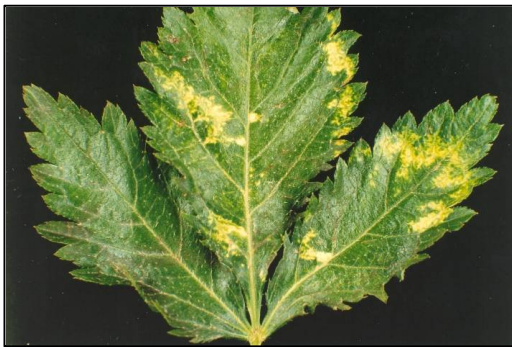


Inventarisatie virussen in vaste planten



december 2007

E.T.M. Meekes (Naktuinbouw)
D.H. van Pouderoijen (Naktuinbouw)
C.C.M.M. Stijger (PPO Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit)

Inhoudsopgave

Inhoudsopgave	1
Inleiding	2
Werkwijze en opzet bemonstering	3
1. Geslachten	3
2. Bedrijven (vaste plantenkwekers)	3
3. Zomerbloementelers	3
4. Tuincentra	3
5. Moederplantentuin Naktuinbouw	4
6. Virussen	4
7. Monstername	4
Resultaten	6
1. Bedrijven	6
2. Zomerbloementelers	6
3. Tuincentra	6
4. Moederplantentuin	6
Discussie / Conclusie	7
Literatuur	8

Inleiding

De sector vaste planten is de laatste jaren geconfronteerd met een aantal virusproblemen die de exportpositie van Nederland naar een aantal landen, waaronder de Verenigde Staten (VS), onder druk heeft gezet.

In *Hosta* werd *Hosta-virus X* (HVX) voor het eerst vastgesteld in 2004. In 2006 werd de quarantaineziekte tabakskringvlekkenvirus (TRSV) in *Hemerocallis* en *Iris* gevonden. Daarnaast kunnen in vaste planten virussen voorkomen die in Europa geen quarantainestatus hebben, maar in landen buiten Europa wel een quarantainestatus hebben. Een voorbeeld hiervan is *Arabis*-mozaïekvirus (ArMV) dat een quarantaine status heeft in o.a. China en Japan.

Teneinde de problematiek rondom virussen in vaste planten inzichtelijk en mogelijk beheersbaar te maken is het noodzakelijk te weten welke virussen, en in welke mate, deze in de sector vaste planten in Nederland voorkomen.

In overleg met de Werkgroep Select Plant® Vaste Planten is besloten tot het uitvoeren van een inventarisatie gericht op vegetatief vermeerderde gewassen van 16 geslachten die circa 80% van de financiële omzet voor hun rekening nemen.

De inventarisatie dient een beeld te geven van de virusstatus in de vaste planten in Nederland. Aan de hand van deze informatie kunnen, indien gewenst en/of noodzakelijk certificeringsprogramma's (Select Plant®, Naktuinbouw Elite®) worden opgezet of geactualiseerd.

Verder kunnen bedrijven met deze informatie ook zelf materiaal bemonsteren en laten toetsen om "gezonde" partijen op te bouwen voor verdere vermeerdering.

De inventarisatie is uitgevoerd door Naktuinbouw en PPO Bloembollen, boomkwekerij en fruit (PPO BBF). Gestart is met een literatuuronderzoek naar virussen in vaste planten. Vervolgens heeft Naktuinbouw monsters genomen. Het merendeel van de geslachten is getoetst bij Naktuinbouw, met uitzondering van *Agapanthus* en *Iris*, deze zijn getoetst bij PPO BBF.

Het project is financieel ondersteund door het Productschap Tuinbouw, Rabobank Bollenstreek en Naktuinbouw. Zij hebben elk $\frac{1}{3}$ deel van de projectkosten bekostigd.

Werkwijze en opzet bemonstering

1. Geslachten

In overleg met de Werkgroep Select Plant® Vaste Planten van Naktuinbouw, waarin Anthos, Vereniging van Vasteplantenkwekers van de Nederlandse Bond van Boomkwekers (VVP), Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. (PPO) is vertegenwoordigd, is besloten tot het uitvoeren van een virusinventarisatie in vegetatief vermeerderde gewassen (landplanten) van 16 geslachten die circa 80% van de financiële omzet van vaste planten voor hun rekening nemen.

In de inventarisatie betrokken geslachten zijn:

Aconitum, Agapanthus, Anemone, Astilbe, Campanula, Convallaria, Dicentra, Echinacea, Epimedium, Geranium, Hemerocallis, Heuchera, Hosta, Iris, Paeonia, Phlox.

2. Bedrijven (vaste plantenkwekers)

In 2007 waren bij Naktuinbouw 603 bedrijven geregistreerd die vaste planten vermeerderen en/of verhandelen. Deze bedrijven liggen verspreid over Nederland, waarbij de meeste bedrijven in De Bollenstreek en omgeving zijn gesitueerd.

Naktuinbouw heeft uit het totaal van deze 603 bedrijven 49 bedrijven geselecteerd die een groot aantal van de bovengenoemde gewassen telen en/of vermeerderen. De betreffende bedrijven liggen verspreid over Nederland zodat alle teeltgebieden (regio's) in het inventarisatie zijn meegenomen.

3. Zomerbloementelers

Naktuinbouw heeft uit het totaal van 603 bedrijven 14 bedrijven geselecteerd die gewassen telen voor de productie van snijbloemen en/of vermeerderen van de geslachten *Aconitum, Agapanthus, Astilbe, Phlox* en *Paeonia*. De betreffende bedrijven liggen in de regio Bollenstreek en Noord-Holland.

4. Tuincentra

Verder heeft Naktuinbouw zes landelijk en lokaal opererende tuincentra geselecteerd die planten verkopen van de geslachten *Aconitum, Agapanthus, Astilbe, Phlox* en *Paeonia*. De betreffende tuincentra liggen in het westen van het land.

5. Moederplantentuin Naktuinbouw

In Roelofarendsveen ligt op het terrein van Naktuinbouw de “Moederplantentuin” voor vaste planten. Deze sortimentstuin, bestaande uit rasechte vaste planten, dient als referentiekader voor de sector. De meest verhandelde vaste planten, circa 3.000 rassen, staan hier bij elkaar opgeplant. De betreffende planten zijn afkomstig van Nederlandse bedrijven die vaste planten vermeerderen. Naktuinbouw heeft alle opgeplante rassen van alle in de inventarisatie betrokken geslachten meegenomen in het onderzoek.

6. Virussen

Begin 2007 heeft Naktuinbouw, in samenwerking met PPO BBF, voor deze 16 geslachten aan de hand van literatuurgegevens, virologische kennis en ervaring uit de praktijk een inschatting gemaakt van de voor deze geslachten meest relevante virussen. Er is gekozen voor het meenemen van een aantal algemeen voorkomende virussen en geslachtsspecifieke virussen, dan wel virussen waarvoor mogelijk een toetsingsplicht gaat gelden voor export naar de VS, zie tabel 1.

Voor veel virussen die in vaste planten kunnen voorkomen bestaan goede toetsmethoden gebaseerd op Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA). Hierbij wordt het virus door een antistof gebonden en deze reactie wordt zichtbaar gemaakt m.b.v. een kleurstof. Ter controle dient aantoonbaar ziek en aantoonbaar gezond materiaal meegetoetst te worden teneinde te kunnen vaststellen of de toets betrouwbaar verloopt. ELISA leent zich goed voor het routinematig screenen van monsters omdat in een korte tijd veel monsters kunnen worden verwerkt. Vanwege het grote aantal monsters en toetsingen (> 20.000) is gekozen voor deze toetsmethode.

7. Monstername

Om een zo betrouwbaar mogelijke toetsing te kunnen uitvoeren is het van belang te bepalen welk deel van de plant moet worden bemonsterd en wanneer deze bemonstering moet plaatsvinden. Hierbij is gebruik gemaakt van de al aanwezige kennis. Zo is met het bemonsteren en toetsen van *Hosta* op HVX inmiddels enkele jaren ervaring opgedaan. Daarbij is duidelijk geworden dat het moment van monstername niet te vroeg in het groeiseizoen moet plaatsvinden omdat HVX dan nog onvoldoende in de plant is opgebouwd en dus niet aantoonbaar is. Verder is in het algemeen de ervaring dat een blad goed toetsbaar is mits het blad niet te jong of te oud is en mits het virus gelijk over de plant verdeeld is.

In de inventarisatie is daarom besloten de monsters vanaf eind juli tot eind september te nemen en daarvoor volgroeide (niet verouderde) bladeren te gebruiken. De monsters zijn genomen door hiertoe gekwalificeerde keurmeesters van Naktuinbouw.

Per geslacht zijn circa 10-25 willekeurige partijen visueel op virusverschijnselen beoordeeld door een keurmeester van Naktuinbouw. De resultaten van deze beoordelingen zijn vastgelegd op een beoordelingsformulier. Daarna zijn de partijen aselekt bemonsterd.

Van de twee belangrijkste geslachten (*Hosta*, *Hemerocallis*) is het dubbele aantal partijen bemonsterd.

Elk monster bestond uit 10 bladeren, die individueel zijn getoetst in het laboratorium van Naktuinbouw of PPO BBF.

Tabel 1: Overzicht van bemonsterde geslachten bij bedrijven, zomerbloemtelers, tuincentra en moederplantentuin en de virussen waarop deze gewassen getoetst.

Bedrijven (49)					
Geslacht	Virus algemeen	acroniem	Geslacht	Virus specifiek	acroniem
Aconitum, Agapanthus, Anemone, Astilbe, Campanula, Convallaria, Dicentra, Echinacea, Epimedium, Geranium, Hemerocallis, Heuchera, Hosta, Iris, Paeonia, Phlox	komkommermozaïekvirus Arabid-mozaïekvirus tabaksratelvirus Potyvirus	CMV-A ArMV TRV - ¹	<i>Hosta</i>	<i>Hosta</i> -virus X	HVX
			<i>Anemone</i> <i>Astilbe</i>	tabaksnecrosevirus stam 1 tabaksnecrosevirus stam 2	TNV1 TNV2
			<i>Iris</i>	irisingrijsvirus irismozaïekvirus latent narcissenvirus	ISMV IMMV NLV
			<i>Agapanthus</i>	<i>Nerine</i> -virus X	NVX
Zomerbloemtelers (14)					
Geslacht	Virus algemeen	acroniem	Geslacht	Virus specifiek	acroniem
Aconitum, Agapanthus, Astilbe, Paeonia, Phlox	komkommermozaïekvirus Arabid-mozaïekvirus tabaksratelvirus Potyvirus	CMV-A ArMV TRV -	<i>Astilbe</i>	tabaksnecrosevirus stam 1 tabaksnecrosevirus stam 2	TNV1 TNV2
			<i>Phlox</i>	luzernemozaïekvirus	AMV
Tuincentra (6)					
Geslacht	Virus algemeen	acroniem	Geslacht	Virus specifiek	acroniem
<i>Anemone, Astilbe,</i> <i>Echinacea,</i> <i>Hemerocallis,</i> <i>Hosta, Iris</i>	komkommermozaïekvirus Arabid-mozaïekvirus tabaksratelvirus potyvirus	CMV-A ArMV TRV -	<i>Anemone</i> <i>Echinacea</i>	tomatenkringvlekkenvirus	ToRSV
			<i>Astilbe,</i> <i>Phlox</i>	tomatenzwartkringvirus tabakskringvlekkenvirus	TBRV TRSV
			<i>Iris</i>	tabakskringvlekkenvirus	TRSV
			<i>Hemerocallis</i> <i>Hosta</i>	tabakskringvlekkenvirus tomatenkringvlekkenvirus	TRSV ToRSV
Moederplantentuin					
Geslacht	Virus algemeen	acroniem	Geslacht	Virus specifiek	acroniem
Aconitum, Agapanthus, Anemone, Astilbe, Campanula, Convallaria, Dicentra, Echinacea, Epimedium, Geranium, Hemerocallis, Heuchera, Hosta, Iris, Paeonia, Phlox	komkommermozaïekvirus Arabid-mozaïekvirus tabaksratelvirus potyvirus	CMV-A ArMV TRV -	<i>Hosta</i>	<i>Hosta</i> virus X	HVX
			<i>Anemone,</i>	tabaksnecrosevirus stam 1 tabaksnecrosevirus stam 2	TNV1 TNV2
			<i>Astilbe</i>		
			<i>Iris</i>	irisingrijsvirus irismozaïekvirus latent narcissenvirus	ISMV IMMV NLV
<i>Agapanthus</i>	<i>Nerine</i> -virus X	NVX			

¹ Potyvirus is een virusgeslacht bestaande uit zeer veel verschillende soorten. Een groot deel van deze soorten worden gedetecteerd m.b.v. een algemene Potyvirus ELISA

Resultaten

1. Bedrijven

Bij de 49 bedrijven zijn in totaal van 254 partijen 2540 bladmonsters genomen uit 16 geslachten. Deze monsters zijn getoetst op de basisvirussen, te weten ArMV, CMV, potyvirus en TRV. Enkele gewassen zijn, naast deze basisvirussen ook getoetst op een aantal gewasspecifieke virussen.

Uit de toetsresultaten blijkt dat in het merendeel van de geslachten nauwelijks virus is aangetoond, zo is bijvoorbeeld in *Hemerocallis* geen van de getoetste virussen gevonden en in minder dan 7% van de *Hosta*-monsters HVX is aangetoond. Uit de toetsingen blijkt echter ook dat in gewassen als *Campanula*, *Phlox* en *Iris* enkele virussen in meer dan 20% van de monsters is aangetoond.

Van de virussen die zijn aangetoond komt CMV het breedst voor, namelijk in 9 van de 16 getoetste geslachten, gevolgd door TRV en ArMV respectievelijk in 8 v/d 16 en 6 v/d 16 geslachten.

Ook blijkt uit de gegevens dat een aantal virussen symptoomloos voorkomt, zo zijn bijv. in *Campanula* besmet met ArMV en in *Aconitum* of *Agapanthus* besmet met CMV geen visuele symptomen waargenomen.

2. Zomerbloemtelers

Bij 14 zomerbloemtelers zijn vijf geslachten bemonsterd. Voor deze vijf geslachten komen de resultaten voor de aangetroffen virussen overeen met de gegevens van de vaste planten bedrijven. Vanwege het beperkt aantal monsters moeten aan deze gegevens geen zwaarwegende conclusies worden gehangen.

3. Tuincentra

Bij zes tuincentra zijn monsters genomen voor toetsing op een aantal quarantainevirussen. Helaas was het seizoen voor vaste planten nagenoeg afgelopen, waardoor de keuze beperkt was en de kwaliteit van het materiaal zeer wisselend. Uit de resultaten blijkt dat in geen van de monsters een quarantainevirus is aangetoond, wel is in *Astilbe* tomatenzwartkringvirus (TBRV) aangetoond. Hierbij moet worden opgemerkt dat TBRV in de EU alleen een quarantainestatus heeft voor *Fragaria* (aardbei) en *Rubus* (braam, framboos e.d.) en dus niet voor *Astilbe*.

4. Moederplantentuin

Ook de resultaten voor de bemonsterde planten in de moederplantentuin komen in grote lijnen overeen met de gegevens van de vaste planten bedrijven en zomerbloemtelers. Alleen bij *Iris* liggen de besmettingspercentages over de hele linie iets hoger dan besmettingspercentages van *Iris* bij de bedrijven.

Discussie / Conclusie

Uit bovenstaande inventarisatie komt naar voren dat besmettingspercentages voor de onderzochte virussen voor een groot aantal geslachten laag is: zo ligt het percentage besmette monsters bij *Anemone*, *Astilbe*, *Convallaria*, *Echinacea*, *Heuchera*, *Hosta* en *Paeonia* tussen 0 tot 10% en is in *Hemerocallis* zelfs helemaal geen virus aangetoond. Ook komt naar voren dat een aantal gewassen zwaarder is besmet, zoals *Iris*, *Campanula* en *Phlox*.

Bij de gegevens moeten enkele kanttekeningen geplaatst worden. Ten eerste is de besmettingsgraad met TRV waarschijnlijk onderschat. Dit virus kan namelijk zonder eiwitmantel voorkomen waardoor het niet met ELISA, maar alleen met PCR (moleculaire methode) aantoonbaar is. Deze methode voerde te ver voor deze inventarisatie, gezien het uitvoeren van een PCR veel tijd (en geld) vergt. De verwachting is echter dat de twee vormen van dit virus in veel gevallen gezamenlijk voorkomen, dus hoewel het besmettingspercentage mogelijk een onderschatting zijn (zoals bij bijv. *Paeonia*), zijn de geslachten waar mogelijk problemen zouden kunnen optreden in beeld gebracht. Echter voor export naar de VS komen steeds meer vragen of materiaal m.b.v. PCR getoetst kan worden, dus hieraan moet wel aandacht besteed worden.

De lijst met virussen waarop deze gewassen zijn getoetst is gebaseerd op literatuur-gegevens en aanwezige kennis bij Naktuinbouw en PPO BBF. Er kunnen mogelijk andere (onbekende) virussen een rol spelen, maar bij deze inventarisatie hebben wij ons beperkt tot de meest voorkomende en bekende virussen, waar routinematig op getoetst kan worden. Bij aanwezigheid van symptomen is het verstandig om breder te toetsen dan de virussen die in deze inventarisatie genoemd zijn. In de VS is bijvoorbeeld in *Anemone* TMV aangetoond. Hierop is in Nederland een aanvullende toetsing uitgevoerd maar dit virus is niet aangetoond.

Virusconcentraties kunnen fluctueren met seizoenen en virussen kunnen ongelijk verdeeld in een plant voorkomen. Zo is voor *Hosta* bekend dat, wanneer een plant in het voorjaar wordt uitgeplant, het tot de zomer duurt voordat *Hosta*-virus X in het blad goed detecteerbaar is. Wortelmonsters daarentegen bevatten sowieso hoge concentraties virus, overwinterende planten hebben al veel eerder een voldoende hoge virusconcentratie in het blad. Voor veel geslachten is dergelijke specifieke informatie over het optimale moment voor monsternamen en het optimale monster (welk gedeelte van de plant) nog niet goed uitgezocht. Bij deze inventarisatie is daarom de kennis rond *Hosta* als uitgangspunt genomen, immers, veel vaste planten worden in het voorjaar opnieuw uitgeplant en om die reden is de bemonstering uitgevoerd in augustus. In de toekomst zal er meer kennis verzameld moeten worden, waardoor de monsternamen en toetsing op een zo betrouwbaar mogelijke manier kan worden uitgevoerd.

CMV is het meest voorkomende virus in de verschillende geslachten. Dit is niet verwonderlijk, omdat dit virus heel gemakkelijk door veel verschillende soorten bladluizen kan worden overgebracht. De aanwezigheid van CMV in *Iris* is in zoverre opmerkelijk omdat hier in literatuur weinig melding van wordt gemaakt. De verwachting was dat juist *Iris*-specifieke virussen zoals irisgrijsvirus en irismozaïekvirus meer zouden voorkomen (Van der Vlugt en Derks, 1995). Veel onderzoek naar virussen in *Iris* is echter gericht op bolirissen (*Iris* subgeslacht *Xiphium*, *Nepalensis*, *Scorpiris*, *Hermadactyloides*) en minder op rhizoomirissen (*Iris* subgeslacht *Iris* of *Limniris*, vaste planten). Het is goed mogelijk dat in rhizoomirissen andere virussen een rol spelen dan in bolirissen.

Verder komt uit de inventarisatie naar voren dat een aantal virussen symptoomloos kan voorkomen. Dit blijkt uit het aantal partijen waarin geen symptomen zijn waargenomen en soms toch virus is aangetoond. Symptomen als groeiremming, aantal bloemen per plant e.d. die (mede)veroorzaakt kunnen worden door een virusinfectie zullen in het veld moeilijker te beoordelen zijn dan bijv. kringvlekken op bladeren. Van sommige virussen is echter bekend dat deze vaak symptoomloos voorkomen. Het kan dus niet zonder meer gezegd worden dat symptoomloze virussen geen (groei)schade veroorzaken.

Uit de resultaten van deze inventarisatie blijkt dat een aanzienlijk deel (70-80%) van het handelssortiment nagenoeg vrij is van virus. Het toetsen van partijen teeltmateriaal (gewassen) biedt de bedrijven de mogelijkheid meer inzicht te krijgen in de virusstatus van hun gewassen (uitvoeren virusscan) en daarmee handvatten om gezond materiaal op te bouwen voor verdere vermeerdering. Een oriëntatiemonster op circa 25 bladmonsters die willekeurig uit het gewas worden genomen geeft een goede eerste indicatie.

Deze resultaten bieden perspectief voor het opzetten van certificeringsprogramma's, waarbij gestart kan worden met gewassen waarin relatief weinig virus voorkomt.

Literatuur

C.I.M. van der Vlugt en A.F.L.M. Derks. *Iris*. In: *Virus and virus-like diseases of bulb and flower crops* (eds. G. Loebenstein, R.H. Lawson, A.A. Brunt), pag. 303-312.