



Komkommerbontvirus en recirculatie van drainwater

Ineke Stijger, Roel Hamelink



Referaat

In het onderzoek is vastgesteld dat komkommerbontvirus via water kan worden verspreid. Lang voordat er symptomen op de plant verschijnen, kan deze verspreiding al plaatsvinden. Het is dus zaak om al het drainwater te ontsmetten om zo een verspreiding van komkommerbontvirus tegen te gaan. Daarnaast moet bij een teeltwisseling er voor worden gezorgd dat al het wortelmateriaal grondig wordt verwijderd.

Abstract

In this project it has been determined that cucumber green mottle mosaic virus could spread by water. The spread of the virus already takes place long before any symptoms on the leaves appear. So it is very important to disinfect all the drain water to prevent the spread of cucumber green mottle mosaic virus. In addition it is necessary to ensure that all root material is thoroughly removed during crop rotation.

© 2013 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) onderzoeksinstituut Wageningen UR Glastuinbouw.

Wageningen UR Glastuinbouw

Adres : Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk
: Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk
Tel. : 0317 - 48 56 06
Fax : 010 - 522 51 93
E-mail : glastuinbouw@wur.nl
Internet : www.glastuinbouw.wur.nl

Inhoudsopgave

	Samenvatting	5
1	Inleiding	7
	1.1 Doel van het onderzoek	7
2	Materiaal en Methoden	9
	2.1 Onderdeel A: Kasproef	9
	2.2 Onderdeel B: Bemonstering in de praktijk	10
3	Resultaten	11
	3.1 Onderdeel A: Kasproef	11
	3.2 Onderdeel B: Bemonstering in de praktijk	12
4	Discussie en conclusie	15
Bijlage I	Resultaten toetsing watermonsters	17

Samenvatting

Inleiding

Het wordt steeds noodzakelijker om lozing van drainwater met nutriënten en eventueel gewasbeschermingsmiddelen te beperken. Om dit te bereiken wordt het drainwater van teelten die los van de ondergrond op verschillende substraten worden geteeld gerecirculeerd. In dit recirculatiewater kunnen bepaalde pathogenen (ziekteverwekkers) voorkomen. Komkommerbontvirus is daar mogelijk één van. Dit virus kan zeer gemakkelijk mechanisch worden overgedragen bij alle gewashandelingen maar ook via zaad. Een verspreiding via het water moet dan ook niet worden uitgesloten en daarom is ontsmetting van het water voor hergebruik noodzakelijk. Door de jaren heen zijn diverse drainwaterontsmetters ontwikkeld, geïntroduceerd en ook weer verdwenen. In dit project is nagegaan wat op dit moment de meest gebruikte ontsmetters zijn in de komkommerteelt.

Daarbij is ook gekeken naar de gebruikte filters die voor de apparatuur zijn geïnstalleerd om zoveel mogelijk organische (wortel) resten tegen te houden en het ontsmettingsproces te optimaliseren.

Doel van dit onderzoek was:

- Nagaan of het komkommerbontvirus kan overleven in recirculatie en of dit water een mogelijk bron is voor verdere verspreiding van het virus en herinfectie van het gewas.
- Bepalen van de effectiviteit van ontsmettingssystemen tegen komkommerbontvirus in recirculatiewater.

Dit project was verdeeld in twee onderdelen te weten een kasproef en een bemonstering in de praktijk.

Resultaten

A. Kasproef

In de kasproef is 42 dagen na inzet van de proef het virus in een oorspronkelijk gezonde plant aan te tonen. Het virus is vastgesteld in de wortels. Pas 14 dagen later kon het virus in de kop van de planten worden aangetoond. Via een ondergrondse verspreiding bleek 56 dagen na inzet van de proef 60% van de planten geïnfecteerd te zijn. Opvallend was dat het virus in de kop van de planten steeds 14 dagen later was aan te tonen dan in de wortels. Symptomen waren dan nog niet zichtbaar.

B. Bemonstering in de praktijk

De enquête die via het Productschap Tuinbouw onder komkommertelers is verspreid werd door 74 komkommertelers ingevuld. Hiervan gaven er 68 aan een ontsmetter te hebben op het bedrijf. Het merendeel bleek een verhitter te hebben en een goede tweede waren de UV apparaten. Uit de lijst van telers die interesse hadden om mee te doen met onderzoek zijn er totaal tien geselecteerd. Hierbij werd rekening gehouden met type ontsmettingsapparaat en ligging van het bedrijf in de belangrijkste glastuinbouwgebieden. In een aantal gevallen kon het virus worden aangetoond voor de ontsmetter. Soms met een ELISA test maar soms ook alleen op planten.

Op één bedrijf bleek ook virus aangetoond te kunnen worden na de ontsmetter bij de 1e bemonstering. Dit was wel een bedrijf met een flinke aantasting van komkommerbontvirus. Opvallend was dat bij de volgende bemonsteringen het virus niet meer kon worden aangetoond.

In dit onderzoek is vastgesteld dat komkommerbontvirus via water kan worden verspreid. Lang voordat er symptomen op de plant verschijnen, kan deze verspreiding al plaatsvinden. Het is dus zaak om al het drainwater te ontsmetten om zo een verspreiding van komkommerbontvirus tegen te gaan. Daarnaast moet bij een teeltwisseling er voor worden gezorgd dat al het wortelmateriaal grondig wordt verwijderd.

1 Inleiding

Het wordt steeds noodzakelijker om lozing van drainwater met nutriënten en eventueel gewasbeschermingsmiddelen te beperken. Om dit te bereiken wordt het drainwater van teelten die los van de ondergrond op verschillende substraten worden geteeld gerecirculeerd. In dit recirculatiewater kunnen bepaalde pathogenen (ziekteverwekkers) voorkomen. Komkommerbontvirus is daar mogelijk één van. Dit virus kan zeer gemakkelijk mechanisch worden overgedragen bij alle gewashandelingen maar ook via zaad. Een verspreiding via het water moet dan ook niet worden uitgesloten en daarom is ontsmetting van het water voor hergebruik noodzakelijk. Door de jaren heen zijn diverse drainwaterontsmetters ontwikkeld, geïntroduceerd en ook weer verdwenen. In dit project is nagegaan wat op dit moment de meest gebruikte ontsmetters zijn in de komkommerteelt.

Daarbij is ook gekeken naar de gebruikte filters die voor de apparatuur zijn geïnstalleerd om zoveel mogelijk organische (wortel) resten tegen te houden en het ontsmettingsproces te optimaliseren

1.1 Doel van het onderzoek

Doel van het onderzoek was:

- Bepalen van de effectiviteit van ontsmettingssystemen tegen komkommerbontvirus in recirculatiewater.
- Nagaan of het komkommerbontvirus kan overleven in recirculatie en of dit water een mogelijk bron is voor verdere verspreiding van het virus en herinfectie van het gewas.
- Dit project moet leiden tot praktische kennis die direct toepasbaar moet zijn voor de komkommerteler.

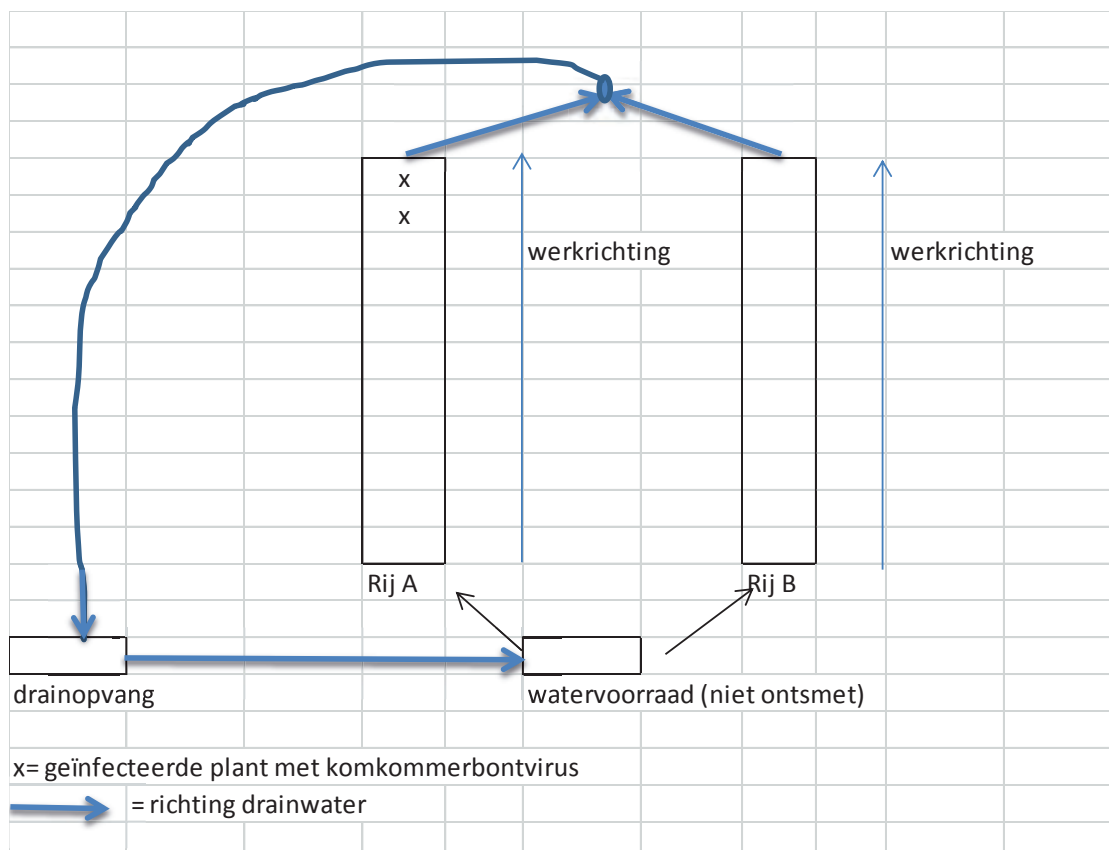
2 Materiaal en Methoden

2.1 Onderdeel A: Kasproef

Voor het onderzoek in onderdeel A is een kasproef opgezet. In deze proef is nagegaan of en in welke mate komkommerbontvirus zich ondergronds, dit wil zeggen via wortels en recirculatiewater, kan verspreiden in vergelijking met een bovengrondse verspreiding.

In een kas zijn twee rijen komkommerplanten in een recirculatiesysteem gezet (zie Figuur 1. voor een schematische weergave). In rij A zijn twee planten geplaatst die opzettelijk zijn geïnfecteerd met komkommerbontvirus. De twee rijen staan ver uit een en hebben geen direct contact met elkaar. Het drainwater van rij A en B wordt op een gezamenlijk punt opgevangen en gaat dan naar de drainopvang. Van hieruit gaat het water, zonder ontsmetting, naar de watervoorraad en vervolgens als gietwater naar de rijen A en B.

- In rij A zijn alle gewashandelingen uitgevoerd volgens het huidige Hygiëne protocol komkommer (werken met handschoenen en melk). De verspreiding van het virus is wekelijks gemonitord en daarbij is de symptoomontwikkeling gevolgd en zijn planten zonder symptomen getoetst op de aanwezigheid van het virus.
- In rij B zijn alle gewashandelingen per plant met handschoenen gedaan. Iedere plant had zijn eigen handschoenen. Dit was noodzakelijk om vast te kunnen stellen dat een eventuele verspreiding alleen via de ondergrond heeft kunnen plaatsvinden. De verspreiding van het virus is wekelijks gemonitord en daarbij is de symptoomontwikkeling gevolgd.
- Alle planten zijn getoetst op aanwezigheid van virus met een ELISA test. Hiervoor is bladmateriaal uit de kop van de plant bemonsterd. Deze toetsing is uitgevoerd op 19, 27, 35, 42, 47, 56 en 70 dagen na inzet van de proef. Voor wortelmateriaal is deze toetsing ook uitgevoerd en wel op 27, 42, 47, 56 en 70 dagen na inzet van de proef.
- De werkrichting is voor beide rijen gelijk.



Figuur 1 Schematische weergave van de waterstromen en werkrichting in een kasproef met komkommers waarin wordt onderzocht of een ondergrondse verspreiding van komkommerbontvirus mogelijk is.

2.2 Onderdeel B: Bemonstering in de praktijk

Gestart is met een inventarisatie welke ontsmettingsapparatuur het meest wordt gebruikt in de teelt van komkommers. Hierbij is ook meegenomen welke filters er voor de apparaten staan. Dit in verband met de doorlating van wortelresten met al dan niet met virusdeeltjes. Deze inventarisatie is middels een korte enquête via e-mail onder komkommertelers uitgevoerd. De verspreiding van deze enquête is uitgevoerd door Peter Ruijgrok en Karst Weening van Productschap Tuinbouw.

Uit deze inventarisatie zijn de twee meest gebruikte typen ontsmettingsapparatuur gekozen. Aan het eind van de enquête is gevraagd of het bedrijf bereid zou zijn om mee te werken aan het onderzoek wat betreft de effectiviteit van de ontsmetters. Uit deze lijst zijn tien bedrijven geselecteerd en hierbij is ook rekening gehouden met de ligging van de bedrijven in de verschillende teeltgebieden in Nederland. Voorwaarde om mee te doen was wel dat er komkommerbontvirus in de planten aanwezig moest zijn. Gedurende het teeltseizoen is 3 keer bemonsterd en daarbij zijn 10 submonsters genomen van water zowel voor als na de ontsmetter. De aanwezigheid van infectieus virus is vastgesteld door een ELISA test en door middel van een biotoets. Er is bewust gekozen voor beiden omdat bij een zeer lage concentratie virus dit eventueel niet wordt gedetecteerd door een ELISA test. Na het inoculeren op planten krijgt het virus de mogelijkheid om zich te vermeerderen en dat kan resulteren in symptomen op de planten. Hier gaat echter wel een aantal weken overheen voordat deze symptomen zichtbaar zijn.



Figuur 2. Overzicht van een biotoets.

3 Resultaten

3.1 Onderdeel A: Kasproef

De resultaten van de toetsingen staan vermeld in Tabel 1. De geïnoculeerde planten zijn gedurende de gehele proef positief getoetst met een ELISA test in zowel het blad - als het wortelmateriaal.

Uit deze tabel blijkt dat 42 dagen na inzet van de proef in een andere plant (in rij A) dan de opzettelijk geïnfecteerde planten virus wordt aangetoond. Dit is dan wel in het wortelmateriaal en nog niet in de kop van de plant. Dit kon pas na 56 dagen worden aangetoond. De plant waarin het eerste het virus is aangetoond, is de plant die naast de geïnfecteerde planten stond.

In rij B (waarin geen geïnfecteerde planten stonden) kon 56 dagen na inzet voor het eerst virus worden aangetoond in de wortels van plant 4, 5 (twijfel) en 6. In blad kon dit pas 70 dagen na inzet van de proef worden aangetoond. Bij de worteltoets na 70 dagen zijn in rij B bij nog twee planten een verhoogde ELISA waarde gevonden.

In rij A kon in het getoetste wortelmateriaal na 70 dagen bij 10 van de 15 planten het virus worden aangetoond. In bladmateriaal was dit bij 6 van de 15 planten.

Symptomen zijn alleen waargenomen in de opzettelijk geïnfecteerde planten in rij A.

Tabel 1. Resultaten van de ELISA testen op de aanwezigheid van komkommerbontvirus in wortel- en bladmateriaal.

ELISA bladmateriaal									ELISA wortelmateriaal						
Rij	Plant	19	27	35	42	47	56	70	Rij	Plant	27	42	47	56	70
B	1	-	-	-	-	-	-	-	B	1	nt	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-		2	nt	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-		3	nt	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-		4	nt	-	-	+	+
	5	-	-	-	-	-	-	+		5	nt	-	-	+/-	+
	6	-	-	-	-	-	-	+/-		6	nt	-	-	+	+
	7	-	-	-	-	-	-	-		7	nt	-	-	-	+/-
	8	-	-	-	-	-	-	-		8	nt	-	-	-	+/-
	9	-	-	-	-	-	-	-		9	nt	-	-	-	-
	10	-	-	-	-	-	-	-		10	nt	-	-	-	-
	11	-	-	-	-	-	-	-		11	nt	-	-	-	-
	12	-	-	-	-	-	-	-		12	nt	-	-	-	-
	13	-	-	-	-	-	-	-		13	nt	-	-	-	-
	14	-	-	-	-	-	-	-		14	nt	-	-	-	-
	15	-	-	-	-	-	-	-		15	nt	-	-	-	-
A	1	+	+	+	+	+	+	+	A	1	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+		2	+	+	+	+	+
	3	-	-	-	-	-	-	+		3	-	+	+	+	+
	4	-	-	-	-	-	-	+		4	-	-	-	+	+
	5	-	-	-	-	-	-	-		5	nt	-	-	+	+
	6	-	-	-	-	-	-	-		6	nt	-	-	+	+
	7	-	-	-	-	-	-	-		7	nt	-	-	-	+/-
	8	-	-	-	-	-	-	-		8	nt	-	-	-	-
	9	-	-	-	-	-	-	-		9	nt	-	-	-	-
	10	-	-	-	-	-	-	-		10	nt	-	-	-	-
	11	-	-	-	-	-	-	-		11	nt	-	-	-	-
	12	-	-	-	-	-	-	-		12	nt	-	-	-	-
	13	-	-	-	-	-	-	-		13	nt	-	-	+	+
	14	-	-	-	-	-	+	+		14	nt	-	-	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	+/-		15	nt	-	-	+	+

geen virus aangetoond

+ = virus aangetoond

± = mogelijk virus aanwezig

Nt = niet getoetst

3.2 Onderdeel B: Bemonstering in de praktijk

De vragen zijn via de mail aan alle komkommertelers uit het bestand van het Productschap Tuinbouw verstuurd. Via internet konden de telers de vragen beantwoorden. Binnen een dag hadden al 40 telers gereageerd. Uiteindelijk hebben in totaal 74 telers de vragenlijst beantwoord. Hiervan gaf 68 aan een ontsmetter te hebben op het bedrijf. Het merendeel heeft een verhitter en een goede tweede zijn de UV apparaten (zie Tabel 2).

Tabel 2. Vragen en respons op de enquête die aan komkommertelers is gestuurd.

Heeft u op uw bedrijf een ontsmettingsapparaat voor het ontsmetten van het drainwater?					
	Aantal	%			
Ja	68	92			
Nee	6	8			
Totaal	74	100			
U heeft aangegeven een ontsmettingsapparaat voor het drainwater te gebruiken. Wat voor apparatuur is dit? (meerdere antwoorden mogelijk)					
Onderwerpen	niet genoemd	%	wel genoemd	%	Totaal
Verhitter	28	41	40	59	68
UV HD	53	78	15	22	68
UV LD	58	85	10	15	68
Ozon	64	94	4	6	68
Anders, namelijk:	67	99	1	1	68
Zijn er filters voor de ontsmetter geplaatst?					
	Aantal	%			
Ja	48	71			
Nee	20	29			
Totaal	68	100			
U heeft aangegeven filters te gebruiken voor het ontsmetten van het drainwater? Wat voor Typen filters zijn dit? (Meerdere antwoorden mogelijk)					
Onderwerpen	niet genoemd	%	wel genoemd	%	Totaal
zandfilter	15	31	33	69	48
biologisch filter	48	100	0	0	48
zeefbochtfilter	36	75	12	25	48
Anders, namelijk:	40	83	8	17	48
Heeft u een aantasting met komkommerbontvirus in dit teeltseizoen?					
	Aantal	%			
Ja	28	38			
Nee	46	62			
Totaal	74	100			
Hoe zou u het probleem met komkommerbontvirus op uw bedrijf omschrijven?					
	Aantal	%	Cum.in %		
Zeer minimaal	3	11	100		
Nauwelijks	5	18	89		
Behoorlijk	13	46	71		
Veel	5	18	25		
Heel veel	2	7	7		
Totaal	28	100			
Is komkommerbontvirus een reden om het drainwater te lozen?					
	Aantal	%			
Ja	10	36			
Nee	18	64			

Uit de enquête kwam naar voren dat 18 bedrijven wel geïnteresseerd waren om mee te werken aan het onderzoek. Van deze bedrijven is een selectie gemaakt van tien bedrijven. Hiervan waren er twee afkomstig uit Noord Nederland, vijf uit Zuid Nederland, twee uit Midden Nederland en één uit Zeeland. De bedrijven zijn onder code geplaatst om herkenning te voorkomen. In het onderzoek is steeds met de codes gewerkt en niet met de namen van de bedrijven.

In Tabel 3 staat de samenvatting van de resultaten van de ELISA test en de biotoets die zijn uitgevoerd op de watermonsters van de 10 geselecteerde bedrijven. In een aantal gevallen kan het virus worden aangetoond voor de ontsmetter. Soms met een ELISA test maar soms ook alleen op planten. Op bedrijf nr. 7 kan ook virus worden aangetoond na de ontsmetter bij de 1^e bemonstering. De twijfelachtige ELISA resultaten zijn wel bevestigd op een toetsplant.

In Bijlage 1 staan de volledige resultaten van deze toetsingen.

Tabel 3. Samenvatting van de resultaten van de ELISA test en een biotoets (op planten) per bedrijf van de watermonsters die voor en na de ontsmetter zijn genomen.

Bedrijf	Type ontsm.		1e bemonstering		2e bemonstering		3e bemonstering	
			ELISA	Plant	ELISA	Plant	ELISA	Plant
1	Verhitter	voor	0	1	0	2	0	0
		na	0	0	0	0	0	0
2	Verhitter	voor	0	0	0	0	0	2
		na	0	0	0	0	0	0
3	Verhitter	voor	0	1	0	0	0	0
		na	0	0	0	0	0	0
4	Verhitter	voor	0	0	0	0	0	0
		na	0	0	0	0	0	0
5	UV	voor	0	0	0	0	0	3
		na	0	0	0	0	0	0
6	UV	voor	0/1	0	0	0	0	0
		na	0	0	0	0	0	0
7	UV en verhitter	voor	0	1	0	0	0	0
		na	4x0/1	1	0	0	0	0
8	Verhitter	voor	0/1	3	0	0	0	0
		na	0	0	0	0	0	0
9	UV	voor	0	3	0	2	0	0
		na	0	0	0	0	0	0
10	UV	voor	0/1	0	0	0	0	0
		na	0	0	0	0	0	0



Figuur 2. Symptomen van komkommerbontvirus op een jonge komkommerplant.

4 Discussie en conclusie

Kasproef

- 42 dagen na inzet van de proef is virus aangetroffen in wortelmateriaal anders dan van de opzettelijk geïnfecteerde planten.
- Het virus kon nog niet in de kop van de plant worden aangetoond en er waren geen symptomen zichtbaar.
- Aantonen van virus in de kop kon pas na 56 dagen.
- In de rij waarin geen opzettelijk geïnfecteerde planten stonden kon 56 dagen na inzet voor het eerst virus worden aangetoond in de wortels van 3 planten.
- In blad kon dit pas 70 dagen na inzet van de proef worden aangetoond.
- In de rij met de twee geïnfecteerde planten kon in het getoetste wortelmateriaal na 70 dagen bij 10 van de 15 planten het virus worden aangetoond. In bladmateriaal was dit bij 6 van de 15 planten.
- In de rij waarin geen opzettelijk geïnfecteerde planten stonden is bij 3 van de 15 planten zeker virus aangetoond in de wortels en 2 waren twijfelgevallen.
- In de rij waarin geen geïnfecteerde planten waren geplaatst zijn zodanige maatregelen getroffen om een virusverspreiding via gewashandelingen tegen te gaan. De resultaten laten zien dat de verspreiding via het water is gegaan. Opvallend was wel dat de wortels waarin virus is aangetroffen in het midden van de rij stonden.
- In de rij met de geïnfecteerde planten is de buurplant de eerste waar het virus in wordt aangetoond. Dit is tegen de werk- en waterrichting in maar wel op dezelfde mat. Verspreiding zou hier mogelijk via wortelcontact hebben plaatsgevonden.

Bemonstering in de praktijk

- De enquête werd door 74 komkommertelers ingevuld.
- Hiervan gaven er 68 aan een ontsmetter te hebben op het bedrijf. Het merendeel heeft een verhitte en een goede tweede zijn de UV apparaten.
- Uit de lijst van telers die interesse hadden om mee te doen met onderzoek zijn er totaal tien geselecteerd. Hierbij is rekening gehouden met type ontsmettingsapparaat en ligging van het bedrijf in de belangrijkste glastuinbouwgebieden.
- In een aantal gevallen kan het virus worden aangetoond voor de ontsmetter. Soms met een ELISA test maar soms ook alleen op planten.
- Op één bedrijf kan ook virus worden aangetoond na de ontsmetter bij de 1e bemonstering. De twijfelachtige ELISA resultaten zijn wel bevestigd op een toetsplant.
- Dit was wel een bedrijf met een flinke aantasting van komkommerbontvirus. Opvallend was dat bij de volgende bemonsteringen het virus niet meer kon worden aangetoond.

In dit onderzoek is vastgesteld dat komkommerbontvirus via water kan worden verspreid. Lang voordat er symptomen op de plant verschijnen, kan deze verspreiding al plaatsvinden. Het is dus zaak om al het drainwater te ontsmetten om zo een verspreiding van komkommerbontvirus tegen te gaan. Daarnaast moet bij een teeltwisseling er voor worden gezorgd dat al het wortelmateriaal grondig wordt verwijderd.

