstaan zijn uit een kruising met *Allium giganteum*. Dit virus veroorzaakt weinig specifieke symptomen in de bladeren. Waarschijnlijk vergelen de planten na de bloei sneller door dit virus, vooral onder stressomstandigheden. De door meerdere telers vermelde teruggang in kwaliteit van partijen *Allium giganteum* is waarschijnlijk te wijten aan dit algemeen voorkomende latent sjalottenvirus. Op dit virus valt echter niet te selecteren gezien het ontbreken van duidelijke symptomen in het blad en het algemeen voorkomen van dit virus.

In planten met een streperig mozaïek, meestal van grote strepen en vlekken, is steeds een zogenaamd potyvirus aangetoond. In een aantal gevallen ging dit om het preigeelstreepvirus (LYSV).

Meestal werd een ander onbekend potyvirus aangetoond. Dit virus is middels PCR-technieken vergeleken met andere bekende potyvirussen waarbij is gebleken dat op basis van de aminozuur sequentie van het manteleiwit gesproken kan worden van een nieuw virus. Dit virus heeft als naam sieruienstreepmozaïekvirus (OOSMV) gekregen.

Uit de praktijk blijkt dat partijen van *Allium giganteum* en andere *Allium*-soorten en cultivars waarin de strepenziekte voorkomt door regelmatig ziekzoeken verder zijn op te knappen als het percentage zieke planten niet te hoog is opgelopen (onder de ongeveer 6% virus). Het is echter aan te bevelen om partijen met hogere percentages van deze strepenziekte niet verder te telen en in ieder geval niet te telen naast andere vatbare *Allium*-soorten of cultivars.

Teelt van visueel gezonde partijen naast partijen met de strepenziekte dient vermeden te worden, evenals teelt naast prei (en eventueel ui en sjalot) omdat anders extra kansen ontstaan voor een besmetting met het preigeelstreepvirus of andere verwante potyvirussen.

De mogelijkheid van virusoverdracht vanuit de verwante ui en sjalot is nog niet geconstateerd, maar is niet geheel uit te sluiten. De genoemde virussen worden echter niet overgedragen via zaad.

Het sieruienstreepmozaïekvirus en het preigeelstreepvirus behoren beide tot de groep van potyvirussen die door vliegende bladluizen op non-persistente wijze worden overgebracht. Dit betekent een korte opname- en afgiftetijd van het virus door de bladluis. Zo nodig kan virusverspreiding door bladluizen binnen de perken gehouden worden door regelmatige bespuiting met een pyrethroïde.

Omdat de virussen in bepaalde soorten en kruisingen van deze soorten niet voorkomen, lijken er mogelijkheden te zijn voor veredeling op resistentie.

4. BEHEERSSTRATEGIE VOOR VIRUSSEN IN LELIE EN INVENTARISATIE VAN VIRUSPROBLEMEN IN ANDERE TEELTGEBIEDEN EN BOLGEWASSEN

Virussen vormen een continue bedreiging voor de teelt en handel van o.a. lelie. Het is daarom noodzakelijk om steeds alert te zijn op nieuwe ontwikkelingen m.b.t. bestrijdingsmogelijkheden en beheersingsmethoden van virusziekten in dit gewas. Daarbij is het van belang om oog te hebben voor beheersstrategieën die kunnen leiden tot vermindering van gebruik van gewasbeschermingsmiddelen.

Binnen de kaders van dit project zijn middels interne en externe contacten van de voormalige viroloog van PPO-Bollen en uit literatuur gegevens verzameld over diverse bestrijdingsmiddelen tegen virusverspreiding (o.a. plantaardige oliën), luiswaarschuwingssystemen (zoals in gebruikt bij de NAK; gesprekken met G. v.d. Bovenkamp) en gebruik van een verzwakte virusstam van leliemozaïekvirus (in Japan) en virusresistentie.

A. Gegevens van virusonderzoek in Japan zijn verzameld. Daar is gewerkt aan bescherming van lelies tegen het leliemozaïekvirus (LMOV) door middel van introductie van een verzwakte stam van dit virus, die geen symptomen veroorzaakt en geen opbrengstderving geeft (H. Sayama van Delmonte Co.). De resultaten van dat onderzoek zijn gepresenteerd bij het bestuur van KAVB-lilie.

B. Ontwikkelingen zijn aangegeven voor luisbestrijding (en daarmee mogelijk ook beperking van verspreiding van LMOV, e.a. virussen) door middel van een luisdodend virus en een luisdodende bacterie (onderzoek PRI, R.v.d.Vlugt en I. Bouwen). Nadere gegevens uit dit onderzoek zijn niet bekend.

C. Beperking van virusverspreiding in lelie door middel van stimulering van natuurlijke vijanden van bladluizen in akkerranden is ook een optie. Momenteel is er alleen beperkte informatie beschikbaar over beheersing van bladluizen op deze wijze in akkerranden in de akkerbouw, maar nog niet over het effect daarvan op virusziekten. In nieuw LNV-gefinancierd onderzoek zal hier de komende jaren meer onderzoek aan gedaan worden.

D. Op de proeftuin in Vledder (ROL) is een andere optie getest: een verminderd gebruik van minerale olie bij de virusbestrijding door gebruik te maken van cultivars die mogelijk resistent zijn tegen leliemozaïekvirus (zie PPO-project 340028). De inzichten uit dit project bleken niet eenduidig; meer onderzoek is nodig.

E. Beperking van virusverspreiding langs biologische weg is bestudeerd en geïnventariseerd. Het zelfde geldt voor de optie van een scheiding in plantgoedteelt en productieteelt in de tulpenteelt om metname de virusproblemen bij gele en witte cultivars de baas te blijven.

Van de diverse hierboven genoemde benaderingen ter beheersing van virussen in bol- en knolgewassen zijn de mogelijkheden en onmogelijkheden voor een groot deel in kaart gebracht. Tevens zijn deze aspecten gecommuniceerd met het bestuur van KAVB-lilie, telers, delergroeperingen en op een brainstormmiddag bij PT over de virussituatie in tulp middels lezingen en voordrachten.

Ook zijn binnen het kader van dit project KAVB-productgroepen en de Bloembollenkeuringsdienst geadviseerd over epidemiologische problemen in bloembolgewassen en beheersstrategieën voor virussen. Er is een overzicht van onderzoekresultaten over effecten van pyrethroïde en minerale olie op de virusverspreiding (en gewasschade) in tulp en een overzicht van virusverspreiding en bestrijding in dahlia gepubliceerd. De risico's van zieke Muscari's naast gezonde hyacinten zijn in een publicatie weergegeven. Er is informatie verstrekt aan de Bloembollenkeuringsdienst in verband met vragen van inspecteurs Japanse PD over een gunstig effect van laat planten van tulpen op virusinfecties, waaronder TRV. Ook is informatie verstrekt aan en gekregen van een inspecteur van de Koreaanse PD over fytoplasma-ziekte in lelie. Hieraan is verder onderzoek gedaan in PPO-project 320677. De conclusie uit dit onderzoek is, dat fytoplasma in lelie kan voorkomen, maar moeilijk aantoonbaar is met PCR.

5. OPGELEVERDE PRODUCTEN

5.1 Lezingen

5, 7 en 8-2-2002, Lisse: Voor keurmeesters BKD.

T. Derks: Betrouwbaarheid van virustoetsen bij lelies.

07-05-2002, Wageningen: Voor Nederlandse Kring voor Plantenvirologie.

T. Derks: Reliability of virus tests in lilies in relation to cultivation practices.

18-6-2002, Akersloot: Voor Telers van grijze hyacinten, georganiseerd door BKD en CNB.

T. Derks: Mogelijkheden van groen telen van hyacinten.

30-10-2002; Boskoop voor Vereniging van Vasteplantenkwekers (waarbij diverse bollentelers).

T. Derks: Virussen in vaste planten.

15-01-2003, Hillegom. Bestuur KAVB-productgroep Lelie

T. Derks: Virusonderzoek lelie; ontwikkelingen uit Japan.

15-01-2003, 't Veld. KAVB-studiegroep Niedorp & Omstreken.

T. Derks. Augusta: belangrijke teeltmaatregelen en LSV: virusverspreiding.

18-01-2003, Kruisweg. KAVB-Kring Noord Nederland

T. Derks: Minder kans op ziekten in Noord-Nederland?

12-02-2003, Venhuizen. Bollenstudieclub Hoogkarspel/Venhuizen e.o.

T. Derks: Overdracht TVX-virus door tulpengalmijt.

24-03-2003, Den Bommel. KAVB-gewasgroep tulp Kring

T. Derks: Bovengrondse virusverspreiding in tulp.

08-12-2003, Lisse: Buitenlandse studenten Hogeschool Larenstein.

T. Derks: Detection and control of virus diseases in flower bulb crops.

23-01-2004, Vledder. Kennismarkt Lelieteel georganiseerd door Stichting ROL

T. Derks: Virusbeperking in lelie.

27-01-2004, Munnekezijl. Tulpenavond op Proefboerderij Kollumerwaard

T. Derks: Virussen en virusbestrijding in tulp.

03-02-2004, Anna Paulowna. Bijeenkomst georganiseerd door Captain Research groep

P. van Leeuwen: Virussituatie en virusbestrijding in Zantedeschia.

16-02-2004, Oudendijk. KAVB studieclub "De Goorn e.o."

T. Derks: Virussen in tulp.

21-06-2004, Breezand.

T. Derks. Overdracht van TVX in tulp. Thema-avond TVX, virusprobleem in de Tulpenteelt

24-09-2004, Hillegom. KAVB-productgroep Tulp
T. Derks: Virussituatie tulpen.

27-09-2004, Limmen. KAVB kring Kennemerland
T. Derks: Virussen in tulp.

28-10-2004, Zoetermeer. Brainstormmiddag virus in tulp, georganiseerd door Productschap Tuinbouw
T. Derks: Leren leven met TBV ?!

02-11-2004, Lisse: Voor Stichting Bloembollenonderzoek
T. Derks: Richting virologisch onderzoek voor bloembollenteelt.

10 en 11-02-2005, Open Dagen PPO Lisse
T. Derks: Virus en virusverspreiding.

21-02-2005, Lisse. Theorie en Praktijk
T. Derks: Teelttechniek, virus in hyacint, tulp en narcis.

22-03-2005, Den Bommel: KAVB kring Zuid West Nederland
T. Derks: Optreden en voorkomen van virus in tulpen.

5.2 Vakbladartikelen

Derks, T., Vreeburg, P. en Knippels, P., 2002. Grijs kost meer dan groen (hyacint).
Bloembollencultuur 113 (6):16-19.

Dwarswaard, A., Derks, T. en Regioteam Telen met Toekomst, 2002. Virus vraagt veel kennis.
Bloembollencultuur 113 (7): 10-11.

Martin van Dam en Toon Derks, 2003. Onderzoek tulp. Minerale olie: eerdere resultaten bekeken.
BloembollenVisie 7: 23

Toon Derks, Gerry Blom-Barnhoorn en Miriam Lemmers, 2003. Onderzoek dahlia. Virusverspreiding op het veld voorkomen.
BloembollenVisie 9: 22-23

Derks, T., Van Leeuwen, P., Vreebug, P. en Lemmers, M., 2004. Virus in Muscari kan bedreiging vormen voor hyacint.
BloembollenVisie 36: 22-23.

Van Leeuwen, P., Derks, T. en Trompert, J., 2004. Minerale olie met pyrethroïde helpt tegen virus in Zantedeschia.
BloembollenVisie 36: 24-25.

Knippels, P., Van Leeuwen, P. en Derks, T., 2004. Bosjesplanten, genetisch bont, olifantsoren en meer. Zoeken naar afwijkingen in Zantedeschia.
Vakblad voor de Bloemisterij 26: 52-53.

Derks, T., Lemmers, M., Van Leeuwen, P., Pham, K. en Bijman, V., 2004. Virus in Allium is beheersbaar.
BloembollenVisie 47: 20-21.

Pham, K.T.K., Lemmers, M.E.C., van Leeuwen, P.J., Bijman, V.P. en Derks, A.F.L.M., 2005. Identificatie van virussen in sieruien en beheersstrategieën.

Gewasbescherming 36 supplement: 64S

Blom-Barnhoorn, G.J. en Derks, A.F.L.M., 2005. Praktijkttoets voor resistentiebepaling van lelies tegen leliemozaïekvirus.

Gewasbescherming 36, supplement: 87S

5.3 Wetenschappelijke artikelen

Chen, Y.K., Prins, M., Derks, A.F.L.M., Langeveld, S.A. and Goldbach, R., 2002. Alstroemeria-infecting cucumber mosaic virus isolates contain additional sequences in the RNA 3 segment. *Acta Horticulturae* 568: 93-102.

Pham, K., Langeveld, S.A., Lemmers, M.E.C. and Derks, A.F.L.M., 2002. Detection and identification of potyviruses in *Zantedeschia*. *Acta Horticulturae* 568: 143-148.

Derks, A.F.L.M. and Lemmers, M.E.C., 2002. Discrimination between primary and secondary virus infections in lilies and irises. *Acta Horticulturae* 568: 159-162.

Derks, A.F.L.M., Lemmers, M.E.C., Konicheva, V. and Langeveld, S.A., 2002. Lily symptomless virus in Alstroemeria: identification and transmission to lily. *Acta Horticulturae* 568: 247-252.

Chen, J., Chen, J.P., Langeveld, S.A., Derks, A.F.L.M. and Adams, M.J., 2003. Molecular characterization of Carla- and potyviruses from Narcissus in China. *Journal of Phytopathology* 151: 26-29.

Derks, A.F.L.M. (in press). Chapter 17. Virus diseases: economic importance. And control strategies. Pp. 223-241. In: A handbook of plant virology. Eds. J.A. Khan and J. Dijkstra. The Haworth Press, Inc. Binghamton, NY, USA.

Chen, Y.K., Derks, A.F.L.M. and Prins, M. (in press). Chapter 3. Cucumber mosaic virus infection in lily. 9 pp.

5.4 Posters

Derks, T. en Lemmers, M.: Schade door Grijs in hyacint te beperken. Open Dagen PPO Lisse, 31-1 en 1-2-2002.

Pham, KTK., Lemmers, MEC., van Leeuwen, P., Bijman, V.P. en Derks, A.F.L.M.: Identification of viruses in ornamental Allium species and control strategies.

Bijeenkomst Nederlandse en Duitse Virologiekring, 2005

5.5 Persberichten

Nieuw middel tegen katoenluis op het veld, 2002. Bloembollencultuur 113 (16): 5

PCR-toets Hippeastrum, 2002. Bloembollencultuur 113 (20): 4

Nieuwe toets op tulpengrijsvirus, 2002. Bloembollencultuur 113 (22): 5.

Toetsen tegen alle virussen in Amaryllis, 2002. Oogst Tuinbouw 27-09-2002: pag. 41

Snelle detectiemethode tulpenvirus. Resource 7, maart 2003. (Magazine van Wageningen UR).

Veelbelovende toets op tulpengrijsvirus. 2003. Gewasbescherming 34(1): 34.

Augustaziek ook in hyacint en lelie. 2003. Bloembollen Visie, 6 maart 2003.

Virusverspreiding vergt brede aanpak, 2004. Bloembollenvisie 47: 24

6. LITERATUUR

6.1 Tulpengrijsvirus (TSMV)

Asjes C.J. 1994. Virus in tulips in the Netherlands. *Acta Hort.* (ISHS) 377: 289-300.

Vaira, A.M., Accotto, G.P., Costantini, A. and Milne, R.G. 2003. The partial sequence of RNA 1 of the ophiovirus *Ranunculus white mottle virus* indicates its relationship to rhabdoviruses and provides candidate primers for an ophiovirus-specific RT-PCR test. *Arch. Virol.* 148: 1037-1050.

Saldarelli, P., Rowhani, A., Routh, G., Minafra, A., Digiaro, M. 1998. Use of degenerate primers in a RT-PCR assay for the identification and analysis of some filamentous viruses, with special reference to closteroviruses and vitiviruses of the grapevine. *European Journal of plant pathology* 104: 945-950.

Foissac, X., Svanella-Dumas, L., Gentit, P., Dulucq, M-J, Marais, A., Candresse, T. 2005. Polyvalent degenerate oligonucleotides reverse transcription-polymerase chain reaction: a polyvalent detection and characterization tool for trichoviruses, capilloviruses, and foveaviruses. *Phytopathology* 95: 617-625.

Tian, T., Klaassen, V. A., Soong, J., Wisler, G., Duffus, J. E. , Falk, B. W. 1996. Generation of cDNAs specific to lettuce infectious yellows closterovirus and other whitefly-transmitted viruses by RT-PCR and degenerate oligonucleotide primers corresponding to the closterovirus gene encoding the heat shock protein 70 homolog. *Phytopathology* 86: 1167-1173.

Dovas, C. I., Katis, N. I. 2003. A spot multiplex nested RT-PCR for the simultaneous and generic detection of viruses involved in the aetiology of grapevine leafroll and rugose wood of grapevine. *Journal of Virological methods* 109: 217-226.

Marini, D. B., Zhang, Y. -P., Rowhani, A., Uyemoto, J. K. 2002. Etiology and host range of a closterovirus associated with Plum bark necrosis stem pitting disease. *Plant disease* 86: 415-417.

Ghanem-Sabanadzovic, N. A., Mahboubi, M., Terlizzi, B. D., Sabanadzovic, S., Savino, V., Uyemoto, J. K., Martelli, G. P. 2001. Molecular detection of a closterovirus associated with Apricot stem pitting in southern Italy. *Journal of plant pathology* 83: 125-132.

6.2 Streepmozaïek in *Allium*

Tsuneyoshi, T., Matsumi, T., Natsuaki, K.T. and Sumi, S.: Nucleotide sequence analysis of virus isolates indicates the presence of three potyvirus species in *Allium* plants. *Archives of Virology* (1998) 143:97-113

Takaki, F., Sano, T., Yamashita, K., Fujita, T., Ueda, K. and Kato, T.: Complete nucleotide sequences of attenuated and severe isolates of *Leek Yellow Stripe Virus* from garlic in Northern Japan: Identification of three distinct virus types in garlic and leek worldwide.

Archives of Virology (2005) DOI 10.1007/s00705-004-0482-9

Chen, J., Adams, M.J., Zheng, H.-Y. and Chen, J.-P.: Sequence analysis demonstrates that *Onion yellow dwarf virus* isolates from China contain a P3 region much larger than other potyviruses. Archives of Virology (2003) DOI 10.1007/s00705-003-0020-1

Tsuneyoshi, T., Matsumi, T., Deng, T.C., Sako, I. and Sumi, S.: Differentiation of *Allium* carlaviruses isolated from different part of the world bases on the viral coat protein sequence. Archives of Virology (1998) 143: 1093-1107

Chen, J., Chen, J and Adams, M.J.: Molecular characterization of a complex mixture of viruses in garlic with mosaic symptoms in China. Archives of Virology (2001) 146: 1841-1853

Lunello, P., Mansilla, C., Conci, V. and Ponz, F.: Ultra-sensitive detection of two garlic potyviruses using a real-time fluorescent (Taqman®) RT-PCR assay. Journal of Virological Methods 118 (2004) 15-21

Vlugt, v.d. R.A.A., Steffens, P., Cuperus, C., Barg, E., Lesemann, D.-E., Bos, L. and Vetten, H.J.: Further Evidence that Shallot Yellow Stripe Virus (SYSV) is a distinct Potyvirus and Reidentification of Welch Onion Yellow Stripe Virus as a SYSV Strain. Phytophology Vol. 89, No 2, 1999 148-155

Moran, J., Rijswijk, v. B., Traicevski, V., Kitajima, E.W., Mackenzie, A.M. and Gibbs, A.J.: Potyviruses, novel and known, in cultivated and wild species of the family *Apiaceae* in Australia. Archives of Virology (2002) 147: 1855-1867

Chen, J., Zheng, H.Y., Chen, J.P. and Adams, M.J.: Characterisation of a potyvirus and a potexvirus from Chinese scallion. Archives of Virology (2002) 147: 683-693

Fuji, S., Terami, F., Furuya, H., Naito, H. and Fukumoto, F.: Nucleotide sequence of the coat protein genes of *Alstroemeria mosaic virus* and Amazon lily mosaic virus, a tentative species of genus *Potyvirus*. Archives of Virology (2004) 149: 1843-1849

Fan, Z., Chen, H., Cai, S., Deng, C., Wang, W., Liang, X. and Li, H.: Molecular characterization of a distinct potyvirus from whitegrass in China. Archives of Virology (2003) 148: 1219-1224

Fuji, S., Inoue, M., Yamamoto, H., Furuya, H., Naito, H and Matsumoto, T.: Nucleotide sequences of the coat protein gene of potyvirus infecting *Ornithogalum thyrsoides*. Archives of Virology (2003) 148: 613-621

6.3 Beheersstrategiën

Sayama, H., Kominato, M., Utukata, M. and Sato, T.: 2000: Three-year risk assessment of the practical application of cross-protection in processing, tomato fields using an attenuated cucumber mosaic virus (CMV) strain containing an ameliorative satellite RNA. Acta Horticulturae 542, 2000

Zie ook overzichtsartikel van Derks (in press) bij wetenschappelijke publicaties.