

Non-persistente virusoverdracht door bladluizen in bloembollen

BO-06-005 Plantgezondheid, thema Fytosanitair Beta - Project 3.1.7

Maarten de Kock, Miriam Lemmers, Linda van Dalen, Khanh Pham en Ineke Stijger

© 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.



**landbouw, natuur en
voedselkwaliteit**



**PRAKTIJKONDERZOEK
PLANT & OMGEVING**
WAGENINGEN UR

BO-06-005 Plantgezondheid, thema Fytopantheon Beta - Project 3.1.7

Projectnummer: 32 340226 00

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit

Adres : Prof. Van Slogterenweg 2, 2161 DW Lisse

Tel. : 0252-462121

Fax : 0252-462100

E-mail : infobollen.ppo@wur.nl

Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

1	SAMENVATTING.....	5
2	INTRODUCTIE	7
2.1	Non-persistente virusoverdracht in Tulp	7
2.2	Non-persistente virusoverdracht in Lelie.....	7
2.3	Doelstellingen van het project	9
2.4	Aanpak en tijdsplan.....	9
3	NON-PERSISTENTE VIRUSOVERDRACHT VAN TVB IN TULP	11
3.1	Inventarisatie van bladluizenpopulaties.....	11
3.1.1	Experimentele uitvoering	11
3.1.2	Resultaten en discussie.....	11
3.2	Analyse van periode van TBV-verspreiding.....	13
3.2.1	Experimentele uitvoering	13
3.2.2	Resultaten en Discussie.....	14
3.3	Relatie tussen bladluizenpopulatie en tijdstip van non-persistente virusverspreiding	16
4	NON-PERSISTENTE VIRUSOVERDRACHT VAN LMOV/LSV IN LELIE	19
4.1	Inventarisatie van bladluizenpopulaties.....	19
4.1.1	Experimentele uitvoering	19
4.1.2	Resultaten en discussie	19
4.2	Effect van randbeplanting op virusoverdracht.....	19
4.2.1	Experimentele uitvoering	19
4.2.2	Resultaten en discussie	19
5	PCR-DETECTIE VAN VIRUS IN BLADLUIZEN	21
5.1	Moleculaire detectie van TBV in bladluizen	21
5.2	Moleculaire detectie van LMOV en LSV in bladluizen	22
5.3	PCR-detectie een technologie voor risico-inschatting?	22
6	ALGEMENE DISCUSSIEPUNTEN	23
7	CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN	25
8	GERAADPLEEGDE LITERATUUR.....	27
	BIJLAGE	

1 Samenvatting

Jaarlijks is er miljoenen euro schade in bolgewassen door virussen die (non-persistent) door bladluizen worden overgebracht. Ter bestrijding van deze bladluizen (en diensgevolge ook virussen) wordt er vanaf vroeg in het groeiseizoen gespoten met minerale oliën en pyrethroiden. Echter, er is momenteel te weinig kennis van de dynamiek van bladluizenpopulaties gedurende de teelt van vroege bloeiers (bijv. tulp) en zomerbloeiers (bijv. lelie) en het bijbehorende risico op virusoverdracht. Ook is het onbekend of weersomstandigheden van invloed kunnen zijn op de luizenpopulatie dynamiek en het bijbehorende risico op virusverspreiding. Daarom is het belangrijkste doel van dit project het in kaart brengen van virusverspreiding door bladluizen in tulp. Hierdoor moet een effectieve manier van bestrijding mogelijk worden. Daarnaast is de haalbaarheid van vang- en lokgewassen ter bescherming van virusoverdracht in lelie bestudeerd en is er een PCR-methode ontwikkeld om de virusstatus van bladluizen te bestuderen. Deze technologie kan mogelijk ingezet worden bij de risico-inschatting over virusoverdracht tijdens de teelt van een gewas.

In een seizoen zonder extreme weersomstandigheden vindt de verspreiding van TBV door bladluizen al vanaf begin april plaats terwijl de eerste bladluizen vanaf begin mei gevangen worden in vangbakken of op vangplaten. De eerst vliegende bladluizen zijn hypermobiel, zijn nauwelijks waarneembaar en verspreiden meteen al virus. Het risico op virusverspreiding is er daarom al wanneer de temperatuur overdag $\pm 12-13^{\circ}\text{C}$ haalt. Het meeste risico op virusverspreiding is er tijdens groei- en bloeifase van tulp, na de bloei neemt risico op virusverspreiding snel af. Vangbakken en vangplaten zijn geen betrouwbare manier om het risico op virusoverdracht (in tulp) te bestuderen; men loopt ± 2 weken achter de feiten aan. De huidige manier van gewasbescherming tegen virusoverdracht heeft mogelijk een averechtse werking: bladluizen worden uit een veld verjaagd door pyrethroiden waarna bladluizen mogelijk sterven. Door deze migratie kan er juist extra verspreiding van virussen plaatsvinden. Een alternatieve strategie voor bescherming van het gewas tegen virusverspreiding door bladluizen zou zich moeten richten op het fixeren van de bladluis op de plant waar dezen hun eerste proefboringen op verrichten. Aansluitend op deze fixatie moet een insecticide er voor zorgen dat de bladluis afsterft; een dergelijk insecticide is echter nog niet voorhanden.

Voor lelie blijft het onduidelijk wanneer gedurende het teeltseizoen het risico op virusverspreiding het grootst is. Bij de selectie van plantensoorten die dienst moeten doen als vang- en lokgewas voor bladluizen en natuurlijke vijanden, moet de bloeiperiode van deze planten in ieder geval overeenkomen met de periode waarin het risico op virusoverdracht het grootst is. Alleen onder deze voorwaarde is er een kans dat deze natuurlijke manier van bestrijding van virusverspreiding een bijdrage levert aan het voorkomen van non-persistente virusoverdracht in lelie.

PCR-detectie van virussen in bladluizen is mogelijk voor TBV en LSV. Op basis van opgedane ervaringen lijkt toepassing van PCR-detectie van virusbesmette vectoren als reguliere risico-monitoring echter niet haalbaar voor de inschatting van het actuele risico op virusoverdracht door bladluizen. Het afstemmen van gewasbeschermingsmaatregelen op basis van ontwikkeling van het gewas, temperatuur en weersomstandigheden lijkt dan de meest veilige strategie.

Dit driejarig onderzoeksproject heeft direct toepasbare kennis en gewasbeschermingsadviezen opgeleverd, maar ook heldere adviezen voor zowel de chemische als biologische bestrijding van virusoverdracht door bladluizen. Deze adviezen vormen de basis voor verder onderzoek om uiteindelijk de non-persistente virusverspreiding door bladluizen nog effectiever te kunnen bestrijden.

2 Introductie

2.1 Non-persistente virusoverdracht in Tulp

In tulpen veroorzaakt het tulpenmozaïekvirus (Engels: Tulip Breaking Virus, TBV) van alle virussen de meeste schade. Er is directe schade zoals opbrengst- en kwaliteitsverlies veroorzaakt door virussymptomen. Symptomen kunnen zijn verandering van bladkleur, stengelverkleuring, bloemkleurbreking, vormverandering en stempelkleuromslag in de bloemen en kringvlekvorming op de bladeren na de bloei. De symptomen zijn over het algemeen duidelijk zichtbaar maar echter wel gedurende een vrij korte periode. Verder is de symptoomontwikkeling cultivarafhankelijk. Daarnaast is er indirecte schade veroorzaakt door de beheersingsmaatregelen en verplichte keuringsmaatregelen.

TBV behoort tot de familie van de potyvirusen, virussen die vooral door bladluizen of andere insecten worden overgebracht. Vooral in de gele (en witte) tulpencultivars is het virus steeds moeilijker onder controle te krijgen. De gele en witte tulpencultivars nemen ongeveer 1.350 ha voor hun rekening van de ca. 10.000 ha tulpen (cijfers uit 2004). Percentages TBV van 6% en hoger, waarbij virusbeheersing vrijwel onmogelijk is geworden, zijn geen uitzondering meer. Dit heeft onder anderen te maken met de schaalvergroting van bedrijven, waardoor er minder tijd en expertise beschikbaar is voor het ziekzoeken, de slechte of in tijd zeer beperkte zichtbaarheid van symptomen (typerend voor gele en witte cultivars) en mogelijk de grotere vatbaarheid van deze cultivars voor TBV. Het verwijderen van virus(bron)planten gedurende de teelt levert echter wel het hoogste rendement op in de virusbestrijding: het viruspercentage kan daardoor worden verlaagd en er is minder kans op virusverspreiding. In een innovatief project, betaald door o.a het bloembollenbedrijfsleven wordt getracht de TBV-bron in het veld te verminderen (weghalen van viruszieke planten) door automatisch ziekzoeken via *vision*technieken (PT12997).

Verspreiding van TBV is aangetoond voor *Myzus persicae*, *Macrosiphum euphorbiae* en *Aulacorthum solani* (Romanow and Van Eijk, 1985). Vooral in het zuiden van Nederland worden er in begin april al bladluizen gevangen (onder andere proeven van C. Asjes). Daarom worden in Zeeland soms zelfs al half maart bespuitingen met pyrethroïde uitgevoerd omdat men luizen waarneemt. Het is onbekend hoe effectief deze vroege luizen zijn in de verspreiding van virussen in deze periode. Tot nu toe worden de allereerste luizenvluchten vanaf de winterwaardplanten, waarop de eieren zijn afgezet, als niet-gevaarlijk beschouwd omdat de luizen dan nog niet met virus zijn besmet. Bij de advisering van gewasbeschermingsmaatregelen wordt aangegeven pas begin mei te starten met de pyrethroïdebespuitingen. In jaren met een warm voorjaar wordt geadviseerd om vanaf half april te spuiten. Wanneer deze vroege luisvluchten wel voor virusverspreiding zorgen, moet de advisering over het begin van het spuitseizoen worden aangepast. Daarnaast komen er de laatste jaren (met hogere temperaturen in april) uit de praktijk meer meldingen van luizenkolonies op (gele) tulpenbloemen. Deze luizensoorten overleven de wekelijkse bespuitingen met pyrethroïde. Het is echter onduidelijk of dit virusoverbrengende luizensoorten zijn. Een gedetailleerde analyse van het vluchtgedrag van bladluizen en hierop te reageren met gerichte gewasbeschermingsmiddelen lijkt dus noodzakelijk. Mogelijk moet het spuitregime of het middelenpakket worden aangepast.

2.2 Non-persistente virusoverdracht in Lelie

De afgelopen decennia is het areaal lelie van enkele tientallen hectare gegroeid tot in 3700 hectare in 2007. Nederland is hiermee verreweg de grootste teler van lelies. Landen als USA, Japan, Korea, Israel en Australië telen slechts enkele honderden hectare per land. De vraag naar diversiteit heeft geleid tot de ontwikkeling en productie van een kleine 500 verschillende cultivars die voornamelijk behoren tot de *Oriental*, de Aziatische- en de Longiflorum/Aziaat hybride lelies. De omvang van de lelieproductie leidt tot groot risico op virusziekten en andere infecties. Het leliesymptoomloosvirus (LSV) en leliemozaïekvirus

(LMoV) veroorzaken de grootste problemen in Nederland.

In de jaren '60 was bij de hele collectie lelie besmet met LSV(Asjes, 2000). Echter, door de ontwikkeling van weefselkweektechnieken, beheers- en teeltmaatregelen ter voorkoming van virusverspreiding en serologische detectie is het percentage LSV inmiddels drastisch teruggedrongen. Een lage initiële virusdruk is de belangrijkste manier om toename in virusbesmetting te voorkomen. Daarentegen veroorzaakt een virusdruk van 5-10% al vaak oncontroleerbare virustoenames. Daarnaast lijkt het erop dat planten voor de bloei gevoeliger zijn voor virusverspreiding dan tijdens en na de bloei. Zowel LSV als LMoV worden door bladluizen verspreid en in de jaren 1990-1992 is door Dhr. Asjes en collega's in meer detail bestudeerd welke bladluissoorten bij deze verspreiding betrokken zijn:

TBV/LMoV¹ wordt in ieder geval verspreid door een ruim aantal luizensoorten (Asjes, *personal communication*):

<i>Acyrtosiphon pisum</i> (erwtbladluis)	<i>Anoecia corni</i> ,
<i>Aphis</i> species,	<i>Brachycaudus persicaecola</i> ,
<i>Brevicoryne brassicae</i> (melige koolluis)	<i>Capitophorus hippophaes</i> ,
<i>Capitophorus</i> species,	<i>Cavarilla theobaldi</i> (groene pastinaakluis)
<i>Dysaphis</i> species,	<i>Hyalopterus pruni</i> (melige pruimenluis)
<i>Hyperomyzus lactucae</i> (groene melkdistelluis)	<i>Hyperomyzus pallidus</i> ,
<i>Kallistaphis basalis</i>	<i>Liaphis erysimi</i> (loodkleurige bladluis)
<i>Macrosiphoniella sejuncta</i>	<i>Macrosiphum rosae</i> (gewone rozenluis)
<i>Metopolophium dirhodum</i> (roos-grasluis),	<i>Myzus cerasi</i> (zwarte kersenluis)
<i>Myzus persicae</i> (groene perzikluis)	<i>Nasonovia ribisnigri</i> (groene slaluis)
<i>Rhopalosiphum padi</i> (vogelkersgrasluis)	<i>Rhopalosiphum pilipes</i>
<i>Sitibion avenae</i> (grote graanluis)	<i>Tetraneura ulmi</i> (lep-grasluis)
<i>Uroleucon</i> species.	

LSV wordt in ieder geval verspreid door:

<i>Aphis pisum</i> (erwtbladluis)	<i>Aphis</i> species
<i>Brevicoryne brassicae</i> (melige koolluis)	<i>Liosomaphis berberis</i>
<i>Metopolophium dirhodum</i> (roos-grasluis)	<i>Myzus persicae</i> (groene perzikluis)
<i>Rhopalosiphum insertum</i> (appel-grasluis)	<i>Rhopalosiphum padi</i> (vogelkersgrasluis)
<i>Uroleucon</i> species.	

Tevens zijn er verschillen in efficiëntie waarmee deze verschillende bladluissoorten TBV/LMoV kunnen verspreiden. Op basis van éénjarige, enigszins beperkte gegevens werden de volgende efficiëntiewaarden voor diverse virusoverdragers bepaald: *Kallistaphis basalis* (100%, n=1), *Macrosiphum rosae* (100%, n=1), *Dysaphis* species (50%, n=4), *Myzus cerasi* (50%, n=2), *Tetraneura ulmi* (33%, n=3), *Acyrtosiphon pisum* (29%, n=7) en *Capitophorus* species (29%, n=7) (Asjes, pers.comm.).

Virusverspreiding door bladluizen wordt bestreden door in de maanden mei, juni en juli wekelijks te spuiten met een combinatie van minerale oliën en pyrethroiden, vanaf augustus kan er voor gekozen worden om één keer per twee weken te spuiten (Asjes, 2000) (Asjes, 1984). Minerale olie voorkomt zeer waarschijnlijk de hechting van virusdeeltjes aan de stilet van de bladluis, maar wetenschappelijk bewijs voor deze hypothese ontbreekt. Pyrethroiden hebben een negatief en afstotend effect op het aanzuiggedrag van de bladluizen. De combinatie van minerale oliën en pyrethroiden zijn slechts ten dele werkzaam; bladluizen zullen nog steeds een plant aanpakken en, in geval van virusinfectie, virusdeeltjes opnemen. Door de pyrethroiden zal een bladluis echter sneller doornvliegen naar een andere plant en de minerale olie zorgt ervoor dat het virus minder lang kan worden overgedragen naar andere planten. Er zijn momenteel geen middelen die voorkomen dat een bladluis überhaupt een plant aanzuigt. Insecticiden voorkomen ook niet het aanzuigen en verspreiden van virus, ze zorgen er alleen voor dat een bladluis binnen enkele uren afsterft. Er wordt zelfs gesuggereerd dat pyrethroiden en insecticiden een positieve bijdrage kunnen leveren aan virusverspreiding omdat aanvliegende bladluizen als gevolg van deze middelen een veel onrustiger kolonisatiegedrag zouden vertonen, veel sneller wegvliegen naar een volgende plant en hierdoor meer

¹ In de tijd dat dit onderzoek werd gedaan, was LMoV nog niet geïdentificeerd als apart virus; er werd verondersteld dat dit virus TBV was. Eind jaren '90 werd echter LMoV als apart virus van TBV erkend.

planten zouden kunnen infecteren

Als alternatief op chemische gewasbescherming wordt de laatste jaren de effectiviteit onderzocht van randbeplanting met vanggewassen als sla en boon in combinatie met een bloemstrook om natuurlijke vijanden van bladluizen aan te trekken (Hooks and Fereres, 2006).

2.3 Doelstellingen van het project

Er is te weinig actuele kennis over de non-persistente virusoverdracht van TBV in tulp en van LMoV/LSV in lelie om te bepalen of actuele gewasbeschermingsmaatregelen optimaal zijn om virusverspreiding door bladluizen effectief te bestrijden. Daarom worden de volgende doelstellingen bestudeerd:

- Bepalen van de populatiedynamiek van (geveugelde) bladluizen: vangen en determineren van bladluizen gedurende teeltseizoen van tulp en lelie en correlatie met meteo-gegevens.
- Bepalen van de relatie tussen populatiedynamiek van bladluizen en het moment waarop non-persistente virusverspreiding plaats vindt. De uitkomst van deze analyse geeft aan of de actuele richtlijnen ter bestrijding van non-persistentie virusoverdracht in tulp en lelie nog actueel zijn.
- Vaststellen of bladluizen virus bij zich hebben en virusidentificatie. Deze technieken kunnen gebruikt worden ter ondersteuning van epidemiologisch virusonderzoek en tijdens de teelt ingezet worden voor inschatting van actuele risico's
- Onderzoek naar preventieve maatregelen door aanplant van bloemrand, vang- en lokgewassen.

2.4 Aanpak en tijdspad

Dit driejarige project is in 2006 gestart. Tegelijkertijd startte bij Plant Research International (R. van der Vlugt) een onderzoekproject naar non-persistente virusoverdracht van PVY in aardappel. Gedurende de uitvoering van beide projecten is er tussen beide onderzoeksgroepen samengewerkt en is er frequent contact geweest met de klankbordgroep voorgezeten door Mevr. A. Roenhorst (Plantenziektenkundige Dienst).

In 2006 en 2007 werd zowel non-persistente virusoverdracht in tulp en lelie bestudeerd. Vanwege de complexiteit van dit thema, en op basis van opgedane kennis en ervaring in de eerste fase van het project, is uiteindelijk de prioriteit voornamelijk komen te liggen op het bestuderen van non-persistente virusoverdracht van TBV in tulp. Deze prioritering in het onderzoeksthema heeft plaatsgevonden in overleg met de klankbordgroep. De volgende doelstellingen zijn in de loop van de drie jaar bestudeerd.

- | | |
|-------------|--|
| 2006 | <ul style="list-style-type: none">• Bestuderen van de populatiedynamiek en determineren van bladluizen. Bladluizen worden gevangen tijdens de teelt van tulp en lelie.• Effect van randbeplanting op bladluizenpopulaties in lelie.• Ontwikkeling van moleculair biologische toets voor het aantonen van TBV in bladluizen. |
| 2007 | <ul style="list-style-type: none">• Effect van weersomstandigheden op bladluizenpopulaties tijdens de teelt van tulp en lelie. Meteogegevens waaronder temperatuur, wind en neerslag worden verzameld en gecorreleerd met de aanwezige bladluissoorten.• Correlatie van bladluizenpopulaties en het moment waarop non-persistente virusoverdracht van TBV in tulp plaats vindt.• Effect van randbeplanting op bladluizenpopulaties in lelie. |
| 2008 | <ul style="list-style-type: none">• Effect van weersomstandigheden op bladluizenpopulaties tijdens de teelt van tulp en lelie. Meteogegevens waaronder temperatuur, wind en neerslag worden verzameld en gecorreleerd met de aanwezige bladluissoorten.• Correlatie van bladluizenpopulaties en het moment waarop non-persistente virusoverdracht van TBV in tulp plaats vindt.• Effect van randbeplanting op bladluizenpopulaties in lelie.• Detectie van virussen in bladluizen |

3 Non-persistente virusoverdracht van TVB in tulp

3.1 Inventarisatie van bladluizenpopulaties

3.1.1 Experimentele uitvoering

Gedurende de periode dat de tulpen werden blootgesteld aan de van nature voorkomende bladluizen (maart tot juli), zijn er wekelijks bladluizenvangsten uitgevoerd door middel van vangbakken in het tulpenveld en aangrenzende gewassen. In 2006 en 2007 zijn bladluizen gevangen in Nieuwe-Tonge en in Lisse. In 2008 is de bladluizenpopulatie alleen in Lisse bestudeerd. Gevangen bladluizen uit beide vangmethoden zijn geteld. Daarnaast zijn de bladluizen gevangen met de vangbakken gebruikt voor determinatieactiviteiten. Determinatie van bladluizen is uitgevoerd door NAK Agro (Emmeloord).

3.1.2 Resultaten en discussie

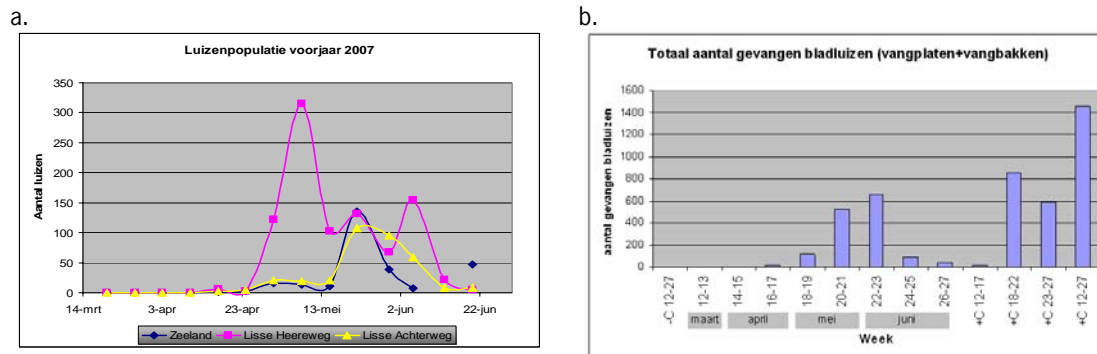
In het voorjaar 2006 zijn er in Nieuwe-Tonge relatief weinig bladluizen aangetroffen in de vangbakken naast het proefveld. Gedurende de periode van begin april tot en met eind juni werden slechts enkele bladluizen per week gevangen (zie Bijlage 1: Luizentellingen). Deze aantallen zijn in afwijking met observaties uit eerdere jaren en werden meest waarschijnlijk veroorzaakt door de lage temperatuur tot eind april. Door de daarop volgende warme periode ontstond er een korte bloeiperiode van het gewas. Hierdoor stonden de planten relatief kort in bloei en kregen de luizen onvoldoende kans daarop te vliegen en eventueel het gewas te koloniseren.

In 2007 was het een redelijk normaal voorjaar wat betreft weersomstandigheden met minder extremen dan in 2006. Gedurende de wekelijkse visuele inspectie op bladluizen werd tot en met week 16 in de proefveldjes geen bladluizen waargenomen, noch in het aangrenzende productieveld van tulp, noch in de omliggende struiken. Ook in de vangbakken werden geen bladluizen gevangen. Pas vanaf week 17 werden er diverse soorten bladluizen gevangen en waren soms luizenkolonies zichtbaar (zie Figuur 1 en Bijlage 1: Luizentellingen).

In 2008 was het tot en met half april een relatief koel voorjaar. Begin mei is er echter een 2-3 weekse periode geweest met erg warm weer voor de tijd van het jaar. De weersomstandigheden eind mei en juni waren zonder extreme temperaturen. Wel is het in 2008 relatief lang droog geweest gedurende het groeiseizoen van tulp.

In 2007 en 2008 hebben de bladluizenwaarnemingen geleid tot een goed inzicht in de bladluizenpopulatiedynamiek en de locale variatie die kan ontstaan. Algemene trend is dat de eerste bladluizen vanaf de laatste week van april en begin mei in vangbakken en op vangplaten gevangen worden. Daarentegen zijn bladluizen in de maand april wel zichtbaar tijdens het fietsen langs de bollenvelden. Tijdens het fietsen blijven er namelijk diverse bladluizen op de kleding plakken. De bladluizendichtheid is in de tweede helft van mei en begin juni het grootst en neemt in juni weer in aantallen af.

Het waargenomen tijdstip van de eerst gevangen bladluizen in 2006, 2007 en 2008 komt overeen met de resultaten die NAK Agro de afgelopen jaren heeft verkregen. NAK Agro bemonstert vanaf half april met behulp van zuigvallen en vangbakken de populatie bladluizen in Nederland en vangt de eerste bladluizen meestal in de eerste week van mei.



Figuur 1. Bladluizen gevangen op vangplaten en in vangbakken gedurende de teeltperiode van tulp. (a) Resultaten van 2007 voor de locatie Zeeland (Nieuwe-Tonge), locatie Heereweg in Lisse en locatie Achterweg in Lisse. (b) Resultaten van 2008 voor de locatie Lisse.

Uit de analyse van dit project is duidelijk geworden dat er op enkele honderden meters afstand grote verschillen kunnen zijn in aantallen bladluizen (Figuur 1a). Begin mei 2007 zijn er op de vanglocatie Heereweg honderden bladluizen gevangen, terwijl er op de locatie Achterweg bijna geen bladluizen aanwezig zijn. De twee vangbakken lagen \pm 250 meter van elkaar verwijderd. Een duidelijke oorzaak voor deze grote verschillen is niet te geven. De hogere aantallen gevangen bladluizen in 2008 ten opzichte van 2007 wordt veroorzaakt door een groter aantal vangplaten en vangbakken.

Tabel 1. Bladluisoorten die relatief vroeg in het seizoen (april/begin mei) in een tulpenveld worden gevangen (a), bladluisoorten die in relatief grote aantallen in het tulpenveld worden gevangen (b) en bladluizen die tulp koloniseren.

a. Relatief vroege bladluisoorten (april / begin mei)		b. Bladluisoorten die in relatief grote aantallen in vangbakken in een tulpenveld worden aangetroffen	
<i>Acyrtosiphon loti</i> <i>Brachycaudus helichrysi</i> <i>Eucaraphis punctipennis</i> <i>Macrosiphum funestum</i> <i>Metopolophium dirhodum</i> <i>Mimeuria ulmiphila</i> <i>Myzus ascalonicus</i> <i>Myzus certus</i> <i>Myzus persicae</i> <i>Periphyllus californiensis</i> <i>Rhopalosiphoninus latsysiphon</i> <i>Symydobius oblongus</i>	groene kortstaartluis roos-grasluis sjalotteluis bruine violenluis groene perzikluis japanse esdoornluis aardappelkelderluis	<i>Aphis spp.</i> <i>Brachycaudus helichrysi</i> <i>Brachycaudus helichrysi</i> <i>Cavariella aegopodii</i> <i>Cavariella theobaldi</i> <i>Drepanosiphum platanoidis</i> <i>Hyperomyzus lactucae</i> <i>Macrosiphum euphorbiae</i> <i>Periphyllus testudinaceus</i> <i>Phorodon humuli</i> <i>Phyllaphis tagi</i>	groene kortstaartluis groene kortstaartluis zevenbladluis groene pastinaakluis grote esdoornluis groene melkdistelluis aardappeltopluis hopluis beukenbladluis
c. Bladluisoorten die koloniseren op het gewas Tulp			
<i>Acyrtosiphon pisum</i> <i>Aphis fabae</i> <i>Aphis gossypii</i> <i>Drepanosiphum platanoidis</i> <i>Macrosiphum euphorbiae</i>	erwtenbladluis zwarte bonenluis katoenluis grote esdoornluis aardappeltopluis		

Met de vangbakken tussen het tulpengewas worden in per teeltseizoen een kleine 40 bladluisoorten gevangen (zie Bijlage 1: Luizentellingen en determinatie). In Tabel 1a zijn de typische vroege bladluisoorten weergegeven, bladluisoorten die in relatief grote aantallen zijn aangetoond in de vangbakken (1b) en bladluizen die ook daadwerkelijk het tulpengewas koloniseren (1c). Deze koloniserende bladluizen waren vanaf half mei tot en met het afsterven van de planten eind juni op het gewas aanwezig. *Drepanosiphum platanoidis* en *Macrosiphum euphorbiae* zijn soorten die zowel tulp koloniseren en relatief frequent als vliegende bladluis worden gevangen. Daarentegen zijn *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis fabae* en *Aphis gossypii* wel als koloniserende bladluis op het gewas aangetroffen, maar zijn deze bladluisoorten bijna niet in de vangbakken gevangen.

3.2 Analyse van periode van TBV-verspreiding

3.2.1 Experimentele uitvoering

Het tijdstip van TBV-verspreiding, en de mate van verspreiding van TBV is gedurende twee teeltseizoenen (2006 en 2007) bepaald in de periode half maart tot eind april. In 2008 is het tijdstip van TBV-verspreiding bepaald voor de volledige teeltperiode van tulp, van half maart tot en met begin juli.

De veldproeven van 2006 en 2007 zijn in Nieuwe-Tonge uitgevoerd waarbij virusvrije, geelbloeiende tulpen (cultivar Yokohama) zijn aangeplant met tussenrijen geelbloeiende, TBV geïnfecteerde tulpen van waaruit de TBV-verspreiding door bladluizen kon plaatsvinden (infectiedruk 1:10, cv. *Monte Carlo*). De tulpen zijn gedurende de periode half-maart t/m eind april voor 2-weekse periodes blootgesteld aan van nature voorkomende bladluizen en andere insecten (Figuur 2a). Gedurende deze 2-weekse periode heeft er op een natuurlijke wijze virusoverdracht kunnen plaatsvinden. Voordat de tulpen (weer) onder gaas kwamen te staan, werden ze eerst bespoten om de eventueel aanwezig insecten af te doden. De tulpen stonden onder gaas wanneer ze niet werden blootgesteld aan insecten.

De veldproef van 2008 is in Lisse op het proefveld uitgevoerd waarbij virusvrije tulpen (cv. *Ballerina*) zijn aangeplant met randrijen geelbloeiende, TBV geïnfecteerde tulpen van waaruit de TBV-verspreiding door bladluizen kon plaatsvinden (infectiedruk 1:10, cv. *Monte Carlo*). De tulpen zijn gedurende de periode half maart t/m begin juli voor 2-weekse periodes blootgesteld aan van nature voorkomende bladluizen en andere insecten (Figuur 2b).

a.

week behandeling	Maart		April					Mei				Juni		
	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
1														
2														
3														
4														
5														
6														

■ = overdekt met gaas

b.

week behandeling	Maart		April					Mei					Juni				Juli
	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
6																	
7																	
8																	
9																	
10																	
11																	
12																	
13																	

■ = overdekt met gaas

Figuur 2. Schema van blootstellen van tulpenveldjes aan van nature voorkomen bladluizen en andere insecten. (a) veldschema voor 2006 en 2007 (locatie Nieuwe-Tonge); (b) veldschema 2008 (locatie Lisse).

Voor alle drie de onderzoeksjaren geldt dat elke behandeling in 4 herhalingen is uitgevoerd met 200 bollen per behandeling per herhaling. Behandelingen werden gerandomiseerd op het veld verdeeld. Gedurende het teeltseizoen heeft er reguliere gewasverzorging plaatsgevonden. Het gewas is echter niet gespoten met insecticiden of andere middelen die een negatief effect kunnen hebben op de bladluizen/insectenpopulaties. Wel zijn na een periode van blootstellen aan van nature voorkomende insecten de planten eerst behandeld met een insecticide voordat de gaastentjes weer over het gewas worden geplaatst. Op deze manier werd voorkomen dat virusverspreiding plaats vond aansluitend op een periode van blootstelling aan insecten. Tevens zijn gedurende het teeltseizoen van tulp meteo-gegevens verzameld (temperatuur, neerslag, wind) en is een logboek bijgehouden met relevante informatie over het gewas, de visueel waargenomen bladluizen en het verloop van het weer.

Aansluitend op het rooien van de bollen begin juli, zijn de bollen per behandeling per herhaling in oktober met behulp van ELISA geanalyseerd op de aanwezigheid van TBV. Er zijn diverse controles meegenomen in de veldexperimenten. Een negatieve controle (behandeling 1) staat het hele jaar onder gaas en wordt niet blootgesteld aan potentiële vectoren voor virusoverdracht. De positieve controle (behandeling 6 (2006 en 2007), respectievelijk behandeling 13 (2008) wordt gedurende het hele teeltseizoen blootgesteld aan van nature aanwezige insecten. In deze behandeling vindt dus maximale virusverspreiding plaats.



Proefveld 2007



Proefveld 2008



Bladluis



vangplaat



vangbak



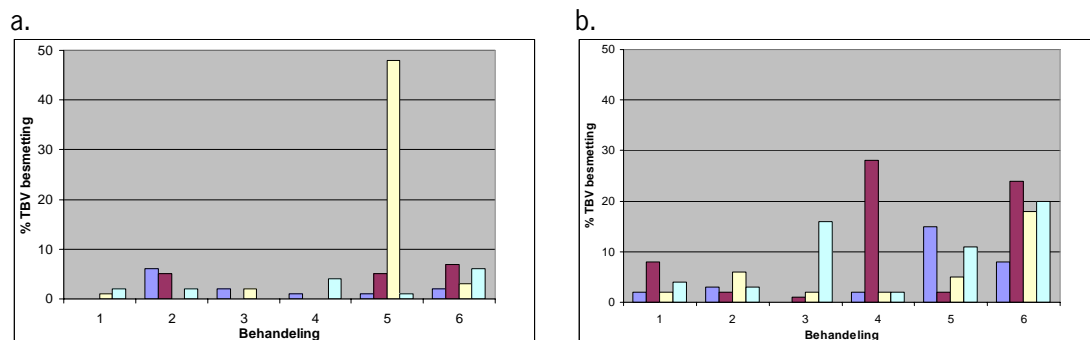
Bladluis

Enkele impressies van de proeven op het veld.

3.2.2 Resultaten en Discussie

Resultaten teeltjaar 2006 (Figuur 3a)

In het teeltjaar 2006 is er erg weinig TBV-verspreiding waargenomen (Figuur 3a, behandeling 1.). De controlebehandeling die het hele seizoen onder gaas heeft gestaan, liet bijna geen TBV-besmetting zien. In de weken 12-13, 14-15 en 16-17 vond er ook geen virusverspreiding plaats. In behandeling 5, de planten die de zes weken (week 12 t/m 17) zonder gaas hebben gestaan, is in één van de herhalingen een drastische toename aan virus te zien; 48% van de bollen is TBV besmet. Deze TBV-verspreiding heeft dus zeer lokaal plaatsgevonden. In de planten die het hele groeiseizoen zonder gaas hebben gestaan (behandeling 6, week 12 t/m 24) was gemiddeld genomen een kleine toename in TBV te vinden. Het is opvallend dat in behandeling 6 in geen van de herhalingen een vergelijkbare virustoename werd gevonden als in behandeling 5, herhaling #3.



Figuur 3. Percentage TBV-besmetting in tulp na verschillende behandelingen (zie voor de verschillende behandelingen Figuur 2a). Per behandeling zijn er 4 herhalingen uitgevoerd en per herhaling 100 bollen getoetst. Panel *a* zijn de resultaten van teeltjaar 2006; panel *b* zijn de resultaten van teeltjaar 2007.

Resultaten teeltjaar 2007 (Figuur 3b)

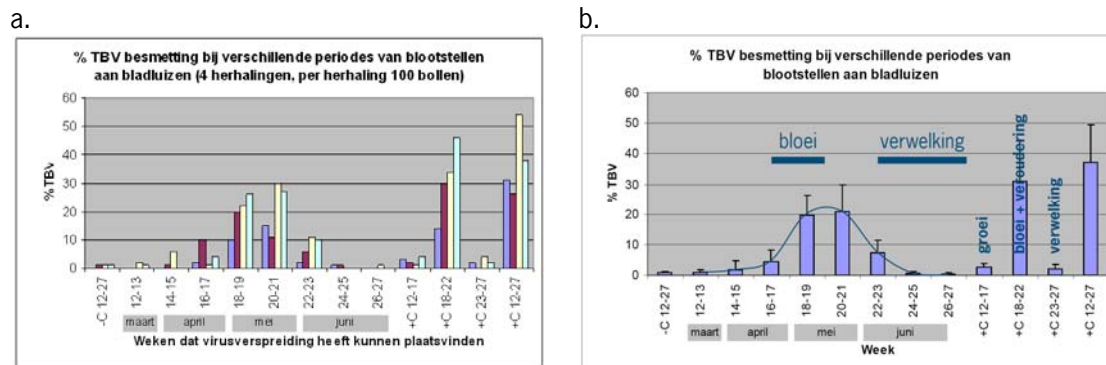
Ondanks dat kwaliteitsklasse I (Japan) is aangeplant, liet analyse van de controle tulpen (behandeling 1, hele periode onder gaas) zien dat gemiddeld 4.0 % van de “gezonde” bollen besmet was met TBV (behandeling 1, Figuur 3b, standaarddeviatie is 2.8%). Op basis van deze achtergrondinfectie is bepaald dat een viruspercentage van minstens 9.7 % een significante toename in virusverspreiding betekent. Het percentage TBV besmette bollen in behandeling 2 was vergelijkbaar met de controle. Er is dus geen virusverspreiding waargenomen in de laatste twee weken van maart. Een toename van TBV-besmetting werd wel waargenomen in bollen die in april zonder gaas hebben gestaan (behandeling 3 en 4). Ook de bollen die de eerste zes weken zonder gaas hebben gestaan (behandeling 5), lieten een toename in TBV-besmetting zien. TBV-besmetting was uiteindelijk het grootst bij behandeling 6, tulpen die het hele seizoen zonder gaas hebben gestaan. Net als in teeltjaar 2006, was de virusverspreiding in 2007 in behandeling 3, 4, en 5 van zeer lokale aard; slechts in één of twee van de herhalingen is een duidelijke toename in TBV-besmetting te zien.

Resultaten teeltjaar 2008 (Figuur 4)

De tulpen die het gehele groeiseizoen onder gaas hebben gestaan, zijn aan het einde van het groeiseizoen nog nagenoeg virusvrij. In tegenstelling tot teeltjaar 2007 was de in 2008 gebruikte partij tulpen wel vrij van virus. Dit maakt analyse van de resultaten een stuk eenvoudiger. Zodra het percentage virus bij een bepaalde behandeling boven de 2% uitkomt, kan er gesproken worden over een significante virustoename voor deze periode. Het percentage virus bij onbeschermden planten is gedurende het seizoen gestegen naar gemiddeld 37% (behandeling 13). Deze virustoename in één jaar varieert tussen de herhalingen (26%, 31%, 38% en 54%). Door verschillende periodes planten bloot te stellen aan bladluizen, kon bepaald worden in welke weken de virusverspreiding vanuit de randbeplanting op gang kwam, in welke periode de virusverspreiding door bladluizen maximaal was, en wanneer de virusverspreiding weer afnam en geen/weinig risico opleverde.

Vanaf week 14-15 was er in één van de vier herhalingen een toename in virus, in week 16-17 werd in twee van de vier herhalingen een significante toename in virus waargenomen. In de maand mei vond de meeste virusverspreiding door bladluizen plaats en welke begin juni sterk af nam. Tijdens de laatste 4 weken voor het rooien van de bollen (begin juli) werd er geen verspreiding van virus waargenomen.

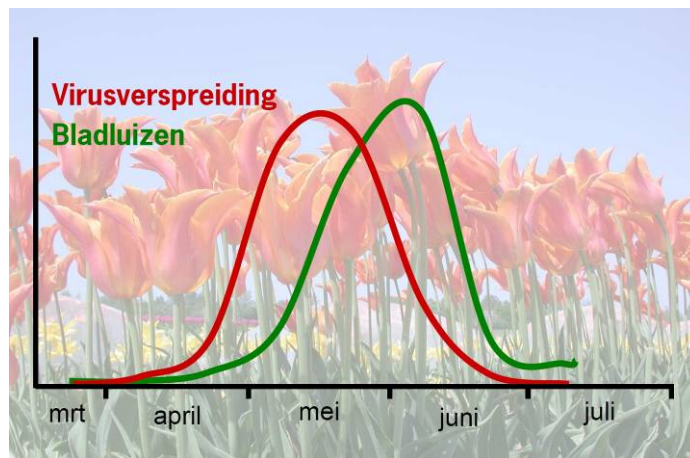
Wanneer er naar de verschillende groeifases wordt gekeken, dan begon in 2008 de verspreiding vanuit de randbeplanting al enkele weken voor de bloei, was de virusverspreiding maximaal aan het einde van de bloeiperiode en was er bijna geen virusverspreiding op het moment dat het gewas (bladeren) verwelkte.



Figuur 4. Percentage TBV-besmetting in tulp na verschillende behandelingen (zie voor de verschillende behandelingen Figuur 2b). Resultaten zijn verkregen uit de veldproef van 2008. Per behandeling zijn er 4 herhalingen uitgevoerd en per herhaling 100 bollen getoetst. Panel *a* zijn de voor elke herhaling de resultaten van teeltjaar 2008 weergegeven; in panel *b* zijn de resultaten van per behandeling gemiddeld, de foutenbalkjes geeft de standaarddeviatie per gemiddelde waarde aan.

3.3 Relatie tussen bladluizenpopulatie en tijdstip van non-persistente virusverspreiding

Op basis van twee succesvolle analyses (2007 en 2008) is gebleken dat in een jaar met een “normaal” verloop van voorjaarstemperaturen de eerste bladluizen in de laatste week van april worden waargenomen door middel van vangbakken en vangplaten. Deze bladluizen leveren niet zo zeer zelf schade aan het gewas, maar omdat zij virussen kunnen verspreiden (in het geval van tulp: TBV en LSV), richten zij indirect schade aan het gewas. Zodra er bladluizen waargenomen worden, bestaat er een risico op virusverspreiding. Daarom worden gewasbeschermingsmaatregelen vaak afgestemd op de eerste aanwezigheid van bladluizen. In Figuur 5 staat de relatie weergegeven over het moment waarop virusverspreiding plaats vindt (en de mate van virusverspreiding) en de bladluizenpopulaties die gedurende de teelt van tulp worden waargenomen. Het valt hierbij allereerst op dat de virusverspreiding eerder op gang komt voordat de eerste bladluizen zijn waargenomen. De virusverspreiding komt al begin april op gang en twee weken later worden de eerste bladluizen in vangbakken en op vangplaten waargenomen. De curve die de omvang van bladluizenpopulaties beschrijft heeft ongeveer dezelfde vorm als de curve die de mate van virusverspreiding beschrijft. Echter, de curve die de bladluizenpopulatie dynamiek beschrijft heeft ± 2 weken vertraging ten opzichte van de waargenomen virusverspreiding.



Figuur 5. Relatie tussen bladluizenpopulatie bestudeerd met vangbakken en vangplaten (groene lijn) en tijdstip van non-persistente virusverspreiding (rode lijn)gedurende teeltseizoen van tulp.

Dit is een erg opmerkelijk resultaat. Blijkbaar zijn de enkele vroege luizen (die niet op het gewas zichtbaar of rond het gewas te vangen waren) al verantwoordelijk geweest voor de TBV-verspreiding in tulp. Dit houdt in dat wanneer men de gewasbeschermingsmaatregelen tegen virusoverdracht af stemt op de gangbare manier van bladluizen monitoren (vangbakken of vangplaten), men twee weken achter de feiten aan loopt. Uit dit onderzoek zijn een aantal belangrijke ervaringen te trekken:

- Virusverspreiding komt al begin april op gang. De maximale temperatuur in deze periodes is $\pm 12-13^{\circ}\text{C}$ en de tulpen staan nog niet in bloei.
- Vangbakken, vangplaten, maar ook de hoge zuigval (referentiesysteem voor bladluizenonderzoek), zijn dus niet betrouwbaar genoeg voor het bestuderen van meeste vroege bladluizenpopulaties.
- Het is gangbaar om vanaf ± 1 mei tegen virusoverdracht te spuiten, of wanneer de temperatuur boven de 15°C komt. Deze richtlijnen zijn niet meer volledig actueel. Op basis van dit onderzoek wordt geadviseerd om vanaf begin april (vanaf week 15/16) het gewas te gaan beschermen tegen virusoverdracht door bladluizen of vanaf wanneer de dagtemperatuur rond de $12-13^{\circ}\text{C}$. Op lokale plekken kan de temperatuur dan al een paar $^{\circ}\text{C}$ hoger zijn, waardoor lokaal bladluizen geactiveerd worden.
- Vanaf half juni of wanneer het gewas eenmaal is gaan verwelken, vindt er weinig virusverspreiding meer plaats (ondanks dat er voldoende koloniserende en gevleugelde bladluizen aanwezig zijn). Het virus wordt in ieder geval in het daaropvolgende seizoen niet meer in de bol aangetroffen. Het is momenteel niet duidelijk of er (a) op dat moment (bijna) geen verspreiding meer plaats vindt, (b) het virus niet meer in staat is de bol te bereiken of te infecteren, of (c) er een soort ouderdomsresistentie ontstaat waardoor het gewas minder vatbaar wordt voor virusinfecties.
- Er is geen duidelijke relatie gevonden tussen bladluizen die in een vangbak worden gevangen en koloniserende bladluizen. Daarnaast is er ook geen duidelijke aanwijzing voor de betrokkenheid van specifieke bladluisoorten bij de non-persistentie verspreiding TBV. Gedurende de periode april tot en met half juni vormt elke bladluis dus een potentieel gevaar voor non-persistente virusverspreiding in tulp.

De efficiëntie van virusverspreiding varieert tussen verschillende bladluisoorten en wordt weergegeven met de *REF-value*. Deze index is door NAK-Agro bepaald op basis van de interactie tussen aardappel en, *Potato Virus Y* (PVY), en de groene perzikluis (*Myzus persicae*). De groene perzikluis is voor PVY de meest efficiënte vector met betrekking tot de non-persistente overdracht en is daarom geïndexeerd op 1. Voor diverse bladluisoorten is de REF-waarde bepaald. Hoe lager de REF waarde, hoe lager de efficiëntie van virusoverdracht. Hierbij moet de kanttekening worden geplaatst dat de efficiëntie van TBV overdracht in tulp niet gelijk hoeft te zijn aan de PVY-overdracht in aardappel. Gedurende het groeiseizoen zijn er verschillende soorten bladluizen gevangen waarvan bekend is dat ze in min of meerdere mate (PVY) virus kunnen

overbrengen (Tabel 2). Naast de groene perzikluis, zijn er ook significante aantallen gevangen van de soorten *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis fabae* (zwarte bonenluis), *Brachycaudus helichrysi*, *Macrosiphum euphorbiae* (aardappeltopluis) en *Phorodon humuli*.

Omdat er geen duidelijke aanwijzingen zijn voor de betrokkenheid van specifieke bladluissoorten bij de non-persistentie verspreiding TBV wordt er geadviseerd om elke (vroeg) bladluis als een potentieel gevaar voor virusverspreiding te zien. Dit advies wordt mede gesteund door de vele bladluissoorten die Dhr. Asjes en collega's hebben geïdentificeerd als vector van LMoV (zie ook §2.2).

Tabel 2. Bladluizen gevangen in gele vangbakken gedurende de teelt van tulp waarvan door NAK/PRI voor PVY de efficiëntie van virusoverdracht is bepaald (REF waarde). Deze REF waarden worden naar alle waarschijnlijkheid in 2009 herzien (Bron: R. van der Vlugt, PRI).

Bladluissoort	REF waarde
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	0.15
<i>Aphis fabae</i>	0.10
<i>Aphis frangulae</i>	0.40
<i>Aphis nasturtii</i>	0.40
<i>Aulacorthum solani</i>	?
<i>Brachycaudus helichrysi</i>	0.25
<i>Hyalopterus pruni</i>	0.00
<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	0.20
<i>Metopolophium dirhodum</i>	0.10
<i>Myzus certus</i>	0.50
<i>Myzus persicae</i>	1.00
<i>Phorodon humuli</i>	0.25
<i>Rhopalosiphum insertum</i>	0.20

4 Non-persistente virusoverdracht van LMoV/LSV in lelie

4.1 Inventarisatie van bladluizenpopulaties

4.1.1 Experimentele uitvoering

Gedurende de groeiperiode van lelie zijn in 2007 wekelijks bladluizenvangsten uitgevoerd door middel van vangbakken in het lieldveld. Tevens zijn koloniserende bladluizen bestudeerd in aangrenzende gewassen. Deze werkzaamheden zijn in 2007 uitgevoerd voor de locaties Noordbroek, Veendam en Lisse. In 2008 zijn deze activiteiten uitgevoerd uitsluitend in Lisse. Gevangen bladluizen uit beide vangmethoden zijn geteld. Daarnaast zijn de bladluizen gevangen met de vangbakken gebruikt voor determinatieactiviteiten. Determinatie van bladluizen is uitgevoerd door NAK Agro (Emmeloord).

4.1.2 Resultaten en discussie

De resultaten van de bladluizentellingen zijn te vinden in Bijlage 1: Luizentellingen en determinatie. In 2007 zijn op drie locaties bladluiswaarnemingen uitgevoerd waarbij er weinig opvallende resultaten gevonden zijn. Uit de waarnemingen in Lisse viel het op dat er met vangplaten veel meer bladluizen gevangen werden dan met vangbakken. In vangbakken werden hoogstens vijf bladluizen per week gevangen terwijl op de vangplaten tientallen bladluizen per week zijn gevangen. In 2008 zijn er in het lieldveld in Lisse tevens bijna geen bladluizen gevangen. Ook waren er geen koloniserende bladluizen op het gewas en randbeplanting bladluizen zichtbaar. Er zijn geen duidelijke effecten van temperatuurschommelingen of regenachtige periodes op de bladluizenpopulatie waargenomen.

4.2 Effect van randbeplanting op virusoverdracht

Het teeltseizoen van tulp is te vroeg om randbeplanting aan te planten om invliegende bladluizen te vangen en om natuurlijke vijanden van bladluizen aan te trekken. Daarentegen worden lelies in de zomer geteeld waardoor deze mogelijkheid wel bestaat. Mogelijk dat de aanplant van vang- en lokgewassen een effect heeft op de bladluizenpopulatie in een lieldveld waardoor het risico op virusverspreiding verminderd wordt.

4.2.1 Experimentele uitvoering

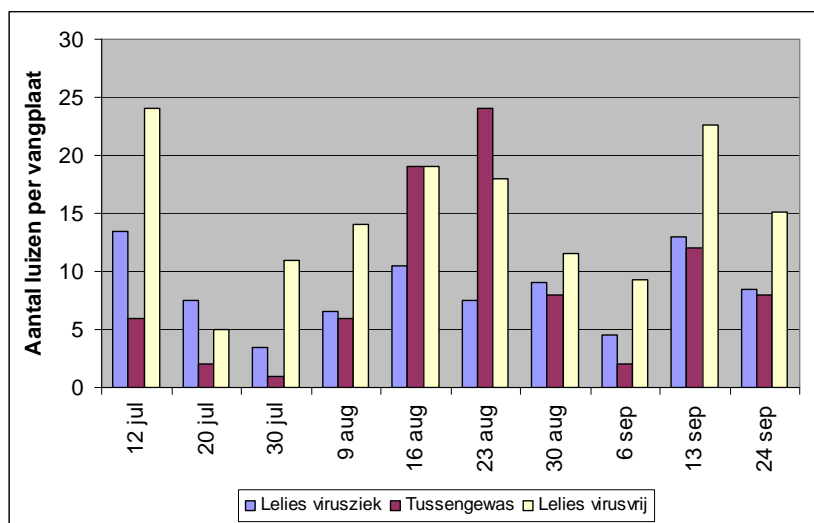
In oost-westelijke richting zijn veldjes met virusvrije lelies en virus-geïnfecteerde lelies geplant. Daartussen was een rij met vang- en lokgewassen als tuinboon, erwt en sla geplant. In elk van deze drie veldjes hebben gedurende de periode juli tot en met september vangplaten gestaan om de bladluizenpopulatie in elke type gewas te bestuderen. Tevens is de aanwezigheid van koloniserende bladluizen gedurende deze periode in de gaten gehouden.

4.2.2 Resultaten en discussie

De resultaten van dit onderdeel zijn weergegeven in Figuur 6. In juli zijn de meeste bladluizen gevangen in de lieldvelden en werden er relatief weinig bladluizen in het tussengewas gevangen. Vervolgens wordt in augustus een populatieopbouw in het tussengewas waargenomen. Vanaf september worden er weer minder bladluizen in het tussengewas aangetroffen.

Het valt bij deze resultaten op dat het de populatie bladluizen in het tussengewas vooral hoog is tijdens de bloeiperiode van het tussengewas. Deze planten stonden vooral in augustus in bloei. Daarnaast valt het op dat er meer bladluizen in het veld met de virusvrije lelies worden aangetroffen dan in het veld met de virusgeïnfecteerde lelies. Het is onduidelijk of de virusstatus van het gewas hier op van invloed is, of

dat dit toevallig door de oriëntatie op het veld wordt veroorzaakt.



Figuur 6. Gevangen bladluizen op vangplaat in veld met viruszieke lelies, tussengewas met vangplanten als sla, boon en erwit, en in een veld met virusvrije lelies.

Gezien de complexiteit van het bestuderen van de relatie tussen de dynamiek van bladluizenpopulaties en het moment waarop virusverspreiding plaats vindt (en de mate van virusverspreiding) is er in overleg met de klankbordgroep voor gekozen om dit onderwerp uitsluitend voor het gewas tulp te bestuderen. Voor lelie blijft het dus onduidelijk wanneer gedurende het teeltseizoen het risico op virusverspreiding het grootst is. Een vervolgpriject voor dit onderzoeksthema is ingediend bij het Productschap Tuinbouw voor vervolfinanciering.

Dit project heeft echter wel duidelijke aanwijzingen opgeleverd dat bij de selectie van plantensoorten die dienst moeten doen als vang- en loggewas voor bladluizen en natuurlijke vijanden, de bloeiperiode van deze planten moet overeenkomen met de periode waarin het risico op virusoverdracht het grootst is. Alleen bij deze voorwaarde is er een kans dat deze natuurlijke manier van bestrijding van virusverspreiding een bijdrage levert aan het voorkomen van non-persistente virusoverdracht in lelie.

5 PCR-detectie van virus in bladluizen

5.1 Moleculaire detectie van TBV in bladluizen

Om te achterhalen welke bladluissoorten betrokken kunnen zijn bij TBV-verspreiding, is er in 2006 en 2008 moleculaire analyse uitgevoerd op koloniserende bladluizen die gevangen zijn op TBV-zieke tulpen. Er is bij deze analyse gebruik gemaakt van twee verschillende partijen tulp die besmet waren met TBV. Cultivar *Monte Carlo* is gebruikt als virusbron tijdens de veldexperimenten, cultivar *Texas Flame* is gebruikt als referentie en is aanwezig in de viruscollectie van PPO-BBF. Cultivar *Yokohama* is gebruikt als virusvrij gewas.

Virus RNA werd met behulp van het standaard PureScript RNA extractieprotocol (Gentra Systems) geïsoleerd uit bladmateriaal en uit koloniserende bladluizen. Reverse transcriptase PCR is uitgevoerd met behulp van generieke potyvirus-primers (Langeveld *et al.*, 1991) en met specifieke TBV primers (Sato *et al.*, 2002). PCR met de potyvirus primers leverde bij beide cultivars een PCR-product op met de gewenste grootte (Tabel 3). Daarentegen werd met de TBV-specifieke primers alleen bij *Texas Flame* een PCR-product geamplificeerd. RNA geïsoleerd uit bladluizen leverde met beide primercombinaties geen PCR-product op.

Restrictie-analyse van het PCR-product geamplificeerd met de potyvirus-primers liet kleine verschillen zien tussen het PCR-product dat afkomstig was van *Monte Carlo* en het PCR-product van *Texas Flame*. Aansluitend hierop is het potyvirus PCR-product afkomstig van *Monte Carlo* gesequenced en vergeleken met andere TBV sequenties die aanwezig zijn in de database. Op basis van deze analyse werd er geconcludeerd dat *Monte Carlo* geïnfecteerd is met een nieuw TBV isolaat dat kleine sequentieverschillen heeft ten opzichte van de reeds bekende TBV sequenties. Deze verschillen zijn er ook de oorzaak van dat de bestaande PCR toets niet het gewenste resultaat op leverde.

Op basis van de sequentie van dit nieuwe TBV-isolaat zijn nieuwe TBV-specifieke primers ontwikkeld die beide TBV isolaten (uit *Monte Carlo* en *Texas Red*) zou moeten kunnen amplificeren. Er is geen verschil in serologische ELISA-detectie tussen beiden TBV isolaten.

Tabel 3. Samenvatting van TBV PCR toetsen met verschillende primers op verschillende type materiaal.
Legenda: ++++ = sterk PCR signaal, efficiënte amplificatie; ++ = duidelijk PCR-product aanwezig; - geen amplificatie.

Materiaal voor PCR	PCR toets met		
	Algemene potyvirus primers (Langeveld et al., 1991)	TBV-specifieke primers (Sato et al., 2002)	TBV-specifieke primers - nieuw - ¹⁾
TBV in <i>Texas Flame</i>	++++	++++	++++
TBV in <i>Monte Carlo</i>	++++	-	++++
Primaire TBV infectie	-	-	++
TBV in bladluizen	-	-	++
<i>Yokohama</i> (virusvrij)	-	-	-

¹⁾ TBV-MC-For1: 5'- TGG AATGTGGGTTATGATGG-3'
TBV-MC-Rev1: 5'- GGGTCTTTCAAACCGAGACA-3'

Moleculaire analyse met deze nieuwe TBV-specifieke primers op bladluizen die koloniseren op TBV-zieke tulpen Lisse en op de TBV-geïnfecteerde cultivars heeft aangetoond dat beide TBV isolaten gedetecteerd kunnen worden (Tabel 3). Het TBV is tevens aangetroffen in de aanvankelijk gezond-aangeplante *Monte Carlo* tulpen. Dit betreft dus een detectie van een primaire virusinfectie als gevolg van overdracht door bladluizen. Als laatste kon het TBV daadwerkelijk worden aangetoond in bladluizen zelf. Deze nieuwe TBV primers zijn dus gevoeliger dan de generieke potyvirus-primers en de oorspronkelijke TBV-primers; met deze primers kon het TBV virus niet aangetoond worden in bladluizen en ook niet in primaire infecties (Tabel 3).

Het TBV-virus kon in alle koloniserende bladluizen (*Acyrtosiphon pisum*, *Aphis fabae*, *Aphis gossypii*, *Drepanosiphum platanoidis*, *Macrosiphum euphorbiae*) met PCR worden aangetoond. Voor een aantal van deze soorten is de REF waarde voor PVY bepaald en varieert tussen 0.10 en 0.20 (zie ook Tabel 2). De kans op virusoverdracht door deze bladluizen is dus kleiner dan het risico van virusoverdracht door de groene perzikluiz (*Myzus persicae*) (aangenomen dat de overdrachtsefficiëntie van TBV gelijk is aan die van PVY). Echter, omdat deze bladluizen in veel grotere aantallen voorkomen dan *Myzus persicae*, kunnen dezen wel degelijk een groot risico vormen. Helaas kon op het moment van bemonstering geen koloniserende groene perzikluiz worden gevonden voor een vergelijkbare analyse.

5.2 Moleculaire detectie van LMoV en LSV in bladluizen

Helaas zijn er weinig koloniserende bladluizen in lelie aangetroffen. Enkele gevangen bladluizen op LMoV- en LSV-geïnfecteerde lelies en groene perzikluizen die 24 uur gevoed hebben op virusgeïnfecteerde lelies zijn met PCR analyse bestudeerd. Met deze analyse, welke is uitgevoerd volgens de methode zoals in §5.2 is beschreven, kon alleen LSV in de bladluizen worden aangetoond. Het is momenteel onduidelijk waarom LMoV met PCR niet te detecteren is, zeker omdat LSV en LMoV overdracht door de groene perzikluiz in een ander onderzoekproject aangetoond is.

5.3 PCR-detectie een technologie voor risico-inschatting?

Bladluizen vormen op zich geen gevaar wanneer virusvrij plantmateriaal wordt geteeld en in de omgeving (straal van paar honderd meter) tevens virusvrij materiaal wordt geteeld. Bladluizen vormen pas een risico wanneer er een virusbron in de (naaste) omgeving aanwezig is. PCR-detectie van virussen in bladluizen kan mogelijk gebruikt worden bij de risico-inschatting op virusoverdracht door bladluizen. PCR-detectie van virussen in bladluizen is tot nu toe succesvol voor TBV en LSV. Waarschijnlijk is de PCR-toets voor LMoV niet gevoelig genoeg om LMoV in bladluizen te detecteren. In de beschreven PCR-analyse van bladluizen zijn bladluizen gebruikt die gevangen zijn op virusgeïnfecteerd materiaal. Het is momenteel onduidelijk wat de detectiegrens is wanneer een populatie van bladluizen als bulk (één sample) wordt geanalyseerd en slechts enkele bladluizen virusbesmet zijn.

Bij een effectieve en doeltreffende risico-inschatting moet er snel gehandeld worden na het verkrijgen van de risico-informatie. Implementatie van deze technologie is daarom alleen haalbaar wanneer er aan de volgende eisen wordt voldaan:

- De bemonstering van gevleugelde bladluizen moet dagelijks of om de paar dagen plaats vinden. Het gebruik van lijmplaten of vangbakken is niet mogelijk vanwege het negatieve effect van de lijm/water bij de PCR-analyse. Een zuigval lijkt de enige optie.
- De bemonsterde bladluizen moeten representatief zijn voor het perceel.
- Virusdeeltjes die zijn opgezogen door bladluizen zijn binnen 24 uur verdwenen van, of uit de stilet. PCR-detectie van virussen in bladluizen moet daarom liefst zo snel mogelijk na het vangen van bladluizen plaatsvinden. Gevangen bladluizen kunnen eventueel worden ingevroren voorafgaand aan PCR-analyse. Het verkrijgen van de virusstatus van de bladluizen is dan echter niet bruikbaar voor een risico-inschatting met als doel acuut de gewasbeschermingsmaatregelen hierop af te stemmen.
- Een zeer gevoelige PCR-methode die enkele virusbesmette bladluizen in een populatie van virusvrije bladluizen kan detecteren.
- Het verkregen PCR-resultaat (de virusstatus van de bemonsterde bladluizen) moet omgezet worden in het opstarten van bestrijding van non-persistente virusoverdracht door bladluizen.

Op basis van opgedane ervaringen en bovenstaande eisen lijkt toepassing van deze technologie bij het inschatten van risico's op virusoverdracht tijdens de teelt is echter niet haalbaar of te kostbaar. Het afstemmen van gewasbeschermingsmaatregelen op basis van ontwikkeling van het gewas, temperatuur en weersomstandigheden lijkt dan de meest veilige strategie.

6 Algemene discussiepunten

Gedurende het project is door PPO-BBF ruime ervaring opgedaan met epidemiologisch onderzoek aan non-persistente virusverspreiding en dan met name tijdens de teelt van bloembollen als tulp en lelie. Het zwaartepunt kwam uiteindelijk te liggen bij het gewas tulp, maar voor lelie zijn ook verschillende interessante resultaten behaald.

De aanwijzingen dat de virusverspreiding al vroeg april op gang komt en het feit dat de bestudering van bladluizen met behulp van vangplaten en vangbakken niet accuraat is, vraagt om kleine aanpassingen in de huidige adviezen omtrent het opstarten van gewasbeschermingsmaatregelen tegen virusoverdracht door bladluizen. Wanneer de vroege verspreiding van virus wordt tegengegaan, wordt tevens voorkomen dat deze (nieuw-geïnfecteerde) planten een infectiebron vormen voor secundaire infecties later in het teeltseizoen.

Het is niet duidelijk of berichten over vroege bladluizen vluchten in Zeeland ook daadwerkelijk gevangen bladluizen zijn, of dat op een andere manier bladluizen vroeg zijn waargenomen. In tuinen en woonwijken zijn de afgelopen jaren al begin februari gevleugelde bladluizen aangetroffen. Het gevaar voor virusverspreiding kan dus als vroeg in het seizoen ontstaan.

Uit de resultaten van 2007 en 2008 is tevens naar voren gekomen dat de virusverspreiding van lokale aard kan zijn. In het ene proefveld wordt wel virustoename waargenomen, in andere herhalingen vindt geen of minder virustoename plaats. Vanwege deze lokale aard van verspreiding, wordt verwacht dat de bladluizendichtheid ook sterk kan variëren over relatief korte afstanden. Deze suggestie wordt versterkt door de bladluizenvangsten in 2007, locatie Achterweg en Heereweg (§3.1.2). Bladluizenmonitoring met enkele vangbakken of vangplaten kan een vertekend beeld geven. Dit vertekende beeld is meestal een onderrepresentatie van de aanwezige bladluizen.

Tevens is uit dit onderzoek naar voren gekomen dat de zogenaamde “hypermobiele”, bladluizen (bladluizen die niet of nauwelijks gevangen worden) verantwoordelijk zijn voor de vroege virusverspreiding. Ook wanneer de mate van virusverspreiding maximaal is, worden er nog relatief weinig bladluizen gevangen. Momenteel worden tulpen bespoten met pyrethroiden en insecticiden om bladluizen te verjagen. Juist doordat bladluizen vanwege deze middelen meer gaan migreren, kunnen deze bladluizen zorgen voor extra virusverspreiding. Een alternatieve strategie voor bescherming van het gewas tegen virusverspreiding door bladluizen zou zich moeten richten op het juist *niet* weggagen van bladluizen, oftewel het fixeren van de bladluis op de plant waar de eerste proefboringen plaatsvinden. Aansluitend op deze fixatie moet een insecticide er voor zorgen dat de bladluis afsterft. Wanneer minerale olie geen nadelig effect op het gewas heeft, kan bij deze strategie tevens olie toegepast worden om virusverspreiding verder tegen te gaan. De gewasbeschermingsmiddelenindustrie wordt uitgenodigd om een actieve rol te spelen in de ontwikkeling van een dergelijke beheersingsstrategie!

7 Conclusies en aanbevelingen

Monitoring van bladluizen

- De eerste bladluizen worden vanaf eind april / begin mei met behulp van vangbakken, vangplaten en de hoge zuigval gevangen. Op basis van virusoverdrachtexperimenten blijkt dat vliegende bladluizen al vanaf begin april aanwezig moeten zijn. Fietsen blijkt minstens zo effectief te zijn in het waarnemen van vliegende bladluizen. Rijden met een gemonteerde vangplaat door de bollenvelden wordt als alternatief voorgesteld.
- Populaties bladluizen kunnen over relatief korte afstanden sterk in aantal variëren. Monitoring van bladluizenpopulaties kan in de praktijk vaak leiden tot een onderrepresentatie van de bladluizensituatie in een veld.
- Tulp wordt vanaf half mei voornamelijk gekoloniseerd door *Acyrtosiphon pisum* (erwtenbladluis), *Aphis fabae* (zwarte bonenluis), *Aphis gossypii* (katoenluis), *Drepanosiphum platanoidis* (grote esdoornluis), *Macrosiphum euphorbiae* (aardappeltopluis).
- Bepaalde bladluissoorten worden bijna niet gevangen met gele vangbakken terwijl deze bladluizen wel op het gewas worden aangetroffen.
- Op basis van dit onderzoek zijn er geen aanwijzingen voor grote bladluizenvluchten tijdens de teelt van lelie.
- Er zijn weinig indicaties voor koloniserende bladluizen op lelie.

Non-persistente virusverspreiding in tulp

- Virusverspreiding in tulp komt begin april op gang en het risico op virusverspreiding stijgt in de loop van april snel. Begin mei is het risico op virusverspreiding het grootst. Vanaf half mei daalt het risico op virusverspreiding en in juni is er weinig virusverspreiding.
- De verspreiding van virus door bladluizen komt op gang wanneer de maximale temperatuur rond de 12-13 °C is. Op lokale plekken kan de temperatuur dan al een paar °C hoger zijn, waardoor lokaal bladluizen geactiveerd worden.
- Op basis van dit onderzoek wordt geadviseerd om vanaf begin april (vanaf week 15/16) het gewas te gaan beschermen tegen virusoverdracht door bladluizen of vanaf wanneer de dagtemperatuur rond de 12-13°C is.
- Vanaf half juni of wanneer het gewas eenmaal is gaan verwelken, vindt er weinig virusverspreiding meer plaats (ondanks dat er voldoende koloniserende en gevleugelde bladluizen aanwezig zijn).
- Er is geen duidelijke aanwijzing voor de betrokkenheid van specifieke bladluissoorten bij de non-persistentie verspreiding TBV. Gedurende de periode april tot en met half juni vormt elke bladluis dus een potentieel gevaar voor non-persistente virusverspreiding in tulp.

Non-persistentevirusverspreiding in lelie

- Voor lelie blijft het dus onduidelijk wanneer gedurende het teeltseizoen het risico op virusverspreiding het grootst is.
- Er zijn duidelijke aanwijzingen dat bij de selectie van plantensoorten als vang- en lokgewas voor bladluizen en natuurlijke vijanden, de bloeiperiode van deze planten moet overeenkomen met de periode waarin het risico op virusoverdracht het grootst is. Alleen onder deze voorwaarde is er een kans dat deze natuurlijke manier van bestrijding van virusverspreiding een bijdrage levert aan het voorkomen van non-persistente virusoverdracht in lelie.

PCR-detectie van virussen

- Er is een tweede TBV-isolaat geïdentificeerd. Dit nieuwe TBV isolaat is met normale gevoeligheid met behulp van ELISA te detecteren. PCR-detectie werd mogelijk na de ontwikkeling van een nieuw primerpaar.
- De nieuw ontwikkelde PCR-toets voor TBV is gevoeliger dan de reeds bestaande PCR-toetsen.
- TBV en LSV zijn met PCR in diverse soorten bladluis te detecteren. PCR-detectie van LMoV was tot nu toe niet succesvol.

PCR-detectie van virusbesmette vectoren als risico-inschatting?

- Op basis van opgedane ervaringen en benodigde eisen lijkt toepassing van PCR-detectie van virusbesmette vectoren niet haalbaar als strategie voor de inschatting van het actuele risico op virusoverdracht door bladluizen.
- Het afstemmen van gewasbeschermingsmaatregelen op basis van tijd, gewas en temperatuur/weersomstandigheden lijkt dan de meest veilige strategie.

8 Geraadpleegde literatuur

- Asjes, C.J., 1984. Control of field spread of tulip breaking virus in *Lilium* cv. Enchantment by different brands of mineral oil. *Crop Protection* 3, 111-124.
- Asjes, C.J., 2000. Control of aphid-borne Lily symptomless virus and Lily mottle virus in *Lilium* in the Netherlands. *Virus Research* 71, 23-32.
- Hooks, C.R.R. and Fereres, A., 2006. Protecting crops from non-persistently aphid-transmitted viruses: A review on the use of barrier plants as a management tool. *Virus Research* 120, 1-16.
- Langeveld, S.A., Dore, J.M., Memelink, J., Derks, A.F.L.M., van der Vlugt Asjes, C.I.M.C.J. and Bol, J.F., 1991. Identification of potyviruses using the polymerase chain reaction with degenerate primers. *Journal of General Virology* 72, 1531-1541.
- Romanow, L.R. and Van Eijk, J.P., 1985. *Aulacorthum solani* as a vector of tulip breaking virus - a cautionary tale. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 91, 151-152.
- Sato, H., Hagiwara, K., Nakamura, S., Morikawa, T., Honda, Y. and Omura, T., 2002. A comparison of sensitive and specific methods for the detection of Lily mottle virus in lily plants. *Journal of Phytopathology* 150, 20-24.

Bijlage 1: Luizentellingen en determinatie

Bladluizentellingen in **tulp**, locatie Nieuwe-Tonge gedurende de periode 22 april t/m 20 juni 2006.

Analyse uitgevoerd door de NAK, Emmeloord.

Bladluissoort:	relatieve efficiëntie	Onderzoeksdatum:												Cumulatieve virusdruk:										
		25/apr	27/apr	01/mei	03/mei	05/mei	08/mei	15/mei	18/mei	22/mei	24/mei	30/mei	02/jun		07/jun	08/jun	09/jun	11/jun	14/jun	17/jun	20/jun	23/jun	26/jun	29/jun
		Aftapdatum:																						
		22/apr	25/apr	01/mei	04/mei	08/mei	15/mei	18/mei	22/mei	26/mei	30/mei	02/jun	07/jun	08/jun	09/jun	11/jun	14/jun	17/jun	20/jun	23/jun	26/jun	29/jun		
Groene perzikluis	1																							0
Bruine violenluis	0.44																							0
Sjalottelluis	---				1																			---
Hopluis	0.15																							0
Aardappeltopluis	0.1						1																	0.1
Zwarte bonenluis	0.1								2									2		1				0.6
Wegedoornluis	0.42																							0
Vuilboomluis	---																							0
Ervienluis	0.05																1							0.15
Appelgrasluis	0.03																							0
Vogelkersgrasluis	---																							---
Roos-grasluis	0.01												1				2	1	3		1			0.11
Groene kortstaartluis	0.01																							0
Overige kortstaartluizen	---																							---
Boterbloemluis	---																					1		---
Andere luizen	---	0	0	0	1	0	2	0	1	1	0	1	0	3	8	4	5	5	2	3	13	15	---	
		Totale virusdruk tot en met de laatste aftapdatum:																					0.96	
Totale aantal luizen		0	0	0	1	0	3	0	1	1	0	1	0	4	11	4	8	8	5	4	15	21		
Tijdsduur analyse (min)		5	5	5	5	5	8	10	10	8	5	8	8	8	10									97

Cumulatieve virusdruk wordt berekend zoals in de pootaardappelteelt gebruikelijk is!

Bladluizentellingen in **tulp**, locatie Nieuwe-Tonge (vangbakken) gedurende de periode 1 mei t/m 22 juni 2007. Voor 1 mei 2007 zijn er geen bladluizen waargenomen/gevangen

Naam luis	REF value	Nieuwe-Tonge						
		03/mei	11/mei	16/mei	25/mei	01/jun	08/jun	22/jun
totaal	Standard / NAK	15	13	11	119	38	7	47
		03/mei	11/mei	16/mei	25/mei	01/jun	08/jun	22/jun
niet bepaalbaar		9	1	2	10	6	2	22
Acyrtosiphon pisum	0.05 / 0.15		2	1				1
Aphis frangulae	0.42 / 0.40							1
Aphis fabae	0.10 / 0.10							3
Aphis nasturtii	0.42 / 0.40							
Aphis spp.					13	13	2	3
Aulacorthum solani								
Brachycaudus helichrysi	0.01 / 0.25	1		1	4	3	1	2
Hyalopterus pruni	? / 0.00				1			
Macrosiphum euphorbiae	0.10 / 0.20		1					1
Metopolophium dirhodum	0.01 / 0.10							1
Myzus certus	0.44 / 0.50							1
Myzus persicae	1.00 / 1.00				1			6
Phorodon humuli	0.15 / 0.25		1					
Rhopalosiphum insertum	0.03 / 0.20						1	
Amphorophora rubi								
Anoecia spp. appendix						1		1
Anuraphis tartaræ								
Anuraphis subterranea								
Aphis pomi								
Aphis sambuci								
Aploneura lentisci								
Atheroides serrulatus								
Brachycaudus cardui						1		
Brachycaudus jacobii								1
Brachycaudus spp.		2						1
Brevicoryne brassicae			4					1
Capitophorus elaeagni					3			
Capitophorus hippophaes								
Capitophorus homi								1
Capitophorus similis								
Cavariella aegopodii				5	13	5		
Cavariella pastinacea								
Cavariella theobaldi		2	4	2	62	5		2
Cryptomyzus ribis								
Dactynotus tussilaginis								
Drepanosiphum plantanoidis								
Eriosoma ulmi					1		1	
Eucallipterus tiliae								
Euceraphis punctipennis								
Hyperomyzus lactucae					10	4		
Hyperomyzus lampsanæ								
Kaltenbachiella pallida								
Macrosiphoniella absinthii								
Macrosiphoniella usquertensis								
Macrosiphum rosae								
Melanaphis pyraia								
Myzocallis coryli								
Myzus cerasi					1			
Neotrama caudata								
Pentatrichopus fragaefolii								
Periphyllus californiensis								
Periphyllus testudinaceus		1						
Phyllaphis fagi								
Protrama ranunculi								
Sipha glyceriae								
Symydobius oblongus								
Tetraneura ulmi								
Thelaxes dryophila								
Therioaphis luteola								
Tuberculatus borealis								
Tuberculooides annulatus								
Tuberculooides borealis								
Uromelan spp.								
totaal		15	13	11	119	38	7	47

Bladluizentellingen in **tulp** (vangbakken), locatie Lisse (Achterweg en Heereweg) gedurende de periode 1 mei t/m 20 juni 2007. Voor 1 mei 2007 zijn er geen bladluizen waargenomen/gevangen

Naam luiz	REF value Standard / NAK	Lisse, Achterweg								Lisse, Heereweg							
		01/mei	08/mei	15/mei	22/mei	30/mei	05/jun	13/jun	20/jun	01/mei	08/mei	15/mei	22/mei	30/mei	05/jun	13/jun	20/jun
		19	14	15	117	90	57	8	8	157	321	95	127	46	149	20	5
totaal		19	14	15	117	90	57	8	8	157	321	95	127	46	149	20	5
niet bepaalbaar		8	1	1	10	14	15	1	2	70	60	9	3	28	82	11	
Acyrtosiphon pisum	0.05 / 0.15	1								2			1				
Aphis frangulae	0.42 / 0.40									2		1			3		
Aphis fabae	0.10 / 0.10		1	3						5					15		
Aphis nasturtii	0.42 / 0.40				2		1						1		4	2	
Aphis spp.		3			21	20	5		2	27	112	7	52	9	5		
Aulacorthum solani																	
Brachycaudus helichrysi	0.01 / 0.25	1	3		4		2			11	11		2		1		
Hyalopterus pruni	? / 0.00																
Macrosiphum euphorbiae	0.10 / 0.20									2	10		1	1			
Metopolophium dirhodum	0.01 / 0.10																
Myzus certus	0.44 / 0.50												1		1		
Myzus persicae	1.00 / 1.00			2				1	1	1	5		3		1		1
Phorodon humuli	0.15 / 0.25				2		1			3	5	11	3	1	2		
Rhopalosiphum insertum	0.03 / 0.20																
Amphorophora rubi											1				3		
Anoecia spp. appendix				1		1	1										
Anuraphis farfarae						1											
Anuraphis subterranea						1											
Aphis pomi											8						
Aphis sambuci					23									4		1	
Aploneura lentisci																	1
Atheroides serrulatus													1				
Brachycaudus cardui											7						
Brachycaudus jacobii																	
Brachycaudus spp.			3		6					5	3				5	2	
Brevicoryne brassicae		1						2	2	2	1	2	1	5		3	
Capitophorus elaeagni				1			12				1		2				
Capitophorus hippophaes																	
Capitophorus horni			1														
Capitophorus similis				1	5		1										
Cavariella aegopodii				3	18	10				11	1	5	8				
Cavariella pastinacea						2	1	1									
Cavariella theobaldi		1		1	15	36	6	2	1	2	28	15	7			1	
Cryptomyzus ribis					2		1										
Dactynotus tussilaginis						1	1				2		1				
Drepanosiphum plantanoidis				1							2	43	2				
Eriosoma ulmi						1							2	1			
Eucallipterus tiliae																	
Euceraphis punctipennis		1	3	1											5		
Hyperomyzus lactucae																	
Hyperomyzus lampsanae																2	
Kaltenbachiella pallida								1									
Macrosiphoniella absinthii															1	1	
Macrosiphoniella usquertensis															1		
Macrosiphum rosae											1						
Melanaphis pyraia																	
Myzocallis coryli													2	1			
Myzus cerasi																	
Neotrama caudata															1		
Pentatrachopus fragaefolii																	
Periphyllus californiensis		3								3							
Periphyllus testudinaceus											44	1					
Phyllaphis fagi					7		2			21		3	31		8		
Protrama ranunculii						1											
Sipha glyceriae											5						
Symydobius oblongus				2											2		
Tetraneura ulmi							5								4		
Thelaxes dryophila											1						
Therioaphis luteola																	
Tuberculatus borealis																	
Tuberculooides annulatus																	
Tuberculooides borealis					2	2	3			1			1				
Uromelan spp.																	
totaal		19	14	15	117	90	57	8	8	157	321	95	127	46	149	20	5

Samenvatting van bladluizentellingen in **tulp**, locatie Nieuwe-Tonge en Lisse (2007)

	REF value Standard / NAK	Nieuwe Tonge	Lisse	
			Achterweg	Heereweg
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	0.05 / 0.15	4	1	3
<i>Aphis frangulae</i>	0.42 / 0.40	1	0	6
<i>Aphis fabae</i>	0.10 / 0.10	3	4	20
<i>Aphis nasturtii</i>	0.42 / 0.40	0	3	7
<i>Brachycaudus helichrysi</i>	0.01 / 0.25	12	10	25
<i>Hyalopterus pruni</i>	? / 0.00	1	0	0
<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	0.10 / 0.20	2	0	14
<i>Metopolophium dirhodum</i>	0.01 / 0.10	1	0	0
<i>Myzus certus</i>	0.44 / 0.50	1	0	2
<i>Myzus persicae</i>	1.00 / 1.00	7	4	11
<i>Phorodon humuli</i>	0.15 / 0.25	1	3	25
<i>Rhopalosiphum insertum</i>	0.03 / 0.20	1	0	0
Virusoverdragende luizen		34	25	113
Overige luizen		216	303	807
<i>Amphorophora rubi</i>		0	0	1
<i>Anoecia</i> spp. appendix		2	3	3
<i>Anuraphis farfarae</i>		0	1	0
<i>Anuraphis subterranea</i>		0	1	0
<i>Aphis pomi</i>		0	0	8
<i>Aphis sambuci</i>		0	23	5
<i>Aphis</i> spp.		31	51	212
<i>Aploneura lentisci</i>		0	0	1
<i>Atheroides serrulatus</i>		0	0	1
<i>Aulacorthum solani</i>		0	0	0
<i>Brachycaudus cardui</i>		0	0	7
<i>Brachycaudus jacobi</i>		1	0	0
<i>Brachycaudus</i> spp.		3	9	15
<i>Brevicoryne brassicae</i>		5	5	14
<i>Capitophorus elaeagni</i>		3	13	3
<i>Capitophorus hippophaes</i>		0	0	0
<i>Capitophorus horni</i>		1	1	0
<i>Capitophorus similis</i>		0	7	0
<i>Cavariella aegopodii</i>		23	31	25
<i>Cavariella pastinacea</i>		0	4	0
<i>Cavariella theobaldi</i>		77	62	53
<i>Cryptomyzus ribis</i>		0	3	0
<i>Dactynotus tussilaginis</i>		0	2	3
<i>Drepanosiphum plantanoidis</i>		0	1	47
<i>Eriosoma ulmi</i>		2	1	3
<i>Eucallipterus tiliae</i>		0	0	0
<i>Euceraphis punctipennis</i>		0	5	5
<i>Hyperomyzus lactucae</i>		14	0	0
<i>Hyperomyzus lampsanae</i>		0	0	2
<i>Kaltenbachiella pallida</i>		0	1	0
<i>Macrosiphoniella absinthii</i>		0	0	2
<i>Macrosiphoniella usquertensis</i>		0	0	1
<i>Macrosiphum rosae</i>		0	0	1
<i>Melanaphis pyraia</i>		0	0	0
<i>Myzocallis coryli</i>		0	0	3
<i>Myzus cerasi</i>		1	0	0
<i>Neotrama caudata</i>		0	0	1
<i>Pentatrachopus fragaefolii</i>		0	0	3
<i>Periphyllus californiensis</i>		0	3	3
<i>Periphyllus testudinaceus</i>		1	0	45
<i>Phyllaphis fagi</i>		0	9	63
<i>Protrama ranunculi</i>		0	1	0
<i>Sipha glyceriae</i>		0	0	5
<i>Symydobius oblongus</i>		0	2	2
<i>Tetraneura ulmi</i>		0	5	4
<i>Thelaxes dryophila</i>		0	0	1
<i>Therioaphis luteola</i>		0	0	0
<i>Tuberculatus borealis</i>		0	0	0
<i>Tuberculoides annulatus</i>		0	0	0
<i>Tuberculoides borealis</i>		0	7	2
<i>Uromelan</i> spp.		0	0	0
niet bepaalbaar		52	52	263

Samenvatting van bladluizentellingen (vangbakken) en determinatie in **tulp**, locatie Lisse (2008)

Soort	Aantal	25/mrt	31/mrt	07/apr	14/apr	22/apr	28/apr	06/mei	20/mei	27/mei	02/jun	17/jun
totaal	551	1	0	0	0	0	12	14	202	162	107	53
niet bepaalbaar	196	1					0	0	37	68	56	34
<i>Cavariella aegopodii</i>	105								47	49	7	2
<i>Cavariella theobaldi</i>	62							1	29	11	18	3
<i>Brachycaudus helichrysi</i>	46					2			40	2	2	
<i>Phyllaphis fagi</i>	37								17	8	12	
Macrosiphum euphorbiae	15							1	5	5	2	2
Aphis spp.	11								1	6	1	3
<i>Hyperomyzus lactucae</i>	7								5	1	1	
<i>Tuberculatus borealis</i>	7								6		1	
<i>Capitophorus similis</i>	5								5			
<i>Eriosoma ulmi</i>	5									2	2	1
<i>Aulacorthum solani</i>	4								3	1		
<i>Brachycaudus spp.</i>	4								2	2	1	1
<i>Metopolophium dirhodum</i>	4						1	3				
<i>Myzus ascalonicus</i>	4						1	1	1		1	
Aphis fabae	3								1			2
<i>Brevicoryne brassicae</i>	3										2	1
<i>Capitophorus horni</i>	3									3		
<i>Microlophium evansi</i>	3							1	1	1		
<i>Myzus persicae</i>	3						3					
<i>Rhopalosiphoninus latusiphon</i>	3						2	1				
Acyrthosiphon pisum	2											2
<i>Macrosiphoniella persequens</i>	2								2			
<i>Nasonovia ribisnigri</i>	2								1		1	
<i>Symydobius oblongus</i>	2						1	1				
<i>Tuberculoides borealis</i>	2									2		
<i>Acyrthosiphon loti</i>	1							1				
<i>Capitophorus hippophaes</i>	1											1
Drepanosiphum plantanoidis	1								1			
<i>Macrosiphoniella abrotani</i>	1							1				
<i>Macrosiphoniella tapuskae</i>	1											1
<i>Macrosiphoniella trimaculata</i>	1									1		
<i>Macrosiphum funestum</i>	1						1					
<i>Masonaphis goldamaryae</i>	1								1			
<i>Mimeuria ulmiphila</i>	1							1				
<i>Myzus certus</i>	1						1					
<i>Periphyllus californiensis</i>	1								1			

rood = duidelijke kolonisatie van tulp

Bladluizentellingen in **lelie** (vangbakken), locatie Noordbroek en Veendam gedurende de periode 13 augustus t/m 1 oktober 2007.

Aftap plaats Aftapdatum:	Noordbroek							Veendam							
	13/aug	13/aug	20/aug	27/aug	03/sep	10/sep	17/sep	24/sep	01/okt	20/aug	27/aug	03/sep	10/sep	17/sep	24/sep
Naam luis	155	45	147	15	38	82	80	35	80	69	34	3	6	2	4
totiaal	4	3	8	8	8	10	2	3	1	1	11		3		1
niet bepaalbaar	1	1		1		1		1	1						
appendix															
fabae						1									
nasturtii				1		1				3	1				
spp.	31	25	97		18	39	38	11	1	38	14		1		
Aulacorthum															
soleni															
brassicae		1	4	1						7					
Brevicoryne	7		10		3	7	8	7	4	1	5				1
Capitophorus	10	1	5												
Capitophorus	1			1			2								
Cavariella	2												1		
Cavariella	2		1	1	1	1	1								
Cavariella	2		1												
Cryptomyzus	9	1									1	1			
theobaldi															
Cryptomyzus	12					3									
Dactynotus															
Drepanosiphum															
plantanoidis							1	1				1			
Eucallipterus															
tilliae	1														
Euceraphis															
punctipennis															
Hyalopterus	1														
pruni	4	1	2					2		2					1
euphorbiae														2	
Macrosiphum															
Melanaphis															
pyraria															
Metopolophium															
dirhodum															
Myzus		2													
cerasi	66	6	11	1	2	1	2	1		6	2				
Myzus															
persicae															
Phyllaphis															
fagi															
Protrama			1												
ranunculi															
Rhopalosiphum	4	3	6	1	2	16	26	7	72	7		1	1		1
insertum															
luteola															
Therioaphis					1										
borealis								2	1						
Tubercuatus															
annulatus	1		1												
Jromelani					1										
spp.															

Bladluizentellingen in **lelie**, locatie Lisse (vangbak en vangplaat), Noordbroek (vangbak), Veendam (vangbak) gedurende de periode 1 juli t/m 1 oktober 2007.

