

Nieuwe virusproblematiek in *Phalaenopsis*



April 2008

E.T.M. Meekes
J.P.P. Kerkvliet
M. Polane
M. Hooftman
J. Westerhof

Inhoudsopgave

Inhoudsopgave	1
Inleiding	2
Virussen in <i>Phalaenopsis</i>	3
<i>Capsicum chlorosis virus</i>	3
<i>Cymbidium</i> -mozaïekvirus en <i>Odontoglossum</i> -kringvlekkenvirus.....	3
Tomatenbronsvlekkenvirus en <i>Impatiens</i> -vlekkenvirus.....	4
<i>Orchid fleck virus</i>	4
Komkommemozaïekvirus	4
Nieuwe virussen	4
Opzet.....	5
Resultaten	7
<i>Cymbidium</i> -mozaïekvirus en / of <i>Odontoglossum</i> -kringvlekkenvirus.....	7
Tomatenbronsvlekkenvirus en <i>Impatiens</i> -vlekkenvirus.....	10
<i>Capsicum chlorosis virus</i>	13
Elektronenmicroscopisch onderzoek.....	13
Onbekende draadvormige virussen	14
Onbekende bolvormige virussen.....	16
Monsters waarin niets is waargenomen	17
Discussie / Conclusie	18
Risico inschatting	19
Tot slot.....	20
Samenvatting.....	20
Nawoord	22
Literatuurlijst	22

Inleiding

Phalaenopsis is potplant nummer één en de vraag is dusdanig groot dat er veel materiaal vanuit andere delen van de wereld wordt geïmporteerd. Dit materiaal wordt soms verder vermeerderd of is rechtstreeks voor de Nederlandse telers bestemd.

In vegetatief vermeerderde gewassen zoals orchideeën spelen virussen een belangrijke rol. Naast de bekende orchideeënvirussen als *Odontoglossum*-kringvlekkenvirus (ORSV) en *Cymbidium*-mozaïekvirus (CymMV), waarvoor goede toetsen beschikbaar zijn, komen er in *Phalaenopsis* ook andere virussen voor. Sinds enige jaren worden in *Phalaenopsis* regelmatig virussymptomen waargenomen die niet toe te schrijven zijn aan ORSV en CymMV. Symptomen ontstaan vaak tijdens de koeling die nodig is voor bloeinductie. Er ontstaan dan gelige kringvlekken op het blad, waardoor planten onverkoopbaar worden of als tweede soort verkocht moeten worden.

De symptomen staan in de praktijk bekend onder de naam "Taiwan"-virus. Vanuit Taiwan is gemeld dat er een nieuw virus in *Phalaenopsis* is aangetroffen, namelijk het *Capsicum chlorosis* virus (CaCV). Dit virus behoort tot de tospovirussen, waartoe ook tomatenbronsvlekkenvirus (TSWV) en *Impatiens*-vlekkenvirus (INSV) behoren. Echter, CaCV is tot nu toe alleen gerapporteerd vanuit Azië. Zoals de naam doet vermoeden is het virus voor het eerst gerapporteerd vanuit paprika.

De grote vraag is óf dit virus de veroorzaker is van de symptomen die worden waargenomen en zo ja, in hoeveel gevallen dit virus daadwerkelijk een rol speelt.

Er zijn hierbij een aantal zaken van belang:

- Er is meer kennis nodig over dit virus
- Een duidelijker beeld krijgen van de symptomen die zich voordoen: er zijn meerdere symptomen die tot nu toe allen onder "Taiwan"-virus worden geschaard, het is de vraag of dit juist is.
- Bestaande toetsmethoden naast elkaar zetten om zo snel mogelijk een toetsmethode voor dit virus op de rails te krijgen. Deze methode moet geschikt zijn voor grootschalige toetsingen.

Bovenstaande punten zijn binnen dit project "Nieuwe virusproblematiek in *Phalaenopsis*" opgepakt.

Virussen in *Phalaenopsis*

Capsicum chlorosis virus

Sinds enige jaren worden in zuidoost Azië chlorotische kringvlekken met centrale necrose in *Phalaenopsis* waargenomen. Al eind jaren '90 waren er aanwijzingen dat het om een *Tospovirus* zou gaan; tospovirussen zijn een groep virussen die door trips kunnen worden overgebracht.

De afgelopen jaren zijn Taiwanese onderzoekers erin geslaagd het virus uit *Phalaenopsis* te isoleren en er vervolgens gezonde planten mee te infecteren. Er ontstonden dezelfde soort symptomen waardoor bewezen is dat dit virus de veroorzaker was van de symptomen (postulaten van Koch). Het ging hier inderdaad om een *Tospovirus* en wel om *Capsicum chlorosis virus* (1).

Capsicum chlorosis virus (CaCV) is in 1999 voor het eerst gevonden is in Australië in paprika, zoals de naam ook aangeeft, en in tomaat, maar is waarschijnlijk al vanaf 1992 in Australië aanwezig (2). Sindsdien is het virus ook gevonden in China, Taiwan en Thailand; naast paprika en tomaat kan het virus ook pinda (*Arachis hypogaea*), *Gloxinia*, *Hoya* soorten, *Phalaenopsis* en *Zantedeschia* infecteren (1, 2, 3, 4). Het isolaat dat in *Phalaenopsis* gevonden is wordt aangeduid met CaCV-Ph. Het gaat hier echter wel om hetzelfde virus.

CaCV wordt overgebracht door trips, maar omdat het om een relatief nieuw virus gaat zijn er nog veel details onbekend. Uit Thais onderzoek is gebleken dat CaCV door *Oriental tomato thrips* (*Ceratothripoides claratrix*) kan worden overgebracht van tomaat naar tomaat (5). Australische experimenten hebben aangetoond dat *Thrips palmi* en *Frankliniella schulzei* (katoenknoppentrips) ook in staat waren CaCV over te brengen, maar Californische trips niet (2). Echter in Taiwan was *Thrips palmi* niet in staat om CaCV over te brengen (1).

Gezien het hier om een relatief nieuw virus gaat zal de komende jaren meer informatie over dit virus beschikbaar komen.

Voor het onderzoek is het belangrijk om niet alleen te focussen op CaCV, want naast CaCV, CymMV en ORSV zijn er ook andere virussen in *Phalaenopsis* dan wel andere orchideeën beschreven.

***Cymbidium*-mozaïekvirus en *Odontoglossum*-kringvlekkenvirus**

Cymbidium-mozaïekvirus (CymMV) en *Odontoglossum*-kringvlekken virus (ORSV) zijn de belangrijkste virussen in orchideeën, omdat ze erg makkelijk met geïnfecteerd sap overbracht kunnen worden, de zogenaamde mechanische transmissie (zie ook 6). De virussen zijn erg stabiel en komen in hoge concentratie in de plant voor. De virussen komen wereldwijd voor en een zeer brede reeks

orchideeëngeslachten is vatbaar voor deze virussen. De symptomen die deze virussen in *Phalaenopsis* kunnen veroorzaken zijn zeer divers: van geen symptomen tot kringvlekken en bladnecrose.

Tomatenbronsvlekkenvirus en *Impatiens*-vlekkenvirus

Andere virussen die in *Phalaenopsis* zijn waargenomen zijn tomatenbronsvlekkenvirus (TSWV) en *Impatiens*-vlekkenvirus (INSV), beide tospovirussen en dus verwant aan CaCV. INSV en TSWV worden voornamelijk overgebracht door Californische trips (vector). Beide virussen en hun vector komen in Nederland voor. Deze virussen kunnen in *Phalaenopsis* kringvlekken veroorzaken. In *Phalaenopsis* blijft het virus, zover bekend, beperkt tot de kringvlek rond de plek waar trips gevoed heeft. In de rest van de plant is het virus niet te vinden. INSV kan in andere orchideeën zoals *Cambria*-achtigen en *Epidendrum* naast necrotische vlekken op het blad ook tot insterving van de stengels leiden. De virussen blijven dan vaak niet beperkt tot de plek waar de infectie plaatsvond.

Orchid fleck virus

Orchid fleck virus (OFV) is een virus dat met name in Japan en Australië in *Cymbidium* voorkomt. Het virus wordt door mijten, o.a. *Brevipalpus californicus*, overgebracht (7). Het wordt zelden in andere orchideeëngeslachten gevonden, hoewel het in Duitsland begin jaren '70 verschillende keren in *Phalaenopsis* is gedetecteerd. De symptomen die toen zijn waargenomen werden omschreven als talrijke chlorotische vlekken die rond de middennerf tot grotere vlekken konden samenvloeien. In eerste instantie waren de vlekken chlorotisch, later werden het ingezonken, necrotische vlekken, variëren van enkele millimeters tot enkele centimeters (8, 9).

Komkommermozaïekvirus

Komkommermozaïekvirus (CMV) is een virus met een erg brede waardplantreeks: het kan meer dan 1200 verschillende gewassen uit 100 verschillende families infecteren (10). Hoewel CMV in Azië wordt beschreven in *Phalaenopsis*, is er in Europa geen melding van dit virus in *Phalaenopsis*. Het virus kan onregelmatige necrotische vlekken/vlekjes in *Phalaenopsis* veroorzaken. Het virus kan door een groot aantal verschillende soorten bladluis worden overgebracht, maar ook mechanisch met behulp van geïnfecteerd plantensap.

Nieuwe virussen

Naast bovenstaande virussen is er zeer recent een nieuw virus in *Phalaenopsis* beschreven dat voorlopig *Phalaenopsis chlorotic spot virus* (PhCSV) genoemd wordt. Dit virus behoort tot de groep *Potyvirus* (11, 12), een draadvormig virus. Veel virussen in deze groep worden overgedragen door

bladluis. Of dat voor dit virus ook opgaat is onbekend, bladluizen vormen namelijk geen plaag in *Phalaenopsis*. Het virus veroorzaakt chlorotische vlekken, vandaar de naam. In Taiwan werd in een voorlopige studie in 10% van planten met symptomen PhCSV gedetecteerd.

Daarnaast is er vanuit Taiwan melding gemaakt van anjervlekkenvirus in *Phalaenopsis*. Dit virus behoort tot de groep *Carmovirus*, een bolvormig virus. Het is onduidelijk of deze melding een artefact is of dat dit virus regelmatig voorkomt. Deze melding kwam te laat om dit virus mee te nemen in het onderzoek.

Opzet

Binnen het project zijn ruim 200 *Phalaenopsis* monsters onderzocht op de aanwezigheid van een virus. Hierbij kon een monster bestaan uit een blad, maar ook uit een aantal planten van eenzelfde herkomst/partij. Daarnaast zijn ook monsters van andere orchideeëngeslachten onderzocht op virus; deze monsters vertoonden ook kringvormige vlekken.

De herkomst van het onderzochte materiaal is zeer verschillend: een gedeelte van het materiaal dat onderzocht is, was al langere tijd in Nederland/Europa, de rest kwam uit partijen uit Azië. Voor een aantal monsters is de achtergrond onbekend.

De monsters zijn onderzocht op de standaard virussen om uit te sluiten of het hier om een bekend virus gaat. Als de bekende virussen aanwezig zijn kunnen deze ook of mede verantwoordelijk zijn voor de symptomen.

De monsters zijn met behulp van ELISA (serologische toets) onderzocht op:

- CymMV
- ORSV
- CMV (2 serotypen)
- INSV
- TSWV
- Potyvirus

Daarnaast zijn de monsters onderzocht met behulp van ELISA op CaCV en mocht deze toets niets aantonen en de symptomen toch duidelijk aanwijzing geven dat er meer aan de hand is (kringvlekken), zijn de monsters onderzocht m.b.v. PCR (moleculaire toets) op *Tospovirus* en CaCV.

Ook zijn veel monsters waarbij de standaard virussen niet werden aangetoond doorgestuurd naar Plant Research International (PRI). De monsters zijn door PRI bekeken met behulp van de elektronenmicroscop.

Verder zijn een aantal monsters geïnoculeerd op de toetsplanten *Nicotiana occidentalis* 37B en *Chenopodium quinoa*.

Monsters waarbij getwijfeld werd of de symptomen door CymMV of ORSV werden veroorzaakt, zijn niet verder onderzocht m.b.v. de elektronenmicroscop. Dit omdat CymMV en ORSV in dusdanige hoge concentraties in de plant voorkomen dat het bijna onmogelijk is om buiten de CymMV en ORSV virusdeeltjes, andere virusdeeltjes waar te nemen. Ook toetsplantenonderzoek is met deze monsters niet uitgevoerd, omdat CymMV en ORSV ook symptomen kunnen veroorzaken op toetsplanten.

Planten met virusbeelden waarin in eerste instantie geen virus kon worden aangetoond zijn aangehouden. Voor monsters bestaande uit bladeren was dit helaas niet mogelijk.

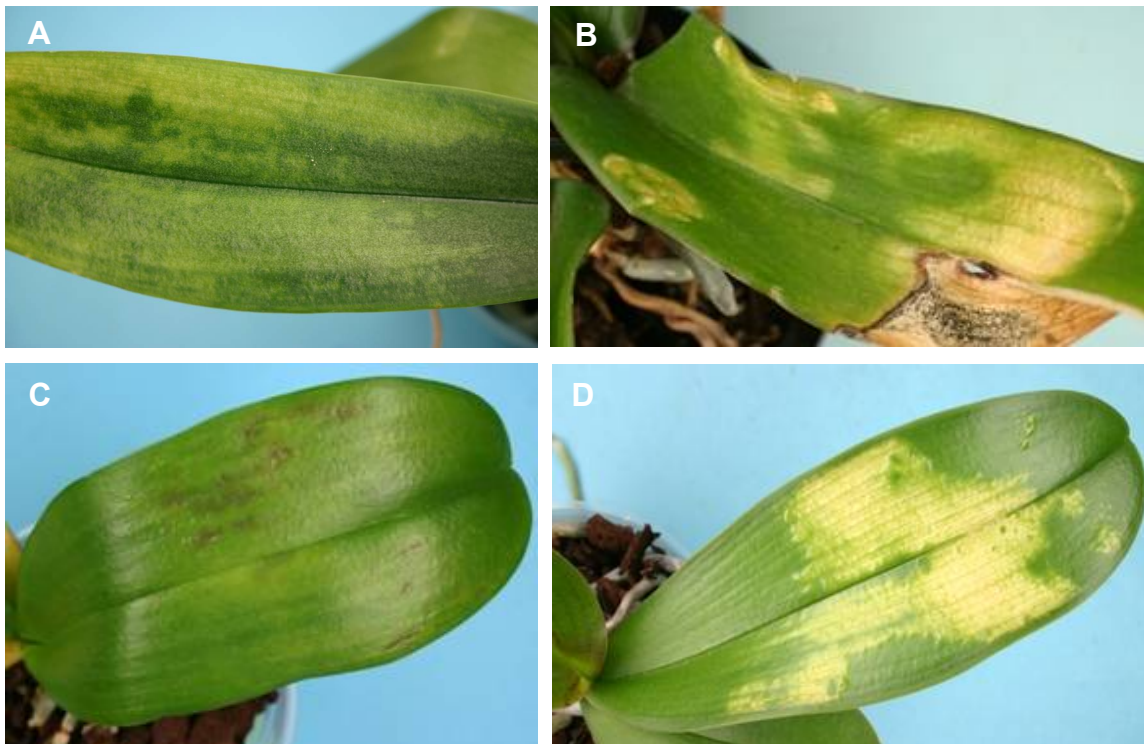
Resultaten

Materiaal dat werd ingestuurd/verzameld bevatte zeer veel verschillende symptomen, variërend van chlorotische vlekken, kringvormige vlekken, vlekken die necrotisch werden, maar ook bladeren die streperige symptomen vertoonden.

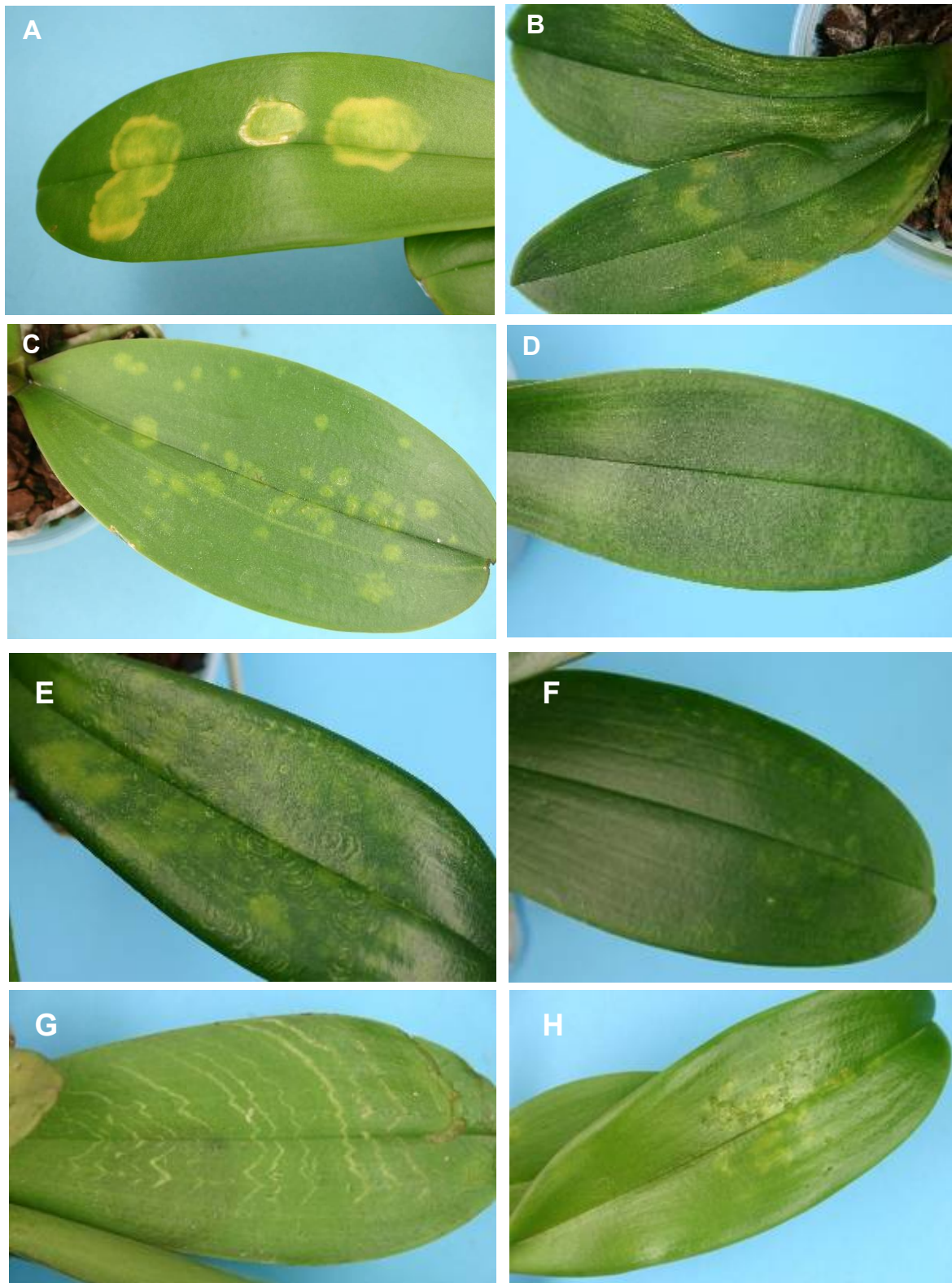
Hieronder zijn de symptomen naar virus dan wel soort symptoom bij elkaar gezet, te beginnen bij symptomen van virussen die veel voorkomen,

***Cymbidium*-mozaïekvirus en / of *Odontoglossum*-kringvlekkenvirus**

Van de monsters waarin virus is aangetoond kwam veelal *Cymbidium*-mozaïekvirus (CymMV) en/of *Odontoglossum*-kringvlekkenvirus (ORSV) voor. In 20% van het totaal aantal *Phalaenopsis* monsters zijn CymMV én ORSV aangetoond, in 9% alleen ORSV en in 4% van het totaal aantal monsters is alleen CymMV aangetoond. Symptomen van CymMV, ORSV en beide virussen gezamenlijk zijn respectievelijk weergegeven in figuur 1, 2 en 3.



Figuur 1. Foto's van *Phalaenopsis* waarin alleen *Cymbidium*-mozaïekvirus is aangetoond, foto D is mogelijk een combinatie van hoge instraling en aanwezigheid van CymMV.



Figuur 2 Foto's van *Phalaenopsis* waarin alleen *Odontoglossum-kringvlekkenvirus* is aangetoond.



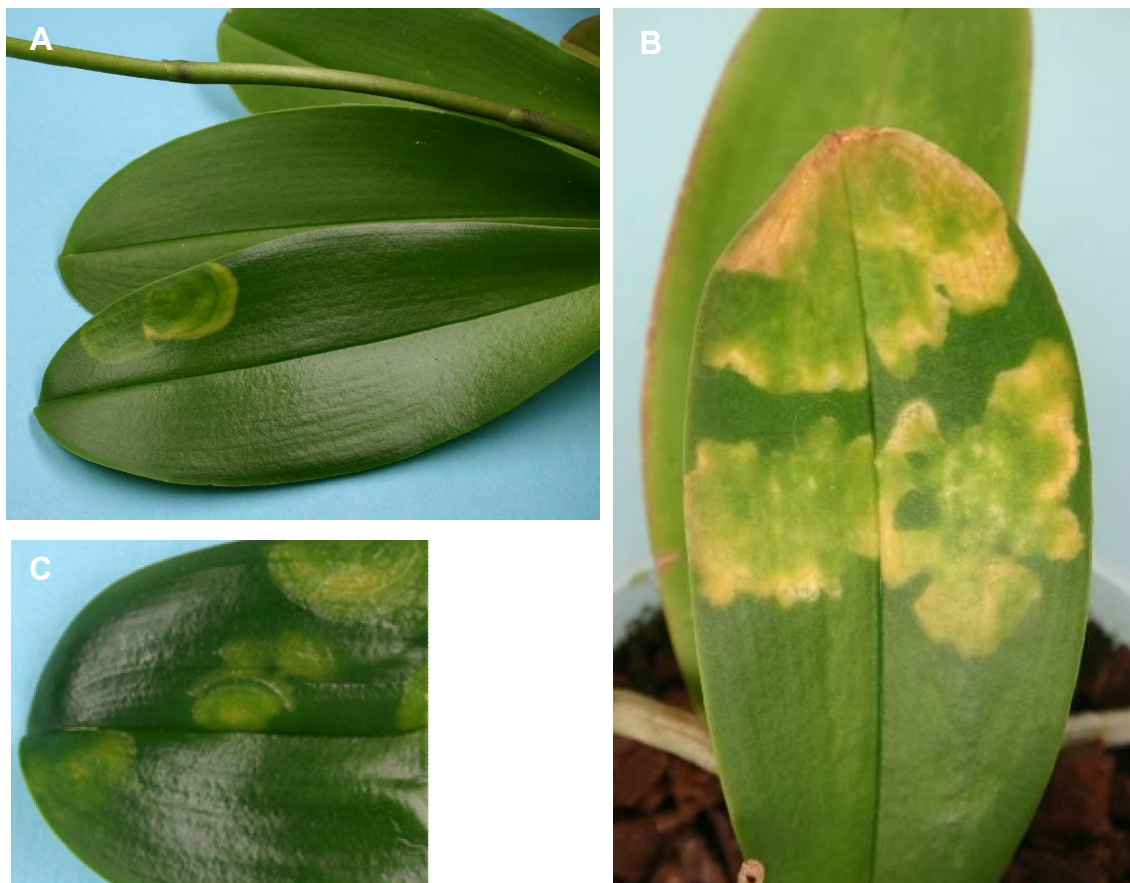
Figuur 3 Foto's van *Phalaenopsis* waarin *Cymbidium-mozaïekvirus* en *Odontoglossum-kringvlekkenvirus* is aangetoond.

Tomatenbronsvlekkenvirus en *Impatiens*-vlekkenvirus

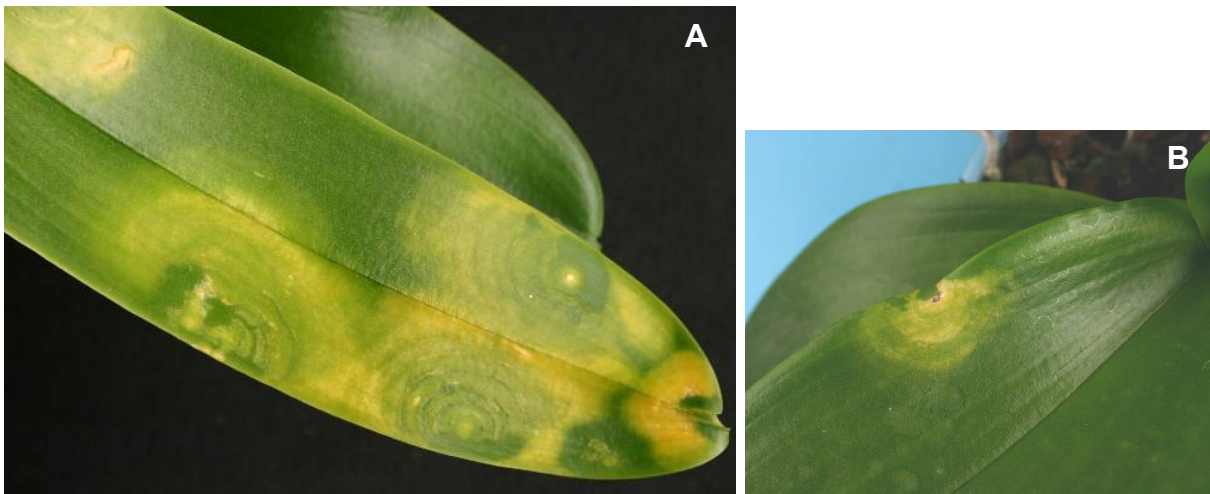
Hoewel Californische trips in *Phalaenopsis* niet als een probleem wordt ervaren, kan deze trips wel schade veroorzaken doormiddel van virusoverdracht. Het aantal gevallen van tomatenbronsvlekkenvirus (TSWV, fig. 4) en *Impatiens*-vlekkenvirus (INSV, fig. 5) in *Phalaenopsis* is beperkt: gezamenlijk 3-4% van het totaal aantal *Phalaenopsis* monsters. Bij *Phalaenopsis* kan het een maand of langer duren voordat symptomen van bijv. TSWV zichtbaar worden.

In andere orchideeëngeslachten is regelmatig INSV aangetoond en veroorzaakt INSV ook andere symptomen (fig. 6, 7 en 8).

Infecties met TSWV en INSV zijn waarschijnlijk ter plekke ontstaan, gezien in Nederland zowel Californische trips als TSWV en INSV voorkomen. Besmet onkruid in de kas of trips die van elders de kas binnenkomt vormen een belangrijke infectiebron.



Figuur 4 Foto's van *Phalaenopsis* waarin tomatenbronsvlekkenvirus (TSWV) is aangetoond.



Figuur 5. Foto's van *Phalaenopsis* waarin Impatiens-vlekkenvirus (INSV) is aangetoond; plant A en B komen uit verschillende partijen.



Figuur 6 Foto's van *Cambria*-achtigen waarin INSV is aangetoond; getoonde planten komen uit dezelfde partij.



Figuur 7 Foto's van *Oncidium* waarin INSV is aangetoond



Figuur 8 Foto's van *Epidendrum* waarin van *INSV* is aangetoond.

Capsicum chlorosis virus

Zoals in de inleiding is aangegeven, zijn monsters met kringvormige symptomen ook op *Capsicum chlorosis virus* (CaCV) en *Tospovirus* getoetst. In een enkel geval is hierin CaCV aangetoond (zie fig. 9). Dit monster kwam rechtstreeks vanuit het buitenland en slechts 1 blad van de plant vertoonde symptomen.

De ELISA-toets reageerde zowel met controles van CaCV in *Phalaenopsis* en CaCV in tomaat. In dit specifieke geval reageerde de ELISA niet. Als plantweefsel echter snel afsterft wordt het lastig om het virus aan te tonen. Is het virus daarnaast in lage concentraties aanwezig dan wordt het aantonen van virus extra moeilijk. Een goede monsternamen is dan essentieel. De algemene Tospo-PCR en de specifieke CaCV-PCR reageerden wel. Ook met elektronenmicroscopisch onderzoek is een *Tospovirus* waargenomen.



Figuur 9 Foto van *Phalaenopsis* waarin CaCV is aangetoond.

Elektronenmicroscopisch onderzoek

Omdat bij een aantal monsters duidelijk kringvlekken aanwezig waren, maar bovengenoemde toetsingen niet reageerden, is plantmateriaal bij Plant Research International m.b.v. de elektronenmicroscop (EM) onderzocht. Door middel van EM onderzoek kunnen virusdeeltjes zichtbaar gemaakt worden. Ook deze methode zal niet altijd virus aantonen; draadvormige virussen zijn in het algemeen goed te herkennen, maar bolvormige virussen zijn soms moeilijk te onderscheiden van plantonderdelen, zeker als de virusdeeltjes in lage concentraties aanwezig zijn. Weer andere virussen zijn niet stabiel en vallen makkelijk uit elkaar, waardoor deze moeilijker waar te nemen zijn.

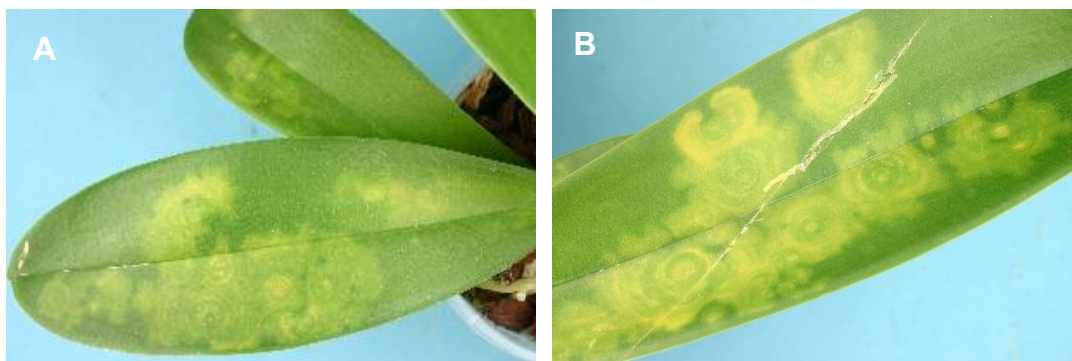
Het zien van een virus m.b.v. EM betekent nog niet dat dat virus ook verantwoordelijk is voor de symptomen. Het is wel een goed uitgangspunt om verder te zoeken naar bepaalde virusgroepen. De resultaten van het EM onderzoek worden hieronder in twee paragrafen behandeld: de draadvormige virussen en de bolvormige virussen.

Onbekende draadvormige virussen

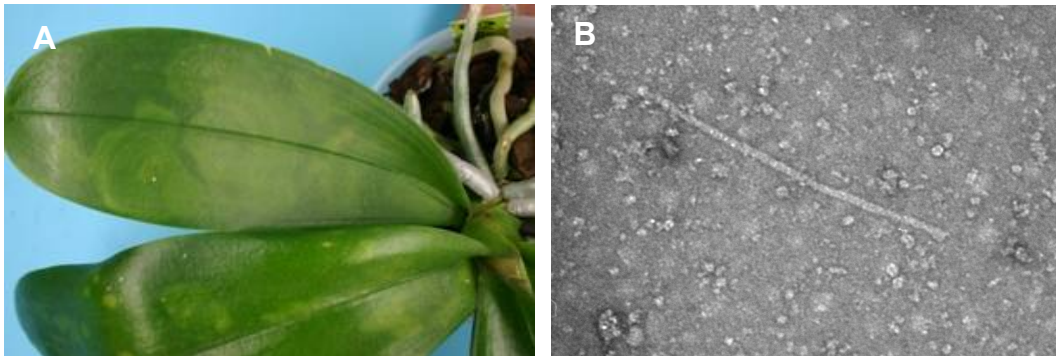
In relatief veel monsters (.7% van het totaal aantal monsters) zijn draadvormige virussen gezien. In figuur 10 worden planten plant getoond die al lang in de collectie van Naktuinbouw aanwezig zijn. De symptomen komen en gaan, afhankelijk van de ouderdom van het blad en klimaatsomstandigheden. In figuur 11 - 13 worden planten getoond waarin ook draadvormige virussen zijn waargenomen en waarbij de symptomen doen denken aan de symptomen in figuur 10.



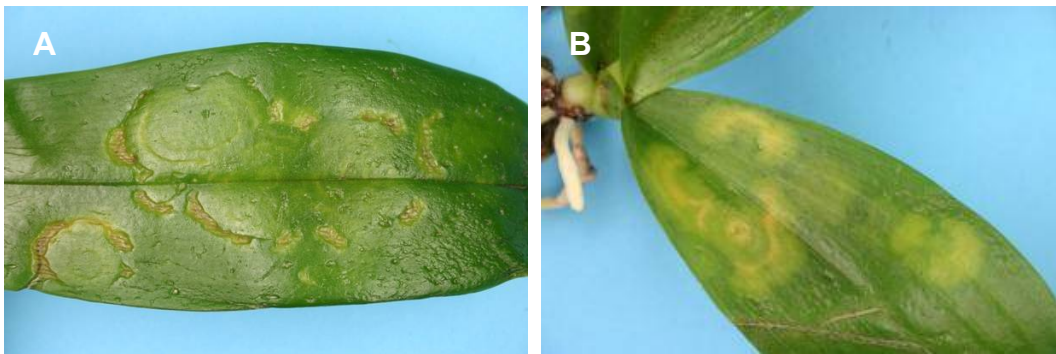
Figuur 10 Kringvormige symptomen in *Phalaenopsis* (A) waarbij draadvormige virusdeeltjes zijn waargenomen in het plantmateriaal m.b.v. EM (B) (foto: Plant Research International)



Figuur 11 Kringvormige symptomen in *Phalaenopsis* waarbij draadvormige virusdeeltjes zijn waargenomen in het plantmateriaal m.b.v. EM; planten (A) en (B) hebben zelfde herkomst.



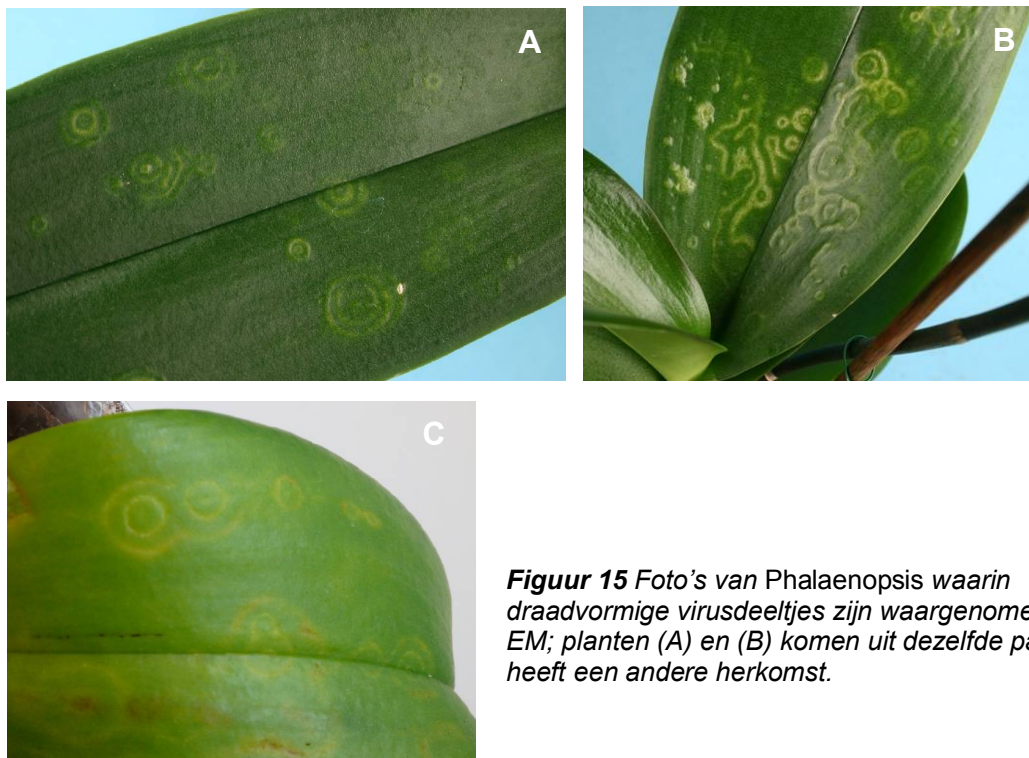
Figuur 12 Kringvormige symptomen in *Phalaenopsis* (A) waarbij draadvormige virusdeeltjes zijn waargenomen in het plantmateriaal m.b.v. EM (B) (foto: Plant Research International). Plant heeft andere herkomst dan figuur 10.



Figuur 13 Kringvormige symptomen in *Phalaenopsis* (A) waarin een draadvormige virusdeeltjes zijn waargenomen m.b.v. EM. Plant A en B komen uit dezelfde partij, maar hebben een andere herkomst dan figuur planten in figuur 11 en 12.



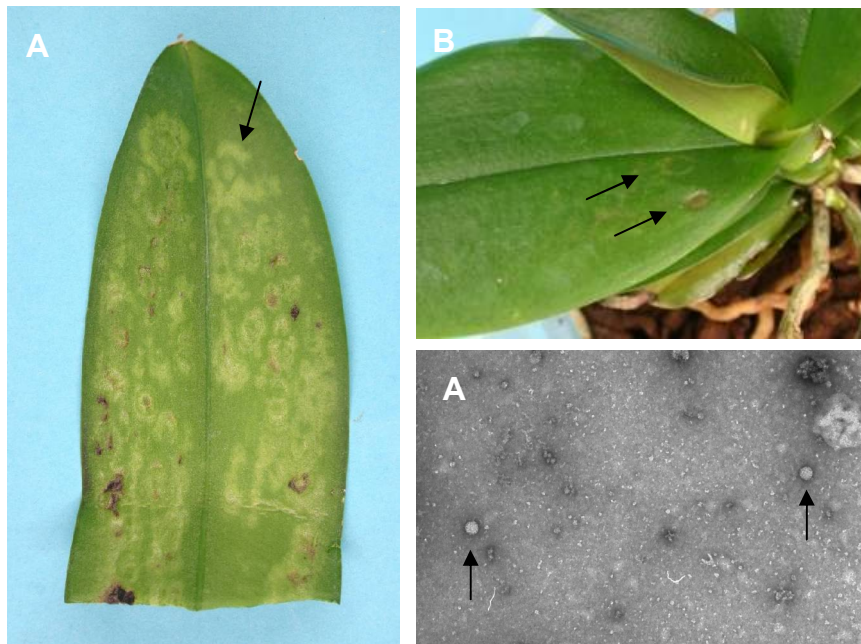
Figuur 14 Kringvormige symptomen in *Phalaenopsis* waarin een draadvormig virus is waargenomen m.b.v. EM. Bij de eerste monsternamen zijn echter géén virusdeeltjes waargenomen.



Figuur 15 Foto's van *Phalaenopsis* waarin draadvormige virusdeeltjes zijn waargenomen m.b.v. EM; planten (A) en (B) komen uit dezelfde partij, (C) heeft een andere herkomst.

Onbekende bolvormige virussen

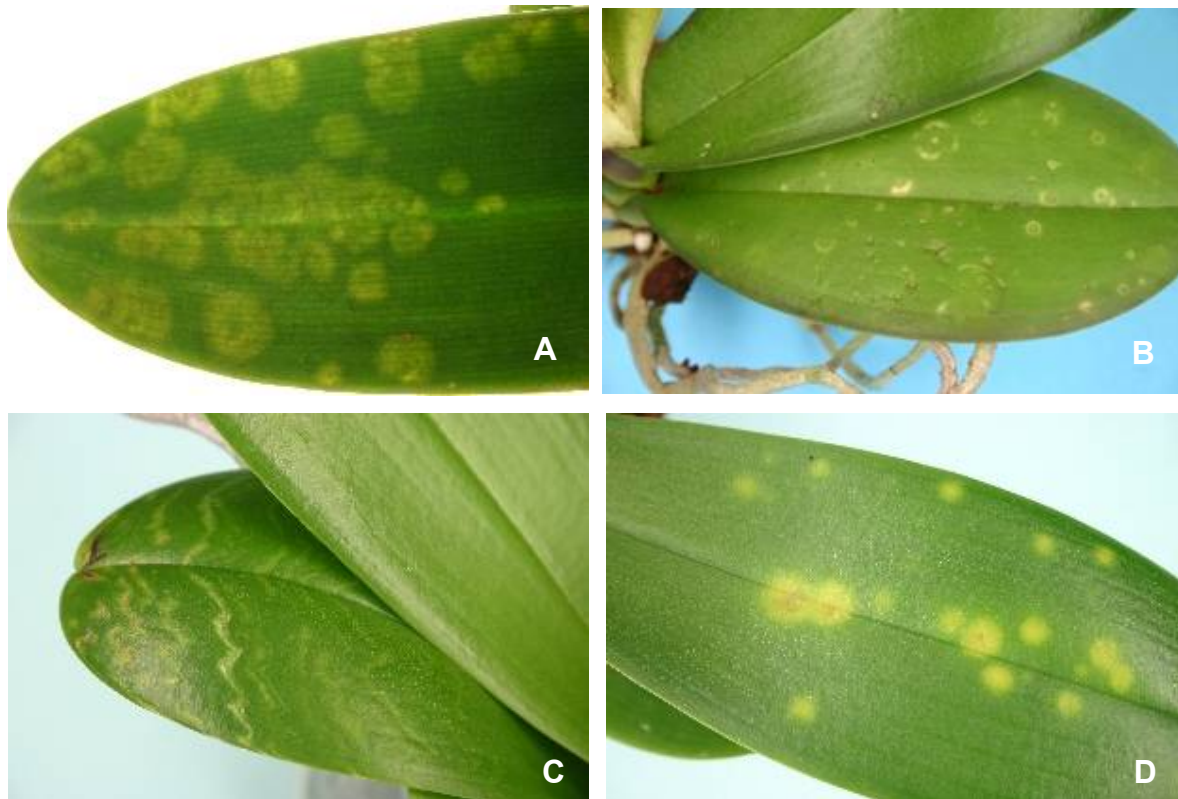
In één partij kwamen duidelijk bolvormige virussen voor. Hoewel Tospovirussen ook bolvormig zijn, deden deze virusdeeltjes daar niet aan denken. Ook met de Topso-PCR is geen *Tospovirus* aangetoond.



Figuur 16 Kringvormige symptomen in *Phalaenopsis* planten waarin een onbekend bolvormig virus is waargenomen; (A) onderkant blad, (B) bovenkant blad, (C) EM foto van virusdeeltjes (foto: Plant Research International).

Monsters waarin niets is waargenomen

Er blijft een vrij grote categorie monsters over waarin op geen enkele manier virus kon worden aangetoond. Dit terwijl de symptomen wel aan virus doen denken en lijken op symptomen getoond in voorgaande figuren. Een aantal van deze monsters vertonen vage vlekken. Dergelijk soort symptomen kunnen een fysiologische oorzaak hebben. Chlorose en necrose in het hart van de plant wijst bijvoorbeeld meer op koude schade dan op een virus.



Figuur 17 Foto's van *Phalaenopsis* waarin niets is waargenomen, plant A en plant B hebben een verschillende herkomst, plant B is afkomstig uit dezelfde partij als planten uit figuur 13.

Discussie / Conclusie

Dit project is opgestart vanwege de bezorgdheid in het bedrijfsleven over een nieuw virus in *Phalaenopsis*, gemeld vanuit Taiwan, te weten *Capsicum chlorosis virus* (CaCV) dat in *Phalaenopsis* kringvlekken kan veroorzaken. In de monsters die onderzocht zijn in het kader van dit project is slechts éénmaal CaCV aangetoond. Dit wijst er op dat CaCV op dit moment kennelijk geen groot probleem is in Nederland.

CaCV is in *Phalaenopsis* maar ook in tomaat/paprika aangetoond. Dit betekent dat er een toets beschikbaar is waarmee het virus kan worden aangetoond in planten die symptomen vertonen. Onduidelijk is of er verschillende stammen van het virus bestaan en in welke mate deze aangetoond kunnen worden, bijvoorbeeld waarom in Australië overdracht m.b.v. *Thrips palmi* wel gelukt is en in Taiwan niet. Dit kan aan het virus liggen, maar ook aan de tripspopulatie of aan het gewas. Om aan te tonen dat de gebruikte toetsen ook op grote schaal toegepast kunnen worden (valideren) zijn veel meer monsters met CaCV nodig.

Dat er naast CaCV andere virussen in *Phalaenopsis* voorkomen is duidelijk naar voren gekomen uit het elektronenmicroscopisch onderzoek. Het zien van virusdeeltjes betekent niet dat het virus ook verantwoordelijk is voor de symptomen. Om dit aan te tonen moeten de "Postulaten van Koch" uitgevoerd worden. Daarvoor moet het virus gezuiverd worden en met het gezuiverde virus moeten gezonde *Phalaenopsis* planten geïnfecteerd worden. Wanneer de planten dezelfde symptomen beginnen te vertonen en men ook datzelfde virus weer kan aantonen in de kunstmatig geïnfecteerde planten dan is definitief bewezen dat het virus de symptomen veroorzaakt. Dergelijk soort onderzoek gaat te ver voor dit project. Het waarnemen van virusdeeltjes en de vorm van het virusdeeltje geeft een aanwijzing in welke virusgroep men zou moeten zoeken. Op dit moment is het onbekend of de virusdeeltjes verantwoordelijk zijn voor de symptomen en hoe besmettelijk de gevonden virussen zijn.

Vanuit Taiwan is *Phalaenopsis chlorotic spot virus* gemeld. Dit virus behoort tot de *Potyvirus*-groep en de verwachting is dat dit virus door de breedwerkende Poty-ELISA's zou moeten worden gedetecteerd. In dit onderzoek is met behulp van ELISA geen *Potyvirus* aangetoond. Of de breedwerkende ELISA ook inderdaad *Phalaenopsis chlorotic spot virus* kan detecteren kon niet worden nagegaan omdat referentiemateriaal ontbrak. Andere onderzoeksgroepen hebben dit virus (nog) niet gevonden.

Verder is zeer recent ook anjevlekkenvirus (CarMV) in *Phalaenopsis* beschreven. Dit virus behoort tot de groep van *Carmovirussen* en is bolvormig. Het bolvormige virus in figuur 16 is echter te groot

om een *Carmovirus* te zijn. Daarnaast komt een groot deel van de *Carmovirussen* in hoge concentratie in plantensap voor, een dergelijk virus zou te detecteren moeten zijn m.b.v. elektronenmicroscopisch onderzoek. Helaas kwam deze melding te laat om dit serologisch (m.b.v. ELISA) na te gaan.

Het zien van zeer veel verschillende symptomen in *Phalaenopsis* heeft ons wel voorzichtig gemaakt om aan de hand van symptomen een uitspraak te doen over welk virus in de plant aanwezig is. Zo blijkt dat veel virussen kringvlekken kunnen veroorzaken (zie fig. 2A, 5, 6, 9 t/m 17) en de zig zag patronen (zie fig. 2G en 17C). Wanneer de foto's uit dit project vergeleken worden met foto's in andere publicaties worden er soms verschillende conclusies getrokken. Dit heeft verschillende oorzaken:

- CymMV en/of ORSV kunnen totaal verschillende symptomen veroorzaken, maar kunnen ook symptomeloos in een plant voorkomen.
- Er kunnen meerdere virussen tegelijkertijd in een plant aanwezig zijn. Wordt CymMV en/of ORSV aangetoond dan wordt vaak automatisch aangenomen dat deze virussen verantwoordelijk zijn voor de symptomen. Aanwezigheid van een onbekend virus dat specifieke symptomen veroorzaakt wordt dan over het hoofd gezien.
- Teeltomstandigheden verschillen tijdens het koelen sterk van de omstandigheden daarvoor en daarna. Hierdoor kan hetzelfde virus (tijdelijk) verschillende symptomen veroorzaken. Daarnaast verschillen teeltomstandigheden in Azië sterk van de teeltomstandigheden in Nederland. Klimaatfactoren kunnen symptoomontwikkeling beïnvloeden.

Risico inschatting

De tospovirussen die zijn gevonden, te weten TSWV en INSV, kwamen lokaal in *Phalaenopsis* planten voor. Dit betekent dat het virus aanwezig was rond de plek waar trips de plant had aangeprikt, maar dat het virus zich niet verder in de plant had verspreid. Dit gold ook voor het ene monster waarin CaCV is aangetoond. Mocht dat voor meer CaCV geïnfecteerde *Phalaenopsis* planten opgaan dan is het risico van besmetting niet erg groot, mits de tripsen, die het virus kunnen overbrengen, (elders) afdoende worden betreden. In Nederland vormt trips in *Phalaenopsis* geen probleem. In die gevallen waarbij TSWV en INSV werden aangetroffen was er doorgaans sprake van een sterke onkruidbezetting in de kas. Van daaruit vond dan de besmetting plaats.

De tripsen die in het buitenland CaCV overbrengen ontbreken in Nederland. Hierdoor is de kans dat een CaCV besmetting verder uitbreidt dan de (import) partij waarin het is aangetroffen klein. Dat

CaCV waarschijnlijk lokaal in de plant voorkomt is ook van belang: de trips moet zich voeden op de geïnfecteerde plek op de plant om het virus op te nemen en verder te kunnen verspreiden.

Om een volledige risico-inschatting te kunnen maken is het van belang om te weten of het isolaat van CaCV dat in *Phalaenopsis* voorkomt een bredere waardplantreeks heeft en of dit virus kan worden overgebracht door in Nederland voorkomende tripsen, met name Californische trips en in mindere mate *Trips tabaci* (tabakstrips).

Tot slot

Als het bij de monsters waarin virusdeeltjes zijn gevonden deze virussen werkelijk de veroorzaker zijn van de symptomen en de bestaande toetsmethoden werken niet of onvoldoende dan wordt het van belang om een toetsmethode te ontwikkelen. De ernst van de symptomen was dusdanig dat deze virussen voor aanzienlijke schade kunnen zorgen. Geen toetsmethode betekent geen mogelijkheid om het virus voor het begin van de *in vitro* vermeerdering te detecteren en zo grotere problemen te voorkomen. Ook kunnen partijen die worden aangekocht niet worden gescreend.

Verder is het van belang om na te gaan welk virus verantwoordelijk is voor de symptomen, visuele beoordeling alleen is hiervoor onvoldoende. Worden de symptomen veroorzaakt door CymMV of ORSV dan is het van belang om te voorkomen dat het virus niet met het sap van een besmette plant overgebracht kan worden naar gezonde planten. Worden de symptomen veroorzaakt door INSV of TSWV dan is het van belang om bijvoorbeeld trips goed te bestrijden. Wanneer men weet welk virus de veroorzaker is van de symptomen dan kan men de juiste maatregelen nemen.

Samenvatting

Phalaenopsis is potplant nummer één en de vraag is dusdanig groot dat er veel materiaal vanuit andere delen van de wereld wordt geïmporteerd. Dit materiaal wordt soms verder vermeerderd of is rechtstreeks voor de Nederlandse telers bestemd.

In vegetatief vermeerderde gewassen zoals orchideeën spelen virussen een belangrijke rol. Naast de bekende orchideeënvirussen als *Odontoglossum*-kringvlekkenvirus (ORSV) en *Cymbidium*-mozaïekvirus (CymMV), waarvoor goede toetsen beschikbaar zijn, komen er in *Phalaenopsis* ook andere virussen voor. Sinds enige jaren worden in *Phalaenopsis* regelmatig virussymptomen waargenomen die niet toe te schrijven zijn aan ORSV en CymMV. Symptomen ontstaan vaak tijdens de koeling die nodig is voor bloeminductie. Er ontstaan dan gelige kringvlekken op het blad, waardoor planten onverkoopbaar worden of als tweede soort verkocht moeten worden.

Vanuit Taiwan is er melding gemaakt van een nieuw virus, namelijk het *Capsicum chlorosis virus* (CaCV). Dit virus behoort tot de groep van tospovirussen, waartoe ook tomatenbronsvlekkenvirus (TSWV) en *Impatiens*-vlekkenvirus (INSV) behoren. Echter, CaCV is tot nu toe alleen gerapporteerd vanuit Azië. Zoals de naam doet vermoeden is het virus voor het eerst gerapporteerd vanuit paprika.

De afgelopen anderhalf jaar heeft een inventarisatie plaatsgevonden van virussymptomen in *Phalaenopsis*, om na te gaan welk virus verantwoordelijk was voor de symptomen. Hierbij is materiaal getoetst met ELISA (serologische toets) op een reeks virussen en met een moleculaire toets op algemeen *Tospovirus* en specifiek CaCV (PCR). Hieruit kwam naar voren dat in ruim 30% van de monsters de bekende virussen CymMV en/of ORSV voorkomen. Verder is in 4% van de monsters is INSV óf TSWV gevonden en in slechts 1 monsters is CaCV aangetoond. In geen van de monsters is komkommervozaïekvirus (CMV) of *Potyvirus* gedetecteerd.

De tospovirussen die zijn gevonden, te weten TSWV en INSV, kwamen lokaal in *Phalaenopsis* planten voor. Dit betekent dat het virus aanwezig was rond de plek waar trips de plant had aangeprikt, maar dat het virus zich niet verder in de plant had verspreid. Dit gold ook voor het ene monster waarin CaCV is aangetoond. Mocht dat voor meer CaCV geïnfecteerde *Phalaenopsis* planten gelden, dan is het risico van verdere besmetting niet erg groot, mits de tripsen, die het virus kunnen overbrengen, (elders) afdoende worden betreden. In Nederland vormt trips in *Phalaenopsis* geen groot probleem. In die gevallen waarbij TSWV en INSV werden aangetroffen was er doorgaans sprake van een sterke onkruidbezetting in de kas: van daaruit vond dan de besmetting plaats, of kwam de trips van buiten de kas.

TSWV en INSV worden overgebracht door Californische trips, CaCV wordt overgebracht door andere tripssoorten die - zover bekend – niet in Nederland voorkomen. Hierdoor is de kans dat een CaCV besmetting verder uitbreidt dan de (import) partij waarin het is aangetroffen klein. Dat CaCV waarschijnlijk lokaal in de plant voorkomt is ook van belang: de trips moet zich voeden op de geïnfecteerde plek op de plant om het virus op te nemen en het daarna verder te kunnen verspreiden.

De monsters die niet reageerden in bovenstaande toetsingen zijn bekeken m.b.v. elektronenmicroscopie en in een deel van de monsters zijn verschillende soorten virusdeeltjes waargenomen. Het waarnemen van virusdeeltjes betekent niet dat deze virussen verantwoordelijk zijn voor de symptomen. Het biedt wel een aanknopingspunt voor verder onderzoek naar symptomen die nog niet thuisgebracht kunnen worden.

Als de waargenomen virusdeeltjes werkelijk de veroorzaker zijn van de symptomen en de bestaande toetsmethoden niet of onvoldoende werken dan wordt het van belang om een toetsmethode te

ontwikkelen. De ernst van de symptomen was dusdanig dat deze virussen voor aanzienlijke schade kunnen zorgen. Geen toetsmethode betekent geen mogelijkheid om het virus voor het begin van de (*in vitro*) vermeerdering te detecteren en zo grotere problemen te voorkomen. Ook kunnen partijen die worden aangekocht niet worden gescreend.

Tenslotte is het van belang om na te gaan welk virus verantwoordelijk is voor de symptomen. Worden de symptomen veroorzaakt door CymMV of ORSV dan is het van belang om te voorkomen dat het virus niet met het sap van een besmette plant overgebracht kan worden naar gezonde planten.

Worden de symptomen veroorzaakt door INSV of TSWV dan is het van belang om bijvoorbeeld trips goed te bestrijden. Wanneer men weet welk virus de veroorzaker is van de symptomen dan kan men de juiste maatregelen nemen.

Nawoord

Dit project is mogelijk geworden door medewerking van *Phalaenopsis* telers en vermeerderders. Zij hebben ons voorzien van talloze monsters met symptomen. Onze dank daarvoor.

Tevens willen wij graag Martin Verbeek (Plant Research International) bedanken voor het bekijken van grote aantallen *Phalaenopsis* monsters m.b.v. de elektronenmicroscopie en het meedenken over waarnemen van virusdeeltjes in relatie tot symptomen.

Literatuurlijst

1. Zheng, Y.-X., C.-C. Chen, C.-J. Yang, S.-D. Yeh & F.-J. Jan, 2008. Identification and characterization of a tospovirus causing chlorotic ringspots on *Phalaenopsis* orchids. *European Journal of Plant Pathology* 120: 199-209
2. Persley, D.M., J.E. Thomas & M. Sharman, 2006. Tospoviruses – an Australian perspective. *Australasian Plant Pathology* 35: 161-180.
3. Chen, K., Z. Xu, L. Yan & G. Wang, 2007. Characterization of a new strain of the Capsicum chlorosis virus from peanut (*Arachis hypogaea* L.) in China. *Journal of Phytopathology* 155: 178-181.
4. Chen, C.-C., C.H. Huang, T.C. Chen, S.D. Yeh, Y.H. Cheng, H.T. Hsu, & C.-A. Chang, 2007. First Report of Capsicum chlorosis virus Causing Yellow Stripes on Calla Lilies in Taiwan. *Plant Disease* 91: 1201.

5. Premachandra, W.T.S.D., C. Borgemeister, E. Meiss, D. Knierim & H.-M. Poehling, 2005. *Ceratothripoides claraltirs*, a new vector of a Capsicum chlorosis virus isolate infecting tomato in Thailand. *Phytopathology* 95: 659-663.
6. Stijger, I & E. Meekes, 2006. Virusvrij materiaal, hygiëne en toetsen voor gezonde orchideeën. Vakblad voor de Bloemisterij 37: 48-49
7. Kondo, H., T. Maeda & T. Tamada, 2003. Orchid fleck virus: *Brevipalpus californicus* mite transmission, biological properties and genome structure. *Experimental and Applied Acarology* 30: 215–223.
8. Lesemann, D. & J. Begtrup, 1971. Elektronenmikroskopischer Nachweis eines bazilliformen Virus in *Phalaenopsis*. *Phytopathologischer Zeitschrift* 83: 27-39
9. Lesemann, D. & S. Doraiswamy, 1975. Bullet-shaped virus-like particles in chlorotic and necrotic leaf lesions of orchids. *Phytopathologischer Zeitschrift* 71: 257-269.
10. Palukaitis, P. & F. García-Arenal, 2003. Cucumber mosaic virus. Descriptions of Plant viruses, Nr. 400. <http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=400>
11. Chen, C., Y. Zheng, Y. Chen & F. Jan, 2006. Isolation and characterization of a new potyvirus causing chlorotic spots on moth orchids (*Phalaenopsis* spp.). *Phytopathology* 96: S22.
12. Zheng, Y.-X., C.-C. Chen, Y.-K. Chen & F.-J. Jan, 2008. Identification and characterization of a potyvirus causing chlorotic spots on *Phalaenopsis* orchids. *European Journal of Plant Pathology* 121: 87-95.