

*Tulpemozaïekvirus (TBV) is een van de belangrijkste ziekten in tulp. Ondanks verwijdering van zieke planten en regelmatige bestrijding van bladluizen blijft het een steeds terugkerend probleem. De beste oplossing is het telen van resistente cultivars. In drie artikelen komen TBV-aspecten aan de orde. Dit keer staat de wijze van besmetting centraal.*



Enkele eeuwen geleden leverden tulpen met mozaïekvirus veel geld op. Tegenwoordig is het een probleem voor menig teler

TBV IN TULP (I)

# Resistentie aantoonbaar

Tulpemozaïekvirus (TBV) is het meest bekende virus in tulpen. Bij rode en paarse cultivars treedt vaak bloemkleurbreking op. Een partij tulpen vrijhouden van dit virus kost jaarlijks veel tijd. Het Centrum voor Plantenveredelings- en Reproductieonderzoek (CPRO-DLO) te Wageningen heeft de afgelopen tien jaar onderzoek gedaan naar de overdracht van en resistentie tegen dit virus bij tulpen. Gewerkt is met verschillende soorten bladluizen en met mechanische besmetting.

**Effect van één luis**

Bladluizen brengen TBV over op niet-persistente wijze. Dat wil zeggen dat een bladluis die in een viruszieke plant prikt, het virus niet altijd opneemt. Ook komt het voor dat een luis het virus wel heeft opgepikt maar na aanprikken van een gezonde plant het virus niet afgeeft. In een proef met 'Apeldoorn' en 'Kees Nelis' zijn een week na inhalen in de kas 42 planten per cultivar besmet. De besmetting is uitgevoerd door

één bladluis van de soort *Myzus persicae* per plant te gebruiken. Een zieke plant van 'Yokohama' diende als virusbron. Vier weken na de oogst toetste de BKD met de Elisa-methode de bollen om het aantal zieke planten te bepalen. Het bleek dat van 'Apeldoorn' 45% van de planten ziek waren en van 'Kees Nelis' 53%. Aangezien de Elisa-methode betrouwbaar is, kan uit deze proef worden geconcludeerd dat één bladluis die zijn werk goed doet één plant al ziek kan maken, maar dat dit lang niet altijd het geval is.

**Eén bladluis niet genoeg**

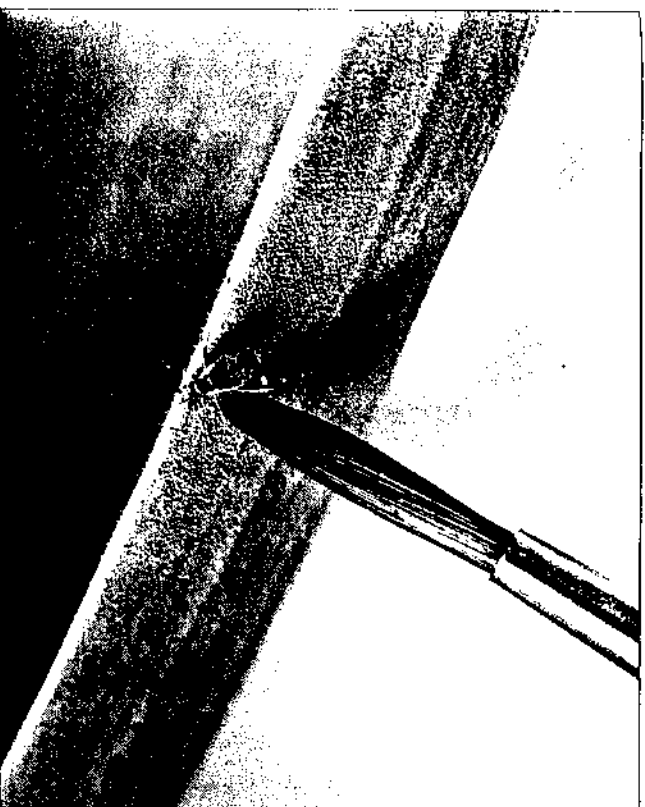
Om iedere plant te kunnen besmetten is één bladluis dus niet genoeg. In proeven zijn 'Apeldoorn' en 'Kees Nelis' besmet met verschillende aantallen bladluizen. Als een groot aantal planten moet worden besmet via meer bladluizen, kost het te veel tijd om bij iedere bladluis te kijken of hij prikt. In dat geval is als volgt te werk gegaan. Ongeveugelde bladluizen worden verzameld in kleine flesjes. Na

enkele uren worden ongeveer 50 bladluizen over het blad van een viruszieke tulp uitgestrooid. Binnen een minuut beginnen de meesten het blad aan te prikken. De bladluizen worden dan na ongeveer weer een minuut met een penseeltje op de te besmetten plant gebracht. Het bleek dat bij gebruik van meer (1, 2, 3 of 9) bladluizen per plant het percentage planten waarbij virus wordt aangetoond toeneemt. Per plant worden daarom meestal tien bladluizen gebruikt om de kans op een besmetting zo groot mogelijk te maken. Toch resulteert dat niet altijd in 100% zieke planten.

**Te veel bladluizen**

In proeven met jonge zaailingen is ook met verschillende aantallen bladluizen per plant gewerkt. Hierbij bleek dat bij gebruik van veel bladluizen het aantal resistente planten in sommige zaaisels kleiner werd. De vraag is of resistente planten toch kunnen worden besmet als veel bladluizen de planten aanprikken. Om dit nader te onderzoeken zijn een week na inhalen in de kas achttien planten van *T. fosteriana* 'Cantata' en 'Princeps', die in de proeven steeds resistent waren, besmet met 3, 9, 27 of 81 bladluizen per plant. Als controle werd 'Kees Nelis' be-

smet met 9 bladluizen per plant. Vier weken na de oogst werd van de grootste bol van elke plant een stukje afgesneden en met Elisa getoetst. Zoals verwacht waren alle planten van 'Kees Nelis' ziek. De planten van 'Princeps' bleken gezond te zijn, ongeacht het aantal gebruikte bladluizen. Bij 'Cantata' bleken veel planten ziek, hoewel het geen verschil maakte of er nu weinig (3) of veel (81) bladluizen waren gebruikt. Het viel op dat de hoeveelheid virus in de bollen van 'Cantata' bijzonder laag was, terwijl deze waarde bij 'Kees Nelis' zeer hoog was. Om de besmetting van deze bollen verder te bestuderen zijn ze in een gaaskas uitgeplant. Het jaar daarop zijn ze tijdens de bloei op virusaantasting beoordeeld. Alle planten van 'Kees Nelis' waren ziek en die van 'Princeps' en 'Cantata' vertoonden geen symptomen. Vier weken na de oogst zijn de bollen van 'Cantata' opnieuw met Elisa getoetst en alle bollen bleken gezond te zijn. Hiervoor geldt de volgende verklaring. Bij de Elisa-bepalingen worden soms ook in de niet-besmette controle hele lage virusgehalten gevonden. Ergens moet een grens worden getrokken bij welke waarde een plant wel of niet ziek wordt genoemd. Meestal is dit geen enkel probleem omdat



**Bladluizen werden tijdens het onderzoek op het blad van een viruszieke plant gezet en met een penseel op een gezonde plant overgezet**

bij zieke planten het virusgehalte ver boven de gekozen grens ligt. Soms echter ligt dit gehalte dicht boven de grenswaarde. Het is niet zeker of de betreffende plant dan werkelijk besmet is. Mogelijk is dit het geval geweest met de lage waarden van 'Cantata'. Ook is het mogelijk dat een groot aantal bollen van 'Cantata' wel echt ziek was, maar dat 'Cantata' in de nateelt dit virus weet uit te schakelen. Na der onderzoek naar dit aspect is nodig.

### TBV-verspreidende

#### luizen

Er is wel iets bekend over welke bladluisoorten er rondvliegen vanaf eind april, maar

onbekend is welke soorten TBV overbrengen. Uit LBO-onderzoek blijkt dat het aantal bladluizen, dat op een bepaald moment op een bepaald perceel tulpen voorkomt, sterk kan wisselen. In dit onderzoek is de effectiviteit van verschillende bladluisoorten onderzocht. Zo bleek de bladluisoort *Aulacorthum solani*, die op tulp voorkomt, het virus vrijwel niet over te brengen. Daarentegen bleek de erwtenbladluis *Acyrtosiphum pisum*, die beslist niet op tulp wil leven, het virus wel goed over te brengen.

In een proef met acht cultivars zijn steeds 24 planten per cultivar besmet door tien bladluizen te gebruiken van de soort *Macrosiphum euphorbiae* of

*Myzus persicae*, die beide op tulpen voorkomen. Deze besmetting is uitgevoerd drie dagen na inhalen van de planten in de kas (tijdstip 1), drie weken later tijdens de bloei (tijdstip 2) en drie weken na de bloei (tijdstip 3). Twaalf weken na de oogst zijn de bollen getoetst op aanwezigheid van virus.

Het blijkt dat van 'Cantata' en 'Princeps' in alle gevallen weinig of geen planten ziek worden (4% = 1 plant). Deze cultivars zijn resistent. Bij gebruik van *Myzus* zijn op alle tijdstippen de percentages viruszieke planten bij de andere cultivars hoger dan bij 'Cantata' en 'Princeps'.

Na besmetting met *Macrosiphum* zijn de resultaten op de

**Tabel. Percentage viruszieke planten van acht tulpecultivars die via *Macrosiphum euphorbiae* (Macr), *Myzus persicae* (Myz), of mechanisch (Mech) werden besmet, drie dagen na inhalen in de kas (tijdstip 1), drie weken later tijdens de bloei (tijdstip 2) of drie weken na de bloei (tijdstip 3)**

	tijdstip 1		tijdstip 2		tijdstip 3				
	Macr.	Myz. Mech.	Macr.	Myz. Mech.	Macr.	Myz. Mech.			
'Christmas Marvel'	39	92	52	71	92	88	100	100	
'Apeldoorn'	51	42	4	13	88	79	8	42	25
'Kees Nelis'	22	96	21	13	100	100	63	96	67
'Lustige Wirwe'	25	78	33	54	83	81	65	96	95
'Madame Lefebvre'	33	58	17	33	79	43	8	21	0
'Juan'	36	88	8	0	96	77	13	76	21
'Cantata'	4	0	0	0	8	4	13	0	4
'Princeps'	0	0	0	0	0	0	0	0	0

drie tijdstippen zeer verschillend. De percentages viruszieke planten zijn, op een enkele uitzondering na, voor alle cultivars op alle tijdstippen steeds lager dan na besmetting door *Myzus*. Op tijdstip 1 is er een duidelijk verschil zichtbaar tussen de resistente 'Cantata' en 'Princeps' en de overige cultivars, maar op tijdstip 2 is er slechts weinig verschil tussen beide resistente cultivars en de cultivars

'Juan' (0%), 'Apeldoorn' (13%) en de als zeer vatbaar bekend staande 'Kees Nelis' (13%). Op tijdstip 3 onderscheiden alleen 'Christmas Marvel', 'Kees Nelis' en 'Lustige Wirwe' zich nog duidelijk van de andere cultivars. Om een goed onderscheid te maken in resistentie is *Myzus persicae* dus het meest geschikt.

### Mechanisch besmetten

De moeilijkheid bij besmettingsproeven met bladluizen is dat nooit voor 100% zeker is of zij hun werk goed gedaan hebben. Om te proberen dit probleem op te lossen zijn proeven gedaan met mechanische besmetting. In de proef waarbij planten door twee bladluisoorten werden besmet, zijn van alle cultivars ook planten mechanisch besmet. Het blijkt dat ook nu niet altijd 100% besmetting is aan te tonen. Bij vroege besmetting (tijdstip 1) worden er na besmetting door *Myzus* meer planten ziek dan na mechanische besmetting. Bij late besmetting (tijdstip 3) komen de percentages zieke planten van 'Christmas Marvel' en 'Lustige Witwe' na mechanische besmetting of besmetting door *Myzus* wel overeen, maar bij 'Apeldoorn', 'Madame Lefebvre' en 'Juan' is dit niet het geval.

Mechanische besmetting gaat makkelijk en snel, maar geeft alleen bij besmetting tijdens de bloei dezelfde resultaten als een besmetting met *Myzus persicae*. □

W. Eikelboom en J.M. van Tuyt (CPRO-DLO), D. Peters (LUW-Virologie), Y.D. de Vries (studiante LUW)

foto's CPRO-DLO

# BLOEM ROTIEM CULTIJR

106e jaargang:  
13 april 1995  
nr. 8



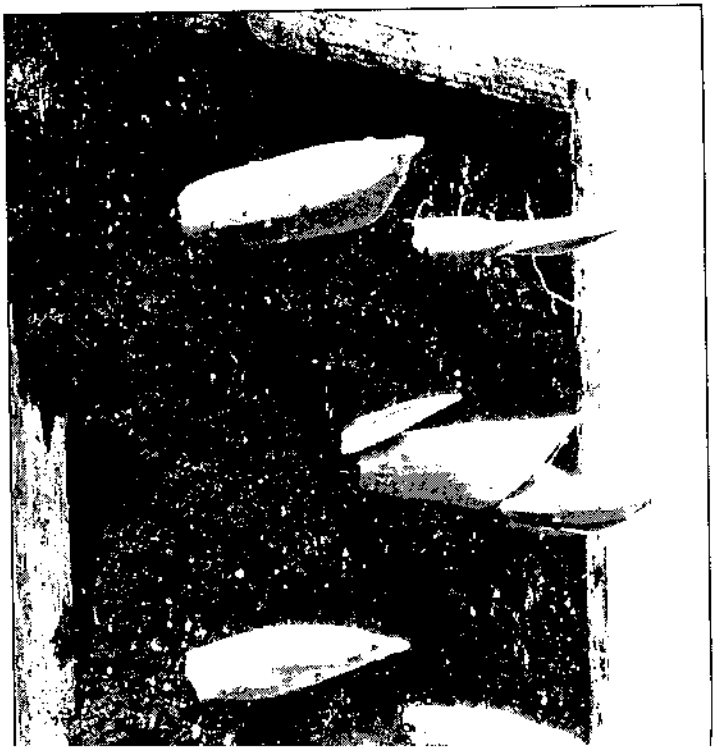
**Gewasbescherming Minder middelen  
maar niet zonder**

# TBV IN TULP (II) **Cultivars reageren**

*Tulpenzoaiëkavirus (TBV) geeft in de meeste tulpen een duidelijk beeld: gevulde bloemen. Soms is voor of na de bloei iets aan de plant te zien, maar ook kan er virus in de plant zitten zonder zichtbare symptomen. Hierover gaat dit tweede artikel over het TBV-onderzoek van het CPRO-DLO.*

de T. fosteriana-cultivars 'Madame Lefebvre', 'Juan', 'Cantata' en 'Princeps' treden geen bloemafwijkingen op. Op het moment dat er bloemkleurbreking optrad zijn van alle planten bladmonsters getoetst met Elisa. Drie weken later is dat weer gedaan en twaalf weken na de oogst zijn tenslotte alle bollen getoetst. Van de vier cultivars waarvan 75 procent of meer van de planten bloemkleurbreking vertoonden, is op hetzelfde moment in het blad bij 'Apeldoorn' geen virus aantoonbaar en bij 'Christinas Marvel', 'Kees Nels' en 'Lustige Witwe' slechts bij 4 tot 25 procent van de planten. Daarentegen laten 'Madame Lefebvre' en 'Juan' geen bloemkleurbreking zien, maar blijkt er op dat moment wel bij 8 en 29 procent van de planten virus aantoonbaar te zijn in het blad. Zes weken na besmetting neemt het percentage planten waarbij virus in het blad wordt aangetoond bij de meeste cultivars sterk toe. Twaalf weken na de oogst zijn van dezelfde planten de bollen getoetst en worden weer andere percentages zieke planten gevonden. Hieruit blijkt dat het verloop van TBV in een pas besmette plant moeilijk te volgen is. Het hoogste percentage planten waarbij op een bepaald moment virus is aan te tonen, is het maximale aantal planten waarvan zeker is dat ze zijn besmet.

aantoonbaar is. Hieruit blijkt dat deze cultivars zeer vatbaar zijn en dit na vroege besmetting al te constateren is aan de hand van het percentage planten met viruszieke bloemen. 2. Bij 'Madame Lefebvre' en 'Juan' hebben 58 en 88 procent van de planten viruszieke bollen. Beide cultivars hadden echter drie weken na besmetting geen symptomen in de bloem. Bij 'Madame Lefebvre' was ook in het blad, drie en zes weken na besmetting, vrijwel geen virus aantoonbaar. Bij 'Juan' was dit slechts bij respectievelijk 29 en 63 procent van de planten het geval. Het virus lijkt zich in deze cultivars dus slechts langzaam te vermeerderen, wat een vorm van resistentie kan zijn. Onbekend is of een bladluis het virus wel kan oppikken als het met Elisa niet aantoonbaar



In het veld zijn viruszieke planten te herkennen aan bladsymptomen voor de bloei, aan stengel en bloemsymptomen en -vooral bij darwinhybriden en veel botanische tulpen- aan bladsymptomen na de bloei. Dit zijn symptomen van een plant waarvan de bol bij het planten al virusziek is. In dit onderzoek gaat het om gezonde bollen die na een koudebehandeling in de kas worden gebracht. De planten die hieruit komen worden op een bepaald moment met virus besmet. Dan ontstaan geen bladsymptomen. Alleen als planten enkele dagen na het in de kas brengen worden besmet kan er ongeveer drie weken later bloemkleurbreking optreden.

**Soms niet aantoonbaar**  
In een proef met acht cultivars zijn drie dagen na inhalen planten met tien bladluizen van de soort *Myzus persicae* besmet. Drie weken na besmetting treedt bij 75 procent of meer planten van 'Christinas Marvel', 'Apeldoorn', 'Kees Nels' en 'Lustige Witwe' bloemkleurbreking op. Bij

### Cultivarverschillen

Uit dit onderzoek zijn de volgende conclusies te trekken:  
1. Het hoogste percentage zieke planten dat bij 'Christinas Marvel' (96%), 'Kees Nels' (96%) en 'Lustige Witwe' (81%) wordt gevonden verschilt weinig van de percentages die op andere momenten worden gevonden, uitgezonderd het percentage zieke planten waarbij drie weken na besmetting virus in het blad

**Tabel 1. Percentage viruszieke planten van acht tulpecultivars, die drie dagen na inhalen waren besmet met *Myzus persicae***

cultivars	3 weken na besmetting			6 weken na besmetting			12 weken na oogst		
	bloem	blad	blad	bloem	blad	blad	bol	blad	bol
'Christinas Marvel'	92	21	96	92	92	92			
'Apeldoorn'	75	0	29	42	42	42			
'Kees Nels'	88	25	75	96	96	96			
'Lustige Witwe'	81	4	81	78	78	78			
T. fost. 'Mad. Lefebvre'	0	8	4	58	58	58			
T. fost. 'Juan'	0	29	63	88	88	88			
T. fost. 'Cantata'	0	0	0	0	0	0			
T. fost. 'Princeps'	0	0	0	0	0	0			

Beoordeling van de bloem (visueel) en het blad (ELISA) drie weken na besmetting, van het blad (ELISA) zes weken na besmetting en van de bollen (ELISA) twaalf weken na de oogst, telkens van dezelfde planten



**Vroege besmetting met luizen, enkele dagen na inhalen in de kas**

foto CPRO-DLO

symptomen te vertonen. Toch komt maar bij 42 procent van de planten het virus in de bol voor.

Uit de vele proeven die de afgelopen jaren gedaan zijn blijkt dat zieke bollen in de naheeft vrijwel altijd zieke planten opleveren en bollen waarin geen virus is aan te tonen meestal gezond zijn. Planten waarbij na besmetting in bloem of blad virus aanwezig wordt maar waaruit geen toorn in de bol komt, bezitten resistentie. 'Apeldoorn' lijkt bij vroege besmetting een zekere mate van resistentie te bezitten. Immers van de 75 procent besmette planten (75% zieke bloemen) geven slechts 42 procent van de planten een zieke bol.

### Tijdstip van besmetten

Bij dezelfde cultivars zijn planten met *Myzus persicae* (fien luizen per plant) besmet, drie dagen na inhalen, drie weken later tijdens de bloei en drie weken na de bloei. Vooral bij 'Apeldoorn' en 'Madame Leféber' blijkt dat het percentage viruszieke planten sterk afhangt van het besmettings tijdstip. Besmetting tijdens de bloei levert bij 'Apeldoorn' en 'Madame Leféber' hoge percentages zieke plant-

ten op, waardoor ze zich in resistentie niet meer onderscheiden van de andere vatbare cultivars. Een late besmetting geeft, net als bij vroege besmetting, bij deze cultivar lage percentages zieke planten. De

lage percentages die na late besmetting optreden zijn te verklaren door het achterwege blijven van virustransport van het blad naar de bol. Dit is onderdomsresistentie. De lage percentages zieke planten na vroege besmetting zijn moeilijker te verklaren. Daarvoor zal nader onderzoek nodig zijn. Het tijdstip van besmetten is voor sommige cultivars dus sterk bepalend of het virus al of niet in de bol komt.

### Effect van verwonding

Bladoetsingen laten niet altijd alle zieke planten zien. Uit de literatuur is bekend dat na verwonding een sterke vermeerdering van het virus rond de wond optreedt, waardoor het virus beter aantoonbaar is. Onderzocht is of dit ook bij tulpen geldt. Bij vijf cultivars tijdens de bloei planten te besmetten met *Myzus persicae* (10 bladluizen per plant). Van iedere plant is de bladtop en het bovenste struikje van de stengel met Elisa getoet. Een week later is dit bij dezelfde planten opnieuw gedaan.

Het virus bleek nu in het blad, en vooral in de stengel, inderdaad beter aantoonbaar te zijn. Er werden ook meer zieke planten gevonden bij 'Lustige Witwe' en 'Kees Nelis'. Bij 'Apeldoorn', 'Juan' en 'Madame Leféber' was dit niet het geval. Bovendien bleek in de bladeren boven en onder het besmette blad sporadisch virus aantoonbaar. Uiteindelijk bleken na toetsing van de bollen alle vijf cultivars voor meer dan negentig procent ziek te zijn.

Verwonding van blad of stengel, een week voordat met Elisa wordt getoet, geeft dus niet bij alle cultivars een verbetering van de aantoonbaar-

heid van het virus. Bovendien blijkt het virus na besmetting op het bloeitijdstip hoofdzakelijk aantoonbaar te zijn in het besmette blad.

### Praktijksituatie

In BKD-brochure *Tulpeno-ziektevirus in het gangbare tulpersortiment* van C.M. Segers is van een groot aantal cultivars de virusgevoeligheid vermeld. Deze varieert van nul procent bij veel darwinhybriden en botanische tulpen tot vijftien procent bij de gevoeligste cultivar. In de beschreven proeven is alleen onderscheid te maken tussen niet-gevoelige cultivars als 'Princeps' en 'Cantata' en de overige, vatbare cultivars. Mogelijk is dit te verklaren door aan te nemen dat onder veldomstandigheden het weinig zal voorkomen dat eenzelfde plant meermalen door een met virus besmette bladluizen wordt aangeprikt.

In het eerste artikel (*Blaemboelencultuur* 8 (1995)) is aangehouden dat bij de vatbare 'Kees Nelis', als iedere plant door één bladluizen wordt aangeprikt, slechts ongeveer de helft van de planten ziek wordt. Mogelijk is het besmetten van planten met één bladluizen een goede manier om verschillen in virusvatbaarheid van cultivars of zaaiingklonen te vinden, zoals die zich onder praktijkomstandigheden voordoen.

Voor veredelaars is het belangrijk, om behalve klonen en cultivars, ook zaaisels te toetsen, om zo snel mogelijk resistente planten te kunnen opsporen en om de overerving van de resistentie te bestuderen. In het laatste artikel komt dit aspect aan de orde. □

**Tabel 2. Percentage viruszieke planten van acht met *Myzus persicae* besmette tulpecultivars op drie tijdstippen\***

cultivars	Tijdstip		
	1	2	3
'Christmas Marvel'	92	92	100
'Apeldoorn'	42	88	42
'Kees Nelis'	96	100	96
'Lustige Witwe'	78	83	96
T. fost. 'Madame Leféber'	58	79	21
T. fost. 'Juan'	88	96	76
T. fost. 'Cantata'	0	8	0
T. fost. 'Princeps'	0	0	0

\*Tijdstip 1 = 3 dagen na inhalen in de kas; tijdstip 2 = 3 weken later tijdens de bloei; tijdstip 3 = 3 weken na de bloei (na beoordeling van de bollen)

**W. Etikelboom en  
J.M. van Tuyl (CPRO-DLO),  
D. Peters (LUW-Virologie)**

# BLOEM BOEVEN CULTUR

Kuikenheff  
Uffnodigand

fofver

ma 2000



# TBV IN TULP (III) **Perspectieven voor**

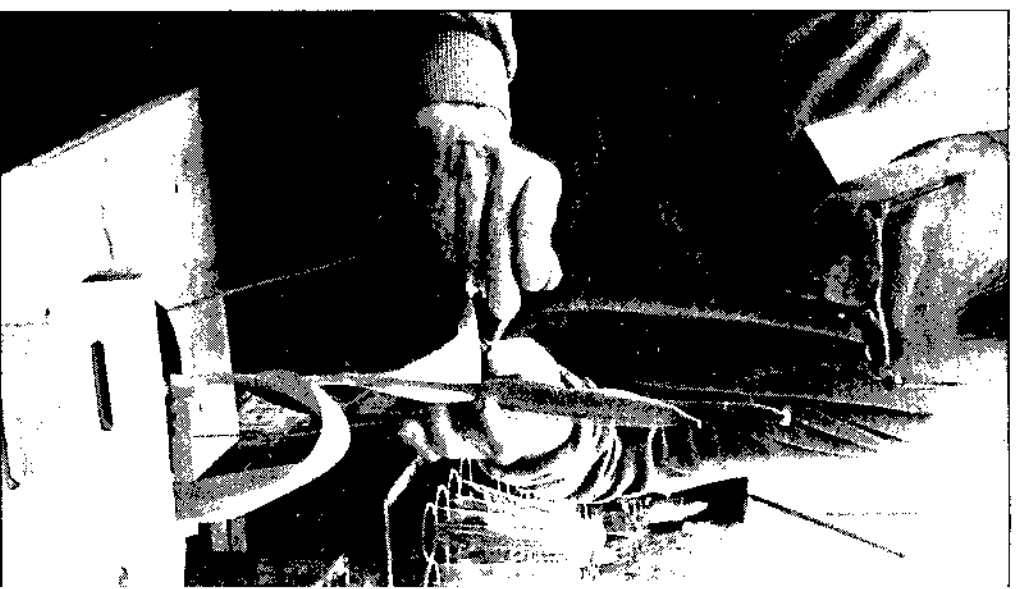
*Dit derde en tevens laatste artikel in de serie over TBV laat zien hoe de kennis over resistentie tegen dit virus bij selectie in zaailingpopulaties wordt toegepast. De eerste voorzichtige conclusie is dat resistente ouders, zoals 'Cantata' en 'Princeps', hun resistentie aan hun nakomelingen kunnen overdragen.*

Om te onderzoeken of en hoe virusresistentie overert zijn ouders nodig die verschillen in resistentie. Als niet-resistente (vatbare) ouders zijn de T. gesneriana cultivars 'Christmas Marvel', 'Lustige Witwe' en 'Kees Nells' gekozen. Die bleken in de verschillende proeven steeds zeer vatbaar. Als resistente ouders werden de T. fosteriana cultivars 'Cantata' en 'Princeps' gebruikt. Ten slotte zijn nog de T. fosteriana cultivars 'Madame Lefebvre' en 'Juan' als vatbare/resistente ouders gebruikt, omdat het virus zich in planten van deze cultivars slechts langzaam blijkt te verminderen, maar na besmetting op het bloeitijdstip toch in de bol komt. Daarentegen komt het virus bij 'Madame Lefebvre' na een late besmetting vaak niet meer in de bol. In 1989 en 1990 zijn de zeven genoemde cultivars in alle combinaties met elkaar gekruist. In de combinaties waarbij de vier T. fosteriana cultivars als moeder werden gebruikt en de drie T. gesneriana cultivars als vader, werd geen zaad verkregen. Ook de zelfbestuivingen van de T. fosteriana cultivars leverden geen of te weinig zaad op. Er zijn 32 zaisaisel verkregen om de overerving van de resistentie te bestuderen.

## Eerstejaars zaailingen

In de vorige artikelen (*Bloembollencultuur* 8 en 9 (1995)) zijn steeds proeven gedaan met bloeiende planten. Bij tulp duurt het echter zo'n vier tot vijf jaar voordat uit zaad bloeiende planten ontstaan. Daarom zijn al in de jeugd fase (de tijd tussen zaaien en het tijdstip waarop een zaailing voor de eerste keer bloeit) jonge zaailingplantjes besmet. Dit om te onderzoeken of planten in de jeugd fase dezelfde resistentie bezitten als in de volwassen fase.

Eind november 1990 zijn van alle 32 zaisaisel maximaal 500 zaden gezaaid in bakken en buiten in een gaaskas gezet. Tevens zijn van elk zaisaisel 64 zaden elk zaidje apart in een potje gezaaid. Enige tijd na opkomst zijn deze potjes met eerstejaars zaailingen begin april 1991 naar de kas gebracht. Daar is iedere zaailing met tien blaadruizen (*Myzus persicae*) met TBV besmet. Een dag later zijn de blaadruizen gedood en de potjes weer in de gaaskas gezet. Zes weken daarna is van iedere zaailing een stukje van het blad afgesneden en met Elisa getoetst op aanwezigheid van virus. Uit de tabel blijkt dat in de zaisaisel vatbaar x vatbaar en vatbaar x vatbaar/resistent vrijwel alle zaailingen ziek zijn. In de zaisaisel van 'Madame Lefebvre' x 'Juan' en omgeving keerd zijn minder zaailingen ziek en in de zaisaisel waarbij de resistente 'Cantata' of



me Lefebvre' x 'Juan' en omgeving keerd zijn minder zaailingen ziek en in de zaisaisel waarbij de resistente 'Cantata' of

'Princeps' een van de ouders is, werden de minste zieke planten gevonden. Beide resistente ouders lijken de resistentie dus aan hun nakomelingen door te geven.

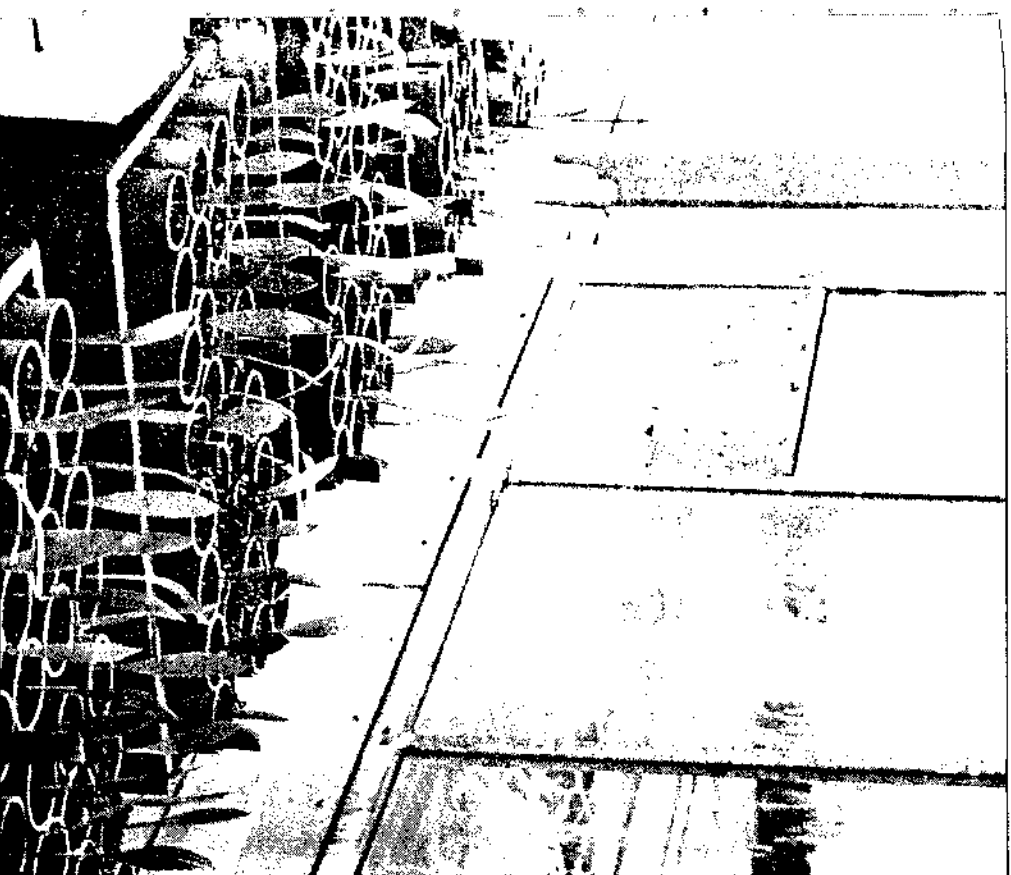
**Tabel. Percentage viruszieke zaailingen zes weken na eenbesmetting met Myzus persicae (tien luizen per blaadje) van 64 eerstejaars zaailingen per zaisaisel**

R-niveau	cultivars	vath		vat/res		res		
		CM	LW	KN	ML	Ju	Ca	Pr
vath	'Christmas Marvel'	93	95	98	95	94	65	74
vath	'Lustige Witwe'	93	94	92	97	100	43	60
vath	'Kees Nells'	88	87	95	83	93	40	75
vath/res	'Madame Lefebvre'	-	-	-	-	83	29	58
vath/res	'Juan'	-	-	-	76	-	24	40
res	'Cantata'	-	-	-	31	35	-	29
res	'Princeps'	-	-	-	44	-	20	-

Gegevens na toetsing van een stukje blad met Elisa R-niveau = resistentieniveau; res = resistent; vath = vatbaar; - = geen of te weinig zaad gekregen na kruising

**Beperkt beeld bladoets**  
In de vorige artikelen bleek het tijdstip van besmetten van grote invloed op het percentage planten dat ziek wordt. Besmetting rond de bloei bleek het beste moment om duidelijk het cultivarverschillen te krijgen. Zaailingen in de jeugd fase bloeien echter niet. Het juiste tijdstip van besmetten is dus moeilijk vast te stellen. Als besmettingstijdstip is steeds het moment gekozen waarop de jonge zaailingen gemiddeld genomen de helft tot tweederde van hun uitein-

# Resistentieveredeling



**In de jeugdfase zijn jonge zaailingplantjes besmet om te onderzoeken of planten in die fase dezelfde resistentie bezitten als in de volwassen fase**  
foto: CPRO-DLO

zus persicae (tien bladluizen per plant). Zes weken later is van iedere plant met Elisa het blad getoetst, om de resultaten te kunnen vergelijken met de resultaten verkregen in de jeugdfase. Zo is te bepalen of de vatbaarheid van nog niet-bloeiende zaailingen overeenkomt met die in de bloeiende fase. Tevens worden alle planten nagekeurd om te kijken in hoeverre de blad- met de bolgegevens overeenstemmen.

## Doorteeft van zaailingen

Alle zaailingen die in de jeugdfase werden besmet zijn doorgeteeld, ongeacht of er virus in het blad is aangetoond. Vorig jaar trad voor het eerst hier en daar bloei op en kwam ook bloemkleurtraking voor. Dit jaar zullen veel meer planten bloeien. Aan de hand van blad- en/of bloemsymptomen kan dan worden vastgesteld of een plant virusziek is. Van planten die geen bloem- of bladsymptomen laten zien wordt na de oogst de bol getoetst met Elisa. Planten die visueel of na Elisa-toetsing gezond zijn, worden een aantal jaren doorgeteeld. Vervolgens worden per zaailing een aantal bloeiende bollen besmet. Zaailingen die in deze toets weer niet virusziek worden zijn echt resistent. Op dat moment is pas een definitieve uitspraak doen of er hoe TBV-resistente overeft.

De resistente zaailingen die uiteindelijk overblijven kunnen als geniteur (genenleverancier) worden gebruikt in verder kruisingswerk. Als ook de andere eigenschappen van voldoende hoog niveau zijn kunnen deze zaailingen tevens als nieuwe cultivar worden geïntroduceerd. □

delijke lengte hadden bereikt. De bolletjes die aan het eind van het groeiseizoen uit zaad worden verkregen zijn nog erg klein. Hierdoor lukt het niet om er een stukje af te snijden en dit met Elisa te toetsen, zonder de bolletjes te verspeken. Er zijn dus alleen gegevens van bladtoetsingen. Uit de proeven met cultivar is bekend dat bij vatbare cultivars vaak hoge percentages planten zijn besmet, maar dat zelden alle planten ziek zijn. Deze enkele planten waar geen virus wordt gevonden zijn niet resistent, maar toevallig om een of andere reden aan de besmetting ontsnapt. Zulke planten heten ontsnappers. Dit kan bij de zaailingen ook gebeuren. In de vorige artikelen bleek ook dat wanneer in het blad

geen virus aantoonbaar is, de bollen soms toch besmet zijn. In deze planten vermeerderd het virus zich slechts langzaam. Ook kan het zijn dat planten waar wel virus in het blad wordt gevonden ouderdomsresistentie bezitten, waardoor het virus later toch niet in de bol wordt gevonden. De waarde van alleen een bladtoets is dus beperkt.

## Iets oudere zaailingen

Om te onderzoeken of hele jonge zaailingen meer of minder vatbaar zijn dan iets oudere zaailingen, zijn ook tweedeaars en derdejaars zaailingen besmet (steeds weer 64 bollen per zaaisel). Door te snelle afsterving van het gewas konden bij de tweedeaars zaailingen, zes weken na besmet-

ting, niet alle blaadjes met Elisa worden getoetst.

De resultaten uit het derde besmettingsjaar kwamen vrij goed overeen met die van het eerste besmettingsjaar. Hieruit blijkt dat de vatbaarheid in de verschillende jaren van de jeugdfase niet veel verschilt.

## Bloeiende fase

In het vierde jaar bestonden de zaaisels zowel uit grotere bloeiende bollen als uit kleine niet-bloeiende bollen. Daarom is in dat jaar geen besmetting uitgevoerd.

Momenteel is het het vijfde jaar. De meeste bollen zijn nu bloeiend. De bollen zijn na een koudebehandeling op 13 februari in de kas gebracht. Begin maart tijdens de bloei, is iedere plant besmet met My-

**W. Elkelboom en**

**J.M. van Tuyl (CPRO-DLO)  
D. Peters (LUW-Virologie)**



# BLOEM BOLEEN CULTUR

106e jaargang  
11 mei 1995  
nr. 10



**De bol is vol**  
TE VEEL MILIEUKEURMERKEN

*apeldoorn, kees nelis, prinsceps, cantata, kees nelis*  
*apeldoorn, kees nelis, prinsceps, cantata, kees nelis*  
*apeldoorn, kees nelis, prinsceps, cantata, kees nelis*  
*apeldoorn, kees nelis, prinsceps, cantata, kees nelis*

10336

# Resistentie tegen tulpemozaïekvirus (1)

Tulpemozaïekvirus wordt overgebracht door bladluizen. Niet iedere bladluis die een virus-zieke plant aanprijkt neemt het virus op of besmet na opname van het virus een volgende plant. Het is dus van belang bij besmettingsproeven steeds meerdere bladluizen te gebruiken. Van verschillende bladluissoorten blijkt *Myzus persicae* (perzikbladluis) TBV goed over te kunnen brengen. Een kunstmatige besmetting door mechanische inoculatie geeft niet altijd dezelfde resultaten als besmetting met behulp van bladluizen.

Het CPRO-onderzoek is erop gericht verdelingsmethoden te ontwikkelen ter verkrigting van resistente cultivars. Om resistente cultivars te kunnen ontwikkelen dient allereerst onderzoek te worden of er in tulpen voor moeten planten besmet worden. In deze artikelreeks gaat het CPRO-DLO in op de kennis en inzichten die we de afgelopen jaren hebben verkregen over de methoden waarop een plant besmet kan worden, over de moeilijk te volgen weg van het virus in een plant en tenslotte over de perspectieven voor de veredeling en de overerving van de resistentie.

**Eén bladluis**  
Tulpemozaïekvirus wordt door bladluizen overgebracht. Door het aanprikken van een virus-zieke tulpe kunnen er virusdeeltjes blijven hangen aan de zogenaamde stiereten waarmee een bladluis in het plantewefsel prikt. Wanneer deze bladluis direct daarna een andere, gezonde plant aanprijkt, kan het virus aan deze plant afgegeven worden. Na een aantal keren prikken is de bladluis het virus weer kwijt, als hij tenminste niet opnieuw een virus-

Tulpemozaïekvirus (TBV) is, gelet op de afkeuringgegevens van de BRD, een van de belangrijkste ziekten in tulpen. Ondanks het verwijderen van zieke planten en het regelmatig bestrijden van bladluizen blijft het een steeds terugkerend probleem. De beste manier om dit probleem op te lossen is het telen van cultivars die resistent zijn tegen dit virus.

zieke tulpe heeft bezocht. Dit heet het op nietpersistente wijze overbrengen van virus. Uit de literatuur is bekend dat een bladluis die in een viruszieke plant prikt, het virus niet altijd opgenomen heeft. Anderzijds komt het voor dat een luis het virus wel heeft opgepikt, maar na aanprikken van een gezonde plant het virus niet afgeeft.

In een proef met de cultivars 'Apeldoorn' en 'Kees Nelis' werden, één week na inhalen in de kas, 42 planten per cultivar besmet. De besmetting werd uitgevoerd door één bladluis van de soort *Myzus persicae* per plant te gebruiken. Een zieke plant van 'Yokohama' diende als virusbron. Onder een vergroetglas werd gekeken of en hoe lang een bladluis in het blad van de viruszieke 'Yokohama' prikte. Zodra de bladluis zijn stiereten uit het blad terugtrok werd hij op een plant van 'Apeldoorn' of 'Kees Nelis' gezet. Daar werd opnieuw geke-

ten besmet moeten worden via meerdere bladluizen, kost het te veel tijd om bij iedere bladluis te kijken of hij prikt. In dit geval zijn de onderzoekers van het CPRO-DLO als volgt te werk gegaan. Ongeveleugelde bladluizen werden verzameld in kleine flesjes. Na enkele uren werden ongeveer 50 bladluizen over het blad van een viruszieke tulpe uitgestrooid. Na enige heen en weer geloop begonnen de meeste binnen een minuut het blad aan te prikken. De bladluizen werden dan na ongeveer weer een minuut met een penselstijfje op de plant gebracht die voor besmetting was uitgekozen.

Bij gebruik van meer (1, 2, 3 of 9) bladluizen per plant neemt het percentage planten waarbij het virus wordt aangevoerd inderdaad toe (tabel 1). In het onderzoek is gebruik gemaakt van meestal tien bladluizen per plant om de kans op besmetting zo groot mogelijk te maken. Toch haalden de onderzoekers, ook bij als zeer variabel bekend staande cultivars, niet altijd een percentage van 100 procent zieke planten.

**Niet genoeg**  
Om iedere plant te kunnen besmetten is één bladluis dus niet genoeg. In een aantal proeven zijn 'Apeldoorn' en 'Kees Nelis' besmet met behulp van verschillende aantallen bladluizen. Wanneer grote aantallen plant-

**Te veel bladluizen**  
In proeven met jonge zaailingen hebben de onderzoekers ook met verschillende aantallen bladluizen per plant gewerkt. Hierbij bleek dat bij gebruik van veel bladluizen het aantal resistente planten (in sommige

Tabel 1. Percentage viruszieke planten van 'Apeldoorn' en 'Kees Nelis' na besmetting met behulp van 1, 2, 3 of 9 bladluizen per plant

Aant. luizen	Apeldoorn	K. Nelis
1	45%	53%
2	16%	62%
3	85%	91%
9	—	100%

Tabel 2. Percentage viruszieke planten van 'Prinsceps', 'Cantata' en 'Kees Nelis' na besmetting met behulp van 3, 9, 27 of 81 bladluizen per plant

Aant. luizen	Prinsceps	Cantata	K. Nelis
3	0	72%	—
9	0	56%	100%
27	0	82%	—
81	0	83%	—

Tabel 3. Percentage viruszieke planten van acht tulpecultivars die met behulp van bladluissort *Macrosiphum euphorbiae* (Ma), *Myzus persicae* (My), of mechanisch (Me) besmet werden, drie dagen na inhalen in de kas (tijdstrip 1), drie weken later tijdens de bloei (tijdstrip 2) of drie weken na de bloei (tijdstrip 3).

zwaarts kleiner werd. Kunnen resistente planten toch besmet worden, wanneer veel bladluizen de planten aanprikken?

3 Om dit nader te onderzoeken zijn één week na inhalen in de kas 18 planten van de T<sub>1</sub> fosforiana cultivars 'Cantata' en 'Princeps', die in de proeven steeds resistent waren, besmet met 3, 9, 27 of 81 bladluizen per plant. Als controle werd 'Kees Nelis' besmet met negen bladluizen (het aantal bladluizen dat meestal per plant wordt gebruikt). Vier weken na de oogst werd van de grootste bol van iedere plant een stukje van de bol afgesneden en met Elisa<sup>5</sup> getoetst.

Tabel 2 laat de resultaten zien. Zoals verwacht waren alle planten van 'Kees Nelis' ziek. De planten van 'Princeps' bleken gezond te zijn, ongeacht het aantal gebruikte bladluizen. Bij 'Cantata' bleken veel planten ziek, hoewel het geen verschillend soort of er nu weinig (3) of veel (81) bladluizen gebruikt waren. Wat opvallend was, dat de gevoeligheid virus (nietveroordeeld) in de bollen van 'Cantata' bijzonder laag was, terwijl deze waarde bij 'Kees Nelis' zeer hoog was. Om de besmetting van deze bollen verder te bestuderen zijn ze in een gaaskas uitgeplant en het volgende jaar tijdens de bloei op virusaanrasting beoordeeld. Alle planten van 'Kees Nelis' waren ziek en die van 'Princeps' en 'Cantata' vertoonden geen symptomen. Vier weken na de oogst zijn de bollen van 'Cantata' opnieuw met Elisa getoetst en alle bollen bleken gezond te zijn. Was er nu aan de hand?

Bij de Elisa-bepalingen worden soms ook in de niet besmette controle hele lage nietwaarden gevonden. Ergens moet een grens getrokken worden bij welke waarde een plant wel of niet ziek genoemd wordt. Vaak

	a - tijdstrip 1			tijdstrip 2			tijdstrip 3		
	Ma	My	Me	Ma	My	Me	Ma	My	Me
1 Chr. Marvel	39	92	52	71	92	92	88	100	100
2 Apeldoorn	51	42	4	13	88	79	8	42	25
3 Kees Nelis	22	96	21	13	100	100	63	96	67
4 Lustrige Witwe	25	78	33	54	83	81	65	96	95
5 Mme. Laféber	33	58	17	33	79	43	8	21	0
6 Juan	36	88	8	0	96	77	13	76	21
7 Cantata	4	0	0	0	0	4	13	0	4
8 Princeps	0	0	0	0	0	0	0	0	0

is dit geen probleem, omdat bij zieke planten de virusstiter ver boven de gekozen grens ligt. Soms echter ligt deze waarde dicht boven de grenswaarde en is het niet zeker of de betreffende plant dan werkelijk besmet is. Mogelijk is dit het geval geweest met de lage waarden die bij 'Cantata' gevonden is. Ook is het mogelijk dat een groot aantal bollen van 'Cantata' wel echt ziek was, maar dat 'Cantata' in de nareelt dit virus weer uit te schakelen. Nader onderzoek is nodig om hier uitsluitsel over te geven.

Uit de literatuur is wel iets bekend over welke bladluissorten er rondvliegen, maar niet wat nu de grootste boosdoeners zijn. Uit onderzoek van het IBO (Asjes) is bekend ook dat het aantal bladluizen, dat op een bepaald moment op een bepaald perceel tulpen voorkomt, sterk kan wisselen. In het onderzoek van CPPRO-DLO is het effect van verschillende bladluissorten onderzocht. Zo bleek de bladluissort *Aulacorthum solani*, die op tulpe wel voorkomt, het virus vrijwel niet over te brengen. Daarentegen bleek de erwtenbladluis, *Acyrtosiphum pisum*, die bestist niet op tulpe wil leven, het virus wel goed over te brengen. In een proef met acht cultivars zijn steeds 24 planten per cultivar besmet

door 10 bladluizen te gebruiken van de soort *Macrosiphum euphorbiae* of *Myzus persicae*, die beide op tulpen voorkomen. Twaalf weken na de oogst  $b =$  zijn de bollen getoetst op aanwezigheid van virus.

Uit tabel 3 blijkt dat van 'Cantata' en 'Princeps' in alle gevallen weinig of geen planten ziek worden (4 procent = 1 plant). Deze cultivars zijn resistent. Bij gebruik van *Myzus* zijn op alle tijdstippen de percentages viruszieke planten bij de andere cultivars hoger dan bij 'Cantata' en 'Princeps'. Na besmetting met *Macrosiphum* zijn de resultaten op de drie tijdstippen zeer verschillend. De percentages viruszieke planten zijn, op een enkele uitzondering na, voor alle cultivars op alle tijdstippen steeds lager dan na besmetting door *Myzus*. Op

te maken tussen sterk resistente cultivars en die met een geringe resistentie is de bladluissort *Myzus persicae* dus het meest geschikt.

### Mechanisch besmetten

De moeilijkheid bij besmettingsproeven met bladluizen is dat nooit voor 100 procent zeker is of iedere plant besmet is geraakt. Om dit probleem op te lossen zijn proeven gedaan met mechanische besmetting. Een blad van een viruszieke plant werd fijngemalen in een fosfaatbuffer. Hieraan werd carborundumpoeder toegevoegd. Tijdens het wrijven veroorzaakt dit poeder lichte verwondingen, waardoor het virus goed kon binnendringen. In de hierboven besproken proef zijn van alle cultivars ook planten mechanisch besmet.

Uit tabel 3 blijkt dat ook nu niet altijd 100 procent besmetting is aan te tonen. Mechanische besmetting gaat makkelijker en snel, maar geeft alleen bij besmetting op het bloeitijdstip dezelfde resultaten als een besmetting met behulp van de bladluis *Myzus persicae*.


W. Eikelboom (CPPRO-DLO),  
D. Peters (LUW-Virologie), D. de Vries (studiante-LUW) en J.M. van Tuyl (CPPRO-DLO)

WEEKBLAD OVER BLOEMBOLLEN EN VASTE PLANTEN

# VAKWERK



INCLUSIEF:

  
HOBAGO INTERMEDIAIRS  
Verliefing en bemiddeling siergewassen

MARKT INFO

18

103 27

Wanneer is het aantoonbaar dat een plant virusziek is?

# Resistentie tegen tulpemozaiekvirus in tulp (2)

In het eerste artikel van deze reeks hebben we laten zien hoe tulpen door bladluizen of mechanisch met TBV, tulpemozaiekvirus, besmet kunnen worden. Daarbij is het al of niet ziek zijn van een plant beoordeeld na de oogst. Maar ook voor de oogst zijn zieke planten te herkennen. Bij vroege besmetting, enkele dagen na inhalen in de kas, kan al bloemkleurbreking optreden. Afhankelijk van de cultivar en het tijdstip van bemonstoring is met blad- of stengeltoetsen virus aantoonbaar. Door een aantal dagen voor bemonstoring een blad of stengel te verwonden, kan bij meer planten virus gevonden worden. Toetsing van de bollen na de oogst geeft echter de beste beoordeling van de virusgevoeligheid.

In het veld zijn viruszieke planten te herkennen aan blad-symptomen voor de bloei, aan stengel- en bloemsymptomen (bloemkleurbreking, bloemvorm, stempelverkleuringen) en, vooral bij darvinyhbriden en veel botanische tulpen, aan bladsymptomen na de bloei. Dit zijn allemaal symptomen van een plant waarvan de bol bij het planten al virusziek is. In het onderzoek van het

CPRO-DLO wordt gesproken over gezonde bollen, die na een koudebehandeling in de kas gebracht worden en dan op een bepaald moment met virus besmet worden. Bladsymptomen zijn dan noot waargenomen. Alleen wanneer planten enkele dagen na het in de kas brengen besmet worden kan er ongeveer drie weken later bloemkleurbreking optreden.

① In een proef met acht cultivars <sup>1</sup> 4- zijn die dagen na inhalen planten mechanisch of met behulp van tien bladluizen van de bladluisoort *Macrosiphum euphorbiae* of *Myzus persicae* besmet. De resultaten zijn te zien in tabel 1. Drie weken na besmetting met *Myzus* treedt bij 75 procent of meer planten van 'Christmas Marvel', 'Apeldoorn', 'Kees Nelis' en 'Lustige <sup>2</sup> 5- 'Wirwe' bloemkleurbreking op. Bij de T. fosteriana cultivars 'Madame Lefebvre', 'Juan', 'Canara' en 'Princeps' worden geen afwijkingen in de bloemen gevonden. Na besmetting met *Macrosiphum* heeft slechts een klein percentage van de planten van 'Christmas Marvel', 'Kees Nelis' en 'Lustige Wirwe' zieke bloemen, terwijl na mechanische besmetting geen enkele cultivar zieke bloe-

men vertoont. Zoals in het artikel vorige week is beschreven, blijkt ook nu dat mechanische besmetting andere resultaten geeft dan bladluisbesmetting. Verder blijkt dat bij gebruik van *Myzus* er duidelijke verschillen te onderscheiden zijn. Vier cultivars lijken zeer vatbaar en vier T. fosteriana cultivars lijken zeer resistent.

## Niet op ieder tijdstip aantoonbaar

Op het moment dat er bloemkleurbreking optradt, zijn van <sup>3</sup> 6- alle planten bladmousters getoetst met Elisa. <sup>4</sup> Drie weken <sup>5</sup> 1 later is dat weer gedaan en vier weken na de oogst zijn tenslotte <sup>6</sup> te alle bollen getoetst. Om het verhaal niet te ingewikkeld te maken, beperken de auteurs zich tot de resultaten die na besmetting met *Myzus persicae*

② werden verkregen. Tabel 2 laat de resultaten zien. Zoals gezegd blijken drie weken na besmetting bij vier cultivars 75 procent of meer van de planten bloemkleurbreking te vertonen. Op hetzelfde moment echter is in het blad bij 'Apeldoorn' geen virus aantoonbaar en bij 'Christmas Marvel', 'Kees Nelis' en 'Lustige Wirwe' slechts bij 4 tot 25 procent van de planten. Daarentegen laten 'Madame Lefebvre' en 'Juan' geen bloemkleurbreking zien, maar blijkt er op hetzelfde moment wel bij 8 en 29 procent van de planten virus aantoonbaar te zijn in het blad. Zes weken na de besmetting neemt het percentage planten waarbij virus in het blad wordt aangetoond bij de meeste cultivars sterk toe. Twaalf weken

na de oogst zijn van dezelfde planten de bollen getoetst en worden weer andere percentages zieke planten gevonden. Hieruit blijkt dat het verloop van TBV in een pas besmette plant moeilijk te volgen is. Het hoogste percentage planten waarbij op een bepaald moment virus wordt aangetoond is het maximale aantal planten waarvan de onderzoekers zeker zijn dat ze zijn besmet.

## Cultivar verschillen

Tabel 2 geeft de volgende conclusies weer: het hoogste percentage zieke planten dat bij 'Christmas Marvel' (96 procent), 'Kees Nelis' (96 procent) en 'Lustige Wirwe' (81 procent) wordt gevonden verschilt weinig van de percentages die op andere momenten gevonden worden, uitgezonderd het percentage zieke planten waarbij drie weken na besmetting virus in het blad aantoonbaar is. Uit deze resultaten blijkt dat deze cultivars zeer vatbaar zijn en dit na vroege besmetting al te constateren is aan de hand van het percentage planten met viruszieke bloemen. Verder zijn bij 'Madame Lefebvre' en 'Juan' 58 procent en 88 procent planten met viruszieke bollen aangetroffen. Beide cultivars lieten echter drie weken na besmetting geen symptomen in de bloem zien. Bij 'Madame Lefebvre' was ook in het blad drie en zes weken na besmetting bij de meeste planten geen virus aantoonbaar, terwijl dit bij 'Juan' slechts bij respectievelijk 29 en 63 procent van de planten het geval was. Het virus lijkt zich in deze cultivars dus slechts langzaam te vermeerderen, wat een vorm van resistentie kan

0: 3 dagen  
 5: bloemblaas nieuw zelfde jaar  
 nu ontdek  
 tabel 3  
 1) high yield  
 4: want 2 bol !!

Tabel 1: Percentage planten met viruszieke bloemen bij acht cultivars die 3 dagen na inhalen besmet werden met de bladlus *Myzus persicae* (My), *Macrosiphum euphorbiae* (Ma) of mechanisch (Me).

Cultivar	My	Ma	Me
1 Christmas Marvel	92	8	0
4 Apeldoorn	75	0	0
2 Kees Nelis	88	21	0
3 Lustige Witwe	81	4	0
Mad. Lefebv. Juan,			
Cantata en Princes	0	0	0

Tabel 2: Percentage viruszieke planten bij acht cultivars, die 3 dagen na inhalen besmet werden met de bladlus *Myzus persicae*. Beroordeling na 3 weken visueel (bloem) en Elisa (blad); na zes weken Elisa (blad) en na 12 weken Elisa (bol), steeds van dezelfde planten.

Cultivar	3 weken		6 weken		12 weken	
	na besmet. bloem	blad	na besmet. bloem	blad	na besmet. bol	blad
1 Christmas Marvel	92	21	96	96	92	92
4 Apeldoorn	75	0	29	42		
1 Kees Nelis	88	25	75	96		
3 Lustige Witwe	81	4	81	78		
4 Mad. Lefebv.	0	8	4	58		
1 Juan	0	29	63	88		
7/8 Cantata & Princes	0	0	0	0		

Tabel 3: Percentage viruszieke planten van acht tulpcultivars, die werden besmet door *Myzus persicae*, 3 dagen na inhalen in de kas (tijdstip 1), 3 weken later tijdens de bloei (tijdstip 2) of 3 weken na de bloei (tijdstip 3), na beoordeling van de bolle.

Cultivar	tijdstip 1	tijdstip 2	tijdstip 3
1 Christas Marvel	92	92	100
1 Apeldoorn	42	88	42
2 Kees Nelis	96	100	96
3 Lustige Witwe	78	83	96
6 Mad. Lefebv.	58	79	21
1 Juan	88	96	76
3 Cantata	0	8	0
8 Princes	0	0	0

her geval. Bovendien bleek in de bladeren boven en onder het besmette blad sporadisch virus aangevoerd te kunnen worden. Uiteindelijk bleken na toetsing van de bollen alle vijf cultivars voor meer dan 90 procent ziek te zijn. Verwonding van blad of stengel, een week voordat met Elisa wordt getoetsd, geeft dus niet altijd verbetering van de aantoonbaarheid van het virus. Bovendien blijkt het virus na besmetting op het bloeitijdstip vooral aantoonbaar te zijn in het blad dat besmet is.

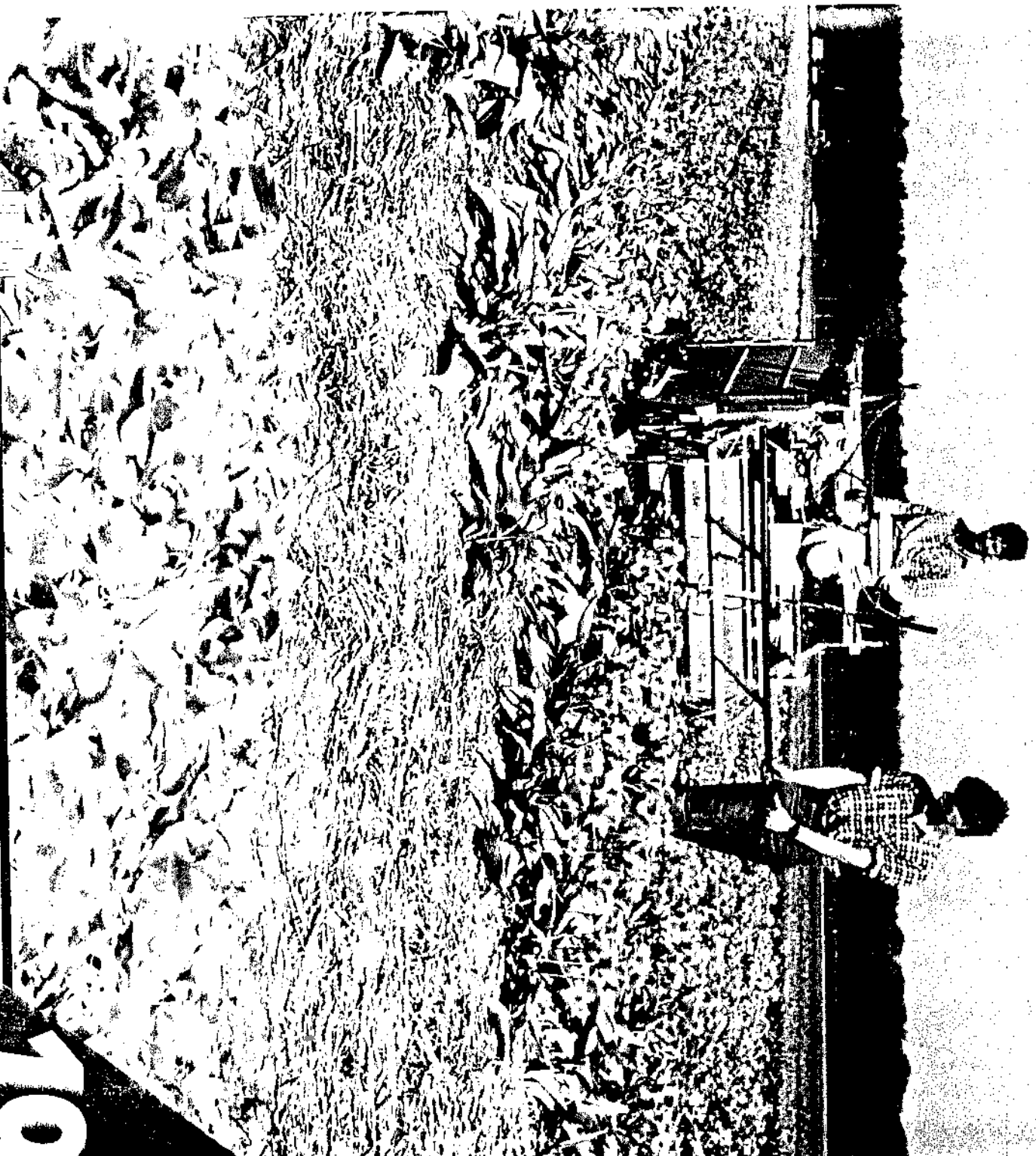
zijn. De onderzoekers waren echter niet of een bladlus het virus wel kan oppikken als het met Elisa niet aantoonbaar is. Als dit het geval is, dan is trage vermeerdering van het virus geen interessante factor, omdat het virus, bijvoorbeeld bij 'Juan', uiteindelijk toch in de bol komt. Bij 'Cantata' en 'Princes' wordt op geen enkel tijdstip virus gevonden. Deze cultivars blijken dus resistent te zijn. Bij 'Apeldoorn' blijken drie weken na besmetting 75 procent van de planten bloemkleurbreking te vertonen. Toch komt maar bij 42 procent van de planten het virus in de bol voor. Uit de vele proeven die de afgelopen jaren zijn gedaan weten de onderzoekers, dat zieke bollen in de natere vrijwel altijd zieke planten opleveren en bollen waarin we geen virus kunnen aantonen meestal gezond zijn. Planten waarbij na besmetting in bloem of blad virus aangevoerd wordt maar dit om een of andere reden niet in de bol komt noemt men resistent. 'Apeldoorn' lijkt bij vroege besmetting een zekere resistentie te bezitten. Immers van de 75 procent besmette planten (75 procent zieke bloemen) gevonden slechts 42 procent van de planten een zieke bol.

**Tijdstip van besmetten**  
 Bij de genoemde cultivars zijn planten met behulp van *Myzus persicae* (tien bladluizen per plant), drie dagen na inhalen, drie weken later (tijdens bloei) en drie weken na de bloei besmet (zie tabel 3). Vooral bij 'Apeldoorn' en 'Madame Lefebv.' blijkt dat het percentage viruszieke planten sterk afhangt van het tijdstip waarop de besmetting plaats vindt. Besmetting tijdens de bloei levert bij 'Apeldoorn' en 'Madame Lefebv.' hoge percentages zieke planten op, waardoor ze zich in resistentie niet meer onderscheiden van de andere vatbare cultivars. Wanneer de besmetting laat wordt uitgevoerd, dan wordt, net als bij vroege besmetting, lage-percentages zieke planten bij deze cultivars gevonden. De lage percentages die na late besmetting optreden kunnen verklaard worden door het achterwege blijven van virustransport van het blad naar de bol. Men spreekt dan van ouderdomsresistentie. De lage percentages zieke planten na vroege besmetting zijn moeilijker te verklaren. Daarvoor zal nader onderzoek nodig zijn. Samenattend kan worden gesteld dat het tijdstip van besmetten voor sommige cultivars sterk bepalend is voor het aantal planten waarbij het virus uiteindelijk in de bol komt.

**Aantoonbaar door verwonding**  
 Hierboven is genoemd dat met bladtoetsingen niet altijd alle zieke planten worden gevonden. Uit de literatuur is bekend dat na verwonding van een plant een sterke vermeerdering van het virus rond de wond optreedt, waardoor het virus beter aantoonbaar is. Daarom is onderzocht of na verwonding van blad of stengel dit ook bij tulip het geval is. Van vijf cultivars zijn tijdens de bloei planten besmet met behulp van *Myzus persicae* (tien bladluizen per plant). Van iedere plant is de top van het blad en het bovenste stukje van de stengel met Elisa getoetsd. Een week later is van dezelfde planten weer een stukje blad of stengel net onder de wond afgenomen en met Elisa getoetsd. Het virus bleek in het blad, en vooral in de stengel, inderdaad eerder aantoonbaar te zijn en er werden ook meer zieke planten gevonden bij 'Lustige Witwe' en 'Kees Nelis'. Bij de cultivars 'Apeldoorn', 'Juan' en 'Madame Lefebv.' was dit echter niet

WEEKBLAD OVER BLOEMBOLLEN EN VASTE PLANTEN

# MARKT OVERZICHT



NCLUSIEF:

HOBALHO INTERMEDIARS  
Verkoop en Bemiddeling 1149 Gekwast 1100

MARKT INFO

19

## Perspectieven voor resistentieveredeling

# Resistentie tegen

# tulpemozaïekvirus in tulp (3)

Om te onderzoeken of en hoe virusresistentie overerft zijn ouders nodig die verschillen in resistentie. Als niet-resistente ouders (varbaar) zijn de T. gesneriana cultivars 'Christmas Marvel', 'Lustige Witwe' en 'Kees Nelis' gekozen, die in de verschillende proeven steeds zeer varbaar bleken te zijn. Als resistente ouders (resistent) werden de T. fosteriana cultivars 'Cantata' en 'Princeps' gebruikt. Tenslotte zijn nog de T. fosteriana cultivars 'Madame Lefebvre' en 'Juan' als ouder (varbaar/resistent) gebruikt,

omdat het virus zich in planten van deze cultivars slechts langzaam blijkt te vermeerderen, maar na besmetting op het bloeitijdstip toch in de bol komt. Daarentegen komt het virus bij 'Madame Lefebvre', wanneer deze laat wordt besmet, vaak niet meer in de bol. In 1989 en 1990 zijn de genoemde cultivars in alle combi-

In de twee voorgaande artikelen hebben we uiteengezet hoe tulpen in onze proeven besmet worden met tulpemozaïekvirus (TBV) en hoe aan de hand van bloemsymptomen en blad-, stengel- of boltoetsen met Elisa virus aantoonbaar is. In dit laatste artikel laten we zien hoe deze kennis bij selectie in zaailingpopulaties wordt toegepast. De eerste voorzichtige conclusie is dat resistente ouders, zoals 'Cantata' en 'Princeps', hun resistentie inderdaad aan hun nakomelingen kunnen overdragen.

naties met elkaar gekruist. In de combinaties waarbij de vier T. fosteriana cultivars als moeder gebruikt werden en de drie T. gesneriana cultivars als vader werd geen zaad verkregen. Ook de zelfbestuivingen van de T. fosteriana cultivars leverden geen of te weinig zaad op. Zo verkregen we uiteindelijk 32

Besmetting van 2e-jaars zaailingen

zaaisels om de overerving van de resistentie aan te bestuderen (Tabel 1).

### 1e jaars zaailingen

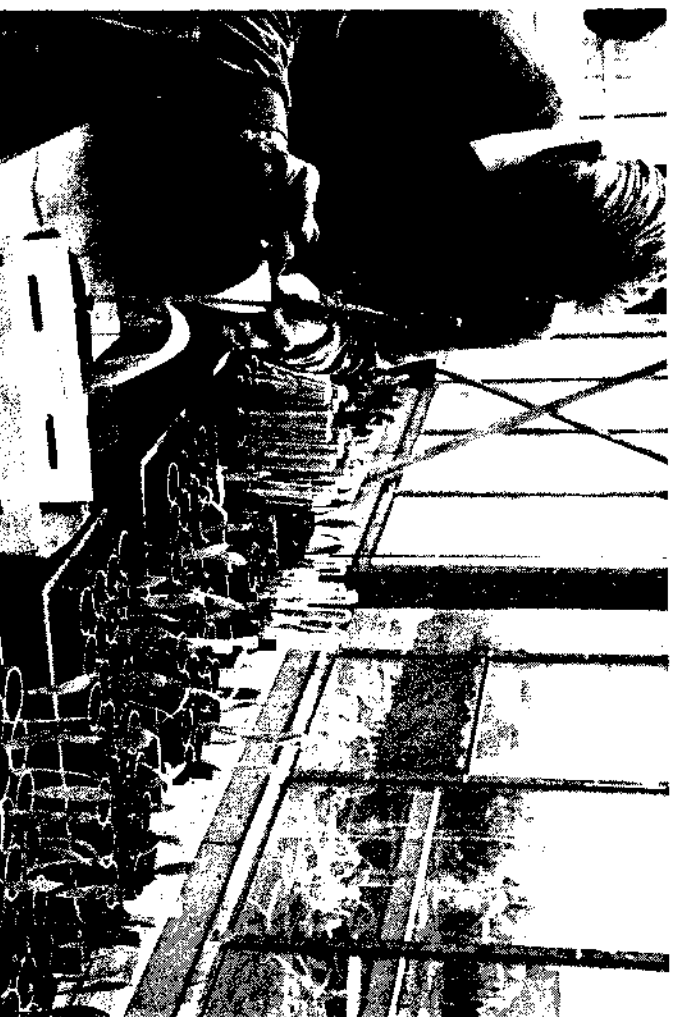
In beide voorgaande artikelen zijn steeds proeven gedaan met bloeiende planten. Bij tulp duurt het echter zo'n 4 à 5 jaar voordat uit zaad bloeiende

planten verkregen worden. Daarom zijn al in de jeugd fase (de tijd tussen zaaien en het tijdstip waarop een zaailing voor de eerste keer bloeit),

jonge zaailingplantjes besmet, om te onderzoeken of planten in de jeugd fase dezelfde resistentie bezitten als in de volwassen (bloeibare) fase. Eind november 1990 zijn van alle 32 zaaisels maximaal 500 zaden gezaaid in bakken en buiten in een gaaskas gezet. Tevens zijn van elk zaaisel 64 zaden, ieder zaadje apart in een potje gezet. Enige tijd na opkomst zijn deze potjes met eerste jaars zaailingen, begin april 1991, naar de kas gebracht. Daar is iedere zaailing met behulp van 10 bladluizen (Myzus persicae) met TBV besmet. Hiervoor waren ruim 20.000 bladluizen nodig! Een dag later zijn de bladluizen gedood en de potjes weer in de gaaskas gezet. Zes weken na besmetting is van iedere zaailing een stukje van het blad afgesneden en met Elisa getoetst op aanwezigheid van virus. Tabel 1 laat de resultaten zien. Uit tabel 1 blijkt dat in de zaaisels varbaar X varbaar en varbaar X varbaar/resistent vrijwel alle zaailingen ziek zijn. In de zaaisels van Madame Lefebvre X Juan en omgekeerd zijn minder zaailingen ziek en in de zaaisels waarbij de resistente 'Cantata' of 'Princeps' één van de ouders is werden de minste zieke planten gevonden. Beide resistente ouders lijken de resistentie dus aan hun nakomelingen door te geven.

### Bladtoets

In de voorgaande artikelen beschreven we al dat bleek dat het tijdstip van besmetten van





2017/18

2018/19

5

Tabel 1. Percentage viruszieke zaailingen, na besmetting van 64 eerstejaars zaailingen per zaaisel, met behulp van *Myzus persicae* (10 luizen per blaadje), waarvan 6 weken na besmetting met Elisa een stukje blad werd getoetst.

cultivars	vatbaar			vatbaar/resist		resistent	
	CM	LW	KN	ML	Ju	Ca	Pr
vatbaar Christmas Marvel	93	95	98	95	94	65	74
vatbaar Lustige Witwe	93	94	92	97	100	43	60
vatbaar Kees Nellis	88	87	95	83	93	40	75
vat/res. Madame Lefebver	—	—	—	—	83	29	58
vat/res. Juan	—	—	—	76	—	24	40
resistent Cantata	—	—	—	31	35	—	29
resistent Princeps	—	—	—	44	—	—	—

Q: tot tweederde van hun uiteindelijklijke lengte hadden bereikt.

De bolleries die aan het eind van het groeiseizoen uit zaad

verkegen worden zijn nog erg klein. Hierdoor lukt het niet om er een stukje af te snijden en dit met Elisa te toetsen.

2) zonder de bolleries te versprelen. We beschikken dus alleen over gegevens van bladtoetsingen. Uit de proeven met cultivars weten we dat bij vatbare cultivars vaak hoge percentages planten besmet zijn, maar zelden zijn alle planten ziek. Deze enkele planten waar geen virus gevonden wordt zijn niet resistent, maar toevallig om één of andere reden aan de besmetting ontsnapt.

Zulke planten noemen we ontsnappers. Dit kan bij de zaailingen ook gebeuren. In de vorige artikelen bleek ook dat wanneer in het blad geen virus aantoonbaar is, de bolten soms wel besmet kunnen zijn, doordat het virus zich in sommige stanten slechts langzaam vermeerdert. Ook kan het zijn dat planten waar wel virus in het blad gevonden wordt ouderdomsresistentie bezitten, waardoor het virus later toch niet in de bol gevonden wordt. De waarde van alleen een bladtoets is dus beperkt.

**Besmetting van 2e- en 3e-jaars zaailingen**

Om te onderzoeken of heel jonge zaailingen niet meer of minder vatbaar zijn dan iets

oudere zaailingen, zijn behalve eerstejaars zaailingen, ook tweede- en derde-jaars zaailingen besmet (steeds weer 64 bollen per zaaisel). Door te

snelle afsterving van het gewas konden bij de tweede jaars zaailingen, 6 weken na besmetting, niet alle blaadjes met Elisa getoetst worden. De resultaten uit het derde besmettingsjaar

bleken vrij goed overeen te komen met die verkregen in het eerste besmettingsjaar (tabel 1). De vatbaarheid in de verschillende jaren van de jeugd-fase blijkt niet veel te verschillen.

**Besmetting in bloeibare fase**

In het vierde jaar bestonden de zaaisels zowel uit grotere bloeibare bollens als uit kleine niet bloeibare bollens. Daarom is dat jaar geen besmetting uitgevoerd. We zitten nu (1995) in het 5e jaar, waarbij de meeste bollens bloeibaar zijn. De bollens zijn na een koudebehandeling op 13 februari in de kas gebracht, waarna iedere plant, be-

gin maar tijdens de bloei, is besmet met behulp van *Myzus persicae* (10 bladluizen per plant). Zes weken na de besmetting wordt van iedere plant met Elisa het blad ge-

toets, om de resultaten te kunnen vergelijken met de resultaten verkregen in de jeugd-fase.

Zo kan bepaald worden of de vatbaarheid van nog niet bloeibare zaailingen al of niet overeenkomt met die in de bloeibare fase.

Tevens worden vier weken na de oogst van alle planten de bollens getoetst om te kijken in hoeverre blad- en bolgegevens met elkaar overeenstemmen. Zodra de resultaten van de bla-

den bolgegevens bekend zijn komen we hier uitvoerig op terug, om het belang van een zaaiingroets voor de veredeling te kunnen aangeven.

**Zaailingen doorgeteld**

Alle zaailingen die in de jeugd-fase werden besmet zijn doorgeteld, zowel de planten waarbij wel als die waarbij géén virus in het blad is aangetoond.

Kortig jaar trad voor het eerst hier en daar bloei op en zagen we ook bloemkleurtekening optreden. Dit jaar zullen we meer planten bloeien. Aan de hand van blad- en/of bloemsymptomen kan dan worden vastgesteld of een plant virus-ziek is. Van planten die geen bloemof bladsymptomen laten zien wordt na de oogst de bol getoetst met Elisa.

Planten die visueel of na Elisa-toetsing gezond blijken te zijn, worden een aantal jaren doorgeteld, om vervolgens per

zaaiing een aantal bloeibare bollens nogmaals te besmetten. Zaailingen die in deze toets weer niet virusziek worden zijn echt resistent. Op dat moment kunnen we pas een definitieve uitspraak doen of en hoe TBV-resistentie overerft. De resistente zaailingen die uiteindelijk over blijven kunnen dan als geniteur gebruikt worden in verder kruisingswerk. Als ook de andere eigenschappen van voldoende hoog niveau zijn kunnen deze zaailingen tevens als nieuwe cultivar worden geïntroduceerd.

Tot slot willen we bedanken J.P. van Eijk, die vele jaren dit onderzoek met veel enthousiasme en grote inzet heeft geleid. A.R. van Schadewijk van de BKD, die met zijn mensen duizenden Elisabethalingen heeft uitgevoerd. I. Derksen van de LUW, die steeds weer precies op tijd de duizenden bladluizen voor ons klaar had staan en J.P. van Dijk en W.A. van Dijk, die vele bladluizen één voor één hebben over gezet en voor de verdere verzorging van het gewas hebben gezorgd.

W. Eikelboom (CPRO-DLO), D. Peters (LUW-Virologie) en J.M. van Tuyl (CPRO-DLO)

WEEKBLAD OVER BLOEMBOLLEN EN VASTE PLANTEN

# MARKT INFO



INCLUSIEF:

*W*

HOBAGO INTERMEDIARIS  
VERLENING VAN BLOEMBOLLEN EN VASTE PLANTEN

MARKT INFO

20