Verspreiding van *Arabis*-mozaïekvirus in tulp en andere bolgewassen

Maarten de Kock, Robert Dees, Miriam Lemmers, Wendy Martin

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, onderdeel van Wageningen UR
Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit
April 2011
Projectnummer 32 340309 00/PT 12967

© 2011 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) onderzoeksinstituut Praktijkonderzoek Plant & Omgeving. 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 DLO.
Voor nadere informatie gelieve contact op te nemen met: DLO in het bijzonder onderzoeksinstituut Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit.

DLO is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

De bloemen- en plantensector investeert in dit project via het Productschap Tuinbouw

Projectnummer: 32 340309 00
PT nr. 12967

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, onderdeel van Wageningen UR
Business Unit 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

SAMENVATTING 5

1 AANLEIDING VAN HET ONDERZOEK 7

2 ACHTERGRONDKENNIS OVERDRACHT VAN ARMV DOOR *XIPHINEMA DIVERSICAUDATUM* 9

3 EXPERIMENTELE ANALYSE VAN ARMV-OVERDRACHT DOOR NEMATODEN 11
3.1 Proefvelden en virusgeïnfecteerd plantmateriaal 11
3.2 Beschikbare virustoetsen 13
3.3 Statistische analyse besmettingspercentages 15

4 BEPALING VECTOREN VAN ARMV 17
4.1 Introductie 17
4.2 Materiaal en Methode 17
4.3 Resultaten en discussie 17
4.4 Conclusie 19

5 VATBAARHEID VAN BOLGEWASSEN VOOR ARMV 21
5.1 Inleiding 21
5.2 Materiaal en Methode 21
5.3 Resultaten en discussie 23
5.4 Conclusies 29

6 VATBAARHEID VAN NIET-BOLGEWASSEN VOOR ARMV 31
6.1 Inleiding 31
6.2 Materiaal en Methode 31
6.3 Resultaten en discussie 32
6.4 Conclusies 34

7 BETROUWBAARHEID ELISA-TOETSING VAN LELIESCHUBBEN EN -BLADEREN 35
7.1 Inleiding 35
7.2 Materiaal en Methode 35
7.3 Resultaten en discussie 35
7.4 Conclusie 36

8 DIVERSITEIT ARMV ISOLATEN EN INVLOED OP VIRULENTIE 37
8.1 Inleiding 37
8.2 Materiaal en Methode 37
8.3 Resultaten & discussie 38
8.4 Conclusie 38

9 DETECTIE VAN ARMV IN NEMATODEN 41

10 ALGEMENE DISCUSSIE EN CONCLUSIES 43
10.1 Risico op ArMV infectie 44
10.2 Risico op virusverspreiding binnen partijen 44
10.3 Meerjarenrisico's van infectieuze percelen 45

11 MAATREGELEN VOOR DE PRAKTIJK 47

12 REFERENTIES 49

13 OUTPUT 51

14 BIJLAGEN 53
Bijlage 1 – Waardplantenreeks ArMV 53
Bijlage 2 – Vakbladartikel *Arabis*-mozaïekvirus 59

Samenvatting

Arabis-mozaïekvirus (ArMV) is een virus met een brede waardplantenbereik. Niet alleen bloembolgewassen maar ook vaste planten, diverse onkruiden en voedselgewassen zijn vatbaar voor dit virus. Vanwege de grote schadelijkheid van ArMV bij voedselgewassen als aardbei, framboos, druif en hop stellen diverse ontvangende landen strenge eisen aan de export van bloembollen vanuit Nederland. De strenger wordende exporteisen van China zijn in 2007 aanleiding geweest voor het opstarten van dit onderzoek: risico's voor infectie en de verspreiding van ArMV in bloembolgewassen.

De vrijlevende nematode *Xiphinema diversicaudatum* speelt een cruciale rol bij de infectie met ArMV en de verspreiding van dit virus binnen en tussen partijen bolgewassen. Bolgewassen als bijvoorbeeld tulp, gladiool en Zantedeschia kunnen via *X. diversicaudatum* relatief eenvoudig geïnfecteerd raken met ArMV. Anderzijds kan een virusvrije *X. diversicaudatum* besmet raken met ArMV wanneer deze nematode zich voedt op een ArMV-geïnfecteerd bolgewas. Onkruiden als vogelmuur (*Stellaria media*) en herderstasje (*Capsella bursa-pastoris*) zijn waardplant voor ArMV. Deze onkruiden kunnen enerzijds ArMV- geïnfecteerd raken via *X. diversicaudatum*. Anderzijds kunnen nematoden besmet raken met ArMV wanneer ze voeden op virusgeïnfecteerd onkruid. Deze onkruiden kunnen als meerjarig virusreservoir dienen omdat ArMV via zaad overgaat naar een nieuwe generatie onkruid. Tevens leidt virusoverdracht via zaad tot een verspreiding over grotere afstand van virusgeïnfecteerd plantmateriaal dan virusverspreiding uitsluitend via nematoden die slechts 0.5 meter per jaar afleggen.

Het onderzoek heeft duidelijk gemaakt dat niet alle vatbare gewassen eenvoudig geïnfecteerd raken met ArMV wanneer deze op virulente grond worden geteeld. Is een gewas niet aantrekkelijk voor *X. diversicaudatum* dan zal de nematode zich niet of nauwelijks voeden op de wortels van dit gewas waardoor er geen of weinig infectie met ArMV optreden. Geen, of relatief weinig infectie met ArMV is waargenomen voor vatbare gewassen als Dahlia, Hollandse Iris, narcis en lelie.

Met de verkregen resultaten vanuit de teelt van vatbare bolgewassen, vaste planten, akkerbouwgewassen en onkruid is een analyse gemaakt wat de meerjarenrisico's zijn voor infectieuze percelen. Deze analyse heeft uiteindelijk geleid tot een aantal van praktische maatregelen waarmee enerzijds infectie van een virusvrij gewas voorkomen moet kunnen worden, en anderzijds reeds bestaande infecties in een partij niet verder zullen toenemen. Bij de teelt van een vatbaar bolgewas is infectie met ArMV te voorkomen wanneer men aandacht besteed aan de keuze van percelen, het gebruikte uitgangsmateriaal en onkruid. Er zijn diverse mogelijkheden om de risico's op ArMV-infectie in te schatten en hierop te anticiperen.

1 Aanleiding van het onderzoek

Arabis-mozaïekvirus (ArMV) is een virus met een brede waardplantenbereik. Niet alleen bloembolgewassen maar ook vaste planten, diverse onkruiden en voedselgewassen zijn vatbaar voor dit virus. Een infectie met ArMV in bloembolgewassen kan typische symptomen geven zoals mozaïek patronen, gele of grijze necrotische ringspots en bij rode tulpen het donkerder kleuren van de bloem. Echter, een infectie met ArMV is in veel van de bloembolgewassen symptoomloos aanwezig of alleen vroeg in het seizoen zichtbaar. ArMV behoort tot de nepovirussen en virusverspreiding vindt plaats via de vrijlevende nematode *Xiphinema diversicaudatum*.

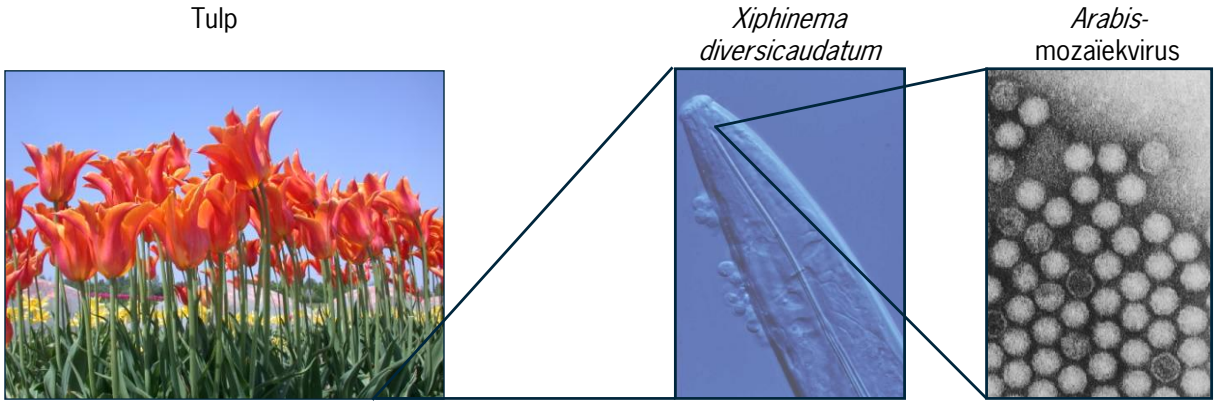
Verschillende voedselgewassen zoals aardbei, framboos, druif en hop zijn vatbaar voor ArMV en een infectie leidt tot grote schade en voor plantuitval. Vanwege deze grote schadelijkheid van ArMV, stellen diverse ontvangende landen waaronder Japan, China en Amerika strenge eisen aan de export van bloembollen vanuit Nederland. Sinds februari 2007 stelt China een nultolerantie voor ArMV bij tulp, lelie, narcis en gladiool. Vanaf mei 2010 is er door China en Nederland een protocol opgesteld waarbij de norm 0% blijft, maar waarin tevens de eis is vastgelegd dat uitgangsmateriaal van lelie (schubbollen en plantgoed) bij aanvang getoetst virusvrij is wil het leverbare product in aanmerking komen voor export naar China. (website Bloembollenkeuringsdienst (BKD) http://www.bloembollenkeuringsdienst.nl). China importeert geen bloembollen meer vanuit andere EU lidstaten, ook niet wanneer deze via Nederland worden geëxporteerd.

De exporteisen van China met betrekking tot ArMV is in 2007 de aanleiding geweest voor het opstarten van onderzoek naar de verspreiding van ArMV in tulp en andere bolgewassen.
Dit onderzoek had primair tot doel:

- Vaststellen hoe het virus zich binnen en tussen partijen verspreidt (H3 en H5)
- Het ziekteverloop in de grond en van zieke partijen tulp en lelie te volgen (H3 en H5)
- Gegevens te verzamelen over het voorkomen van ArMV in diverse bolgewassen (H3 en H10)
- Lokalisatie van het virus in de leliebol voor het betrouwbaar kunnen toetsen van lelieschubben op de aan- of afwezigheid van het virus (H7)
- Ontwikkelen van een toets om ArMV aan te tonen in de nematoden (Dit onderdeel is uiteindelijk in een apart LNV-BO project ontwikkeld) (H9)

In aanvulling op deze onderwerpen is ook de vatbaarheid van niet-bolgewassen onderzocht (H6). Dit zijn met name vatbare gewassen die tijdens rotatieteelt geteeld worden en enkele groenbemesters. Tevens is onderzoek gedaan naar de genetische variatie van ArMV-isolaten en een eventuele invloed van genetische variatie op virulentie (H8).

Op basis van de verkregen kennis en ervaring uit dit onderzoek zijn er teeltadviezen geformuleerd waarmee ArMV-vrije teelt voor diverse bolgewassen te bereiken is (H11).

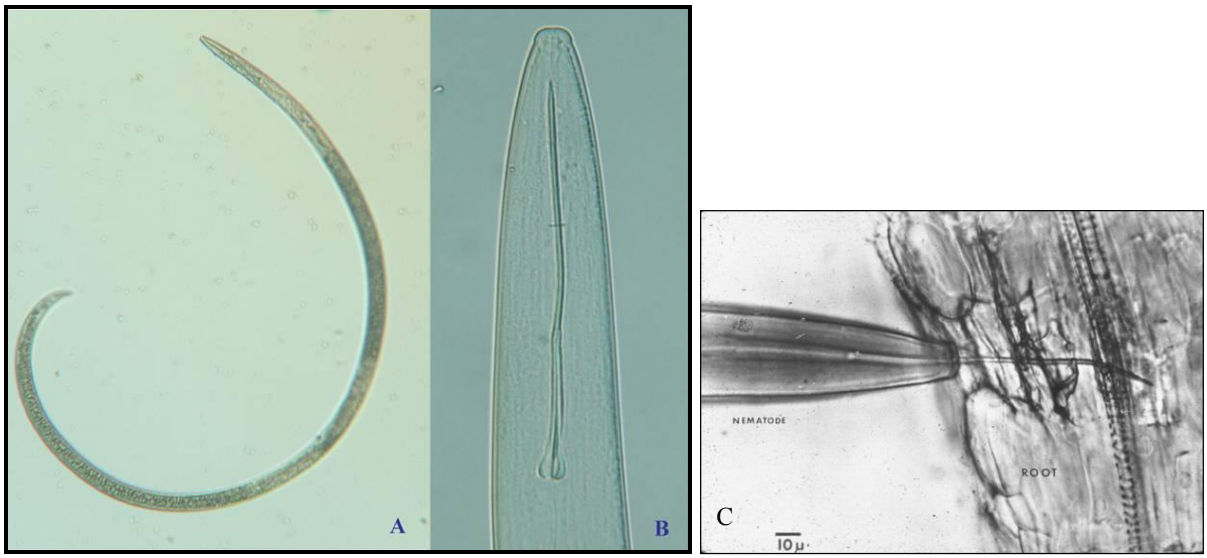


Arabis-mozaïekvirus wordt van plant tot plant verspreid via het vrijlevende aaltje *Xiphinema diversicaudatum.*

2 Achtergrondkennis overdracht van ArMV door *Xiphinema diversicaudatum*

Arabis-mozaïekvirus (ArMV) is een virus met zeer een brede waardplantenreeks. Meer dan 120 plantensoorten zijn vatbaar voor dit virus. Niet alleen bloembolgewassen maar ook vaste planten, diverse onkruiden en voedselgewassen zijn vatbaar voor dit virus. In Bijlage 1 – Waardplantenreeks ArMV is een overzicht weergegeven van bekende waardplanten van ArMV. Deze lijst bevat waardplanten waarbij ooit een infectie met ArMV is vastgesteld. Het is te verwachten dat er meer waardplanten voor ArMV zijn dan het aantal dat is opgenomen in deze lijst.

Verspreiding van ArMV van plant naar plant vindt plaats door het vrijlevende aaltje Xiphinema diversicaudatum (Figuur 1). Voor zover bekend zijn er geen andere vectoren die het virus overdragen. Verspreiding van ArMV via andere soorten nematoden, bladluizen, andere organismen of via verwonding is voor ArMV niet beschreven. Naast een vector voor ArMV is *X. diversicaudatum* ook vector voor het Strawberry latent ringspot virus (SLRSV). SLRSV heeft in Europa een quarantainestatus en dit virus is al jaren niet meer waargenomen in Nederland (bron Naktuinbouw). *X. diversicaudatum* voedt zich buiten de plant over de totale lengte van (jonge) wortels door met hun stylet (een naaldvormig voedingsorgaan) de wortel aan te prikken en de inhoud van de cellen leeg te zuigen. Juist de dieper gelegen cellagen van de cortex en de vaatbundels worden met deze stylet bereikt. Bij het voeden van het aaltje op de worteltop ontstaan bij kruidachtige gewassen zoals aardbei en grassen vaak zwellingen, doordat de wortelcellen zich op deze plekken extra gaan delen (Griffiths, 1984).



Figuur 1. *Xiphinema diversicaudatum is de vector van ArMV. Deze nematode is max 4-6.2 mm lang (A) en voedt zich door met een speer (een naaldvormig voedingsorgaan) de wortel aan te prikken en de inhoud van de cellen leeg te zuigen (B en C).*

De ontwikkeling van het juveniel stadium naar volwassen stadium duurt ongeveer 2 jaar. Vrouwtjes worden ongeveer vijf jaar oud. Een vrouwtje zorgt tijdens haar leven voor ongeveer 180-200 nakomelingen (Brown and Coiro, 1983). Een *X. diversicaudatum* is niet erg mobiel en verplaatst zich jaarlijks maximaal 0.5 meter in horizontale richting. Daarentegen kan het aaltje grotere afstand afleggen als gevolg van grondbewerking en zelfs nieuwe percelen besmetten via grondresten op landbouwvoertuigen.

Alle levensstadia kunnen ArMV overbrengen. Wanneer *X. diversicaudatum* eenmaal ArMV bij zich heeft, kan deze het virus gedurende meerdere maanden bij zich houden en gedurende deze periode andere planten met het virus infecteren.

Het virus gaat echter verloren tijdens de vervelling naar het volgende stadium. Desondanks kan een ArMV besmetting voor vele jaren in de grond aanwezig blijven.

X. diversicaudatum heeft een voorkeur voor lemige gronden en komt zowel voor op klei als zand. Er is weinig recente informatie beschikbaar over de aanwezigheid van *X. diversicaudatum* op percelen waar bollenteelt plaats vindt. Daarentegen is er in 1982 een geografische kaart gepubliceerd waarin de locatie van plantparasitaire nematoden (waaronder *X. diversicaudatum*) is beschreven (Figuur 2) (Seinhorst en Van Hoof, 1982). Op basis van ervaring uit dit onderzoek en informatie van een laboratorium voor bodemonderzoek is gebleken dat *X. diversicaudatum* in de periode 2005-2010 gevonden is in de omgeving van America, Benthuizen, Beugen, Heerhugowaard, Lottum, Maasland, Naaldwijk, Nieuwe Niedorp, Oosterbeek, Reuver, Roosendaal (N-Br), Rutten, Venlo en Wageningen. Het is onduidelijk welke teeltregio's in Nederland vrij zijn van *X. diversicaudatum.* Een gedetailleerde nematodenanalyse van 50 percelen voor vaste plantenteelt in de regio's Bollenstreek, Drenthe, Limburg en Noord-Brabant heeft uitgewezen dat op geen van de onderzochte percelen *X. diversicaudatum* aanwezig is (PT project 13732).

Bestrijding van het aaltje is lastig omdat *X. diversicaudatum* tot wel drie jaar kan overleven op zwarte braak. Dit maakt zwarte braak ineffectief als bestrijdingsmethode.



Figuur 2. Locatie van *Xiphinema diversicaudatum* nematoden in Nederland (Seinhorst en Van Hoof, 1982).

Er zijn verschillende isolaten van ArMV bekend die genetisch verschillend van elkaar zijn. Er zijn aanwijzingen dat specifieke ArMV-isolaten een beperkte waardplantenreeks hebben (Anonymous; Jones, 1989). Uit onderzoek van Brown (1986) blijkt dat niet alle ArMV-isolaten even effectief door *X. diversicaudatum* overgedragen worden. Daarnaast lijken niet alle populaties *X. diversicaudatum* het virus even effectief over te brengen. Helaas is het niet mogelijk een koppeling te maken tussen de resultaten uit dit onderzoek, de ArMV-isolaten en *X. diversicaudatum* populaties die in Nederland voorkomen.

ArMV kan bij diverse onkruiden voorkomen (zie Bijlage 1). Naast verspreiding door nematoden kan het virus ook via zaad verspreiden. Voorbeelden hiervan zijn slarimpelroos en herderstasje. Ook onkruidzaad lijkt een belangrijke bron te zijn om het virus over grotere afstand te verspreiden danwel op een perceel instand te houden.

3 Experimentele analyse van ArMV-overdracht door nematoden

3.1 Proefvelden en virusgeïnfecteerd plantmateriaal

Onderzoek naar de overdracht van ArMV door *X. diversicaudatum* kan uitsluitend plaatsvinden wanneer enerzijds grond en/of proefvelden met *X. diversicaudatum* beschikbaar zijn. Anderzijds is ArMV-geïnfecteerd plantmateriaal nodig. Dilemma bij het verkrijgen van de juiste percelen was de onbekendheid van telers en intermediairs met nematodensamenstelling van bollenpercelen. De aanwezigheid van ArMV in partijen bollen is vertrouwelijke informatie van tussen partijeigenaren en Bloembollenkeuringsdienst. Een onderzoeksinstelling als PPO heeft geen toegang tot deze informatie. Door de betrokkenheid van enkele tussenpersonen is het uiteindelijk gelukt om drie percelen met *X. diversicaudatum* te verkrijgen.

Omgeving Nieuwe Niedorp (NN)
Op dit perceel met kleigrond (±15-20% afslibbaar) werd in 2006/2007 tulpen geteeld waarin een hoog percentage ArMV aanwezig was. Aansluitend op het rooien van de tulpenbollen is dit perceel ingezaaid met gras voor melkvee (2008). Grondmonsteranalyse liet zien dat op dit perceel *X. diversicaudatum* en *T. primitivus* voorkwam. In de winter van 2008/2009 is grond afgegraven voor onderzoek naar de verspreiding van ArMV door *X. diversicaudatum* (Figuur 3). Het was toen 1.5 jaar geleden dat er ArMV-geïnfecteerde tulpen geteeld waren.

Omgeving Heerhugowaard (HHW)
Op dit perceel met kleigrond (15% afslibbaar) werd in 2007/2008 tulpen geteeld. Het is onbekend of deze partij tijdens de teelt geïnfecteerd is met ArMV of dat er bij aanplant al een ArMV-infectie in de partij aanwezig was. Aansluitend op het rooien van de tulpenbollen heeft er van juli t/m oktober gras gegroeid. Het perceel is eind 2008 beschikbaar gekomen voor dit onderzoek. Het was toen een half jaar geleden dat er ArMV-geïnfecteerde tulpen geteeld waren. Het perceel heeft een afmeting van 16x38 meter en heeft een hoge dichtheid *X. diversicaudatum* en een lage dichtheid *L. elongatus* aaltjes (Figuur 3).

Omgeving Wageningen (Wag)
Dit perceel met zandgrond is in de periode tot 2009 gebruikt voor biologische landbouw van diverse akkerbouwgewassen welke zover als bekend vrij waren van ArMV. De aanwezigheid van *X. diversicaudatum* was bekend. Een gedeelte van het perceel bevatte de aaltjes *X. diversicaudatum* en *L. elongatus*, een ander deel van het perceel bevatte alleen *L. elongatus*. In het najaar van 2009 is grond afgegraven voor onderzoek naar de verspreiding van ArMV door *X. diversicaudatum* (Figuur 3).



Figuur 3. Gebruikt proefveld en grond voor onderzoek naar verspreiding van ArMV door *X. diversicaudatum*. (a) Proefveld in de omgeving van Heerhugowaard waar gedurende 2008/2010 diverse overdrachtsproeven zijn uitgevoerd. Grond met *X. diversicaudatum* nematoden afkomstig uit de omgeving van Nieuwe Niedorp en Wageningen is op de locatie afgegraven en is gedurende 2008/2010 gebruikt voor opplant van gewassen in de kas op pot (b) of is op de Proeftuin in Lisse in vijvermandjes ingegraven voor opplant van diverse gewassen.

Tijdens het onderzoek is naast gebruik van virulente grond uit de omgeving van Nieuwe Niedorp en Heerhugowaard ook gebruik gemaakt van diverse ArMV-geïnfecteerde partijen tulp en lelie. Deze partijen zijn via bemiddeling van de BKD door bollentelers beschikbaar gesteld voor het onderzoek:

Tulp	cv. Falcon	28% ArMV
Tulp	cv. Ali baba	17% ArMV
Tulp	cv. Ali baba	45% ArMV
Tulp	cv. Leen van der Mark	11 % ArMV
Lelie	cv. Sorbonne (zift 4-6)	22% ArMV
Lelie	cv. Sorbonne (zift 5-7)	4% ArMV

Tijdens het onderzoek is frequent gebruik gemaakt van *Petunia × hybrida* planten als 'vangplant' voor ArMV. Wortels van deze Petunia planten zijn aantrekkelijk voor *X. diversicaudatum*. Daarnaast is Petunia vatbaar voor ArMV. Een infectie met ArMV wordt onder kasomstandigheden binnen enkele weken visueel zichtbaar in de vorm van necrotische plekken op het blad of necrotische blaadjes (Figuur 4). Door aanplant van Petunia planten is zowel onder kasomstandigheden als op het veld de virulentie van de grond te bepalen: Petunia planten raken relatief eenvoudig geïnfecteerd met ArMV wanneer de aanwezige *X. diversicaudatum* nematoden besmet zijn met ArMV.



Figuur 4. Typische visuele symptomen als gevolg van een infectie met ArMV in *Petunia x hybrida*. Een infectie met ArMV resulteert in systemische necrotische vlekjes (a en b) of volledig necrotische blaadjes.

3.2 Beschikbare virustoetsen

De aanwezigheid van ArMV in plantmateriaal is met diverse methoden aan te tonen:

ELISA Een serologische laboratoriumtoets waarmee het manteleiwit van ArMV relatief eenvoudig is aan te tonen voor een relatief lage prijs. ELISA-toetsen zijn met name geschikt voor het grootschalig toetsen van planten of bollen. Omdat ArMV niet gelijkmatig verdeeld is in de plant, bestaat er een reële kans dat de concentratie virus bij sommige gewassen in sommige bovengrondse plantdelen te laag is om met ELISA aan te tonen. Dit is met name van toepassing voor lelie (zie ook H7).

PCR Een moleculaire toets waarmee het RNA van ArMV (de genetische informatie van het virus) wordt aangetoond. Een PCR-toets is veel gevoeliger dan een ELISA-toets en is relatief duur. PCR-toetsen worden met name ingezet voor onderzoeksdoeleinden en voor het screenen van mengmonsters van bol- of bladmateriaal. Gedurende dit project hebben zowel de BKD als Naktuinbouw PCR-toetsen voor ArMV verder ontwikkeld zodat de toetsen minder gevoelig zijn voor genetische verschillen tussen ArMV-isolaten. Ook zijn er door de Keuringsdiensten protocollen ontwikkeld voor de analyse van mengmonsters. Gedurende het project heeft er regelmatig kennisoverdracht tussen Keuringsdiensten een PPO-BBF plaatsgevonden zodat ook het onderzoek gebruik kon maken van de meest recente toetsen.

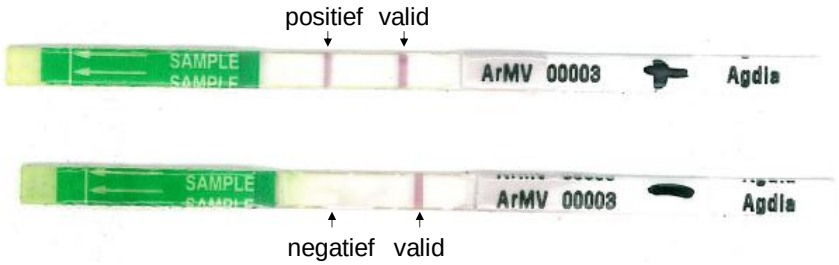
Immunostrips Een eenvoudig uit te voeren serologische toets die op een willekeurige plek uitgevoerd kan worden (zelftest). Het principe van de toets is vergelijkbaar met de werkwijze van een ELISA toets maar voor deze toets zijn geen laboratoriumfaciliteiten nodig. Ook is er geen specifieke (laboratorium-)scholing nodig om de toets uit te kunnen voeren. Agdia Biofords levert immunostrips voor ArMV tegen een prijs van ± 5€ per stuk (Flashkit® ArMV). Het toetsresultaat en de betrouwbaarheid van de analyse is eenvoudig af te lezen (Figuur 5).
Tijdens dit project is er ervaring opgebouwd met het gebruik van deze zelftests.

- Belangrijk is dat de toets wordt uitgevoerd zoals beschreven op de bijgeleverde handleiding. Bij verkeerd gebruik is er een risico op vals-positieve resultaten.
- Deze tests zijn met name goed te gebruiken bij het toetsen van onkruiden en vangplanten op aanwezigheid van ArMV. Ook was werd er voldoende betrouwbare resultaten verkregen bij analyse van tulp en Zantedeschia in vergelijking met ELISA-

analyse.

- Deze tests zijn minder geschikt en in enkele gevallen ongeschikt voor het toetsen van lelie en narcis. Dit wordt mede veroorzaakt door het ongelijk aanwezig zijn van ArMV, maar ook door eigenschappen van het gewas zelf. Bij narcis bleek de teeltgrond (klei- versus zandgrond) zelfs van invloed te zijn op de toetsuitslag. Dit is geen wenselijke situatie.

LET OP: PCR- en ELISA-toetsen die in een laboratorium worden gebruikt, worden in min of meerdere mate uitgebreid gevalideerd met tal van gewassen en weefseltypes voordat de toets voor onderzoek en/of keuringsactiviteiten wordt ingezet. Deze validatie-activiteiten zijn niet, of nauwelijks uitgevoerd voor de immunostrips in combinatie met bolgewassen en onkruiden. Het verdient daarom de voorkeur om eerst zelf ervaring op te bouwen met deze analyse-methode en de verkregen toetsuitslagen te vergelijken met een laboratoriumtoets voordat men zelf deze immunostrips (grootschalig) gaat inzetten voor eigen diagnostiek.



Figuur 5. Resultaat van een Agdia Biofords immunostrip voor ArMV (Flashkit® ArMV). Bladmateriaal ter grootte van een Euro-munt wordt fijngemalen in een meegeleverd bufferzakje (niet getoond). De immunostrip wordt met het juiste gedeelte van de stip in de vloeistof gehangen zodat de immunostrip de vloeistof kan opzuigen (niet getoond). Na 5-10 minuten wordt de toetsuitslag zichtbaar. Er moet een streepje zichtbaar worden bij 'valid'. Dit geeft aan dat het toetsresultaat betrouwbaar is. De aanwezigheid van een tweede streepje geeft een positief toetsresultaat aan (aanwezigheid van ArMV). Afwezigheid van dit tweede streepje geeft een negatief toetsresultaat aan (afwezigheid van ArMV). Wordt het streepje bij 'valid' niet zichtbaar, dan is het toetsresultaat onbetrouwbaar (onafhankelijk of er een positief of negatief toetsresultaat is).

Voor de betrouwbaarheid van een virustoets is het belangrijk dat:

1. Het juiste weefseltype wordt bemonsterd
2. er voldoende tijd aanwezig is tussen het optreden van een infectie en het moment van toetsen

Ad.1 Voor virussen die een grondgebonden vector hebben (waaronder dus ook ArMV) wordt de voorkeur gegeven aan bemonstering van ondergrondse delen. Dit is doorgaans een monster van een bol, of het groeipunt van een knol. Bij vaste planten wordt vaak een wortelstukje gebruikt voor een virustoets. Bij sommige gewassen (waaronder lelie) kan er sprake zijn van lokale variaties in virusconcentratie waardoor optimalisatie van bemonstering noodzakelijk is (zie ook H7).

Ad.2 Wanneer er te kort na het optreden van een infectie een toets wordt uitgevoerd, bestaat de kans dat de concentratie virus nog onder de detectiegrens van een toets is. Er wordt daarom geadviseerd om bollen minimaal 3 weken na het rooien te laten rusten voordat er een virustoets wordt uitgevoerd.

3.3 Statistische analyse besmettingspercentages

De mate van infectie met ArMV tijdens de teelt van een gewas op een perceel is bepaald m.b.v. ELISA-toetsen. De mate van infectie wordt weergegeven als percentage (%) besmetting. Of er tijdens een teeltseizoen een significatie toename aan ArMV-infectie heeft plaatsgevonden, wordt berekend met de 'z-toets': een statistische toetsmethode om te bepalen of twee onafhankelijke steekproeven significant van elkaar verschillen. Als betrouwbaarheidsinterval werd 95% gehanteerd (p=0.05). De berekening van de z-toets werd uitgevoerd met behulp van de internetapplicatie van Dimension Research (http://www.dimensionresearch.-com/index.html).

4 Bepaling vectoren van ArMV

4.1 Introductie

Xiphinema diversicaudatum is de enige bekende vector van ArMV. Onderzocht is of naast *X. diversicaudatum* mogelijk ook andere vectornematoden aanwezig waren in de grond van de proeflokaties in HHW en NN en eventueel ArMV konden overbrengen. *Longidorus elongatus* werd aangetoond in de grond uit HHW en is een bekende vector voor raspberry ringspot virus (RRSV) en tomato black ring virus (TBRV). *Trichodorus primitivus* kwam voor in de grond uit de omgeving van Nieuwe Niedorp en is een bekende vector voor het Pea Early Browning Virus (PEBV) en Tobacco Rattle Virus (TRV).

4.2 Materiaal en Methode

Aaltjes werden geëxtraheerd uit grond met daarop Petunia planten met ArMV symptomen. 100 g grond werd opgespoeld met de Oostenbrink trechter. Aaltjes werden op één 75 µm en twee 45 µm zeven opgevangen en vervolgens gezeefd over twee 180 µm zeven voor het scheiden van de grove fractie met de *Xiphinema*. en *Longidorus* spp. aaltjes van de fijne fractie met *Trichodorus* spp. aaltjes. Extractiezeefjes werden twee dagen geïncubeerd. De *single nematode* overdrachtsexperimenten werden gedaan door aaltjes te vissen en individueel bij Petunia zaailingen van de cultivar Parade Blue op zand te brengen. Als alternatief werden vijftien aaltjes toegevoegd aan een kweekpotje met één Petunia plantje. Kweekpotjes waren gevuld met 1 deel klei, 1 deel potgrond met perliet en 2 delen zand. Plantjes werden in de kas gegroeid. Voor de *single nematode* experimenten werden aaltjes teruggevangen vijf weken nadat de aaltjes aan de zaailingen waren toegevoegd. De Petunia planten werden 5 weken na het toevoegen van nematoden overgeplant naar potjes met potgrond. Infectie met ArMV via de oorspronkelijk toegevoegde nematoden werd na 6 maanden door middel van ELISA-toetsen op blad en wortel uitgevoerd.

Ter controle zijn Petunia planten op gestoomde potgrond geteeld en op ongespoelde grond uit HHW en NN. Infectie met ArMV werd bepaald door middel van ELISA-toetsen op blad.

4.3 Resultaten en discussie

Planten met de aaltjes werden voor vijf weken gegroeid in de kas, waarna de planten naar grotere potten werden overgeplant. Figuur 6 toont de proefopzet voor de overdrachtsexperimenten in de kas.



a. b.

Figuur 6. Overdrachtsexperimenten in de kas. (a) Petunia zaailingen waaraan per buisje een enkele nematode is toegevoegd (de *single nematodes*). (b) Dezelfde planten enkele weken later nadat ze zijn overgeplant op potgrond.

Petuniaplanten die op gestoomde potgrond zijn geteeld, bleven vrij van ArMV. Dit was te verwachten omdat er geen nematoden aanwezig zijn in de potgrond. Daarentegen raakten alle Petuniaplanten (n=9) geïnfecteerd wanneer deze geteeld werden op grond uit HHW en NN.

De resultaten van de overdrachtexperimenten met gespoelde nematoden staan weergegeven in Tabel 1. Overdracht van ArMV werd alleen waargenomen bij Petunia planten waar *X. diversicaudatum* aan de grond was toegevoegd. Dit gold zowel voor *X. diversicaudatum* uit grond van proeflocatie NN als HHW. Slechts één enkel aaltje was reeds in staat een plant ziek te maken. Voor *L. elongatus* en *T. primitivus* werden met ELISA geen virus zieke planten aangetoond. De overdracht verliep redelijk efficiënt met een percentage van 50 % voor de *X. diversicaudatum* uit Nieuwe Niedorp.

Bij de *single nematode* experimenten zijn de nematoden na 5 weken voeden op Petunia planten opnieuw teruggevangen. Dit vond plaats door het voorzichtig afspoelen van de wortels waarbij de nematode wordt opgevangen op een filter. Bij niet alle herhalingen kon het *Xiphinema* individu worden teruggevangen. Infectie van Petunia plantjes met ArMV heeft zowel plaats gevonden bij herhalingen waarbij wel en geen nematode teruggevangen werd. Het wel of niet terugvangen van een *Xiphinema* individu is niet gekoppeld aan het wel of niet geïnfecteerd raken van Petunia met ArMV.

Bij de grond uit NN is het anderhalf jaar geleden dat er ArMV-geïnfecteerde tulpenteelt heeft plaatsgevonden. Bij de grond uit HHW was dit ruim een half jaar geleden. Het tussentijds geteelde grasland staat niet bekend als waardplant voor ArMV (is bevestigd in dit project, resultaten niet getoond). Het is opvallend dat zelfs na 6-18 maanden afwezigheid van ArMV-geïnfecteerde (tulpen)teelt er nog steeds virulente (besmettelijke) *X. diversicaudatum* nematoden in de grond aanwezig zijn die relatief efficiënt Petunia planten kunnen besmetten met ArMV.

Tabel 1. Resultaten van virusoverdrachtexperimenten met drie soorten nematodesoorten voor ArMV. Van de nematodensoorten is bekend dat zij virus kunnen overbrengen (*X. diversicaudatum*: ArMV en SLRSV, *L. elongatus*: TBRV en RRSV, en *T. primitivus*: PEBV en TRV. De nematoden waren afkomstig uit grond vanuit de regio Heerhugowaard (HHW) en de regio Nieuwe Niedorp (NN). Per petunia-plantje zijn verschillende aantallen nematoden toegevoegd en per combinatie zijn verschillend aantal herhalingen uitgevoerd. Bij *single nematode* experimenten waarbij 1 nematode per plantje is toegevoegd, is geprobeerd de nematoden na 5 weken terug te vangen. De aanwezigheid van ArMV is 6 maanden na toevoegen van de nematoden m.b.v. ELISA bepaald.

Nematode	**Herkomst**	**Aantal aaltjes per Petunia plantje**	**Aantal herhalingen**	**Terugvangst na 5 weken**	**ArMV-infectie bij Petunia**
X. diversicaudatum	NN	1	8	6 van de 8	**4** van de 8
	NN	7	1	n.v.t	**1** van de 1
	NN	15	3	n.v.t.	0 van de 3
	HHW	1	7	2 van de 7	**1** van de 9
L. elongatus	NN	1	1	0 van de 1	0 van de 1
	HHW	1	11	6 van de 11	0 van de 11
T. primitivus	NN	1	15	1 van de 15	0 van de 15
	NN	15	3	n.v.t.	0 van de 15

4.4 Conclusie

De vectorstatus van *X. diversicaudatum* voor ArMV is in dit project bevestigd. Met de uitgevoerde overdracht proeven zijn er geen aanwijzingen gevonden dat andere nematoden zoals *T. primitivus* en *L. elongatus* een vector kunnen zijn voor ArMV.

Op het moment van schrijven van dit project (april 2011) zijn er vanuit de wetenschappelijk literatuur ook geen aanwijzingen voor nieuwe vectoren voor ArMV gevonden. Ook zijn er geen duidelijke aanwijzingen dat er ArMV-verspreiding plaats kan vinden als gevolg van mechanische schade die tijdens teelt en/of verwerking optreedt.

5 Vatbaarheid van bolgewassen voor ArMV

5.1 Inleiding

Bij de teelt van vatbare bloembolgewassen op een perceel waar de vector van ArMV, *X. diversicaudatum,* aanwezig is, is het belangrijk het risico op een besmetting met ArMV in te kunnen schatten.

Uit cijfers van de Bloembollenkeuringsdienst over de periode 2006-2009 voor de gewassen, tulp, narcis, lelie en gladiool blijkt, dat ongeveer 15% van de partijen gladiool en tulp en ongeveer 20% van de partijen lelie en narcis geïnfecteerd is met ArMV (Tabel 2). Wanneer een partij besmet is met ArMV, dan is het gemiddelde percentage geïnfecteerde bollen ongeveer 2.5% voor lelie, narcis en tulp. Bij een besmette partij gladiool ligt het percentage op ruim 10%. In het algemeen zijn er meer partijen met een relatief laag percentage ArMV dan partijen met een uitzonderlijk hoog percentage ArMV.

Naast gladiool, lelie, narcis en tulp zijn er meer bolgewassen vatbaar voor ArMV. De belangrijkste zijn Dahlia, Hollandse Iris en Zantedeschia. Deze gewassen worden niet gekeurd op de aanwezigheid van ArMV. Als gevolg hiervan is er voor deze gewassen geen informatie beschikbaar over de aanwezigheid van ArMV en de mate van aantasting.

Tabel 2. Aanwezigheid van ArMV in gladiool, lelie, narcis en tulp op basis van keuringsgegevens van de Bloembollenkeuringsdienst uit de periode 2006 t/m 2009.

Informatie	Gewas			
	Gladiool	**Lelie**	**Narcis**	**Tulp**
Aantal partijen getoetst	127	2026	79	1402
Aantal partijen vrij van ArMV	108	1626	62	1181
Aantal partijen met ArMV (percentage van de partijen)	19 (14.9%)	406 (20%)	17 (21.5%)	221 (15.7%)
Gemiddeld percentage ArMV wanneer de partij besmet is met ArMV	10.7%	2.8%	2.8%	2.8%

Om het verloop van een virusbesmetting binnen virusvrije en virusgeïnfecteerde partijen te volgen zijn op het proefperceel nabij Heerhugowaard en op mandjes gevuld met grond uit de omgeving van Nieuwe Niedorp en Wageningen diverse soorten bolgewassen geteeld.

5.2 Materiaal en Methode

5.2.1 Opplant

Een grote serie aan voorjaarsbloeiende en zomerbloeiende bol- en knolgewassen zijn voor verschillende jaren op verschillende typen grond geteeld (Tabel 3): het vollegrondsperceel in Heerhugowaard (HHW) en in de mandjes op de PPO-proeftuin te Lisse met klei en zand uit respectievelijk Nieuwe Niedorp (NN) en Wageningen (W). Tevens is controle opplant uitgevoerd op de *X.diversicaudatum*-vrije proeftuin in Lisse. Opplant in HHW vond plaats in twee herhalingen tenzij bij de resultaten anders vermeld. Een veldje had een minimale oppervlak van 1x1 meter. Controle-opplant in Lisse vond plaats op een veldje van 1x1 meter (100 bollen). De opplant op de mandjes of in potten vond plaats in minimaal 3 mandjes/potten. Een vijvermandje heeft een afmeting van 30x30 cm, en pot een inhoud van 10 liter.

Om de ArMV infectiedruk op het perceel HHW te bepalen, werden in de veldjes met de te toetsen bolgewassen in mei 2009 en mei 2010 jonge petunia's geplant (cv. Parade Blue). Petunia is een waardplant voor ArMV, waarbij een virusinfectie vaak leidt tot necrotische vlekken op het blad (zie ook §3.1). De mate van infectie van bol- en knolgewassen werd vergeleken met de mate van infectie van Petunia en de aanwezigheid van *X. diversicaudatum* nematoden in de grond.

Tabel 3. *Overzicht van de geteelde bolgewassen (soort en cultivar) die in 2009 en 2010 op diverse teeltgrond zijn geteeld (HHW: teelt op proefperceel nabij Heerhugowaard; NN: teelt op mandjes gevuld met grond afkomstig van perceel omgeving Nieuwe Niedorp; WAG: teelt op mandjes gevuld met grond afkomstig van perceel omgeving Wageningen). De diverse partijen zijn voorafgaand aan het planten getoetst op aanwezigheid van ArMV.*

Gewas	Cultivar	Teeltgrond en teeltseizoen	%ArMV voorafgaand aan opplant
Narcis	Ice follies	HHW: 2009 en 2010 *	0%
Tulp	Ali Baba	HHW: 2009	17%
	Ali Baba	HHW: 2009* WAG: 2010	45%
	Leen van de Mark*	HHW: 2009 en 2010* WAG: 2010	11%
	Falcon	NN: 2009 HHW: 2009	28%
	Falcon	HHW: 2010	0%
	Gordon Cooper	HHW: 2010	0%
Lelie	Sorbonne 5-7 (H) (OR-type)	HHW: 2009 NN: 2009	4%
	Sorbonne 4-6 (OR-type)	HHW: 2009	22%
	White Heaven (LO-type)	HHW: 2009	0%
	Shocking (OR-type)	HHW: 2009	0%
	Litouwen (OR-type)	HHW: 2009	0%
	Rialto (OR-type)	HHW: 2009	0%
	Siberia (OR-type)	HHW: 2009 NN: 2009	0%
	Courier (LA-type)	NN: 2009	0%
Hollandse Iris	Blue Magic	HHW: 2009 NN: 2009	0%
Dahlia	My Love	HHW: 2009 NN: 2009	0%
Gladiool	Amsterdam	HHW: 2009 NN: 2009	0%
Zantedeschia	Vermeer	HHW: 2009 NN: 2009	0%

** Opplant van dezelfde partij in twee achtereenvolgende jaren.*

5.2.2 Grond- en gewasanalyse

Tijdens de teelt is voor een groot aantal veldjes de dichtheid van *X. diversicaudatum* per volume-eenheid bepaald. Voor het nemen van een grondmonsters werden vijf steken per m^2-veldje genomen en twee steken per mandje. De grondboor had een diameter van 3,5 cm en er werd 30 cm diep gestoken. Grondmonsters voor de mandjes werden 10 cm diep gestoken en per gewas samengevoegd. Grondmonsters zijn volgens gangbare procedures verwerkt en *Xiphinema en Longidorus* nematoden zijn opgespoeld met een Oostenbrink trechter. Het aantal *Xiphinema* nematoden is m.b.v. een microscoop op basis van uiterlijke kenmerken geteld.

Gedurende het teeltseizoen is het ontstaan van virussymptomen in de gaten gehouden. Detectie van het virus in het gewas vond plaats aan bovengrondse plantendelen en/of aan het einde van de teelt aan de ondergrondse plantdelen door DAS-ELISA specifiek voor ArMV. In enkele gevallen is de PCR-toets voor ArMV als aanvullende toetsmethode toegepast.

5.3 Resultaten en discussie

5.3.1 Bolgewassen – voorjaarsbloeiers

Gedurende 2009 en 2010 is een groot aantal bolgewassen geteeld op het proefperceel nabij Heerhugowaard, op potten en vijvermandjes gevuld met grond uit de omgeving van Nieuwe Niedorp en Wageningen. In Tabel 4 (tulp) en Tabel 5 (narcis) staan de resultaten van de diverse opplanten weergegeven.

Tabel 4. Percentage ArMV bij diverse cultivars **tulp** na opplant op verschillende type grond (NN: grond met *X. diversicaudatum* afkomstig uit omgeving Nieuwe Niedorp, HHW: perceel met *X. diversicaudatum* uit omgeving Heerhugowaard, WAG: grond afkomstig uit omgeving Wageningen, -L: alleen *Longidorus* nematoden aanwezig, -LX: zowel *Longidorus* als *X. diversicaudatum* aanwezig. Het percentage ArMV is voor en na de teelt bepaald. Percentages ArMV zijn groen gearceerd wanneer het percentage ArMV aansluitend op de teelt significant hoger is ten opzichte van het percentage voor de teelt. Percentages ArMV zijn rood gearceerd wanneer het percentage ArMV aansluitend op de teelt significant lager is ten opzichte van voor de teelt. Niet gearceerde percentages ArMV zijn significant gelijk aan het percentage voor de teelt. Voor een aantal veldjes/potten of mandjes is het aantal *X. diversicaudatum* (*X.d.*) nematoden bepaald. Voor de toelichting wordt verwezen naar de tekst op de volgende pagina's.

cultivar	Teeltgrond (teeltvorm, teeltjaar)	Herhaling	% ArMV (n=aantal toetsen)		Aantal *X.d.* per 200 ml grond	Toelichting
			Voor planten	Aansluitend op teelt		
Falcon	NN (pot, 2009)	A	39% (n=60)	46% (n=60)	4-7	1, 12
	NN (mandje, 2009)	A		62% (n=60)		
Ali Baba	HHW (veld, 2009)	A	17% (n=100)	6% (n=50)	4	2, 3, 12
		B		6% (n=50	22	
Leen van der Mark	HHW (veld, 2009)	A	11% (n=100)	0% (n=50)	5	2, 4, 12
		B		0% (n=50)	10	
Falcon	HHW (veld, 2010)	A	28% (n=100)	62% (n=100)		5, 11, 12
		B		88% (n=100)		
		C		47% (n=100)		
		D		81% (n=100)		
		E		86% (n=100)		
Ali Baba	HHW (veld, 2010)	A	45% (n=100)	74% (n=100)		6, 11, 12
		B		60% (n=100)		
		C		61% (n=100)		
	WAG-L (mandjes, 2010)	A	45% (n=100)	45% (n=100)	0	7, 12
	WAG-LX (mandjes, 2010)	A		57% (n=100)	12	
Leen van der Mark	HHW (veld, 2010)	A	0% (n=100)	64% (n=100)	9	8, 11, 12
		B		38% (n=100)		
		C		31% (n=100)		
		D		55% (n=100)		
		E		64% (n=100)		
	WAG-L (mandjes, 2010)	A		0% (n=100)	0	9, 12
	WAG-LX (mandjes, 2010)	A		2% (n=100)	24	
Gordon Cooper	HHW (veld, 2010)	A	0% (n=100)	50% (n=100)		10, 11, 12
		B		38% (n=100)		
		C		38% (n=90)		

Tabel 5. Percentage ArMV bij diverse cultivars **narcis** na opplant op het proefperceel met *X. diversicaudatum* nabij Heerhugowaard (HHW). Het percentage ArMV is voor en na de teelt bepaald. Percentages ArMV zijn groen gearceerd wanneer het percentage ArMV aansluitend op de teelt significant hoger is ten opzichte van het percentage voor de teelt. Percentages ArMV zijn rood gearceerd wanneer het percentage ArMV aansluitend op de teelt significant lager is ten opzichte van voor de teelt. Niet gearceerde percentages ArMV zijn significant gelijk aan het percentage voor de teelt. Voor een aantal veldjes is het aantal *X. diversicaudatum* (*X.d.*) nematoden bepaald. Voor de toelichting wordt verwezen naar de tekst op volgende pagina's.

cultivar	Teeltgrond (teeltvorm, teeltjaar)	Herhaling	% ArMV (n=aantal toetsen)		Aantal *X.d.* per 200 ml grond	Toelichting
			Voor planten	Aansluitend op teelt		
Ice follies	HHW (veld, 2009)	A	0% (n=100)	0% (n=50)		13
		B		0% (n=50)		
	HHW (veld, 2010)	A	0% (n=100)	0% (n=103)		14
		B		7% (n=100)		
		C		6% (n=103)	4	
		D		0% (n=80)	3	
		E		2% (n=100)	19	

Bij deze resultaten zijn enkele belangrijke toelichtingen te plaatsen:

1. Cultivar Falcon was voor 39% besmet met ArMV. Bij de opplant op pot is de toename van 39% naar 62% volgens de z-toets niet significant (z= 0.703). Bij opplant in mandjes (geteeld in de kas) is er wel een significante toename in ArMV waargenomen (z= 2.597). Deze virustoename wordt enerzijds veroorzaakt door de reeds aanwezige en vanuit voorgaande teelt ArMV-besmette *X. diversicaudatum* nematoden. Anderzijds wordt er verwacht dat de 39% besmetting voor voldoende nieuwe virusdruk zorgt waardoor er plant-tot-plant verspreiding van ArMV kan plaatsvinden. Ondanks dat er zowel 1ste jaars als 2de jaars infecties met ArMV aanwezig waren, zijn er geen visuele symptomen van ArMV waargenomen.

2. Als gevolg van een erg nat najaar en vroeg invallende vorst zijn de tulpen en narcissen pas in februari 2009 geplant. De bollen hebben voorafgaand aan planten de juiste koudebehandeling gehad. De gewasstand was gedurende de teelt normaal (ondanks de late beplanting).

3. De aanplant van cv. Ali Baba was voor 17% geïnfecteerd met ArMV. Na een teeltseizoen werd een ArMV-percentage van 6% waargenomen. Dit waargenomen percentage virus is bij de gebruikte steekproefomvang niet significant verschillend t.o.v. de oorspronkelijke 17% (z-value = 1.613). Met andere woorden, het percentage virus voor en na teelt is vergelijkbaar.

4. De aanplant van cv. Leen van der Mark was voorafgaand aan planten voor 11% geïnfecteerd met ArMV. Na een teeltseizoen werd een ArMV-percentage van 0% waargenomen. Dit waargenomen percentage virus is bij de gebruikte steekproefomvang significant verschillend t.o.v. de oorspronkelijke 11% (z-value = 2.104). Het is onduidelijk wat de oorzaak is van deze afname in virus. Steekproefomvang is geen aannemelijke oorzaak.

5. Cultivar Falcon met 28% ArMV voorafgaand aan planten is op 5 verschillende veldjes op het proefveld nabij HHW geteeld. Het gemiddelde percentage na één teeltseizoen betrof 73% (een significante toename toename van 45 %). Er is enige variatie in besmettingspercentage tussen de veldjes wat zeer waarschijnlijk wordt veroorzaakt door variatie in *X. diversicaudatum* dichtheden en mogelijk de mate waarin deze nematoden besmet zijn met ArMV.

6. Cultivar Ali Baba met 45% ArMV voorafgaand aan planten is op 3 verschillende veldjes op het proefveld nabij HHW geteeld. Het gemiddelde percentage na één teeltseizoen betrof 65% (een significante toename van 20 %).

Er is enige variatie in besmettingspercentage tussen de veldjes wat zeer waarschijnlijk wordt veroorzaakt door variatie in *X. diversicaudatum* dichtheden en mogelijk de mate waarin deze nematoden besmet zijn met ArMV.

7. De vraag is in welke mate van oorsprong niet-besmette *X. diversicaudatum* nematoden ArMV van plant naar plant kunnen verspreiden wanneer er ArMV besmet plantmateriaal wordt geplant. Om dit te bepalen werden virusvrij- en ArMV-geïnfecteerde tulpen geteeld op grond met en zonder *X. diversicaudatum* (WAG-L en WAG-LX). In de grond met en zonder *X. diversicaudatum* kwam ook *Longidorus elongatus* voor (L). Bollen werden in december in een gekoelde bewaarcel geplant, waarna de mandjes in januari buiten werden ingegraven.

   Teelt van ArMV-geïnfecteerde cv. Ali Baba op ArMV-vrije grond waarin *X.diversicaudatum* aanwezig was (WAG-LX) resulteerde in een statistisch onveranderd percentage besmetting: 45% voorafgaand planten en 57% na teelt op WAG-LX grond. Op basis van de z-toets zijn deze percentages significant gelijk (z=1.556). Teelt op WAG-L grond (vrij van *X. diversicaudatum* resulteerde in een gelijk viruspercentage (van 45% versus 45%).

8. Cultivar Leen van der Mark (ArMV-vrij) is op vijf verschillende veldjes op het proefveld nabij HHW geteeld. Het gemiddelde percentage na één teeltseizoen betrof 50%, een significante toename. Er is enige variatie in besmettingspercentage tussen de veldjes wat zeer waarschijnlijk wordt veroorzaakt door variatie in *X. diversicaudatum* dichtheden en mogelijk de mate waarin deze nematoden besmet zijn met ArMV. Het is opvallend dat cv. Leen van de Mark in 2010 een zware besmetting laat zien, terwijl de partij in 2009 als virusvrij werd geoogst (opmerking 4). Mogelijk heeft dit verschil in waargenomen besmetting te maken met het late planttijdstip. Bollen werden nl. in 2009 pas in februari van dat jaar geplant en hadden dus een kort groeiseizoen. Daarnaast kan het zijn dat ondanks de aanwezigheid van *X. diversicaudatum* in de grond het percentage virulente aaltjes op het deel waar in 2010 de proef neer werd gelegd, hoger was.

9. De vraag is in welke mate van oorsprong niet-besmette *X. diversicaudatum* nematoden ArMV van plant naar plant kunnen verspreiden wanneer er ArMV besmet plantmateriaal wordt geplant. Om dit te bepalen werden virusvrij- en ArMV-geïnfecteerde tulpen geteeld op grond met en zonder *X. diversicaudatum* (WAG-L en WAG-LX). In de grond met en zonder *X. diversicaudatum* kwam ook *Longidorus elongatus* voor (L). Bollen werden binnen geplant in december, waarna de mandjes in januari buiten werden ingegraven.

   Teelt van cv. Leen van der Mark (virusvrij) op grond waar geen *X.diversicaudatum* in aanwezig was (WAG-L) resulteerde in een onveranderd percentage besmetting. Daarentegen resulteerde teelt op grond met *X. diversicaudatum* (WAG-LX) in een toename in virus (van 0% naar 2%). Deze toename is echter niet significant (z=0.711). Toch is dit resultaat opvallend omdat er geen aanwijzingen waren voor besmetting van ArMV in de nematoden. Mogelijke verklaringen voor deze onverwachte (lichte, niet significante) virustoename kan gezocht worden in het feit dat diverse onkruiden besmet kunnen zijn met ArMV (zie ook H.6). Dit virusgeïnfecteerd onkruid functioneert als virusreservoir waardoor aanwezige *X. diversicaudatum* nematoden besmet kunnen raken met ArMV. Wanneer vervolgens een vatbaar gewas geteeld wordt op een dergelijk perceel (met aanwezigheid *X. diversicaudatum* en virusreservoir in onkruid), is er blijkbaar een reëel risico op een (milde) infectie met virus

10. Cultivar Gordon Cooper (ArMV-vrij) is op drie verschillende veldjes op het proefveld nabij HHW geteeld. Het gemiddelde percentage na één teeltseizoen betrof 42%. Dit is van zelfsprekend een significante toename ten opzicht van 0% in het plantgoed (z=7.706). De onderlinge variatie in besmetting bij drie herhalingen wordt veroorzaakt door de steekproefomvang.

11. Opvallend is dat de toename aan ArMV voor een virusvrije partij (cv. Gordon Cooper, toename van 42% en Leen van der Mark, toename 50%) enigszins vergelijkbaar is met de virustoename bij een reeds ArMV-geïnfecteerde partij (cv. Falcon, toename van 45%, opmerking 5). Naarmate het viruspercentage in een partij voorafgaand aan planten al hoog is (cv. Ali Baba 45% ArMV) neemt de kans af dat virusvrije planten ook geïnfecteerd raken. Daarom vindt er bij cv. Ali Baba slechts een toename van 20% plaats.

12. Bij geen van de primaire infecties (nieuwe infectie uit huidig teeltseizoen) of secundaire infecties (reeds aanwezige infectie) zijn visuele virussymptomen waargenomen die veroorzaakt zouden kunnen zijn door ArMV.

13. Teelt van Narcis (cv. Ice follies) op de kleigrond nabij Heerhugowaard resulteerde in 2009 niet in een infectie met ArMV. Het is onduidelijk of de late beplanting in februari hier een bijdrage aan heeft geleverd. Opvallend visueel symptoom was het optreden van 'draaistelen' of 'kurkentrekker' waarbij met name de bloemsteel maar ook het blad om de as geroteerd was (tot 360°) (Figuur 7). Deze uiterlijke symptomen werden niet waargenomen bij de controle-opplant op de proeftuin in Lisse (zandgrond).

14. Teelt van Narcis (cv. Ice follies) op de kleigrond nabij Heerhugowaard resulteerde in 2010 wel in infecties met ArMV. In 2010 zijn vijf veldjes met narcis geteeld. Er werd variatie waargenomen in het optreden van virusinfecties. Twee van de veldjes bleven virusvrij terwijl bij 3 veldjes infectie met ArMV optrad. De toename van 0% naar 6% respectievelijk 7% is een significante toename. In veldjes waar grondmonsters genomen zijn, werd variatie in dichtheid aan *X.diversicaudatum* nematoden waargenomen. Deze variatie was niet gerelateerd aan de mate van virusinfectie. Bij 3 of 4 *X. diversicaudatum* nematoden per 200 ml grond vond geen of wel infectie (6%) plaats (herhaling D versus C). Daarentegen werd in een veldje met een hogere dichtheid aan virusvector (19 *X. diversicaudatum* nematoden per 200 ml) een virusinfectie van 'slechts' 2% waargenomen (herhaling E).



Figuur 7. *Tijdens de teelt van narcis (cv. Ice follies) werden typische symptomen van 'draaistelen' of 'kurkentrekker' waargenomen. Er is geen relatie tussen dit symptoom en de aanwezigheid van ArMV.*

5.3.2 Bolgewassen – zomerbloeiers

In de zomer van 2010 zijn Dahlia, gladiool, Hollandse Iris, Zantedeschia en zeven leliepartijen geteeld op het proefperceel nabij Heerhugowaard en op vijvermandjes gevuld met grond uit de omgeving van Nieuwe Niedorp. In Tabel 6 staan de resultaten van de diverse opplanten weergegeven.

Tabel 6. Percentage ArMV bij diverse type zomerbloeiende bolgewassen na opplant in 2009 op verschillende type grond (NN: grond met *X. diversicaudatum* afkomstig uit omgeving Nieuwe Niedorp, HHW: perceel met *X. diversicaudatum* uit omgeving Heerhugowaard). Het percentage ArMV is voor en na de teelt bepaald. Tevens is bepaald of aanwezige Petunia vangplanten geïnfecteerd raakten met ArMV. Percentages ArMV zijn groen gearceerd wanneer het percentage ArMV aansluitend op de teelt significant hoger is ten opzichte van het percentage voor de teelt. Percentages ArMV zijn rood gearceerd wanneer het percentage ArMV aansluitend op de teelt significant lager is ten opzichte van voor de teelt. Niet gearceerde percentages ArMV zijn significant gelijk aan het percentage voor de teelt. Van elk veldje waar een bolgewas geteeld werd, is het aantal *X. diversicaudatum* (*X.d.*) nematoden bepaald. Voor de toelichting wordt verwezen naar de tekst op de volgende pagina's. Ontbrekende informatie wordt weergegeven met '-'.

Cultivar (% ArMV voor planten)	**Teelt-grond**	**Herhaling**	**% ArMV (n=aantal toetsen)**		**Infectie ArMV in Petunia vangplant**	**Aantal *X.d.* per 300 g grond**	**Toelichting**
			blad	**knol/bol**			
Dahlia (0%)	HHW	A	0% (n=15)	-	Nee	13	15
		B	0% (n=14)	-	Ja	70	
	NN	A	0% (n=13)	30% (n=13)	Ja	28	16, 28
Gladiool (0%)	HHW	A	8% (n=50)	100% (n=50)	Ja	6	17, 18, 19, 28
		B	4% (n=50)	0% (n=24)	-	75	
	NN	A	11% (n=18)	100% (n=17)	Ja	45	
Hollandse Iris (0%)	HHW	A	-	0% (n=50)	-	13	20
		B	-	0% (n=50)	-	28	
	NN	A	-	0% (n=50)	Ja	18	
Zantedeschia (0%)	HHW	A	7% (n=15)	35% (n=20)	Ja	27	21, 22, 23, 28
		B	0% (n=16)	35% (n=20)	Nee	11	
	NN	A	-	100% (n=15)	Ja	20	
Lelie (0%) cv. Litouwen	HHW	A	-	1% (n=98)	Nee	2	24, 27, 28
		B	-	1% (n=96)	Ja	3	
Lelie (0%) cv. Rialto	HHW	A	-	0% (n=100%	Ja	17	
		B	-	3% (n=91)	Ja	18	
Lelie (0%) cv. Shocking	HHW	A	-	1% (n=97)	Nee	5	
		B	-	0% (n=92)	Ja	17	
Lelie (0%) cv. Siberia	HHW	A	-	0% (n=29)	Ja	19	
		B	-	0% (n=50)	Ja	27	
	NN	A	-	0% (n=16)	Ja	62	
Lelie (0%) cv. Courier	NN	A	-	0% (n=25)	Ja	34	
Lelie (0%) cv. White heaven	HHW	A	-	1% (n=100%)	Nee	4	
		B	-	0% (n=87)	Ja	12	
Lelie (4%) cv. Sorbonne	HHW	A	-	1% (n=98)	-	24	25, 27, 28
		B	-	15% (n=91)	Ja	62	
	NN	A	-	12% (n=26)	Ja	90	
Lelie (22%) cv. Sorbonne	HHW	A	-	28% (n=100)	Ja	15	26, 27, 28

Bij de resultaten uit Tabel 6 zijn enkele belangrijke toelichtingen te plaatsen:

Algemeen:

- Op elk veldje of mandje met een zomerbloeiend gewas zijn één of meerdere petuniaplanten als vangplant geplant. Aan het einde van het teeltseizoen is de aanwezigheid van ArMV in de vangplanten met ELISA bepaald. Een aantal van deze plantjes groeide niet goed, of werd overwoekerd door het bol- of knolgewas. Hierdoor kon niet op alle veldjes de infectie van Petunia met ArMV worden bepaald.
- Vanwege het niet gelijk verdeeld zijn van ArMV in bovengronds gewas, is voor lelie geen bladanalyse voor ArMV uitgevoerd.

15. Bij analyse van het blad van **Dahlia** op aanwezigheid van virus werd geen ArMV waargenomen. Helaas waren de bollen vanwege schimmelinfectie tijdens de bewaring niet meer geschikt voor virusanalyse op nieuwe scheuten.
16. Virusanalyse op het blad van **Dahlia** tijdens de teelt resulteerde in een negatief resultaat voor ArMV. Virusanalyse van jonge scheutjes van 13 knollen tijdens de nateelt resulteerde echter in de detectie van ArMV in scheutjes afkomstig van 4 onafhankelijke knollen (infectie van 30%). Deze virustoename is significant (z= 3.415). Met deze resultaten wordt aangetoond dat virusdetectie aan het blad tijdens de teelt onvoldoende informatief is.
17. Virusanalyse op het blad van **gladiool** tijdens de teelt liet een lichte besmetting zien van 4, 8 resp. 11%. Uitsluitend de toename van 8% bij n=50 is een significante toename. Bij analyse van de groeikern van een serie knollen uit HHW en NN werd in twee van de drie partijen een extreem hoog infectiepercentage waargenomen (100%). De 100% besmetting met ArMV is voor een aantal knollen m.b.v. PCR bevestigd. Het is onduidelijk waarom de infectie van 4% op het blad niet werd terug gevonden tijdens de analyse van de knollen (0% infectie). De afwezigheid van ArMV in deze knollen is tevens met PCR bevestigd. Mogelijk dat de steekproefomvang van 24 uit 50 een rol bij heeft gespeeld bij deze ongelijke resultaten. Het is erg opvallend dat de partij gladiolen waarbij infectie met ArMV niet heeft opgetreden, juist een hoge dichtheid aan *X. diversicaudatum* nematoden bevatten. Helaas waren er geen Petunia vangplanten aanwezig op dit veldje.
18. Van twee ArMV-geïnfecteerde moederknollen van **gladiool** zijn de aanwezige kralen met ELISA getest op aanwezigheid van ArMV. Van beide moederknollen zijn 12 kralen geanalyseerd waarbij 9 respectievelijk 12 ArMV-positieve kralen zijn gevonden.
19. Deze resultaten beschreven bij opmerking 17 en 18 geven aan dat bij **gladiool** infectie met ArMV relatief eenvoudig optreedt en dat de kralen van een geïnfecteerde knol voor een groot gedeelte ook virusgeïnfecteerd zijn. Bladanalyse lijkt onvoldoende informatief.
20. Bij **Hollandse Iris** is geen infectie met ArMV waargenomen. Er waren voldoende *X. diversicaudatum* nematoden in de grond aanwezig en in de aanwezig vangplant is infectie met ArMV waargenomen. Het risico op infectie met ArMV bij Hollandse Iris is blijkbaar zeer laag.
21. Virusanalyse op het blad van **Zantedeschia** tijdens de teelt liet één van de twee veldjes een lichte besmetting zien van 7%. Echter, bij analyse van de groeipunten van een serie knollen uit HHW en NN werden hoge tot extreem hoge en significante infectiepercentages waargenomen (30%, 30% en 100%). De 100% besmetting met ArMV is voor een aantal knollen m.b.v. PCR bevestigd.
22. Van drie ArMV-geïnfecteerde **Zantedeschia**knollen zijn de 8 aanwezige groeipunten per knol met ELISA getest op aanwezigheid van ArMV. Voor de 3x8 groeipunten werden 6, 8, respectievelijk 7 groeipunten ArMV-positief bevonden. Dit betekent dat wanneer een Zantedeschia-knol tijdens een groeiseizoen geïnfecteerd raakt met ArMV, het virus na het groeiseizoen in alle groeipunten terug te vinden is.
23. Deze resultaten beschreven bij opmerking 21 en 22 geven aan dat bij **Zantedeschia** infectie met ArMV relatief eenvoudig optreedt en dat de groeipunten van een geïnfecteerde knol voor een groot gedeelte ook virusgeïnfecteerd zijn. Bladanalyse lijkt onvoldoende informatief.
24. Bij opplant van virusvrije **lelies** werd zowel bij teelt op virulente grond vanuit omgeving HHW als NN geen of nauwelijks infectie met ArMV waargenomen. Wanneer een lichte infectie met ArMV werd waargenomen, dan was deze toename niet significant (p=0.05). De dichtheid *X. diversicaudatum* was hoog genoeg voor het geïnfecteerd raken van Petunia vangplanten en de dichtheid was vergelijkbaar met aanplant van dahlia, gladiool en Zantedeschia waarbij wel matige tot extreme infectie plaats vond.
25. Opplant van **lelies** met een besmettingspercentage van 4% liet in één van de drie herhalingen een significante toename aan virus zien (HHW herhaling B).

Het verschil in besmettingspercentages tussen de twee herhalingen in HHW zijn enigszins opvallend (1% versus 15%). Mogelijk dat lokale verschillen in de virulentie en dichtheid van *X. diversicaudatum* hier een rol bij heeft gespeeld. Teelt op grond vanuit omgeving NN laat een lichte, maar niet significante stijging van virusbesmetting zien (4% wordt 12%). Hierbij moet worden opgemerkt dat het aantal geanalyseerde bollen na de teelt relatief laag is (n=26).

26. Opplant van **lelies** met een relatief hoog besmettingspercentage van 22% liet weinig toename aan virus zien. Deze geringe virustoename is niet significant (z=0.816). Enerzijds heeft er geen tot weinig infectie vanuit de grond plaatsgevonden. Anderzijds heeft er ook geen of weinig verspreiding van plant tot plant opgetreden. Er waren voldoende *X. diversicaudatum* nematoden aanwezig. Ook zijn Petunia vangplanten geïnfecteerd geraakt met ArMV.
27. **Lelie** staat bekend als een vatbaar gewas voor ArMV en is een belangrijk onderdeel van het exportprotocol voor China. Toch zijn er bij de opplantingen van diverse cultivars lelie, virusvrij of geinfecteerd, geen duidelijke resultaten verkregen dat infectie met ArMV eenvoudig optreedt. Gewassen als tulp, dahlia, gladiool, en Zantedeschia zijn veel vatbaarder (hoge infectiepercentages) ten op zicht van lelie (geen infectie, of zeer lage infectiepercentages). Op basis van deze resultaten is aanvullend onderzoek gedaan naar de genetische variatie tussen ArMV isolaten en *X. diversicaudatum* populaties (zie Hoofdstuk 8).
28. Zowel bij **zomerbloeiers** met eerstejaarsinfecties als bij planten met reeds aanwezige infecties met ArMV zijn geen zichtbare virussymptomen waargenomen.

5.4 Conclusies

In gladiool, Zantedeschia en tulp hebben aanzienlijke infecties met ArMV plaatsgevonden wanneer deze gewassen werden geteeld op virulente grond. Deze gewassen zijn daarom goede waardplanten voor ArMV en de bijbehorende vector *X. diversicaudatum*. Voor Dahlia werd ook een sterke virustoename waargenomen (30%), maar te weinig knollen waren voor nateelt beschikbaar om harde conclusies te trekken. Ook narcis en lelie zijn waard, maar lijken een slechte tot zeer slechte waard te zijn op basis van de uitgevoerde infectie-experimenten. Het is onduidelijk of dit veroorzaakt wordt door waardplantspecificiteit van het ArMV-isolaat of de waardplantspecificiteit en voedingsvoorkeur van *X. diversicaudatum*. Dit laatste hoeft niet altijd een nadeel te zijn voor het virus. Experimenten met Trichodoriden aaltjes laten zien dat er relatief meer virusoverdrachten naar een plant plaatsvinden, wanneer een plant een slechte waard is voor de nematode (Wyss, 1973). Dit komt doordat het aaltje korter voedt op een plant en sneller migreert op zoek naar een andere wortel. Zodra het aaltje zich kort een andere plant voedt, is er weer een kans dat deze plant geïnfecteerd raakt met het virus.

Bij teelt van Hollandse Iris is geen infectie met ArMV waargenomen. Het risico op een infectie met ArMV bij teelt op virulente grond is daarom nihil of mogelijk zelfs volledig afwezig.

ArMV lijkt bij de zomerbloeiende gewassen in het algemeen beter in de bol of knol te detecteren dan dat het virus te detecteren is met een bladtoets. Van nepovirussen als ArMV, maar ook van andere virussen die door grondgebonden vectoren worden verspreid, is het bekend dat de verdeling van virus in het boven- en ondergrondse gewas ongelijk is waardoor vals-negatieve resultaten verkregen kunnen worden. Een keuring m.b.v. bladmonsters lijkt dan ook niet zinvol en wordt daarom dan ook niet door de Bloembollenkeuringsdienst toegepast.

6 Vatbaarheid van niet-bolgewassen voor ArMV

6.1 Inleiding

Bloembolgewassen worden vaak geteeld in rotatie met andere gewassen. Afhankelijk van het type bolgewas en de regio waarin deze geteeld wordt (bijvoorbeeld Noord-Holland, Zuid-Holland, Drenthe of de Flevopolder) kunnen dit groenbemesters zijn, maar ook vaste planten en akkerbouwgewassen. Sommige van deze gewassen zijn waardplant voor ArMV en kunnen mogelijk vanuit eerdere teeltjaren geïnfecteerd zijn geraakt met ArMV. Wanneer virusvrije vectoren aanwezig zijn op een dergelijk perceel, kunnen deze besmet raken met ArMV en tijdens een volgend teeltseizoen bolgewassen infecteren. Anderzijds kan door de teelt van vatbare gewassen een virusinfectie op een perceel in stand worden gehouden. Virusbesmette *X.diversicaudatum* nematoden kunnen een vatbaar gewas infecteren, en raken opnieuw (vers) besmet met ArMV. Met andere woorden, een virusreservoir in nematoden kan door de teelt van vatbare gewassen in stand worden gehouden.

In 2010 zijn op de proeflocatie in HHW experimenten gedaan met verschillende niet-bolgewassen die vatbaar zijn voor ArMV. Er is bepaald of deze gewassen ook daadwerkelijk onder praktijkomstandigheden geïnfecteerd raken met ArMV en daardoor een onderdeel zijn van een meerjarige ArMV-infectie op een perceel. Daarnaast zijn in 2009 experimenten in mandjes met grond uit Nieuwe Niedorp gedaan om te bepalen of een aantal gewassen en/of onkruiden mogelijk als indicatorplanten kunnen dienen voor het relatief eenvoudig detecteren van een ArMV-besmetting in de grond.

6.2 Materiaal en Methode

Voor diverse niet-bolgewassen is onderzocht of deze gewassen mogelijke als indicatorplanten geteeld kunnen worden of als tussenwaardplant een bijdrage leveren aan het in stand houden/introduceren van een ArMV infectie op een perceel (Tabel 7). Voor anemoon, bloemkool en spruitkool werden jonge plantjes geplant. Van Hosta werden de neuzen met wortels geplant. Bij ui ging het om plantuitjes. Gewassen werden eind april gezaaid of geplant. Alleen gele mosterd en bladrammenas werden in juli gezaaid, na de oogst van de bolgewassen.

Tabel 7 Overzicht van de geteelde niet-bolgewassen per seizoen en lokatie.

Gewas	Teeltseizoen	Teeltgrond	Potentiële functie
Nicotiana tabacum	2009	NN	Indicator plant
Petunia hybrida	2009 en 2010	NN en HHW	Indicator plant
Amaranthus caudatus	2009	NN	Indicator plant
Chenopodium amaranticolor	2009	NN	Indicator plant
Phaseolus vulgaris	2009	NN	Indicator plant
Hosta	2010	HHW	Tussenwaardplant
Anemoon	2010	HHW	Tussenwaardplant
Aardappel	2010	HHW	Tussenwaardplant
Suikerbiet	2010	HHW	Tussenwaardplant
Ui	2010	HHW	Tussenwaardplant
Peen	2010	HHW	Tussenwaardplant
Bloemkool	2010	HHW	Tussenwaardplant
Spruitkool	2010	HHW	Tussenwaardplant
Gele mosterd	2010	HHW	Tussenwaardplant
Bladrammenas	2010	HHW	Tussenwaardplant
Gras-klaver mengsel	2010	HHW	Tussenwaardplant

Eind augustus werden bladmonsters genomen voor toetsing op aanwezigheid van ArMV met DAS-ELISA. Vanwege de snellere veroudering van ui werden voor dit gewas de bladmonsters half augustus genomen. De bladmonsters van ui zijn bij 4°C bewaard tot aan de toetsing op ArMV.

6.3 Resultaten en discussie

In de zomer van 2009 zijn een aantal snelgroeiende waardplanten op grond met *X. diversicaudatum* geteeld om te bepalen in hoeverre deze onder teeltomstandigheden ook vatbaar zijn voor ArMV. Indien deze planten relatief eenvoudig geïnfecteerd raken met ArMV, en de aanwezigheid van ArMV is betrouwbaar aan het blad te toetsten, dan zouden dergelijke planten als indicatorplant kunnen dienen.

Ondanks dat diverse gewassen een waardplant zijn voor ArMV werd uitsluitend bij *Petunia hybrida* een efficiënte infectie met ArMV waargenomen (Tabel 8). Slechts één van de 13 *Phaseolus* planten (tuinboon) raakte geïnfecteerd en de andere geteste gewassen bleven virusvrij. Op basis van deze resultaten werd geconcludeerd dat uitsluitend *Petunia hybrida* planten geschikt zijn als indicatorplant. Visuele symptomen van een infectie met ArMV zijn te velde niet altijd zichtbaar. Daarom wordt geadviseerd om bij gebruik van indicatorplanten de infectie van ArMV altijd met een serologische toets (ELISA of immunostrip) te bevestigen.

Tabel 8. Percentage ArMV bij diverse type indicatorplanten na opplant in 2009 op mandjes met grond met *X. diversicaudatum* afkomstig uit omgeving Nieuwe Niedorp. Het percentage ArMV is aansluitend op een teeltseizoen aan het blad bepaald. Van elk veldje is het aantal *X. diversicaudatum* (X.d.) nematoden bepaald.

Gewas	% ArMV (n=aantal toetsen)	Aantal X.d. per 200 ml grond
Nicotiana tabacum	0% (n=9)	28
Chenopodium amaranticolor	0% (n=5)	45
Amaranthus caudatus	0% (n=9)	18
Phaseolus vulgaris	8% (n=13)	20
Petunia hybrida	100% (n=12)	62

Voor diverse niet-bolgewassen is onderzocht of deze gewassen geïnfecteerd kunnen raken met ArMV wanneer deze op virulente grond worden geteeld. Wanneer dit het geval is, kunnen dergelijke gewassen mogelijk als tussenwaardplant een bijdrage leveren aan het in stand houden/introduceren van een ArMV infectie op een perceel.

Het percentage geïnfecteerde planten voor de verschillende gewassen was laag (Tabel 9). Dit geldt ook voor de petunia planten van de controle veldjes. Blijkbaar was de infectiedruk in 2010 laag, aangezien ook de petunia's die tussen de gewassen in de veldjes is gezaaid, virusvrij bleven. Dit is opvallend omdat in 2009 op een groot gedeelte van de gebruikte veldjes wel virusinfectie plaats vond (zie Tabel 6). De beperkte besmettelijkheid van de grond is niet terug te vinden in een (te) laag aantal *X. diversicaudatum* nematoden in de grond. Gewassen waar wel een lichte besmetting met ArMV werd waargenomen, waren:

- suikerbiet (gemiddeld 14% infectie)
- klaver (gemiddeld 1% infectie)
- ui (gemiddeld 1 % infectie
- anemoon (gemiddeld 6% infectie)

Uitsluitend één van de twee herhalingen bij suikerbiet liet volgens de Z-test een significante virustoename zien (z= 2.371) (Tabel 9). Ondanks het ontbreken van significantie virustoename, worden de waargenomen infecties met ArMV als risico's gezien voor het gebruik van deze gewassen in een rotatieteelt met vatbare bolgewassen.

De overige gewassen bleven virusvrij. Bladrammenas en gele mosterd zijn mogelijk geen waard voor de vector danwel het virus. Beide gewassen werden gezaaid op de plaats waar tot juli de zwaar besmette tulpen hadden gestaan, maar bleven negatief in de ELISA-toets. Het is onduidelijk of een relatief kort teeltseizoen (juli – september) een negatieve bijdrage heeft geleverd aan het wel of niet geinfecteerd raken met ArMV. Hosta, aardappel en bloemkool zijn volgens de literatuur waardplanten voor ArMV. In de praktijk wordt ArMV ook wel eens in Hosta waargenomen.

Naast de verschillende vaste planten, groenbemesters en akkerbouwgewassen is in augustus 2010 ook het onkruid bemonsterd op het perceel. Een positieve uitslag voor ArMV werd gekregen voor:

- paarse dovenetel (*Lamium purpureum*)
- perzikkruid (*Persicaria maculosa*)
- herderstasje *(Capsella bursa-pastoris*)
- vogelmuur (*Stellaria media*)

Er werd geen ArMV aangetroffen in vatbare onkruiden als brandnetel (*Urtica* sp.), melde (*Chenopodium album*), nachtschade (*Solanum nigrum*) en een paardenbloemachtige (species onbekend).

Van enkele herderstasje-planten die geïnfecteerd waren met ArMV, is zaad geoogst. Na een kiemrust is dit zaad gezaaid op grond vrij van *X. diversicaudatum* en is de besmetting met ArMV getest. Van de 12 geteste planten bleken 3 geinfecteerd te zijn met ArMV. Met deze resultaten is aangetoond dat in ieder geval bij herderstasje virusverspreiding via zaad kan optreden.

Tabel 9. Percentage ArMV bij diverse type gewassen na opplant in 2010 op het proefperceel nabij HHW. Percentages ArMV zijn groen gearceerd wanneer het percentage ArMV aansluitend op de teelt significant hoger is ten opzichte van het percentage voor de teelt. Niet gearceerde percentages ArMV zijn significant gelijk aan het percentage voor de teelt. Tevens is bepaald of de ertussen geplante Petunia vangplanten geïnfecteerd raakten met ArMV. Van elk veldje waar een gewas geteeld werd, is het aantal *X. diversicaudatum* (*X.d.*) nematoden bepaald. Ontbrekende informatie wordt weergegeven met ' - '.

Gewas	Herhaling	% ArMV (n=aantal toetsen)	Infectie ArMV in Petunia vangplant	Aantal *X.d.* per 200 ml grond
Gele mosterd	A	0% (n=50)	-	2
	B	0% (n=50)	-	8
Bladrammenas	A	0% (n=50)	-	7
	B	0% (n=50)	-	5
Gras klaver mengsel	A	0% (n=50)	Negatief	9
	B	4% (n=50)	Negatief	6
Petunia hybrida	A	0% (n=14)	-	1
	B	8% (n=13)	-	6
Hosta	A	0% (n=14)	Negatief	11
	B	0% (n=16)	Negatief	
Anemoon	A	0% (n=10)	Negatief	6
	B	13% (n=8)	Negatief	7
Aardappel	A	0% (n=10)	-	8
	B	0% (n=8)	Negatief	
Suikerbiet	A	8% (n=8)	-	5
	B	21% (n=33)	Negatief	
Ui (consumptie)	A	2% (n=40)	Negatief	11
	B	0% (n=45)	Negatief	17
Winterpeen	A	0% (n=50)	Positief	9
	B	0% (n=50)	Negatief	45
Bloemkool	A	0% (n=6)	Positief	5
	B	0% (n=9)	Negatief	31
Spruitkool	A	0% (n=9)	Negatief	28
	B	0% (n=9)	Negatief	

6.4 Conclusies

Rotatieteelt met een aantal akkerbouwgewassen, groenbemesters en vaste planten heeft laten zien dat in ieder geval gewassen als klaver, anemoon, suikerbiet en (consumptie)ui geïnfecteerd kunnen raken met een ArMV-isolaat dat ook infectie veroorzaakt bij bolgewassen als tulp, Zantedeschia en gladiool. Deze gewassen kunnen daarom een belangrijke bijdrage spelen bij het in stand houden van een infectie, of de introductie van ArMV op een perceel waar *X. diversicaudatum* aanwezig is.

Een tweede belangrijke observatie is dat ArMV in onkruid aanwezig kan zijn. Specifieke onkruiden kunnen daarom enerzijds als reservoir dienen voor het in stand houden van een ArMV besmetting op een perceel. Anderzijds kan virusverspreiding via zaad leiden tot een infectie op een perceel waar *X. diversicaudatum* aanwezig is. Een goede onkruid beheersing is dus essentieel.

Anderzijds kan aanwezig onkruid juist als ook indicatorplant gebruikt worden om een perceel vroegtijdig (voorafgaand aan een teelt) te toetsen op de aanwezigheid van ArMV. Onkruiden die frequent voorkomen en waarin ArMV tijdens dit project is aangetoond zijn paarse dovenetel (*Lamium purpureum*), perzikkruid (*Persicaria maculosa*), herderstasje *(Capsella bursa-pastoris*) en vogelmuur (*Stellaria media*). Deze zijn gemakkelijk en betrouwbaar door de teler zelf te toetsen met behulp van de Agdia ImmunoStrip voor ArMV. Het is onduidelijk wat doorgaans het infectiepercentage van ArMV in onkruid is. Er wordt daarom geadviseerd meerdere onkruidmonsters afkomstig van meerdere plekken van een perceel te bemonsteren en te toetsen op aanwezigheid van ArMV. Een andere mogelijkheid is het planten van Petunia zaailingen vooraf aan de teelt en deze te testen.

7 Betrouwbaarheid ELISA-toetsing van lelieschubben en -bladeren

7.1 Inleiding

Vanuit ervaring bij PPO en Bloembollenkeuringsdienst is bekend dat ArMV ongelijkmatig aanwezig is in bovengrondse delen waardoor de ELISA-toets voor ArMV op blad niet betrouwbaar is. Er zijn aanwijzingen dat ArMV ook niet gelijkmatig aanwezig is in schubben van een leliebol. Voor zowel epidemiologisch als keuringstechnisch onderzoek is het noodzakelijk te weten welk plantonderdeel wel en niet betrouwbaar met ELISA op ArMV getoetst kan worden.

7.2 Materiaal en Methode

Leliebollen van de cultivar Sorbonne (ziftmaat 4-6, 22% ArMV bij aanplant) zijn opgeplant in april 2009 op de proeflocatie in Lisse (zandgrond, vrij van *X. diversicaudatum*). Na rooien zijn de bollen drie maanden bewaard en in februari 2010 met DAS-ELISA volgens standaardwerkwijze getoetst op aanwezigheid van ArMV. Per leliebol werd een schub uit de tweede krans bemonsterd. Voor de beoordeling van de ELISA-uitslag werd een threshold waarde van 0.15 aangehouden. Een ELISA-waarde boven deze grens betekent iruspositief; een ELISA-waarde tussen 0.10 en 0.15 betekent zwak-postief; een ELISA-waarde onder de 0.10 betekent negatief (ArMV is niet detecteerbaar met ELISA). Van vijf bollen die positief waren voor ArMV werden per bol de schubben van buiten naar binnen op volgorde bemonsterd en individueel met ELISA op aanwezigheid van ArMV getoetst. De aanwezige infectie in deze bollen betrof een reeds aanwezige infectie voor aanplant (secundaire virusinfectie). Omdat er onvoldoende infectie heeft opgetreden tijdens lelieteelt op virulente grond uit HHW of NN (zie Tabel 6), was het niet mogelijk om een vergelijkbare analyse met primair geïnfecteerde bollen uit te voeren.

7.3 Resultaten en discussie

De aan- of afwezigheid van ArMV in schubben van verschillende kransen is weergegeven in Tabel 10. De analyse is uitgevoerd met behulp van ELISA. Vooral in de schubben aan de buitenzijde van de bol (de buitenste kransen) kan ArMV met ELISA worden aangetoond. Het is opvallend dat in alle geteste leliebollen in de oude scheut (os) geen virus aangetoond kan worden. In twee van de vijf getoetste bollen (#3 en #4) blijkt de nieuw gevormde scheut wel detecteerbaar besmet te zijn. In de schubben in het centrum van de bol werd met ELISA geen ArMV aangetoond.

In de plantenvirologie is het gangbaar te veronderstellen dat wanneer een plant virusgeïnfecteerd is, de gehele plant als virusgeïnfecteerd moet worden aangemerkt. Dat met een ELISA de binnenste schubben als virusvrij worden beoordeeld, geeft eerder aan dat de concentratie ArMV-deeltjes in dit weefsel onder de detectielimiet van de ELISA-toets zit, dan dat er verondersteld kan worden dat deze schubben virusvrij zijn.

Tabel 10. Aanwezigheid van ArMV in schubben van leliebollen bestudeerd met ELISA. Rood = ArMV positief, oranje = ArMV-zwak-positief, groen = ArMV-negatief (met ELISA). Schubben zijn van buiten naar binnen bemonsterd. De buitenste schub in de buitenkrans staat links in de tabel staan; de binnenste schub in het centrum van de bol staat rechts in de tabel. os = oude scheut; ns = nieuwe scheut; nvt = niet van toepassing.

Bol	Buitenkrans →			→		→		→		Centrum
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1					os						ns
2				os							ns
3				os							ns
4			os							ns	nvt
5				os							ns

7.4 Conclusie

Voor een betrouwbare detectie van ArMV in leliebollen blijkt het belangrijk te zijn schubben uit de buitenste kransen te bemonsteren. ArMV analyse m.b.v. ELISA van meer naar binnen gelegen schubben en de nieuwe scheut vergroot de kans op vals-negatieve toetsresultaten.

8 Diversiteit ArMV isolaten en invloed op virulentie

8.1 Inleiding

ArMV heeft een breed waardplantbereik met een groot aantal belangrijke gewassen. Het virus kent een aantal verschillende isolaten met een verschillend waardplant bereik (Dupuis, 2008). Met name bij lelie, en enkele andere (volgens de literatuur) vatbare gewassen is tijdens teelt op virulente grond geen of nauwelijks infectie met ArMV waargenomen (zie ook §5.3.1, §5.3.2 en §6.3). Onderzocht is in hoeverre er genetische verschillen bestaan tussen de ArMV-isolaten die aanvankelijk aanwezig waren in tulp en lelie en de ArMV-isolaten die uiteindelijk in Zantedeschia zijn gedetecteerd.

8.2 Materiaal en Methode

In Tabel 11 is een overzicht gegeven van isolaten die nader bestudeerd zijn met sequentieanalyse. Het ArMV-isolaat uit Lelis is afkomstig uit de Noordoostpolder, twee isolaten zijn afkomstig uit de buurt van Nieuwe Niedorp en de infectie met ArMV in Zantedeschia heeft plaatsgevonden op het proefperceel nabij HHW.

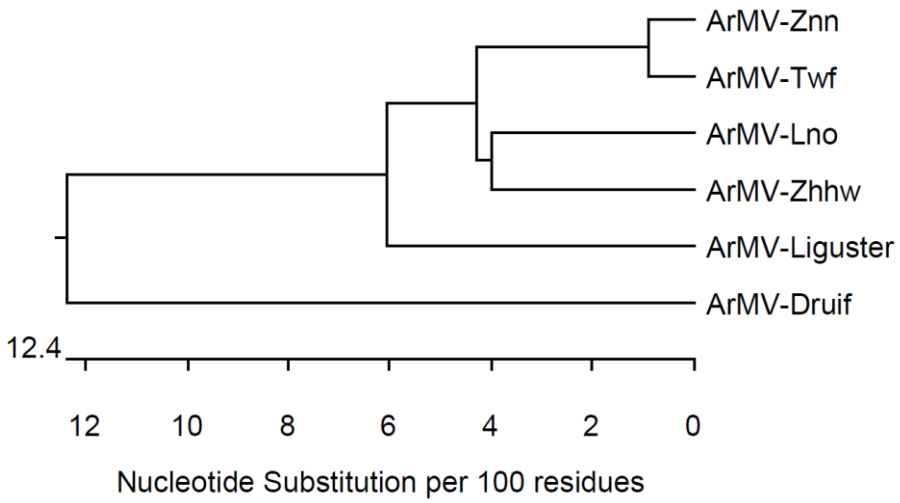
Tabel 11. Herkomst van ArMV isolaten die nader bestudeerd zijn met sequentieanalyse.

Gewas	**Herkomst oorspronkelijke infectie**	**Code ArMV-isolaat**
Lelie, cv. Sorbonne	Noordoostpolder	ArMV-L
Tulp, cv. Ali Baba	West-Friesland	ArMV-T
Zantedeschia	Proefperceel nabij Nieuwe Niedorp	ArMV-Znn
Zantedeschia	Proefperceel nabij Heerhugowaard	ArMV-Zhhw

Viraal RNA werd geëxtraheerd met de Qiagen RNeasy plant minikit (74904, Qiagen) volgens de bijgeleverde werkwijze *Plant Protocol Purfication of total RNA from plant cells and tissues and filamentous fungi*. cDNA-synthese vond plaats met M-MLV Reverse transcriptase (M1705, Promega). Met behulp van diverse primersets is een 1.2 kb sequentie is bepaald van het RNA-dependent RNA polymerase (BaseClear, Leiden). Verkregen sequenties zijn met Clustal-W geanalyseerd met Lasergene DNAStar Software.

8.3 Resultaten & discussie

Op basis van de sequentie analyse is een fylogenetische boom gemaakt. Deze verwantschap tussen verschillende isolaten is te zien in Figuur 8.



Figuur 8. Fylogenetische boom van de verschillende ArMV-virus isolaten op basis van een 1.2 kb sequentie van het RNA-dependent RNA polymerase gen.

De 1.2 kb sequenties van ArMV uit lelie, Zantedeschia en tulp zijn vergeleken met de sequentie van een ArMV isolaat uit *Ligustrum vulgare* (Genbank EU617326.1) en uit druif (Genbank AY303786.1). Zoals Figuur 8 laat zien is de genetische verscheidenheid tussen de isolaten uit de bolgewassen onderling kleiner dan met de andere twee ArMV-isolaten uit liguster en druif. De Zantedeschia-isolaat uit Nieuwe Niedorp (Znn) en het Tulp-isolaat uit West-Friesland (Twf) zijn vrijwel identiek en verschillen minimaal ten op zichte van de andere twee isolaten (Lno en Zhhw).

Ten opzichte van diverse bolgewassen heeft er in lelie zeer beperkt virusinfectieplaats gevonden (Tabel 6). De vraag is of deze beperkte infectie veroorzaakt kan worden door waardplantspecificiteit van de ArMV isolaten die in de virulente uit de omgeving van HHW en NN afkomstig is. Beide ArMV isolaten zijn gekarakteriseerd (Znn en Zhhw) en verschillen onderling. Omdat met beide ArMV-isolaten (uit HHW en NN) infecties in lelie hebben plaatsgevonden (Tabel 6 en toelichting #25) wordt er verondersteld dat waardplantspecificiteit voor ArMV geen of een ondergeschikt rol speelt bij het lage infectiepercentage in lelie. De beperkt waargenomen infectie in lelie, maar ook de afwezigheid van infectie bij sommige andere waardplanten voor ArMV (Tabel 9) wordt daarom waarschijnlijk veroorzaakt door een afkeur van *X. diversicaudatum* voor specifieke waardplanten.

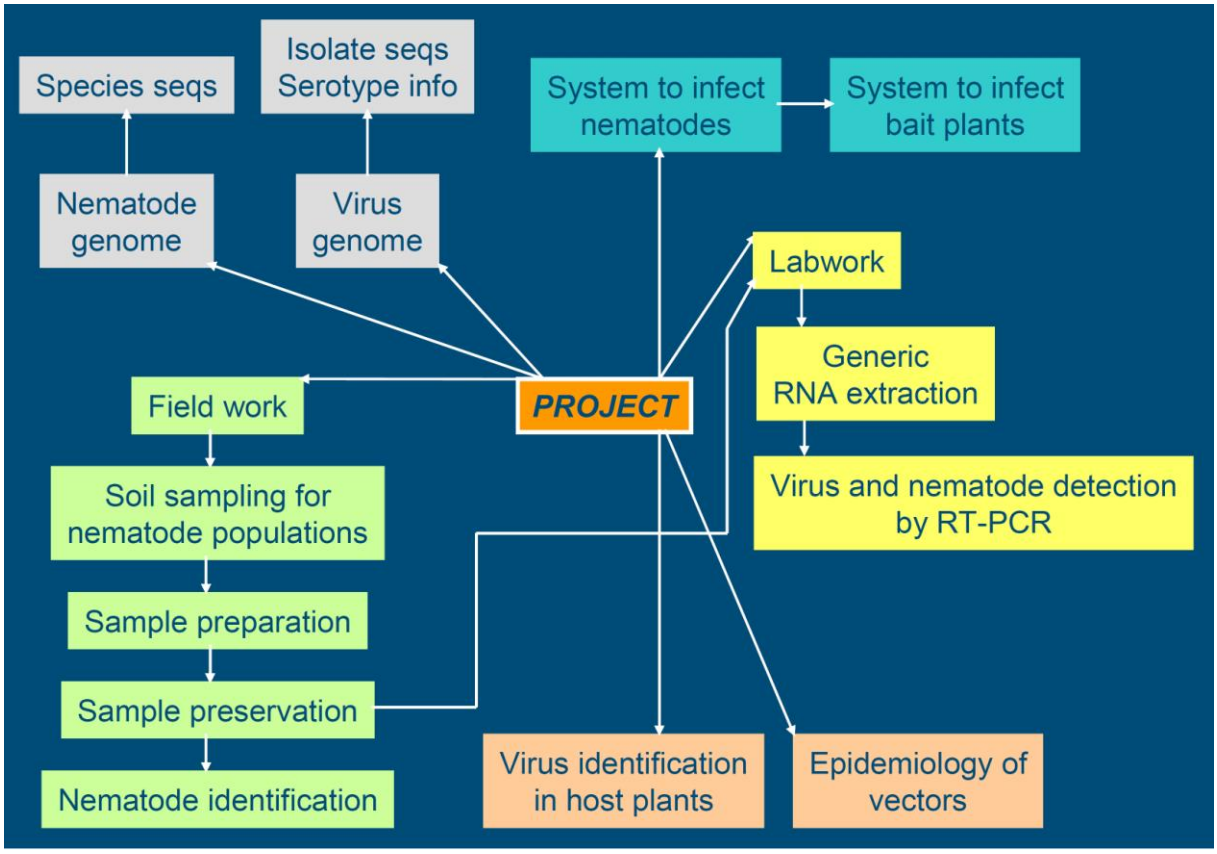
8.4 Conclusie

Er bestaan genetische verschillen tussen de bestudeerde isolaten ArMV. Het is niet onverwacht dat de isolaten uit NN en West-Friesland nauw aan elkaar verwant zijn; Nieuwe Niedorp ligt in de regio West-Friesland. Op basis van de verkregen resultaten zijn er vooralsnog geen aanwijzingen dat genetische variatie in de bestudeerde ArMV-isolaten leidt tot verschillende waardplantspecificiteit.

In dit onderzoek zijn slechts vier ArMV-isolaten uit tulp, respectievelijk lelie bestudeerd. Het is te verwachten dat er meer onderlinge genetische variatie gevonden wordt wanneer er aanvullende ArMV-isolaten uit andere type gewassen of andere regio's worden bestudeerd. Het is mogelijk dat bij toenemende genetische variatie alsnog verschil in virulentie bij bolgewassen wordt gevonden.

9 Detectie van ArMV in nematoden

Het is al decennia mogelijk om d.m.v. het opspoelen van grond de aanwezigheid van *X.diversicaudatum* vast te stellen. Bij aanwezigheid van deze nematoden is er een risico op infectie met ArMV. *X. diversicaudatum* kan bestreden worden door toepassing van chemische grondontsmetting. In het geval dat *X. diversicaudatum* vrij was van ArMV, dan was deze grondontsmetting minder noodzakelijk weest. Er is immers geen actueel risico op besmetting met ArMV. In het oorspronkelijk projectvoorstel is aangegeven dat er geprobeerd zou worden om ArMV in *X. diversicaudatum* te detecteren. Wanneer men deze 'eenvoudig klinkende' activiteit nader onderverdeelt in sub-activiteiten, ontstaat een diagram met noodzakelijke kennis en werkprotocollen zoals afgebeeld in Figuur 9. Het was uiteindelijk niet mogelijk deze activiteiten vanuit dit PT-project uit te voeren. Wel werd een gedeelte van de relevante kennis en de beschikbaarheid van biologisch materiaal geleverd vanuit dit project. De optimalisatie van een aantal kritische praktische onderdelen is uiteindelijk uitgevoerd in een project gefinancierd door het Ministerie van LNV (looptijd 2009-2011, projectcode BO-06-014-013). Uitgebreidere informatie over dit LNV-project is te vinden via www.kennis-online.nl.



Figuur 9. Noodzakelijke kennis en werkprotocollen voor detectie van virussen in nematoden. Zie tekst voor nadere uitleg.

Voor de detectie van virus in een nematode uit een bodemmonster is de volgende kennis noodzakelijk:

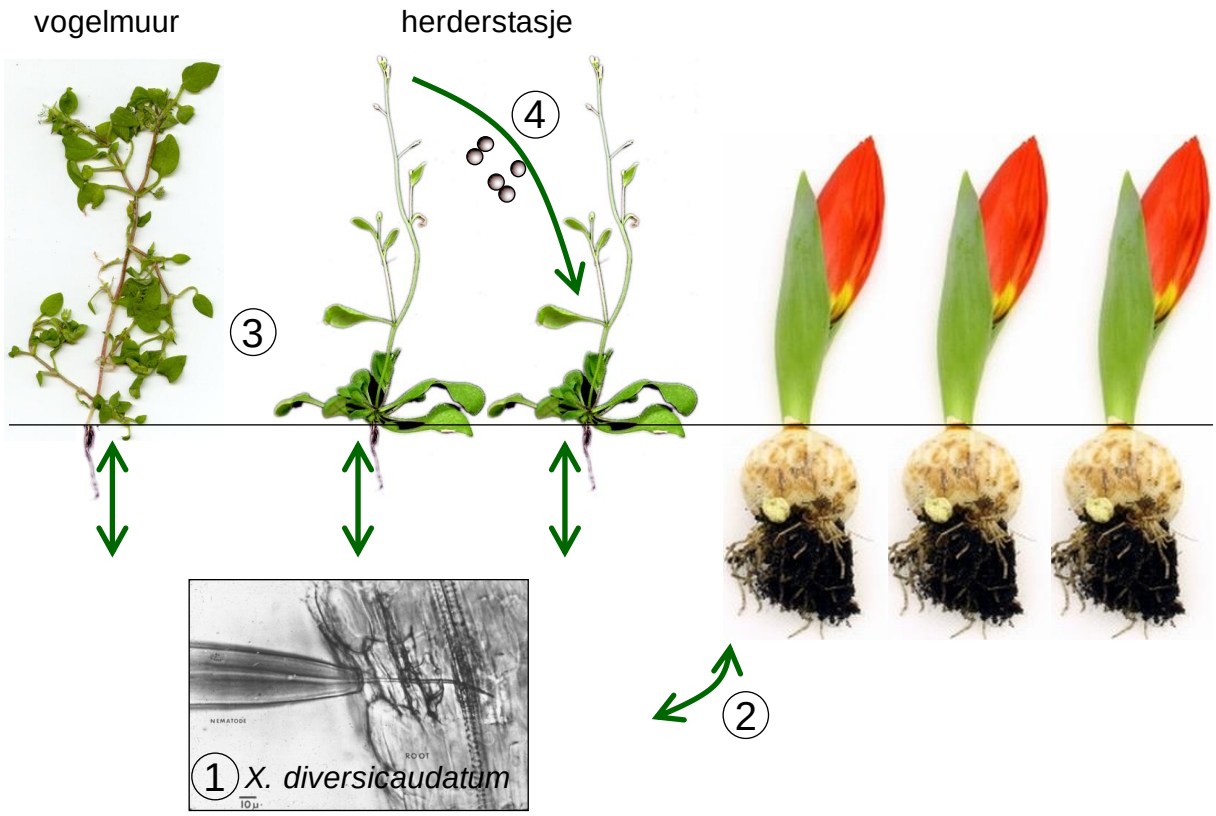
Noodzakelijke kennis	**Project dat kennis levert**
Kennis over epidemiologie van de *X. diversicaudatum* en ArMV (*Epidemiology of vectors*)	**dit project**
Methode voor virusidentificatie in de plant (*Virus identification in host plants*)	**dit project**
Moleculair-genetische informatie over ArMV-isolaten uit diverse gewassen (*Virus genome)*	**dit project**, en www.q-bank.eu
Moleculair-genetische informatie over *X. diversicaudatum* (*Nematode genome and species sequences*)	LNV-project
Biologisch systeem om *X. diversicaudatum* virusbesmet te krijgen (*System to infect nematodes*)	**dit project**
Systeem om vangplanten te gebruiken om de virulentie van grond te bepalen (*System to infect bait plants*)	**dit project**
De juiste percelen en grondmonsters (*Field work*)	**dit project**
Voorschriften en protocollen voor bodembemonstering, monstervoorbereiding, monsterbewaring en (moleculaire) nematode-identificatie (*Soil sampling, sample preparation, samples preservation and nematode identification*)	LNV-project
Laboratoriumprotocollen voor generieke RNA-extractie (*Labwork – generic RNA-extraction*)	LNV-project
Laboratoriumprotocollen voor gelijktijdige detectie van ArMV en *X. diversicaudatum* d.m.v. TaqMAN PCR-toetsen (*Virus and nematode detection by RT-PCR*)	LNV-project

Dit PT-project heeft uitgebreide informatie en materialen aangeleverd voor de uitvoering van LNV-project BO-06-014-013. Als voorlopig resultaat heeft dit LNV-project in maart 2011 de volgende tussentijdse resultaten opgeleverd:

- Voorschriften voor bewaring van nematoden na het opspoelen
- Voorschriften voor generieke RNA-extractie uit *X. diversicaudatum*
- Een duplex real-time TaqMAN toets voor een simultane detectie van ArMV en *X. diversicaudatum*.
- Met deze methodes is het mogelijk om ArMV te detecteren in een monster met *X. diversicaudatum* nematoden en in een monster met de LX-fractie.
- De toets is gevoelig: minimaal 6 ArMV-besmette nematoden moeten in het nematodemonster aanwezig zijn om een positief toetsresultaat te krijgen.
- Er is begin 2011 nog onvoldoende correlatie tussen het geïnfecteerd raken van toetsplanten te velde en de uitslag van de moleculaire toets (te vaak vals negatieve toetsuitslag). Dit wordt mede veroorzaakt door contaminatie van het nematodemonster met gronddeeltjes. Deze gronddeeltjes hebben een te groot negatief effect op de RNA-extractie procedure. Dit zijn aandachtspunten waarin in 2011 binnen het LNV-project aandacht aan wordt besteed.

10 Algemene discussie en conclusies

In dit project is onderzoek gedaan naar factoren en omstandigheden die betrokken zijn bij infectie en verspreiding van ArMV in bloembolgewassen. Verkregen kennis uit literatuur en experimenten is vertaald naar een schematische weergave van de verspreidingsroutes voor ArMV tijdens teelt van bollen (*Figuur 10*).



Figuur 10. Schematische weergave van verspreidingsroutes en virusreservoirs voor ArMV. (1) ArMV wordt verspreid door de vrij levende nematode Xiphinema diversicaudatum. (2) Bolgewassen als bijvoorbeeld tulp kunnen via *X. diversicaudatum* geïnfecteerd raken met ArMV. Anderzijds kan een virusvrije *X. diversicaudatum* besmet raken met ArMV wanneer deze nematode zich voedt op een ArMV-geïnfecteerd bolgewas. (3) Onkruiden als vogelmuur (*Stellaria media*) en herderstasje (*Capsella bursa-pastoris*) zijn waardplant voor ArMV. Deze onkruiden kunnen enerzijds ArMV-geïnfecteerd raken via *X. diversicaudatum*. Anderzijds kunnen nematoden besmet raken met ArMV wanneer ze voeden op virus-geïnfecteerd onkruid. Deze onkruiden kunnen als meerjarig virusreservoir dienen omdat ArMV via zaad overgaat naar een nieuwe generatie onkruid (4). Tevens leidt virusoverdracht via zaad tot een verspreiding over grotere afstand van virusgeinfecteerd plantmateriaal dan virusverspreiding uitsluitend via nematoden die slechts 0.5 meter per jaar afleggen.

In dit onderdeel van het rapport worden de verkregen resultaten in een breder perspectief geplaatst en wordt besproken wat de impact van resultaten is voor de bollensector.

10.1 Risico op ArMV infectie

Het risico op een infectie met ArMV is van een aantal factoren afhankelijk:

1. **Het gewas is een waardplant voor ArMV**. In Bijlage 1 – Waardplantenreeks ArMV staat een overzicht van gewassen die vatbaar zijn voor ArMV.
2. **Aanwezigheid van de vector (*X. diversicaudatum*).** Deze kennis is te verkrijgen met bodemonderzoek. Wanneer u zelf een bodemmonster neemt, laat u dan door het bodemlaboratorium goed informeren over de wijze van grondsteken en het nemen van een representatieve bemonstering van het perceel.
3. **De aanwezige *X. diversicaudatum* nematoden zijn reeds besmet met ArMV.** Kennis over de virulentie van de grond is op dit moment niet eenvoudig te verkrijgen. Op termijn moet hiervoor een laboratoriumtoets beschikbaar komen (H9). Een enigszins omslachtig alternatief is de aanplant van *Petunia* planten op het perceel, of op grond afkomstig van het perceel. Een infectie met ArMV vanuit de grond is na 6-8 weken meetbaar m.b.v. immunostrip (bijv. Agdia Flashkit® ArMV) of een ELISA-toets bij een laboratorium.
4. **Er is een infectiebron voor ArMV op het perceel aanwezig**: deze infectiebron kan het bolgewas zelf zijn of virusgeïnfecteerd onkruid. Mocht *X. diversicaudatum* op een perceel aanwezig zijn, dan kan het relevant zijn deze kennis te verkrijgen. Dit kan door het bemonstering van vatbare onkruiden zoals herderstasje, vogelmuur, paarse dovenetel of perzikkruid en deze te toetsen m.b.v. immunostrip (bijv. Agdia Flashkit® ArMV) of een ELISA-toets bij een laboratorium.
5. Wanneer aan de risicocriteria 1 en 2 en 3 of 4 wordt voldaan, dan is het risico op infectie met ArMV nog altijd afhankelijk van de **aantrekkelijkheid van het gewas** voor *X. diversicaudatum*. Uit dit onderzoek is gebleken dat diverse, volgens de literatuur, vatbare bolgewassen niet of nauwelijks geïnfecteerd raakten met ArMV (bijv. lelie, narcis, Hollandse Iris). Is een gewas niet aantrekkelijk voor *X. diversicaudatum* dan zal de nematode zich niet of nauwelijks voeden op de wortels van dit gewas. Hierdoor zal er geen of weinig infectie met ArMV optreden. In tegenstelling op deze waarneming werd bij gewassen als tulp, gladiool en Zantedeschia wel sterke toename aan ArMV-infectie gezien. Blijkbaar zijn deze gewassen veel aantrekkelijker voor *X. diversicaudatum* dan gewassen als lelie, narcis, Hollandse Iris.
6. Gedurende dit meerjarig project is de ervaring opgebouwd dat het **risico op virusinfectie niet gelijkmatig aanwezig is op een perceel**. Met name op het perceel nabij HHW is uit meerjarig onderzoek gebleken dat er '*hot spots'* voor ArMV-infectie zijn. Er is geen relatie gevonden tussen de dichtheid *X. diversicaudatum* nematoden en deze *hot spots*. Blijkbaar kan er grote variatie zijn infectieusiteit van *X. diversicaudatum*. Dit is een belangrijke ervaring om rekening mee te houden bij de ontwikkeling van een toets die virus in nematoden detecteert. Een representatieve toetsuitslag is alleen mogelijk met een representatieve monstername.

10.2 Risico op virusverspreiding binnen partijen

Wanneer een ArMV-infectie in een partij aanwezig is, dan zal het viruspercentage in de partij uitsluitend toenemen wanneer er (a) geteeld wordt op een perceel met *X. diversicaudatum* en (b) het gewas voor *X. diversicaudatum* aantrekkelijk genoeg is om op te voeden.

Bij gewassen als tulp, gladiool en Zantedeschia zijn relatief hoge percentages primaire infecties gevonden wanneer deze gewassen werden geteeld op infectieuze grond. Bij lelie vond niet of nauwelijks infectie plaats. Blijkbaar zijn gewassen als tulp, gladiool en Zantedeschia aantrekkelijke gewasen voor *X. diversicaudatum* en effectieve waardplanten voor ArMV.

Op basis van deze kenmerken wordt er verwacht dat het risico op virusverspreiding binnen partijen bij deze gewassen veel hoger zal zijn dan bij een gewas als lelie.

Tijdens de vegetatieve vermeerdering van bloembolgewassen via nieuw gevormde tulpenbollen, gladioolkralen, lelieschubben of Zantedeschia-groeipunten zal een aanwezige ArMV-infectie mee gaan naar het jonge gewas. Dat ArMV in de binnenste kransen van een leliebol met ELISA niet werd waargenomen (§7.3), heeft wordt waarschijnlijk veroorzaakt door een te lage virusconcentratie die met ELISA niet te detecteren is. Er wordt niet verwacht dat deze binnenste schubben in absolute zin virusvrij zijn.

10.3 Meerjarenrisico's van infectieuze percelen

Wanneer *X. diversicaudatum* op een perceel aanwezig is, en er is virusgeïnfecteerd materiaal geteeld, dan is het risico groot dat *X. diversicaudatum* besmet is met ArMV. In dit geval kan *X. diversicaudatum* aansluitend op de virusgeïnfecteerde teelt het virus gedurende vele maanden verspreiden. Er zijn een aantal factoren die een bijdrage leveren aan de instandhouding van dit soort infectieuze percelen.

- **Meerjarige teelt van vatbare gewassen**. Dit kunnen vatbare bloembolgewassen, akkerbouw of vaste planten zijn die in een rotatieschema worden geteeld. *X. diversicaudatum* verplaatst zich maximaal 0.5 meter per jaar (in horizontale richting). Bij virusverspreiding via *X. diversicaudatum* vindt de jaarlijks verspreiding over relatief kleine afstand plaats. Vanwege de breedtegroei van wortels kan een ArMV-verspreiding vanuit een infectiebron (de plant zelf) per seizoen over langere afstand plaatsvinden. Het is niet aannemelijk dat er virusverspreiding via direct wortel-wortelcontact kan plaatsvinden. Wel is te verwachten dat wortelresten van een virusgeïnfecteerd gewas als infectiebron voor *X. diversicaudatum* kan dienen.
- **Virusreservoirs in onkruid**. Bij onvoldoende onkruidbeheersing kunnen virusvrije onkruiden als herderstasje, vogelmuur, paarse dovenetel of perzikkruid geïnfecteerd raken met ArMV. Omdat bij onkruiden een ArMV-infectie via zaad naar de volgende generatie doorgegeven kan worden, kan een virusinfectie enerzijds zonder tussenkomst van *X. diversicaudatum* voor langere tijd in onkruid aanwezig zijn. Anderzijds kan een virusinfectie via zaad over langere afstand worden verspreid.
- Op **grasland** komt vaak ook een klavermengsel voor. Klaver is een waardplant voor ArMV, gras niet. In dit onderzoek is ook een besmetting in klaver aangetoond. Door deze combinatie van vatbare en niet-vatbare gewassen kan een ArMV-infectie mogelijk toch langere tijd op een perceel aanwezig blijven wanneer *X. diversicaudatum* aanwezig is. Dit is mogelijk een verklaring waarom op het perceel nabij NN 1.5 jaar na de teelt van tulp nog steeds virulente nematoden aanwezig zijn. Het is niet duidelijk of in de 1.5 jaar na de teelt van geïnfecteerde tulp het aanwezige klaver/grasmengsel een bijdrage heeft geleverd aan deze langdurige instandhouding van de infectieusiteit van de grond. Op basis van deze resultaten kan er dus degelijk een risico op ArMV-infectie zijn bij teelt op gescheurd grasland. Echter, in de praktijk wordt vaak pas om de 7 jaar gescheurd. Verwacht mag worden dat in deze periode de infectiedruk is verdwenen, tenzij klaver de infectieusiteit van *X. diversicaudatum* in stand houdt.

11 Maatregelen voor de praktijk

Selectie van percelen
Bij afwezigheid van de vector *X.diversicaudatum* zal er geen verspreiding van ArMV kunnen plaatsvinden. Controleer daarom het perceel op aanwezigheid van de vector (L/X fractie bij nematoden onderzoek).

Wanneer *X.diversicaudatum* in de grond aanwezig is, dan zijn een aantal zaken belangrijk:
- *X.diversicaudatum* verspreidt zich tientallen centimeters per jaar. Daarnaast is er een risico op nematodenverspreiding over langere afstand en introductie van *X. diversicaudatum* via het verslepen van grond d.m.v. landbouwvoertuigen.
- Wanneer *X. diversicaudatum* zich op ArMV-geïnfecteerde planten voedt, kan ArMV tot anderhalf jaar in de nematode aanwezig blijven. Het virus kan gedurende deze periode overdragen worden naar gezonde waardplanten.
- De infectiedruk voor ArMV is te bepalen door virusanalyse van onkruid als herderstasje, vogelmuur, paarse dovenetel of perzikkruid of virusanalyse van vangplanten als *Petunia*.
- *X.diversicaudatum* kan vooralsnog alleen met chemische ontsmetting bestreden worden. Vanwege de beperkte dieptewerking, is chemische grondontsmetting helaas niet voldoende effectief om een populatie *X. diversicaudatum* volledig uit te roeien.

Virusvrij uitgangsmateriaal
De BKD en Naktuinbouw hebben betrouwbare toetsen voor het selecteren van virusvrije partijen. Bij selectie van uitgangsmateriaal is het belangrijk om de gevoelige PCR-toets toe te passen in plaats van de minder gevoelige ELISA-toets.

Onkruid
Diverse onkruiden als dovenetel (*Lamium purpureum*), perzikkruid (*Persicaria maculosa*), herderstasje *(Capsella bursa-pastoris*) en vogelmuur (*Stellaria media*) zijn waardplant voor ArMV. ArMV-besmet onkruid functioneert op percelen met *X. diversicaudatum* waarschijnlijk als virusreservoir. Hierdoor kan tijdens de teelt, maar ook tussen teelten een virusbesmetting aanwezig blijven. Een strenge onkruidbeheersing is daarom belangrijk bij het voorkomen van ArMV-besmette percelen.

Bij herderstasje verspreidt ArMV ook via het zaad. Op deze manier kan een ArMV-infectie binnen maanden over grote afstand verspreiden. Een strenge onkruidbeheersing is daarom belangrijk bij het voorkomen van ArMV-besmette percelen.

Zelf doen!
- BKD, Naktuinbouw en PPO-BBF en beschikken over betrouwbare virustoetsen (ELISA en PCR).
- Agdia Biofords verkoopt zelftests voor ArMV (Flashkit® ArMV) Dit zijn snelle detectiekits voor ArMV en zijn gebruiksvriendelijk, even gevoelig als ELISA, geven binnen 5-10 minuten resultaat en kosten ±€5/stuk. Deze tests zijn met name goed te gebruiken bij het toetsen van onkruiden en vangplanten op aanwezigheid van ArMV. Deze tests zijn minder geschikt en in enkele gevallen ongeschikt voor het toetsen van bolgewassen.
  Controleer zelf eens het onkruid op ArMV… Er is pas echt risico wanneer er ArMV-besmet onkruid staat!

12 Referenties

Anonymous. Data Sheets on Quarantine Pests - Arabis mosaic nepovirus. CABI and EPPO for the EU under Contract 90/399003.
http://www.eppo.org/QUARANTINE/virus/Arabis_mosaic_nepovirus/ARMV00_ds.pdf

Brown, D.J.F.; Coiro, M.I. (1983) The total reproductive capacity and longevity of individual female *Xiphinema diversicaudatum* (Nematoda: Dorylaimida) Nematologia Mediterranea 11: 87-92.

Brown, D.J.F. (1986) The transmisson of two strains of arabis mosaic virus from England by populations of *Xiphinema diversicaudatum* (Nematoda: Dorylaimoidea) from ten countries. Revue de Nematologie 9: 83-87

Dupuis L., Cobanov P., Bassler A., Krczal, G., Wetzel T., 2008 Complete genome sequence of a virulent isolate of Arabis Mosaic Virus from privet (Ligustrum vulgare) Archives of Virology 153:1611–1613

Griffiths, B.S.; Robertson, W.M. (1984) Nuclear changes induced by the nematode *Xiphinema diversicaudatum* in root-tips of strawberry. Histochemical Journal 16: 265-273.

Jones, A.T. ; Mitchell, M.J.; Brown, D.J.F. (1989) Infectibility of some new raspberry cultivars with arabis mosaic and raspberry ringspot viruses and further evidence for variation in British isolates of these two nepoviruses. Annals of Applied biology 115: 57-69.

Seinhorst, J.W. en Van Hoof, H.A. (1982) Atlas of Plant Parasitic nematoden of The Netherlands – Distribution of Longidoridae, Trichodoridae and Xiphinemidae. Uitgave van Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek Wageningen, Nederland.

Wyss, U. (1973) Reaktion von Cytoplams und Zellkern in von *Trichodorus similis* besuagten Wurzelhaaren. Wirt: *Nicotiana tabacum*. Mitteilungen aus der biol. Bundesanstalt für Land- und forstwirtschaft, Berlin-Dahlem 151: 305-306. Hel. Abstracts 43:1098.

13 Output

Vakbladartikel
- M. de Kock, R. H. L. Dees (2010). Arabis mozaïekvirus – Risico's uit grond en onkruid. Bloembollenvisie 193: blz 24-25 (zie ook pagina 59) (Zie Bijlage 2)

Presentaties
- International advances in Plant Virology (sept 2010)
- Bijeenkomst van de nematoden-werkgroep van de Koninklijke Nederlandse Plantenziektenkundige Vereniging (17 november 2010)
- Bijeenkomst Anthos PAC-H (3 november 2010)
- Posterpresentatie tijdens - PPO Kennismiddagen (februari, mei en september 2010, februari 2011)
- Presentatie KAVB Jaarvergadering Lelie (februari 2011)
- Presentatie Virusclub Tulp Marknesse (april 2011)

Overig
- Memo - Groen Kennisnet (http://www.groenkennisnet.nl/Pages/Arabis-moza%C3%AFekvirus.aspx)
- Bijdrage aan Fyto-quest (http://www.fytoquest.nl/)
- Bijdrage aan Fyto-ondernemerscheck (http://www.fyto-ondernemerscheck.nl/)

14 Bijlagen

Bijlage 1 – Waardplantenreeks ArMV

	Latijnse naam	Nederlandse naam
1	*Aconitum*	Aconitum
2	*Agapanthus*	Agapanthus
3	*Agastache*	Agastache
4	*Amaranthus caudatus*	Kattenstaartamarant
5	*Anagallis arvensis*	Rood guichelheil
6	*Anemone*	Anemone
7	*Antirrhinum majus*	Grote leeuwenbek
8	*Apium graveolens*	Bladselderij
9	*Apium graveolens var. dulce*	Bleekselderij
10	*Arabis hirsuta*	Ruige scheefkelk
11	*Armoracia rusticana*	Mierikswortel
12	*Asparagus officinalis*	Asperge
13	*Aster*	Aster
14	*Astilbe*	Spirea of Spierkruid
15	*Atripex hortensis*	Tuinmelde
16	*Bellis perennis*	Madeliefje
17	*Bergenia*	Bergenia
18	*Beta vulgaris*	Snijbiet
19	*Betula pendu*	Berk
20	*Brassica campestris*	Koolzaad
21	*Brassica campestris ssp. pekinensis*	Chinese kool
22	*Brassica campestris ssp. rapa*	Raapsteel
23	*Brassica juncea*	Sareptamosterd
24	*Brassica oleracea var. botrytis*	Bloemkool
25	*Buxus sempervirens*	Randpalm (buxus)
26	*Calendula officinalis*	Goudsbloem
27	*Campanula*	Campanula
28	*Capsella bursa-pastoris*	Herderstasje
29	*Carum segetum*	Karwij
30	*Celosia argentea f. cristata*	Celosia
31	*Chamaecyparis lawsoniana*	Californische cipres
32	*Chenopodium album*	Melganzenvoet
33	*Chenopodium amaranticolor*	Ganzevoet
34	*Chenopodium ambrosioides*	Ganzevoet, welriekende
35	*Chenopodium foetidum*	Stinkende ganzenvoet
36	*Chenopodium hybridum*	Esdoornganzenvoet
37	*Chenopodium murale*	Muurganzenvoet
38	*Chenopodium quinoa*	Gierstmelde
39	*Convellaria*	Lelietje-van-Dalen

40	*Cucumis melo*	Meloen
41	*Cucumis sativus*	Komkommer
42	*Cucurbita pepo*	Courgette
43	*Cyamopsis tetragonoloba*	Guarplant
44	*Cyphomandra betacea*	Boomtomaat
45	*Daphne mezereum*	Rood peperboompje
46	*Datura stramonium*	Doornappel
47	*Daucus carota*	Wilde peen
48	*Delphinium hybridum*	Ridderspoor
49	*Dianthus barbatus*	Duizendschoon
50	*Dianthus caryophyllus*	Anjer
51	*Dicentra*	Gebroken hartje
52	*Emilia sagittata*	Emilia sagittata
53	*Euonymus europaeus*	Kardinaalshoed
54	*Fagopyrum esculentum*	Boekweit
55	*Forsythia × intermedia*	Chinees klokje
56	*Fragaria vesca*	Bosaardbei
57	*Fraxinus excelsior*	Es
58	*Geranium*	Geranium
59	*Gladiolus*	Gladiool
60	*Glycine max*	Sojaboon
61	*Gomphrena globosa*	Kogelamarant
62	*Helenium*	Helenium
63	*Hosta sieboldiana*	Hosta
64	*Humulus lupulus*	Hop
65	*Iris*	Iris
66	*Jasminum officinale*	Jasmijn
67	*Lactuca sativa*	Kropsla
68	*Lamium amplexicaule*	Hoenderbeet
69	*Lathyrus odoratus*	Siererwt
70	*Lavandula*	Lavendel
71	*Liatris*	Lampenpoetser
72	*Ligustrum vulgare*	Liguster
73	*Lilium*	Lelie
74	*Lobelia erinus*	Tuinlobelia
75	*Lycopersicon esculentum*	Tomaat
76	*Melilotus officinalis*	Honingklaver
77	*Mentha arvensis*	Akkermunt
78	*Myosotis sylvatica*	Bosvergeet-mij-nietje
79	*Narcissus pseudonarcissus*	Narcis
80	*Nicandra physalodes*	Zegekruid
81	*Nicotiana clevelandii*	Nicotiana clevelandii
82	*Nicotiana glutinosa*	Siertabak
83	*Nicotiana rustica*	Boerentabak
84	*Nicotiana sylvestris*	Siertabak
85	*Nicotiana tabacum*	Tabak
86	*Ocimum basilicum*	Basilicum of bazielkruid
87	*Petunia × hybrida*	Petunia
88	*Phaseolus coccineus*	Pronkboon

89	*Phaseolus vulgaris*	Boon
90	*Phlox drummondii*	Vlambloem
91	*Physalis floridana*	Lampionplant
92	*Pisum sativum*	Erwt
93	*Plantago lanceolata*	Smalle weegbree
94	*Polygonum aviculare*	Gewoon varkensgras
95	*Polygonum persicaria*	Perzikkruid
96	*Prunus avium*	Zoete kers
97	*Prunus domestica*	Pruim
98	*Prunus persica*	Perzik
99	*Ranunculus repens*	Boterbloem
100	*Rheum rhaponticum*	Rabarber
101	*Ribes*	Ribes
102	*Rosa*	Roos
103	*Rubus idaeus*	Framboos
104	*Rubus procerus*	Braam
105	*Salvia*	Salvia
106	*Sambucus nigra*	Gewone vlier
107	*Sedum*	Sedum
108	*Senecio vulgaris*	Klein kruiskruid
109	*Solanum nigrum*	Zwarte nachtschade
110	*Solanum tuberosum*	Aardappel
111	*Spinacia oleracea*	Spinazie
112	*Stellaria media*	Vogelmuur
113	*Syringa vulgaris*	Sering
114	*Taraxacum officinale*	Paardenbloem
115	*Tetragonia expansa*	Nieuw-Zeelandse spinazie
116	*Tetragonia tetragonioides*	Nieuwzeelandse Spinazie
117	*Torenia fournieri*	Torenia
118	*Trifolium repens*	Witte klaver
119	*Tropaeolum majus*	Oost-Indische kers
120	*Tulipa*	Tulp
121	*Urtica dioica*	Brandnetel
122	*Urtica urens*	Kleine brandnetel
123	*Vicia faba*	Tuinboon
124	*Vigna unguiculata*	Kousenband
125	*Vinca*	Maagdenpalm
126	*Vitis vinifera*	Druif
127	*Zantedeschia*	Zantedeschia
128	*Zinnia elegans*	Zinia

	Nederlandse naam	Latijnse naam
1	Aardappel	*Solanum tuberosum*
2	Aconitum	*Aconitum*
3	Agapanthus	*Agapanthus*
4	Agastache	*Agastache*
5	Akkermunt	*Mentha arvensis*
6	Anemone	*Anemone*
7	Anjer	*Dianthus caryophyllus*
8	Asperge	*Asparagus officinalis*
9	Aster	*Aster*
10	Basilicum of bazielkruid	*Ocimum basilicum*
11	Bergenia	*Bergenia*
12	Berk	*Betula pendu*
13	Bladselderij	*Apium graveolens*
14	Bleekselderij	*Apium graveolens var. dulce*
15	Bloemkool	*Brassica oleracea var. botrytis*
16	Boekweit	*Fagopyrum esculentum*
17	Boerentabak	*Nicotiana rustica*
18	Boomtomaat	*Cyphomandra betacea*
19	Boon	*Phaseolus vulgaris*
20	Bosaardbei	*Fragaria vesca*
21	Bosvergeet-mij-nietje	*Myosotis sylvatica*
22	Boterbloem	*Ranunculus repens*
23	Braam	*Rubus procerus*
24	Brandnetel	*Urtica dioica*
25	Californische cipres	*Chamaecyparis lawsoniana*
26	Campanula	*Campanula*
27	Celosia	*Celosia argentea f. cristata*
28	Chinees klokje	*Forsythia × intermedia*
29	Chinese kool	*Brassica campestris ssp. pekinensis*
30	Courgette	*Cucurbita pepo*
31	Doornappel	*Datura stramonium*
32	Druif	*Vitis vinifera*
33	Duizendschoon	*Dianthus barbatus*
34	Emilia sagittata	*Emilia sagittata*
35	Erwt	*Pisum sativum*
36	Es	*Fraxinus excelsior*
37	Esdoornganzenvoet	*Chenopodium hybridum*
38	Framboos	*Rubus idaeus*
39	Ganzevoet	*Chenopodium amaranticolor*
40	Ganzevoet, welriekende	*Chenopodium ambrosioides*
41	Gebroken hartje	*Dicentra*
42	Geranium	*Geranium*
43	Gewone vlier	*Sambucus nigra*
44	Gewoon varkensgras	*Polygonum aviculare*
45	Gierstmelde	*Chenopodium quinoa*
46	Gladiool	*Gladiolus*
47	Goudsbloem	*Calendula officinalis*

48	Grote leeuwenbek	*Antirrhinum majus*
49	Guarplant	*Cyamopsis tetragonoloba*
50	Helenium	*Helenium*
51	Herderstasje	*Capsella bursa-pastoris*
52	Hoenderbeet	*Lamium amplexicaule*
53	Honingklaver	*Melilotus officinalis*
54	Hop	*Humulus lupulus*
55	Hosta	*Hosta sieboldiana*
56	Iris	*Iris*
57	Jasmijn	*Jasminum officinale*
58	Kardinaalshoed	*Euonymus europaeus*
59	Karwij	*Carum segetum*
60	Kattenstaartamarant	*Amaranthus caudatus*
61	Klein kruiskruid	*Senecio vulgaris*
62	Kleine brandnetel	*Urtica urens*
63	Kogelamarant	*Gomphrena globosa*
64	Komkommer	*Cucumis sativus*
65	Koolzaad	*Brassica campestris*
66	Kousenband	*Vigna unguiculata*
67	Kropsla	*Lactuca sativa*
68	Lampenpoetser	*Liatris*
69	Lampionplant	*Physalis floridana*
70	Lavendel	*Lavandula*
71	Lelie	*Lilium*
72	Lelietje-van-Dalen	*Convellaria*
73	Liguster	*Ligustrum vulgare*
74	Maagdenpalm	*Vinca*
75	Madeliefje	*Bellis perennis*
76	Melganzenvoet	*Chenopodium album*
77	Meloen	*Cucumis melo*
78	Mierikswortel	*Armoracia rusticana*
79	Muurganzenvoet	*Chenopodium murale*
80	Narcis	*Narcissus pseudonarcissus*
81	Nicotiana clevelandii	*Nicotiana clevelandii*
82	Nieuwzeelandse Spinazie	*Tetragonia tetragonioides*
83	Nieuw-Zeelandse spinazie	*Tetragonia expansa*
84	Oost-Indische kers	*Tropaeolum majus*
85	Paardenbloem	*Taraxacum officinale*
86	Perzik	*Prunus persica*
87	Perzikkruid	*Polygonum persicaria*
88	Petunia	*Petunia × hybrida*
89	Pronkboon	*Phaseolus coccineus*
90	Pruim	*Prunus domestica*
91	Raapsteel	*Brassica campestris ssp. rapa*
92	Rabarber	*Rheum rhaponticum*
93	Randpalm (buxus)	*Buxus sempervirens*
94	Ribes	*Ribes*
95	Ridderspoor	*Delphinium hybridum*
96	Rood guichelheil	*Anagallis arvensis*

97	Rood peperboompje	*Daphne mezereum*
98	Roos	*Rosa*
99	Ruige scheefkelk	*Arabis hirsuta*
100	Salvia	*Salvia*
101	Sareptamosterd	*Brassica juncea*
102	Sedum	*Sedum*
103	Sering	*Syringa vulgaris*
104	Siererwt	*Lathyrus odoratus*
105	Siertabak	*Nicotiana glutinosa*
106	Siertabak	*Nicotiana sylvestris*
107	Smalle weegbree	*Plantago lanceolata*
108	Snijbiet	*Beta vulgaris*
109	Sojaboon	*Glycine max*
110	Spinazie	*Spinacia oleracea*
111	Spirea of Spierkruid	*Astilbe*
112	Stinkende ganzenvoet	*Chenopodium foetidum*
113	Tabak	*Nicotiana tabacum*
114	Tomaat	*Lycopersicon esculentum*
115	Torenia	*Torenia fournieri*
116	Tuinboon	*Vicia faba*
117	Tuinlobelia	*Lobelia erinus*
118	Tuinmelde	*Atripex hortensis*
119	Tulp	*Tulipa*
120	Vlambloem	*Phlox drummondii*
121	Vogelmuur	*Stellaria media*
122	Wilde peen	*Daucus carota*
123	Witte klaver	*Trifolium repens*
124	Zantedeschia	*Zantedeschia*
125	Zegekruid	*Nicandra physalodes*
126	Zinia	*Zinnia elegans*
127	Zoete kers	*Prunus avium*
128	Zwarte nachtschade	*Solanum nigrum*

ONDERZOEK

Arabis-mozaïekvirus - risico's uit grond en onkruid



Vogelmuur is een van de waardplanten van ArMV

Vanwege de vatbaarheid van verschillende voedselgewassen voor Arabis-mozaïekvirus (ArMV) wordt door een aantal ontvangende landen streng gecontroleerd op aanwezigheid van dit virus. Omdat er weinig kennis is over dit virus financiert het PT sinds 2008 onderzoek naar de risico's op ArMV-besmetting bij bloembollen en de verspreiding van dit virus door de nematode Xiphinema. Ondanks dat de interactie tussen plant, nematode en virus erg complex lijkt te zijn, zijn er voldoende maatregelen te nemen om met weinig risico's ArMV-vrij te telen.

Tekst: Maarten de Kock en Robert Dees, PPO Bloembollen
Foto's: PPO, Arie Dwarswaard

Arabis-mozaïekvirus (ArMV) is een virus met een zeer brede waardplantenreeks (Tabel 1). Niet alleen bloembolgewassen, maar ook vaste planten, diverse onkruiden en voedselgewassen zijn vatbaar voor dit virus. In veel van deze gevallen is een ArMV-infectie symptoomloos aanwezig. Ook in bloembolgewassen vertoont ArMV doorgaans geen virussymptomen, al lijkt een eerstejaars infectie in tulp lichte virussymptomen te geven die lijken op een infectie met TVX. In de daaropvolgende jaren zijn virussymptomen afwezig terwijl ArMV wel degelijk aanwezig is. Er zijn betrouwbare laboratoriumtoetsen beschikbaar voor ArMV. Vanwege de grote schadelijkheid van ArMV in verschillende voedselgewassen zoals aardbei, framboos, druif en hop stellen diverse ontvangende landen waaronder Japan, China en Amerika strenge eisen voor export. Van plant-tot-plant verspreiding van ArMV vindt plaats door de nematode Xiphinema diversicaudatum. Waar dit aaltje in Nederland specifiek wel en niet voorkomt, is momenteel niet duidelijk. Figuur 1 geeft schematisch aan hoe deze verspreiding in zijn werk gaat.

Selectie van waardplanten voor ArMV. In totaal zijn er meer dan 120 waardplanten voor dit virus.

Bloembolgewassen	Gladiool	Lelie	Tulp
	Krokus	Narcis	Zantedeschia
Vaste planten	Aconitum	Convallaria	Hosta
	Agapanthus	Gentiana	Iris
	Astilbe	Geranium	Phlox
	Campanula		
Voedselgewassen	Aardappel	Boonsoorten	Koolzaad
	Asperge	Koolsoorten	Suikerbiet
onkruid	veel soorten waaronder:	Herderstasje	Vogelmuur

BESMETTING IN GROND LANG AANWEZIG

Het lijkt er op dat een ArMV-besmetting in de grond pleksgewijs als een lappendekken aanwezig is, ondanks dat X. diversicaudatum op het volledige perceel aanwezig is. Tijdens het onderzoek werd ArMV aangetroffen in herderstasje en vogelmuur. Dit was opmerkelijk omdat het ruim anderhalf jaar geleden was dat er ArMV-geïnfecteerde tulpen waren geteeld. Tussentijds lag er grasland dat zover als bekend niet geïnfecteerd kan raken met ArMV. Een virusinfectie kan dus voor langere tijd in de grond en in het onkruid aanwezig blijven. X. diversicaudatum legt geen grote afstanden af maar via onkruidzaad kan het virus over grotere afstand een perceel besmetten. Een daaropvolgende teelt kan daardoor met ArMV besmet raken wanneer een voorgaande teelt niet virusvrij was en X. diversicaudatum aanwezig is. Een besmetting met ArMV vanuit de grond in een nieuwe teelt met virusvrij uitgangsmateriaal is in het onderzoek aangetoond voor onder andere Zantedeschia, gladiool en dahlia.

VERSCHILLENDE STAMMEN?

Het lijkt er op dat er verschillende ArMV-stammen aanwezig zijn in bijvoorbeeld tulp, gladiool en lelie. De ArMV-stam die in tulp voorkomt kan Zantedeschia, gladiool, dahlia en onkruid infecteren. Daarentegen raakt lelie vooralsnog niet geïnfecteerd wanneer deze op een virusbesmet perceel wordt geteeld waar de tulpenvariant van ArMV aanwezig is. Ook lijkt er op dit perceel geen virusverspreiding tussen ArMV-besmette lelies plaats te vinden. Dit duidt er mogelijk op dat ook de aanwezige Xiphinema-populatie dit ArMV-isolaat uit lelie niet kan verspreiden.

PREVENTIEVE MAATREGELEN

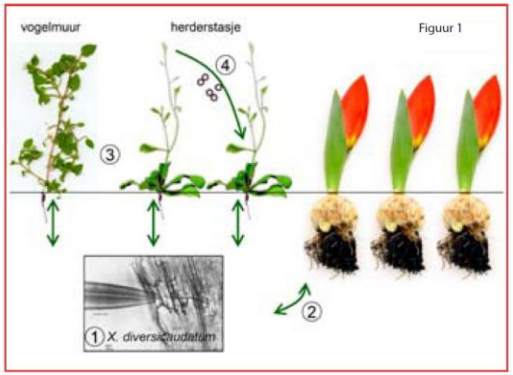
Het risico op het besmet raken van virusvrije planten wordt volledig bepaald door de aanwezigheid van Xiphinema nematoden. Wanneer X. diversicaudatum afwezig is, is er geen risico voor virusverspreiding (Figuur 1). De aanwezigheid van het aaltje is eenvoudig te bepalen door middel van nematodenonderzoek (LX-fractie) van een grondmonsters. Mocht het niet mogelijk zijn een perceel te gebruiken dat vrij is van X. diversicaudatum, dan is het belangrijk dat het gewas zelf ArMV-vrij is. Vooraf aan een teelt zou daarnaast gekeken kunnen worden of onkruid op het perceel ArMV-vrij is.

> Het lijkt er op dat er verschillende ArMV-stammen aanwezig zijn in bijvoorbeeld tulp, gladiool en lelie. De ArMV-stam die in tulp voorkomt kan Zantedeschia, gladiool, dahlia en onkruid infecteren

Dit is relatief eenvoudig zelf te testen met een ArMV Flashkit' van Agdia Biofords (www.biofords.com) of via het diagnostieklab van PPO-Bloembollen of BQ Support. Aanwezigheid van een virusinfectie in de grond kan verder relatief eenvoudig bepaald worden door aanplant van enkele Petunia planten. In het geval van een ArMV-infectie in de grond, zal dit na ongeveer acht weken zichtbaar zijn als necrotische plekken op Petunia-bladeren. Ook is na ongeveer acht weken een ArMV-infectie in Petunia meetbaar met de ArMV Flashkit' of een labtoets. Er wordt momenteel door PPO-Bloembollen gewerkt aan een labtoets om binnen enkele dagen te kunnen bepalen of er een virusinfectie aanwezig is in de grond.Juist bij aanwezigheid van X. diversicaudatum is onkruidbeheer van essentieel belang om te voorkomen dat er een virusbesmetting in de grond en in onkruid aanwezig kan blijven. Een virusbesmetting op een perceel kan eventueel bestreden worden door middel van bodemontsmetting en/of zwarte braak voor ten minste een jaar.

EN NU VERDER

Onderzoek richt zich dit jaar verder op de vatbaarheid van diverse bolgewassen voor ArMV.



De verspreiding via de nematode Xiphinema diversicaudatum van plant tot plant

1. Het vrijlevende aaltje komt op sommige plekken in Nederland voor en veroorzaakt verder geen schade aan het gewas.
2. Bij het voeden op wortels van een ArMV-geïnfecteerd bolgewas, zuigt de nematode het virus op.
3. Wanneer een ArMV-geïnfecteerde X. diversicaudatum nematode zich vervolgens op een andere plant voedt, wordt deze plant besmet met het virus. X. diversicaudatum kan ArMV hierbij ook overbrengen naar onkruiden.
4. Bij een onkruid als herderstasje is tevens aangetoond dat het virus zich via zaad kan verspreiden.

Zo is er de minste kans op Arabis-mozaïekvirus

- Gebruik virusvrij uitgangsmateriaal
- Teel op grond die vrij is van Xiphinema diversicaudatum
- Let op de virusstatus van onkruid en het perceel en speel hier op in
- Bestrijd een virusbesmetting in grond of onkruid door grondontsmetting en braak voor minimaal 1 jaar.

Hierbij wordt tevens extra aandacht besteed aan alternatieve waardplanten die regelmatig gebruikt worden bij gewasrotatie en groenbemesting. Wanneer telers bijzondere of onverklaarbare ervaringen hebben met ArMV, dan zijn wij daarin zeer geïnteresseerd. Voor een ArMV-vrije teelt wordt in ieder geval geadviseerd om virusvrij teeltmateriaal te telen op X. diversicaudatum vrije grond. Wees zuinig op een ArMV-vrij perceel; een eenmaal virusgeïnfecteerd perceel is moeilijk virusvrij te maken!

Dit onderzoek is gefinancierd door het Productschap Tuinbouw. Aanvullende informatie is via www.tuinbouw.nl te vinden onder PT nr. 12967.

SAMENGEVAT

- ArMV wordt verspreid door de nematode Xiphinema diversicaudatum.
- ArMV heeft een zeer brede waardplantenreeks waaronder bolgewassen, vaste planten en onkruid.
- Een virusinfectie kan tijdens gewasrotatie aanwezig blijven in de nematode of in het onkruid.

Resumé

Sinds enkele jaren levert het Arabis-mozaïekvirus vragen op van importerende landen. PPO doet onderzoek naar dit virus, en heeft inmiddels ontdekt dat de levenscyclus verloopt via een aaltje, maar dat ook onkruiden een belangrijke rol kunnen spelen in de verspreiding en instandhouding van het virus.