



# Rapport

# Kasproeven

# CABYV in komkommer

Adriaan Vermunt, Petra Hollander

9 september 2022



# Rapport

## Kasproeven CABYV in komkommer

Opdrachtgever:



Uitvoerder:



### COLOFON

Auteurs: Adriaan Vermunt en Petra Hollander

Adres: Groen Agro Control  
Distributieweg 1  
2645 EG Delfgauw  
Nederland  
Tel: 015 2572511

Datum: 9 september 2022

Titel rapport: Kasproeven CABYV in komkommer

Met dank aan: Diana van Houten, Joop Woelke, Lisette de Hoog

*Niets uit deze uitgave mag worden veelevoudigd en/of openbaar gemaakt worden door middel van druk, fotokopie, microfilm, elektronisch of op geluidsband of op welke andere wijze ook en evenmin in een retrieval systeem worden opgeslagen zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de opdrachtgever en uitvoerder.*

# Inhoudsopgave

Inhoudsopgave .....	3
Introductie .....	4
Opzet kasproeven.....	5
1. Incubatietijd CABYV .....	7
2. Persistentie CABYV in katoenluis.....	12
3. Overdracht CABYV door gevleugelde katoenluis .....	14
4. Overdracht CABYV door nakomelingen van katoenluis .....	15
5. Overdracht CABYV door kaswittevlieg .....	16
Conclusies.....	17

## Introductie

In 2021 is een nieuw virus aangetroffen in de Nederlandse komkommerteelt: het *Cucurbit aphid-borne yellows virus* (CABYV). CABYV behoort tot de groep van de Polerovirussen en is een virus dat wordt overgedragen door bladluizen.

CABYV kan tot aanzienlijke schade leiden in komkommer. Geïnfecteerde planten laten een sterke vergeling van het blad zien. Daarnaast kan er ook sprake zijn van een verminderde groei en vruchtverlies. Uiteindelijk kan een virusbesmetting in een kas een aanzienlijk productieverlies tot gevolg hebben. Naast komkommer kunnen ook andere komkommerachtigen, zoals courgette en meloen, en diverse onkruiden besmet raken met CABYV.

Om de telers van informatie te voorzien over dit nieuwe virus, is door Glastuinbouw Nederland, in samenwerking met Groen Agro Control en in opdracht van de Landelijke Commissie Komkommer, een factsheet opgesteld met informatie over de schadebeelden, levenswijze en verspreiding van CABYV. Daarnaast is er een hygiëneprotocol gepubliceerd met adviezen voor het beheersen van het virus. Dit protocol is enerzijds gericht op het voorkomen van besmettingen, maar beschrijft ook welke maatregelen tijdens de teelt en bij de teeltwisseling genomen kunnen worden om bij een besmetting verdere verspreiding van het virus te voorkomen.

Er is echter nog veel onbekend over onder andere de verspreiding en incubatietijd van CABYV in komkommer. Om meer kennis te vergaren over deze onderwerpen, zijn onderstaande onderzoeksvragen opgesteld:

- Wat is de incubatietijd van CABYV?
- Hoe lang kunnen CABYV-besmette bladluizen het virus overdragen naar onbesmette planten?
- Kan het virus ook worden overgedragen door gevleugelde bladluizen?
- Kunnen de nakomelingen van CABYV-besmette bladluizen het virus ook overdragen?
- Kan CABYV ook worden overgedragen door wittevlies?

Om deze onderzoeksvragen te beantwoorden en meer inzicht te krijgen in de eigenschappen van het virus, heeft Stichting Control in Food & Flowers diverse kasproeven uitgevoerd. In dit verslag worden de resultaten van deze proeven gerapporteerd.

## Opzet kasproeven

### CABYV-besmet plantmateriaal en insectenkweken

Voor het uitvoeren van de proeven zijn scheuten van CABYV-besmette planten uit de praktijk verzameld als uitgangsmateriaal (figuur 1). Omdat in dit plantmateriaal ook andere virussen en insecten aanwezig waren, is CABYV met behulp van katoenluizen overgedragen naar jonge planten. Deze jonge planten zijn gebruikt als uitgangsmateriaal voor de proeven.

In de kasproeven is de overdracht van CABYV door verschillende soorten insecten getest, namelijk katoenluis (*Aphis gossypii*), groene perzikluis (*Myzus persicae*) en kaswittevlieg (*Trialeurodes vaporariorum*). Van elk van deze insecten is een kweek opgezet in insectenkooien (figuur 2). Om te voorkomen dat de insecten in de kweek besmet konden raken met CABYV, zijn de insecten opgekweekt op niet-waardplanten van het virus. Katoenluis en perzikluis zijn gekweekt op paprikaplanten en kaswittevlieg op tomatenplanten.



**Figuur 1.** CABYV-besmette planten in een Nederlandse komkommerteelt.



**Figuur 2.** Kweek van bladluizen op paprika in een kweekkooi.

### Overdracht van CABYV met klemkooitjes

Alle proeven zijn uitgevoerd met komkommerplanten van het ras Proloog. Tenzij anders aangegeven, waren de planten op het moment van besmetten twee tot drie weken oud.

Om de overdracht van CABYV door verschillende insecten te testen, is gebruik gemaakt van klemkooitjes. Dit zijn kleine kooitjes die op een blad geklemd kunnen worden. Door de insecten in een klemkooitje te plaatsen, kunnen ze worden gedwongen om op een bepaalde plant of een bepaald blad te voeden (figuur 3 en 4). Daarnaast voorkomen de klemkooitjes ongewenste verspreiding van besmette insecten.



**Figuur 3.** Klemkooitje met tien katoenluizen.



**Figuur 4.** Twee klemkooitjes met elk tien insecten op het blad van een CABYV-besmette plant.

Om in de verschillende proeven de overdracht van CABYV te testen, zijn per plant twintig insecten geplaatst, verdeeld over twee klemkooitjes (tien insecten per klemkooitje). Hierbij is de volgende werkwijze gevolgd:

1. De insecten zijn gedurende 48 uur op een blad van een CABYV-besmette plant geplaatst. Door zich te voeden op de besmette plant, konden ze het virus opnemen.
2. Vervolgens zijn de insecten gedurende 48 uur op het blad van een onbesmette plant geplaatst. Door te voeden op de onbesmette plant, konden ze het virus overdragen.

### Locatie van de proeven

De proeven zijn uitgevoerd in twee kascompartimenten van 18 m<sup>2</sup>. De luchtramen van de kas zijn afgedicht met insectengaas om verspreiding van de insecten en het virus te voorkomen. De proef waarbij is gekeken naar de incubatietijd van het virus, is uitgevoerd op teeltgoten (figuur 5). De overige proeven zijn uitgevoerd in gaaskooien op teelttafels (figuur 6).



**Figuur 5.** Kasproef met CABYV op teeltgoten.



**Figuur 6.** CABYV-proeven in gaaskooien op een teelttafel.

# 1. Incubatietijd CABYV

## 1.1 Introductie

Een komkommerplant kan geïnfecteerd raken met CABYV wanneer CABYV-besmette bladluizen zich voeden op de plant. Geïnfecteerde planten laten onder andere een sterke vergeling van het blad zien. Het is echter nog niet bekend hoe lang het duurt voordat de eerste symptomen zichtbaar zijn, nadat de overdracht van het virus door de bladluizen heeft plaatsgevonden. Daarom is in deze proef bepaald wat de incubatietijd van CABYV is, oftewel de tijd tussen het moment van de infectie en het optreden van de eerste symptomen.

## 1.2 Methode

### Proefopzet

Omdat de incubatietijd afhankelijk kan zijn van de leeftijd van de plant, is de incubatietijd van CABYV bepaald in komkommerplanten van twee leeftijden:

- Jonge planten van twee weken oud
- Oudere planten van zes weken oud

Voor de overdracht van het virus is onderscheid gemaakt tussen twee soorten bladluis:

- Katoenluis (*Aphis gossypii*)
- Perzikluis (*Myzus persicae*)

Om de resultaten van de proef te bevestigen onder verschillende omstandigheden, is de proef in tweevoud uitgevoerd:

- Eerste proef: februari-maart
- Tweede proef: april-mei

Per behandeling zijn drie planten getest. Daarnaast zijn voor zowel de jonge als de oude planten twee planten onbesmet gelaten.

### Inficeren van de planten

De komkommerplanten zijn geïnfecteerd met CABYV door CABYV-besmette bladluizen met behulp van klemkooitjes te laten voeden op de planten. Om het virus op efficiënte wijze over te kunnen dragen, zijn op elke plant twintig bladluizen geplaatst, verdeeld over twee klemkooitjes (tien bladluizen per klemkooitje). Bij de jonge planten van twee weken oud zijn beide klemkooitjes op het eerste blad geplaatst. Bij de oudere planten van zes weken oud is één van de klemkooitjes op het vierde blad geplaatst (onderin de plant) en één op het zestiende blad (net onder de kop) (figuur 7).



**Figuur 7.** Komkommerplanten van twee weken oud (links) en van zes weken oud (rechts). Om de komkommerplanten te besmetten met CABYV, zijn per plant twee klemkooitjes met elk tien CABYV-besmette luizen geplaatst.

### Bepalen incubatietijd

Vanaf het moment dat de klemkooitjes met de CABYV-besmette luizen op de planten zijn geplaatst (dag 0), zijn de planten drie keer per week beoordeeld op aanwezigheid van symptomen. Twee, vier en zes weken na inoculatie is met behulp van een ELISA test bepaald of de planten geïnfecteerd waren met CABYV.

## 1.3 Resultaten

### Overdracht van CABYV

Voor het bepalen van de incubatietijd en symptomontwikkeling, is onderscheid gemaakt tussen jonge en oudere planten en tussen twee soorten bladluizen. Elke behandeling is uitgevoerd op drie planten. Echter, niet in alle gevallen is overdracht van CABYV aangetoond (tabel 1).

**Tabel 1.** Aantal planten besmet met CABYV, nadat twintig CABYV-besmette katoenluizen of perzikluizen zich hebben gevoed op 2-weken oude en 6-weken oude komkommerplanten.

		Aantal planten besmet met CABYV	
		Overdracht door katoenluis	Overdracht door perzikluis
<b>2-weken oude planten</b>	Proef 1	3/3	0/3
	Proef 2	1/3	0/3
<b>6-weken oude planten</b>	Proef 1	0/3	0/3
	Proef 2	3/3	0/3



### Katoenluis in jonge planten

Bij katoenluis, de meest bekende vector van CABYV, is in de planten die op een leeftijd van twee weken oud besmet zijn, in de eerste proef in alle drie de planten overdracht aangetoond en in de tweede proef in één van de drie planten (tabel 1).

In beide gevallen duurde het twee tot drie weken voor de eerste symptomen zichtbaar waren, in de vorm van lichte vergeling op de onderste bladeren (figuur 8). Ook de eerste detectie vond plaats tussen twee en drie weken, waarbij het virus in het begin alleen gemeten werd onderin de plant, rondom het blad waar de CABYV-besmette luizen zich hebben gevoed. Twee weken later, vier tot vijf weken na de overdracht van het virus, was de vergeling duidelijker aanwezig. Daarnaast begonnen de bladeren om te krullen en werden ze bros. De symptomen bleven nog wel beperkt tot de onderste bladeren.



**Figuur 8.** Lichte vergeling op de onderste bladeren, twee tot drie weken nadat twintig CABYV-besmette katoenluizen zich hebben gevoed op het onderste blad van twee-weken oude komkommerplanten.

Zes weken na de overdracht van het virus, begonnen de symptomen ook hoger in de plant zichtbaar te worden. Daarnaast lieten aangetaste planten afsterving van jonge vruchten zien (figuur 9).



**Figuur 9.** Verspreiding van CABYV-symptomen door de hele plant (foto links) en afsterving van jonge vruchten (foto rechts), zes weken nadat twintig CABYV-besmette katoenluizen zich hebben gevoed op het onderste blad van twee-weken oude komkommerplanten.

### **Katoenluis in oudere planten**

In de planten die op een leeftijd van zes weken oud besmet zijn, is in de eerste proef in geen van de planten overdracht van CABYV door katoenluis aangetoond (tabel 1). Zes weken na het voeden van de luizen werd het virus niet gedetecteerd in de planten en is de proef stopgezet. Op dat moment waren nog geen symptomen zichtbaar.

In de tweede proef zijn de planten acht weken blijven staan. Na vier weken werd in deze proef nog geen overdracht aangetoond en waren nog geen symptomen zichtbaar. Echter, na vijf tot zes weken begonnen er toch vergelingssymptomen te verschijnen. In dit geval waren de symptomen niet zichtbaar onderin de plant, maar juist bovenin, op het geïnoculeerde blad en de jonge scheuten (figuur 10). Bij het herbemonsteren van de planten na zes weken, werd in elk van de drie planten toch CABYV aangetoond (tabel 1).

Hoewel de incubatietijd van het virus dus langer is dan in jonge planten, blijkt katoenluis toch in staat om CABYV over te dragen naar oudere planten. Door het optreden van de symptomen bovenin de plant, lijkt het erop dat de overdracht van het virus efficiënter verloopt in jonge bladeren.



**Figuur 10.** CABYV-symptomen bovenin de plant en op de jonge scheuten, zes weken nadat twintig CABYV-besmette katoenluizen zich hebben gevoed op zes-weeken oude komkommerplanten.

## Perzikluis

Zowel tijdens de eerste als tijdens de tweede proef, is geen overdracht van CABYV aangetoond door perzikluis (tabel 1). Dit was in zowel de twee-weken oude planten als de zes-weken oude planten het geval. Gedurende de proeven is geen virus gedetecteerd in de planten en zijn geen symptomen waargenomen (figuur 11). Het lijkt er dus op dat perzikluis niet, of op minder efficiënte wijze dan katoenluis, in staat is om CABYV over te dragen naar komkommerplanten.



**Figuur 11.** Komkommerplanten zonder symptomen (rechts) waarop CABYV-besmette perzikluizen hebben gevoed, en komkommerplanten met symptomen (links) waarop CABYV-besmette katoenluizen hebben gevoed. Er is geen overdracht van CABYV door perzikluis aangetoond.

## 1.3 Conclusies

- Onder de geteste omstandigheden, is de incubatietijd van CABYV na overdracht door katoenluis in twee-weken oude planten, twee tot drie weken.
- Onder de geteste omstandigheden, is de incubatietijd van CABYV na overdracht door katoenluis in zes-weken oude planten, vijf tot zes weken.
- Er is geen overdracht aangetoond van CABYV door perzikluis in twee- en zes-weken oude planten.

## 2. Persistentie CABYV in katoenluis

### 2.1 Introductie

Virussen die door insecten worden overgedragen, kunnen op persistente of op niet-persistente wijze worden overgedragen. Virussen die op niet-persistente wijze worden overgedragen, komen vaak niet verder dan de monddelen of de voordarm van het insect en blijven na opname door het insect maar enkele uren infectieus. Virussen die op persistente wijze worden overgedragen, verplaatsen zich door het hele spijsverteringskanaal van het insect en blijven na opname meerdere dagen of weken infectieus, of zelfs gedurende de gehele levensduur van het insect.

Het is nog niet bekend of CABYV op persistente of niet-persistente wijze wordt overgedragen, en hoe lang de bladluizen besmettelijk blijven nadat ze besmet zijn geraakt met CABYV. Daarom is in deze proef onderzocht hoe lang katoenluizen in staat zijn om CABYV over te dragen naar schone planten, nadat ze het virus hebben opgenomen.

### 2.2 Methode

Afhankelijk van omstandigheden zoals temperatuur en beschikbare waardplanten, kunnen katoenluizen ongeveer vier weken oud worden. Het nimfenstadium duurt ongeveer een week en het volwassen stadium tot ongeveer drie weken. Daarom is in deze proef getest of katoenluizen in staat zijn om CABYV over te dragen naar schone komkommerplanten op vier tijdstippen:

- Direct na opname van het virus (T=0)
- 1 week na opname van het virus (T=1)
- 2 weken na opname van het virus (T=2)
- 3 weken na opname van het virus (T=3)

Elke behandeling is getest op drie planten. Per plant zijn twintig besmette katoenluizen geplaatst. Na opname van het virus zijn de luizen op paprikabladeren geplaatst, waarna ze na één, twee of drie weken op schone komkommerplanten zijn overgezet om te testen of ze nog in staat waren om het virus over te dragen. Omdat paprika geen waardplant is van CABYV, konden de luizen CABYV gedurende langere tijd bij zich dragen, zonder dat er opnieuw uitwisseling van het virus plaats kon vinden tussen de plant en het insect.

Na twee en vier weken zijn de planten bemonsterd en is met een ELISA-test bepaald of het virus is overgedragen naar de planten.

## 2.3 Resultaten

Uit de proef is gebleken dat katoenluizen minimaal drie weken nadat ze CABYV hebben opgenomen, het virus over kunnen dragen naar andere planten (tabel 1). Dat betekent dat het virus op persistente wijze wordt overgedragen. Voor de proef zijn vier tot zeven dagen oude bladluizen gebruikt, die zich in een laat nimfenstadium of een vroeg volwassenstadium bevonden. Waarschijnlijk blijven de luizen dus ook na het vervellen besmettelijk.

Wel lijkt het erop dat de overdracht in de loop van de tijd minder efficiënt verloopt. Wanneer twintig besmette katoenluizen direct na het opzuigen van het virus op schone komkommerplanten werden geplaatst, was in elk van de drie herhalingen sprake van overdracht van het virus. Bij de luizen die één en twee weken na opname van CABYV op de schone planten werden geplaatst, raakten twee van de drie planten besmet. Drie weken na opname van CABYV werd het virus nog in één van de drie herhalingen overgedragen.

**Tabel 2.** Overdracht van CABYV naar onbesmette komkommerplanten door twintig katoenluizen, 0, 1, 2 of 3 weken nadat de luizen het virus hebben opgenomen. Weergegeven is het aantal besmette planten uit drie herhalingen.

Tijd na opname van CABYV door twintig katoenluizen	Aantal planten besmet met CABYV
T = 0	3/3
T = 1 week	2/3
T = 2 weken	2/3
T = 3 weken	1/3

## 2.4 Conclusie

- Katoenluis kan minimaal drie weken besmettelijk blijven na opname van CABYV, maar de efficiëntie van de overdracht lijkt met de tijd af te nemen.

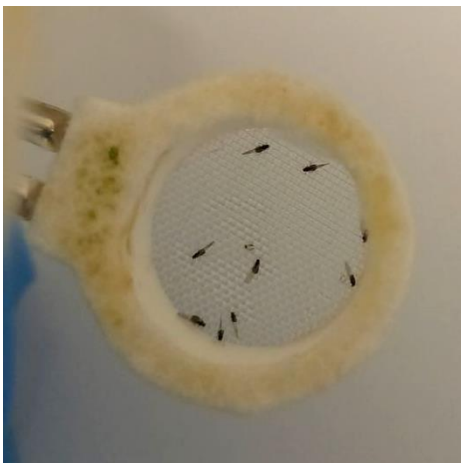
### 3. Overdracht CABYV door gevleugelde katoenluis

#### 3.1 Introductie

Het is bekend dat katoenluis een belangrijke vector is voor CABYV. Het is echter nog niet bekend of naast ongevleugelde katoenluis, ook gevleugelde katoenluis het virus kan overdragen. Wanneer ook gevleugelde luizen het virus kunnen overdragen, vormt dit een groter risico op introductie van CABYV door invlieg van buitenaf. Daarnaast kunnen gevleugelde bladluizen binnen de kas grotere afstanden afleggen, waardoor verspreiding van het virus sneller plaats kan vinden. In deze proef is getest of gevleugelde katoenluizen in staat zijn om CABYV over te dragen.

#### 3.2 Methode

Om de overdracht van CABYV door gevleugelde katoenluizen te bepalen, is gebruik gemaakt van dezelfde methode als eerder beschreven. Per plant zijn twintig CABYV-besmette gevleugelde luizen geplaatst, verdeeld over twee klemkooitjes (figuur 12). De overdracht van CABYV door gevleugelde luizen is getest in drie jonge komkommerplanten van twee weken oud.



**Figuur 12.** Klemkooitje met gevleugelde katoenluizen. Per komkommerplant zijn twintig CABYV-besmette gevleugelde katoenluizen geplaatst, verdeeld over twee klemkooitjes, om de overdracht van CABYV te testen.

#### 3.3 Resultaten

In de proef is in één van de drie herhalingen overdracht aangetoond door twintig CABYV-besmette katoenluizen. Dat betekent dat ook gevleugelde katoenluizen in staat zijn om het virus over te dragen.

#### 3.4 Conclusie

- Overdracht van CABYV door gevleugelde katoenluis is aangetoond.

## **4. Overdracht CABYV door nakomelingen van katoenluis**

### **4.1 Introductie**

In de proef die in hoofdstuk 2 is beschreven, is aangetoond dat CABYV op persistente wijze wordt overgedragen door katoenluis. Katoenluizen die het virus opnemen, kunnen het dus langere tijd bij zich dragen en overbrengen naar andere planten. Wat nog niet bekend is, is of CABYV-besmette katoenluizen het virus ook doorgeven aan hun nakomelingen.

Bladluizen kunnen zich ongeslachtelijk voortplanten, waarbij ze levende nakomelingen baren. Deze nakomelingen worden nimfen genoemd, die exacte klonen van de volwassen bladluis zijn. In deze proef is onderzocht of volwassen katoenluizen die besmet zijn met CABYV het virus meegeven aan hun nakomelingen en of deze nakomelingen ook in staat zijn om het virus over te dragen naar andere planten.

### **4.2 Methode**

Om te bepalen of de nakomelingen van CABYV-besmette katoenluizen het virus ook bij zich dragen en in staat zijn om komkommerplanten te besmetten, zijn volwassen katoenluizen besmet met CABYV en op paprikaplanten geplaatst. Omdat CABYV zich niet kan vermeerderen in paprikaplanten, kan worden uitgesloten dat eventueel besmette nakomelingen het virus zelf hebben opgenomen. Vervolgens zijn de nimfen die door deze besmette luizen zijn geproduceerd verzameld en overgezet op jonge komkommerplanten. In dit geval zijn niet twintig, maar veertig bladluizen per plant getest. De proef is uitgevoerd in drievoud. Na twee en vier weken is bepaald of er sprake was van overdracht van het virus door middel van een ELISA-test.

### **4.3 Resultaten**

In geen van de drie herhalingen is overdracht van CABYV aangetoond door de nakomelingen van CABYV-besmette katoenluizen. Waarschijnlijk wordt het virus dus niet automatisch doorgegeven aan de nimfen. Dat betekent echter niet dat nimfen geen rol spelen in de overdracht van CABYV. Ook al dragen ze het virus niet vanaf hun geboorte bij zich, ze kunnen het virus wel zelf opnemen door zich te voeden op een CABYV-besmette plant, en zo alsnog bijdragen aan de verspreiding van het virus.

### **4.4 Conclusie**

- Overdracht van CABYV door de nakomelingen van CABYV-besmette katoenluizen is niet aangetoond.

## **5. Overdracht CABYV door kaswittevlieg**

### **5.1 Introductie**

Het is bekend dat CABYV in komkommer kan worden overgedragen door bladluis. Vanuit de praktijk zijn er vragen of CABYV ook kan worden overgedragen door wittevlieg. Daarom is in deze proef onderzocht of kaswittevlieg (*Trialeurodes vaporariorum*), na het voeden op een CABYV-besmette plant, in staat is om het virus over te dragen naar schone komkommerplanten.

### **5.2 Methode**

Om te testen of CABYV kan worden overgedragen door kaswittevlieg, zijn twee proeven uitgevoerd. In de eerste proef is de overdracht getest in vier-weken oude planten (vijf herhalingen). In de tweede proef is de overdracht getest in twee-weken oude planten (drie herhalingen).

De wittevliegen hebben eerst gevoed op een CABYV besmette plant en zijn daarna overgeplaatst naar de schone komkommerplanten. De overdracht is getest met een hoge druk van wittevlieg. Per plant zijn veertig (volwassen) wittevliegen geplaatst, verdeeld over twee klemkooitjes. Na twee, vier en zes weken zijn de planten bemonsterd en met een ELISA-test geanalyseerd op aanwezigheid van CABYV.

### **5.3 Resultaten**

In beide proeven is in geen van de planten overdracht van CABYV aangetoond door kaswittevlieg.

### **5.4 Conclusie**

- In twee proeven is geen overdracht van CABYV aangetoond door kaswittevlieg,



## Conclusies

- Onder de geteste omstandigheden, is de incubatietijd van CABYV na overdracht door katoenluis in twee-weken oude planten, twee tot drie weken.
- Onder de geteste omstandigheden, is de incubatietijd van CABYV na overdracht door katoenluis in zes-weken oude planten, vijf tot zes weken.
- Er is geen overdracht aangetoond van CABYV door perzikluis in twee- en zes-weken oude planten.
- Katoenluis kan minimaal drie weken besmettelijk blijven na opname van CABYV, maar de efficiëntie van de overdracht lijkt met de tijd af te nemen.
- Overdracht van CABYV door gevleugelde katoenluis is aangetoond.
- Overdracht van CABYV door de nakomelingen van CABYV-besmette katoenluizen is niet aangetoond.
- Overdracht van CABYV door kaswittevlies is niet aangetoond.