



Effect van pepinomozaïekvirus op tomaat: vergelijken van rassen en virus-isolaten

Verslag van een ringtest uitgevoerd in Naaldwijk
Project 41103183

C.C.M.M. Stijger en R. Hamelink

© 2003 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Dit onderzoek is gefinancierd door:
Productschap Tuinbouw
Postbus 280
2700 AG ZOETERMEER
Tel.: 079-3470707
Fax: 079-3470404



Projectnummer: 41103183

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector Glastuinbouw
Adres : Kruisbroekweg 5,2671 KT Naaldwijk
: Postbus 8, 2670 AA Naaldwijk
Tel. : 0174 636700
Fax : 0174 636835
E-mail : ineke.stijger@wur.nl
Internet : www.ppo.dlo.nl

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	4
1 INLEIDING.....	5
1.1 Algemene inleiding	5
1.2 Kasproef	5
1.3 Doel.....	5
2 MATERIAAL EN METHODEN	6
2.1 Proefopzet	6
2.2 Inoculum en besmettingsmethode	6
2.3 Waarnemingen	7
2.4 Hygiëne maatregelen.....	7
3 RESULTATEN.....	8
3.1 Toetsen.....	8
3.2 Symptomen	8
3.3 Plantengroei	9
3.4 Bloei - en vruchtkenmerken	10
3.5 Productie.....	10
3.6 Vaatverbruining.....	12
4 DISCUSSIE EN CONCLUSIE.....	13
5 LITERATUUR	14
BIJLAGE 1	2
BIJLAGE 2	2
BIJLAGE 3.....	2

Samenvatting

Sinds 1999 zijn steeds meer meldingen gemaakt van het voorkomen van pepinomozaïekvirus (PepMV) in tomaten. Niet alleen in Nederland maar ook in andere landen binnen Europa. Opvallend daarbij was dat de symptomen die werden beschreven nogal verschillend waren. De vraag was waar deze verschillen door worden veroorzaakt. Om vast te stellen wat de rol van deze verschillende factoren is op de ontwikkeling van symptomen en de opbrengst is in vier landen binnen Europa een ringtest uitgevoerd.

Een ringtest wil zeggen dat op meerdere plaatsen gelijktijdig een, volgens een met elkaar afgesproken protocol, zelfde onderzoek wordt uitgevoerd. Dit gebeurde op vijf locaties in vier landen binnen Europa en uitgevoerd tijdens teeltseizoen 2001/2002. In dit verslag worden de resultaten van het onderzoek in Naaldwijk beschreven met name omdat naast de ringtest ook nog een verlengde ringtest is uitgevoerd. Vier tomatenrassen (Aranca, Rhapsody en Spranco en extra in de verlengde ringtest het ras Clotilde) werden geïnoculeerd met PepMV isolaten uit Nederland, Spanje en het Verenigd Koninkrijk. Gedurende het onderzoek werden de symptomen op de planten en vruchten regelmatig gecontroleerd, werd de lengte van de plant wekelijks (gedurende 7 weken na infectie) gemeten en werd de bloeidatum vastgelegd. Bij het oogsten zijn het aantal vruchten geteld en gewogen.

Naast de bladsymptomen werd ook wat wankleurigheid op de vruchten waargenomen. De meeste symptomen verdwenen na een aantal weken. Bij de metingen van de plantlengte kon geen directe relatie worden gelegd tussen virusinfectie en plantgrootte. Er werd met betrekking tot cultivars en virus-isolaten geen betrouwbaar verschil gevonden tussen de groeicurve van geïnfecteerde en gezonde planten. Ook werden er geen betrouwbare verschillen gevonden bij de bloeidata tussen de geïnfecteerde en de gezonde planten.

De opbrengst in zowel de ringtest als de verlengde ringtest verschilde per behandeling. Over het algemeen was de opbrengst bij de geïnfecteerde grovere rassen lager dan bij de fijnere rassen.

In sommige gevallen gaven geïnfecteerde planten een hogere productie dan de gezonde planten.

1 Inleiding

1.1 Algemene inleiding

In het begin van 1999 werd pepinomozaïekvirus (PepMV) voor het eerst gevonden in de Nederlandse tomatenteelt. Daarvoor was PepMV alleen gerapporteerd in het gewas pepino (*Solanum muricatum*) in Peru (Jones et al., 1980). De identificatie van het virus werd gebaseerd op de morfologie van de deeltjes, biologische en serologische eigenschappen en partiële nucleotide sequenties van het genoom (Van der Vlugt et al., 2000). Sindsdien zijn steeds meer meldingen van over de hele wereld gedaan over het voorkomen van het virus. In de meeste lidstaten van de Europese Unie (EU) komt het PepMV voor.

De beschrijvingen van symptomen uit de diverse lidstaten van de EU zijn nogal verschillend in zowel de uiting als de heftigheid van de symptomen. In Nederland vertonen geïnfecteerde planten milde tussennervige chlorose, soms vergezeld van bobbels en andere bladmisvormingen. Op vruchten verschijnen soms symptomen, meestal blijft het beperkt tot wat wankleurige vruchten. Vooral rassen met kleine vruchten (cherry-type) hebben nauwelijks last van het virus.

Daarnaast bestaan grote verschillen wat betreft de inschatting van de schade veroorzaakt door PepMV

De grote vraag is of de variatie in symptomen toegeschreven kan worden aan het verschil tussen rassen, virus-isolaten, omstandigheden waarin de planten staan of een combinatie van deze factoren. Om de rol van deze verschillende factoren op het ontwikkelen van symptomen te kunnen vaststellen werd in 2002 een ringtest uitgevoerd.

Deze ringtest bestond uit een onderzoek die tegelijkertijd bij vijf instituten in Duitsland (Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry), Spanje (Polytechnic University of Valencia), Groot-Brittannië (Central Science Laboratory) en Nederland werd uitgevoerd. In Nederland is deze ringtest uitgevoerd bij de PD in Wageningen en bij PPO Glastuinbouw te Naaldwijk.

Dit verslag beschrijft de resultaten van de kasproef uitgevoerd bij PPO Glastuinbouw.

1.2 Kasproef

De ringtest zoals die in een Europees protocol is vastgelegd bepaald de schade in de plant tot en met de derde tros. Vanuit het project Monitoren PepMV (433077) is gebleken dat vruchtsymptomen kunnen voorkomen in een enkele tros en vervolgens niet meer voorkomen in de rest van de trossen. Procentueel uitgedrukt maakt het enorm uit of één van de drie trossen symptomen geven of één van de dertig trossen. Voor de tomatensector is het van groot belang dat PepMV niet op onterechte gronden een quarantaine status krijgt. Om die reden is in Naaldwijk niet alleen de ringtest uitgevoerd maar ook een zogenaamde verlengde ringtest. Dit wilde zeggen dat bij de helft van het aantal planten alle trossen zijn geoogst tot aan het eind van de teelt en volledig mee zijn geteld om de eventuele schade van PepMV te bepalen. De proef in Naaldwijk benaderd het meest de praktijk, zoals het telen van de planten in steenwol en een volledige teelt, bij de andere instituten hebben de planten in potten gestaan met potgrond in relatief kleine kasafdelingen.

1.3 Doel

Doel van het onderzoek is het in kaart brengen van de daadwerkelijke schade aan de hand van de gegevens/resultaten uit de ringtest

2 Materiaal en methoden

2.1 Proefopzet

De proef in Naaldwijk is uitgevoerd in één kasafdeling waarin vier tomatenrassen zijn geplant; Aranca, Rhapsody, Spranco en Clothilde. De rassen zijn geselecteerd op basis van het type tomaat (fijn tot grof) en op de schaal waarop ze commercieel worden geteeld. De zaden werden beschikbaar gesteld door de veredelingsbedrijven. De proef werd gestart met het zaaien van de planten op 16 november 2001. Planten werden 13 december 2001 naast het plantgat in de kas gezet en 16 januari 2002 op het plantgat geplaatst. Van de rassen Aranca en Spranco werden per rij (tevens een veldje) 20 planten geplant, van de rassen Rhapsodie en Clotilde werden elk 10 planten op dezelfde rij gezet. Op uitdrukkelijk verzoek van de Landelijk gewascommissie Tomaat van LTO Groeiservice werd het ras Clotilde ook in de proef opgenomen terwijl bij de andere deelnemers van de ringtest dit ras niet werd getest. In de kasafdeling lagen zestien rijen met elk twee goten. Op 27 december 2001 zijn alle planten, behalve de controle planten, geïnoculeerd met het Nederlandse, Britse of Spaanse isolaat (voor plattegrond van de behandeling in de kasafdeling, 103-18, zie Bijlage 1). Om rijen tomatenplanten geïnoculeerd met verschillende PepMV-isolaten gescheiden te houden en onbedoelde besmetting naar andere rijen te voorkomen, zijn bufferrijen paprikaplanten gebruikt.

De PepMV isolaten waren afkomstig uit Nederland (isolaatnr. 99901066), Groot-Brittannië en Spanje (afkomstig van de Canarische eilanden uit een monster dat door de PD was getoetst). Om de invloed van de tomatenrassen, virus-isolaten en de omgevingsinvloeden te vergelijken zijn alle rassen geïnoculeerd met elk van de virus-isolaten.

De planten van de ringtest werden getopt nadat de vijfde tros begon te bloeien. Dit werd bij de helft van de planten gedaan, dit wil zeggen per rij werden de planten om en om gekopt zodat per rij tien planten waren bestemd voor de ringtest en tien planten voor de verlengde ringtest. Bij het ras Rhapsodie en Clotilde waren per ras vijf planten voor de ringtest en vijf planten voor de verlengde ringtest.

Wekelijks werd in overleg met een persoon van de begeleidingscommissie en de gewasonderzoeker van PPO Glastuinbouw het verloop van de proeven doorgenomen en zonodig klimaatinstellingen bijgesteld. De proef werd beëindigd op 18 oktober 2002.

De besmettelijkheid van de virusziekte PepMV stelt bijzondere eisen aan de proefopzet. De proef werd zodanig ingericht dat geïnfecteerde objecten zo min mogelijk een besmettingsbron vormden voor niet-geïnfecteerde objecten. Binnen de kasafdeling was daarom geen volledig geward proefschema mogelijk. Om onbedoelde infectie met PepMV te voorkomen lagen de behandelingen op rij, werden in de rijen tussen de verschillende PepMV isolaten paprikaplanten geteeld en werd een vaste werkrichting aangehouden. De consequentie van de enkelvoudige uitvoering en niet gewarde ligging van de objecten was dat de statistische betrouwbaarheid van de resultaten niet kon worden getoetst.

2.2 Inoculum en besmettingsmethode

De drie PepMV isolaten zijn op tomatenplanten vermeerderd. Besmet bladmateriaal is fijngemalen, verdund met water en door kaasdoek gefilterd. De planten zijn bestoven met carborundum poeder waarna geïnfecteerd plantensap op drie bladeren per plant is uitgesmeerd. Na inoculatie zijn de bladeren afgespoeld met schoon water.

2.3 Waarnemingen

Voordat planten opzettelijk met virus werden geïnfecteerd zijn ze eerst met behulp van ELISA getoetst op de afwezigheid van virus. Nadat de inoculatie is uitgevoerd zijn uit de geïnoculeerde veldjes monsters genomen en getoetst op de aanwezigheid van virus. Gedurende het onderzoek werden de volgende parameters genoteerd: symptomen van de plant (bladeren en vruchten), plantlengte, bloeidatum, aantal bloemen, aantal vruchten en vruchtgewicht. Aan het eind van de teelt zijn alle stengels doorgesneden, om ze te onderzoeken op vaatverbruining.

2.4 Hygiëne maatregelen

Om ongewenste verspreiding van het virus tegen te gaan zijn diverse hygiëne maatregelen genomen. Tegen invliegen van insecten zijn de luchtramen afgegaasd. Voor de bestuiving zijn geen hommels ingezet, maar werd per plant getrild. Voor de diverse isolaten werden verschillende trillers gebruikt. Per rij werden schone handschoenen en een werkjas aangetrokken. De voedingsoplossing die in de teelt werd gebruikt, werd niet gerecirculeerd.

3 Resultaten

3.1 Toetsen

De resultaten van de ELISA testen uitgevoerd op 19 december 2001 en op 15 januari 2002 staan vermeld in Bijlage 3. Hieruit blijkt dat de ELISA testen uitgevoerd voordat de planten opzettelijk werden geïnoculeerd met PepMV een lage waarde gaven, wat betekent dat er geen virus in de planten aanwezig was. De ELISA testen uit de geïnoculeerde planten laten zien dat op drie na alle planten met PepMV zijn geïnfecteerd. Deze planten zijn na twee weken nogmaals met ELISA gecontroleerd en toen bleken ze wel met virus geïnfecteerd (data wordt verder niet vermeld).

3.2 Symptomen

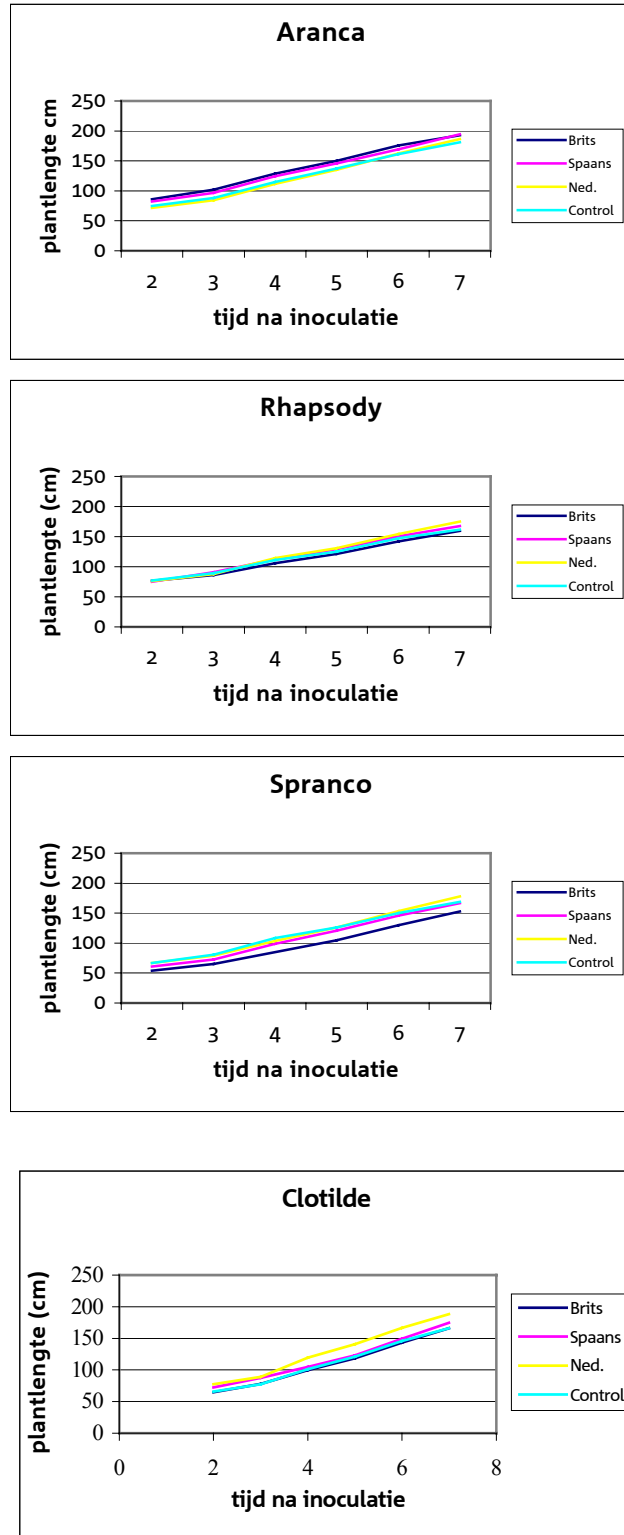
Eén week na inoculatie met PepMV waren de eerste symptomen zichtbaar. De jongste bladeren vertoonden brandnetelachtige symptomen en wat lichte bobbeling. Dit was het duidelijkst in de planten die geïnfecteerd waren met het Britse (Figuur 1) en het Spaanse isolaat, drie tot vijf weken na inoculatie. In het ras Aranca kwamen de minste symptomen voor (Bijlage 2). Vruchtsymptomen zijn niet of nauwelijks (een paar wankleurige) waargenomen.



Figuur 1 Bladsymptomen van pepinomozaïekvirus (Brits isolaat op ras Spranco)

3.3 Plantengroei

De lengtegroei is samengevat in een groeicurve (Figuur 2).



Figuur 2 Plantlengte van de vier tomatenrassen na inoculatie met verschillende PepMV isolaten en de niet-geïnoculeerde gezonde controle.

Er werd geen directe relatie tussen virusinfectie en plantlengte vastgesteld. De groeicurves van de diverse cultivars met de verschillende isolaten liepen nagenoeg gelijk. Planten die aanvankelijk klein waren bleven de kleinste in de loop van de tijd. Met betrekking tot de cultivars en virus-isolaten werd er geen betrouwbaar verschil gevonden tussen de groei van geïnfecteerde en gezonde planten.

3.4 Bloei - en vruchtkenmerken

Met betrekking tot de datum van bloeien, het aantal bloemen en het aantal vruchten werd geen samenhang geconstateerd. Ook werd geen verschil in hoogte tussen de opvolgende trossen gevonden (data wordt verder niet vermeld). Deze resultaten geven aan dat bloei en vruchtkenmerken niet worden beïnvloed door een PepMV infectie.

3.5 Productie

Ringtest

Tabel 1 en figuur 3 laten de cumulatieve opbrengst zien gebaseerd op twee metingen per week gedurende de totale oogst van de ringtest. Het effect van de opbrengstderiving is bij de rassen Clotilde en Rhapsodie groter dan bij de rassen Aranca en Spranco. De wat lagere opbrengst zit vooral bij de planten die geïnfecteerd zijn met het Nederlandse en Spaanse isolaat.

Tabel 1 Totale productie per plant (gemiddelde van 5 of 10 planten) van de rassen A, C, R en S, geïnfecteerd met Brits (B), Nederlands (N) en Spaans (S) isolaat van PepMV (O=onbehandeld).

	isolaat	O	B	N	S	gemiddeld
	ras					
productie (kg/plant)	A	1,1	0,9	1,1	1,2	1,1
	C	2,8	2,7	2,1	2,5	2,5
	R	3,5	3,4	3,1	2,9	3,2
	S	1,6	1,6	1,5	1,6	1,5
	gemiddeld	2,4	2,1	1,9	2,1	2,1

A=Aranca, C=Clotilde, R=Rhapsodie, S=Spranco

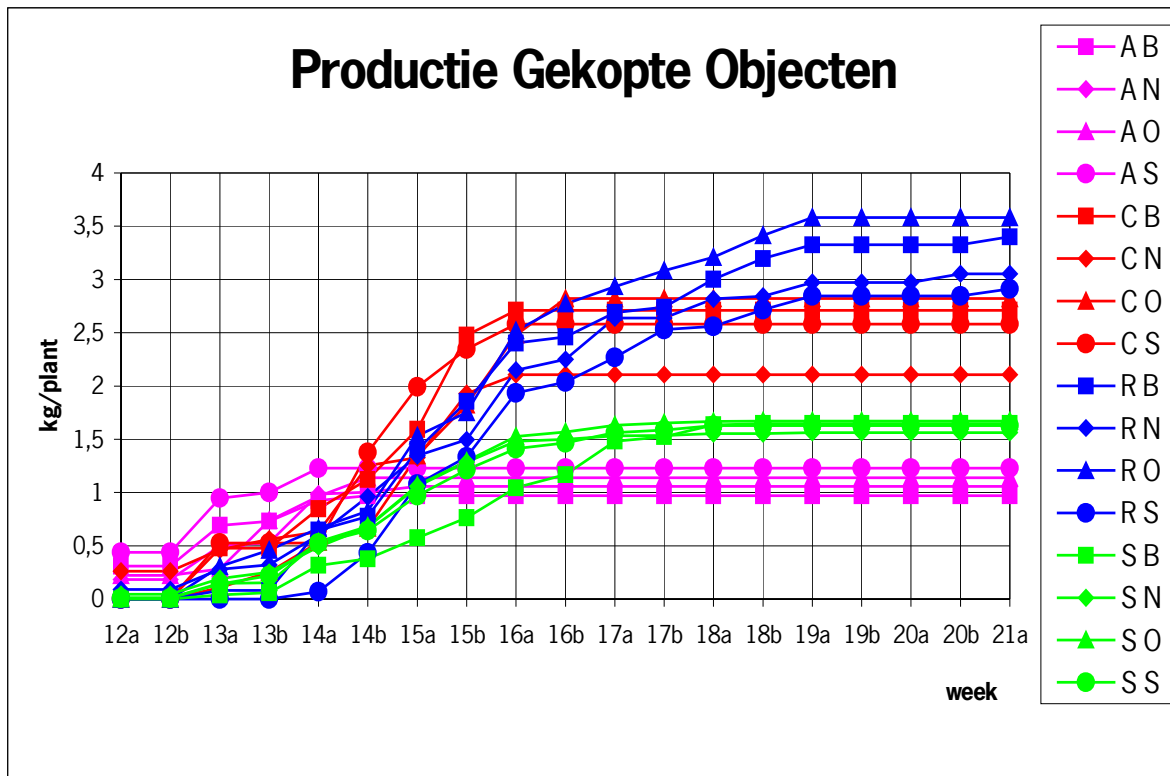
Verlengde ringtest

Bij het ras Spranco is geen of nauwelijks een effect waargenomen van PepMV op de productie (Tabel 2 en Figuur 4). Meer invloed is er bij de rassen Clotilde en Rhapsodie waarvan bij alle PepMV isolaten een lagere opbrengst wordt gevonden. Met als opvallende uitschieter het Nederlandse isolaat bij Clotilde. De opbrengst van Aranca is bij de planten met het Britse en Spaanse isolaat zelfs hoger dan aan onbehandeld.

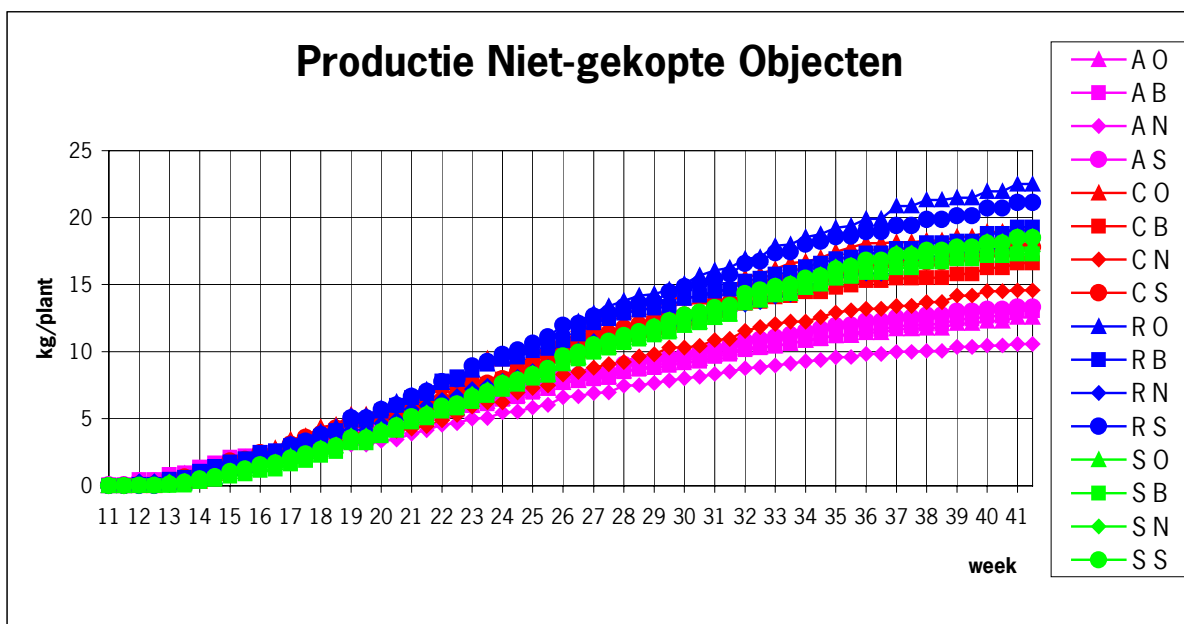
Tabel 2 Totale productie per plant (gemiddeld van 5 of 10 planten) van de rassen A, C, R en S, geïnfecteerd met Brits (B), Nederlands (N) en Spaans (S) isolaat van PepMV (O=onbehandeld).

	isolaat	O	B	N	S	gemiddeld
	ras					
productie (kg/plant)	A	12,6	13,1	10,6	13,3	12,4
	C	19,1	16,6	14,6	17,8	17,0
	R	22,5	19,3	18,3	21,1	20,3
	S	18,0	17,3	18,6	18,5	18,1
	gemiddeld	18,0	16,6	15,5	17,7	17,0

A=Aranca, C=Clotilde, R=Rhapsodie, S=Spranco



Figuur 3 Opbrengst van vier tomatenrassen (A=Aranca, S=Spranco, R=Rhapsodie, C=Clotilde) geïnfecteerd met drie PepMV isolaten (B=Brits, N= Nederlands, S=Spaans) en een gezonde controle (=C). Vruchtgewicht per plant is gedurende de totale oogsttijd twee keer per week berekend.



Figuur 4 Opbrengst van vier tomatenrassen (A=Aranca, S=Spranco, R=Rhapsodie, C=Clotilde) geïnfecteerd met drie PepMV isolaten (B=Brits, N= Nederlands, S=Spaans) en een gezonde controle (=C). Vruchtgewicht per plant is gedurende de totale oogsttijd twee keer per week berekend.

3.6 Vaatverbruining

Voornamelijk in het ras Aranca werden een aantal planten met vaatverbruining vastgesteld. Uit deze resultaten bleek dat het hierbij eerder om een raseffect ging dan om een effect van een PepMV infectie.

4 Discussie en conclusie

De gegevens opgetekend in dit verslag laten zien dat het effect van een PepMV infectie verschillend kan zijn.

Uit het onderzoek is gebleken dat de uiting van de symptomen afhangt van de virus-isolaat en de tomatencultivar. In het algemeen kan worden gezegd dat als symptomen verschijnen dat meestal na drie tot vijf weken na inoculatie was en geleidelijk aan verdwenen ze weer na verloop van tijd. De groei van de plant leek niet of nauwelijks te worden beïnvloed door een PepMV infectie.

Vaatverbruining werd in een paar planten van het ras Aranca vastgesteld. In de andere rassen werd niet of nauwelijks vaatverbruining waargenomen zodat geconcludeerd kan worden dat het hier eerder om een raseffect ging dan dat vaatverbruining werd veroorzaakt door een aantasting van PepMV.

De invloed van PepMV op de productie was verschillend, in sommige gevallen produceerden de geïnfecteerde planten meer dan de gezonde planten. Dit geeft aan dat de opbrengst het resultaat is van een combinatie van factoren. In de ringtest was het effect van PepMV op de productie bij het grovere ras Rhapsody het grootst. Opbrengstvermindering werd vastgesteld bij zowel het Nederlandse als het Spaanse isolaat. Bij de verlengde ringtest werd bij het ras Aranca alleen een productieverlies waargenomen bij het Nederlandse isolaat. De beide andere isolaten gaven een hogere opbrengst in vergelijking met gezonde planten.

De resultaten van de ringtesten zoals die zijn uitgevoerd bij de andere deelnemers van de ringtest, waarvan in dit rapport geen cijfers worden gegeven, laten op een aantal punten een duidelijke overeenkomst zien. Op de meeste locaties werden niet of nauwelijks symptomen waargenomen. Als er symptomen verschenen dan verdwenen deze na verloop van tijd weer. De plantengroei was niet direct gerelateerd aan de virusinfectie en er werden geen significante verschillen waargenomen tussen de groeicurves. Ook de datum van het bloeien werd niet beïnvloed door een PepMV infectie. Alleen in Duitsland gaven de gezonde planten een hogere opbrengst dan de geïnfecteerde planten. Dit effect was het duidelijkst bij de grofste tomaten. Op alle locatie werd een grote variatie in opbrengst waargenomen binnen iedere behandeling (tomatencultivar en verschillende isolaten) waarbij mogelijk de omstandigheden waarin de planten stonden een rol speelden. Zo stonden de gezonde planten in Duitsland koeler dan de geïnfecteerde planten, was er bij de PD in Wageningen weinig licht gedurende de start van de proef en in Spanje was weer meer licht aanwezig. Samengevat kan worden geconcludeerd dat de resultaten van de ringtest en ook de verlengde ringtest bij PPO geen echt duidelijk antwoord hebben gegeven zoals gewenst. De relatief kleine schaal van het onderzoek en het gemis van het kunnen warren van de veldjes belemmerde een eerlijke vergelijking tussen combinaties van rassen en isolaten. Door het ontbreken van herhalingen op de locaties kunnen maar beperkte conclusies worden getrokken uit de verschillen. Na een vergelijking van alle locaties kan wel worden geconcludeerd dat afhankelijk van het virus-isolaat, het tomatenras en de omstandigheden waarin de planten staan, de hoeveelheid en de kwaliteit van de vruchten kan verschillen.

5 Literatuur

Jones, R.A.C., R. Koenig & D.-E. Lesemann, 1980. Pepino mosaic virus, a new potexvirus from pepino (*Solanum muricatum*). *Annals of Applied Biology* 94: 61-68

Van der Vlugt, R.A.A., C.C.M.M. Stijger, J.Th.J. Verhoeven & D.-E. Lesemann, 2000. First report of pepino mosaic virus on tomato. *Plant Disease* 84: 103

Bijlage 1

Bijlage 1															
AFDELING 103-18															
Ned isolaat	pap.		Spaens isolaat	Brits isolaat		pap.	Onbeh.	pap.	pap.	pap.	pap.				
20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20				
19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19				
18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18				
17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17				
16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16				
15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15				
14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14				
13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13				
12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12				
11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11				
10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10				
9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9				
8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8				
7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7				
6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6				
5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5				
4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4				
3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3				
2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2				
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1			2		1		4		1		6		1		8
Aranca	Spranco	Clotilde	Aranca	Spranco	Clotilde	Aranca	Spranco	Clotilde	Aranca	Spranco	Clotilde	Aranca	Spranco	Clotilde	Rapsody

Bijlage 2

Symptoomontwikkeling van de tomatenrassen geïnoculeerd met verschillende PepMV isolaten. Datum van inoculatie was 27 december 2001. Heftigheid van de waargenomen symptomen is aangegeven met + en - en met kleurrijke.

Nederlands isolaat	Symptomen per week													
	09.01	16.01	24.01	31.01	07.02	14.02	20.02	28.02	07.03	14.03	21.03	28.03	04.04	
Cultivar	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
Aranca	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
Spranco	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
Rapsody	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	

Britse isolaat	Symptomen per week													
	09.01	16.01	24.01	31.01	07.02	14.02	20.02	28.02	07.03	14.03	21.03	28.03	04.04	
Cultivar	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
Aranca	+	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
Spranco	+	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
Rapsody	+	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	-	-	

Spaans isolaat	Symptomen per week													
	09.01	16.01	24.01	31.01	07.02	14.02	20.02	28.02	07.03	14.03	21.03	29.03	04.04	
Cultivar	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
Aranca	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
Spranco	+	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
Rapsody	+	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	-	-	

Controle	Symptoms per week													
	09.01	16.01	24.01	31.01	07.02	14.02	20.02	28.02	07.03	14.03	21.03	29.03	04.04	
Cultivar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Aranca	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Spranco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Rapsody	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

- = geen symptomen + = weinig symptomen, ++ = matige symptomen, +++ = heftige symptomen

Bijlage 3

ELISA RESULTATEN

Datum: 19-12-2001

Monsters: Tomaten rassen Aranca, Clotilde, Rapsodie en Spranco uit 103-18 projectnr 433183

Coating: 150 µl coating buffer + 1 µl/ml PepMV IgG

Conjugaat: 100 µl PBS-T + 1 µl/ml PepMV-conjugaat

Substraat: 100 µl substraat buffer + 1mg/ml p-nitrophenyl fosfaat dinatrium

Monster nr	onverdund	1 : 10	Monster nr	onverdund	1 : 10
A1	0.144	0.131	F3	0.142	0.124
A2	0.157	0.125	F4	0.131	0.120
A3	0.139	0.114	G1	0.128	0.116
A4	0.143	0.120	G2	0.140	0.116
B1	0.133	0.125	G3	-	-
B2	0.162	0.135	G4	-	-
B3	0.145	0.135	I1	-	-
B4	0.160	0.116	I2	-	-
C1	0.144	0.118	I3	-	-
C2	0.142	0.114	I4	-	-
C3	0.137	0.117	J1	-	-
C4	0.162	0.133	J2	-	-
E1	0.141	0.124	J3	-	-
E2	0.134	0.117	J4	-	-
E3	0.129	0.113	K1	-	-
E4	0.129	0.113	K2	-	-
F1	0.126	0.117	K3	-	-
F2	0.144	0.110	K4	-	-
contr pos	2.181		contr pos	+++	
contr neg	0.135		contr neg	-	

Monster nr	onverdund	1 : 10	Codering planten:
M1	-	-	A 1 = planten 1 t/m 5 van rij A
M2	-	-	A 2 = planten 6 t/m 10 van rij A
M3	-	-	A 3 = planten 11 t/m 16 van rij A
M4	-	-	A 4 = planten 16 t/m 20 van rij A
N1	-	-	R1 t/m R6 reserveplanten getoetst per 6 tot 8 planten
N2	-	-	
N3	-	-	NB De plaat met waarnemingen van G3 t/m R3 kon niet
N4	-	-	goed afgelezen worden met de reader. Alleen de
O1	-	-	positieve controle vertoonde een gele kleur.
O2	-	-	Aranca: rij A, E, I, M
O3	-	-	Clotilde: rij C 11-20, G 11-20, K 11-20, O 11-20
O4	-	-	Rapsodie: rij C 1-10, G 1-10, K 1-10, O 1-10
R1	-	-	Spranco: rij B, F, J, N
R2	-	-	Nederlands isolaat: rij A, B, C
R3	-	-	Spaans isolaat: rij E, F, G
R4	0.131	0.119	Brits isolaat: rij I, J, K
R5	0.138	0.115	Onbehandeld: rij M, N, O
R6	0.128	0.114	
contr pos	2.392		
contr neg	0.116		

ELISA RESULTATEN

Datum: 15-01-2002

Monsters: Tomaten rassen Aranca, Clotilde, Rapsodie en Spranco uit 103-18 projectnr 433183

Coating: 150 µl coating buffer + 1 µl/ml PepMV IgG

Conjugaat: 100 µl PBS-T + 1 µl/ml PepMV-conjugaat

Substraat: 100 µl substraat buffer + 1mg/ml p-nitrophenyl fosfaat dinatrium

Monster nr	onverdund	Monster nr	onverdund	Monster nr	onverdund
A 1	+++	B 1	+++	C 1	+++
A 2	+++	B 2	3.915	C 2	+++
A 3	+++	B 3	+++	C 3	+++
A 4	3.980	B 4	+++	C 4	+++
A 5	4.003	B 5	3.970	C 5	3.954
A 6	+++	B 6	+++	C 6	3.951
A 7	+++	B 7	3.979	C 7	+++
A 8	3.969	B 8	+++	C 8	+++
A 9	0.144	B 9	+++	C 9	+++
A 10	0.152	B 10	+++	C 10	+++
A 11	0.161	B 11	4.004	C 11	4.000
A 12	+++	B 12	+++	C 12	+++
A 13	+++	B 13	3.906	C 13	3.054
A 14	+++	B 14	3.996	C 14	+++
A 15	3.825	B 15	3.951	C 15	+++
A 16	+++	B 16	3.213	C 16	+++
A 17	+++	B 17	3.824	C 17	4.006
A 18	+++	B 18	2.072	C 18	2.281
A 19	+++	B 19	3.935	C 19	3.993
A 20	+++	B 20	3.980	C 20	+++
contr pos	1.992	contr pos	1.992	contr pos	2.559
contr neg	0.166	contr neg	0.143	contr neg	0.177

Monster nr	onverdund	Monster nr	onverdund
E 1	3.931	F 1	+++
E 2	3.966	F 2	3.899
E 3	+++	F 3	+++
E 4	+++	F 4	+++
E 5	3.849	F 5	3.899
E 6	3.905	F 6	3.433
E 7	+++	F 7	3.672
E 8	3.942	F 8	3.979
E 9	3.918	F 9	3.913
E 10	Dood	F 10	Dood
E 11	3.955	F 11	3.168
E 12	3.908	F 12	3.922
E 13	+++	F 13	3.931
E 14	3.998	F 14	+++
E 15	+++	F 15	+++
E 16	+++	F 16	+++
E 17	+++	F 17	3.906
E 18	3.951	F 18	3.659
E 19	3.316	F 19	3.964
E 20	3.977	F 20	3.414
contr pos	2.559	contr pos	2.559

Codering monsters:

A 1 = plant 1 van rij A

Aranca: rij A, E, I, M

Clotilde: rij C 11-20, G 11-20, K 11-20, O 11-20

Rapsodie: rij C 1-10, G 1-10, K 1-10, O 1-10

Spranco: rij B, F, J, N

Nederlands isolaat: rij A, B, C'

Spaans isolaat : rij E, F, G

Brits isolaat: rij I, J, K

Onbehandeld: rij M, N, O

contr. neg 0.185 contr. neg. 0.190

BLADZIJDE 2

ELISA RESULTATEN

Datum: 15-01-2002

Monsters: Tomaten rassen Aranca, Clotilde, Rapsodie en Spranco uit 103-18 projectnr 433183

Coating: 150 µl coating buffer + 1 µl/ml PepMV IgG

Conjugaat: 100 µl PBS-T + 1 µl/ml PepMV-conjugaat

Substraat: 100 µl substraat buffer + 1mg/ml p-nitrophenyl fosfaat dinatrium

Monster nr	onverdund	Monster nr	onverdund	Monster nr	onverdund	Monster nr	onverdund
G 1	3.891	I 1	3.967	J 1	3.859	K 1	+++
G 2	+++	I 2	+++	J 2	3.953	K 2	+++
G 3	3.313	I 3	3.846	J 3	+++	K 3	+++
G 4	+++	I 4	3.765	J 4	+++	K 4	+++
G 5	3.112	I 5	3.867	J 5	3.932	K 5	+++
G 6	+++	I 6	+++	J 6	3.933	K 6	+++
G 7	+++	I 7	3.967	J 7	+++	K 7	+++
G 8	3.045	I 8	+++	J 8	3.848	K 8	+++
G 9	3.472	I 9	3.776	J 9	3.902	K 9	+++
G 10	2.716	I 10	3.956	J 10	+++	K 10	+++
G 11	3.427	I 11	3.897	J 11	+++	K 11	+++
G 12	3.822	I 12	+++	J 12	3.772	K 12	+++
G 13	3.757	I 13	3.938	J 13	3.588	K 13	+++
G 14	+++	I 14	+++	J 14	3.845	K 14	+++
G 15	3.881	I 15	3.754	J 15	+++	K 15	+++
G 16	+++	I 16	3.813	J 16	+++	K 16	+++
G 17	3.971	I 17	+++	J 17	+++	K 17	+++
G 18	2.864	I 18	+++	J 18	3.750	K 18	+++
G 19	3.950	I 19	3.879	J 19	3.990	K 19	+++
G 20	+++	I 20	+++	J 20	3.924	K 20	+++
contr pos	1.903	contr pos	1.903	contr pos	2.559	contr pos	2.723
contr neg	0.154	contr neg	0.163	contr neg	0.177	contr neg	0.114

Codering monsters:

A 1 = plant 1 van rij A

Aranca: rij A, E, I, M

Clotilde: rij C 11-20, G 11-20, K 11-20, O 11-20

Rapsodie: rij C 1-10, G 1-10, K 1-10, O 1-10

Spranco: rij B, F, J, N

Nederlands isolaat: rij A, B, C

Spaans isolaat: rij E, F, G

Brits isolaat: rij I, J, K

Onbehandeld: rij M, N, O

