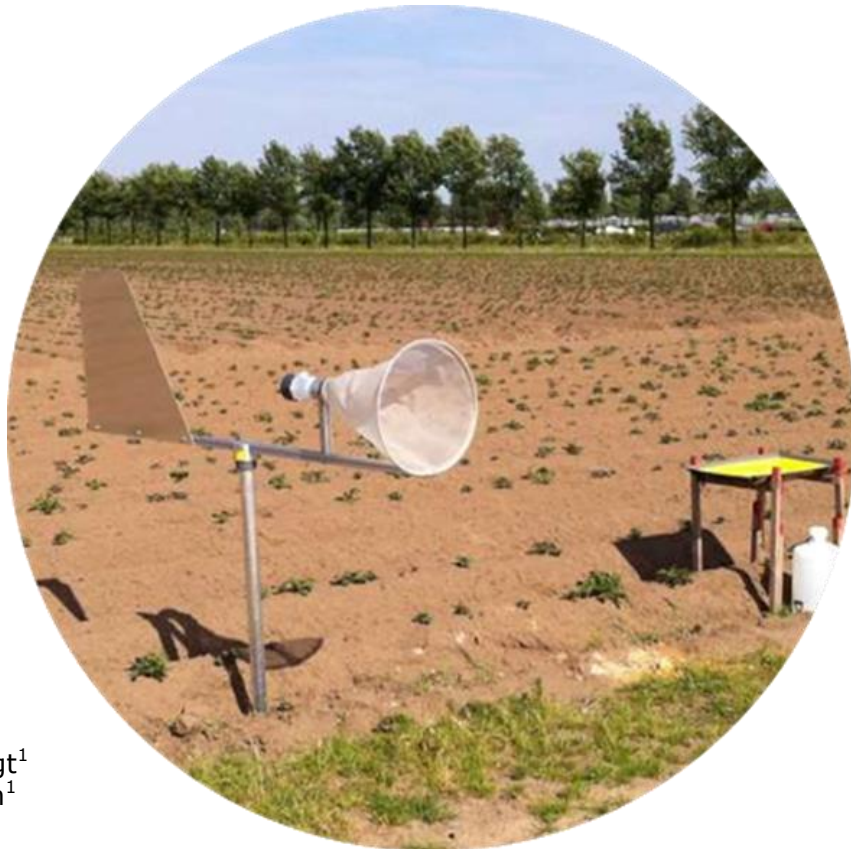

Bronnen van Aardappelvirus Y



Auteur(s):

René van der Vlugt¹
Petra van Bekkum¹
Henry van Raaij¹
Paul Piron¹
Martin Verbeek¹
Corina Topper²
Kees Bus²
Romke Wustman²

¹ Plant Research International, Wageningen

² PPO-AGV, Lelystad

Plant Research International, onderdeel van Wageningen UR
Business Unit Biointeracties en Plantgezondheid
Juli 2012

© 2012 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) onderzoeksinstituut Plant Research International. 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 Plant Research International, Businessunit Biointeracties en Plantgezondheid.

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

Exemplaren van dit rapport kunnen bij de (eerste) auteur worden besteld. Bij toezending wordt een factuur toegevoegd; de kosten (incl. verzend- en administratiekosten) bedragen € 50 per exemplaar.



Dit onderzoek is mogelijk gemaakt door financiering door het Productschap Akkerbouw.

Plant Research International, onderdeel van Wageningen UR Business Unit Biointeracties en Plantgezondheid

Adres : Postbus 16 Wageningen
: Wageningen Campus, Droevendaalsesteeg 1, Wageningen
Tel. : 0317 – 48 60 01
Fax : 0317 – 41 80 94
E-mail : info.pri@wur.nl
Internet : www.pri.wur.nl

Inhoudsopgave

	pagina
Samenvatting en conclusies	1
1. Inleiding	3
1.1 Vraagstelling	3
1.2 Opzet van het onderzoek	3
1.2.1 Welke bladluizen komen wanneer het veld binnen en dragen ze dan al PVY bij zich?	3
1.2.2 Komt PVY vooral van binnen of van buiten het veld?	4
1.2.3 Welke rol spelen onkruiden en opslag als bron van PVY?	4
2. Materiaal en methoden	6
2.1 Proefvelden	6
7	
2.2 Bladluisvangsten	8
2.2.1 Plaatsing van fuiken en vangbakken in het veld	8
2.2.2 Legen van de fuiken en vangbakken in het veld	8
2.3 Tellen en identificeren van bladluizen	9
2.4 Ontwikkeling van een toetsmethode voor het aantonen van PVY in individuele bladluizen	10
2.4.1 RNA isolatie uit individuele bladluizen	10
2.4.2 TaqMan reactie op totaal RNA uit een bladluis	10
2.4.3 Gebruikte TaqMan primers en probe	10
2.4.4 TaqMan reactie	10
2.5 Bepaling van de overleving van PVY in een individuele bladluis	11
2.6 Toetsing van onkruiden op PVY	12
2.6.1 Verzamelen van onkruidmonsters	12
2.6.2 DAS-ELISA toetsing van onkruidmonsters op PVY	14
2.6.3 Aardappelopslag	14
3. Resultaten	15
3.1 Bladluisvangsten	15
3.1.1 Fuiken en vangbakken in Wageningen	15
3.1.2 Fuiken en vangbakken in Lelystad	15
3.1.3 Aantallen gevangen bladluizen	16
3.1.4 Gevangen bladluizen aan de rand of midden in het veld	18
3.1.5 Toetsing van de gevangen bladluizen op PVY	19
3.2 Overleving van PVY op een individuele bladluis	22
3.2.1 Overleving van PVY aan de monddelen van een bladluis	22
3.2.2 Overdracht van PVY via de monddelen van een bladluis	23
3.2.3 Herhaalde overdracht van PVY via de monddelen van een bladluis	23
3.3 Toetsing van onkruiden op PVY	25
3.3.1 Verzamelen van onkruiden	25
3.3.2 ELISA -toetsing van onkruiden op infectie met PVY	26
3.3.3 Aardappelopslag	27

4.	Bespreking van de resultaten	28
4.1	Bladluisvangsten	28
4.1.1	Fuiken en gele vangbakken	28
4.1.2	Toetsing van de gevangen bladluizen op PVY	32
4.2	Overleving van PVY op bladluizen	36
4.3	PVY in onkruiden	36
5.	Aanbevelingen voor verder onderzoek	39
6.	Literatuur	40

Samenvatting en conclusies

Dit verslag beschrijft de resultaten van het onderzoek dat Plant Research International in 2011 in opdracht van het Productschap Akkerbouw (PA) heeft verricht naar de mogelijke bronnen van besmettingen met het aardappelvirus Y (PVY) in aardappelen. In dit onderzoek is met name gekeken naar de rol van bladluizen als belangrijkste overbrengers ('vectoren') van PVY. Daarnaast is gekeken naar het mogelijk voorkomen van het virus in andere planten (m.n. onkruiden).

Gedurende het groeiseizoen 2011, tussen begin april en eind augustus, zijn met behulp van gele vangbakken en speciaal gebouwde fuiken, bladluizen gevangen in aardappelvelden op twee verschillende locaties in Nederland, te weten Wageningen en Lelystad. Deze vangsten zijn geanalyseerd op de gevangen soorten bladluizen en op de aantallen van die soorten welke als belangrijkste overbrengers van het aardappelvirus Y worden beschouwd.

Ook is met behulp van een speciaal voor dit onderzoek ontwikkelde toetsmethode van individuele gevangen bladluizen bepaald of ze PVY bij zich droegen.

Aanvullend zijn diverse veelvoorkomende soorten onkruiden onderzocht op een mogelijke infectie met aardappelvirus Y.

De belangrijkste resultaten uit het onderzoek kunnen als volgt worden samengevat:

- In totaal werden op de twee locaties Wageningen en Lelystad in de fuiken en gele vangbakken 4083 bladluizen gevangen: 2659 in de fuiken en 1424 in de gele vangbakken.
- In de fuiken werden aanzienlijk meer bladluizen gevangen dan in de gele vangbakken (2662 tegen 1424). Er zijn duidelijke verschillen tussen de locaties Wageningen en Lelystad maar die worden vooral veroorzaakt door de categorie 'andere luizen'. Van de 10 belangrijke soorten werd meer dan 71% gevangen in de fuiken terwijl minder dan 29% in de gele vangbakken was terechtgekomen.
- Van de 4083 gevangen bladluizen behoorden er 723 tot de tien belangrijkste geachte soorten. De overige 3363 bladluizen zijn niet verder tot op soort niveau gedetermineerd of getoetst op aanwezigheid van PVY
- De andere soorten bladluizen maken een aanzienlijk deel van de bladluisvangsten uit. In ons onderzoek meer dan 80%, in de vangsten van de NAK in 2011 bijna 55%. Het is niet bekend of er in deze groep soorten zijn die PVY bij zich dragen of het evt. over kunnen dragen.
- Van de groene perzikluis (*Myzus persicae*: Mp), de bladluissoort die algemeen als de belangrijkste vector van PVY wordt beschouwd, werden in de periode van april tot en met september maar een beperkt aantal exemplaren gevangen (in totaal 35). Twaalf daarvan werden gevangen in de fuiken, 17 in de gele vangbakken. Van dertien van deze exemplaren is bepaald of ze PVY bij zich droegen; 5 exemplaren waren positief voor PVY, 8 exemplaren negatief.
- Bijna alle andere belangrijke bladluissoorten zaten qua aantallen dicht bij de groene perzikluis in de buurt. De uitzondering hierop was *Rhopalosiphum padi*, de vogelkersluis. Van deze bladluis werden in ons onderzoek in totaal 495 exemplaren gevangen. Dat is 12.1% van het totaal.

- Hiervan zijn 152 exemplaren getoetst op aanwezigheid van PVY; 42 hiervan waren positief voor PVY (27.6%) en 110 waren negatief (72.4%).
- Wat verder opvalt bij *Rhopalosiphum padi* is dat de soort al vroeg in het voorjaar vliegt en duidelijk beter gevangen wordt in de fuisen dan in de gele vangbakken; 404 in de fuisen tegenover 91 in de gele vangbakken.
- De groene perzikluis is in staat om PVY langere tijd aan zijn monddelen te dragen en over te dragen; tot 4 uur na opname van het virus. Ook raakt de luise het virus niet erg snel kwijt; na meerdere proefboringen op gezonde planten kon het virus nog steeds worden overgedragen.
- Met de fuik die aan de rand van het veld werd geplaatst, aan de westkant tegen de wind in, werden voornamelijk bladluizen gevangen die van buiten het aardappelperceel kwamen. Een aanzienlijk deel van deze bladluizen draagt al PVY bij zich. Deze bladluizen hebben het virus waarschijnlijk opgenomen uit bronnen buiten het perceel en zorgen zo voor een virus influx in de (poot)aardappel partij. Deze conclusie wordt ondersteund door de waarneming dat er al PVY-positieve bladluizen gevangen voordat het aardappelgewas boven staat.
- Van verschillende onkruiden, waaronder ook enkele meerjarige soorten, verzameld in of vlakbij aardappelpercelen werd vastgesteld dat ze geïnfecteerd waren met PVY.
- Onkruiden spelen zeer waarschijnlijk een grotere rol in de verspreiding van PVY dan tot nu toe werd aangenomen.
- Om een goede risico-inschatting te kunnen maken welk gevaar deze potentiële alternatieve bronnen van PVY vormen, moet bepaald worden hoe efficiënt de opname van PVY uit de belangrijkste potentiële PVY-bronplanten voor verschillende soorten bladluizen is.

1. Inleiding

1.1 Vraagstelling

Vast staat dat bladluizen de belangrijkste verspreiders van aardappelvirus Y (PVY) van plant naar plant zijn. Een van de vele vragen is waar deze bladluizen het virus oppikken, m.a.w. wat de belangrijkste virusbronnen in het veld zijn. Hoe is het mogelijk dat in een korte periode het percentage zieke planten geteeld uit een partij kwalitatief hoogwaardig pootgoed (met gemiddeld minder dan 0.5% PVY geïnfecteerde knollen) toeneemt tot soms meer dan 20%? Verspreid het virus zich vooral vanuit de secundair geïnfecteerde aardappelplanten, die uit geïnfecteerde knollen groeien, of komt het (ook) van buiten het veld? Of is het een combinatie van beiden?

Eerder onderzoek van PPO-BBF (de Kock *et al.*, 2009) naar de verspreiding van tulpenmozaïekvirus (TBV), een virus dat qua eigenschappen sterk overeenkomt met PVY, maakte duidelijk dat TBV zich al verspreidt wanneer er nog geen bladluizen worden gevangen in gele vangbakken. Voor PVY wordt aangenomen dat de belangrijkste verspreiding door bladluizen pas later in het seizoen binnen een aardappelveld plaatsvindt. Er is echter weinig bekend over eventuele overdracht vroeger in het seizoen, vooral ook omdat er wel bladluizen geteld worden maar er (nog) niet gekeken is of die wel of geen virus bij zich dragen. Wanneer begint dus eigenlijk de verspreiding van PVY?

Daarnaast zijn er sterke aanwijzingen uit buitenlands onderzoek dat PVY in veel onkruiden voorkomt (Kaliciak and Syller, 2009; Kürzinger *et al.*, 2004). Komt PVY ook in Nederland in onkruiden voor en welke van die onkruiden in Nederland zijn belangrijk als mogelijke bronnen waaruit PVY zich kan verspreiden?

1.2 Opzet van het onderzoek

Dit gezamenlijk onderzoek van PRI in Wageningen en PPO-AGV in Lelystad is opgedeeld in drie delen:

- Welke bladluizen komen wanneer het veld binnen en dragen ze dan al PVY bij zich?
- Zijn de belangrijkste virusbronnen te vinden buiten het aardappelveld of vindt de verspreiding van PVY voornamelijk binnen het veld plaats?
- Welke onkruiden in Nederland zijn een mogelijke bron van PVY en welke rol spelen deze onkruiden en aardappelopslag in de verspreiding van PVY

1.2.1 Welke bladluizen komen wanneer het veld binnen en dragen ze dan al PVY bij zich?

Deze vraag wordt onderzocht door het vangen en tellen van rondvliegende bladluizen en het toetsen van gevangen bladluizen op het bij zich dragen van PVY. Op twee verschillende plaatsen in Nederland (Wageningen en Lelystad) wordt aan de windkant van een aardappelveld een fuik geplaatst. Naast deze fuik wordt ter vergelijking een gele vangbak geplaatst. In de periode van april t/m augustus worden dagelijks de bladluizen uit de fuik en gele vangbak verzameld en op geregelde tijden in het laboratorium geteld en gedetermineerd. Vergelijking van de bladluisvangsten tussen de fuik en de vangbak geeft een beeld van het algemene verschil in vangstefficiëntie tussen de twee. Door de gevangen aantallen per bladluisoort (waaronder in ieder geval de perzikkuis, wegedoornluis en vuilboomluis, erwteluis en hopluis) te tellen krijgen

we ook informatie over een evt. verschil per soort. Alle gegevens zullen worden vergeleken met de landelijke bladluisvangstgegevens van de NAK.

De gevangen bladluizen worden m.b.v. een gevoelige PCR methode onderzocht om te bepalen of ze PVY bij zich dragen. Uit deze test blijkt per week welk gedeelte van de gevangen bladluizen PVY bij zich dragen en dus mogelijk een direct gevaar voor virusoverdracht vormen. Door deze gegevens gedurende 5 maanden te verzamelen krijgen we een veel beter inzicht wanneer de verspreiding van PVY begint en zijn hoogtepunt bereikt.

Wel moest deze test eerst gevalideerd worden. De algemene opvatting is dat PVY maar kortstondig overleeft op de monddelen van een bladluis; zonder prikken tot 1 à 2 uur (Scheepers & Bus, 1980). Uit ons eerder onderzoek (en tevens buitenlands onderzoek) komt echter een ander beeld naar voren. PVY blijkt in proeven langer te kunnen overleven in de monddelen dan in het algemeen aangenomen, maar verder onderzoek is nodig om dit echt goed vast te stellen. Dit is vooral nodig om te kunnen bepalen of de bladluizen die gevangen worden en getest worden op PVY eventueel negatief zijn in zo'n test omdat ze nooit PVY bij zich hadden of dat ze het virus kwijt zijn geraakt sinds hun vangst in de fuik. Maar niet alleen voor dit veldonderzoek is het belangrijk om dit te weten. Als beter vast komt te staan hoe lang PVY in de bladluis overleeft, kan bijvoorbeeld ook een veel betere inschatting worden gemaakt van de veilige afstand die een pootgoedveld van een productieveld moet liggen. Nu wordt er met enkele tientallen meters gewerkt, maar deze afstand is ondermeer gebaseerd op de aanname dat het virus in enkele minuten weer van de bladluis verdwenen is. Maar als dat nu geen minuten zijn maar veel langer?

1.2.2 Komt PVY vooral van binnen of van buiten het veld?

Die vraag kan wellicht beantwoord worden door bij de twee proeflocaties een tweede fuik en gele vangbak aan de andere kant van het veld te zetten en de bladluisvangsten en het percentage PVY-dragende bladluizen tussen de twee fuiken en gele vangbakken in één veld te vergelijken. Wanneer het virus vooral van buiten het veld komt, zal er weinig verschil in percentage virusdragende bladluizen zijn. Is er voornamelijk verspreiding binnen het veld, dan zullen de fuik en gele vangbak die (gezien vanuit de windrichting) vóór het veld staat beduidend minder virusdragende bladluizen bevatten dan de fuik en vangbak die verder in het veld staan. Door als proeflocaties een productieveld en een pootgoedveld te nemen wordt een hoge en een lage virusdruk in de proef ingebouwd.

1.2.3 Welke rol spelen onkruiden en opslag als bron van PVY?

Er komen steeds meer aanwijzingen dat PVY in veel meer planten voorkomt dan alleen in aardappel of enkele nauw aan aardappel verwante onkruiden (bijv. zwarte nachtschade). In een Duits onderzoek werden meer dan 75 zeer algemeen voorkomende onkruidsoorten gevonden waarin PVY werd aangetoond. Dit zijn potentiële bronnen van waaruit PVY zich kan verspreiden. Het is belangrijk ook voor de Nederlandse situatie na te gaan welke onkruiden – en in welke mate – mogelijke bronnen zijn voor de verspreiding van PVY. Door m.b.v. ELISA te bepalen of deze planten geïnfecteerd zijn met PVY, krijgen we direct een beeld van het mogelijke gevaar die bepaalde onkruiden vormen.

Aardappelopslag is vaak besmet met PVY. Al vroeg in het jaar komt het soms in hoge dichtheden voor. Welk gevaar vormt dit PVY-reservoir voor de vroege verspreiding van PVY? Met de hulp van een geselecteerde groep telers (vanuit de pootgoedacademie is belangstelling getoond) zal bepaald worden wanneer opslag verschijnt. Na bemonstering zal in het laboratorium de mate van PVY-infectie in opslag vastgesteld worden.

2. Materiaal en methoden

2.1 Proefvelden

Om een zo representatief mogelijk beeld te krijgen gebeurde het vangen van bladluizen en het verzamelen van onkruiden op twee verschillende locaties: Wageningen en Lelystad.

Op beide locaties werd een aardappelveld geselecteerd voor vangen en verzamelen van de bladluizen. In Wageningen betrof het een productieveld zetmeelaardappelen (Seresta) gelegen aan de Bornsesteeg (zie figuur 1). In Lelystad betrof het een perceel pootgoed Agria op de Prof. Broekemahoeve (zie figuur 2)

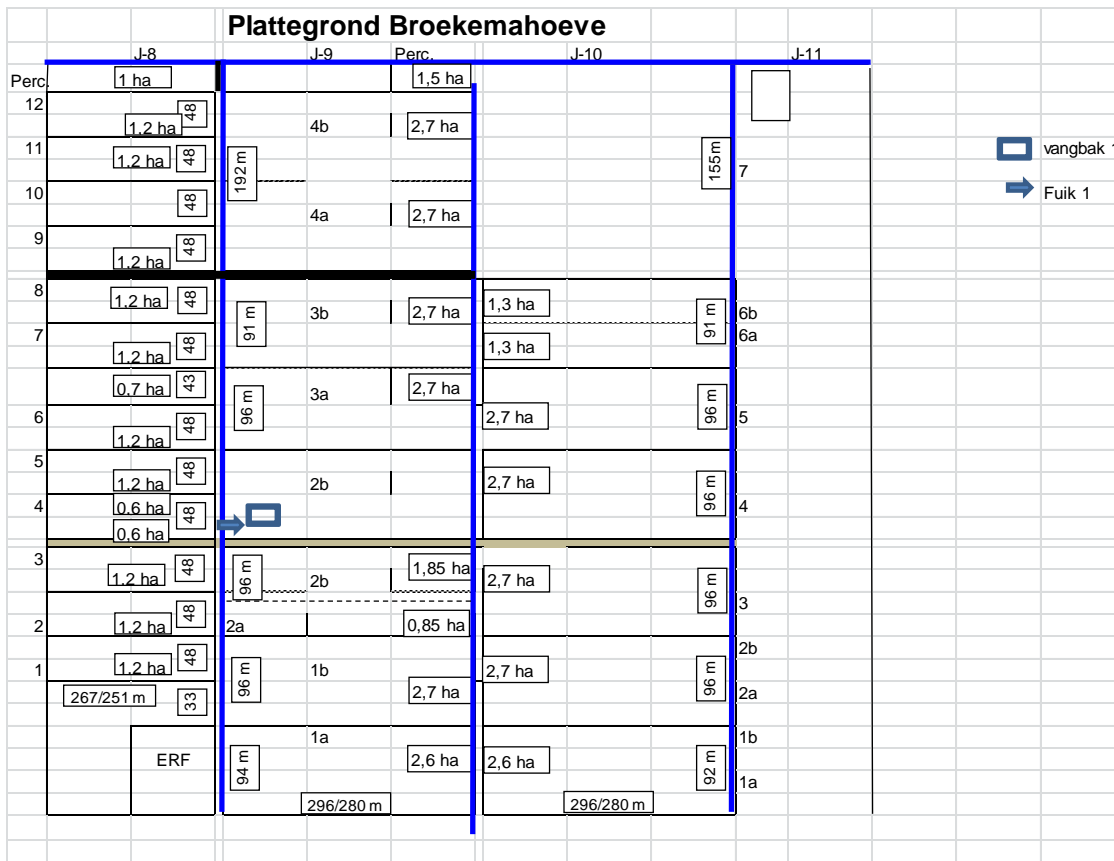
In Wageningen werd uiteindelijk noodgedwongen gebruik gemaakt van 2 verschillende aardappelvelden. De proef is gestart op veld 1 (Born 1) maar i.v.m. leveringsafspraken moest dit veld op 15 augustus (voortijdig) gerooid worden. Die dag zijn de fuik en vangbak naar veld 2 verplaatst. Ook dit betrof een productieveld Seresta. Tegen de overheersende windrichting in, lag ten westen van veld 1 in 2011 een productieveld tarwe, ten westen van veld 2 een perceel bieten.



Figuur 1. Google Earth opname (2005) van de ligging van de gebruikte percelen 1 en 2 op de Born in Wageningen met daarin de locaties van de fuik en gele vangbak gebruikt voor de bladluisvangsten.



Google earth opname (2009) van de ligging van gebruikte perceel op de Prof. Broekemahoeve in Lelystad met daarin locatie van de fuiken en gele vangbakken gebruikt voor de bladluisvangsten.



Figuur 2. Schematisch overzicht van de ligging van het gebruikte perceel 2b op de Broekemahoeve in Lelystad met daarin de locaties van de fuik en gele vangbak gebruikt voor de bladluisvangsten.

2.2 Bladluisvangsten

2.2.1 Plaatsing van fuiken en vangbakken in het veld

Om de aantallen binnenvliegende bladluizen te kunnen bepalen zijn zowel in Wageningen als in Lelystad de eerste fuik en gele vangbak aan de rand van het veld geplaatst, tegen de overheersende windrichting in. Hiermee zal naar verwachting het meerendeel van de gevangen luizen van buiten het veld afkomstig zijn.

In de loop van het groeiseizoen zijn gedurende een korte periode een 2^e fuik en gele vangbak geplaatst. Deze fuik en vangbak werden midden in het veld geplaatst, op minimaal 100 meter met de wind mee t.o.v. de 1^e fuik en vangbak. Naar verwachting zullen de luizen in deze fuik en vangbak voor een groot deel afkomstig zijn uit het aardappelveld zelf. De vangsten uit de 2 fuiken en gele vangbakken zijn per locatie met elkaar vergeleken.

2.2.2 Legen van de fuiken en vangbakken in het veld

Uit elke fuik en elke vangbak werden enige malen per week volgens onderstaand schema de bladluizen verzameld. Hiertoe werd in het begin van de ochtend van de fuik de plastic fles met vangst vervangen en werd de inhoud van de gele vangbak opgevangen in een kaasdoekfilter. Dit kaasdoek werd direct in 80% alcohol geconserveerd.

De inhoud van de plastic fles werd direct bij terugkomst in het lab in alcohol omgeschud. De bladluizen uit de fuik en uit de vangbak werden apart geselecteerd en alle andere insecten in de

vangst werden verwijderd. De verzamelde bladluizen werden per dag in aparte eppendorfbuisjes in 80 of 100% alcohol in de diepvries (-20°C) bewaard voor latere analyse op soort en evt. aanwezigheid van PVY.

Tabel 1. Wekelijks verzamelschema van bladluizen uit fuik en gele vangbak

Dag	Wageningen		Lelystad	
	Fuik	Vangbak	Fuik	Vangbak
Maandag	X	X	X	X
Dinsdag	X	X	X	X
Woensdag	-	-	X	X
Donderdag	X	X	X	X
Vrijdag	X	X	X	X

De vangsten die op dinsdag, woensdag en vrijdag werden verzameld, bestrijken een periode van 24 uur. Deze vangsten zijn geanalyseerd op aantallen en soorten bladluizen en een aantal bladluizen per vangstdag is ook individueel getoetst op de aanwezigheid van PVY (zie verder).

De vangsten die op maandag en donderdag werden verzameld bestrijken in Wageningen meerdere dagen. Deze vangsten zijn wel geanalyseerd op aantallen en soorten bladluizen maar de bladluizen zijn niet individueel getoetst op de aanwezigheid van PVY. De reden hiervoor is dat we binnen dit project ook aangetoond hebben (zie paragraaf 4.2.1) dat PVY in de bladluis tenminste 24 uur aantoonbaar blijft. Van bladluizen die langer dan 24 uur in de fuik of vangbak hebben gezeten, en negatief testen op aanwezigheid van PVY, is het echter niet zeker of ze echt geen virus bij zich droegen op het moment dat ze de fuik cq. vangbak invlogen. Voor de toetsingen zijn deze bladluizen dan ook buiten beschouwing gelaten.

2.3 Tellen en identificeren van bladluizen

De bladluisvangsten van de verschillende dagen werden geanalyseerd op aantallen van een 10-tal belangrijke bladluissoorten (zie tabel 2). Selectie van deze soorten was op basis van de reeds bekende REF waarden en verwachte vangstaantallen. M.b.v. een binoculair werden individuele luizen gedetermineerd op soort en apart gehouden.

Van de andere bladluizen die niet tot deze soorten behoorden werd per vangstdatum alleen het totaal aantal geteld.

Tabel 2. Overzicht van de 10 bladluissoorten waarvan de aantallen wel (+) en niet (-) apart geteld werden in de vangsten uit de fuiken en gele vangbakken in Wageningen en Lelystad. ¹ In Lelystad zijn *Aphis frangulae* en *Aphis nasturtii* samen geteld.

Bladluissoort	Afkorting	Wageningen	Lelystad
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	Ap	+	+
<i>Aphis fabae</i>	Af	+	-
<i>Aphis frangulae</i>	Afr	+	+ ¹
<i>Aphis nasturtii</i>	An	+	+ ¹
<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	Me	+	+
<i>Myzus persicae</i>	Mp	+	+
<i>Myzus certus</i>	Mc	+	-
<i>Phorodon humuli</i>	Ph	+	+
<i>Rhopalosiphum insertum</i>	Ri	+	-
<i>Rhopalosiphum padi</i>	Rp	+	+

2.4 Ontwikkeling van een toetsmethode voor het aantonen van PVY in individuele bladluizen

Om na te kunnen gaan of de gevangen bladluizen wel of geen PVY bij zich dragen was het nodig om een methode te ontwikkelen die zo'n toetsing op individuele luizen mogelijk maakt. Omdat het om erg weinig virus per bladluis gaat, is ELISA hier niet gevoelig genoeg voor. Daarom is besloten om een moleculaire toets te ontwikkelen die wel gevoelig genoeg zou moeten zijn. Eis was wel dat de test ook een indicatie moest kunnen geven van de hoeveelheid virus in een bladluis.

In de literatuur bleken al diverse toetsen beschreven. Uiteindelijk is een TaqMan toets als uitgangspunt genomen en aangepast. De implementatie van deze toets op individuele bladluizen vergde wel enige optimalisatie. Uiteindelijk bleek onderstaand protocol betrouwbaar.

2.4.1 RNA isolatie uit individuele bladluizen

Individuele bladluizen worden fijngemalen in een eppendorfbuisje m.b.v. een steriel plastic pottertje en 20 µl TE buffer. Dit extract wordt kort afgedraaid en geheel gebruikt voor isolatie van totaal RNA m.b.v. een Qiagen RNAasy plant Mini kit. Na de laatste eluatiestap resteert van elke bladluis in totaal 50 µl totaal RNA voor verdere toetsing.

2.4.2 TaqMan reactie op totaal RNA uit een bladluis

1-2 µl totaal RNA wordt aangevuld met steriel MQ water tot 10 µl. Dit wordt gedurende 3 min verhit bij 60°C en direct daarna op ijs geplaatst. Vervolgens wordt 15 µl TaqMan mix met primers en probe (zie hieronder) toegevoegd.

2.4.3 Gebruikte TaqMan primers en probe

PVY Univ F primer	5'- CATAGGAGAACTGAGATGCCAACT
PVY univ R primer	5'- TGGCGAGGTTCCATTTTCA
PVY Univ probe	5'- FAM-TGATGAATGGGCTTATGGTTTGGTGCA-BHQ-1

2.4.4 TaqMan reactie

De TaqMan realtime PCR is uitgevoerd met de TaqMan one-step RT-PCR mastermix reagentia (Applied Biosystems) op een TaqMan 7500 Realtime PCR system (Applied Biosystems)

2x universal PCR master mix	12.50 µl
40x multiscribe and Rnase inhibitor mix	0.625 µl
PVY Univ F primer(10 µM)	0.75 µl (300 nM)
PVY Univ R primer (10 µM)	0.75 µl (300 nM)
PVY Univ probe (10 µM) (FAM)	0.375 µl (150 nM)
Template RNA	1-2 µl
MQ	9-8 µl
Totaal	25.00 µl

TaqMan realtime PCR programma

Step 1	30 min 48°C
Step 2	10 min 95°C
Step 3	15 sec 95°C
Step 4	1 min 60°C
Step 5	go to step 3 49x

Na afloop van de TaqMan reactie werden de gegenereerde data geanalyseerd m.b.v. Applied Biosystems SDS V2.06 Software.

2.5 Bepaling van de overleving van PVY in een individuele bladluis

Binnen PRI is een kweek aanwezig van de groene perzikluis (*Myzus persicae*) op chinese kool. Uit deze kweek werden jonge ongevleugelde bladluizen verzameld in een plastic bakje en na een hongerperiode van ca. 2 uur op een aardappelblad geplaatst. Deze aardappel was geïnfecteerd met een Nederlands isolaat van de NTN-stam van PVY (PVY-757).

Na 2,5 minuut waarin de bladluizen de gelegenheid kregen om te proefboren in het PVY geïnfecteerde aardappelblad (en daarmee het virus op te nemen aan hun styletten), werden ze van het aardappelblad weggehaald m.b.v. een penseel en individueel in een schoon en leeg eppendorfbuisje geplaatst t.b.v. latere Taqman toetsing.

Volgens de gangbare opvatting wordt het virus na binding aan de styletten weer snel afgebroken. Daarmee verliest de bladluis al snel het vermogen om het PVY over te dragen. Om na te gaan hoe snel de afbraak van PVY aan de styletten van de groene perzikluis verloopt (of anders gezegd: hoe lang het virus aan de styletten van de bladluis overleeft), werden verschillende bladluizen, nadat ze weer gedurende 2,5 minuten proefboringen op een ziek aardappelblad konden doen, gedurende verschillende tijden in een schoon en leeg bakje bewaard. Elk bakje afzonderlijk was voor een bepaalde hongertijd.

Na de hongertijd werden ze op toetsplanten gezet om te bepalen of ze nog in staat waren om PVY over te dragen en zo ja, hoe efficiënt. Hiervoor wordt een gevoelige toetsplant gebruikt (lampionplant: *Physalis floridana*). Na 2 tot 3 weken kan simpel aan de hand van virussymptomen op *Physalis floridana* bepaald worden of er overdracht van PVY heeft plaatsgevonden.

De behandelingen waren:

1. 2,5 min AAP en dan direct op *Physalis*
2. 2,5 min AAP en 1 uur hongeren in bakje
3. 2,5 min AAP en 2 uur hongeren in bakje
4. 2,5 min AAP en 4 uur hongeren in bakje
5. 2,5 min AAP en dan direct op *Physalis* (15 stuks) gedurende 5 min (met kooitje), daarna luis overzetten op volgende *Physalis* plant gedurende 5 min. enz. totdat de luizen op het achtste plantje zitten. Hier de luizen op laten zitten met kooitje.

Na afloop van de hongertijd in het bakje werden de bladluizen:

- Of in de diepvries bij -20°C geplaatst voor latere toetsing m.b.v. TaqMan op aanwezigheid van PVY (zie hierboven),
- Of individueel op een kleine zaailing van *Physalis floridana* geplaatst om de efficiëntie van overdracht van PVY te toetsen.

Physalis floridana is een gevoelige toetsplant voor PVY en deze methode om de efficiëntie van overdracht van PVY door bladluizen te testen, is eerder succesvol gebruikt in het mede door PA gefinancierde onderzoek naar de hernieuwde bepaling van de Relatieve Efficiëntie Factoren (REF-waarden) voor verschillende bladluisoorten in combinatie met verschillende stammen van PVY (Verbeek et al, 2010).

De bladluizen worden nadat ze 24 uur op *Physalis* hebben gezeten, gedood met behulp van insecticide. De jonge *Physalis* zaailingen worden in een kas geplaatst bij ong. 22°C en 16 uur licht per dag. Na 3 weken worden de planten beoordeeld op de typische symptomen van PVY.

2.6 Toetsing van onkruiden op PVY

2.6.1 Verzamelen van onkruidmonsters

Rondom het aardappelveld werden eenmalig verschillende veel voorkomende overblijvende en zaadonkruiden verzameld. In Wageningen gebeurde dit op 26 augustus en in Lelystad nop 1 november 2011. Tabel 3 en tabel 4 geven een overzicht van de verschillende verzamelde onkruiden. Figuur 3 geeft een schematisch overzicht van de plaatsen rond veld 2 in Wageningen waar de onkruiden verzameld zijn.

Tabel 3: overzicht van de verzamelde onkruiden in Lelystad. Plek a: aardappelperceel met fuik, plek b is de graskant/slootkant langs het perceel (blijvend groen), plek c: groenbemester grenzend aan het aardappelperceel, plek d: koolgewas dat op de punt grenst aan het aardappelperceel, plek e: strook struikgewas 100-200 m vanaf het aardappelperceel, plek f: aardappelperceel op 1000 m waar het onkruid niet goed is ondergewerkt, plek g:graskant /slootkant van een aardappelperceel 1000 m verderop

nr	plek	Naam	nr	plek	Naam	nr	plek	Naam
1	A	klein kruiskruid	26	b	Vergeetmeniet	51	D	kruijpende (?) boterbloem
2	A	klein kruiskruid	27	b	Akkermelkdistel	52	D	schijfloze (?) kamille
3	A	klein kruiskruid	28	b	Jacobs(?) kruiskruid	53	D	Vergeetmeniet
4	A	klein kruiskruid	29	b	breedbladige weegbree	54	A	herik / koolzaad (?)
5	A	klein kruiskruid	30	b	Vergeetmeniet	55	A	Madeliefje
6	A	ruwe (?) melkdistel	31	b	Jacobs(?) kruiskruid	56	a	Akkerkers
7	A	Vogelmuur	32	b	Wilgenroosje	57	a	Varkensgras
8	A	paarse dovenetel	33	b	veld(?)kers	58	B	grote brandnetel
9	A	akker(?)ereprijs	34	b	Akkermelkdistel	59	B	Ridderzuring
10	A	Paardenbloem	35	b	Hoornbloem	60	B	grote brandnetel
11	A	Akkermelkdistel	36	c	paarse dovenetel	61	B	Ridderzuring
12	A	akker(?)melkdistel	37	c	Akkerereprijs	62	E	Veldzuring
13	A	Perzikkruid	38	c	Vogelmuur	63	E	smalle weegbree
14	A	Perzikkruid	39	b	schijfloze (?) kamille	64	e	Akkerdistel
15	A	Varkensgras	40	b	breedbladige weegbree	65	e	Akkerdistel
16	A	Herderstasje	41	B	Perzikkruid	66	e	Vogelmuur
17	A	Herderstasje	42	B	Paardenbloem	67	f	Akkerkers
18	A	paarse dovenetel	43	B	Hoornbloem	68	f	grote brandnetel
19	A	klein kruiskruid	44	B	Akkerdistel	69	f	Vergeetmeniet
20	A	Akkerkers	45	B	Akkerdistel	70	f	blaartrekkende boterbloem
21	A	Varkensgras	46	D	schijfloze (?) kamille	71	f	kruijpende (?) boterbloem
22	A	Perzikkruid	47	D	Ooievaarsbek	72	g	Vergeetmeniet
23	A	akker(?)ereprijs	48	D	breedbladige weegbree	73	g	Vergeetmeniet
24	A	zwarte nachtschade	49	D	Ooievaarsbek			
25	B	Paardenbloem	50	D	Herderstasje			

Tabel 4: overzicht van de verzamelde onkruiden in Wageningen

nr.	Plant	latijnse naam	nr.	Plant	latijnse naam
1	Zwarte nachtschade	<i>Solanum nigrum</i>	31	Muur	<i>Stellaria</i>
2	Melganzenvoet	<i>Chenopodium album</i>	32	Muur	<i>Stellaria</i>
3	Muur	<i>Stellaria</i>	33	Zwaluw tong	<i>Fallopia convolvulus</i>
4	Muur	<i>Stellaria</i>	34	Melganzenvoet	<i>Chenopodium album</i>
5	Kruiskruid	<i>Senecio Taraxacum officinale</i>	35	Kruiskruid	<i>Senecio</i>
6	Paardenbloem	<i>Chenopodium album</i>	36	Zwarte nachtschade	<i>Solanum nigrum</i>
7	Melganzenvoet	<i>Stellaria</i>	37	Akkerviooltje	<i>Viola arvensis</i>
8	Muur	<i>Stellaria</i>	38	Kruiskruid	<i>Senecio</i>
9	Zwarte nachtschade	<i>Solanum nigrum</i>	39	Muur	<i>Stellaria</i>
10	Wikke??	<i>Vicia</i>	40	Zwarte nachtschade	<i>Solanum nigrum</i>
11	Kruiskruidachtige??	<i>Senecio</i>	41	Reukloze kamille	<i>Tripleurospermum maritimum</i>
12	Kruiskruidachtige??	<i>Senecio</i>	42	Korenbloem	<i>Centaurea cyanus</i>
13	Melganzenvoet	<i>Chenopodium album</i>	43	Reigersbek	<i>Erodium cicutarium</i>
14	Glanshaver??	<i>Arrhenatherum elatius</i>	44	Akkerviooltje	<i>Viola arvensis</i>
15	Melganzenvoet	<i>Chenopodium album</i>	45	Akkerwinde	<i>Convolvulus arvensis</i>
16	Zwarte nachtschade	<i>Solanum nigrum</i>	46	Reukloze kamille	<i>Tripleurospermum maritimum</i>
17	Muur	<i>Stellaria</i>	47	Melganzenvoet	<i>Chenopodium album</i>
18	Brandnetel	<i>Urtica urens</i>	48	Paardenbloem	<i>Taraxacum officinale</i>
19	Kruiskruid	<i>Senecio</i>	49	Akkerwinde	<i>Convolvulus arvensis</i>
20	Zwarte nachtschade	<i>Solanum nigrum</i>	50	Brandnetel	<i>Urtica urens</i>
21	Melganzenvoet	<i>Chenopodium album</i>	51	Akkerviooltje	<i>Viola arvensis</i>
22	Muur	<i>Stellaria</i>	52	Wikke	<i>Vicia cracca</i>
23	Grassoort		53	Varkensgras	<i>Polygonum aviculare</i>
24	Muur	<i>Stellaria</i>	54	Witte	
25	Zwarte nachtschade	<i>Solanum nigrum</i>	54	dovenetel	<i>Lamium album</i>
26	Zwaluw tong	<i>Fallopia convolvulus</i>	55	Kruiskruid	<i>Senecio</i>
27	Akkerviooltje	<i>Viola arvensis</i>	56	Reigersbek	<i>Erodium cicutarium</i>
28	Kruiskruid	<i>Senecio</i>	57	Reigersbek	<i>Erodium cicutarium</i>
29	Zwaluw tong	<i>Fallopia convolvulus</i>	58	Herik	<i>Sinapis arvensis</i>
30	Melganzenvoet	<i>Chenopodium album</i>			



Figuur 3: overzicht van de verzamelplaatsen van de onkruiden rond veld 2 in Wageningen.

2.6.2 DAS-ELISA toetsing van onkruidmonsters op PVY

Bladeren van de verzamelde onkruidmonsters zijn m.b.v. een Pollähne-pers gemalen met 1 ml ELISA Sample Buffer (ESB) per gram bladmateriaal en getoetst in een standaard DAS-ELISA toets. Alle monsters zijn in duplo getoetst in twee verdunningen (onverdund = 1g blad/ml ESB) en 10x verdund (in ESB). Voor toetsing werd gebruikt gemaakt van het ook door de NAK gebruikte antiserum tegen PVY (Prime Diagnostics). Voor het protocol wordt verwezen naar www.Primediagnostics.com.

2.6.3 Aardappelopslag

Diverse deelnemers aan de pootgoedacademie, georganiseerd door LTO Noord, zijn in het vroege voorjaar van 2011 benaderd om aardappelopslag te helpen inventariseren.

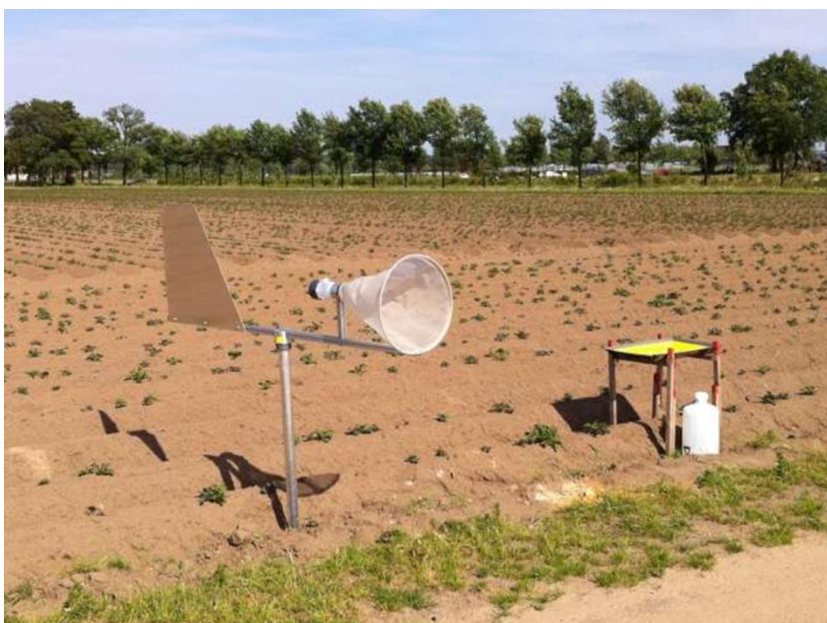
3. Resultaten

3.1 Bladluisvangsten

3.1.1 Fuiken en vangbakken in Wageningen

In Wageningen werden de eerste fuik en gele vangbak voor het vangen van de bladluizen op 21 april 2011 in het aardappelveld geplaatst. Dit veld lag aan de rand van het Binnenveld (een (beschermd) gebied tussen Wageningen, Ede en Veenendaal) en was een productieperceel Seresta van 1,35 ha. De aardappelen op dit perceel zijn 26 april 2011 gepoot.

Zowel de fuik als de gele vangbak zijn aan de rand van het veld geplaatst (zie figuur 3), de gele vangbak naast de fuik. Aangrenzend aan het aardappelveld lag ten zuidwesten een tarweveld. Verder naar het zuidwesten lag in 2011 tot op kilometers afstand alleen grasland.



Figuur 4: Een fuik en gele vangbak aan de rand van het aardappelveld begin mei 2011

Vanaf 22 april werden zowel de fuik als de gele vangbak volgens een vast schema gelegd (zie tabel 1, paragraaf 3.2).

Dit perceel (veld 1) bleek onverwacht op 15 augustus vanwege productieafspraken te moeten worden gerooid. Op die datum zijn de fuik en de gele vangbak naar een ander aardappelveld op ongeveer 700 meter Noordoost verplaatst. De bladluisvangsten zijn tot 25 augustus voortgezet.

Vanaf 18 augustus zijn midden in het aardappelveld 2 een tweede fuik en gele vangbak geplaatst op ongeveer 100 m afstand van de eerste fuik en vangbak. Deze tweede fuik en vangbak zijn volgens hetzelfde schema als de eerste fuik en gele vangbak gelegd (zie tabel 1).

3.1.2 Fuiken en vangbakken in Lelystad

In Lelystad lag het proefveld op de Broekemahoeve te midden van andere proefvelden. Dit pootgoedperceel Agria is op 15 april 2011 gepoot en op 18 april zijn de fuik en gele vangbak geplaatst. Vanaf half mei kwam het gewas vlot op. Fuik 1 en vangbak 1 zijn gelegd van 24 april

tot en met 12 juli. Op 27 juni zijn de tweede fuik en gele vangbak geplaatst en geleegd van 28 juni tot en met 12 juli. Op 12 juli is het loof van het perceel geklapt en gespoten en die dag zijn ook de bladluisvangsten gestaakt.

3.1.3 Aantallen gevangen bladluizen

Ten behoeve van de duidelijkheid en om een betere vergelijking mogelijk te maken zullen de bladluisvangsten voor Wageningen en Lelystad hieronder gezamenlijk behandeld worden. Hoewel de bladluisvangsten in Lelystad eerder gestopt zijn dan in Wageningen, zit er een grote overlap in; eind april t/m half juli.

Tabel 5. Overzicht van de totalen gevangen bladluizen in de fuiken en vangbakken in Wageningen en Lelystad, uitgesplitst voor de 10 belangrijkste soorten en de niet nader gedetermineerde soorten (rest).

		Totaal	10 soorten	Rest
Fuik	Wag	810	201	609
	Lelystad	1852	317	1535
Gele Vb	Wag	1194	180	1014
	Lelystad	230	25	205
Totalen		4086	723	3363

In totaal werden er in de vier fuiken en vangbakken in Wageningen en Lelystad 4086 luizen gevangen (zie tabel 5); 2662 in de fuiken en 1424 in de gele vangbakken. Hiervan behoren er 723 (17,7%) tot de 10 soorten waarvan de aantallen precies geteld zijn (Tabel 7). De overige 3363 (82,3%) behoren tot andere soorten die niet nader gedetermineerd zijn; de 'rest-soorten'.

Tabel 6. Overzicht van de 10 soorten bladluizen waarvan de precieze aantallen gevangen exemplaren geteld zijn met hun bijbehorende Relatieve Efficieny factoren (REF).

Bladluissoort		Afkorting	REF waarde
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	Erwtenuis	Ap	0.05
<i>Aphis fabae</i>	Zwarte bonenuis	Af	0.10
<i>Aphis frangulae gossypii</i>	Vuilboomnuis	Afr	0.42
<i>Aphis nasturtii</i>	Wegedoornnuis	An	0.42
<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	Aardappeltopnuis	Me	0.10
<i>Myzus persicae</i>	Groene perziknuis	Mp	1.00
<i>Myzus certus</i>	Bruine violenuis	Mc	0.44
<i>Phorodon humuli</i>	Hopnuis	Ph	0.15
<i>Rhopalosiphum insertum</i>	Appelgrasnuis	Ri	0.03
<i>Rhopalosiphum padi</i>	Vogelkersnuis	Rp	0.03

Vergelijking van de vangsten m.b.v. de fuiken laat een groot verschil zien tussen Wageningen en Lelystad; respectievelijk 810 tegen 1852. Dat verschil zit maar beperkt in de 10 bekende bladluissoorten; 201 in Wageningen en 317 in Lelystad, maar voor het overgrote deel in de 'rest-soorten' (609 in Wageningen en 1535 in Lelystad).

Ook de gele vangbakken laten een dergelijk groot verschil tussen Wageningen en Lelystad zien maar hier is de situatie omgekeerd. In Wageningen worden meer bladluizen gevangen in de gele vangbakken (1194) dan in Lelystad (230). Ook voor de gele vangbakken geldt dat het overgrote

deel tot de restsoorten behoort. In Wageningen behoorden maar 180 van de 1194 bladluizen uit de gele vangbakken tot de 10 getelde soorten (15,1%), in Lelystad 25 van de 230 (12,2%). In Wageningen behoorden dus bijna 85% tot de 'restsoorten', in Lelystad ongeveer 88%.

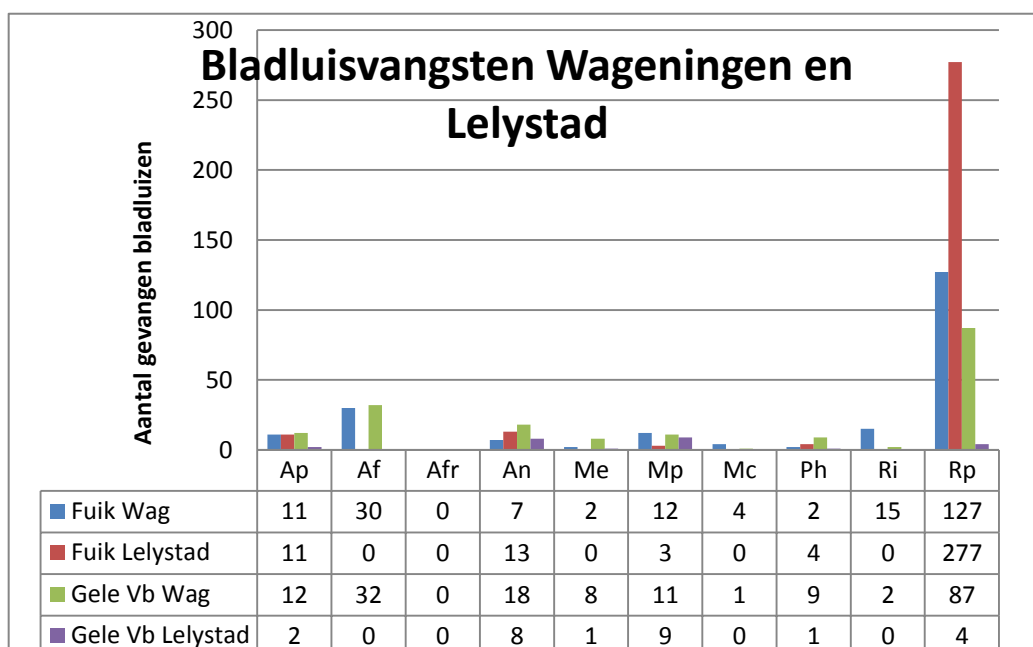
Tabel 7. Overzicht van de gevangen bladluizen in de fuiken en vangbakken in Wageningen en Lelystad, uitgesplitst voor de 10 belangrijkste soorten en de niet nader gedetermineerde soorten (rest).

		Ap	Af	Afr	An	Me	Mp	Mc	Ph	Ri	Rp	Rest	Totaal
Fuik	Wag	11	30	0	7	2	3	4	2	15	127	609	810
	Lelystad	11	0	0	13	0	12	0	4	0	277	1535	1852
Gele Vb	Wag	12	32	0	18	8	11	1	9	2	87	1014	1194
	Lelystad	2	0	0	8	1	9	0	1	0	4	205	230
Totalen		36	62	0	46	11	35	5	16	17	495	3363	4086
% op totaal		0.9%	1.5%		1.1%	0.3%	0.9%	0.01%	0.4%	0.4%	12.1%	82.3%	

Tabel 7 laat een uitsplitsing zien per soort voor de gevangen bladluizen. Wat opvalt is dat er voor 9 van de 10 bekende soorten maar relatief weinig exemplaren gevangen worden; 228 op een totaal van 723 (= 31,5%). Alleen voor *Rhopalosiphum padi* (Rp) worden er duidelijk meer exemplaren gevangen; 495 op een totaal van 723 (= 68,5%).

Ook worden er van deze 10 soorten veel meer in de fuiken gevangen (518 van de 723 = 71,6%) dan in de gele vangbakken (205 van de 723 = 28,4%). Ook hier zijn er weer behoorlijk grote verschillen tussen de locaties Wageningen en Lelystad. Figuur 5 geeft de gevangen aantallen weer van elke bladluisoort en hun onderlinge verhoudingen.

De groene perzikluis (*Myzus persicae*: Mp) wordt als de belangrijkste vector van PVY beschouwd. Van deze soort werden in totaal 35 exemplaren gevangen. De fuiken en gele vangbakken ontlepen elkaar hier niet veel (15 tegenover 20). Het totaal van Mp is echter maar 0,85 % van alle bladluizen (35 van de 4086). De andere soorten zitten qua aantallen dicht in de



Figuur 5: een overzicht van de gevangen aantallen van de 10 belangrijkste soorten bladluizen in de fuiken en gele vangbakken in Wageningen en Lelystad.

buurt van Mp behalve de al eerder genoemde *Rhopalosiphum padi* (Rp) die met een totaal van 495 exemplaren, 12,1 % van alle gevangen bladluizen uitmaakt (495 van de 4086).

Rhopalosiphum padi wordt duidelijk beter gevangen in de fuiken dan in de gele vangbakken; 404 in de fuiken tegenover 91 in de gele vangbakken.

3.1.4 Gevangen bladluizen aan de rand of midden in het veld

Gedurende een korte periode werden een tweede fuik en gele vangbak in het aardappelperceel geplaatst. Doel was na te gaan of er midden in het gewas andere aantallen bladluizen gevangen werden dan aan de rand van het gewas en of er verschillen zijn in het percentage bladluizen dat virus bij zich draagt tussen die groepen bladluizen.

Om praktische redenen konden de tweede fuiken en gele vangbakken alleen gedurende een korte periode aan het eind van de vangperiode geplaatst worden; In Lelystad tussen 28 juni en 12 juli, in Wageningen tussen 18 en 25 augustus.

Tabel 8. Overzicht en vergelijking van de gevangen bladluizen in de twee fuiken en twee vangbakken in Lelystad, tussen 28 juni en 12 juli, uitgesplitst voor de 10 belangrijkste soorten en de niet nader gedetermineerde soorten (rest). Rode getallen zijn bladluizen zonder PVY, groene getallen met PVY.

Lelystad	28/6-12/7	Ap	Af	Afr/An	Me	Mp	Mc	Ph	Ri	Rp	Rest	Totaal	
Fuik	# 1	0	0	3	0	1	0	0	0	16	(9/1)	107	127
	# 2	0	0	5/1	0	2/1	0	0	0	31	(10/0)	181	221
Gele Vb	# 1	0	0	4	0	3/2	0	0	0	0		22	31
	# 2	1	0	4	0	1/2	0	0	0	2		27	37

In Lelystad zijn er geen grote verschillen tussen 1^e en 2^e vangbak, niet in totaal aantallen en niet binnen de soorten die werden gevangen (zie Tabel 8). Tussen de twee fuiken zijn wel grotere verschillen zichtbaar, in totaal aantallen en in de aantallen per soort maar of de verschillen tussen de 1^e fuik (aan de rand van het veld) en 2^e fuik (midden in het veld) echt significant zijn is heel moeilijk te zeggen omdat de aantallen bladluizen te klein zijn en de vangstperiode te kort.

Er zijn wel behoorlijke verschillen in aantallen gevangen bladluizen tussen de fuiken en vangbakken. Dit is in overeenstemming met de eerder geziene verschillen tussen fuiken en gele vangbakken in totaal gevangen bladluizen in Lelystad, gerekend over het hele seizoen (Tabel 7; 1852 tegen 230).

Tabel 9. Overzicht en vergelijking van de gevangen bladluizen in de twee fuiken en twee vangbakken in Wageningen, tussen 18 en 25 augustus, uitgesplitst voor de 10 belangrijkste soorten en de niet nader gedetermineerde soorten (rest). Rode getallen zijn bladluizen zonder PVY.

Wageningen	18/8-25/8	Ap	Af	Afr/An	Me	Mp	Mc	Ph	Ri	Rp	Rest	Totaal
Fuik	# 1	0	0	0	0	0	0	0	5	3	7	15
	# 2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	6
Gele Vb	# 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4
	# 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2

Diverse bladluizen zijn ook getoetst op het dragen van PVY. Uit de beide fuiken zijn elk 10 Rp's getoetst. Het merendeel van de getoetste bladluizen bevat geen PVY. Van de 20 getoetste Rp was er maar één positief. Deze was uit de fuik aan de rand van het veld afkomstig. De aantallen

gevangen en getoetste bladluizen zijn te klein om een uitspraak te kunnen doen of de luizen die binnen een veld gevangen worden meer PVY bij zich dragen dan de luizen die van buiten een veld komen.

In Wageningen zijn in vergelijking tot Lelystad veel minder bladluizen gevangen en de vangperiode in Wageningen was maar één week en viel ook bijna 2 maanden later. Er werden in Wageningen aan het eind van het seizoen alleen nog maar 'rest'-soorten gevangen. De paar getoetste bladluizen bleken negatief voor PVY (rood in Tabel 9).

3.1.5 Toetsing van de gevangen bladluizen op PVY

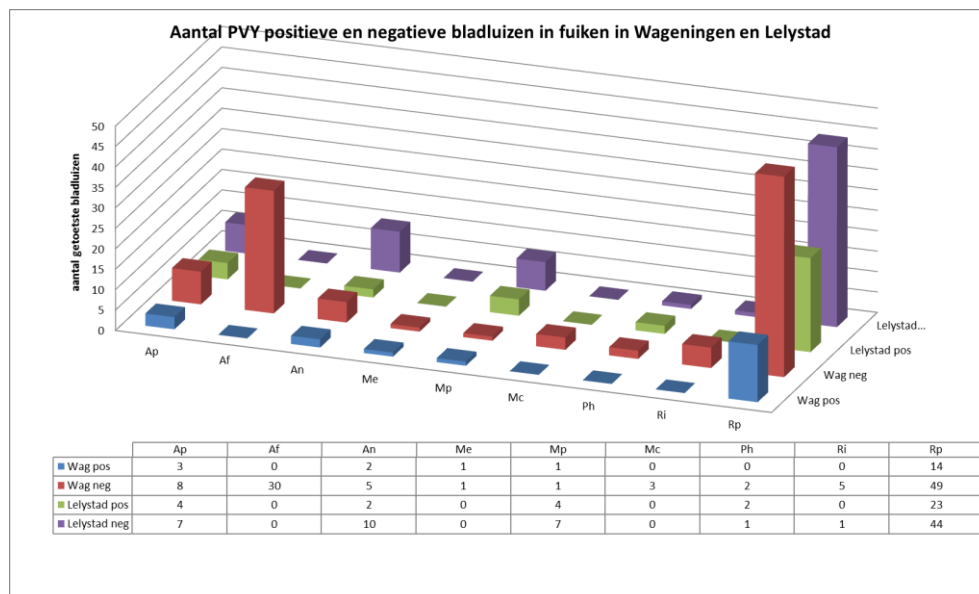
Van de 10 soorten bladluizen waarvan in dit onderzoek de precieze aantallen in de fuiken en vangbakken zijn geteld, zijn per soort een deel van de gevangen bladluizen individueel getoetst op het bij zich dragen van PVY. Dit is gedaan m.b.v. een moleculaire TaqMan toets. In deze toets werd een individuele bladluis fijn gemalen waarna er totaal RNA uit werd gezuiverd. Draagt de bladluis PVY bij zich dan kan m.b.v. de TaqMan toets nagegaan worden of er in de bladluis ook RNA van het PVY virus voorkomt.

Tabel 10 geeft een overzicht van de in de fuiken gevangen aantallen getoetste bladluizen die positief dan wel negatief bleken voor PVY. Tabel 11 geeft dat overzicht voor de in de gele vangbakken gevangen bladluizen.

Tabel 10. Overzicht van de aantallen PVY positieve en negatieve getoetste bladluizen gevangen in de fuiken in Wageningen en Lelystad.

Fuiken		Ap	Af	An	Me	Mp	Mc	Ph	Ri	Rp	Totaal
Wag	Pos	3	0	2	1	1	0	0	0	14	21
	Neg	8	30	5	1	1	3	2	5	49	104
Lelystad	Pos	4	0	2	0	4	0	2	0	23	35
	Neg	7	0	10	0	7	0	1	1	44	70
Totaal		22	30	19	2	13	3	5	6	130	230
Pos		7	0	4	1	5	0	2	0	37	56
Neg		15	30	15	1	8	3	3	6	93	174

Figuur 6 geeft de resultaten van deze analyse voor de vangsten in de fuiken grafisch weer. Van de 10 bladluissoorten zijn, behalve van Rp, vrijwel alle in de fuiken gevangen exemplaren ook getoetst op het bij zich dragen van PVY. In totaal bleken 56 van de 230 getoetste bladluizen uit de fuiken positief voor PVY (24,4%) en 174 negatief (75,6%). Per soort liggen de percentages wel behoorlijk uit elkaar. Echter van sommige bladluissoorten waren (te) weinig exemplaren voor toetsing beschikbaar.



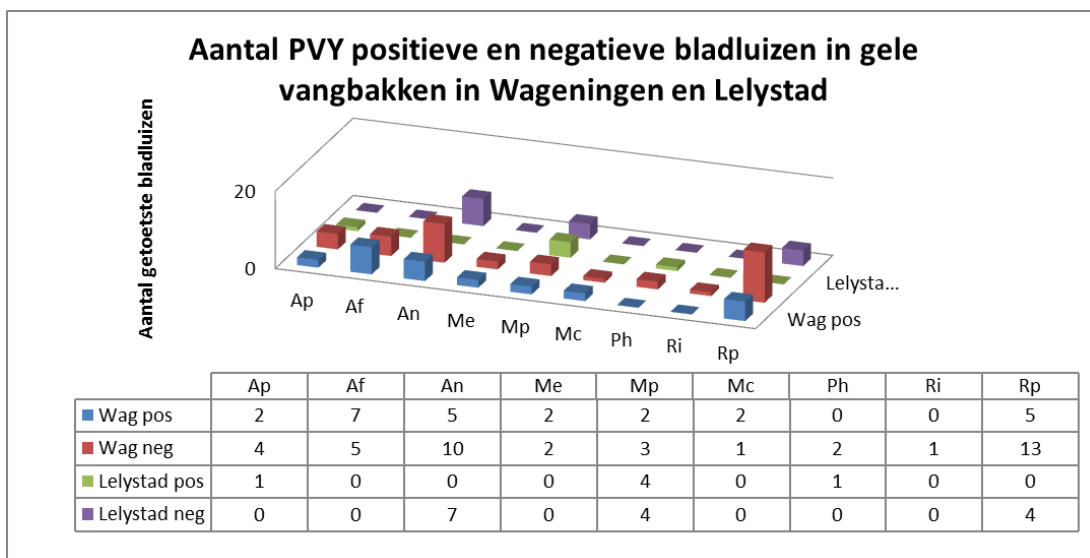
Figuur 6. Aantallen bladluizen in de fuiken positief of negatief voor PVY.

De Aphis-soorten zijn allemaal negatief, van *Acyrtosiphon pisum* (Ap) is 33,3% positief voor PVY (7 van de 22), van *Myzus persicae* (Mp) 38,5% (5 van de 13) en van *Rhopalosiphum padi* (Rp) 28,5% (37 van de 130).

Tabel 11. Overzicht van de aantallen PVY positieve en negatieve getoetste bladluizen gevangen in de gele vangbakken in Wageningen en Lelystad.

GVB		Ap	Af	An	Me	Mp	Mc	Ph	Ri	Rp	Totaal
Wag	Pos	2	7	5	2	2	2	0	0	5	25
	Neg	4	5	10	2	3	1	2	1	13	41
Lelystad	Pos	1	0	0	0	4	0	1	0	0	6
	Neg	0	0	7	0	4	0	0	0	4	15
Totaal		7	12	22	4	13	3	3	1	22	87
Pos		3	7	5	2	6	2	1	0	5	31
Neg		4	5	17	2	7	1	2	1	17	56

In totaal zijn 87 bladluizen uit de gele vangbakken getest op PVY (Tabel 11 en Figuur 7). Hiervan bleken er 31 positief (35,6%) en 56 negatief (64,4%). Net als bij de vangsten uit de fuiken zijn ook van sommige soorten de aantallen in de gele vangbakken vrij laag. Van de Aphis soorten uit de gele vangbakken zijn 53,8 en 22,7% positief, van *Acyrtosiphon pisum* (Ap) is 42,9% positief (3 van de 7), van *Myzus persicae* 46,2% (6 van de 13) en van *Rhopalosiphum padi* (Rp) 22,7% (5 van de 22).



Figuur 7. Aantallen bladluizen in de gele vangbakken positief of negatief voor PVY.

Tabel 12 geeft een overzicht van alle aantallen en percentages PVY positieve en negatieve bladluizen in de fuiken en gele vangbakken in Wageningen en Lelystad.

Tabel 12. Vergelijking van de aantallen in de TaqMan PVY positieve en negatieve getoetste bladluizen gevangen in de gele vangbakken en fuiken in Wageningen en Lelystad.

		Ap	Af	An	Me	Mp	Mc	Ph	Ri	Rp	Totaal
Fuiken	Pos	7	0	4	1	5	0	2	0	37	56
	Neg	15	30	15	1	8	3	3	6	93	174
GV	Pos	3	7	5	2	6	2	1	0	5	31
	Neg	4	5	17	2	7	1	2	1	17	56
Totaal	Pos	10	7	9	3	11	2	3	0	42	87
	% Pos	34.5%	16.6%	22.0%	50%	42.3%	33.3%	37.5%	0%	27.6%	
	Neg	19	35	32	3	15	4	5	7	110	230
	% Neg	65.5%	83.3%	78.0%	50%	57.5%	66.6%	65.5%	100%	72.4%	

Uit tabel 12 blijkt dat van elke soort (m.u.v. *R. insertum*) wel exemplaren gevangen zijn die positief waren voor PVY. Percentages PVY-positieve bladluizen variëren tussen 16 en 50%. Omdat voor bepaalde soorten de aantallen beschikbare bladluizen laag waren, zijn de percentages PVY-dragende bladluizen soms niet meer dan een indicatie. Van *M. persicae*, met een REF van 1,00 als belangrijkste overbrenger van PVY beschouwd, blijkt meer dan 40% PVY bij zich te dragen. Van *Acyrtosiphon pisum* is bijna 35% PVY-dragend, van *Phorodon humuli* bijna 38% en van *Rhopalosiphum padi* bijna 28%.

3.2 Overleving van PVY op een individuele bladluis

3.2.1 Overleving van PVY aan de monddelen van een bladluis

In verschillende proeven is bepaald hoe lang na opname PVY nog aangetoond kan worden aan de monddelen ('styletten') van de groene perzikluis. Dit gegeven is belangrijk om iets te kunnen zeggen over toetsing van de gevangen bladluizen op PVY. Als het virus heel snel wordt afgebroken in de bladluis, is het niet duidelijk of een negatief getoetste bladluis nooit virus bij zich gedragen heeft, of dat de bladluis het virus al 'verloren' heeft sinds hij in de fuik of gele vangbak terecht gekomen is.

Individuele groene perzikluizen kregen, na een hongerperiode van ongeveer 2 uur, gedurende 2,5 minuten de gelegenheid om PVY op te nemen uit een ziek aardappelblad. Daarna werden de bladluizen apart in eppendorfbuisjes geplaatst en bewaard bij kamertemperatuur tot maximaal 24 uur. Na verschillende bewaartijden werden de bladluizen gedood door de buisjes bij -20°C in de diepvries te plaatsen (zie paragraaf 3.5). De op deze manier verzamelde bladluizen werden vervolgens d.m.v. een TaqMan-toets (paragraaf 3.4) getest op de aantoonbaarheid van PVY.

Tabel 13. Overzicht van de TaqMan toetsuitslagen voor Myzus persicae getoetst op PVY op 0 uur en 24 uur na een proefboring van 2,5 minuten op een met PVY geïnfecteerd aardappelblad. Controle 1 en 2 zijn bladluizen die niet op een zieke aardappelplant gezeten hebben.

Bladluis	Bewaartijd	TaqMan Ct	Uitslag
1	0 uur	34.99	PVY positief
2	0 uur	32.19	PVY positief
3	0 uur	30.75	PVY positief
4	0 uur	30.60	PVY positief
5	0 uur	31.36	PVY positief
6	0 uur	31.48	PVY positief
7	0 uur	32.43	PVY positief
8	0 uur	35.53	PVY positief
9	0 uur	34.17	PVY positief
10	0 uur	32.60	PVY positief
11	24 uur	32.41	PVY positief
12	24 uur	29.10	PVY positief
13	24 uur	32.68	PVY positief
14	24 uur	28.65	PVY positief
15	24 uur	28.46	PVY positief
16	24 uur	25.98	PVY positief
Controle 1		39.80	PVY negatief
Controle 2		40.00	PVY negatief

Tabel 13 geeft een overzicht van de uitslagen van de TaqMan toetsingen op verschillende bladluizen die direct na de proefboringen bij -20°C zijn geplaatst of pas na 24 uur bij kamertemperatuur in een schoon eppendorfbuisje. Een Ct-waarde (=TaqMan toetsuitslag) van hoger dan 38 betekent dat de bladluis geen PVY bij zich droeg. Uit de uitslagen blijkt dat alle geteste bladluizen positief waren voor PVY en dat er geen verschil is in de aantoonbaarheid van het virus na 0 uur of 24 uur bewaren van de bladluizen. Hieruit kan geconcludeerd worden dat TaqMan toetsingen goed gebruikt kunnen worden voor het aantonen van PVY in bladluizen tot 24 uur na hun vangst. Mogelijk is dit langer maar dit is niet nagegaan.

3.2.2 Overdracht van PVY via de monddelen van een bladluis

In verschillende proeven is onderzocht hoe lang de groene perzikluis nog in staat is om PVY over te dragen nadat zij het uit een zieke aardappelplant hadden opgenomen.

In deze experimenten werd steeds uitgegaan van 50 bladluizen per experiment die elk een vaste opnametijd van 2,5 minuten kregen om het virus op te nemen uit het aardappelblad. Na deze opnametijd werden de bladluizen òf direct op *Physalis*-zaailingen geplaatst òf eerst respectievelijk 1, 2 of 4 uur in een plastic bakje bewaard voordat ze op de *Physalis* zaailingen geplaatst werden (zie paragraaf 3.5). Na drie weken werden de *Physalis* plantjes beoordeeld op een infectie met PVY. Alle overdrachtsproeven voor T=0, 1, 2 en 4 uur werden op één en dezelfde dag uitgevoerd, de herhaling van deze proef (herhaling 2) werd enige weken later uitgevoerd.

Tabel 14. Overdracht van PVY bij verschillende bewaartijden van *Myzus persicae* na een proefboring op een PVY-geïnfecteerd aardappelblad.

T=	herhaling	# planten	# ziek	% ziek	gemiddeld ziek %
0	1	50	22	44	37
0	2	50	15	30	
1	1	50	3	6	4
1	2	50	1	2	
2	1	50	2	4	4
2	2	50	2	4	
4	1	50	2	4	5
4	2	50	3	6	

Als Mp direct na opname van PVY op de *Physalis* zaailingen wordt gezet, wordt gemiddeld 37% van de zaailingen ziek (zie Tabel 14). Per experiment kan dit percentage variëren maar het gemiddelde komt goed overeen met eerder gevonden waarden. Dit betekent dat ongeveer 37% van de bladluizen virus bij zich draagt en over kan dragen.

Als de bladluizen na de opname van het virus eerst een periode in een plastic bakje bewaard worden, waar ze niet kunnen prikken of voeden, daalt de gemiddelde overdracht van PVY tot ongeveer 5%. Hierbij maakt het niet veel uit of de vastenperiode 1 of 4 uur bedraagt. Dus ook 4 uur na opname van het virus is nog overdracht mogelijk.

Als je de efficiëntie van virusoverdracht direct na opname uit een ziek blad op 100% stelt dan daalt de efficiëntie na 1 tot 4 uur tot gemiddeld 12%, dus ongeveer 7x lager.

3.2.3 Herhaalde overdracht van PVY via de monddelen van een bladluis

Als een bladluis op een aardappelplant landt, zal ze bijna altijd eerst een korte proefboring uitvoeren. Hierbij bepaalt ze of de plant geschikt is om zich op te voeden. Als de plant niet bevalt, vliegt de bladluis door naar de volgende plant. Tijdens de proefboring, die vaak maar enkele seconden duurt, kan er al virus worden overgedragen.

In een aantal experimenten is onderzocht na hoeveel proefboringen een groene perzikluis het vermogen verliest om PVY over te dragen nadat de bladluis eenmaal de gelegenheid heeft gehad om het virus op te nemen.

In deze experimenten kregen groene perzikbladluizen, na een hongerperiode van ongeveer twee uur, gedurende 2,5 minuut de gelegenheid voor proefboringen op een PVY geïnfecteerd aardappelblad. Daarna werden ze individueel op *Physalis* zaailingen geplaatst. Steeds na vijf minuten werd de bladluis m.b.v. een penseel overgezet op een volgende *Physalis* zaailing. In totaal werden de individuele bladluizen achtmaal overgezet op een gezonde *Physalis* zaailing. Na de laatste vijf minuten op de achtste zaailing werd het kooitje over de plant gelaten. De volgende dag werden alle planten bespoten met een insecticide om de bladluizen te doden. De zaailingen werden daarna in de kas geplaatst en na 3 weken beoordeeld op symptomen van PVY. Dit experiment werd 2x herhaald met steeds 15 individuele bladluizen.

In het eerste experiment (Herhaling 1) werden de zaailingen tijdens de vijf minuten met de bladluis steeds afgedekt met een kooitje. Omdat na afloop bleek dat veel luizen tijdens de afdekking met het kooitje van de zaailing tegen de wand van het kooitje gingen zitten, zijn tijdens de herhaling van het experiment (Herhaling 2) de kooitjes achterwege gelaten en is er erop gelet dat de bladluizen niet van de *Physalis* zaailingen aflieden.

Zoals uit tabellen 15A en 15B blijkt is *Myzus persicae* zeker nog in staat om na meerdere proefboringen op verschillende schone planten nog PVY over te dragen. Dat betekent dat het virus zeker niet direct bij de eerste proefboring van de stilet van de bladluis verdwijnt.

Tabel 15A. Overzicht van de zieke *Physalis* zaailingen na de herhaalde overzetting van individuele bladluizen in experiment 1. D= ziek, H = gezond.

Herhaling 1

Tray 1	Plant 1	Plant 2	Plant 3	Plant 4	Plant 5	Plant 6	Plant 7	Plant 8	# ziek
Rij 1	D	H	H	H	H	H	H	H	1
Rij 2	H	H	H	H	H	H	H	H	
Rij 3	H	H	H	H	H	H	H	H	
Rij 4	H	H	H	H	H	H	H	H	
Rij 5	H	H	H	H	H	H	H	H	

Tray 2	Plant 1	Plant 2	Plant 3	Plant 4	Plant 5	Plant 6	Plant 7	Plant 8	# ziek
Rij 1	Luis was weg weg								
Rij 2	H	D	H	H	H	H	H	H	1
Rij 3	H	H	H	H	H	H	H	H	
Rij 4	H	H	H	H	H	H	H	H	
Rij 5	H	H	H	H	H	H	H	H	

Tray 3	Plant 1	Plant 2	Plant 3	Plant 4	Plant 5	Plant 6	Plant 7	Plant 8	# ziek
Rij 1	H	H	H	H	H	H	H	H	
Rij 2	D	H	H	H	H	H	H	H	1
Rij 3	H	H	H	H	H	H	H	H	
Rij 4	D	H	H	H	H	H	H	H	1
Rij 5	H	H	H	D	H	H	H	H	1

Tabel 15B. Overzicht van de zieke *Physalis* zaailingen na de herhaalde overzetting van individuele bladluizen in experiment 2. D= ziek, H = gezond.

Herhaling 2

Tray 1	Plant 1	Plant 2	Plant 3	Plant 4	Plant 5	Plant 6	Plant 7	Plant 8	# ziek
Rij 1	D	D	D	H	H	H	H	H	3
Rij 2	D	D	H	H	H	H	H	H	2
Rij 3	H	H	H	H	H	H	H	H	
Rij 4	D	H	H	H	H	H	H	H	1
Rij 5	H	H	H	H	H	H	H	H	

Tray 2	Plant 1	Plant 2	Plant 3	Plant 4	Plant 5	Plant 6	Plant 7	Plant 8	# ziek
Rij 1	H	H	H	H	H	H, luis †	H	H	
Rij 2	H	H	H	H	D	H	H	H	1
Rij 3	D	D	H	H	H	H	H	H	2
Rij 4	D	H	H	H	H	H	H	H	1
Rij 5	H	H	H	H	H	H	H	H	

Tray 3	Plant 1	Plant 2	Plant 3	Plant 4	Plant 5	Plant 6	Plant 7	Plant 8	# ziek
Rij 1	D	D	H	D	D	H	H	H	4
Rij 2	H	H	H	H	H	H	H	H	
Rij 3	D	D	H	H	H	H	H	H	2
Rij 4	D	H	H	geen plant	D	D	H	H	3
Rij 5	H	H	H	H	H	H	H	H	

3.3 Toetsing van onkruiden op PVY

3.3.1 Verzamelen van onkruiden

Zowel in Wageningen als in Lelystad zijn aan het eind van het groeiseizoen op en om de aardappelpercelen waarop de bladluizen gevangen zijn, onkruiden verzameld. In Wageningen gebeurde dit op 15 en 16 september, in Lelystad op 1 november.

In Wageningen zijn bladmonsters van 58 verschillende planten verzameld. In Lelystad van 73 verschillende planten (zie tabellen 3 en 4, paragraaf 3.6). De keuze van de plantensoorten is gebaseerd op een lijst die eerder in een Duits vakblad is gepubliceerd (Kürzinger *et al*, 2004). Dit artikel noemt in totaal 80 plantensoorten en onkruiden die getoetst zijn op een mogelijke besmetting met PVY. Op basis van de in dit artikel genoemde toetsuitslagen is een selectie gemaakt van te verzamelen en te toetsen soorten. Daarnaast zijn ook nog op beperkte schaal monsters van andere soorten verzameld.

In Wageningen zijn in totaal 58 monsters van 22 onkruidsoorten verzameld en getoetst. In Lelystad 73 monsters van 24 onkruidsoorten. Zie hiervoor tabellen 3 en 4.

3.3.2 ELISA -toetsing van onkruiden op infectie met PVY

Alle verzamelde bladmonsters zijn gemalen m.b.v. een pollähne-pers. Deze monsters, inclusief 10x verdunningen, zijn vervolgens in duplo getoetst in een DAS-ELISA met het breedwerkende PVY antiserum van Prime Diagnostics (www.primediagnosics.com). Tabellen 16A en 16B geven een overzicht van de in de ELISA positieve onkruidmonsters.

Tabel 16A. Overzicht van onkruidmonsters verzameld in Wageningen die positief gevonden zijn voor PVY in de ELISA.

Wageningen			
monsternr.	Plant	latijnse naam	Lokatie monster
5	Kruiskruid	<i>Senecio</i>	Aardappelveld
11	Kruiskruidachtige??	<i>Senecio</i>	Aardappelveld
12	Kruiskruidachtige??	<i>Senecio</i>	Aardappelveld
15	Melganzenvoet	<i>Chenopodium album</i>	Aardappelveld
29	Zwaluw tong	<i>Fallopia convolvulus</i>	Aardappelveld
47	Melganzenvoet	<i>Chenopodium album</i>	Bietenveld
48	Paardenbloem	<i>Taraxacum officinale</i>	Bietenveld

In Wageningen werden 7 onkruidmonsters gevonden die besmet bleken met PVY. De nummers 5, 11, 12 en 15 zijn verzameld in het aardappelveld, #29 op het pad direct naast dit veld. Positieve monsters #47 en 48 waren verzameld in het bietenveld dat direct ten zuidwesten van het aardappelperceel lag.

Tabel 16B. Overzicht van onkruidmonsters verzameld in Lelystad die positief gevonden zijn op PVY in de ELISA.

Lelystad			
monsternr.	Plant	latijnse naam	Lokatie monster
6	Ruwe (?) melkdistel	<i>Sonchus arvensis</i> (?)	Aardappelveld
11	Akker melkdistel	<i>Sonchus arvensis</i>	Aardappelveld
29	Breedbladige weegbree	<i>Plantago major</i>	Graskant/slootkant
40	Breedbladige weegbree	<i>Plantago major</i>	Graskant/slootkant
45	Akkerdistel	<i>Sonchus arvensis</i>	Graskant/slootkant
48	Breedbladige weegbree	<i>Plantago major</i>	Koolveld
56	Akkerkers	<i>Rorippa sylvestris</i>	Aardappelveld
63	Smalle weegbree	<i>Plantago lanceolata</i>	Struikgewas

In Lelystad werden 8 onkruidmonsters gevonden die besmet bleken met PVY. De nummers 6, 11 en 56 zijn verzameld in het aardappelveld waarin ook de fuik stond, nummers 29, 40 en 45 in een graskant/slootkant naast het aardappelperceel. Positief monster #48 was verzameld in een koolgewas grenzend aan het aardappelperceel. Monster # 63 in een strook struikgewas op 100-200 m van het aardappelperceel.

Wat opvalt is dat zowel in Wageningen als in Lelystad verschillende, veel voorkomende onkruidsoorten positief werden gevonden voor een infectie met PVY. Van al deze soorten, behalve van de weegbree, zijn ook exemplaren gevonden die negatief waren voor PVY in ELISA.

Dit geeft aan dat het om echte PVY infecties gaat. Alleen voor weegbree kan niet worden uitgesloten dat de gevonden infecties misschien vals positieve reacties zijn, veroorzaakt door een hoge achtergrond van deze plantensoort in de ELISA. Voor de andere onkruidsoorten mag men aannemen dat de positieve exemplaren ook echt geïnfecteerd zijn met PVY. Deze besmettingen zijn (nog) niet bevestigd met een andere toets.

3.3.3 Aardappelopslag

De vijf deelnemende pootgoedtelers uit het noorden van het land meldden allen dat zij in het voorjaar van 2011 geen aardappelopslag in hun percelen konden vinden. Hun verklaring hiervoor is dat door de voorafgaande strenge winter de achtergebleven knollen doodgevroren zijn. Helaas was het dus niet mogelijk om de mate van opslag en de evt. infectie met PVY te onderzoeken.

4. Bespreking van de resultaten

4.1 Bladluisvangsten

4.1.1 Fuiken en gele vangbakken

In Nederland zijn hoge zuigvallen en gele vangbakken de twee standaarden voor het vangen van bladluizen. Hoge zuigvallen worden als volledig niet-selectieve vallen beschouwd die met name de hoger vliegende bladluizen vangen. Nederland telt drie van deze hoge zuigvallen (Kollumerwaard, Tollebeek en Colijnsplaat) die door de NAK tijdens het seizoen gebruikt worden. Gele vangbakken worden in het gewas geplaatst en zijn meer op de in het aardappelgewas voorkomende bladluizen gericht. In 2011 werd door de NAK een netwerk van 37 van die vangbakken geleegd.

Op verzoek was de NAK zo vriendelijk om de vangstcijfers over 2011 beschikbaar te stellen zodat een vergelijking kan worden gemaakt tussen de landelijke cijfers en onze vangsten. Tabel 17 geeft een overzicht van de absolute aantallen bladluizen en de percentages van elke soort per type val, geteld in de drie hoge zuigvallen en 37 gele vangbakken, uitgesplitst per soort zoals de NAK dat doet, gevangen in de periode van 3 mei 2011 tot en met 1 september 2011.

Tabel 17. Overzicht van de in totaal door de NAK getelde aantallen bladluizen verzameld in de drie hoge zuigvallen en 37 gele vangbakken (GVB) tussen 3 mei en 1 september 2011. De percentages geven de relatieve verhouding van een soort ten opzichte van alle in dat type val getelde bladluizen.

Soort	Zuigvallen	% hoge zuigval	GVB	% GVB	Totaal	% op totaal
<i>Myzus persicae</i>	61	0,82	1336	6,47	1397	4,98
<i>Myzus certus</i>	0	0,00	22	0,11	22	0,08
<i>Phorodon humuli</i>	50	0,67	174	0,84	224	0,80
<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	18	0,24	144	0,70	162	0,58
<i>Aphis fabae</i>	287	3,87	2966	14,37	3253	11,60
<i>Aphis nasturtii</i>	14	0,19	82	0,40	96	0,34
<i>Aphis frangulae/gossypii</i>	28	0,38	792	3,84	820	2,92
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	31	0,42	300	1,45	331	1,18
<i>Rhopalosiphum insertum/padi</i>	1761	23,77	2135	10,34	3896	13,89
<i>Metopolophium dirhodum</i>	250	3,37	1075	5,21	1325	4,72
<i>Brachycaudus helichrysi</i>	172	2,32	471	2,28	643	2,29
<i>Brevicoryne brassicae</i>	30	0,40	416	2,01	446	1,59
<i>Brachycaudus</i> spp.	3	0,04	32	0,15	35	0,12
<i>Myzus ascalonicus</i>	13	0,18	5	0,02	18	0,06
<i>Aulacorthum solani</i>	2	0,03	30	0,15	32	0,11
Ander bladluizen	4688	63,28	10666	51,66	15354	54,73
Totaal	7408	26,41%	20646	73,59%	28054	100,00%

In totaal telt de NAK 15 soorten waarbij geen onderscheid gemaakt wordt tussen *Rhopalosiphum insertum* en *R. padi* of tussen *Aphis frangulae* en *Aphis gossypii*.

Van alle gevangen bladluizen behoort 46.3% tot de apart door de NAK getelde soorten (12.700 van de 28.054) en 53.7 % tot de 'andere luizen'.

Zowel in absolute als relatieve aantallen is *R. padi/insertum* de meest gevangen soort met 13.9% (3.896 / 28.054), gevolgd door *A. fabae* met 11.6% (3.253 / 28.054). *Myzus persicae* maakt ongeveer 5% uit van alle gevangen bladluizen. *Metopolophium dirhodum* zit daar dicht bij in de buurt met 4.7%.

Wat opvalt is dat in het totaal meer dan een kwart van alle bladluizen gevangen wordt in de drie hoge zuigvallen (7408 van de 28054 = 26.4%). Per soort zijn er echter grote verschillen. Vrijwel alle soorten maken maar een (heel) klein deel uit van alle in de hoge zuigval gevangen bladluizen (tussen de 0 en 3.9%). Echter *R. padi/insertum* maakt 23.7% uit van alle in de hoge zuigval gevangen bladluizen (1761 / 7408).

De tellingen uit de gele vangbakken leveren een ander beeld op. In totaal 73.6 % (20.646 / 28.054) van alle luizen werd geteld in de gele vangbakken. Hierbij moet wel bedacht worden dat er maar drie hoge zuigvallen zijn tegenover 37 gele vangbakken. Het verschil in aantallen tussen de twee types vallen zal een rol spelen. Ook is er weinig bekend over de evt. verschillen in effectiviteit tussen de twee types vallen.

Zowel in absolute als relatieve aantallen is *A. fabae* de meest gevangen soort in de gele vangbakken met 14.4% (2.966 / 20.646), gevolgd door *R. padi/insertum* met 10.3% (2135 / 20.646). *Myzus persicae* maakt ongeveer 6.5% uit van alle in de gele vangbakken gevangen bladluizen, *Metopolophium dirhodum* 5.2%.

Een vergelijking tussen de hoge zuigvallen en gele vangbakken levert voor een aantal soorten opmerkelijke verschillen op (zie ook tabel 18). In deze tabel is ook een vergelijking gemaakt tussen de door de NAK geregistreerde vangsten en de vangsten in de fuisen en gele vangbakken binnen het in dit verslag beschreven onderzoek.

Tabel 18. Vergelijking van de vangsten per type val (in percentages van het totaal aantal gevangen bladluizen) van de belangrijkste bladluisoorten in dit onderzoek en de in 2011 door de NAK getelde aantallen. De aantallen van *A. nasturtisii* en *A. frangulae/gossypii* zijn samengevoegd.

Soort	Dit onderzoek				NAK			
	% Fuisen	% GVB	Totaal aantal	% op totaal	% hoge zuigval	% GVB	Totaal aantal	% op totaal
<i>Myzus persicae</i>	42.8	57.2	35	0.9%	4.4	95.6	1397	5.0%
<i>Myzus certus</i>	80.0	20.0	5	0.1%	0.0	100.0	22	0.1%
<i>Phorodon humuli</i>	37.5	62.5	16	0.4%	22.3	77.7	224	0.8%
<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	18.2	87.8	11	0.3%	11.1	88.9	162	0.6%
<i>Aphis fabae</i>	48.4	51.6	62	1.5%	8.8	91.2	3253	11.6%
<i>Aphis nasturtii</i>								
en <i>Aphis frangulae/gossypii</i>	43.5	56.5	46	1.1%	18.0	82.0	916	3.3%
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	61.1	38.9	36	0.9%	9.4	90.6	331	1.2%
<i>Rhopalosiphum insertum/padi</i>	81.8	18.2	512	12.5%	45.2	54.8	3896	13.9%
Ander luizen	63.8	36.2	3363	82.3%	30.5	69.5	15354	54.7%
Totaal			4086				28054	

Bij bovenstaande gegevens moet wel een opmerking geplaatst worden. De hoge zuigvallen worden over een langere periode geleegd en geteld door de NAK (3 mei tot en met 1 september) dan de gele vangbakken (7 juni tot en met 19 augustus). Dit is dus in totaal 47 dagen langer op een totaal van 121 dagen.

In theorie kan door het verschil in vangstperiodes de vergelijking tussen de procentuele verschillen in vangsten tussen de fuiken en gele vangbakken (zie tabel 18) niet correct zijn. Daarom zijn ook vergelijkingen gemaakt tussen de vangsten in de fuiken en gele vangbakken van de NAK (beiden voor de periode van 7 juni tot en met 19 augustus) en de eerdere analyses. Die zijn hieronder weergegeven in Tabel 19.

Tabel 19. Vergelijking van de absolute aantallen en percentages in vangsten per type val van de belangrijkste bladluisoorten voor de in 2011 door de NAK getelde aantallen voor de periode 3 mei – 1 september en na correctie van de periode tot 7 juni – 19 augustus. De aantallen van *A. nasturtii* en *A. frangulae/gossypii* zijn samengevoegd.

Soort	Hoge zuigvallen NAK					GVB NAK			
	0305 - 0109	% in HZV	0706 - 1708	% na correctie	Verskil in %	0305 -0109	% in GVB	% na correctie	Verskil in %
<i>Myzus persicae</i>	61	4.4%	60	4.3%	-0.1	1336	95.6%	95.7%	+0.1
<i>Myzus certus</i>	0	0.0%	0	0.0%	0.0	22	100.0%	100.0%	0,0
<i>Phorodon humuli</i>	50	22.3%	13	7.0%	-15.3	174	77.7%	93.1%	+15.4
<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	18	11.1%	16	10.0%	-1.1	144	88.9%	90.0%	+1.1
<i>Aphis fabae</i>	287	8.8%	272	8.4%	-0.4	2966	91.2%	91.1%	+0.1
<i>Aphis nasturtii</i> en <i>Aphis</i> <i>frangulae/gossypii</i>	42	18.0%	37	17.4%	-0.6	874	95.4%	95.9%	+0.5
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	31	9.4%	18	5.7%	-3.7	300	90.6%	94.3%	+3.7
<i>Rhopalosiphum insertum/padi</i>	1761	45.2%	1286	37.6%	-7.6	2135	54.8%	62.4%	+7.6
Andere bladluizen	5158	18.4%	1940	8.0%	-10.4	12695	45.3%	52.3%	+7.0
Totaal	7408		3642			20646			

Als de NAK tellingen voor de hoge zuigvallen voor de periode 7 juni t/m 18 augustus worden vergeleken met de periode 3 mei t/m 1 september, maakt dat voor veel soorten maar een klein verschil in hun relatieve aandeel in de totaalvangst van alle bladluizen. De grootste verschillen zie je voor *Phorodon humuli*, de hopluis en *Rhopalosiphum insertum/padi*, de appelgrasluis / vogelkersluis en voor de groep van andere bladluizen.

Van de hopluis worden in de kortere periode 37 exemplaren minder gevangen in de hoge zuigvallen (13 tegen 50). Absoluut is dit fors (bijna 75% minder), op het totaal van alle in de hoge zuigval gevangen bladluizen daalt het percentage voor deze soort van 22.3% naar 7.0% maar op het totaal van alle door de NAK in hoge zuigvallen en gele vangbakken gevangen bladluizen (28054 stuks) is dit verwaarloosbaar.

Van de appelgrasluis / vogelkersluis worden er 475 exemplaren méér gevangen in de hoge zuigvallen in de periode vóór 7 juni en ná 19 augustus. Het grootste deel hiervan (389 stuks) wordt gevangen vóór 7 juni, 86 stuks nog tussen 20 augustus en 1 september. *Rhopalosiphum padi/insertum* vliegt dus al vroeg terwijl er er nog geen gele vangbak waarnemingen gedaan werden.

Van de restgroep van 'andere bladluizen', de soorten die niet nader geïdentificeerd worden, worden er 3016 exemplaren meer gevangen in de hoge zuigvallen in de periode vóór 7 juni en

ná 19 augustus. Het grootste deel hiervan (2846 stuks) hiervan vóór 7 juni, 170 stuks nog tussen 20 augustus en 1 september. Ook voor deze soorten geldt dat er al aanzienlijke aantallen vliegen voordat de gele vangbakken geplaatst worden. Er is echter niets bekend over het gevaar wat deze soorten zouden kunnen vormen voor de overdracht van PVY.

Dat er in het begin van het seizoen al aanzienlijke hoeveelheden bladluizen vliegen blijkt ook duidelijk uit ons onderzoek. In de periode tot 7 juni worden er in Wageningen en Lelystad in de fuiken 1541 bladluizen gevangen en in de gele vangbakken 858.

Uit eerder onderzoek (Bos & Bus, 2001) naar de mogelijkheden tot verfijning van de bladluismonitoring, is gebleken dat er grote (lokale) verschillen kunnen zijn tussen de vangsten in gele vangbakken die slechts één kilometer uit elkaar stonden. Een van de conclusies uit dit onderzoek was dat eigenlijk een zeer dicht netwerk nodig is en dat de resultaten van vangsten niet meer dan een indruk geven van de totale bladluisdruk in een bepaalde regio.

Juist die mogelijke grote lokale verschillen maakt een directe vergelijking tussen de resultaten van dit onderzoek (met maar twee gele vangbakken en twee fuiken) en de landelijke cijfers van de NAK (met drie hoge zuigvallen en 37 gele vangbakken) op basis van totale vangstcijfers moeilijk. Toch zijn er wel trends af te leiden.

Grof beschouwd zijn de verhoudingen tussen de totale aantallen per soort ongeveer gelijk binnen ons onderzoek en de gegevens van de NAK. *M. certus* wordt erg weinig gevangen, *R. padi/insertum* juist erg veel. De 'andere bladluizen' maken een groot deel uit van de totale percentages hoewel ze in ons onderzoek ong. 82% uitmaakten van het geheel en landelijk in de NAK cijfers ong. 55%.

De soorten die duidelijk afwijken in percentages tussen ons onderzoek en de NAK-cijfers zijn *Myzus persicae* (0,9% tegen 5,0%), *Aphis fabae* (1,5% tegen 11,6%). Het is uit deze gegevens niet af te leiden of deze verschillen veroorzaakt worden door de lokale verschillen tussen vangbakken of dat er inderdaad een verschil is tussen het gebruik van fuiken, hoge zuigvallen en gele vangbakken.

Een snelle vergelijking van de NAK 2011-data voor *Myzus persicae* laat zien dat er behoorlijke verschillen zijn tussen de drie locaties waar hoge zuigvallen en gele vangbakken staan (wat te verwachten is) maar ook tussen de hoge zuigvallen en gele vangbakken op één locatie (Tabel 19). Dit betreft enkel de totale aantallen. Er is geen analyse gemaakt van de verdeling over het seizoen van deze getallen.

Tabel 19. Overzicht van totaal door de NAK in 2011 aantallen gevangen *Myzus persicae* in de hoge zuigvallen en gele vangbakken op de drie locaties waar beide typen vallen naast elkaar geanalyseerd worden.

Locatie	Hoge zuigval	Gele vangbak
Kollumerwaard	7	21
Tollebeek	4	39
Colijnsplaat	50	20
Totaal	61 (43,3%)	80 (56,7%)

In de hoge zuigvallen voor deze drie locaties samen worden 43,3% van alle *M. persicae* gevangen en in de gele vangbakken 56,7%. Deze getallen komen vrijwel overeen met de binnen ons onderzoek gevonden verhoudingen in de velden in Wageningen en Lelystad (42,8 tegen 57,2 %, zie tabel 18). In vergelijking echter met de totalen voor alle hoge zuigvallen en gele vangbakken voor 2011 verschuift het accent heel sterk naar de gele vangbakken (4,4 tegen 95,6%). Dit omdat er in totaal 37 gele vangbakken zijn tegenover maar drie hoge zuigvallen.

Als je aanneemt dat hoge zuigvallen en de in ons onderzoek gebruikte fuiken beiden niet-selectieve vallen zijn dan is het wel opvallend dat de vangstpercentages voor de fuiken duidelijk veel hoger liggen dan de vangstpercentages in de hoge zuigvallen. Dit geldt voor alle bladluisoorten. Hoge zuigvallen werken op een hoogte van 12,2 meter, fuiken staan vlak boven het gewas. Het lijkt erop dat fuiken dus relatief meer bladluizen vangen dan de hoge zuigvallen.

In het eerder genoemde onderzoek naar een mogelijke verfijning van de bladluismonitoring (PPO-AGV, 2001) is ook een lijmvval vergeleken met een gele vangbak. Zo'n lijmvval is, net al een fuik, een niet-selectieve manier om bladluizen te vangen. In het eerste jaar werden er wel meer luizen gevangen met een lijmvval, in het tweede jaar niet. Er kon op basis van de beperkte data geen conclusie worden getrokken over de mogelijke meerwaarde van lijmvallen ten opzichte van gele vangbakken. Ook hier zijn er dus aanwijzingen voor verschillen in vangsten tussen selectieve vallen (gele vangbakken) en niet-selectieve vallen.

Gele vangbakken zijn van binnen een bepaalde kleur geel geschilderd omdat die kleur van oudsher als een aantrekkelijke kleur voor bladluizen beschouwd wordt en wel speciaal voor *M. persicae*. Dit is m.n. gebaseerd op een onderzoek van Moericke (Moericke, 1951). Niet alle bladluizen echter lijken even sterk door geel aangetrokken te worden. *Rhopalosiphum padi* bijvoorbeeld zou veel minder door geel aangetrokken worden (P. Piron, persoonlijke mededeling). Hoe dit precies voor de andere bladluisoorten zit, is niet bekend. Gele vangbakken zouden in de praktijk dus een onderschatting van de werkelijke aantallen rondvliegende luizen kunnen geven.

De gegevens zoals die er nu liggen, o.m. op basis van dit onderzoek, lijken dit te bevestigen. Vooral voor een soort als *Rhopalosiphum padi* lijken de gele vangbakken een onderschatting van de werkelijke aantallen te geven. Tabel 20 geeft een overzicht van de vergelijking tussen de hoge zuigvallen en gele vangbakken in Kollumerwaard, Tollebeek en Colijnsplaat voor *Rhopalosiphum padi*. Ook hier duidelijke regionale verschillen in aantallen gevangen luizen. Gemiddeld wordt meer dan 90% van deze soort in de hoge zuigval gevangen, minder dan 10% in de gele vangbak. Deze cijfers liggen in dezelfde lijn als in ons onderzoek: bijna 82% gevangen in de fuiken, 18% in de gele vangbakken. Hier komt dan nog bij dat vooral in de periode vóór 7 juni (voordat de NAK waarnemingen met gele vangbakken doet) er al flinke aantallen *R. padi* gevangen worden.

Tabel 20. Overzicht van totaal door de NAK in 2011 aantallen gevangen *Rhopalosiphum padi* in de hoge zuigvallen en gele vangbakken op de drie locaties waar beide typen vallen naast elkaar geanalyseerd worden.

Locatie	Hoge zuigval	Gele vangbak
Kollumerwaard	721	28
Tollebeek	203	50
Colijnsplaat	837	59
Totaal	1761 (92,8%)	137 (7,2%)

4.1.2 Toetsing van de gevangen bladluizen op PVY

In het huidige monitoring systeem worden de risico's op pootgoedbesmettingen gerelateerd aan de gevangen aantallen van de diverse belangrijk geachte bladluisoorten. Aan elke bladluisoort is een waarde gekoppeld die de efficiëntie aangeeft waarmee die soort PVY kan overbrengen. Deze getallen zijn in de jaren '80 van de vorige eeuw experimenteel bepaald. In een onlangs

voor de PA uitgevoerd onderzoek zijn deze Relatieve Efficiëntie Factoren (REF) opnieuw bepaald, nu ook voor de 'nieuwe' stammen van PVY zoals PVY-NTN en PVY-N-Wilga. Uit dit onderzoek kwamen geen grote verschillen t.o.v. de vroeger bepaalde waarden naar voren (Verbeek *et al.* 2010)

De koppeling tussen REF-waarden en aantallen gevangen bladluizen leidt tot een moment waarop de aantallen vliegende bladluizen te groot worden en het risico op besmetting van de knollen te hoog wordt geacht; de loofdodings-adviesdatum. Onbekend blijft echter of de gevangen bladluizen ook daadwerkelijk virus over hadden kunnen brengen. Dit hangt op de eerste plaats af of ze wel PVY bij zich dragen. In dit onderzoek is een real time RT-PCR toets ('TaqMan toets') uitgewerkt waarmee individuele bladluizen getest kunnen worden of ze wel of geen PVY bij zich dragen. Opgemerkt moet worden dat het feit dat een bladluis positief is in de TaqMan toets, dit nog niet wil zeggen dat die bladluis dan ook PVY zal overdragen. De test kan helaas nog geen onderscheid maken tussen virusdeeltjes die door het voeden op zieke planten in het maag-darm stelsel van de bladluis terecht zijn gekomen en virusdeeltjes die na proefboringen aan de styletten van de bladluis gebonden zijn. Vast staat echter wel dat PVY-positieve bladluizen geprikt cq. gevoed hebben op met PVY geïnfecteerde planten en daarmee absoluut een gevaar kunnen vormen voor het overbrengen van PVY.

Op een deel van de gevangen bladluizen is de TaqMan test toegepast. In tabellen 10, 11 en 12 in paragraaf 4.1.5 zijn de resultaten samengevat.

Tijdens de ontwikkeling van de test bleek dat PVY nog minimaal 24 uur na opname in de bladluis aantoonbaar bleef. Daarom zijn alleen bladluizen getoetst waarvan vaststond dat ze niet langer dan 24 uur in de fuik of gele vangbak hadden gezeten. Het kan zijn dat het virus langer dan 24 uur in de bladluis aantoonbaar blijft, dat is niet onderzocht. Onduidelijk is nog of, vanwege het non-persistente karakter van PVY, een bladluis meer dan 24 uur na opname van het virus uit een zieke plant, het virus echt niet meer kan afgeven.

Uiteindelijk blijken nog aanzienlijke percentages van de gevangen bladluizen PVY bij zich te dragen; dit varieert tussen de 0 en 50% (mediaan = 33,3%). Voor sommige soorten was het aantal wat getoetst kon worden erg laag omdat er niet meer luizen van die soort gevangen waren. Het is wel duidelijk dat een aanzienlijk deel van de bladluizen die een veld binnen komen vliegen, al PVY bij zich draagt.

Tabel 21. Overzicht van de vangsten in fuik en gele vangbak in Wageningen en Lelystad in 2011 van 10 soorten bladluizen waarvan de precieze aantallen gevangen exemplaren geteld zijn met hun bijbehorende Relatieve Efficiëntie Factoren (REF). Op basis van de totale aantallen is de algemene vectordruk (AVD) per soort berekend.

Bladluissoort	Aantal in fuiken	Aantal in Gele vangbakken	Totaal	REF waarde	AVD
<i>Rhopalosiphum padi</i>	404	91	504	0.03	15.1
<i>Aphis fabae</i>	30	32	62	0.10	6.2
<i>Aphis nasturtii</i>	20	26	46	0.42	19.3
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	22	14	36	0.05	1.8
<i>Myzus persicae</i>	15	20	35	1.00	35
<i>Rhopalosiphum insertum</i>	15	2	17	0.03	0.5
<i>Phorodon humuli</i>	6	10	16	0.15	2.4
<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	2	9	11	0.10	1.1
<i>Myzus certus</i>	4	1	5	0.44	2.2
<i>Aphis frangulae</i>	0	0	0	0.42	0

De percentages 'PVY-besmetting' moeten bekeken worden in relatie tot zowel de REF-waarde van die soort als ook de totaal gevangen aantallen.

De standaard berekeningswijze van de algemene vectordruk (AVD) vermenigvuldigt het (cumulatieve) aantal bladluizen van een bepaalde soort op een bepaald moment met de REF-waarde van die soort. In Tabel 21 is dit voor de in 2011 binnen dit onderzoek gevangen en getelde luizen weergegeven.

Uit tabel 21 is af te lezen dat op basis van de aantallen en REF-waarden, *M. persicae* een AVD van 35 had bereikt aan het einde van het seizoen, *A. nasturtii* een AVD van 19 en *R. padi* een AVD van 15. *Aphis fabae* had een AVD van 6.2. Voor de andere soorten gold een veel lagere AVD.

Deze getallen worden berekend aan het eind van het seizoen (25 augustus 2011). Uit de vangstgegevens van de fuiken en de vangbakken blijkt dat de eerste bladluizen al vroeg in het jaar vliegen.

In Wageningen en in Lelystad zijn de eerste bladluizen al op 22 april in de fuik gevangen (Wageningen: *A. frangulae*, Lelystad: *R. padi*). Op 26 april werd er weer *R. padi* gevangen, zowel in Wageningen (14 stuks) als in Lelystad (10 stuks). Toetsing op PVY liet zien dat in Wageningen de 10 geteste *R.padi* allemaal negatief waren. In Lelystad echter waren 2 van de 5 geteste *R. padi* wel positief voor PVY.

In de periode daarna bleef er regelmatig *R. padi* gevangen worden in de fuiken (o.a. 17 stuks op 29 april). Er was een duidelijke piek in de vangsten van *R. padi* vanaf begin juni tot ongeveer half juli.

Voor *M. persicae* geldt ongeveer hetzelfde. De eerste groene perzikluizen werden op 6 mei gevangen in de fuik, zowel in Wageningen (1 stuks) als in Lelystad (1 stuks). Beiden waren positief voor PVY. De volgende Mp vangst was op 3 juni (Wageningen, negatief). De derde vangst van Mp was op 14 juni in Lelystad (1 stuks, PVY positief) en de volgende vangsten alleen in Lelystad (21-06 tot 01-07; in totaal 8 stuks waarvan 3 positief voor PVY).

Bovenstaande is geen uitputtende analyse van alle data maar het geeft duidelijk aan dat de bladluizen die al vroeg vliegen (eind april – begin mei) al virus bij zich kunnen dragen. Op dat moment in het jaar stonden er nog geen aardappelplanten boven de grond. In Wageningen was het perceel op 26 april gepoot, in Lelystad op 15 april. Pas vanaf ongeveer half mei stond het gewas duidelijk boven. Dit maakt het erg onwaarschijnlijk dat de positieve bladluizen PVY opgenomen hebben uit het aardappelveld zelf. In Wageningen was de locatie van het aardappelperceel zodanig dat er tot op kilometers tegen de wind in alleen grasland lag en geen gewassen die als mogelijke bron van PVY konden dienen. In Lelystad lag het perceel midden op de Broekema hoeve. Figuur 8 geeft een overzicht van de verschillende gewassen rond het veld in Lelystad. Afgezien van perceel 3 en perceel 4 (aardappelen) staat geen van de andere gewassen bekend als een mogelijke waardplant van PVY. Het is dan ook niet erg waarschijnlijk dat ook in Lelystad de op 26 april gevangen, PVY-positieve *R padi*, dit virus vlakbij het proefperceel pootaardappelen opgepikt hadden.

Omdat PVY op een non-persistente manier wordt overgedragen, neemt men aan dat het virus maar heel kort aan de monddelen van een bladluis blijft gebonden en dat daarom de belangrijkste verspreiding van PVY binnen het aardappelveld zelf plaatsvindt. Het virus moet eerst worden opgenomen door bladluizen die van buiten het veld komen en landen op geïnfecteerde aardappelplanten.

Ruimtelijke vruchtwisseling Broekemahoeve 2011						
J-8		J-9			J-10	
Perc	xxxx	xxxx	Perc.	xxxx	Perc.	
	<input type="checkbox"/>	Wintertarw				
	Wintertarwe 6 ha	<input type="checkbox"/>	23	250	Wintertarwe	7
	<input type="checkbox"/>				7,8	
	<input type="checkbox"/>					
	Wintertarwe 2,4 ha	<input type="checkbox"/>				
7	<input type="checkbox"/>	91 m		3b	Veldbonen/tarwe	91 m
	<input type="checkbox"/>		Uien	2,5		6
J8b	0,6	<input type="checkbox"/>		3a		
6	Z. tarwe	96 m	Uien	2,5	Z. tarwe	96 m
	1,2	<input type="checkbox"/>				5
5b	Graskl.	<input type="checkbox"/>		2b		
5a	1,2	96 m			Cons. aard.	96 m
4b	Peen	<input type="checkbox"/>		Pootaard.		
4a	1,2			2,5		4
3	Biodivers Aard.	<input type="checkbox"/>				
	1,2	96 m	S. bieten		Kool	96 m
2	Kool	<input type="checkbox"/>		2,6 2a		3
	1,2					
1b	Boon/tarwe	<input type="checkbox"/>		S. bieten 1b		
1a	1,2	94 m			Peen	96 m
J8a	267/251 m	<input type="checkbox"/>				96 m
	0,7	2,6 ha		1a		2
	ERF	94 m	S. bieten			92 m
			2,6		Grasklaver	
		296/280 m		2,6	296/280 m	1

Figuur 8. Bouwplan van de verschillende teelten op de Prof. Broekema hoeve in 2011. Het pootgoedperceel dat werd gebruikt in dit onderzoek is perceel 2b in het midden.

In onze experimenten (zie paragraaf 4.2.2) blijkt echter dat de tijd waarin PVY kan worden overgedragen door *Myzus persicae* duidelijk langer is dan de vaak genoemde 'enkele minuten'. Tot 4 uur na opname uit een zieke aardappelplant, kon *Myzus* nog PVY overbrengen naar toetsplanten met een efficiëntie van ongeveer 15% ten opzichte van de controle. Ook is de bladluis niet direct na een proefboring het virus al weer kwijt van zijn stylet zoals ook vaak wordt gedacht (zie paragraaf 4.2.3).

Als men bovenstaande gegevens combineert met de duidelijk PVY positieve bladluizen die al vroeg in het seizoen worden gevangen is het erg waarschijnlijk dat een zeker percentage bladluizen die een aardappelveld binnen komt vliegen, al PVY bij zich draagt. Ook vroeg in het seizoen als er nog geen aardappelen als bronplanten aanwezig zijn. Dat betekent dat die bladluizen PVY vanaf andere planten moeten hebben opgenomen. Ook de PVY-positieve bladluizen die later in het seizoen in de 1^e fuiken aan de rand van het veld in Wageningen en Lelystad zijn gevangen, zullen het virus zeer waarschijnlijk van buiten het aardappelveld meegebracht hebben. Dit geeft aan dat er naast aardappel nog andere bronnen van PVY moeten zijn, die ook al vroeg in het voorjaar bijdragen aan de verspreiding van PVY.

4.2 Overleving van PVY op bladluizen

Zoals hierboven al besproken blijft PVY minimaal 4 uur nog infectieus op de styletten van *Myzus persicae*. De overdracht is zoals verwacht het hoogst direct na opname van het virus en neemt daarna af. Er is echter weinig verschil in overdrachtsefficiëntie op 1, 2 of 4 uur na opname. Die efficiëntie is ongeveer 15% van de overdracht direct na opname van het virus. Het is nog niet bekend of PVY ook langer dan 4 uur na opname overdraagbaar blijft. Dat zal verder onderzocht moeten worden.

Bovenstaande getallen gelden voor *Myzus persicae*. Omdat deze luis als meest efficiënte vector van PVY kan worden beschouwd zijn alle overdrachtsexperimenten met deze soort uitgevoerd. Eerder onderzoek naar de REF-waarden van andere bladluisoorten is steeds op dezelfde manier uitgevoerd als voor *Myzus persicae*. Voor deze soorten is er niets bekend over de overleving van PVY aan hun styletten. Daarmee wordt het moeilijk om een goede risico-inschatting te maken voor de soorten waarvan een aanzienlijk deel van de invliegende bladluizen PVY bij zich draagt. In het bijzonder *R. padi* verdient nadere aandacht. Van deze soort worden er (absoluut en in verhouding) de meeste individuen gevangen, ook al vroeg in het jaar. Bijna 30% van alle *R. padi* die van buiten het aardappelveld komt, draagt al PVY bij zich. Zoals de Nederlandse naam al aangeeft (vogelkersluis), is *R. padi* een soort die van nature niet op aardappel maar op grassen voorkomt. Een heel intrigerende en ook belangrijke vraag is vanaf welke plant of welk gewas deze bladluisoort het PVY virus oppikt en verder verspreidt?

In Nederland heeft *R. padi* op basis van onderzoek een REF-waarde van ong. 0.03 toebedeeld gekregen. Dat betekent dat ze in overdrachtsexperimenten PVY ongeveer 33x slechter overbrengen dan *Myzus persicae*. Echter is voor al deze experimenten aardappel als bronplant gebruikt vanuit de veronderstelling dat geïnfecteerde aardappelplanten in het veld de belangrijkste bronnen van PVY zijn. De vraag kan worden gesteld of dit in de praktijk ook werkelijk zo is. Wellicht verandert de REF-waarde van *R. padi*, en voor andere bladluisoorten, wanneer andere planten als bronplant gebruikt worden. Op dit moment echter blijft het nog onduidelijk welke alternatieve bronnen van PVY hiervoor in aanmerking zouden kunnen komen.

In Schotland wordt er gerekend met een REF voor *R. padi* van 0.4. Dit getal is niet op experimenten gebaseerd maar is een risico-inschatting, hoofdzakelijk op basis van aantallen. In de UK en Schotland loopt op dit moment een onderzoek om de REF-waarden voor verschillende soorten bladluizen zowel PVY als PVA op dezelfde manier vast te stellen als eerder door ons gedaan is (Verbeek *et al.*, 2010). De resultaten hiervan zijn nog niet bekend.

4.3 PVY in onkruiden

Uit de analyse van de bladluisvangsten in de fuiken in zowel Lelystad als in Wageningen bleek dat veel bladluizen van buiten het aardappelveld al PVY bij zich droegen. In het projectvoorstel was al de vraag gesteld of evt. onkruiden een bron of reservoir voor PVY zouden kunnen vormen.

Omdat het analyseren van de bladluisvangsten veel meer tijd en menskracht (en daarmee budget) vergde dan oorspronkelijk was begroot bleef er helaas maar weinig gelegenheid over om onkruiden te verzamelen en te toetsen. In Wageningen en in Lelystad zijn de onkruiden maar op één tijdstip, laat in het seizoen verzameld. Na toetsing in DAS-ELISA werd PVY in een aantal veel voorkomende onkruidsoorten gevonden. Dat niet in alle exemplaren van alle onkruidsoorten het virus kon worden aangetoond, behalve in weegbree, en het feit dat er ook

duidelijke verschillen waren in ELISA-waarden tussen exemplaren van één soort, geeft aan dat de positieve ELISA reacties niet vals-positief zijn.

PVY lijkt dus binnen Nederland een breder waardplant bereik te hebben dan tot nu toe werd aangenomen. Verschillende van de positief gevonden onkruidsoorten zijn meerjarig. Dit betekent ook dat het virus in de plant gedurende de winter zal overleven en zodra de plant in het voorjaar weer begint te groeien, zich zal vermeerderen. Die planten zijn daarmee al vroeg in het jaar, nog voor er aardappels op het veld verschijnen, een potentiële bron van het virus. Ook komen deze onkruiden vaak voor in het aardappelveld zelf en daarmee zijn ze binnen een perceel extra besmettingsbronnen van waaruit bladluizen PVY verder kunnen verspreiden.

Dat PVY in diverse wilde plantensoorten kan voorkomen blijkt ook uit de literatuur. In een Duits vakblad artikel (Kurzinger *et al.*) uit 2004 worden al een groot aantal soorten genoemd. In een artikel uit 2009 (Kaliciak en Syller) worden de in dit onderzoek gevonden PVY-infecties van paardenbloem (*Taraxacum officinalis*) en melganzevoet (*Chenopodium album*) met PVY bevestigd. Ook wordt in dit artikel beschreven dat herderstasje (*Capsella bursa-pastoris*) een waardplant voor PVY kan zijn. Belangrijker is echter dat de auteurs met experimenten aantonen dat er vijf, veel voorkomende wilde plantensoorten m.b.v. bladluizen geïnfecteerd kunnen worden met PVY; kompassla of wilde sla (*Lactuca serriola*), melganzevoet (*Chenopodium album*), reigersbek (*Erodium cicutarium*), kleine ooievaarsbek (*Geranium pusillum*) en paarse dovenetel (*Lamium purpureum*).

Het is lastig op dit moment te duiden wat de precieze rol van de verschillende onkruiden is in de verspreiding van PVY. Er is niets bekend welk deel van de populatie van deze onkruiden op het veld PVY bevat. Hoe wijd verspreid is het virus in onkruiden? Ook is er niets bekend over het voorkomen van bladluizen op deze onkruiden, of ze enkel passanten zijn of er ook kolonies op vormen. Ook moet onderzocht worden hoe efficiënt de verschillende soorten bladluizen PVY kunnen opnemen uit de onkruiden en of dat consequenties heeft voor de REF-waarden van deze soorten waarmee nu binnen het Nederlandse pootaardappelsysteem gerekend wordt.

5. **Aanbevelingen voor verder onderzoek**

- Door meer fuiken op meerdere locaties met gele vangbakken te vergelijken, kan met meer zekerheid bepaald worden of fuiken inderdaad een beter beeld geven van de daadwerkelijke aantallen en soorten bladluizen die rondvliegen.
- Door over een duidelijk langere periode in verschillende percelen fuiken en gele vangbakken aan de rand te vergelijken met fuiken en gele vangbakken midden in het veld kan veel beter vastgesteld worden hoeveel bladluizen daadwerkelijk van buiten het veld afkomstig zijn.
- Toetsing op PVY van die verschillende groepen bladluizen van buiten en binnen een veld is nodig om vast te kunnen stellen hoe groot het gevaar van introductie van PVY van buiten het veld is.
- Veel meer individuele bladluizen moeten getoetst worden op het dragen van PVY. Dit geeft niet alleen een veel beter beeld van het daadwerkelijk gevaar voor verspreiding van dit virus door de verschillende soorten maar ook wanneer in het seizoen dat gevaar het grootst is.
- Er moet meer aandacht komen voor de efficiëntie van PVY opname en overdracht door *Rhopalosiphum padi*, de vogelkersluis.
- Individuele bladluizen uit de 'restgroep' van 'andere luizen' moeten getoetst worden op het dragen van PVY. Dit kan helpen om een betere risico-inschatting te maken welke soorten dit virus bij zich dragen en of het zinvol is om van deze soorten REF-waarden te bepalen en ze evt. mee te laten lopen in de tellingen van de NAK.
- Vastgesteld moet worden of soorten bladluizen die veel bij aardappelpercelen gevangen worden ook langer dan 24 uur na opname van het non-persistente PVY nog virus af kunnen geven en daarmee aardappelplanten ziek maken. Dit is ook van belang voor de bestrijdingstactiek.
- Vastgesteld moet worden in welke planten en onkruiden, en met welke concentratie, PVY voorkomt en dus als bron voor de verspreiding van PVY kunnen fungeren. Deze analyse moet minimaal de periode maart t/m augustus beslaan zodat een betere risico-inschatting van de verschillende plantensoorten gemaakt kan worden.

6. Literatuur

Bos D en Bus CB (2001) Onderzoek naar de noodzaak van verfijning bladluismonitoring in de pootaardappelteelt. Praktijkonderzoek Plant & Omgeving BV. Projectrapport nr. 1154389 mei 2001, 23 p.

Moericke V. (1951). Farbfrage zur Kontrolle des Fluges von Blattläusen insbesondere der Pfirsichblattlaus, *Myzodes persicae* Sulz. Nachrichtenblatt des deutschen Pflanzenschutzdienstes 3 (Stuttgart): 23-24.

Kaliciak A. and Syller J. (2009). New hosts of *Potato virus Y* (PVY) among common wild plants in Europe. Eur. J of Plant Pathology 124: 707-713.

de Kock M, Lemmers M, van Dalen L, Pham K en Stijger I (2009) Non-persistente virusoverdracht door bladluizen in bloembollen. Projectverslag onderzoeksproject BO-06-005 Plantgezondheid, thema Fytopanitentair Beta - Project 3.1.7

Kürzinger B, Kürzinger W, and Möbius B (2004) Wildkräuter als mögliche Quelle für PVY? Kartoffelbau 11: 391-393.

Schepers A en Bus CB (1980) Virusziekten in pootaardappelen. Publikatie 7, PAGV 24 p.

Verbeek M, Piron PGM, Dullemans AM, Cuperus C and van der Vlugt RAA (2010). Determination of aphid transmission efficiencies for N, NTN and Wilga strains of *Potato virus Y*. Annals of Applied Biology 156: 39-49.