

Factsheet Schadebeeld bladnecrose in Lelie

De afgelopen jaren wordt er een nieuw schadebeeld geconstateerd bij de broei van Lelie. Het schadebeeld bestaat uit kleine necrotische vlekjes, soms op maar één helft van het blad. Onduidelijk is wat de oorzaak hiervan is. Gezien het schadebeeld werd aangenomen dat dit beeld veroorzaakt zou kunnen zijn door een virus. Het betreffende virusachtige symptoom in het lelieblad is al sinds een aantal jaren bekend bij diagnostiekservice van PPO en Bulb Quality Support B.V. (BQ Support). Het schadebeeld komt men in de praktijk al enkele jaren tegen bij diverse broeiers. Deze broeiers hebben soms 1-2% van dergelijke afwijkende planten door de gehele kas in partijen afkomstig van verschillende bollenkwekers. De schade lijkt de laatste jaren toe te nemen en veroorzaakt met regelmaat flinke schades. Hierbij zien we soms uitvalpercentages van 10 tot 40%.

Ook is onduidelijk hoe en waar het probleem ontstaat. Het lijkt dat het probleem vooral in de broeierij ontstaat c.q. zichtbaar wordt. Mogelijk is er sprake van een verspreidingsvector vermoedelijk in de vorm van een insect of mijtachtige. In de praktijk zien we dat wanneer de bladluis en trips bestrijding geïntensiveerd wordt het optreden van necrosesymptomen vermindert. Verder blijkt uit de praktijk dat het schadebeeld zich net zo makkelijk op gestoomde grond als ongestoomde grond, in kisten of in de vollegrond openbaart.

Vanouds waren er twee belangrijke virusziekten in lelie. Het Leliemozaïekvirus (Lily mottle virus, LMoV) en het Lelielatent virus (Lily symptomless virus, LSV). Deze virussen worden overgebracht door bladluizen. In de praktijk wordt uitbreiding van het virus beperkt door wekelijks te spuiten met minerale olie. Helaas blijken er steeds meer virussen schade aan lelies te kunnen aanrichten. Momenteel zijn er zestien bekend. In de afgelopen jaren bleek veel plantgoed besmet met een virus dat pas goed zichtbaar werd in het oogstbaar product in de vorm van bladsymptomen. Dit betrof het *Plantago asiatica* mozaïek virus (PLAMV). Dat leverde veel klachten van de consument en een aantal landen dreigde vervolgens de grenzen te sluiten. Er is veel inzet gepleegd vanuit de bollensector om de gevolgen van dit virus sterk te beperken.

Kenmerken van het schadebeeld bladnecrose in Lelie:

Karakteristieke voorbeelden van het necrosesymptoom in lelieblad. Het laat een netstructuur zien die soms maar een half blad beslaat.





Onderzoek

In eerste instantie is via een adviseur (Poland) materiaal aangeboden aan BQ Support.



De resultaten van BQ Support (onderzoek uitgezet bij WUR) waren als volgt:

- De planten zijn met een elektronenmicroscop (EM) onderzocht op aanwezigheid van virussen. Met de EM is één carlavirusdeeltje waargenomen. Het carlavirusdeeltje betreft mogelijk LSV, maar is waarschijnlijk niet de oorzaak van de symptomen. Daarnaast zijn ook bolvormige deeltjes waargenomen, mogelijk deeltjes van een plantenvirus.
- Daarnaast is een reeks van 12 toetsplanten geïnoculeerd met sap van lelie met bladsymptomen. Helaas gaven de toetsplanten geen duidelijke reacties.

Kort samengevat zijn in de elektronenmicroscop niet nader gedetermineerde virusachtige deeltjes gevonden. Helaas is op basis van deze opnamen niet direct duidelijk of dit ook werkelijk om virusdeeltjes gaat.

Vanuit de LC Lelie is duidelijk aangegeven dat er helderheid moet komen over het nieuwe schadebeeld in lelie. Is het een virus, en zo ja welk virus is het, waar komt het vandaag (bron / ontstaan), wat zijn de verspreidingsvectoren en op welke wijze kan verspreiding voorkomen worden en door wie (veredeling, weefselkweeklab, schubbollenkweker, bollenteler, bollenhandel en/of leliebroeier). Voor nader onderzoek is besmet materiaal doorgestuurd naar de virologen bij WUR. Vanuit LTO Glaskracht Nederland is verzocht om uit het fyto-sanitair onderzoek (Topsector T&U) ca 20 uur te reserveren hiervoor.

Daarvoor zijn een aantal beschikbare toetsen (zowel generiek als specifiek) voor een aantal bolvormige virussen toegepast. Hopelijk zou dit tot een aanwijzing leiden dat er inderdaad een bolvormig virus bij het probleem betrokken is. Door de uitvoering van die verschillende toetsen is aangetoond dat in alle aangeleverde planten (3 met symptomen en 3 zonder symptomen) het aardbeienkringvlekkenvirus (Strawberry latent ringspot virus, SLRSV) aanwezig was. Daarnaast is er extra getoetst op komkommermozaïekvirus (Cucumber mosaic virus, CMV), omdat het verhaal rondging dat CMV de veroorzaker zou zijn van de waargenomen necrose. Alle planten waren negatief voor CMV. Uit het

onderzoek van WUR naar de veroorzaker van necrose bij lelie is tot nu toe alleen de aanwezigheid van SLRSV aangetoond. Dit virus is een bolvormig virus en zou dus overeen kunnen komen met de deeltjes die ook met de elektronenmicroscopie zijn waargenomen. SLRSV werd echter aangetroffen in materiaal met en zonder symptomen. SLRSV is volgens de huidige kennis symptoom loos in lelie, maar er duiken nog geregeld nieuwe varianten van dit virus op. Het zou zomaar kunnen zijn dat deze variant wel symptomen geeft. Voorgesteld wordt om een RNA monster van zowel symptoom loos als symptoom dragend materiaal te gebruiken voor een Next Generation Sequencing (NGS) run, om zo te kijken of er naast SLRSV nog andere, wellicht nog onbekende, virussen voorkomen.

Voor de NGS analyse is via de leden van de Landelijke Lelie commissie van Glastuinbouw Nederland een kennisvoucher aangevraagd. In dit kennisproject zijn twee mengmonsters (blad, schub en bloemknop) met Next Generation Sequencing (NGS) geanalyseerd; één monster van een plant met bladnecrose en één monster van een lelieplant van dezelfde cultivar zonder necrotische symptomen. De gebruikte techniek (NGS) produceert miljoenen kleine stukjes RNA (ong. 125 - 150 nucleotiden lang) van al het geëxtraheerde RNA. Hiervan is het grootste gedeelte RNA van de plant zelf, maar als er een ziekteverwekker (actief) in de plant aanwezig is, zullen ook van die ziekteverwekker stukjes RNA gelezen worden. Alle kleine stukjes RNA kunnen worden gezien als puzzelstukjes. Met de computer worden deze kleine stukjes aan elkaar gepast tot kleine puzzeltjes (dit noemen we dan contigs). Deze contigs worden vergeleken met bekende sequenties in de NCBI database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Zo kunnen bekende ziekteverwekkers worden gevonden of aanwijzingen voor de aanwezigheid van een eventueel nog onbekende ziekteverwekker. Een vergelijking van de data van het symptoom dragende en het gezond-ogende monster zou aanwijzingen kunnen genereren om de veroorzaker van de necrose te identificeren.

Er zijn uit de NGS analyse geen duidelijke kanshebbers naar voren gekomen die de mogelijke veroorzaker van lelienecrose zouden kunnen zijn. Er zijn geen grote stukken sequentie gevonden van bekende plantenvirussen (ook niet van het in eerder onderzocht materiaal gevonden carlavirus (elektronenmicroscopie) en SLRSV (ELISA)). In de NGS analyse werden wel twee grotere stukken sequentie opgepikt die mogelijk tot een virus zouden kunnen behoren (op basis van niet verder gekarakteriseerde virus-achtige sequenties die door Chinese onderzoekers in de NCBI database zijn opgenomen). Echter, bij verificatie op de aanwezigheid van deze sequenties door middel van een RT-PCR met primers die specifiek op de gevonden sequenties werden ontwikkeld, bleek dat de sequentie niet teruggevonden kon worden in het oorspronkelijke materiaal. Er werd wel een PCR product gevormd, maar na sequentieanalyse van die producten bleek dit lelie-specifieke sequenties te zijn en geen virus. We kunnen waarschijnlijk spreken van een artefact bij de computer-assemblage van de NGS sequenties (lijkend op een sequentie die de Chinese onderzoeksgroep heeft gepubliceerd).

Van de planten die werden aangeleverd voor de NGS analyse zijn twee bollen bewaard, één van een gezond-ogende plant en één van een plant met het schadebeeld. Deze bollen zijn opnieuw uitgeplant in een kas bij WUR. Beide nieuw uitgelopen planten vertoonden tot en met de bloei geen symptomen van necrose op het blad. Ook van deze planten is RNA geïsoleerd en m.b.v. PCR getoetst met de hierboven vermelde primers tegen de twee gevonden stukken sequentie. Ook beide planten werden met deze PCR alleen lelie-specifieke sequenties gevonden.

Wanneer het schadebeeld zou worden veroorzaakt door een actieve virusinfectie, dan is de verwachting dat deze zich ook weer zal manifesteren in een plant die opnieuw uit een geïnfecteerde bol is opgegroeid. Dit bleek bij deze ene bol niet het geval te zijn.

Tot op dit moment is er geen oorzakelijk verband aangetoond voor een virus dat het aangetroffen schadebeeld van bladnecrose in lelie zou kunnen veroorzaken.

Betrokkenen

LC Lelie Glastuinbouw Nederland
Wilfried Poland, Bloembollenadvies LLP
Hans Kok, Delphy
Paul van Leeuwen, BQ Support
Martin Verbeek, WUR

Voor meer informatie

Edwin van Geest, Glastuinbouw Nederland
evangeest@glastuinbouwnederland.nl
Tel. 06 824 970 53

Helma Verberkt, Glastuinbouw Nederland
hverberkt@glastuinbouwnederland.nl
Tel. 06 203 914 77