

## Indiening Phytofar Instituut Prijs 2013

### **Dossier:**

### **PMV<sup>®</sup>-01 vaccinatiestrategie tegen schade door Pepinomozaïekvirus in de tomatenteelt**

### **Ingediend door:**

Dr. Ir. Inge Hanssen, Scientia Terrae vzw

Ir. Lieve Wittemans, Proefstation voor de Groenteteelt

Dr. Rob Moerkens, Proefcentrum Hoogstraten

### **Samenvatting**

Pepinomozaïekvirus (PepMV) veroorzaakt al een tiental jaren wereldwijd kwaliteits- en productieverliezen in de tomatenteelt onder glas. Sinds enkele jaren is 50 tot 100% van de tomatenteelten in België, Nederland, Frankrijk, Spanje, ... besmet met dit virus. Op vraag van de tomatentelers sloegen drie Vlaamse onderzoekscentra (Scientia Terrae, Proefcentrum Hoogstraten en Proefstation voor de Groenteteelt) in 2005 de handen in mekaar om te zoeken naar beheersingsmaatregelen om de schade door PepMV te beperken. Met ondersteuning van de volledige Belgische tomatensector werd er een IWT landbouwonderzoeksproject uitgeschreven, dat goedgekeurd en zelfs twee maal verlengd werd. Zes jaar onderzoek leidde uiteindelijk tot een vaccinatiestrategie waarbij tomatenplanten in een jong stadium gevaccineerd worden met een milde PepMV variant om het gewas te beschermen tegen latere infecties met agressieve varianten. De milde variant werd zorgvuldig geselecteerd en aan de hand van een hele reeks efficiëntiestudies werd een bijzonder goede werking aangetoond. In samenwerking met de onderzoekspartners investeerde het bedrijf De Ceuster N.V. in een registratiedossier om het tomatenvaccin, dat PMV<sup>®</sup>-01 gedoopt werd, op Europees niveau te registreren als gewasbeschermingsmiddel voor de beschermde tomatenteelt. Op basis van urgentie en gebrek aan alternatieve controlemaatregelen werd PMV<sup>®</sup>-01 in teeltseizoen 2011-2012 reeds toegelaten in België voor een periode van 120 dagen. Het product werd dat jaar toegepast op ongeveer één derde van het areaal, met zeer goede resultaten. In het huidige teeltseizoen (2012-2013) was het middel zowel in België als in Nederland toegelaten van 1 november 2012 tot 28 februari 2013. In totaal werd PMV<sup>®</sup>-01 dit seizoen toegepast op 440 ha tomatenteelt in België en Nederland en er is momenteel veel interesse uit andere landen.

## Inleiding en doelstelling

Pepinomozaïekvirus (PepMV) is wereldwijd één van de belangrijkste virusziekten in de tomatenteelt onder glas. Het virus veroorzaakt aanzienlijke schade omdat het zowel kwaliteits- als opbrengstverliezen veroorzaakt. PepMV werd voor het eerst gevonden op de pepino plant (*Solanum muricatum*) in Peru in 1974 en dook in 1999-2000 plots op in de tomatenteelt onder glas in Nederland en het Verenigd Koninkrijk. In de daaropvolgende jaren werd het virus gerapporteerd in de tomatenteelt in Spanje, Frankrijk, België en Italië. Intussen is PepMV wijdverspreid in de beschermde tomatenteelt wereldwijd. Het virus is mechanisch overdraagbaar en bijzonder infectieus. Eens PepMV in het gewas aanwezig is, is bestrijding of inperking niet mogelijk, met als gevolg dat er in intensieve teeltregio's vaak sprake is van een besmettingsdruk van 90% of meer. Alleen tijdens de periode van de teeltwissel, wanneer er enkele weken geen gewas in de serre staat, kunnen telers door middel van grondige reiniging en ontsmetting van de serre verlost geraken van het virus, maar omwille van de hoge infectiedruk raakt ook de nieuwe teelt vaak al snel opnieuw geïnfecteerd.

Het meest typische schadebeeld van PepMV is de zogenaamde 'marmering' van de tomaten (Figuur 1). Daarnaast verstoort PepMV de doorkleuring van de vruchten, wat leidt tot gevlamde vruchten. Gevlamde vruchten kunnen ook gevolg zijn van bepaalde klimaatsomstandigheden, maar de incidentie en de ernst worden versterkt door PepMV. Gemarmerde en gevlamde vruchten voldoen niet aan de hoge kwaliteitsstandaarden en zijn daarom niet verkoopbaar, of enkel onder een lagere kwaliteitsklasse. Sommige agressieve PepMV isolaten veroorzaken bovendien necrose van de planten en de vruchten. Daarnaast kan het virus serieuze productieverliezen veroorzaken. Bij aantasting met een agressief isolaat van PepMV werden in praktijkproeven productieverliezen van 6 tot 12% geregistreerd. PepMV vormt dus een ernstige bedreiging voor de tomatenteelt, en er is een dringende nood aan een duurzame oplossing. Veredelingsbedrijven werken al jarenlang hard aan de ontwikkeling van resistente tomatenrassen, maar er zijn weinig bronnen van resistentie beschikbaar en de gekende resistenties komen voor in wilde *Solanum* soorten die zeer weinig verwant zijn met onze tomaten. Dat maakt het bijzonder moeilijk om de resistentie in te kruisen in de commerciële tomatenrassen. Het kan nog jaren duren vooraleer de eerste resistente tomatenrassen op de markt komen.



**Figuur 1:** marmering van tomaat veroorzaakt door Pepinomozaïekvirus (PepMV)

In 2005 richtten drie Vlaamse onderzoekscentra (Proefcentrum Hoogstraten, Proefstation voor de Groenteteelt en Scientia Terrae), in nauw overleg met de LAVA veilingen, een consortium op om deze virusziekte die de tomatenteelt teistert in kaart te brengen en te zoeken naar duurzame beheersingsmaatregelen om de schade voor de telers te beperken. Het onderzoek werd gesubsidieerd door het IWT (Vlaamse overheid; Agentschap voor innovatie door wetenschap en techniek) via drie opeenvolgende projecten in het programma LandbouwOnderzoek (IWT 040718, 060669 en 080501). Naast de LAVA-veilingen ondersteunden ook veredelingsbedrijven, plantenkwekers en substraatleveranciers het onderzoek. De eerste jaren werd in het onderzoek vooral gewerkt aan een studie van viruspopulaties en schadebeelden. Er werd ook getracht om via strikte hygiëneprotocols de opmars van het virus terug te dringen. Voor de Europese (EU) stam van PepMV, die in 1999-2000 in Europa geïntroduceerd werd, leek deze strategie effect te hebben. Het onderzoeksconsortium stelde echter als eerste vast dat de Europese stam niet langer de dominante PepMV populatie uitmaakte in de Europese tomatenteelt, maar dat het merendeel van de PepMV infecties sinds 2005-2006 veroorzaakt werd door de Chileense (CH2) stam. Die CH2 stam bleek nóg meer infectieus te zijn en bijgevolg nog moeilijker in te dijken. In overleg met de sector werd beslist om het onderzoek toe te spitsen op cross-protectie, een fenomeen waarbij een plant die reeds besmet is met een variant van een bepaald virus niet opnieuw geïnfecteerd kan worden door een andere variant van hetzelfde virus. Het principe is vergelijkbaar met vaccinatie bij mens en dier, waarbij een mild (of niet-infectieus) virus(deel) gebruikt wordt om immuniteit te verkrijgen tegen latere infecties met agressievere varianten van het virus. Net als bij een griepvaccin, is crossprotectie enkel efficiënt wanneer de milde variant representatief is voor de heersende viruspopulatie.

## Beschrijving van de PMV<sup>®</sup>-01 vaccinatie strategie

De PMV<sup>®</sup>-01 vaccinatiestrategie is gebaseerd op het plantvirologische principe ‘**cross-protectie**’. Cross-protectie is een mechanisme waarbij een plant, die geïnfecteerd is met een variant van een bepaald virus, beschermd is tegen daaropvolgende infecties met andere varianten van hetzelfde virus. In het onderzoek werd dit mechanisme vroeger, voor de opmars van moleculaire technieken als PCR en ELISA, gebruikt om verwantschap tussen plantenvirussen te bestuderen. Maar ook in de commerciële teelt van planten werd het mechanisme hier en daar aangewend om teeltgewassen te beschermen tegen virussen door het inbrengen van een milde virusvariant. Het meest bekende voorbeeld is de toepassing van de milde variant MII-16 van TMV (Tabaksmozaïekvirus) in de tomatenteelt in de jaren '70-'80 in Nederland, België en Frankrijk. De strategie werd jarenlang succesvol toegepast, tot de veredelingsindustrie met resistente rassen op de markt kwam.

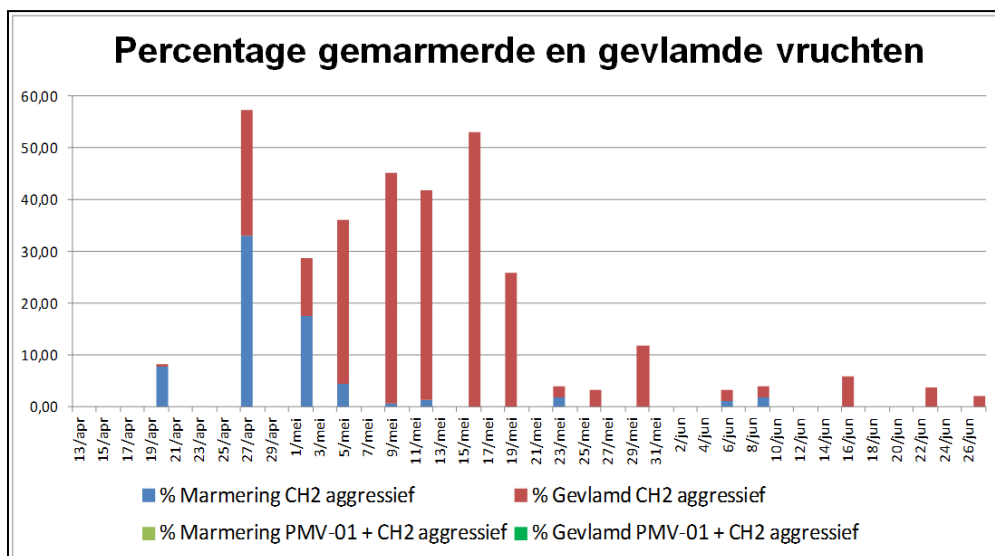
Infectie met het milde virus activeert het ‘**RNA silencing**’ verdedigingsmechanisme in de plant, waardoor een tweede, gelijkaardig virus geen kans meer krijgt om de plant te infecteren. ‘RNA silencing’ is een specifiek verdedigingsmechanisme van planten tegen virussen en meer algemeen tegen vreemd RNA. De plant gebruikt het mechanisme ook voor posttranscriptionele controle van genexpressie. ‘RNA silencing’ werkt op basis van herkenning van RNA sequenties en is dus erg specifiek. De geactiveerde ‘RNA silencing machinery’ reageert enkel op virussen die genetisch sterk verwant zijn met het ingebrachte, milde virus. Specifiek in het geval van PepMV zou dat betekenen dat een mild isolaat van een bepaalde stam enkel bescherming biedt tegen andere isolaten van dezelfde stam, m.a.w. dat je een mild CH2 isolaat moet gebruiken om de plant te beschermen tegen agressieve varianten van de CH2 stam en een mild EU isolaat om bescherming te bekomen tegen agressieve varianten van de EU stam. Ons onderzoek wees echter uit dat we met een mild isolaat van de CH2 stam een zeer goede bescherming bekomen tegen agressieve varianten van de CH2 stam (Figuur 2), maar ook een aanzienlijke bescherming tegen de EU stam (Figuur 3). Een mild isolaat van de EU stam daarentegen bleek absoluut geen bescherming te geven tegen de CH2 stam, en wel integendeel: er ontstaat een menginfectie en die leidt tot een toename van de schade (Figuur 4). Dit verschil is wellicht toe te schrijven aan het biologisch voordeel van de CH2 stam, die nog meer infectieus is dan de EU stam, sneller vermenigvuldigt in de plant, en de ‘RNA silencing’ respons van de plant efficiënter activeert dan de EU stam. Op basis van dit vooronderzoek zijn we op zoek gegaan naar een stabiel, mild isolaat van de dominante CH2 stam om tomatenplanten te vaccineren. Isolaat 1906 werd geselecteerd op basis van een goede kolonisatie van de plant, een goede genetische stabiliteit, en een mild karakter dat in een hele reeks tomatenrassen en onder verschillende

teeltcondities bevestigd werd. Het isolaat veroorzaakt enkel lichte plantsymptomen, die na de toepassing enkele weken aanhouden en dan verdwijnen.

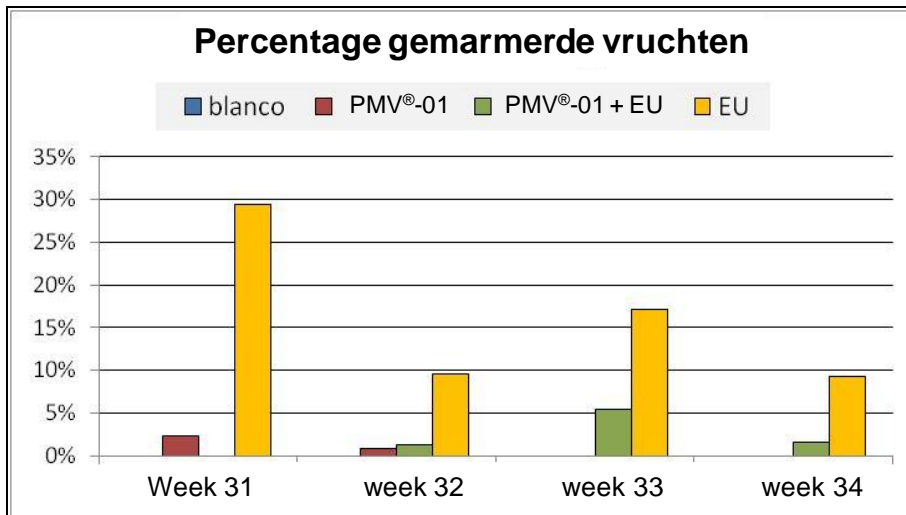
Aan de hand van een groot aantal efficaciteitsproeven over verschillende teeltseizoenen en onder variërende omstandigheden werd een bijzonder goede werking van het vaccin, gebaseerd op isolaat 1906, aangetoond. Gedurende vier opeenvolgende teeltseizoenen werden er vaccinatieproeven uitgevoerd, eerst in plastic tunnels (2008-2009), vervolgens in semicommerciële teelten op de praktijkcentra (2009-2011) en tenslotte ook in commerciële teelten (2011) onder proefonthefing. In de rassenproeven op de beide proefcentra werd het vaccin getest op het merendeel van de tomatenrassen van de Flandria-segmentatie, waarbij het milde karakter steeds bevestigd werd. Het bedrijf De Ceuster N.V. werd bereid gevonden om te investeren in de verdere optimalisatie, registratie en commercialisatie van het vaccin, dat PMV<sup>®</sup>-01 gedoopt werd. De Ceuster N.V. stelde een compleet registratiedossier samen voor de actieve stof volgens de Europese verordening voor gewasbeschermingsmiddelen 1107/2009. Dit dossier bevat onder meer toxicologische studies en ecotoxicologische studies om de veiligheid van mens en milieu te vrijwaren, genetische stabiliteitsstudies, fysico-chemische stabiliteitsstudies, houdbaarheidsstudies, dosis-respons studies, efficaciteitsstudies, ... Het dossier werd ingediend met België (FOD volksgezondheid) als 'rapporteur lidstaat' en is momenteel onder evaluatie. Het Europese evaluatietraject van dergelijke dossiers kan enkele jaren duren. Omwille van de urgentie in de sector en het gebrek aan alternatieve controlematregelen, heeft de Belgische overheid in 2011 reeds een officiële toelating voor PMV<sup>®</sup>-01 verleend aan De Ceuster voor een periode van 120 dagen, volgens artikel 53 van EU verordening 1107/2009. PMV<sup>®</sup>-01 werd in die periode van 120 dagen toegepast op 140 ha tomatenteelt in België, en tevens op 4 ha in Nederland (onder proefonthefing). De ervaringen van de telers waren zeer positief. Ook voor het huidige teeltseizoen (2012-2013) hebben de Belgische en in navolging ook de Nederlandse overheid een 120-dagen toelating verleend voor het gebruik van het PMV<sup>®</sup>-01 vaccin ter voorkoming van schade door PepMV in de tomatenteelt. De toelating liep dit teeltseizoen van 1 november 2012 tot 28 februari 2013. Zowel in Nederland als in België komt PMV<sup>®</sup>-01 ook in aanmerking voor GMO-subsidie. In totaal werd er dit teeltseizoen 440 ha tomaat onder glas behandeld met PMV<sup>®</sup>-01, wat overeenkomt met 36% en 15% van het areaal tomatenteelt in respectievelijk België en Nederland.

PMV<sup>®</sup>-01 omvat niet alleen het vaccin zelf maar ook de hele vaccinatiestrategie. Die strategie start met een bemonstering van het plantgoed vlak voor of vlak na planten, met moleculaire analyses om na te gaan dat het uitgangsmateriaal virusvrij is. Op basis van de resultaten van deze analyses wordt er een advies gegeven aan de teler. Soms wordt vaccinatie afgeraden of in

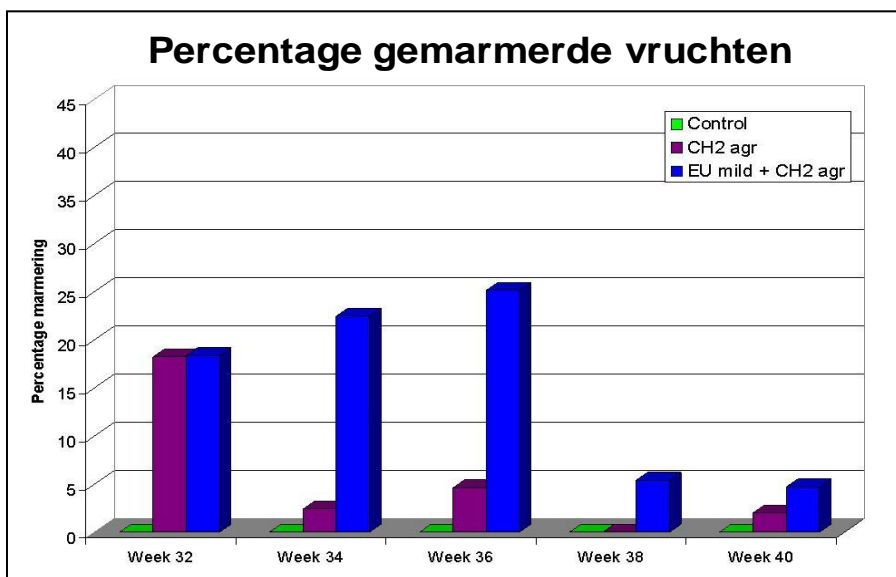
uitzonderlijke gevallen, wanneer er een hoog risico op menginfectie is, zelfs verboden. Vervolgens krijgt de teler gedetailleerde richtlijnen voor de toepassing van het vaccin, die zo snel mogelijk na het planten en ten laatste bij de bloei van de eerste tros dient te gebeuren. Het gaat om een hoge druk spuittoepassing. Na toepassing volgt er minstens één onafhankelijk opvolgbezoek met bemonstering en er indien nodig wordt er doorheen het volledige teeltseizoen ondersteuning gegeven. De onafhankelijke opvolging wordt in België uitgevoerd door onderzoekers van Proefcentrum Hoogstraten of Proefstation voor de Groenteteelt en in Nederland door onderzoekers van de WUR glastuinbouw. Er is momenteel een sterke interesse van tomatentelers en organisaties van tomatentelers buiten België en Nederland en meerbepaald uit Frankrijk, Duitsland, Verenigd Koninkrijk, Zwitserland, Spanje, Polen, Marokko en zelfs de Verenigde Staten en Canada. De Ceuster N.V. is volop bezig met het verdere ontwikkelen en registreren van de PMV<sup>®</sup>-01 vaccinatiestrategie zodat tomatentelers in al deze landen er mogelijk in de toekomst gebruik van zullen kunnen maken. Het onderzoeksconsortium stelt hierbij al haar expertise en ervaring ter beschikking om een zo vlot mogelijke implementatie te bekomen.



**Figuur 2: Werking van PMV<sup>®</sup>-01 tegen een agressief isolaat van de CH2 stam.** GEP (Good Experimental Practice) proef, uitgevoerd in de serres van Proefcentrum Hoogstraten in 2011. Het percentage gemarmerde of gevlamde vruchten per oogsttijdstip is weergegeven in de Y-as. Er waren twee behandelingen: (1) planten die gevaccineerd werden met PMV<sup>®</sup>-01 en nadien geïnoculeerd met een agressief isolaat van de CH2 stam (in het groen) en (2) planten die niet gevaccineerd werden maar wel op dezelfde wijze geïnoculeerd met een agressief isolaat van de CH2 stam (in het blauw en het rood). Gemarmerde en gevlamde vruchten kwamen niet voor in de PMV-01 behandelde plots. De proef werd 4 maal herhaald, met telkens gelijkaardige resultaten. In de niet-gevaccineerde plot werden naast de getoonde kwaliteitsverliezen ook productieverliezen (gewicht) van 7 tot 11% gemeten.



**Figuur 3: Werking van PMV®-01 tegen een agressief isolaat van de EU stam.** Proef uitgevoerd in plastic tunnel van Proefcentrum Hoogstraten in 2010. Het percentage gemarmerde vruchten per oogsttijdstip is weergegeven in de Y-as. Er waren vier behandelingen: (1) planten die gevaccineerd werden met PMV®-01 en nadien geïnoculeerd met een agressief isolaat van de EU stam (in het groen); (2) planten die niet gevaccineerd werden maar wel op dezelfde wijze geïnoculeerd met het agressief isolaat van de EU stam (in het geel); (3) planten die enkel met PMV®-01 behandeld werden; (4) blanco = planten die vrij waren van PepMV. Er waren heel wat minder gemarmerde vruchten in de PMV-01 behandelde plot in vergelijking met de planten niet gevaccineerd werden maar wel geïnoculeerd met een agressief EU isolaat.



**Figuur 4: Werking van een mild isolaat van de EU stam tegen een agressief isolaat van de CH2 stam.** Proef uitgevoerd in plastic tunnel van Proefcentrum Hoogstraten in 2008. Het percentage gemarmerde vruchten per oogsttijdstip is weergegeven in de Y-as. Er waren drie behandelingen: (1) planten die gevaccineerd werden met een mild EU isolaat en nadien met een agressief isolaat van de CH2 stam (in het blauw); (2) planten die niet gevaccineerd werden maar wel op dezelfde wijze geïnoculeerd met het agressief isolaat van de CH2 stam (in het geel); (3) blanco = planten die vrij waren van PepMV. De vaccinatie leidde hier tot een toename van de schade (meer gemarmerde vruchten).

## Duurzaamheid en praktijkvooruitzichten

Het PMV<sup>®</sup>-01 vaccin is een volledig biologisch product, dat gebaseerd is op een extract van tomatenbladeren, dat perfect in de IPM (Integrated Pest Management) strategie past die volop wordt toegepast in de glastuinbouw. Het PMV<sup>®</sup>-01 vaccin maakt de impact van PepMV op de teelt beheersbaar, waardoor de economische schade voor de sector sterk beperkt wordt. Niet alleen worden productieverliezen ten gevolge van PepMV teruggedrongen, ook de vruchtkwaliteit wordt aanzienlijk verbeterd, wat ten goede komt aan de prijsvorming van het product. Op deze manier levert het vaccin een belangrijke bijdrage aan de rendabiliteit en leefbaarheid van de tomatenteelt in aanwezigheid van een bedreigende ziekte zoals PepMV. Het PMV<sup>®</sup>-01 vaccin kadert dus perfect in een duurzame, ecologisch verantwoorde teeltstrategie.

Dankzij de gezamenlijke inspanningen van het onderzoeksconsortium, de veilingen en De Ceuster N.V. is de ontwikkelde PMV<sup>®</sup>-01 vaccinatiestrategie reeds vertaald naar en zelfs toepasbaar in de praktijk. De officiële procedure voor toelating van de actieve stof *pepino mosaic virus*, stam CH2, isolaat 1906 in de Europese Unie en de opname van deze stof in de Annex 1 lijst van EU verordening 1107/2009 is lopende. In afwachting van de Europese goedkeuring werd voor het eindproduct PMV<sup>®</sup>-01 op basis van bovenvermelde actieve stof, zowel in België als Nederland reeds een toelating uitgereikt voor 120 dagen, onder Artikel 53 van VO 1107/2009. In België werd dat zelfs al twee teeltseizoenen op rij gedaan. Uitsluitsel over de Europese toelating wordt verwacht in 2014-2015. In totaal werd de PMV<sup>®</sup>-01 vaccinatiestrategie de voorbije twee jaar al op bijna 600 ha tomaat toegepast. Rekening houdend met de schitterende resultaten in de praktijk, zullen voor het volgende seizoen opnieuw een toelatingen worden aangevraagd in zowel België als Nederland. Vooral in Nederland wordt er een aanzienlijke groei verwacht. De sterke interesse van tomatentelers en organisaties van tomatentelers uit andere landen, waaronder Frankrijk, Duitsland, Verenigd Koninkrijk, Zwitserland, Spanje, Polen, Marokko en zelfs de Verenigde Staten en Canada, toont aan dat het product ook buiten België en Nederland nog een groot potentieel heeft. Concrete stappen om ook in die landen het registratietraject te initiëren, worden bekeken.

## Conclusies

De ontwikkelde PMV<sup>®</sup>-01 vaccinatiestrategie is een duurzaam antwoord op de problematiek van opbrengst- en kwaliteitsverliezen veroorzaakt door Pepinomozaïekvirus, waar tomatentelers wereldwijd reeds jaren mee geconfronteerd worden. De ziekte vormt een ernstige bedreiging voor



de tomatenteelt. Het afgelegde traject van wetenschappelijk onderzoek, toegepast onderzoek, vertaling naar de praktijk, registratie en implementatie is baanbrekend omdat er in de Europese Unie geen precedent was van een officieel toegelaten plantvaccin. De efficiënte, sectorbrede samenwerking tussen de drie onderzoekscentra, de LAVA veilingen en De Ceuster N.V. heeft ertoe geleid dat tomatentelers in België en Nederland nu een duurzame, goed onderbouwde tool in handen hebben om de schade door PepMV in te perken en zo de kwaliteit en opbrengst te verbeteren, zonder negatieve impact op mens, dier en milieu. De sterke interesse van tomatentelers en organisaties van tomatentelers uit andere landen demonstreert het groeipotentieel en toont aan dat de bijdrage die het product kan leveren aan de leefbaarheid en duurzaamheid van de glastuinbouw aanzienlijk is.

### **Wetenschappelijke publicaties:**

Hanssen IM, Paeleman A, Wittemans L, Goen K, Lievens B, Bragard C, Vanachter ACRC, Thomma BPHJ, 2008. Genetic characterization of *Pepino mosaic virus* isolates from Belgian greenhouse tomatoes reveals genetic recombination. *Eur. J. Plant Pathol.* 121: 131-46.

Hanssen IM, Van Bergen L, Vandewoestijne E, Paeleman A, Wittemans LPF, Goen K, Bragard C, Lievens B, Vanachter ACRC, Thomma BPHJ, 2008. Differential symptom expression in tomato caused by different isolates of *Pepino mosaic virus*. *Journal of Plant Pathology* 90, 2 supplement, S2.379.

Hanssen IM, Paeleman A, Van Bergen L, Vandewoestijne E, Wittemans L, Goen K, Vanachter ACRC, Thomma BPHJ, 2009. Survey of symptom expression and damage caused by *Pepino mosaic virus* (PepMV) in commercial tomato production in Belgium. *Acta Hort (ISHS)* 808: 185-192.

Hanssen IM, Paeleman A, Vandewoestijne E, Van Bergen L, Bragard C, Lievens B, Vanachter ACRC, Thomma BPHJ, 2009. *Pepino mosaic virus* isolates and differential symptomatology in tomato. *Plant Pathol.* 58: 450-460.

Hanssen IM, Gutiérrez-Aguirre I, Paeleman A, Goen K, Wittemans L, Lievens B, Vanachter ACRC, Ravnikaar M, Thomma BPHJ, 2010. Cross-protection or enhanced symptom display in greenhouse tomato co-infected with different *Pepino mosaic virus* isolates. *Plant Pathol.* 59: 13-21.

Hanssen IM, Mumford R, Blystad D-R, Cortez I, Hasiów-jareszewska B, Hristova D, Pagán I, Pepeira A-M, Peters J, Pospieszny H, Ravnikaar M, Stijger I, Tomassoli L, Varveri C, van der Vlugt R, Nielsen SL, 2010. Seed transmission of *Pepino mosaic virus* in tomato. *Eur. J. Plant Pathol.* 126: 145-152.

Hanssen IM, Thomma BPHJ, 2010. *Pepino mosaic virus*: a successful pathogen that rapidly emerged from emerging to endemic in tomato crops. *Mol. Plant Pathol.* 11: 179-189.

Hanssen IM, Lapidot M, Thomma BPHJ, 2010. Emerging viral diseases of tomato crops. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 23: 539-548.

Hanssen IM, van Esse HP, Ballester A-R, Hogewoning SW, Parra NO, Paeleman A, Lievens B, Bovy AG, Thomma BPH, 2011. Differential tomato transcriptomic responses induced by *Pepino mosaic virus* isolates with differential aggressiveness. *Plant Physiology* 156:301-318.

De Nayer F, Goen K, Paeleman A, Parra NO, Vanachter ACRC, Wittemans L, Vandewoestijne E and Hanssen IM. 2011. Cross-protection as a control strategy for *Pepino mosaic virus* (PepMV) in greenhouse tomato. *Acta Hort.* (ISHS) 914:163-169

Hanssen IM, Lapidot M, in press. Major tomato viruses in Mediterranean Basin. Book Chapter in 'Advances in Virus Research, Volume 84: Viruses and Virus Diseases of Vegetables in the Mediterranean Basin'. Ed Loebenstein G, Elsevier.

Hasiów-Jaroszewska B, Paeleman A, Parra NO, Borodynko N, Byczyk J, Czerowniec A, Thomma BPHJ, Hanssen IM. Ratio of mutated versus wildtype coat protein sequences in Pepino mosaic virus determines nature and severity of yellowing symptoms on tomato plants. Recently submitted to *Molecular Plant Pathology*.

### **Mondelinge presentaties op congressen en workshops:**

The 2nd International Symposium on Tomato Diseases (ISTD) October 8–12, 2007, Kusadasi, Turkey: I.M. Hanssen, A. Paeleman, K. Goen, L.P.F. Wittemans, Bart Lievens, Claude Bragard, Alfons C.R.C. Vanachter, Bart P.H.J. Thomma. Phylogenetic characterization of Pepino mosaic virus infecting tomato crops in Belgium.

The 3rd Conference of the International Working Group on Legume and Vegetable Viruses (IWGLVV) August 20– 23, 2008, Ljubljana, Slovenia: I. M. Hanssen, A. Paeleman, L. Van Bergen, E. Vandewoestijne, A. C.R.C. Vanachter, B. Lievens and B. P.H.J. Thomma. A sensitive RT-PCR detection method reveals the occurrence of latent Pepino Mosaic Virus (PepMV) infections that are not detectable by ELISA.

Spring School RNAi & the world of small RNA molecules, April 14-16, 2010, Wageningen, the Netherlands: I.M. Hanssen, H. P. Van Esse, A. Paeleman, B. Lievens & B.P.H.J. Thomma. RNA silencing plays a role in PepMV symptomatology and cross-protection in tomato.

Plant Viruses: Exploiting Agricultural and Natural Ecosystems. 11th Int. Plant Virus Epidemiology Symposium & 3rd workshop of the Plant Virus Ecology Network, June 20-24, 2010, Cornell University, Ithaca, New York, United States: I.M. Hanssen, H.P. Van Esse, A. Paeleman, I. Gutiérrez-Aguirre, K. Goen, L. Wittemans, B. Lievens, M. Ravnikar and B.P.H.J. Thomma. Mild and aggressive PepMV isolates: tomato transcriptomic responses and the potential of cross-protection as a control strategy.

3rd International Symposium on Tomato Diseases, July 25-30, 2010, Ischia, Naples, Italy: F. De Nayer, A. Paeleman, K. Goen, L. Wittemans, E. Vandewoestijne, A.C.R.C. Vanachter and I.M. Hanssen. Cross-protection as control strategy for PepMV in greenhouse tomato. Invited lecture and co-chair of virology session.

The 3rd Conference of the international Working Group on Legume and Vegetable Viruses (IWGLVV), May 16-20, 2011, Antequera, Spain. Differential transcriptomic changes induced by a mild and an aggressive isolate of Pepino mosaic virus infecting tomato seedlings. I.M. Hanssen, H.P. Van Esse, A.-R. Ballester, S.W. Hogewoning, A. Paeleman, A.G. Bovy and B.P.H.J. Thomma.

FA0806 'RNA vaccines for control of plant virus diseases': Working Group and Management Meeting, September 2011, CIRAD, Montpellier, France. Vaccination using mild isolates or dsRNA to control Pepino mosaic virus in greenhouse tomato. I.M. Hanssen.

### **Publicaties in vaktijdschriften**

Hanssen I, Van Bergen L, Goen K, Vanderbruggen R, Wittemans L, Vandewoestijne E, Vanachter A, 2006. Naar een betere beheersbaarheid van Pepinomozaïekvirus in de Vlaamse tomatenteelt. *Proeftuinnieuws* 5: 26-28.

- Van Bergen L, Wittemans L, Hanssen I, 2006. Update Pepinomozaïekvirus in de Vlaamse tomatenteelt. Proeftuinnieuws 10: 45.
- Van Bergen L, Paeleman A, Goen K, Wittemans L, Vandewoestijne E, Hanssen I, 2006. Update Pepinomozaïekvirus in de Vlaamse tomatenteelt. Proeftuinnieuws 12, 41.
- Hanssen I, 2006. Onderzoek over Pepinomozaïekvirus in de tomatenteelt: stand van zaken. Proeftuinnieuws 14/15: 24-26.
- Hanssen I, Paeleman A, Goen K, Van Bergen L, Wittemans L, Vandewoestijne E, Vanachter A, 2006. Update Pepinomozaïekvirus in de Vlaamse tomatenteelt. Proeftuinnieuws 18: 36.
- Hanssen I, Paeleman A, Goen K, Van Bergen L, Wittemans L, Vandewoestijne E, Vanachter A, 2006. Update Pepinomozaïekvirus in de Vlaamse tomatenteelt. Proeftuinnieuws 20: 35.
- Wittemans L, Vandewoestijne E, Goen K, Van Bergen L, Vanachter A, Paeleman A, Hanssen I, 2007. Update PepMV in de Vlaamse tomatenteelt. Proeftuinnieuws 6, 36.
- Hanssen I, Wittemans L, Goen K, 2007. Viroiden in tomaat. Proeftuinnieuws 7: 41.
- Wittemans L, Vandewoestijne E, Goen K, Van Bergen L, Vanachter A, Paeleman A, Hanssen I, 2007. Pepinomozaïekvirus (PepMV) nog steeds in opmars in tomatenteelt. Proeftuinnieuws 14/15: 26-28.
- Van Bergen L, Vandewoestijne E, Hanssen I, 2007. Efficiëntie van ontsmettingsmiddelen bij teeltwissel. Proeftuinnieuws 22: 8-9.
- Vandewoestijne E, Van Bergen L, Hanssen I, 2007. Pepinomozaïekvirus: bevindingen voorbij teeltseizoen. Proeftuinnieuws 23: 9.
- Paeleman A, Vanachter A, Wittemans L, Vandewoestijne E, Goen K, Van Bergen L, Hanssen I, 2008. Zaad als mogelijke bron van PepMV-besmetting. Proeftuinnieuws 10: 53.
- Hanssen I, Van Bergen L, Goen K, Wittemans L, Vandewoestijne E, Paeleman A, Vanachter F, 2008. Zin en onzin van cross-protectie voor de beheersing van PepMV. Proeftuinnieuws 14: 17.
- Hanssen I, Van Bergen L, Goen K, Wittemans L, Vandewoestijne E, Paeleman A, Vanachter A, 2008. Verschillende isolaten van eenzelfde PepMV-stam kunnen verschillen in agressiviteit. Proeftuinnieuws 15: 21-23.
- Hanssen I, Van Bergen L, Goen K, Wittemans L, Vandewoestijne E, Paeleman A, Vanachter F, 2008. Zin en onzin van cross-protectie voor de beheersing van PepMV – PepMV in de tomatenteelt. Proeftuinnieuws 23: 8-10.
- Wittemans L, Vandewoestijne E, Goen K, Hanssen I, 2009. Hygiëne: goed begonnen is maar half gewonnen. Proeftuinnieuws 2: 36.
- Vandewoestijne E, Goen K, Hanssen I, 2010. Verschuivingen in PepMV populatie tussen 2006 en 2009. Proeftuinnieuws 2:12-13.
- De Nayer F, Goen K, Wittemans L, Vandewoestijne E, Paeleman A, Vanachter A, Hanssen I, 2010. Crossprotectie ter beheersing van PepMV: veelbelovend onder strikte voorwaarden. Proeftuinnieuws 3: 17-19.
- Vanbriel M, Wittemans L, De Nayer F, Goen K, Hanssen I. 2011. Invloed van klimaat op symptoomexpressie PepMV. Proeftuinnieuws 14: 38.
- De Nayer F, Moerkens R, Goen K, Vanbriel M, Wittemans L, Paeleman A, Hanssen I, 2011. Vaccinatie met mild CH2 isolaat biedt goede bescherming tegen PepMV. Proeftuinnieuws 14: 36-37.

Hanssen I, Moerkens R, Goen K, Wuytack M, Wittemans L, 2012. Vaccinatie tegen PepMV met PMV®-01: stand van zaken. Proeftuinnieuws 14: 38.

Moerkens R, Wittemans L, Wuytack M, Hanssen I, 2013. PMV-01 vaccinatie goed gestart. Proeftuinnieuws 6: 6.

## **Beschrijving van de onderzoekspartners**

### Scientia Terrae (ST) (coördinator van het PMV-01 onderzoek)

ST vzw werd opgericht in oktober 2001 en is een onafhankelijk onderzoeks- en dienstencentrum voor de tuinbouw- en de levensmiddelensector. ST heeft een sterke expertise in fytopathologie, nutriëntenbeheer en bodemvruchtbaarheid en heeft als missie het vertalen van fundamenteel wetenschappelijk onderzoek naar gebruiksklare praktijkoplossingen. ST heeft zeer goed uitgeruste, moderne laboratoria met geavanceerde apparatuur voor moleculaire biologie. Wereldwijde contacten en samenwerking met experts in universiteiten en onderzoeksinstituten zijn belangrijke troeven.

### Proefstation voor de Groenteteelt (PSKW)

Het PSKW heeft een jarenlange ervaring in onderzoek voor de teelt van groenten onder glas vollegrondsgroenten. Het PSKW voert zowel praktijkonderzoek als toegepast wetenschappelijk onderzoek uit rond de volgende onderzoeksthema's: rassen, teelttechniek, bemesting, water, ziekten en plagen, energie, nieuwe teeltsystemen en afvalbeheer. Doorstroming van de resultaten naar de telers is georganiseerd via technisch comités, open dagen, het vakblad Proeftuinnieuws, studieavonden en een nauwe samenwerking met voorlichtingsdiensten doorheen de keten.

### Proefcentrum Hoogstraten (PCH)

Het PCH is een onderzoeks- en voorlichtingscentrum actief in de aardbeienteelt en in de teelt van groenten onder glas (tomaat en paprika). Er wordt zowel toegepast wetenschappelijk als praktijkgericht onderzoek uitgevoerd in verschillende domeinen: rassen en gebruikswaarde, teelttechniek, bemesting, irrigatie, energie, nieuwe teelttechnieken en ziekten en plagen. Door regelmatige bijeenkomsten van de werkgroepen is de inspraak van de sector in het onderzoek gegarandeerd en via rondgangen, studieavonden, opendeurdagen en publicaties in vaktijdschriften en op de website wordt een snelle doorstroming van de proefresultaten naar de telers mogelijk gemaakt.

## **Bijlagen: Curricula Vitae van de auteurs**

Bijlage 1: CV Inge Hanssen – Scientia Terrae vzw (sinds 1 april 2013 DCM)

Bijlage 2: CV Lieve Wittemans – Proefstation voor de Groenteteelt

Bijlage 3: CV Rob Moerkens – Proefcentrum Hoogstraten