

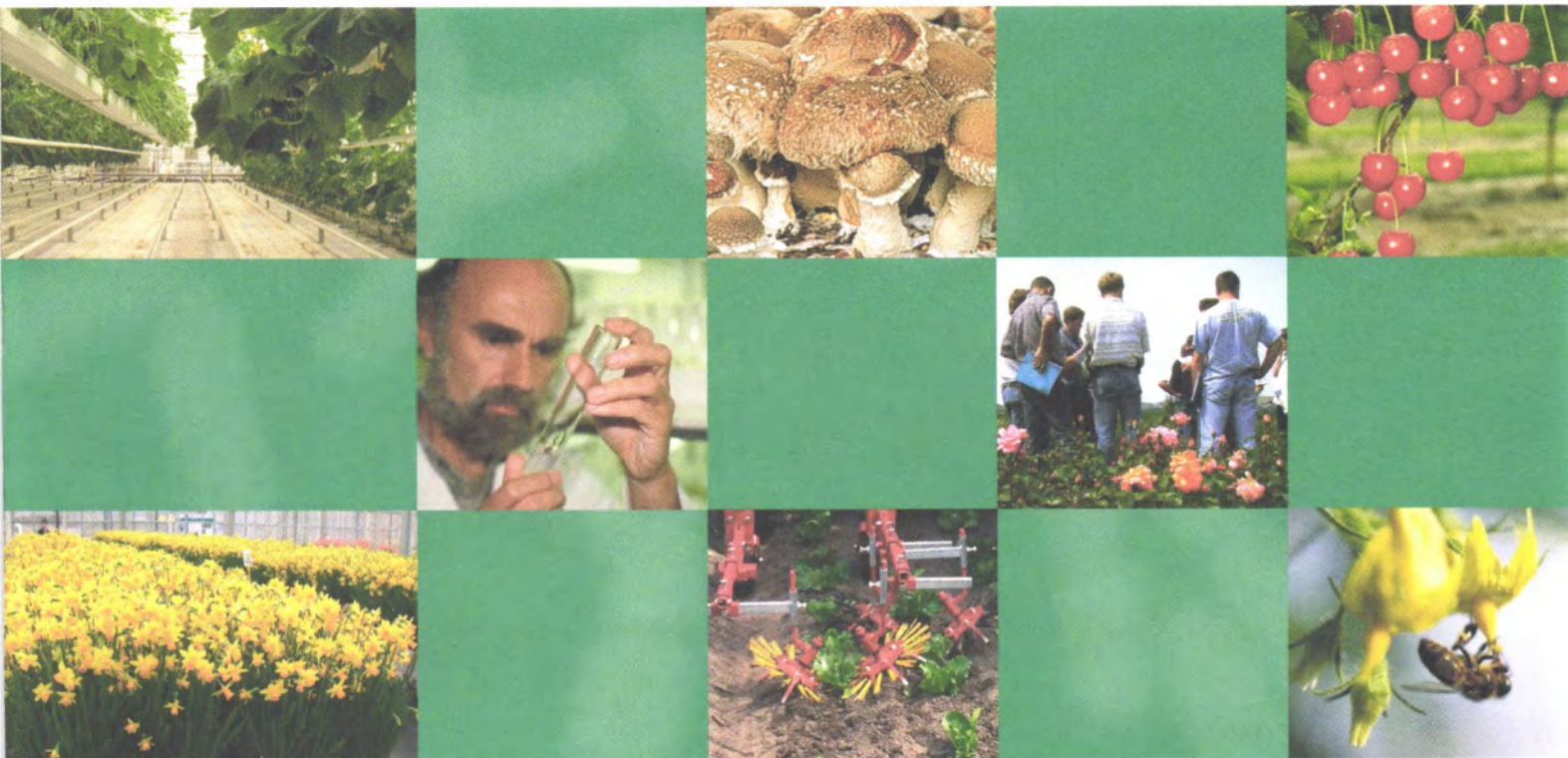


Voorkomen van uitbreiding HVX in Hosta

Projectleider: Pieter van Dalftsen

Projectmedewerkers: Marga Dijkema, Ineke Stijger en Miriam Lemmers

Vertrouwelijk



Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit

Projectnummer 32 360146 00

Maart 2007

Voorkomen van uitbreiding HVX in Hosta

Projectleider: Pieter van Dalfsen

Projectmedewerkers: Marga Dijkema, Ineke Stijger en Miriam Lemmers

Vertrouwelijk

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit

Projectnummer 32 360146 00

Maart 2007

P13

MA

© 2007 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Dit is een vertrouwelijk document, uitsluitend bedoeld voor intern gebruik binnen PPO dan wel met toestemming door derden. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid voor extern gebruik.



Projectnummer: 32 360146 00

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit

Adres : Prof. van Slogterenweg 2, Lisse

: Postbus 85, 2160 AB Lisse

Tel. : 0252 - 462121

Fax : 0252 - 462100

E-mail : infobomen.ppo@wur.nl

Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

1	SAMENVATTING.....	7
2	INLEIDING	9
3	ONDERZOEK NAAR RISICO'S TEELTHANDELINGEN.....	11
3.1	Uitgangsmateriaal.....	11
3.2	HVX-besmetting in uitgangsmateriaal (controle behandelingen).....	12
3.2.1	Materiaal en methode.....	12
3.2.2	Resultaten.....	13
3.2.3	Conclusies en discussie.....	13
3.3	Machinaal rooien.....	14
3.3.1	Inleiding	14
3.3.2	Materiaal en methode.....	14
3.3.3	Resultaten.....	15
3.3.4	Conclusies en discussie.....	16
3.4	Sorteren.....	16
3.4.1	Inleiding	16
3.4.2	Risico overdracht HVX tijdens sorteren	17
3.4.3	Verspreiding HVX na infectie tijdens sorteren.....	18
3.5	Verwerkingsmachines	20
3.5.1	Inleiding	20
3.5.2	Materiaal en methode.....	20
3.5.3	Resultaten.....	21
3.5.4	Conclusies en discussie.....	22
3.6	Spoelen	22
3.6.1	Inleiding	22
3.6.2	Materiaal en methoden.....	23
3.6.3	Resultaten.....	23
3.6.4	Conclusies en discussie.....	23
3.7	Warmwaterbehandeling	24
3.7.1	Inleiding	24
3.7.2	Materiaal en methode.....	24
3.7.3	Resultaten.....	25
3.7.4	Conclusies en discussie.....	25
3.8	Mechanische onkruidbestrijding.....	26
3.8.1	Inleiding	26
3.8.2	Materiaal en methode.....	26
3.8.3	Resultaten.....	27
3.8.4	Conclusies en discussie.....	27
3.9	Planten uitsteken	27
3.9.1	Inleiding	27
3.9.2	Materiaal en methode.....	27
3.9.3	Resultaten.....	27
3.9.4	Conclusies en discussie.....	27
3.10	Conclusies.....	28
4	ONDERZOEK NAAR VOORKOMING VAN OVERDRACHT VAN HVX VIA HET MES TIJDENS HET SORTEREN	31
4.1	Inleiding	31

4.2	Verhitting.....	31
4.2.1	Vooronderzoek	31
4.2.2	Ontsmetting mes tijdens sorteren m.b.v. hitte	32
4.3	Middelen	34
4.3.1	Vooronderzoek	34
4.3.2	Ontsmetting mes tijdens sorteren m.b.v. middelen	34
4.4	Magere melk	36
4.4.1	Materiaal en methode.....	36
4.4.2	Resultaten	36
4.4.3	Conclusies en discussie.....	36
4.5	Conclusies	37
5	INVENTARISATIE HVX	39
5.1	Aanwezigheid van HVX in Nederland	39
5.1.1	Inleiding	39
5.1.2	Opzet.....	39
5.1.3	Resultaten	39
5.1.4	Conclusies.....	44
5.2	Besmetting HVX op bedrijven (bedrijfsinventarisatie)	44
5.2.1	Inleiding	44
5.2.2	Opzet.....	44
5.2.3	Resultaten	44
5.2.4	Conclusies.....	54
6	LITERATUUR.....	57

1 Samenvatting

Hosta is voor Nederland één van de belangrijkste producten voor de vaste plantenexport naar de VS en Canada. In 1996 is voor het eerst Hosta Virus X (HVX) beschreven en sindsdien is het in relatief korte tijd een bedreiging gaan vormen voor de Hosta-teelt en -export. Het virus is zeer besmettelijk, mede doordat het bij een deel van de cultivars onduidelijke of zelfs helemaal geen symptomen geeft. Met behulp van ELISA is het virus goed aan te tonen. Voor zover nu bekend is, vindt overdracht van het virus alleen via mechanische weg plaats.

Om verspreiding tegen te gaan, is inzicht in de risico's van de verschillende teelthandelingen heel belangrijk, juist vanwege het feit dat het virus aanwezig kan zijn zonder zichtbare symptomen.

In 2005 is bij PPO reeds onderzoek gedaan naar de aantoonbaarheid van het virus op verschillende momenten tijdens de keten en in verschillende delen van de plant. Ook zijn in 2005 de belangrijkste teelthandelingen onderzocht op mogelijk risico op verspreiding van HVX. Voor wat betreft de meeste teelthandelingen konden hierover echter nog geen conclusies worden getrokken.

Naar aanleiding van de nog bestaande onduidelijkheden over de risico's van bepaalde teelthandelingen op verspreiding van HVX, zijn deze teelthandelingen in 2006 bij de cultivars Gold Standard, Sum and Substance en (bij een deel van de proeven) de cultivars Francee en Honeybells opnieuw onderzocht.

Bij de cultivar Honeybells bleek het viruspercentage ook zonder toepassing van teelthandelingen toe te nemen. Op grond van de resultaten was het moeilijk om betrouwbare conclusies te trekken omtrent het risico van overdracht van HVX tijdens machinaal rooien. Toch lijkt er een kleine aanwijzing te zijn dat tijdens het machinaal rooien HVX wordt verspreid. Overdracht van HVX tijdens sorteren kon ook dit jaar zeer beperkt worden aangetoond, hoewel niet statistisch betrouwbaar. Bij bemonstering van een verwerkingsmachine in de praktijk werd op de grote band en het snijplateau lichte besmetting met HVX aangetoond. Onduidelijk is of deze besmetting in de praktijk ook daadwerkelijk overdracht van het virus kan veroorzaken. Tijdens spoelen bleek veel HVX te worden overgedragen; de cultivar Sum and Substance bleek gevoeliger te zijn dan de cultivar Gold Standard. In het spoelwater bij spoelbedrijven kon geen HVX aangetoond worden. Tijdens warmwaterbehandeling vond geen besmetting met HVX plaats. In het kookwater van kookbedrijven en PPO werd geen HVX aangetoond. Ook na mechanische onkruidbestrijding (wiedeggen) en uitsteken van planten werd geen toename van het virus gevonden. Omdat beide teelthandelingen lopende het groeiseizoen zijn uitgevoerd, kan na toetsing in 2007 pas een definitieve uitspraak gedaan worden over het risico op overdracht van HVX.

Omdat de vraag bestaat of het virus mogelijk door een trage vermeerdering pas laat m.b.v. ELISA aantoonbaar is, zullen de planten van alle proeven tijdens het groeiseizoen van 2007 nogmaals getoetst worden op HVX.

Vanwege het te verwachten grote risico op verspreiding tijdens sorteren, is in 2006 in proeven met de cultivars Gold Standard en Sum and Substance gezocht naar effectieve methoden ter ontsmetting van het mes. Mesontsmetting via verhitting van het mes gedurende 10 seconde bij 200°C bleek in een laboratoriumproef effectief te zijn. Over de effectiviteit tijdens sorteren kunnen geen uitspraken gedaan worden vanwege het niet optreden van infectie in de niet ontsmette controlebehandeling.

Over de ontsmettende werking van Jet 5 en middel B kan nog geen uitspraak worden gedaan: de toegepaste laboratoriumtoets bleek niet geschikt te zijn en in de sorteerproef trad in de niet ontsmette controle-behandeling geen infectie met HVX op. Er zijn aanwijzingen, hoewel niet statistisch onderbouwd, dat magere melk een verspreiding van HVX kan tegengaan.

Net als bij de teelthandelings-proeven zullen de planten van alle ontsmettings-proeven tijdens het groeiseizoen van 2007 nogmaals getoetst worden op HVX.

In 2006 is de aanwezigheid van HVX op bedrijven in Nederland geanalyseerd. In totaal zijn 932 partijen op 60 bedrijven bemonsterd. Van de 932 bemonsterde partijen bleek 29% in meer of mindere mate besmet te zijn met HVX (d.w.z. meer dan 5% van de planten besmet). Bij 6% van de partijen was de besmettingsgraad hoger dan 50%. Hoe groter het aantal partijen op een bedrijf was, hoe hoger het percentage (zwaarder)

besmette partijen was. Er leek geen verband te zijn tussen enerzijds de economische grootte van een cultivar en anderzijds het besmettingsniveau van de cultivar. Van de 10 meest getoetste, en waarschijnlijk belangrijkste cultivars, was de besmettingsgraad het laagst bij de cultivars Elegans en Frances Williams en het hoogst bij de cultivar Halcyon. Bij de cultivar Gold Standard hadden alle 28 getoetste partijen een besmettingsniveau van minimaal 5%. Bij een deel van de getoetste cultivars was het percentage besmette partijen in 2005 hoger dan in 2004, bij een deel juist lager. Een groot deel van het Hosta-sortiment blijkt gevoelig te zijn voor HVX. Van 61 cultivars zijn 5 of meer partijen getoetst. In 79% van deze cultivars is één of meerdere keren een besmettingsniveau van meer dan 5 % gevonden.

Bij een aantal Hosta-bedrijven is in 2006 de bedrijfsvoering geïnventariseerd met als doel om meer inzicht te krijgen in de relatie tussen enerzijds de toegepaste teelthandelingen en de herkomst van partijen, en anderzijds het voorkomen en de verspreiding van HVX. Hieruit kwam naar voren dat het virus al minimaal 8 jaar in Nederland aanwezig moet zijn. Duidelijk werd dat besmetting van HVX makkelijker optreedt binnen een partij dan tussen partijen; de toename van HVX binnen een partij lijkt niet zeer snel te verlopen (enkele jaren). Tussen de bedrijven waren er bij de toegepaste teelthandelingen grote verschillen in het besmettingsniveau. Bij sommige bedrijven was er, ondanks het spoelen of ondanks het maaien van bloemen, toch weinig besmetting met HVX. Ook bleek dat op bedrijven met weinig risicovolle teelthandelingen, toch veel besmetting mogelijk is.

2 Inleiding

Hosta is voor Nederland één van de belangrijkste producten voor de vaste plantenexport naar de VS en Canada. Sinds Hosta Virus X (HVX) in 1996 voor het eerst beschreven werd (Currier and Lockhart, 1996), is het in relatief korte tijd een bedreiging gaan vormen voor de Hosta-teelt. Al in 2000 toonde B. Lockhart aan dat minimaal 2/3 van het door hem geteste sortiment gevoelig bleek te zijn voor het virus (Lockhart, 2002). Sinds voorjaar 2004 komen er vanuit de VS signalen dat Hosta's besmet zijn met HVX, en de druk vanuit de VS (Amerikaanse PD) om gezond plantmateriaal te leveren, is steeds groter geworden. Vanaf zomer 2005 wordt door de Naktuinbouw aan getoetste partijen een partijverklaring gegeven. De meeste exporteurs op de VS en Canada willen alleen die partijen, waarvan uit de partijverklaring blijkt dat de besmetting in de partij nihil is. Om te voorkomen dat de Nederlandse Hostateelt en -export stil komt te liggen en mogelijk ook de totale export van vaste planten onder druk komt te staan, is onderzoek dringend gewenst.

Doordat het virus zich ongezien in de plant kan nestelen is het zeer verraderlijk. De uiterlijke symptomen van HVX wisselen per cultivar. Bij sommige cultivars zijn de symptomen makkelijk waar te nemen in de vorm van vlekken en /of strepen, bij andere cultivars zijn de symptomen veel lastiger of zelfs niet waar te nemen. Hierdoor worden besmette planten vaak niet herkend. Het virus, dat behoort tot de groep van Potexvirussen, is met behulp van ELISA goed aan te tonen. In 2005 is bij PPO onderzoek gedaan naar de aantoonbaarheid van het virus op verschillende momenten tijdens de keten (op het veld, tijdens de rustperiode) en in verschillende delen van de plant.

Voor zover bekend is, is alleen Hosta een duidelijke waardplant van HVX. Volgens Lockhart en andere bronnen vindt overdracht van HVX alleen via mechanische weg (mes, handen, apparatuur) en door vegetatieve vermeerdering op de nakomelingen plaats. In Korea wordt beperkte overdracht via zaad gemeld. Specifieke vectoren voor dit virus zijn niet bekend.

Gebleken is dat het virus nogal besmettelijk is. Om verspreiding tegen te gaan, is inzicht in de risico's van de verschillende teelthandelingen heel belangrijk, juist vanwege het feit dat het virus aanwezig kan zijn zonder zichtbare symptomen. In 2005 zijn de belangrijkste teelthandelingen onderzocht op mogelijk risico op verspreiding van HVX. Hieruit bleek dat het afklepelen van het (groene) gewas vóór het rooien geen risico vormt. Over de risico's op verspreiding tijdens rooien, spoelen, warmwaterbehandeling, mechanische onkruidbestrijding en tijdens het uitsteken van planten bij selecteren, konden n.a.v. het onderzoek nog geen duidelijke uitspraken worden gedaan. Overdracht van virus tijdens snijden en sorteren is zeer aannemelijk maar kon tot nog toe nog niet duidelijk worden aangetoond.

Doel van het onderzoek:

- Vervolgonderzoek naar de risico's van teelthandelingen op de verspreiding van HVX.
- Onderzoek naar methoden voor mesontsmetting tijdens het sorteren van Hosta's.
- Inventarisatie van de aanwezigheid van HVX op bedrijven in Nederland; inventarisatie van de bedrijfsvoering bij Hosta-bedrijven in relatie tot de aanwezigheid van HVX op de bedrijven.

3 Onderzoek naar risico's teelthandelingen

3.1 Uitgangsmateriaal

Het uitgangsmateriaal voor de proeven is verzameld bij kwekers. De teelthandelings-proeven, m.u.v. de 'rooioproef', en de mesontsmettings-proeven zijn uitgevoerd met planten van dezelfde cultivars en dezelfde partijen. Er is voor deze proeven gezocht naar 4 partijen van verschillende cultivars met 100% gezonde planten en naar 1 partij met 100% besmette planten (in de proeven te gebruiken als besmettingsbron). Ten behoeve van de juiste parijkeuze zijn de beoogde partijen eind oktober op het veld bemonsterd aan het blad en door de Naktuinbouw m.b.v. ELISA getoetst op HVX (DAS-ELISA, Agdia anti-serum). De blaadjes zijn in overleg met de Naktuinbouw per 2 getoetst (standaardmethode bij Naktuinbouw). Omdat bij de cultivar Sum and Substance sprake was van een weefselkweekpartij, zijn bij deze cultivar slechts 2 planten getoetst.

Omdat bij het grootste deel van de cultivars de bemonsterde blaadjes per 2 getoetst zijn, is het bij de besmettingspercentages alleen mogelijk om 2 grenswaarden aan te geven waarbinnen de werkelijke percentages zich zullen bevinden.

In tabel 1 is per cultivar de besmetting met HVX weergegeven: het percentage besmette planten (kolom 3) en het percentage verdachte planten (ELISA-waarde liggend tussen 0.10 en 0.15 én monster ook op grond van ELISA-waarden van controlemonsters niet met zekerheid te duiden als besmet of gezond. Kolom 4). Ook is het totale percentage planten berekend dat theoretisch besmet zou kunnen zijn, uitgaande van het feit dat de verdachte planten ofwel besmet, ofwel gezond kunnen zijn (kolom 5).

In de teelthandelings- en mesontsmettings-proeven, beschreven in de volgende hoofdstukken, zijn de besmettingspercentages telkens vergeleken met het theoretisch mogelijke percentage besmette planten (kolom 5) in het uitgangsmateriaal.

Tabel 1: Het percentage HVX-besmette en - verdachte planten en het theoretisch mogelijke percentage HVX-besmette planten op moment van selectie van de partijen. Bemonstering en toetsing eind oktober aan het blad

Cultivar	Aantal planten getoetst	% Planten			Opmerking
		besmet ²	verdacht ^{2,3}	theoretisch besmet ⁴	
Gold Standard	400 ¹	0.3 - 0.5	1 - 3	0.3 – 3	
Sum and Substance	2	0	0	0	Weefselkweekpartij
Francee	400 ¹	2 - 3	0.5 - 1	2 – 4	
Honeybells	200 ¹	6 - 12	0	6 - 12	IN PROEVEN ALLEEN DE GEZONDE PLANTEN GEBRUIKT (ZIE TEKST)
Lacy Belle	200 ¹	50 - 99	0	50 - 99	Beoordeling kweker: 24 van 24 planten heeft symptomen

¹ Planten per 2 stuks samen getoetst

² Omdat planten per 2 getoetst zijn, zijn alleen 2 grenswaarden aan te geven

³ ELISA- waarde tussen 0.10 en 0.15; op grond van controlewaarden niet in te delen als besmet of gezond

⁴ Theoretisch % besmette planten, uitgaande van het feit dat de verdachte planten ofwel besmet, ofwel gezond kunnen zijn

Bij de cultivar Lacy Belle is het door de toetsmethode (200 bladmonsters per 2 stuks getoetst) in theorie mogelijk dat minimaal 50% en maximaal 99% van de planten besmet was (zie tabel). Op grond van het feit dat 99 van de 100 getoetste mengmonsters besmet was, én op grond van het feit dat bij beoordeling van 24 planten op virussymptomen, 100% van de planten besmet was, mag aangenomen worden dat het grootste deel van de partij besmet was.

In verband met het hoge percentage besmette planten bij de cultivar Honeybells, nl. 6 à 12%, zijn begin januari 2006 alle planten van deze cultivar m.b.v. ELISA (op nummer) getoetst op HVX. Van de 347 getoetste planten bleek alsnog 31% geïnfecteerd te zijn met HVX! De besmette planten zijn verwijderd en in het onderzoek zijn alleen de gezonde planten gebruikt.

Voor beschrijving van het uitgangsmateriaal dat is gebruikt in de teelthandelings-proef 'rooien', zie hoofdstuk 3.3.3, 'Machinaal rooien'.

3.2 HVX-besmetting in uitgangsmateriaal (controle behandelingen)

3.2.1 Materiaal en methode

Van de 'gezonde' cultivars Gold Standard, Sum and Substance, Francee en Honeybells zijn als controlebehandeling, planten zonder toepassing van enige teelthandeling (d.w.z. ook zonder spoelen), bewaard bij 2°C en half april 2006 opgeplant op het veld. Ook tijdens het groeiseizoen op het veld zijn geen

teelthandelingen uitgevoerd. Begin augustus zijn de planten beoordeeld op virussymptomen en door de Naktuinbouw m.b.v. ELISA aan het blad getoetst op HVX.

Bij de cultivars Gold Standard, Sum and Substance en Francee is de controle-behandeling uitgevoerd met 5 herhalingen van elk 24 planten. Bij de cultivar Honeybells is de controle-behandeling uitgevoerd met slechts 3 herhalingen van 4 planten en 1 herhaling van 3 planten. Reden hiervoor was, dat na de hertoetsing van het plantmateriaal in januari 2006, 31% van de planten besmet bleek te zijn (zie hoofdstuk 3.1).

3.2.2 Resultaten

In tabel 2 is het percentage besmetting met HVX aangegeven: in kolom 2 het percentage besmetting in het uitgangsmateriaal in oktober 2005 (zie ook hoofdstuk 3.1), in kolom 4 het percentage besmetting in augustus 2006 bij planten waarbij geen teelthandelingen zijn toegepast. In kolom 3 is voor de cultivar Honeybells het percentage besmetting aangegeven dat werd gevonden in januari 2006 (zie hoofdstuk 3.1).

Tabel 2: Het percentage besmetting met HVX in het uitgangsmateriaal (oktober 2005), tijdens de bewaring (januari 2006; alleen Honeybells) en na planting op veld zonder toepassing van teelthandelingen (augustus 2006). Toetsing aan blad

Cultivar	% planten met HVX-besmetting		
	Uitgangsmateriaal (okt 2005) ¹	Tijdens bewaring (jan 2006)	Controle behandeling: geen teelthandelingen toegepast (aug 2006)
Gold Standard	0.3 - 3	-	0
Sum and Substance	0	-	0
Francee	2 - 4	-	8
Honeybells	6 - 12	31	31 ²

¹ Zie hoofdstuk 3.1

² Uitgangsmateriaal in jan. 2006 'opgeschoond' tot 0% besmette planten

-: niet uitgevoerd

Bij de cultivars Gold Standard, Sum and Substance en Francee is het percentage besmette planten tussen oktober 2005 en augustus 2006 niet of nauwelijks toegenomen. Bij de cultivar Honeybells was er sprake van een toename van 6 à 12 % besmette planten in oktober 2005, tot 31% besmette planten in januari 2006. Na verwijdering van de besmette planten in januari, nam het percentage besmetting tussen januari en augustus, zonder toepassing van teelthandelingen, opnieuw toe, nl. van 0 tot 31%.

3.2.3 Conclusies en discussie

Bij de cultivars Gold Standard en Sum and Substance is het percentage besmette planten tussen oktober 2005 en augustus 2006 niet toegenomen en (ongeveer) 0% gebleven. Bij de cultivar Francee is er mogelijk sprake van enige toename. Als gevolg van ELISA-toetsing per 2 planten zijn de uitslagen statistisch niet te toetsen).

De controlebehandeling bestond bij de cultivar Honeybells helaas slechts uit een beperkt aantal planten. De aanzienlijke toename bij deze cultivar in het percentage besmette planten tussen oktober 2005 en januari 2006, maar ook tussen januari 2006 en augustus 2006, is moeilijk te verklaren: de toename tussen oktober en januari valt tijdens de rustperiode, de toename tussen januari en augustus bij planten die niet zijn blootgesteld aan (mogelijk) virusoverdragende teelthandelingen. Een mogelijke verklaring zou kunnen zijn dat het virus bij de cultivar Honeybells zich (zeer) traag vermeerderd, wat leidt tot dusdanig lage virusconcentraties in de plant, dat de ELISA-toetsmethode te ongevoelig is om het virus te kunnen aantonen.

3.3 Machinaal rooien

3.3.1 Inleiding

Omdat tijdens machinaal rooien wonden gemaakt kunnen worden, is het mogelijk dat tijdens het rooien overdracht van HVX optreedt.

In 2004/2005 is in een oriënterende proef onderzocht of bij rooien met een 'Schudlichter' of met een 'van Duivenvoorde-rooimachine' overdracht van HVX optreedt. Bij de 'van Duivenvoorde-rooimachine' was er geen sprake van overdracht, bij de 'Schudlichter' werd een toename van het aantal geïnfecteerde planten gevonden. Door de opzet van de proef was het echter onduidelijk of de resultaten betrouwbaar zijn. Aanvullend onderzoek was dus nodig. In 2006 is opnieuw onderzocht of door machinaal rooien HVX overgedragen kan worden: van 4 verschillende cultivars zijn onder droge omstandigheden met 3 verschillende rooimachines planten geroid. Bij één cultivar zijn ook planten onder natte omstandigheden geroid.

3.3.2 Materiaal en methode

Om betrouwbare uitspraken te kunnen doen is voor het onderzoek gezocht naar Hosta-partijen met een viruspercentage van 20 à 30%. Hier werd niet bij alle cultivars in geslaagd (zie resultaten). Gekozen is voor partijen van de cultivars Moonlight, Sharmon, Sum and Substance (een andere partij dan in de rest van het onderzoek is gebruikt) en Twilight. De cultivars Moonlight, Sharmon en Sum and Substance zijn vlak vóór rooien per 2 planten (standaardmethode bij Naktuinbouw, zie hoofdstuk 3.1) aan het blad getoetst op HVX: bij de cultivar Sharmon in totaal 100 planten, bij de cultivars Moonlight en Sum and Substance in totaal 150 planten. Bij de cultivar Twilight zijn vlak ná rooien 50 planten (per plant) aan de wortel getoetst. Toetsing vond plaats m.b.v. ELISA bij de Naktuinbouw.

Genoemde cultivars zijn geroid bij 2 verschillende kwekers met 3 verschillende rooimachines: een 'Schudlichter', een 'Basrijs' en een 'Nobels'. De planten zijn geroid onder droge omstandigheden; bij de cultivar Twilight zijn met de 'Schudlichter' en de 'Basrijs' ook planten onder natte omstandigheden geroid. De cultivars Sharmon, Moonlight, Sum and Substance en Twilight ('rooien onder natte omstandigheden') zijn begin november 2005 geroid in genoemde volgorde; de planten van de cultivar Twilight die onder droge omstandigheden werden geroid, zijn, óf de tweede helft van november geroid ('Schudlichter' en 'Basrijs') óf half december ('Nobels'). Na verwijdering van het blad zijn per behandeling over een lengte van 5 meter planten opgeroid. Van de geroide planten is een aselechte steekproef van 100 planten ongespoeld bewaard bij 2°C bij PPO. Eind april 2006 zijn de planten opgeplant op het veld. Begin augustus zijn de planten op het veld visueel beoordeeld op virussyptomen en door de Naktuinbouw m.b.v. ELISA (per plant) aan het blad getoetst op HVX.

Een controle-behandeling, nl. planten niet rooien maar bij de kweker op het veld laten staan, is in deze proef niet uitgevoerd omdat dit praktisch niet haalbaar was.

In tabel 3 zijn de uitgevoerde rooibehandelingen weergegeven; het percentage HVX-besmette planten in het uitgangsmateriaal is weergegeven in het onderdeel 'resultaten' (tabel 4).

De resultaten zijn middels regressie-analyse getoetst met een betrouwbaarheidsinterval van 0.95. Bij een significant verschil zijn de resultaten voorzien van een verschillende letter (bijv. a en b), bij het ontbreken van een significant verschil van eenzelfde letter.

Tabel 3: De uitgevoerde rooibehandelingen en HVX-toetsingen

Cultivar	Omstandigheden	Rooi-machine	Toets-Moment 2005 ¹	Mon-ster	Aantal planten getoetst	Volgorde van rooien
Sharmon	Droog	Schudlichter	Eind okt.	Blad	100 ²	1
		Basrijs	Eind okt.	Blad	100 ²	
		Nobels	Eind okt.	Blad	100 ²	
Moonlight	Droog	Schudlichter	Eind okt.	Blad	150 ²	2
		Basrijs	Eind okt.	Blad	150 ²	
		Nobels	Eind okt.	Blad	150 ²	
Sum and Substance	Droog	Schudlichter	Eind okt.	Blad	150 ²	3
		Basrijs	Eind okt.	Blad	150 ²	
		Nobels	Eind okt.	Blad	150 ²	
Twilight	Droog	Schudlichter	Eind nov.	Wortel	50	5
		Basrijs	Eind nov.	Wortel	50	
		Nobels	Half dec.	Wortel	50	
	Nat	Schudlichter	Half nov.	Wortel	50	4
		Basrijs	Half nov.	Wortel	50	

¹ Toetsing HVX in uitgangsmateriaal

² Planten per 2 stuks samen getoetst

3.3.3 Resultaten

In tabel 4 is het percentage besmetting met HVX in het uitgangsmateriaal en in de gerooide planten aangegeven. Omdat het uitgangsmateriaal van de cultivars Moonlight, Sharmon en Sum and Substance is getoetst aan monsters van telkens 2 planten, is bij deze cultivars een schatting gemaakt van het percentage besmette planten in het uitgangsmateriaal. Bij het uitgangsmateriaal van de cultivars Moonlight en Sharmon bleek een deel van de planten verdacht te zijn. Omdat bij toetsing bleek dat de verdachte planten weinig invloed hadden op de uiteindelijke resultaten, zijn deze planten niet in de tabel vermeld en verder buiten beschouwing gelaten.

Over alle cultivars heen is er geen overdracht van HVX aangetoond door de verschillende rooimachines. Op cultivarniveau en rooimachineniveau zijn er wel wat effecten gevonden. Bij de cultivar Moonlight was er bij geen van de rooimachines een verschil tussen het percentage besmette planten vóór rooien (toetsing najaar 2005) en het percentage besmette planten ná rooien (toetsing augustus 2006). Bij de cultivar Sharmon was bij alle rooimachines juist sprake van een toename van het percentage besmette planten, bij de cultivar Sum and Substance alleen bij de rooimachine 'Basrijs'. Bij de cultivar Twilight nam het percentage besmette planten onder droge omstandigheden toe bij de rooimachines 'Basrijs' en 'Nobels'; onder natte omstandigheden was er bij geen van de rooimachines (alleen 'Schudlichter' en 'Basrijs' getest) een verschil in het percentage besmette planten. Bij de cultivar Twilight was er geen verschil in toename tussen rooien onder droge en rooien onder natte omstandigheden.

Tabel 4: Het percentage besmetting met HVX in het uitgangsmateriaal (najaar 2005) en na rooien met verschillende rooimachines onder droge of natte omstandigheden bij 4 verschillende cultivars (toetsing begin augustus 2006).

Statistische toetsing: per combinatie van cultivar-rooimachine-rooiomstandigheid: 'uitgangsmateriaal' t.o.v. 'gerooid'

Rooi- machine / rooi- omstandigheid	% planten met HVX-besmetting ¹							
	Moonlight		Sharmon		Sum and Substance		Twilight	
	Uitgangs- mat. ²	Gerooid	Uitgangs- mat. ²	Gerooid	Uitgangs- mat. ²	Gerooid	Uitgangs- mat.	Gerooid
'DROOG'								
▪ Schudlichter	6 a	5 a	26 a	60 b	2 a	4 a	76 a	85 a
▪ Basrijs	5 a	9 a	36 a	67 b	3 a	13 b	88 a	98 b
▪ Nobels	4 a	6 a	32 a	63 b	2 a	5 a	46 a	76 b
'NAT'								
▪ Schudlichter							46 a	57 a
▪ Basrijs							40 a	49 a

¹ Omdat een deel van de planten per 2 getoetst is, zijn in die gevallen 2 grenswaarden aangegeven

² Percentage besmette *planten* is een schatting op grond van percentage besmette *monsters*. 1 *Monster* bestond uit blad van 2 *planten*

3.3.4 Conclusies en discussie

Op grond van de resultaten is het moeilijk om betrouwbare conclusies te trekken omtrent het risico van overdracht van HVX tijdens rooien. Doordat het uitvoeren van een controlebehandeling (planten niet rooien) praktisch niet haalbaar was, is het nl. onduidelijk of een toename van het percentage besmette planten tussen najaar 2005 en augustus 2006, veroorzaakt is, óf door het rooien, óf door het missen van besmette planten bij de toetsing in najaar 2005.

Ook de volgende factoren bemoeilijken het trekken van betrouwbare conclusies: de verschillen in de toetsmethoden (per blaadje of per 2 blaadjes), de klasse 'verdachte planten' bij het uitgangsmateriaal van de cultivars Moonlight en Sharmon, de soms lage (cv. Moonlight en Sum and Substance) of juist hoge (cv. Twilight) percentages besmette planten in het uitgangsmateriaal, het feit dat de cultivar Twilight later is gerooid dan de andere cultivars, én het feit dat 'rooien onder natte omstandigheden' slechts beperkt is onderzocht.

Ondanks de diverse beperkingen in het onderzoek, lijkt er toch een kleine aanwijzing te zijn dat tijdens het machinaal rooien HVX wordt verspreid.

3.4 Sorteren

3.4.1 Inleiding

In de periode tussen rooien en opnieuw opplanten worden Hosta-planten gesorteerd. Grote planten kunnen afgeleverd worden; kleine planten dienen als plantgoed voor een nieuwe teelt. Ook worden grote planten in stukken gesneden, die elk weer uitgroeien tot een nieuwe plant. Hierbij kunnen volgroeide Hosta-planten door de neus in tweeën worden gesneden en de dochterplanten via de navelstreng worden losgesneden van de moederplant. Soms worden ook de wortels ingekort. Omdat tijdens het snijden via het plantensap op het mes, HVX overgedragen kan worden, lijkt sorteren een risicovolle handeling te zijn. In 2005 kon overdracht van HVX door snijden echter niet duidelijk worden aangetoond.

In 2006 zijn 2 sorteerproeven uitgevoerd. In de eerste proef is nogmaals naar het effect van sorteren op de overdracht van HVX gekeken. De opzet is ten op zichte van 2005 enigszins aangepast:

- De planten zijn door de neus in tweeën gedeeld en de dochterplanten zijn met navelstreng losgemaakt

- van de moederplant (in 2005 zijn de wortels ingekort !)
- Omdat bij sommige bedrijven het sorteren inmiddels via scheuren plaats vindt en niet meer via snijden, zijn dit jaar ook planten gescheurd
- Na sorteren zijn de 'gezonde' planten samen met besmette planten bewaard (conform de praktijksituatie) omdat in theorie na snijden door contact van wondvlakken besmetting kan optreden

De tweede sorteerproef (beperkt van omvang) is uitgevoerd om te achterhalen hoe snel na infectie met HVX het virus zich verspreidt binnen de plant én om te achterhalen of het virus zich makkelijker verspreidt via de wortel of via de neus. Kennis hierover is belangrijk i.v.m. de aantoonbaarheid van het virus. In de proef zijn, na het sorteren, op 5 momenten tijdens het bewaar- en het groeiseizoen planten gerooid. Vervolgens is m.b.v. ELISA getoetst of in wortel en/of neus cq. blad HVX aangetoond kon worden.

3.4.2 Risico overdracht HVX tijdens sorteren

3.4.2.1 Materiaal en methode

Het onderzoek is uitgevoerd met 'gezonde' planten van de cultivars Sum and Substance, Gold Standard, Honeybells en Francee, en met besmette planten van de cultivar Lacy Belle. Bij de cultivar Honeybells zijn alle beschikbare planten vlak voor sorteren getoetst op aanwezigheid van HVX; alleen de gezonde planten zijn gebruikt in de sorteerproef. Voorafgaand aan het sorteren zijn de planten handmatig bij PPO gespoeld; eerst de gezonde planten, vervolgens de besmette planten. Half januari 2006 zijn, om en om, een besmette en een 'gezonde' plant gesorteerd: de planten zijn door de neus in tweeën gedeeld en de dochterplanten (alleen aanwezig bij de cv.'s Gold Standard en Honeybells) zijn via de navelstreng van de moederplant gescheiden. Sorteren gebeurde d.m.v. snijden, óf, bij de cv's Sum and Substance en Gold Standard, d.m.v. scheuren (zonder gebruik te maken van nagels). De navelstreng is in geval van scheuren losgetrokken. Na elke herhaling zijn werkblad en mes danwel vingers, ontsmet met alcohol. Van elke gesorteerde 'gezonde' plant is één helft bewaard en, indien van toepassing, tevens de navelstreng met dochterplant. Per cultivar en per sorteermethode zijn 5 herhalingen uitgevoerd. Per herhaling zijn 20 'gezonde' en 20 besmette planten gesorteerd. Om te achterhalen of er sprake is van een ophoping van virus op het mes, zijn per herhaling van 20 'gezonde' planten, na sorteren de 'gezonde' planten per 5 samen bewaard (plantnr. 1 t/m 5, 6 t/m 10 enz.). Omdat in de praktijk eventuele besmette planten tijdens de bewaring niet verwijderd (kunnen) worden, zijn de 5 gesorteerde 'gezonde' planten samen met 1 gesorteerde (gelabelde) besmette plant bewaard. Na sorteren zijn de planten tot opplanten bewaard zónder turfmolm; de eerste week bij +2°C, tot eind maart bij -2°C en vervolgens tot opplanten bij +2°C. Begin april zijn de besmette planten verwijderd. Half april zijn de 'gezonde' planten (neushelft en navelstreng/dochterplant apart) op het veld opgeplant. Begin augustus zijn de planten op het veld visueel beoordeeld op virussymptomen en door de Naktuinbouw m.b.v. ELISA aan het blad getoetst op HVX.

3.4.2.2 Resultaten

In tabel 5 is het percentage besmetting met HVX weergegeven na sorteren. Ook is het percentage besmetting in niet gesorteerde en in het uitgangsmateriaal weergegeven.

Bij de cultivars Gold Standard, Sum and Substance en Francee nam als gevolg van sorteren het percentage besmette planten niet toe. Er waren geen verschillen tussen snijden en scheuren, en tussen 'neus-gesneden' en 'navelstreng-gesneden' planten. Omdat bij de cultivar Honeybells voor de controle-behandeling onvoldoende planten beschikbaar waren (hoog infectiepercentage in uitgangsmateriaal, zie hoofdstuk 3.2.1), is het bij deze cultivar moeilijk om een uitspraak te doen over mogelijke overdracht van HVX door snijden. Wel is duidelijk dat bij deze cultivar bij de ongesorteerde planten het besmettingspercentage t.o.v. januari 2006 is toegenomen. Ook was na snijden door de navelstreng het percentage besmette planten significant hoger dan na snijden door de neus.

Bij de cultivar Honeybells bleek geen sprake te zijn van een significant ophopingseffect. Bij de andere cultivars was dit niet aan te tonen, omdat geslaagde infecties ontbraken.

Tabel 5: Het percentage besmetting met HVX bij de cultivars Gold Standard en Sum and Substance in het uitgangsmateriaal, in ongesorteerde planten en in planten gesorteerd via snijden of scheuren, door neus of navelstreng. Om en om besmette en 'gezonde' planten gesneden. (Toetsing aan blad; uitgangsmateriaal najaar 2005, ongesorteerde en gesorteerde planten begin augustus 2006)

Cultivar	% planten met HVX-besmetting						
	Uitgangsmateriaal		Ongesorteerd (controle) ³	Gesorteerd			
	Najaar 2005 ¹	Jan 2006, na opschooning		Snijden		Scheuren	
			Neus	Navelstreng	Neus	Navelstreng	
Gold Standard	0.3 - 3	-	0 a	1 a	1 a	1 a	1 a
Sum and Substance	0	-	0 a	2 a	-	1 a	-
Francee	2 - 4	-	8 a	8 a	-	-	-
Honeybells	6 - 12	0 ²	31 (a)	12 a	60 b	-	-

¹ Zie hoofdstuk 3.1. Omdat de planten per 2 getoetst zijn, zijn slechts 2 grenswaarden aan te geven

² Alle besmette planten uit partij verwijderd, zie hoofdstuk 3.1

³ Zie hoofdstuk 3.2.2

-: niet uitgevoerd

3.4.2.3 Conclusies en discussie

Bij de cultivars Gold Standard, Sum and Substance en Francee werd net als in 2005 t.g.v. sorteren geen significante toename van het percentage besmette planten gevonden. Omdat bij de cultivar Sum and Substance is uitgegaan van een absoluut gezonde weefselkweekpartij, mag er van uitgegaan worden dat er bij deze cultivar toch sprake is geweest van een (geringe) overdracht van HVX.

Vanwege het feit dat bij de cultivar Honeybells voor de controle-behandeling onvoldoende planten beschikbaar waren, is bij deze cultivar geen uitspraak te doen over virusoverdracht door snijden. Bij deze cultivar is het opmerkelijk en niet te verklaren, dat in de 'navelstreng-gesneden' planten meer besmette planten werden gevonden dan in de 'neus-gesneden' planten. Ook opvallend is dat een deel van de ongesorteerde planten besmet blijkt te zijn, terwijl al deze planten in januari 2006 zijn getoetst met ELISA, waarbij geen HVX werd gevonden. Deze toename, én de toename die tussen oktober 2005 en januari 2006 werd waargenomen (zie hoofdstuk 3.2.2 en 3.2.3), geven aan dat ook zónder teelthandeling het viruspercentage in de partij is toegenomen.

Ondanks het feit dat sorteren plaatsvindt in de periode dat de plant in rust is, is het niet aannemelijk dat tijdens sorteren nauwelijks of geen overdracht van HVX plaatsvindt. Ook de toename van het percentage besmette planten bij de cultivar Honeybells tijdens het seizoen, zonder toepassing van teelthandelingen, is opmerkelijk. Beide waarnemingen roepen de vraag op, of het virus zich na besmetting misschien traag vermeerderd, waardoor op het moment van toetsen, de virusconcentratie onder de ELISA-detectiegrens ligt. In dat geval is het virus m.b.v. ELISA pas geruime tijd na besmetting aan te tonen, en mogelijk pas het jaar nadat de besmetting heeft plaatsgevonden (zie ook hoofdstuk 3.2). Om hier mogelijk een antwoord op te krijgen, zullen de planten in 2007 nogmaals getoetst worden.

Indien er inderdaad sprake blijkt te zijn van een 'uitgestelde' aantoonbaarheid, dan heeft dit tot nu toe in de praktijk mogelijk tot een sterke onderschatting van het besmettingspercentage geleid, waardoor overdracht binnen en tussen partijen 'ongezien' snel heeft kunnen plaatsvinden.

3.4.3 Verspreiding HVX na infectie tijdens sorteren

3.4.3.1 Materiaal en methode

Het onderzoek is uitgevoerd met 'gezonde' planten van de cultivars Sum and Substance en Gold Standard, en met besmette planten van de cultivar Lacy Belle. Voorafgaand aan het sorteren zijn de planten handmatig bij PPO gespoeld, eerst de gezonde planten, vervolgens de besmette planten. Half januari 2006

zijn, om en om, een besmette en een 'gezonde' plant gesorteerd. Bij de besmette planten is 3 maal door de wortelpruik gesneden (om zeker te weten dat er virus aan het mes zit), de gezonde planten zijn door de neus in tweeën gesneden. Na elke herhaling zijn werkblad en mes met alcohol ontsmet. Van elke gesorteerde 'gezonde' plant is één helft bewaard. Per cultivar zijn planten gesorteerd voor 5 verschillende toetsdatums. Per cultivar en per toetsdatum zijn 4 herhalingen uitgevoerd. Per herhaling zijn 4 'gezonde' en 4 besmette planten gesorteerd. Per herhaling zijn de 4 gesorteerde 'gezonde' planten bewaard samen met 1 gesorteerde besmette plant. Na sorteren zijn de planten tot opplanten bewaard zónder turfmolm; de eerste week bij +2°C, tot eind maart bij -2°C en vervolgens tot opplanten bij +2°C. Begin april zijn de besmette planten verwijderd. Half april zijn de 'gezonde' planten op het veld opgeplant.

Op 5 momenten zijn door PPO planten m.b.v. ELISA getoetst op HVX: op 2 momenten tijdens de bewaring, nl. eind februari en half maart (= vlak voor planten), en op 3 momenten tijdens het groeiseizoen op het veld, nl. eind mei, begin juli en begin augustus (gelijk met de andere proeven). Tijdens de bewaring zijn de planten getoetst aan de wortels en aan de neus, tijdens het groeiseizoen (planten zijn opgegraven) aan de wortel en aan het blad.

3.4.3.2 Resultaten

In tabel 6 (Gold Standard) en tabel 7 (Sum and Substance) is het percentage besmetting met HVX aangegeven in wortel en neus/ blad van gesorteerde planten op verschillende momenten tijdens de bewaring en het 'veldseizoen'. Ook is het percentage besmetting in niet gesorteerde en in het uitgangsmateriaal weergegeven.

Bij de cultivar Gold Standard werd alleen bij toetsing op 27 februari en op 4 juli een significante toename gevonden van het percentage besmette planten (d.w.z. wortels en neus/blad besmet) t.o.v. de niet gesorteerde controle planten. Er waren tussen de verschillende toetsdatums geen significante verschillen in percentage besmette planten.

Bij de cultivar Sum and Substance werd op geen van de toetsdatums een toename van het percentage besmette planten aangetoond t.o.v. de niet gesorteerde controle planten.

Tabel 6: Het percentage besmetting met HVX bij de cultivar Gold Standard in het uitgangsmateriaal, in ongesorteerde planten, en in wortel en neus/ blad van gesorteerde planten, op verschillende momenten tijdens het seizoen. Besmette en 'gezonde' planten zijn om en om gesneden.

	Keten-moment	Datum	% planten met HVX-besmetting	
			Wortel	Neus / blad
Uitgangsmateriaal ¹		Najaar 2005	-	0.3 – 3
Niet gesorteerd (controle) ²		1 aug 2006	-	0 a
Gesorteerd	Bewaring	27 feb 2006	13 b	13 b
		21 apr 2006	0 ab	6 ab
	Veld	30 mei 2006	0 ab	0 ab
		4 juli 2006	13 b	13 b
		8 aug 2006	6 ab	0 ab

¹ Zie hoofdstuk 3.1. Omdat de planten per 2 getoetst zijn, zijn slechts 2 grenswaarden aan te geven

² Zie hoofdstuk 3.2.2

:- niet uitgevoerd

Tabel 7: Het percentage besmetting met HVX bij de cultivar *Sum and Substance* in het uitgangsmateriaal, in ongesorteerde planten, en in wortel en neus/ blad van gesorteerde planten, op verschillende momenten tijdens het seizoen. Besmette en 'gezonde' planten zijn om en om gesneden.

	Keten- moment	Datum	% planten met HVX- besmetting	
			Wortel	Neus / blad
Uitgangsmateriaal ¹		Najaar 2005	-	0
Niet gesorteerd (controle) ²		1 aug 2006	-	0 a
Gesorteerd	Bewaring	27 feb 2006	0 a	0 a
		21 apr 2006	0 a	0 a
	Veld	30 mei 2006	0 a	0 a
		4 juli 2006	0 a	0 a
		8 aug 2006	0 a	6 a

¹ Zie hoofdstuk 3.1

² Zie hoofdstuk 3.2.2

-: niet uitgevoerd

3.4.3.3 Conclusies en discussie

Zowel bij de cultivar *Gold Standard* als bij de cultivar *Sum and Substance* lijkt er gedurende het seizoen slechts een beperkte of geen toename van het percentage besmette planten te hebben plaatsgevonden. Er was geen relatie tussen het toetsmoment en het percentage besmette planten. Omdat de proef, m.u.v. de ongesorteerde controle behandeling, is uitgevoerd met slechts 16 planten per behandeling, kunnen er geen harde conclusies getrokken worden omtrent de snelheid van verspreiding cq. aantoonbaarheid van HVX, en ook niet over de aantoonbaarheid in wortel versus neus/ blad.

Omdat in deze proef, i.t.t. in de eerder beschreven sorteerproef (zie hoofdstuk 3.4.2), op zeer intensieve wijze door de wortels van de besmette planten is gesneden (niet conform de praktijk), is het lage percentage besmetting opmerkelijk.

Bij de cultivar *Gold Standard* varieerde het besmettingspercentage over het seizoen. Hier zijn 2 mogelijke verklaringen voor: per toetsingsdatum is slechts een beperkt aantal planten getoetst en bij de verschillende toetsdatums zijn niet dezelfde planten getoetst.

Bij de cultivar *Sum and Substance* is de toename van het percentage besmette planten bij het laatste toetsmoment niet significant; omdat bij deze cultivar is uitgegaan van een absoluut gezonde weefselkweekpartij, mag er van uitgegaan worden dat er toch sprake is geweest van (een geringe) toename van het virus t.g.v. het snijden.

3.5 Verwerkingsmachines

3.5.1 Inleiding

Tijdens het sorteren op een verwerkingsmachine is het in theorie mogelijk dat, t.g.v. het snijden maar ook t.g.v. ander type beschadigingen, besmet plantensap achterblijft op de verwerkingsmachine en dat vervolgens andere planten besmet worden. Doel van dit onderzoek is om na te gaan of verwerkingsmachines een reëel risico vormen ten aanzien van overdracht van HVX. Bij een Hosta-bedrijf zijn hiertoe een aantal plaatsen op een verwerkingsmachine bemonsterd, nadat een grote hoeveelheid met HVX-geïnfecteerde planten op deze verwerkingsmachine gesorteerd waren.

3.5.2 Materiaal en methode

Een kuubskist met Hosta-planten waarvan 80% besmet was, is via een zgn. hark op de verwerkingslijn gebracht. Om de hark intensief in contact te brengen met besmette planten, is het grootste deel van de planten, zodra ze met de hark op de verwerkingslijn gebracht waren (maar nog niet op de grote band

terecht waren gekomen), met een riek teruggescheept vóór de hark, waarna de planten opnieuw via de hark op de verwerkingslijn gebracht werden. Gedurende 2 uur zijn de planten continu teruggescheept. Vanaf een half uur na het starten van het terugscheppen, is telkens een klein deel van de planten niet teruggescheept, maar doorgelaten zodat ze op de grote band terecht kwamen. Een groot deel van de doorgelaten planten is vervolgens gesneden (naar schatting in totaal ongeveer 150 planten) en op de kleine band terecht gekomen. Na 2 uur is ook de rest van de planten doorgelaten, d.w.z. niet meer teruggescheept, en via de grote band afgevoerd (zonder te snijden).

Zodra alle planten de verwerkingslijn verlaten hadden, zijn 4 verschillende onderdelen van de verwerkingslijn op elk 4 verschillende plaatsen bemonsterd:

- *Hark* (zie Foto 1): per monster zijn 10 naast elkaar liggende 'pennen' aan alle zijden bemonsterd. Totaal 40 'pennen' bemonsterd.
- *Grote band* (zie Foto 2): bemonsterd daar waar planten op de grote band vallen; per monster over 1 meter draaiende band, 10 cm breed bemonsterd.
- *Snijplateau* (zie Foto 2): per monster oppervlak van 6 x 6 cm bemonsterd.
- *Kleine band*: aan einde kleine band; per monster over 1 meter draaiende band, 10 cm breed bemonsterd.

De te bemonsteren oppervlaktes zijn 'afgenomen' met een grote wattenprop die doordrenkt was met 8.5 ml ELISA-buffer. Bij PPO zijn de monsters m.b.v. ELISA geanalyseerd op de aanwezigheid van HVX.



Foto 1 en 2: De 'hark' waarmee de planten op de verwerkingslijn worden gebracht (Foto 1) en de grote band en het snijplateau (Foto 2).

3.5.3 Resultaten

In de monsters, genomen in 8.5 ml buffer, werd geen HVX aangetoond. Na concentratie met een factor 10 zijn alle monsters nogmaals getoetst. Na concentratie werd bij 2 van de monsterplaatsen op de *grote band* HVX aangetoond, 1 monsterplaats bleek verdacht te zijn (zie tabel 8). Op het *snijplateau* werd na concentratie op 1 monsterplaats HVX aangetoond. De ELISA-waarden van de monsters waarin na 10 maal concentreren virus werd aangetoond, waren steeds relatief laag (hoogste waarde 0.31).

Tabel 8: Gevonden besmetting met HVX op verschillende onderdelen van de verwerkingslijn, na 10 x concentreren van de monsters. Bemonstering 'hark' na 2 uur contact met besmette planten, bemonstering grote band na verwerking van 1 kuubskist besmette planten, bemonstering snijplateau na snijden van ± 150 besmette planten, bemonstering kleine band na verwerking van ± 150 besmette planten.
 [+ = besmet, +/- = verdacht, - = niet besmet]

Onderdeel verwerkingslijn		Besmetting met HVX na 10 x conc. monster ¹
<i>Hark</i>	1	-
	2	-
	3	-
	4	-
<i>Grote band</i>	1	-
	2	+
	3	+
	4	+/-
<i>Snijplateau</i>	1	-
	2	-
	3	-
	4	+
<i>Kleine band</i>	1	-
	2	-
	3	-
	4	-

¹ Bij besmet en verdacht, ELISA-waarde tussen haakjes aangegeven

3.5.4 Conclusies en discussie

In de niet geconcentreerde monsters kon geen HVX aangetoond worden. De monsters waren echter in een relatief grote hoeveelheid buffer genomen. Na 10 maal concentreren werd op sommige monsterplaatsen op de grote band en het snijplateau wel virus aangetoond. Omdat de ELISA-waarden van deze monsters relatief laag was, is het de vraag of in de praktijk op deze onderdelen van de verwerkingslijn ook daadwerkelijk virusoverdracht zal plaatsvinden. Opmerkelijk en moeilijk verklaarbaar is het feit, dat op de grote band meer virus werd aangetoond dan op de 2 plaatsen die in contact komen met gesneden planten, nl. het snijplateau (dat ook in contact komt met het mes) en de kleine band.

3.6 Spoelen

3.6.1 Inleiding

Hosta's die bestemd zijn voor de export worden vlak voordat ze naar het exportbedrijf gaan verplicht (zgn. 'export-schoon') gespoeld. Bij een deel van de teeltbedrijven worden de planten ook al na binnenkomst op het bedrijf licht gespoeld (zgn. 'kwekerij-schoon') opdat de planten makkelijker te verwerken zijn. Het spoelen vindt plaats op spoelbedrijven, hoewel er ook teeltbedrijven zijn die zelf spoelen. Het spoelen, zeker het 'export-schoon' spoelen, gaat gepaard met veel kracht en vindt plaats in gerecirculeerd water waarin vaak reeds veel partijen Hosta's gespoeld zijn. Overdracht van virus via het spoelwater en/of rechtstreeks van plant op plant, zou denkbaar kunnen zijn. In 2005 werd bij de cultivars Gold Standard en Sum and Substance geen overdracht van HVX ten gevolge van spoelen aangetoond. Wel trad besmetting met HVX op indien planten vlak na spoelen bespoten werden met een virussuspensie van HVX. In bemonsterd spoelwater

kon geen HVX aangetoond worden.

In 2006 is nogmaals onderzocht of tijdens het spoelen van besmette en gezonde planten infectie met HVX kan optreden. Ook zijn nogmaals watermonsters genomen bij verschillende spoelbedrijven.

3.6.2 Materiaal en methoden

Begin januari 2006 zijn 'gezonde' planten van de cultivars Gold Standard en Sum and Substance samen met besmette planten van de cultivar Lacy Belle bij een spoelbedrijf gespoeld. Per 'gezonde' cultivar zijn 5 herhalingen van 24 (gelabelde) 'gezonde' planten gemengd met 24 besmette planten. De gemengde planten zijn op een bandspoelmachine 'exportschoon' gespoeld bij 6 bar (éénmaal). Direct na spoelen zijn de besmette planten verwijderd. Na spoelen hebben de 'gezonde' planten 4 dagen bij 5°C gestaan om uit te lekken en 6 dagen na spoelen zijn de 'gezonde' planten verpakt in turfmolm. Tot planten zijn de 'gezonde' planten bij 2°C bewaard in turfmolm. Half april zijn de planten van de 'gezonde' cultivars opgeplant op het veld. Begin augustus zijn de planten op het veld visueel beoordeeld op virussymptomen en door de Naktuinbouw m.b.v. ELISA aan het blad getoetst op HVX.

Bij 4 spoelbedrijven zijn eind november watermonsters uit spoelmachines. Bij elk spoelbedrijf zijn meerdere watermonsters genomen. De watermonsters zijn in verschillende spoelmachines genomen en/of op verschillende plaatsen in de spoelmachine. Op het moment dat de watermonsters genomen werden, werden er planten gespoeld, echter geen Hosta's. Bij 2 spoelbedrijven waren er recent wel veel (voor een deel besmette) Hosta's gespoeld. Bij 1 spoelbedrijf zijn tevens watermonsters genomen tijdens het uitvoeren van het spoelexperiment. Alle watermonsters zijn bij PPO m.b.v. ELISA geanalyseerd op de aanwezigheid van HVX.

3.6.3 Resultaten

In tabel 9 is het percentage besmetting met HVX aangegeven bij wel en niet gespoelde planten en in het uitgangsmateriaal. Bij de cultivar Sum and Substance was 78% van de planten geïnfecteerd met HVX t.g.v. spoelen. Bij de cultivar Gold Standard werd bij 'slechts' 8% van de planten m.b.v. ELISA HVX aangetoond. Opgemerkt moet worden dat begin oktober 2006, 2 maanden na uitvoering van de ELISA-toetsing, reeds 20% van de planten van Gold Standard HVX-symptomen vertoonden.

Tabel 9: Het percentage besmetting met HVX in het uitgangsmateriaal, in ongespoelde en gespoelde planten bij de cultivars Gold Standard en Sum and Substance. Planten gespoeld samen met besmette planten. (Toetsing aan blad; uitgangsmateriaal najaar 2005, ongespoelde en gespoelde planten begin augustus 2006)

Cultivar	% planten met HVX-besmetting		
	Uitgangsmateriaal ¹	Ongespoeld (controle) ²	Gespoeld
Gold Standard	0.3 - 3	0 a	8 b
Sum and Substance	0	0 a	78 b

¹ Zie hoofdstuk 3.1. Omdat de planten per 2 getoetst zijn, zijn slechts 2 grenswaarden aan te geven

² Zie hoofdstuk 3.2.2

In geen van de watermonsters die bij de 4 spoelbedrijven genomen zijn, kon HVX worden aangetoond, ook niet in de watermonsters die tijdens het uitvoeren van de spoelproef genomen zijn.

3.6.4 Conclusies en discussie

Ondanks het feit dat de planten op het moment van spoelen in rust zijn, bleek bij beide cultivars sprake te zijn van overdracht van HVX tijdens spoelen. Opvallend is dat de mate van besmetting bij de cultivar Sum and Substance veel hoger is dan bij de cultivar Gold Standard. Dit wordt waarschijnlijk verklaard door het gegeven dat de cultivar Sum and Substance relatief 'zachte' wortels heeft. Het feit dat bij de cultivar Gold Standard het percentage planten met symptomen in oktober beduidend was toegenomen t.o.v. augustus,

roept de vraag op of bij Gold Standard besmetting met HVX mogelijk pas laat aantoonbaar is door een mogelijk relatief trage vermeerdering van het virus in de plant (zie hoofdstuk 3.2.3 en 3.4.2.3). Opmerkelijk is het verschil met de resultaten van 2005. In dat jaar werd geen overdracht van HVX aangetoond t.g.v. spoelen. Een verschil in de waterdruk tijdens het spoelen zou hier een belangrijke verklaring voor kunnen zijn: in 2006 is gespoeld bij een druk van 6 bar, in 2005 vermoedelijk bij een druk van 4 bar. Ook kan de temperatuur van de planten op moment van spoelen (hoelang hebben de planten vóór spoelen buiten de koelcel gestaan?) beide jaren verschillend geweest zijn, en invloed hebben gehad op de overdracht van virus. Een andere factor kan de snelheid en mate van 'terugdrogen' van de planten na het spoelen geweest zijn. Enerzijds beïnvloedt het de tijdsduur dat de planten na spoelen in contact blijven met besmet water, anderzijds beïnvloedt het de snelheid van wondheling waar vocht voor nodig is. Het is moeilijk om een uitspraak te doen in welke mate deze beide factoren, en dus in welke mate verschillen in de snelheid en mate van 'terugdrogen', in het onderzoek van invloed zijn geweest op de overdracht van HVX. Opgemerkt moet worden dat in het onderzoek mogelijk een onderschatting heeft plaatsgevonden van het risico op overdracht van HVX t.g.v. spoelen. De besmette planten zijn immers direct na spoelen verwijderd terwijl dit niet conform de praktijk is. Het verwijderen van de besmette planten kan echter ook, door het veroorzaken van lichte beschadigingen, geleid hebben tot juist een kleine overschatting van het risico op overdracht van HVX tijdens het spoelen.

Bij de 4 bemonsterde spoelbedrijven kon, net als in 2005, het virus niet worden aangetoond in watermonsters. Bij 2 van de 4 spoelbedrijven is de verkregen uitslag echter verklaarbaar omdat er geen Hosta's gespoeld werden, ook niet vlak voor monsternamen. Bij de 2 andere spoelbedrijven werden op het moment van de monsternamen geen Hosta's gespoeld, wel in de laatste weken voor monsternamen. Bij één van deze bedrijven was bekend dat een deel van de gespoelde Hosta's besmet was. Het is echter de vraag hoelang het virus in water overleeft zonder z'n waardplant. Ook in de watermonsters die genomen zijn tijdens het spoelexperiment met HVX-besmette planten kon het virus niet worden aangetoond. Dit doet de vraag rijzen of de toegepaste toetsingsmethode (ELISA) voldoende gevoelig is voor het aantonen van HVX in spoelwater, mede gezien het feit dat het spoelen meestal gebeurt m.b.v. grote volumina water. In vervolg onderzoek zal de toetsingsmethode aangepast worden door de watermonsters te concentreren en/of door toepassing van PCR, een veel gevoeliger toetsingsmethode.

3.7 Warmwaterbehandeling

3.7.1 Inleiding

Hosta-planten krijgen in de praktijk vlak voor planten regelmatig een warmwaterbehandeling om aanwezige aaltjes in het plantmateriaal te bestrijden (bijv. 1 uur 43.5°C). Omdat meerdere partijen Hosta's in hetzelfde kookwater worden behandeld en de behandeling plaatsvindt vlak voor planten en bij een relatief hoge temperatuur, zou besmetting met HVX tijdens de warmwaterbehandeling denkbaar kunnen zijn. Besmetting zou kunnen optreden via contactoverdracht en/of via besmet water.

In 2005 werd bij de cultivar Gold Standard geen besmetting met HVX door warmwaterbehandeling aangetoond, bij de cultivar Honeybells leek het percentage HVX-besmette planten als gevolg van een warmwaterbehandeling toe te nemen. In watermonsters uit kookbaden (in PPO proef en in praktijk) kon geen HVX aangetoond worden.

In 2006 is nogmaals onderzocht of tijdens een warmwaterbehandeling, via contactoverdracht en/of via besmet water, infectie met HVX kan optreden. Ook zijn nogmaals bij PPO en bij kookbedrijven tijdens warmwaterbehandelingen watermonsters genomen.

3.7.2 Materiaal en methode

Half april 2006 zijn warmwaterbehandelingen uitgevoerd met 'gezonde' planten van de cultivars Gold Standard en Sum and Substance en/of met besmette planten van de cultivar Lacy Belle (planten tot die tijd zonder turfmoalm bewaard bij 2°C):

- Behandeling 1: 'Gezonde' planten samen met besmette planten (bestudering overdracht HVX van plant tot plant)
 Behandeling 2: Alleen besmette planten (doel: extra HVX-besmetting water)
 Behandeling 3: Alleen 'gezonde' planten (bestudering overdracht HVX via water)

De warmwaterbehandeling vond plaats gedurende 1 uur bij 43.5°C. Per warmwaterbehandeling zijn 5 herhalingen van elk 24 'gezonde' en/of 24 besmette planten gekookt, per herhaling in een ander kookbad. De warmwaterbehandelingen 1, 2 en 3 zijn na elkaar in dezelfde kookbaden uitgevoerd. De planten van de 'gezonde' cultivars waren tijdens de warmwaterbehandeling per 6 planten met een touwtje samengebundeld. Direct na de warmwaterbehandelingen zijn de besmette planten verwijderd. De 'gezonde' planten zijn vervolgens gedurende een half uur in een bad met koud water afgekoeld en direct hierna 'ontbundeld'. Na 1 dag uitlekken in de schuur zijn de planten van de 'gezonde' cultivars opgeplant op het veld. Begin augustus zijn de planten op het veld visueel beoordeeld op virussymptomen en door de Naktuinbouw m.b.v. ELISA aan het blad getoetst op HVX.

Na de eerste en na de tweede serie warmwaterbehandelingen zijn uit alle kookbaden watermonsters genomen. Ook zijn er begin maart bij een kookbedrijf en begin mei bij een teeltbedrijf watermonsters genomen uit kookbaden waarin meerdere besmette partijen Hosta's een warmwaterbehandeling hadden gehad. Alle watermonsters zijn bij PPO m.b.v. ELISA geanalyseerd op de aanwezigheid van HVX.

3.7.3 Resultaten

In tabel 10 is het percentage besmetting met HVX aangegeven bij planten die wel of niet een warmwaterbehandeling hebben gehad, en het percentage besmetting in het uitgangsmateriaal. Zowel bij de cultivar Gold Standard als bij de cultivar Sum and Substance vond tijdens warmwaterbehandeling geen overdracht van HVX plaats, én niet via contactoverdracht (kolom 4 in tabel), én niet via besmet water (kolom 5 in tabel).

In de watermonsters die bij de 2 kookbedrijven genomen zijn én in de watermonsters die tijdens de warmwaterbehandelings-proef bij PPO genomen zijn, werd geen HVX aangetroffen.

Tabel 10: Het percentage besmetting met HVX bij de cultivars Gold Standard en Sum and Substance in het uitgangsmateriaal, in planten zónder en planten mét een warmwaterbehandeling. Warmwaterbehandeling samen met besmette planten óf in een bad waarin 2 maal besmette planten gekookt waren. (Toetsing aan blad; uitgangsmateriaal najaar 2005, wel en geen warmwaterbehandeling begin augustus 2006)

Cultivar	% planten met HVX-besmetting			
	Uitgangs- materiaal ¹	Geen warmwater- behandeling (controle) ²	Warmwaterbehandeling	
			Gezonde + besmette planten ³	Gezonde planten in 2x 'besmet' water ⁴
Gold Standard	0.3 - 3	0 a	0 a	1 a
Sum and Substance	0	0 a	0 a	0 a

¹ Zie hoofdstuk 3.1. Omdat de planten per 2 getoetst zijn, zijn slechts 2 grenswaarden aan te geven

² Zie hoofdstuk 3.2.2

³ Gezonde planten gekookt samen met besmette planten

⁴ Gezonde planten gekookt in warmwaterbad waarin reeds 2 maal besmette planten gekookt waren

3.7.4 Conclusies en discussie

Tijdens warmwaterbehandeling bleek, én via contactoverdracht én via besmet water, geen overdracht van HVX plaats te vinden. Ook in het kookwater bij bedrijven en bij PPO werd geen HVX aangetroffen. De resultaten komen ten dele overeen met die van 2005: in 2005 werd in het kookwater geen HVX aangetoond en vond bij de cultivar Gold Standard tijdens warmwaterbehandeling geen virusoverdracht plaats. In 2005

werd echter wél bij de cultivar Honeybells tijdens warmwaterbehandeling een toename van het virus gevonden ten opzichte van het uitgangsmateriaal. Toch mogen uit de resultaten in 2005 bij de cultivar Honeybells geen conclusies getrokken worden ten aanzien van mogelijke virusoverdracht tijdens warmwaterbehandeling. Enerzijds omdat in 2005 een controle-behandeling ontbrak. Anderzijds omdat in 2006 bleek dat bij de cultivar Honeybells het verwijderen van besmette planten na een ELISA-toets aan de wortel niet betrouwbaar bleek. In 2005 is het uitgangsmateriaal van Honeybells op dezelfde manier opgezuiverd als in 2006 (zie hoofdstuk 3.1). Het niet kunnen aantonen van HVX in het kookwater is in principe geen bewijs voor het niet aanwezig zijn van het virus in het kookwater; de toegepaste toetsingsmethode (ELISA) kan een te lage gevoeligheid hebben voor de detectie van HVX (zie hoofdstuk 3.6.4). Toch mag, vanwege het feit dat in 2005 bij de cultivar Gold Standard en in 2006 opnieuw bij de cultivars Gold Standard en Sum and Substance geen virusoverdracht werd gevonden, met vrij grote zekerheid geconcludeerd worden dat het toepassen van een warmwaterbehandeling geen risico vormt bij de overdracht van HVX.

3.8 Mechanische onkruidbestrijding

3.8.1 Inleiding

In de teelt van Hosta wordt gebruik gemaakt van mechanische onkruidbestrijding. Omdat tijdens mechanische onkruidbestrijding de machine in contact komt met het gewas en het gewas mogelijk beschadigt, is verspreiding van het HVX-virus in theorie mogelijk.

In het onderzoek dat in 2005 is uitgevoerd naar het effect van mechanische onkruidbestrijding op overdracht van HVX, werd geen virusoverdracht aangetoond. In een simulatieproef in de kas, waarbij wortel of blad werden aangesneden met een mes dat gedoopt was in sap van een besmette plant, bleek echter resp. 70 en 86% van de planten met HVX besmet te raken. Gezien het hoge besmettingspercentage in de kasproef, is, ondanks de vrij extreme omstandigheden in deze proef, besloten om in 2006 nogmaals op het veld het effect van mechanische onkruidbestrijding op overdracht van HVX te bestuderen. De virusdruk is in deze proef opgevoerd door, in vergelijking met 2005, meer besmette planten te planten.

3.8.2 Materiaal en methode

De proef is uitgevoerd met gezonde planten van de cultivar Gold Standard (planten vlak voor moment van planten getoetst op HVX en gezond bevonden) en met besmette planten van de cultivar Lacy Belle. De planten zijn tot het moment van planten in turfmoalm bewaard bij 2°C. Eind april 2006 zijn 10 herhalingen van elk 20 gezonde planten en 12 besmette planten opgeplant op het veld. Per veldje (herhaling) zijn achter elkaar 2 regels van 6 besmette planten en 5 regels van 4 gezonde planten geplant. De regels lagen dwars op de rijrichting van de wiedege, de 10 veldjes met besmette én gezonde planten lagen achter elkaar in de rijrichting van de wiedege. Vóór de 10 veldjes met besmette én gezonde planten is 1 veldje geplant met alleen 60 besmette planten in een verband van 10 regels van 6 planten. De afstand tussen de regels was 0.2 meter, tussen de veldjes 1.0 meter. Oorspronkelijk was het doel om vanaf begin mei tot eind juli 2 maal per week te wiedege. Door omstandigheden is hier van afgeweken: vanaf begin juni tot eind september is er wekelijks 1 of 2 maal gewiedege, met uitzondering van de periode van half juli tot eind augustus. In totaal is er 13 maal gewiedege. De rijrichting van de wiedege was gedurende de hele proef gelijk, dwz. de machine begon bij het veldje met 60 besmette planten.

Omdat er gedurende een deel van het zomerseizoen niet is gewiedege, en er langer is doorgegaan met het wiedege, is besloten om in de zomer geen bladtoetsing op HVX uit te voeren. Begin augustus en begin oktober zijn de 'gezonde' planten op het veld visueel beoordeeld op virussymptomen. Eind januari 2007 zijn de 'gezonde' planten 'op nummer' gerooid, zodat duidelijk is waar welke plant gestaan heeft op het proefveldje. I.v.m. een mogelijke verspreiding van virus tijdens het rooien en bemonsteren van de planten, is er voor gekozen om de 'gezonde' planten van slechts de helft van de veldjes te rooien (om en om een veldje wel gerooid of juist laten staan). Op dat moment zijn ook alle aangebrachte besmettingsbronnen, nl de besmette planten van de cultivar Lacy Belle uit het proefveld verwijderd. De 'gezonde' planten zijn bij PPO m.b.v. ELISA aan de wortel getoetst op HVX.

Eind januari 2007 zijn de gezonde, reeds getoetste planten, opnieuw opgeplant volgens het plantverband

waarin ze in 2006 op het veld hadden gestaan. In de zomer van 2007 zullen deze planten samen met de planten van de overige veldjes nogmaals getoetst worden op HVX.

3.8.3 Resultaten

Van de 10 veldjes die gewiedegd waren, zijn van 5 veldjes de planten getoetst op de aanwezigheid van HVX. Geen van de getoetste planten was geïnfecteerd met het virus.

3.8.4 Conclusies en discussie

Net als in 2005 heeft ook dit jaar geen overdracht van HVX plaatsgevonden tijdens wieden. Omdat in 2005 in een simulatieproef in de kas, weliswaar onder vrij extreme omstandigheden, wél overdracht van HVX werd aangetoond, was besloten om in 2006 de veldproef opnieuw uit te voeren, uitgaande van een hogere besmettingsdruk. De planten zijn slechts 13 maal gewiedegd i.p.v. de beoogde 24 keer. De aanwezigheid van besmette planten als besmettingsbron was echter veel hoger. Ook is een deel van de onkruidbestrijding pas relatief laat in het seizoen uitgevoerd waardoor bij eventueel opgetreden besmetting het virus mogelijk pas in volgend groeiseizoen aantoonbaar zal zijn. In de zomer van 2007 zullen de planten dan ook opnieuw getoetst worden, en dan van alle veldjes.

Deze proef is uitgevoerd met slechts 1 cultivar. Het is aan te bevelen om in vervolgonderzoek meerdere cultivars op te nemen.

3.9 Planten uitsteken

3.9.1 Inleiding

Tijdens het groeiseizoen worden besmette Hosta-planten uitgestoken (het zogenaamde selecteren). De vraag is of tijdens het uitsteken overdracht van HVX plaats vindt van de besmette plant naar omringende gezonde planten via het uitsteekschopje.

Op grond van de uitsteekproef die in 2005 is uitgevoerd kunnen nog geen uitspraken worden gedaan over de kans op overdracht van HVX tijdens het uitsteken van besmette planten op omringende planten. In 2006 is de proef herhaald met een aanpassing in de opzet: er is intensiever in de besmette planten gestoken en met dezelfde spade is in de wortels van de gezonde, te toetsen planten gestoken.

3.9.2 Materiaal en methode

De proef is uitgevoerd met gezonde planten van de cultivar Gold Standard (planten vlak voor planten getoetst op HVX en gezond bevonden) en met besmette planten van de cultivar Lacy Belle. De planten zijn tot planten in turfalmolm bewaard bij 2°C. Eind april 2006 zijn 40 gezonde en 160 besmette planten geplant in afzonderlijke veldjes. Begin juli zijn de planten uitgestoken: achtereenvolgens is met een spade telkens in 4 besmette planten en daarna in 1 gezonde plant gestoken. Dit is totaal 40 maal uitgevoerd met telkens 'nieuwe' gezonde en besmette planten. In elke besmette plant zijn 2 stekken gezet, in elke gezonde plant 1 steek. Bij de besmette planten is de spade schuin door de neus gestoken, bij de gezonde plant verticaal door de wortels, vlak langs de neus. Na elke vierde serie van 4 besmette en 1 gezonde plant is de spade gedoopt in een 1%-oplossing van het reinigingsmiddel Easy Clean.

Begin augustus en begin oktober zijn de 'gezonde' planten op het veld visueel beoordeeld op virussymptomen. Eind november is de helft van de 'gezonde' planten bij PPO m.b.v. ELISA aan de wortel op nummer getoetst op HVX. De overige planten zullen in de zomer van 2007 getoetst worden.

3.9.3 Resultaten

Bij geen van de 20 getoetste planten werd het virus aangetoond.

3.9.4 Conclusies en discussie

Ondanks het feit dat de methode van uitsteken behoorlijk extreem was, werd er geen HVX aangetoond in de uitgestoken planten. Omdat het uitsteken in het groeiseizoen zelf heeft plaatsgevonden, is het in theorie mogelijk dat een eventuele besmetting pas in het groeiseizoen van 2007 aantoonbaar zal zijn. In de zomer van 2007 zullen de resterende 20 planten dan ook getoetst worden en pas dan zal met zekerheid het risico

van besmetting met HVX tijdens uitsteken, definitief bepaald kunnen worden.

De proef is met slechts 1 cultivar uitgevoerd. Het is aan te bevelen om in vervolgonderzoek meerdere cultivars op te nemen.

3.10 Conclusies

Om verspreiding tegen te gaan, is inzicht in de risico's van de verschillende teelthandelingen heel belangrijk, juist vanwege het feit dat het virus aanwezig kan zijn zonder zichtbare symptomen.

In 2005 zijn de belangrijkste teelthandelingen onderzocht op mogelijk risico op verspreiding van HVX. Voor wat betreft de meeste teelthandelingen konden hierover echter nog geen conclusies worden getrokken. Daarom is aan deze teelthandelingen in 2006 nader onderzoek gedaan.

Machinaal rooien

- Op grond van de resultaten is het, door het ontbreken van de juiste controle-behandeling (planten niet rooien), moeilijk om betrouwbare conclusies te trekken omtrent het risico van overdracht van HVX tijdens rooien. Toch lijkt er een kleine aanwijzing te zijn dat tijdens het machinaal rooien HVX wordt verspreid.

Sorteren

- Bij de cultivars Gold Standard en Francee nam het percentage besmette planten t.g.v. sorteren (snijden en/of scheuren) niet toe.
- Bij de cultivar Sum and Substance is toename van het percentage besmette planten door sorteren (snijden en scheuren) niet statistisch aan te tonen, toch lijkt er, op grond van het feit dat er is gestart met een absoluut gezonde partij, sprake te zijn geweest van overdracht van enig virus.
- Bij de cultivar Honeybells kan geen betrouwbare uitspraak gedaan worden t.a.v. overdracht van HVX tijdens sorteren. Er zijn duidelijke twijfels over de hoeveelheid virus in het uitgangsmateriaal. Na snijden van de navelstreng was het percentage besmette planten 5 maal zo hoog als na snijden van de neus. Er werd geen ophoping van virus op het mes aangetoond.
- Zowel in 2005 als in 2006 is een geringe overdracht van HVX tijdens het sorteren vastgesteld.

Verwerkingsmachines

- Bij bemonstering van een verwerkingsmachine in de praktijk, werd op enkele plaatsen op de grote band en het snijplateau een (lichte) besmetting met HVX aangetoond. Het is de vraag of de virusconcentratie op deze plaatsen 'voldoende' hoog is om ook daadwerkelijk te leiden tot virusoverdracht.

Spoelen

- Tijdens spoelen vond een (aanzienlijke) overdracht van HVX plaats. De cultivar Sum and Substance lijkt gevoeliger voor virusoverdracht tijdens spoelen dan de cultivar Gold Standard.
- In het spoelwater bij spoelbedrijven is geen HVX aangetoond.
- In 2005 is geen overdracht van HVX gevonden tijdens het spoelen van besmette en gezonde planten. Wel is overdracht aangetoond met kunstmatig zwaar besmet spoelwater. De overdracht van HVX binnen een partij lijkt daarmee gevaarlijker dan tussen partijen.

Warmwaterbehandeling

- Tijdens warmwaterbehandeling vond bij de cultivars Gold Standard en Sum and Substance geen besmetting met HVX plaats.
- Bij kookbedrijven en bij PPO werd in het kookwater geen HVX aangetoond.
- Ook in 2005 werd geen duidelijke overdracht gevonden. Dit zou kunnen betekenen dat een warmwaterbehandeling dus relatief ongevaarlijk is.

Mechanische onkruidbestijding (wiedeggen)

- Er werd bij de cultivar Gold Standard na wiedeggen geen toename van het besmettingsniveau waargenomen. Vermeld moet worden dat er minder frequent is gewiedegd dan was beoogd en dat een

deel van de onkruidbestrijding pas laat in het jaar is uitgevoerd. Anderzijds was de besmettingsdruk in 2006 veel hoger dan in 2005. In 2007 zullen de planten opnieuw getoetst moeten worden om een definitieve uitspraak te kunnen doen over het risico op overdracht van HVX tijdens mechanische onkruidbestrijding

Uitsteken

- Bij de cultivar Gold Standard werd na (zeer intensief) uitsteken geen overdracht van HVX aangetoond. Omdat het uitsteken begin juli heeft plaatsgevonden, zullen de planten in 2007 opnieuw getoetst moeten worden om een definitieve uitspraak te kunnen doen over het risico op overdracht van HVX tijdens uitsteken

Omdat bij de cultivar Honeybells het percentage besmette planten in de loop van de tijd toenam zonder toepassing van teelthandelingen én omdat het niet aannemelijk is dat er inderdaad geen virusoverdracht plaatsvindt tijdens sorteren, is de vraag gerezen of het virus zich mogelijk dusdanig traag vermeerderd in de plant dat het mogelijk in het jaar dat de besmetting plaatsvindt, nog niet is aan te tonen m.b.v. ELISA. Besloten is dan ook om alle planten op het veld te laten staan en in 2007 nogmaals te toetsen met ELISA. Er zal dan tevens oriënterend worden getoetst met PCR.

Bij vervolgonderzoek in 2007 zullen in alle proeven voldoende planten gebruikt worden; ook is het uitgangsmateriaal voor de proeven per plant getoetst op besmetting met HVX.

4 Onderzoek naar voorkoming van overdracht van HVX via het mes tijdens het sorteren

4.1 Inleiding

Omdat tijdens het snijden (sorteren) via het mes HVX kan worden overgedragen, is het noodzakelijk om over een methode te beschikken die tot volledige inactivatie of afdoding van het virus leidt. In het onderzoek zijn 3 verschillende methoden onder de loep genomen:

- Ontsmetting via verhitting van het mes
In het onderzoek is gezocht naar de juiste combinatie van mestemperatuur en tijdsduur.
- Ontsmetting m.b.v. ontsmettingsmiddelen
Uitgetest zijn Jet 5 en middel B. Gezocht is naar de juiste combinatie van concentratie en tijdsduur.
- Verspreiding tegengaan m.b.v. magere melk
Van magere melk is ondermeer bekend dat het effectief is in het tegengaan van de verspreiding van paprikamozaïekvirus in paprika (Rast, 1977; Stijger, 1995). Door binding van het virus aan het melkeiwit vindt directe inactivatie van het virus plaats, zodat er geen sprake is van een inwerkingstijd. Dit levert een voordeel op ten opzichte van ontsmetting m.b.v. gangbare ontsmettingsmiddelen.

Om een aanwijzing te krijgen bij welke temperatuur (ontsmetting via hitte), bij welke concentratie (ontsmetting via gangbare middelen) en hoelang de ontsmetting moet plaats vinden, zijn bij de eerste 2 ontsmettingsmethoden (hitte en gangbare ontsmettingsmiddelen) eerst oriënterende proeven uitgevoerd. In deze oriënterende proeven zijn besmette planten doorgesneden waarna het mes werd ontsmet m.b.v. hitte of ontsmettingsmiddelen. Na ontsmetting is m.b.v. ELISA onderzocht of er (nog) HVX op het mes was aan te tonen. Vervolgens zijn sorteerproeven uitgevoerd (opzet vergelijkbaar aan de sorteerproef beschreven in hoofdstuk 3.4.2). In de sorteerproeven is het mes tussen het snijden van een besmette en een 'gezonde' plant ontsmet m.b.v. hitte of een ontsmettingsmiddel. Hierbij is uitgegaan van de behandeling(en) met de kortstduurende toepassingstijd, de laagste temperatuur (ontsmetting via hitte) en de laagste concentratie (ontsmetting via gangbare middelen) waarbij in het vooronderzoek geen overleving van HVX meer gevonden werd.

Dit onderzoek is uitgevoerd met hetzelfde uitgangsmateriaal als het 'onderzoek naar risico's van teelthandelingen' (zie hoofdstuk 3.1 en 3.2 voor beschrijving uitgangsmateriaal).

4.2 Verhitting

4.2.1 Vooronderzoek

4.2.1.1 Materiaal en methode

Het vooronderzoek naar de vereiste minimaal benodigde verhitting is begin november 2005 uitgevoerd. Met een mes dat werd verhit tot een temperatuur van 150, 200 of 300°C is 3 maal door de wortelpruik van een besmette plant van de cultivar Lacy Belle gesneden. Na snijden is 3, 5, 10 of 20 seconde gewacht alvorens met een wattenstokje, afkomstig uit een buisje met 0.4 ml ELISA-buffer, het verhitte mes werd afgenomen. Het wattenstokje werd vervolgens teruggeplaatst in het buisje met ELISA-buffer en m.b.v. ELISA werd de aanwezigheid van HVX in de buffer bepaald. Per behandeling zijn 4 herhalingen uitgevoerd.

Er zijn gezonde en besmette controlebehandelingen uitgevoerd. Bij de gezonde controlebehandelingen is in gezonde planten gesneden met een mes van 150, 200 of 300°C; na 5 seconde is het mes bemonsterd. Bij de besmette controlebehandeling is in besmette planten gesneden met een niet-verhit mes waarna het mes

is bemonsterd. De gezonde controlebehandelingen zijn in 2 herhalingen uitgevoerd, de besmette controlebehandeling in 5 herhalingen.

Van elke gesneden besmette plant is een wortelmonster genomen dat m.b.v. ELISA getoetst is op infectie met HVX (testen of 'besmette' uitgangsmateriaal werkelijk besmet was met HVX).

4.2.1.2 Resultaten

In tabel 11 zijn de resultaten weergegeven. Omdat het aantal planten per herhaling gering was, zijn de resultaten als volgt weergegeven: 'het aantal herhalingen waarbij HVX werd aangetoond / totaal aantal uitgevoerde herhalingen'. Bij een mesttemperatuur van 150°C overleefde na 20 sec verhitting nog (een deel van het) virus op het mes. Bij een mesttemperatuur van 200°C was een verhittingsduur van 10 sec voldoende om geen HVX meer aan te tonen. Bij een mesttemperatuur van 300°C was zelfs 3 seconde verhitting voldoende om alle virus op het mes af te doden.

De gezonde controle-behandelingen waren allen negatief, de besmette controle-behandelingen allen positief.

Tabel 11: Het aantal herhalingen waarbij na het snijden met een verhit mes van HVX-besmette planten, besmetting met HVX op het mes werd aangetoond / totaal aantal uitgevoerde herhalingen

Temp. mes (°C)	Aantal herhalingen met HVX-besmetting / totaal aantal herhalingen			
	Duur verhitting (s)			
	3	5	10	20
150	4/4	4/4	3/4 ¹	4/4
200	1/4	4/4	0/4	0/4
300	0/4	0/4	0/4	0/4

¹ En 1/4 verdacht

4.2.1.3 Conclusies en discussie

Ontsmetting van het mes via verhitting lijkt uitstekend toepasbaar. Een mesttemperatuur van 200°C in combinatie met een verhittingsduur van 10 sec, was in het onderzoek afdoende om geen HVX meer op het mes aan te tonen. Bij een mesttemperatuur van 300°C was een verhittingsduur van 3 sec voldoende, maar toepassing van deze temperatuur is in de praktijk vanuit veiligheidsoverwegingen niet reëel.

In de hierna beschreven sorteerproef is een mesontsmetting van 10 sec. bij 200°C uitgetest als ook een mesontsmetting van 10 sec. bij 250°C (voor het geval 10 sec. 200°C net de grens blijkt te zijn van wel/niet volledige ontsmetting).

4.2.2 Ontsmetting mes tijdens sorteren m.b.v. hitte

4.2.2.1 Materiaal en methode

Het onderzoek is uitgevoerd met 'gezonde' planten van de cultivars *Sum and Substance* en *Gold Standard*, en met besmette planten van de cultivar *Lacy Belle*. De opzet van het onderzoek was, m.u.v. het ontsmetten van het mes, vergelijkbaar aan die van de sorteerproef (zie hoofdstuk 3.4.2). Voorafgaand aan het sorteren zijn de planten handmatig bij PPO gespoeld, eerst de gezonde planten en vervolgens de besmette planten. Half januari 2006 zijn, om en om, een besmette en een 'gezonde' plant gesneden m.b.v. een mes met een temperatuur van 200°C (*Sum and Substance*) en/of een temperatuur van 250°C (*Gold Standard* en *Sum and Substance*): de planten zijn door de neus in tweeën gesneden en de dochterplanten (alleen aanwezig bij de cv. *Gold Standard*) zijn via de navelstreng losgesneden van de moederplant. Na snijden van een besmette of een gezonde plant is, ter ontsmetting, 10 seconde gewacht alvorens in de volgende plant gesneden werd. Na elke herhaling is het werkblad ontsmet met alcohol; om bij starten van de volgende herhaling absoluut zeker te zijn van een HVX-vrij mes, is 30 seconde gewacht voordat met de volgende herhaling gestart werd. Van elke gesorteerde 'gezonde' plant is één helft bewaard en, indien van toepassing, tevens de navelstreng met dochterplant. Per cultivar en per 'mesttemperatuur' zijn 4 herhalingen van elk 4 'gezonde' en 4 besmette planten uitgevoerd. Per herhaling zijn de 4 gesneden 'gezonde' planten

bewaard samen met 1 gesneden besmette plant.

Na sorteren zijn de planten tot opplanten bewaard zónder turfmolm; de eerste week bij +2°C, tot eind maart bij -2°C en vervolgens tot opplanten bij +2°C. Begin april zijn de besmette planten verwijderd. Half april zijn de 'gezonde' planten (neushelft en navelstreng/dochterplant apart) op het veld opgeplant. Begin augustus zijn de planten op het veld visueel beoordeeld op virussympptomen en door de Naktuinbouw m.b.v. ELISA aan het blad getoetst op HVX.

4.2.2.2 Resultaten

In tabel 12 zijn de resultaten weergegeven.

Zowel bij de cultivar Gold Standard als bij de cultivar Sum and Substance lag het besmettingsniveau bij de niet ontsmette controle-behandeling al zeer laag, resp. 1 en 2%. Er waren geen significante verschillen tussen de verschillende verhittingsbehandelingen, de niet ontsmette controle-behandeling en de niet gesorteerde controle-behandeling.

Tabel 12: Het percentage besmetting met HVX bij de cultivars Gold Standard en Sum and Substance in het uitgangsmateriaal, in ongesorteerde planten en in planten gesorteerd met mes door neus of navelstreng, met of zonder ontsmetting gedurende verschillende tijdsduren en bij verschillende temperaturen. Om en om besmette en 'gezonde' planten gesneden. (Toetsing aan blad; uitgangsmateriaal najaar 2005, ongesorteerde en gesorteerde planten begin augustus 2006)

	Ontsmetting	Snijden	% planten met HVX-besmetting	
			Gold Standard	Sum and Substance
Uitgangsmateriaal ¹			0.3 – 3 ¹	0
Ongesorteerd (controle) ²			0 a	0 a
Gesorteerd	Geen (controle) ³	Neus	1 a	2 a
		Navelstreng	1 a	-
	10 sec. 200°C	Neus	-	6 a
		Navelstreng	-	-
	10 sec. 250°C	Neus	0 a	0 a
		Navelstreng	0 a	-

¹ Zie hoofdstuk 3.1. Omdat de planten per 2 getoetst zijn, zijn slechts 2 grenswaarden aan te geven

² Zie hoofdstuk 3.1

³ Mes niet verhit. Waarden afkomstig uit proef 'Sorteren', zie hoofdstuk 3.2.2

-: niet uitgevoerd

4.2.2.3 Conclusies en discussie

Omdat in de niet ontsmette controle-behandelingen vrijwel geen besmetting optrad, kunnen er (nog) geen conclusies getrokken worden omtrent de effectiviteit van ontsmetting via een mesverhitting van 10 sec. bij 200 of 250°C. Indien sprake is van een relatief late aantoonbaarheid van het virus (zie hoofdstuk 3.4.2.3), dan zal in 2007 mogelijk alsnog een uitspraak gedaan kunnen worden.

Opmerkelijk is het feit dat bij de cultivar Sum and Substance (uitgegaan van een volledig gezonde weefselweekpartij), na 10 sec. verhitting bij 200°C, 6% van de planten besmet was. Ondanks het feit dat het besmettingsniveau niet significant verschilde van de niet ontsmette controle-behandeling, moet hier toch sprake zijn geweest van enige virusoverdracht en van onvoldoende ontsmetting.

De proef zal in 2007 herhaald worden; bij beide cultivars zullen dan beide mestemperaturen getoetst worden. Er zal tevens met grotere aantallen planten gewerkt worden.

4.3 Middelen

4.3.1 Vooronderzoek

4.3.1.1 Materiaal en methode

Het vooronderzoek is begin december 2005 uitgevoerd. Met een mes is 3 maal door de wortelpruik van een besmette plant van de cultivar Lacy Belle gesneden om voldoende virus op het mes te krijgen. Na snijden is het mes ontsmet in Jet 5 of in middel B. Uitgetest zijn de concentraties 1% en 2% en de blootstellingsduren 10 sec, 60 sec, 3 min. en 5 min. Na ontsmetten is het mes met een wattenstokje, afkomstig uit een buisje met 0.4 ml ELISA-buffer, afgenomen. Het wattenstokje is vervolgens teruggeplaatst in het buisje met ELISA-buffer en m.b.v. ELISA is de aanwezigheid van HVX in de buffer bepaald. Van elke gesneden besmette plant is een wortelmonster genomen dat m.b.v. ELISA getoetst is op infectie met HVX (testen of 'besmette' uitgangsmateriaal werkelijk besmet was met HVX). Per behandeling zijn 4 herhalingen uitgevoerd. Er zijn 2 controlebehandelingen uitgevoerd: in de 'gezonde' controlebehandeling is het mes, zonder aansnijden van een besmette plant, gedurende 60 sec ontsmet in 1 of 2% Jet 5 of in 1 of 2% middel B, in de 'besmette' controlebehandeling is het mes na snijden in een besmette planten, niet ontsmet. De eerste controlebehandeling is in 2 herhalingen uitgevoerd, de tweede controlebehandeling is in 4 herhalingen uitgevoerd.

4.3.1.2 Resultaten

Zowel na ontsmetting in Jet 5 als in middel B werd, bij een concentratie van 1 of 2% en een ontsmettingsduur van 10 sec, 60 sec, 3 min of 5 min, op het mes geen virus aangetoond. De gezonde controle-behandelingen waren allen negatief, de besmette controle-behandelingen positief.

4.3.1.3 Conclusies en discussie

Zowel bij Jet 5 als middel B werd in geen van de behandelingen HVX op het mes aangetoond. Waarschijnlijk heeft het middel na de ontsmetting, maar vóór het toetsen, nagewerkt in de buffer. De toegepaste testmethode blijkt niet geschikt te zijn.

In de sorteerproef (zie volgend onderdeel) zijn, in overleg met de begeleidingscommissie, beide middelen in de concentraties 1 en 2% en gedurende 10 en 60 sec uitgetest (in de praktijk zal 3 of 5 min vrij lastig inpasbaar zijn).

4.3.2 Ontsmetting mes tijdens sorteren m.b.v. middelen

4.3.2.1 Materiaal en methode

Het onderzoek is uitgevoerd met 'gezonde' planten van de cultivars Sum and Substance en Gold Standard, en met besmette planten van de cultivar Lacy Belle. De opzet van het onderzoek was, m.u.v. de snijmethode bij de besmette plant en van het ontsmetten van het mes, vergelijkbaar aan de opzet van de sorteerproef (zie hoofdstuk 3.4.2). Voorafgaand aan het sorteren zijn de planten handmatig bij PPO gespoeld (besmet en gezond gescheiden). Half januari 2006 zijn, om en om, een besmette en een 'gezonde' plant gesneden: bij de besmette planten is 3 maal door de wortelpruik gesneden, de 'gezonde' planten zijn door de neus in tweeën gesneden. Tussen het snijden van de besmette en de 'gezonde' planten, is het mes ontsmet in Jet 5 of in middel B. Getest zijn de concentraties 1% en 2% en de blootstellingsduren 10 sec en 60 sec. Na elke herhaling is het mes gedurende minimaal 60 sec ontsmet in 1 of 2% van het betreffende middel en is het werkblad schoongemaakt met alcohol. Van elke gesorteerde 'gezonde' plant is één (neus)helft bewaard. Per behandeling zijn bij de cultivar Gold Standard 3 herhalingen van resp. 7, 7 en 6 'gezonde' planten gesneden, bij de cultivar Sum and Substance 4 herhalingen van elk 10 gezonde planten. Per herhaling zijn de 'gezonde' planten samen met 2 besmette planten bewaard.

Na sorteren zijn de planten tot opplanten bewaard zónder turfmolm; de eerste week bij +2°C, tot eind maart bij -2°C en vervolgens tot opplanten bij +2°C. Begin april zijn de besmette planten verwijderd. Half april zijn de 'gezonde' planten op het veld opgeplant. Begin augustus zijn de planten op het veld visueel beoordeeld op virussymptomen en door de Naktuinbouw m.b.v. ELISA aan het blad getoetst op HVX.

4.3.2.2 Resultaten

In tabel 13 zijn de resultaten weergegeven.

In de niet ontsmette controle-behandeling was het besmettingspercentage bij de cultivars Gold Standard en de cultivar Sum and Substance resp. 0% en 5%. Er waren geen significante verschillen tussen de verschillende ontsmettingsbehandelingen, de niet ontsmette controle-behandeling en de niet gesorteerde controle-behandeling.

Tabel 13: Het percentage besmetting met HVX bij de cultivars Gold Standard en Sum and Substance in het uitgangsmateriaal, in ongesorteerde en in gesorteerde planten, met of zonder mesontsmetting in Jet 5 of middel B, een concentratie van 1 of 2% en een ontsmettingsduur van 10 of 60 sec. Om en om besmette en 'gezonde' planten gesneden. (Toetsing aan blad; uitgangsmateriaal najaar 2005, ongesorteerde en gesorteerde planten begin augustus 2006)

	Ontsmetting			% planten met HVX-besmetting	
	Middel	Conc,	Duur	Gold Standard	Sum and Substance
Uitgangsmateriaal ¹				0.3 – 3 ¹	0
Ongesorteed (controle) ²				0 a	0 a
Gesorteed	Geen			0 a	5 a
	Jet 5	1%	10 sec	0 a	0 a
			60 sec	-	0 a
		2%	10 sec	-	3 a
			60 sec	-	0 a
	Middel B	1%	10 sec	5 a	0 a
			60 sec	-	0 a
		2%	10 sec	-	3 a
			60 sec	-	0 a

¹ Zie hoofdstuk 3.1. Omdat de planten per 2 getoetst zijn, zijn slechts 2 grenswaarden aan te geven

² Zie hoofdstuk 3.2.2

4.3.2.3 Conclusies en discussie

Omdat in de niet ontsmette controle-behandelingen, ondanks intensief snijden door de besmette planten, niet of nauwelijks besmetting optrad, kunnen er (nog) geen conclusies getrokken worden omtrend de ontsmetting van het mes in Jet 5 en middel B. Ook hier geldt: indien sprake is van een relatief late aantoonbaarheid van het virus (zie hoofdstuk 3.4.2.3), dan zal in 2007 mogelijk alsnog een uitspraak gedaan kunnen worden.

Bij de cultivar Sum and Substance is het opmerkelijk dat zowel bij Jet 5 als bij middel B (enige) virusinfectie optrad na 10 sec ontsmetting in 2% middel. Omdat is uitgegaan van een volledig gezonde weefselkweek partij mag er, hoewel de resultaten niet significant verschillen van de niet ontsmette controle-behandeling, van uitgegaan worden dat er toch enige virusoverdracht heeft plaatsgevonden. Tevens kan dan ook geconcludeerd worden dat de ontsmetting van 10 sec. in 2% Jet 5 en 2% middel B niet afdoende heeft gewerkt. Het is onlogisch dat bij beide middelen wél een aantal besmette planten werd gevonden bij een ontsmetting van 10 sec. in 2% middel, maar níet bij een ontsmetting van 10 sec. in 1% middel. De verschillen zijn klein ook het aantal gebruikte planten is gering. Dit moet dus berusten op toeval. De proef zal in 2007 met beide cultivars en een groter aantal planten herhaald worden.

4.4 Magere melk

4.4.1 Materiaal en methode

Met betrekking tot de werkzaamheid van magere melk is geen vooronderzoek in het laboratorium gedaan. Het onderzoek is uitgevoerd met 'gezonde' planten van de cultivar Sum and Substance en besmette planten van de cultivar Lacy Belle. De opzet van het onderzoek was, m.u.v. de snijmethode bij de besmette planten en m.u.v. het dompelen van het mes, vergelijkbaar aan de opzet van de sorteerproef (zie hoofdstuk 3.4.2). Half mei 2006 is de proef uitgevoerd (planten tot die tijd bewaard bij 2°C). Vlak voor sorteren zijn de planten handmatig bij PPO gespoeld; eerst besmet, vervolgens gezond. Tijdens het sorteren zijn om en om zijn een besmette en een gezonde plant gesneden: bij de besmette planten is 3 maal door de wortelpruik gesneden, de gezonde planten zijn door de neus in tweeën gesneden. Tussen het snijden van de besmette en de gezonde planten is het mes enkele seconden gedompeld in magere melk (3.5 g/l melkeiwit). In de 'besmette' controle-behandeling werd het mes niet gedompeld. Bij de melkdompel-behandeling zijn in totaal 30 gezonde planten gesneden; na snijden zijn de 60 planthelften van de 'gezonde' planten samengevoegd en verdeeld over 3 herhalingen van elk 20 planten. Bij de controle-behandeling zijn in totaal 20 gezonde planten gesneden; per 'gezonde' plant zijn de 2 planthelften verdeeld over 2 herhalingen (d.w.z. helft 1 in herhaling 1, helft 2 in herhaling 2), zodat 2 herhalingen van 20 planten ontstonden. Alle besmette planten zijn verwijderd. Na snijden zijn de 'gezonde' planten nog een week bewaard bij +2°C en vervolgens, eind april, op het veld opgeplant. Half oktober zijn de planten op het veld visueel beoordeeld op virussymptomen en door de Naktuinbouw m.b.v. ELISA aan het blad getoetst op HVX.

4.4.2 Resultaten

In tabel 14 zijn de resultaten weergegeven.

Bij snijden zonder mesdompeling was 17% van de planten besmet met HVX, terwijl bij de niet gesorteerde controle-behandeling geen enkele plant besmet was. Bij dompelen van het mes in melk was het percentage besmette planten slechts 2% en vergelijkbaar aan het percentage besmette planten met de niet gesorteerde controle-behandeling. Omdat er tussen de 2 herhalingen van de niet gedompelde behandeling een grote variatie was in het besmettingsniveau, is het moeilijk om een uitspraak te doen over het wel of niet significant zijn van de verschillen tussen enerzijds de niet gedompelde behandelingen, en anderzijds de melk-gedompelde behandeling en de niet gesorteerde controle-behandeling.

Tabel 14: Het percentage besmetting met HVX bij de cultivar Sum and Substance in het uitgangsmateriaal, in ongesorteerde planten en in gesorteerde planten, met of zonder mesdompeling in magere melk. Om en om besmette en 'gezonde' planten gesneden. (Toetsing aan blad; uitgangsmateriaal najaar 2005, ongesorteerde planten begin augustus 2006, gesorteerde planten oktober 2006)

	Mesdompeling magere melk	% planten met HVX-besmetting
Uitgangsmateriaal ¹		0
Ongesorteerd (controle) ²		0 a
Gesorteerd	-	17 b??
	+	2 a

¹ Zie hoofdstuk 3.1. Omdat de planten per 2 getoetst zijn, zijn slechts 2 grenswaarden aan te geven

² Zie hoofdstuk 3.2.2

4.4.3 Conclusies en discussie

Hoewel er op grond van de resultaten aanwijzingen zijn dat magere melk verspreiding van HVX heeft voorkomen, is het, door de grote variatie in het besmettingsniveau bij de melk-behandeling, moeilijk om hierover een betrouwbare uitspraak te doen. Ook de proefopzet was niet ideaal (toetsing bij slechts 1 cultivar; toetsing van de niet gesorteerde controle-planten begin augustus, van de gesorteerde planten in

oktober; een verschillend aantal herhalingen per behandeling; bij gesorteerde behandelingen geen échte herhalingen: na snijden beide helften in dezelfde of in andere herhaling terecht gekomen).

Opmerkelijk is het dat, i.t.t. in de sorteerproef (hoofdstuk 3.4.2), de verspreidingsproef (hoofdstuk 3.4.3) en de eerder beschreven ontsmettingsproeven (hoofdstuk 4.2.2 en 4.3.2), in déze proef wel virusoverdracht t.g.v. snijden werd aangetoond. Hier zijn verschillende mogelijke verklaringen voor: de planten zijn pas half mei gesneden en waren op moment van snijden dus alleen in gedwongen rust en gingen na het opplanten snel groeien, de planten zijn vrij snel na snijden geplant, en de planten zijn pas in oktober getoetst.

4.5 Conclusies

Verhitting

- In vooronderzoek in het laboratorium werd bij snijden na 10 seconde verhitting van het mes bij 200°C, geen HVX meer aangetoond.
- Er kan nog geen uitspraak gedaan worden over de ontsmettende werking van een mesverhitting van 10 seconden bij 200°C of 250°C tijdens sorteren, omdat in de (praktijk)proef in de niet ontsmette controle-behandeling nauwelijks of geen besmette planten werden aangetoond. Anderzijds werd na ontsmetting van 10 seconden bij 200°C nog wel enige overdracht gevonden.

Jet 5, Middel B

- Er kunnen uit het vooronderzoek in het laboratorium t.a.v. de ontsmettende werking van Jet 5 en middel B tegen HVX geen conclusies getrokken worden: de laboratoriummethode bleek niet geschikt te zijn.
- Omdat in de (praktijk)proef in de niet ontsmette controle-behandeling nauwelijks of geen besmette planten werden gevonden, kan er geen definitieve uitspraak gedaan worden over de ontsmettende werking van van Jet 5 en middel B (10 of 60 seconde, 1 of 2%) tijdens sorteren. 10 seconden in 2% Jet 5 of middel B lijkt niet volledig te werken.

Magere melk

- Hoewel niet statistisch onderbouwd, zijn er aanwijzingen dat magere melk verspreiding van HVX kan tegengaan.

Vanwege de vraag, of het virus zich mogelijk dusdanig traag vermeerderd in de plant dat het mogelijk in het jaar dat de besmetting plaatsvindt nog niet is aan te tonen m.b.v. ELISA, is besloten om de planten op het veld te laten staan en in 2007 nogmaals te toetsen.

5 Inventarisatie HVX

5.1 Aanwezigheid van HVX in Nederland

5.1.1 Inleiding

In de zomer 2004 kwamen er signalen van exporteurs van vaste planten dat Hosta Virus X (HVX) in Hosta's gevonden was. Op discussiepagina's werden Nederlandse exporteurs van Hosta's als bron aangewezen. In het najaar van 2004 is door PPO en Naktuinbouw een eerste inventarisatie uitgevoerd. In 2005 is een veel groter aantal partijen bemonsterd voor een partijverklaring. Op basis daarvan is een analyse uitgevoerd naar de aanwezigheid van HVX bij Nederlandse kwekers.

5.1.2 Opzet

Naktuinbouw heeft de resultaten van de partijtoetsingen verzameld en beschikbaar gesteld aan PPO. De bemonstering is als volgt gebeurd: in de zomer van 2005 zijn per partij willekeurig 48 blaadjes geplukt door de keurmeester. Deze bladeren zijn steeds per 2 met ELISA bij Naktuinbouw getoetst. De te toetsen partijen zijn door de kweker zelf aangedragen, dus de inventarisatie geeft geen totaalbeeld van de aanwezigheid van HVX in Nederland.

In totaal zijn 60 bedrijven bemonsterd, verspreid over Nederland. In totaal zijn 932 partijen bemonsterd, waaronder 121 cultivars.

Het besmettingsniveau is ingedeeld in categorieën op basis van de bemonsteringstabel, gehanteerd door Naktuinbouw (zie tabel 15).

Tabel 15. Omrekening van uitslag ELISA-toets naar geschat besmettingsniveau in de partij.

Uitslag ELISA	Geschat besmettingsniveau
0 of 1	0 tot 5 %
2 tot 4	5 tot 10 %
5 tot 18	10 tot 50 %
19 tot 24	> 50 %

5.1.3 Resultaten

De resultaten zijn op hoofdlijnen geanalyseerd.

Tabel 16 geeft de resultaten op partijniveau. Hieruit blijkt dat 29 % van de bemonsterde partijen in meer of mindere mate besmet was met HVX.

Tabel 16. Overzicht van niveau van besmetting met HVX in getoetste partijen.

Geschat besmettingsniveau	Aantal partijen	%
0 tot 5 %	664	71
5 tot 10 %	103	11
10 tot 50 %	108	12
> 50 %	57	6
Totaal	932	100

In tabel 17 is te zien dat bedrijven met 1 tot 3 getoetste partijen in verhouding weinig HVX-besmette partijen hadden. Op deze bedrijven zijn geen partijen gevonden met meer dan 10 % HVX. Bedrijven met 4 tot 10 partijen hadden een grotere kans op zwaar besmette partijen. 87 % van de partijen op die bedrijven hadden echter een laag HVX-niveau (0-5 %). Dit was nog ruim boven het landelijk gemiddelde van 71 % (tabel 16). Bedrijven met veel Hosta-partijen hadden een HVX-besmetting, die hoger lag dan het landelijk gemiddelde. In de categorieën '21 tot 50 partijen' leek iets meer HVX aanwezig te zijn dan bij de categorie 'meer dan 50 partijen'. De verschillen waren echter niet echt groot.

Tabel 17. Verdeling van besmette partijen over de sortimentsbreedte op de bedrijven.

Aantal getoetste partijen per bedrijf	# bedrijven	Totaal # partijen	0 tot 5 % HVX	5 tot 10 % HVX	10 tot 50 % HVX	> 50 % HVX
1 tot 3	15	25	84%	16%	0%	0%
4 tot 10	18	111	87%	6%	3%	4%
11 tot 20	17	273	76%	7%	11%	6%
21 tot 50	5	130	63%	8%	16%	12%
meer dan 50	5	413	66%	15%	13%	6%
Totaal	60	932				

Tabel 18 geeft inzicht in de verdeling van de besmette partijen over de belangrijkheid van de cultivars. Uit deze tabel blijkt dat er nauwelijks een verband bestond tussen het besmettingsniveau in cultivars met een klein aantal partijen of cultivars met een groot aantal partijen. De absolute verschillen zijn te klein om betrouwbaar geacht te worden.

Tabel 18. Verdeling van besmette partijen over de cultivars.

Aantal getoetste partijen per cultivar	# cultivars	Totaal # partijen	0 tot 5 % HVX	5 tot 10 % HVX	10 tot 50 % HVX	> 50 % HVX
1 tot 4	60	160	76%	9%	9%	6%
5 tot 10	34	216	73%	11%	8%	8%
11 tot 20	17	236	68%	13%	14%	5%
meer dan 20	10	320	70%	11%	13%	6%
Totaal	121	932				

Tabel 19 laat zien dat van de 10 meest getoetste Hosta-cultivars de HVX-besmetting in de cultivars 'Elegans' en 'Frances Williams' laag was (alles in 0 – 5 %). De cultivar 'Halcyon' bleek het meest zwaar besmet (50 % van alle partijen hebben meer dan 10 % HVX). Bij 'Gold Standard' is het opvallend dat geen van de 28 getoetste partijen zich bevond in de categorie '5-10 % HVX'.

Tabel 19. Verdeling van besmette partijen over de 10 meest getoetste cultivars.

Cultivar	Totaal # bemonsterde partijen	0 tot 5 % HVX	5 tot 10 % HVX	10 tot 50 % HVX	> 50 % HVX
Hosta 'Aureomarginata'	44	75%	11%	7%	7%
Hosta 'Elegans'	33	100%	0%	0%	0%
Hosta 'Francee'	38	58%	13%	18%	11%
Hosta 'Frances Williams'	28	100%	0%	0%	0%
Hosta 'Gold Standard'	22	68%	0%	27%	5%
Hosta 'Halcyon'	26	42%	8%	31%	19%
Hosta 'Patriot'	35	60%	17%	11%	11%
Hosta 'Undulata Albomarginata'	40	65%	15%	18%	3%
Hosta 'Undulata Mediovariegata'	26	62%	31%	8%	0%
Hosta 'Wide Brim'	28	71%	7%	18%	4%

In tabel 20 is een vergelijking te zien tussen de jaren 2004 en 2005. Hierbij moet opgemerkt worden dat in 2004 een monster van 10 blaadjes per partij genomen is; in 2005 zijn 48 blaadjes per partij geplukt en per 2 blaadjes getoetst. Opvallend is dat met name in de cultivar 'Minuteman', maar ook in 'Albopicta', 'Patriot' en 'Striptease' in 2005 een groter percentage partijen besmet was. Bij de cultivars 'Elegans', 'Frances Williams' en 'Sum and Substance' was het percentage HVX-besmette partijen lager dan in 2004. Bij 'Sum and Substance' is het mogelijk dat er besmette partijen geruimd waren, mede omdat het virus in deze cultivar vaak goed zichtbaar is. Bij 'Elegans' en 'Frances Williams' vielen alle partijen in 2005 in de categorie '0 tot 5 % HVX'. In diverse partijen werd echter een uitslag gevonden van 1 besmet op 24 toetsingen. Dus de besmetting bevond zich dan op een laag niveau. In 2004 werd in 1 partij van 'Frances Williams' in 9 van de 10 blaadjes HVX aangetoond. De besmetting in deze cultivar kan dus wel hoog oplopen.

Tabel 20. Vergelijking HVX-besmetting in 2004 en 2005. Cultivars zijn gesorteerd naar rangorde in de top-40.

	2004		2005					Totaal # bemonsterde partijen
	Aantal bemonsterde partijen	% partijen met HVX	% partijen met meer dan 5 % HVX	0 tot 5 % HVX	5 tot 10 % HVX	10 tot 50 % HVX	> 50 % HVX	
Francee	12	42 %	42%	58%	13%	18%	11%	38
Patriot	12	25 %	40%	60%	17%	11%	11%	35
Minuteman	7	29 %	80%	20%	20%	53%	7%	15
Fortunei Albopicta	5	0 %	25%	75%	17%	8%	0%	12
Gold Standard	11	36 %	32%	68%	0%	27%	5%	22
Elegans	19	5 %	0%	100%	0%	0%	0%	33
Frances Williams	14	14 %	0%	100%	0%	0%	0%	28
Sum and Substance	13	46 %	27%	73%	13%	7%	7%	15
Undulata Albomarginata	12	33 %	35%	65%	15%	18%	3%	40
Striptease	7	71 %	87%	13%	0%	13%	75%	8

Genoemde percentages zijn percentage van getoetste partijen in betreffende categorie.

% partijen met meer dan 5 % HVX in 2005 is optelsom van de categorieën met meer dan 5 % HVX.

In tabel 21 is een inschatting van de gevoeligheid voor HVX gemaakt. Hierbij zijn alleen die cultivars betrokken, waarvan in 2005 tenminste 5 partijen getoetst zijn. Dit om voldoende betrouwbare uitspraken te kunnen doen. In slechts 13 van de 61 cultivars was maximaal 5 % HVX geconstateerd. Bij 5 cultivars zijn opmerkingen gemaakt over de indeling; dit is onder de tabel toegelicht. Deze indeling is gemaakt op de huidige stand van kennis. Voor cultivars, waarin tot nog toe weinig virus in is gevonden, is niet uit te sluiten dat deze alsnog gevoelig blijken te zijn.

Tabel 21. Inschatting van gevoeligheid voor HVX voor 61 cultivars. Van deze cultivars zijn in 2005 tenminste 5 partijen getoetst.

Max 5 % HVX geconstateerd	Max 50 % HVX geconstateerd	> 50 % HVX geconstateerd
'American Halo'	'Antioch'	'Aureomarginata'
'Bressingham Blue'	'August Moon'	'Cherry Berry'
'Bright Lights'	'Big Daddy'	'Francee'
'Christmas Tree'	'Blue Angel'	'Gold Standard'
'Dream Queen'	'Blue Cadet'	'Golden Tiara' ⁴
'Elegans' ¹	'Blue Umbrellas'	'Ground Master'
'Frances Williams' ²	'Brim Cup' ³	'Halcyon'
'Guacamole'	'Fire and Ice'	'Honeybells' ⁵
'Invincible'	'Fortunei Albopicta'	'Krossa Regal'
plantaginea	'Fortunei Hyacinthina'	'Minuteman'
'Sagae'	'Fortunei Obscura'	'Night Before Christmas'
'Snow Cap'	'Fragrant Blue'	'Patriot'
'Tokudama Flavocircinalis'	'Fragrant Bouquet'	'Queen Josephine'
	'Great Expectations'	'Regal Splendor'
	'Green Gold'	'Revolution'
	'Inniswood'	'Royal Standard'
	'Love Pat'	sieboldiana
	'Moerheim'	'So Sweet'
	'Paul's Glory'	'Stiletto'
	'Shade Fanfare'	'Striptease'
	'Sun Power'	'Sum and Substance'
	'Undulata Mediovariegata'	'Twilight'
		'Undulata Albomarginata'
		'Whirlwind'
		'Wide Brim'
		'Yellow Splash Rim'
13 cultivars	22 cultivars	26 cultivars

¹: 'Elegans': in 2004 totaal 19 partijen; daarvan 1 partij met 3 van 10 bladeren besmet; in 2005 zaten alle 26 partijen in categorie '0-5 % HVX'. Besmetting was nagenoeg altijd laag.

²: 'Frances Williams': in 2004 totaal 14 partijen, waarvan 1 partij met 9 op 10 bladeren besmet; in 2005 zaten alle 28 partijen in categorie '0-5 % HVX'. Besmetting was nagenoeg altijd laag.

³: 'Brim Cup': in 2004 totaal 7 partijen; daarvan 1 partij met 6 van 10 bladeren besmet; in 2005 in alle 10 getoetste partijen hoogstens 50 % HVX.

⁴: 'Golden Tiara': in 2004 totaal 8 partijen, waarvan 1 partij met 10 van 10 bladeren besmet; in 2005 zat in de 20 getoetste partijen hoogstens 50 % HVX; besmetting kan toch hoog oplopen.

⁵: 'Honeybells': in 2004 totaal 6 partijen, waarvan 1 partij met 10 van 10 bladeren besmet; in 2005 zat in de 9 getoetste partijen hoogstens 50 % HVX; besmetting kan toch hoog oplopen.

5.1.4 Conclusies

De aanwezigheid van HVX in Nederland is geanalyseerd op basis van bemonstering van Hosta op HVX door Naktuinbouw om partijverklaringen te kunnen afgeven. Bedrijven konden hieraan op vrijwillige basis meedoen. In totaal zijn 932 partijen bemonsterd op 60 bedrijven in 121 cultivars.

- Van de 932 bemonsterde partijen was 29% in meer of minder mate besmet met HVX (d.w.z. meer dan 5% van de planten besmet). Bij 6% van de partijen was de besmettingsgraad hoger dan 50%.
- Hoe groter het aantal partijen op een bedrijf, hoe groter het percentage (zwaarder) besmette partijen.
- Er lijkt geen verband te zijn tussen de grootte van een cultivar en het besmettingsniveau van de cultivar.
- Van de 10 meest getoetste, en waarschijnlijk belangrijkste cultivars, was de besmettingsgraad het laagst bij de cultivars Elegans en Frances Williams en het hoogst bij de cultivar Halcyon. Bij de cultivar Gold Standard hadden alle 28 getoetste partijen een besmettingsniveau van minimaal 5%.
- Bij een deel van de getoetste cultivars was het percentage besmette partijen in 2005 hoger dan in 2004, bij een deel juist lager.
- Een groot deel van het Hosta-sortiment blijkt gevoelig te zijn voor HVX. Van 61 cultivars zijn 5 of meer partijen getoetst. In 79% van deze cultivars is één of meerdere keren een besmettingsniveau van meer dan 5 % gevonden.

5.2 Besmetting HVX op bedrijven (bedrijfsinventarisatie)

5.2.1 Inleiding

Naar aanleiding van de snelle uitbreiding de laatste jaren van HVX, is besloten om bij een aantal Hosta-bedrijven de bedrijfsvoering (teelthandelingen, herkomst partijen) in kaart te brengen. Doel hiervan was het onderzoeken van een mogelijke relatie tussen enerzijds de aanwezigheid en verspreiding van HVX en anderzijds de bedrijfsvoering op de bedrijven. Mogelijke risicofactoren voor de verspreiding van HVX in de bedrijfsvoering zouden hiermee aan het licht moeten komen. Voor het inschatten van de risico's is gebruik gemaakt van de kennis op dat moment (bijv. in zomer 2006 begon duidelijk te worden dat spoelen een risicofactor kan zijn).

5.2.2 Opzet

Uit de in 2004 gehouden inventarisatie van het voorkomen van HVX in Nederland (zie hoofdstuk 5.1) zijn, op grond van het besmettingsniveau, 5 bedrijven geselecteerd. Bij elk bedrijf is voor elke partij het besmettingsniveau in kaart gebracht en afgezet tegen het landelijk heersende besmettingsniveau voor betreffende cultivar. Bij elk bedrijf is voor elke partij de herkomst nagegaan. Tevens zijn bij elk bedrijf de toegepaste teelthandelingen in kaart gebracht en is per teelthandeling een risico-inschatting gemaakt voor de overdracht van HVX. Helaas waren de besmettingsniveaus van de partijen op moment van binnenkomst op de bedrijven, niet te achterhalen, omdat HVX toen nog niet in beeld was.

Expoteurs en kwekers zijn in de resultaten 'onder nummer' weergegeven.

5.2.3 Resultaten

Het besmettingsniveau is ingedeeld in categorieën op basis van de bemonsteringstabel, gehanteerd door Naktuinbouw (zie Tabel 1).

Tabel 22. Omrekening van uitslag ELISA-toets naar geschat besmettingsniveau in de partij.

Uitslag ELISA	Geschat besmettingsniveau
0 of 1	0 tot 5 %
2 tot 4	5 tot 10 %
5 tot 18	10 tot 50 %
19 tot 24	> 50 %

5.2.3.1 Bedrijf A

Op bedrijf A staan ca. 60 soorten vaste planten, waarvan ca. 27 soorten Hosta.

Tabel 23: Besmetting op bedrijf A en de landelijke situatie

Cultivar	Bedrijf A		Landelijke situatie				
	Besmetting	Herkomst ¹	# getoetste partijen	# partijen met 0 - 5 %	# partijen met 5 - 10 %	# partijen met 10 - 50 %	# partijen met > 50 %
'Gold Regal'	0/24	1998; exp.1	2	2	0	0	0
'True Blue'	0/24	1998; exp.1	2	2	0	0	0
'Ginko Craig'	0/24	1998; exp.1	3	3	0	0	0
'Pacific Blue Edger'	6/24	1998; exp.1	3	2	0	1	0
'Hadspen Blue'	0/24	1998; exp.1	4	3	1	0	0
'Bright Lights'	0/24	1998; exp.1	5	5	0	0	0
'Invincible'	0/24	1998; exp.1	6	6	0	0	0
'Guacamole'	0/24	2004; exp.1 (2004: 1 van 10 besmet)	11	11	0	0	0
'Big Daddy'	0/24	1998; exp.1	14	12	2	0	0
'Brim Cup'	0/24	1998; exp.1	10	9	0	1	0
'Shade Fanfare'	1/24	1998; exp.1	8	7	0	1	0
'Undulata Mediovariegata'	1/24	1998; exp.1	26	16	8	2	0
'Golden Tiara'	4/24	1998; exp.1	20	16	1	3	0
'Wide Brim'	9/24	2004; kwe. 1	28	20	2	5	1
'Regal Splendor'	1/24	1998; exp.1	13	8	1	3	1
'Sum and Substance'	0/24	1998; exp.1 (20-25 planten visueel besmet in 9000 planten: verwijderd)	15	11	2	1	1
'Whirlwind'	2/24	1998; exp.1	13	4	6	2	1
'Cherry Berry'	0/24	1998; exp.1	8	5	1	0	2
'Undulata Albomarginata'	2/24	2004; kwe. 2	40	26	6	7	1
'Aureomarginata'	0/24	2004; kwe. 3	44	33	5	3	3
'Patriot'	2/24	1998; exp.1	35	21	6	4	4
'Striptease'	19/24	1998; exp.1	8	1	0	1	6
'Gold Standard'	1/24	1998; exp.1	22	15	0	6	1
'Halcyon'	1/24	1998; exp.1	26	11	2	8	5
'Twilight'	1/24	1998; exp.1	15	7	1	5	2
'Minuteman'	2/24	1998; exp.1	15	3	3	8	1
'Francee'	10/10 (2004)	1998; exp.1	38	22	5	7	4
Totaal op dit bedrijf			26	18	5	2	1

¹ exp. = exporteur; kwe. = bedrijf

Evaluatie besmettingsniveau op bedrijf:

De 2 zwaarst besmette cultivars waren al 8 jaar op het bedrijf; 1 matig besmette cultivar (Wide Brim) was sinds 2004 op het bedrijf.

In de meeste cultivars was er geen besmetting of was er een besmetting op een laag niveau. Toch zijn hiervan diverse cultivars wel gevoelig voor HVX (o.a. Regal Splendor, Sum and Substance, Whirlwind, Cherry Berry, Patriot, Gold Standard, Halcyon, Twilight en Minuteman).

Het besmettingsniveau was dus op een relatief laag niveau. Dit kan 2 dingen betekenen:

1. Besmetting was vroeg aanwezig in enkele partijen, maar is slechts langzaam uitgebreid
2. Besmetting is laat binnengekomen (in 2004 via Wide Brim), en is razendsnel uitgebreid in bestaande partij van Francee en Striptease.

Deze laatste optie is onwaarschijnlijk, omdat Francee in herfst 2004 al erg besmet bevonden is.

Teelthandelingen:

Plantgoed snijden:	Planten worden uit kuubskist op de tafel gekiept, waarna de planten gesneden worden en vervolgens in veenmanskisten bewaard worden. Planten zijn altijd met een mes gesneden tot klein plantgoed, waarbij de neuzen in tweeën of in vieren worden gesneden. In 2005/2006 is er van gezonde partijen naar besmette partijen gewerkt.
Plantgoed dompelen:	In 2003 zijn voor het eerst neusrotpartijen na het snijden in Thiram gedompeld. In 2004 zijn alle partijen gedompeld.
Warmwaterbehandeling:	In voorjaar 2005 is er voor het eerst een warmwaterbehandeling uitgevoerd. Warmwaterbehandeling wordt ca. 2 dagen na plantgoed snijden uitgevoerd, waardoor wonden gesloten kunnen zijn.
Planten:	Het planten gebeurt kort na de warmwaterbehandeling. Planten gebeurt altijd met overschietmachine.
Onkruidbestrijding:	Van 1998 tot 2002 is er mechanisch onkruid bestreden (schoffelen, wiedeg); laatste 4 jaar is onkruid chemisch met LDS (laag doseringssysteem) bestreden.
Bloemen maaien:	Er zijn nooit bloemen gemaaid tijdens het groeiseizoen.
Afklepelen:	Klepelen gebeurt pas als het gewas afgestorven is.
Rooien:	Rooien gebeurt met Nobels rooimachine in kuubskisten.
Spoelen:	Van 1998 tot 2004 werden de planten gespoeld bij een groenteverwerkingsbedrijf met een trommelspoeler met een watervoorraad van > 10.000 m ³ . Bedrijf A was daar de enige Hosta-kweker. Sinds 2005 wordt er gespoeld met een eigen Akerboom-spoelmachine met een opvoerband en tegenloopketting. Er wordt gespoeld met 3 à 4 bar. De watervoorraad is 8 m ³ . De capaciteit is 150 m ³ /uur. Visueel zijn er geen beschadigingen te zien aan de wortels.

Evaluatie teelthandelingen:

Plantgoed snijden leverde zeker risico op; overige teelthandelingen naar verwachting minder (zie tabel 24).

Tabel 24: Mate van risico op overdracht van HVX bij verschillende teelthandelingen bij bedrijf A

Teelthandeling	Risico	Opmerkingen
Plantgoed snijden	Groot	
Plantgoed dompelen	Klein?	
Warmwaterbehandeling	Klein	
Planten	Klein?	
Onkruidbestrijding	Klein	Risico 1 ^e 4 jaar groter
Bloemen maaien	N.v.t.	Wordt niet toegepast
Afklepelen	Klein	(Afgestorven gewas)
Rooien	Klein-matig	
Spoelen	Matig?	(1e 7 jaar matig; vanaf 2005 groter)

5.2.3.2 Bedrijf B

Tabel 25: Besmetting op bedrijf B en de landelijke situatie

Cultivar	Bedrijf B		Landelijke situatie				
	Besmetting	Herkomst ¹	# getoetste partijen	# partijen met 0 - 5 %	# partijen met 5 - 10 %	# partijen met 10 - 50 %	# partijen met > 50 %
'Devon Green'	0/24	4 jaar op bedrijf; exp. 3	2	1	0	1	0
'Elegans'	0/24	Ca. 5 jaar op bedrijf; exp. 2	33	33	0	0	0
'Frances Williams'	0/24	Ca. 5 jaar op bedrijf; exp. 2	28	28	0	0	0
'Guacamole'	0/24	4 jaar op bedrijf; exp. 3	11	11	0	0	0
'Antioch'	0/24	4 jaar op bedrijf; exp. 3	6	5	1	0	0
'Fortunei Hyacinthina'	0/24	2 jaar op bedrijf; exp. 1	16	12	3	1	0
'Undulata Mediovariegata'	0/24	Ca. 8 jaar op bedrijf; kwe. 4	26	16	8	2	0
'Fortunei Albopicta'	0/24	4 jaar op bedrijf; exp. 1	12	9	2	1	0
'Moerheim'	0/24	4 jaar op bedrijf; exp. 3	7	4	1	2	0
'So Sweet'	0/24	4 jaar op bedrijf; exp. 3	14	11	0	2	1
'Undulata Albomarginata'	0/24	8 jaar op bedrijf; kwe. 5	40	26	6	7	1
'Royal Standard'	0/24	2 jaar op bedrijf; exp. 1	16	11	2	1	2
'Aureomarginata'	1/24	4 jaar op bedrijf; exp. 1	44	33	5	3	3
'Krossa Regal'	0/24	4 jaar op bedrijf; exp. 3	13	6	4	2	1
'Yellow Spash Rim'	1/24	4 jaar op bedrijf; exp. 3	5	2	0	1	2
'Gold Standard'	17/24	8 jaar op bedrijf; exp. 4	22	15	0	6	1
'Halcyon'	19/24	4 jaar op bedrijf; exp. 1	26	11	2	8	5
sieboldiana	6/24	4 jaar op bedrijf; exp. 3	11	5	0	5	1
Totaal op dit bedrijf			18	15	0	2	1

¹ exp. = exporteur; kwe. = kweker

Evaluatie besmettingsniveau op bedrijf:

Op het bedrijf waren 2 partijen zwaar besmet en 1 partij matig besmet. Verder waren er twee licht besmette partijen. Al deze partijen waren reeds 4 jaar (Aureomarginata, Yellow Splash Rim, Halcyon en sieboldiana) of 8 jaar (Gold Standard) op het bedrijf. Voor dit bedrijf zijn de volgende scenario's denkbaar:

1. Besmetting is binnengekomen via 'Gold Standard' met verspreiding naar beide andere redelijk tot zwaar besmette partijen; weinig verspreiding naar andere cultivars die ook al 8 jaar op het bedrijf zijn.
2. Besmetting is binnengekomen via 'Halcyon' met verspreiding naar 'Gold Standard en sieboldiana.
3. Besmetting is binnengekomen via 'Gold Standard' én 'Halcyon' (combinatie scenario's 1 en 2) met een verspreiding naar sieboldiana.
4. Besmetting is binnengekomen via sieboldiana met sterke verspreiding naar 'Gold Standard en 'Halcyon'.

Scenario 4 is het minst waarschijnlijk, omdat het besmettingsniveau in 'Gold Standard' en 'Halcyon' sterker zou zijn toegenomen dan in sieboldiana. Scenario 1 en 2 zijn wel mogelijk, maar de vraag is dan waarom het virus zo specifiek van 'Gold Standard' naar 'Halcyon' of van 'Halcyon' naar 'Gold Standard' is overgegaan en niet naar andere cultivars. Scenario 3 is dan het waarschijnlijkst.

Teelthandelingen:

Plantgoed snijden:	Te snijden planten worden vanaf de wagen op een lopende band gekiept, waarna het plantgoed altijd wordt gesneden uit leverbare planten. Er is altijd met mesjes gesneden.
Warmwaterbehandeling:	N.v.t.
Planten:	Planten gebeurt met overschietmachine; er wordt vrij diep geplant (4 tot 8 cm), zodat er een wat langere navelstreng aan de planten zit.
Onkruidbestrijding:	Onkruid is altijd chemisch bestreden.
Bloemen maaien:	Elk jaar zijn bloemen er uit gemaaid, behalve in 2005.
Afklepelen:	Gewas wordt geklepeld met een afslagrad als het gewas al vrij ver is afgestorven.
Rooien:	Rooien gebeurt met een SAM lelierooier sinds ca. 6 jaar. Hierin zijn 2 extra kloppers gebouwd.
Spoelen:	Bijna altijd zijn de partijen gespoeld met een trechterspoeler (Van Dijke).

Evaluatie teelthandelingen:

Plantgoed snijden, bloemen maaien en wellicht spoelen zijn de grootste risicofactoren op dit bedrijf (zie tabel 26).

Tabel 26: Mate van risico op overdracht van HVX bij verschillende teelthandelingen bij bedrijf B

Teelthandeling	Risico	Opmerkingen
Plantgoed snijden	Groot	Alles met een mes
Plantgoed dompelen	N.v.t.	Wordt niet toegepast
Warmwaterbehandeling	N.v.t.	Wordt niet toegepast
Planten	Klein?	Onbekend
Onkruidbestrijding	Klein	Chemische bestrijding
Bloemen maaien	Groot	Bijna altijd
Afklepelen	Klein	Gewas vrij ver afgestorven
Rooien	Klein?	
Spoelen	Matig?	Weinig beschadiging

5.2.3.3 Bedrijf C

Op bedrijf C staan 22 soorten Hosta's.

Tabel 27: Besmetting op bedrijf C en de landelijke situatie

Cultivar	Bedrijf C		Landelijke situatie				
	Besmetting	Herkomst	# getoetste partijen	# partijen met 0 - 5 %	# partijen met 5 - 10 %	# partijen met 10 - 50 %	# partijen met > 50 %
'Undulata Erromena'	0/24	Ca. 10 jaar op bedrijf	2	1	0	1	0
'Elegans'	0/24	Ca. 10 jaar op bedrijf	33	33	0	0	0
'Frances Williams'	0/24	4 jaar op bedrijf	28	28	0	0	0
'August Moon'	0/24	Ca. 10 jaar op bedrijf	15	14	1	0	0
'Blue Cadet'	2/24	10 jaar op het bedrijf	7	6	1	0	0
'Honeybells'	0/24	Ca. 10 jaar op bedrijf	9	7	2	0	0
'Big Daddy'	0/24	4 jaar op bedrijf	14	12	2	0	0
'Fortunei Hyacinthina'	0/24	Ca. 10 jaar op bedrijf	16	12	3	1	0
'Undulata Mediovariegata'	6/24	14 jaar op het bedrijf	26	16	8	2	0
'Fortunei Albopicta'	0/24	Ca. 10 jaar op bedrijf	12	9	2	1	0
'Golden Tiara'	0/24	Ca. 10 jaar op bedrijf	20	16	1	3	0
'Wide Brim'	0/24	4 jaar op bedrijf	28	20	2	5	1
'Sum and Substance'	1/24	4 jaar op bedrijf	15	11	2	1	1
'Undulata Albomarginata'	0/24	Ca. 10 jaar op bedrijf	40	26	6	7	1
'Aureomarginata'	0/24	Ca. 10 jaar op bedrijf	44	33	5	3	3
'Patriot'	0/24	Ca. 2002; herkomst onbekend	35	21	6	4	4
'Krossa Regal'	1/24	5 jaar op bedrijf	13	6	4	2	1
'Francee'	8/24	Ca. 2002; herkomst onbekend	38	22	5	7	4
'Gold Standard'	0/24	Ca. 8 jaar op bedrijf	22	15	0	6	1
'Halcyon'	7/24	Ca. 2002; herkomst onbekend	26	11	2	8	5
sieboldiana	0/24	Ca. 10 jaar op bedrijf	11	5	0	5	1
'Minuteman'	1/24	4 jaar op bedrijf	15	3	3	8	1
Totaal op dit bedrijf			22	18	1	3	0

Evaluatie besmettingsniveau op bedrijf:

Op het bedrijf waren 3 redelijk besmette cultivars aanwezig, namelijk 'Undulata Mediovariegata', 'Francee' en 'Halcyon'. De cultivars 'Francee' en 'Halcyon' waren pas sinds 2002 op het bedrijf. 'Undulata Mediovariegata' was al 14 jaar op het bedrijf. In de meeste cultivars was er geen besmetting of een besmetting op een laag niveau. Toch zijn hiervan diverse cultivars wel gevoelig voor HVX (o.a. Wide Brim, Sum and Substance, Patriot, Krossa Regal, Gold Standard, Halcyon, sieboldiana en Minuteman).

Besmettingsniveau op dit bedrijf was dus op een relatief laag niveau. Dit kan 3 dingen betekenen:

1. Besmetting is binnengekomen via partijen 'Francee' en 'Halcyon' in 2002 en sindsdien redelijk snel uitgebreid naar 'Undulata Mediovariegata' en langzaam uitgebreid naar de overige cultivars.
2. Besmetting is jaren geleden binnengekomen via de cultivar 'Undulata Mediovariegata' en is langzaam uitgebreid in andere cultivars en snel naar 'Francee' en 'Halcyon'.
3. Besmetting is jaren geleden binnengekomen via de cultivar 'Undulata Mediovariegata' en is langzaam uitgebreid in andere cultivars. Besmetting in partijen 'Francee' en 'Halcyon' zijn als besmette partij binnengekomen.

Optie 2 is het minst waarschijnlijk.

De eerste optie is waarschijnlijker, omdat de laatst binnengekomen partijen een besmettingsbron kunnen zijn. Onduidelijk is het dan waarom het dan overgeslagen is naar 'Undulata Mediovariegata' en niet naar andere gevoelige cultivars. Deze situatie duidt er ook op dat de besmetting op een bedrijf niet snel van de ene naar de andere cultivar gaat, maar zich wellicht vooral uitbreidt binnen een partij.

Optie 3 is ook goed mogelijk, omdat laatst binnengekomen partijen van in het algemeen vrij zwaar besmette bedrijven afkomstig zijn. In het laatste geval zou de verspreiding tussen partijen erg langzaam gaan.

Teelthandelingen:

- Plantgoed snijden:** Sinds 8 jaar worden planten uit de kuubskist op een brede band gekiept, waarna de planten gesneden worden en vervolgens met een smalle band worden afgevoerd naar veenmanskisten waarin ze bewaard worden. Planten worden gescheurd (ca. 50 %) of gedeeld met een mes (ca. 50 %). Bij het snijden worden de onderkanten eraf gesneden en soms neuzen doorgesneden. In 2005/2006 zijn elke halve dag de messen een kwartier ontsmet in 2 % Jet 5.
- Warmwaterbehandeling:** Sinds 4 of 5 jaar krijgen de Hosta's een warmwaterbehandeling van 20 minuten bij 45°C.
- Dompelen:** Na de warmwaterbehandeling worden de partijen gedompeld tegen schimmels.
- Planten:** Het planten gebeurt kort na de warmwaterbehandeling. Planten gebeurt altijd met een aardbeiplanter (in veuren).
- Onkruidbestrijding:** Laatste 3 of 4 jaar is onkruid chemisch met LDS (laag doseringssysteem) bestreden. Daarvoor werd er mechanisch onkruid bestreden (schoffelen, wiedeg).
- Bloemen maaien:** Er zijn niet of nauwelijks bloemen gemaaid tijdens groeiseizoen.
- Afklepelen:** Klepelen begint afhankelijk van bestellingen als het gewas half groen is. Regelmatig wordt een klein gedeelte geklepeld en geroid. Het laatste wordt geroid als het gewas afgestorven is.
- Rooien:** Rooien gebeurt met een omgebouwde aardappelrooier (beddenrooier), waarna planten in kuubskisten komen.
- Spoelen:** Sinds 1992 wordt er gespoeld met een eigen Akerboom-spoelmachine met een opvoerband en tegenloopketting. De watervoorraad is 8 m³. De capaciteit is 100 m³/uur.

Evaluatie teelthandelingen:

Plantgoed snijden en spoelen lijken de grootste risico's te zijn (zie tabel 28).

Tabel 28: Mate van risico op overdracht van HVX bij verschillende teelthandelingen bij bedrijf C

Teelthandeling	Risico	Opmerkingen
Plantgoed snijden	Groot	
Plantgoed dompelen	Klein	Uitvoering gekoppeld aan warmwaterbehandeling
Warmwaterbehandeling	Klein	Risico-inschatting op basis van proeven PPO 2005/2006
Planten	Klein	
Onkruidbestrijding	Klein	Risico 1 ^e jaren groter door mechanische onkruidbestrijding
Bloemen maaien	Klein	Weinig bloemen gemaaid
Afklepelen	Klein	Risico-inschatting op basis van proeven PPO 2004/2005; toch vaak halfgroen gewas
Rooien	Onbekend	
Spoelen	Groot?	Risico-inschatting op basis van proeven PPO 2005/2006 PP

Bedrijf D

Bedrijf D heeft alleen de 7 grootste partijen laten toetsen. Daarnaast zijn er nog 18 partijen aanwezig, die sinds 2003 op het bedrijf zijn.

Tabel 29: Besmetting op bedrijf D en de landelijke situatie

Cultivar	Bedrijf D		Landelijke situatie				
	Besmetting	Herkomst ¹	# getoetste partijen	# partijen met 0 - 5 %	# partijen met 5 - 10 %	# partijen met 10 - 50 %	# partijen met > 50 %
'Undulata Mediovariegata'	2/24	1995 (partijen uit export)	26	16	8	2	0
'Undulata Albomarginata'	23/24	1995 (partijen uit export)	40	26	6	7	1
'Royal Standard'	24/24	1999; kwe. 6	16	11	2	1	2
'Aureomarginata'	21/24	1995 (partijen uit export)	44	33	5	3	3
'Patriot'	3/24	2004: kwe. 6	35	21	6	4	4
'Gold Standard'	5/24	1995 (partijen uit export)	22	15	0	6	1
sieboldiana	24/24	1995 (partijen uit export)	11	5	0	5	1
Totaal op dit bedrijf			7	0	2	1	4

¹ kwe. = kweker

Bedrijf D heeft tot 1994 voor een exporteur gekweekt (zelfde als bedrijf E, zie hierna). Daarna zijn al deze planten weggegaan en is het bedrijf opnieuw begonnen met nieuwe partijen.

Evaluatie besmettingsniveau op bedrijf:

Op het bedrijf waren alle 7 getoetste partijen besmet. Het grootste deel hiervan was zelfs zwaar besmet. Zowel partijen uit 1995 als 1999 waren zwaar besmet. De cultivars 'Undulata Mediovariegata' en 'Aureomarginata' en sieboldiana hebben alle jaren dezelfde behandelingen ondergaan. Desondanks waren sieboldiana en 'Aureomarginata' zwaar besmet en 'Undulata Mediovariegata' veel minder besmet, hoewel deze laatste cultivar wel vrij zwaar besmet kan raken (zie landelijke situatie).

De volgende scenario's kunnen worden gemaakt:

1. Besmetting in 1 of meer partijen uit 1995 op bedrijf gekomen en van daaruit verspreid naar andere cultivars.
2. Besmetting in 1999 binnengekomen via 'Royal Standard' en van daaruit in 7 jaar verspreid naar andere cultivars.

Overdracht vanuit de cultivar 'Patriot' naar andere partijen is niet waarschijnlijk.

Het is niet te achterhalen of besmetting snel is toegenomen (binnen enkele jaren) of dat besmetting in de loop van tiental jaren 'langzaam' is opgebouwd.

Teelthandelingen:

Plantgoed snijden:

Planten worden op vaste tafel gekiept uit kuubskist; de navelstreng wordt er afgesneden of gebroken (50/50). Er is niet gesneden in neuzen. Sinds 2005/2006 wordt er gewerkt met een brede lopende band met een smalle afvoerband. Tot 2004 werd per partij gewerkt; daarna werden ook gedeelten van partijen klaargemaakt (dus groter besmettingsgevaar tussen partijen).

Warmwaterbehandeling:

Wordt pas sinds 2004 toegepast.

Planten:

Het planten gebeurde tot 1997 door te veurendrukken en daarin de planten te strooien. Vanaf 1997 wordt er geplant met een lelieplanter.

Onkruidbestrijding:

Voor opkomst wordt gewiedegd; daarna chemisch met LDS (laag

	doseringssysteem).
Bloemen maaien:	Nooit gebeurt.
Afklepelen:	Klepelen begint op z'n vroegst als het gewas duidelijk aan het afsterven is. Dit gebeurt met een afslagapparaat.
Rooien:	Oorspronkelijk werden planten gelicht en daarna opgeschept met een Nobels-bollenroomachine. Op deze lichter is in 1999 een schudder gebouwd. Na het rooien kwamen de planten in kuubskisten. Rooien gebeurt sinds twee jaren met een omgebouwde aardappelrooier (er blijft meer zand tussen planten), waarna planten in kipper komen.
Spoelen:	Vanaf 1999 werd gespoeld met een bandspoeler. Sinds enkele jaren wordt gespoeld met twee trechterspoelers, waarvan de laatste naspoelt met grondwater. De planten worden uit de kipper gestort in een stortbak, waarna de planten op een brede lopende band (2 meter breed) omhoog gevoerd worden in de trechterspoeler. Met een trechterspoeler ontstaat waarschijnlijk minder schade aan de planten.

Bedrijf D heeft altijd streng geselecteerd op afwijkende planten; bij twijfel werd plant verwijderd.

Evaluatie teelthandelingen:

Op dit bedrijf lijkt vooral spoelen in de eerste jaren een risicofactor te zijn (zie tabel 30).

Tabel 30: Mate van risico op overdracht van HVX bij verschillende teelthandelingen bij bedrijf D

Teelthandeling	Risico	Opmerkingen
Plantgoed snijden	Matig	Relatief weinig gesneden
Plantgoed dompelen	N.v.t.	Wordt niet toegepast
Warmwaterbehandeling	Klein	Risico-inschatting op basis van proeven PPO 2005/2006; weinig toegepast
Planten	Klein	Effect onduidelijk
Onkruidbestrijding	Klein	Handmatig en chemisch
Bloemen maaien	N.v.t.	Wordt niet toegepast
Afklepelen	Klein	Risico-inschatting op basis van proeven PPO 2004/2005; alleen afstervend gewas
Rooien	Klein-matig	
Spoelen	Groot?	Risico-inschatting op basis van proeven PPO 2005/2006; met bandspoeler meer schade dan bij trechterspoeler

5.2.3.4 Bedrijf E

Op bedrijf E staan 23 soorten Hosta's.

Tabel 31: Besmetting op bedrijf E en de landelijke situatie

Cultivar	Bedrijf E		Landelijke situatie				
	Besmetting	Herkomst	# getoetste partijen	# partijen met 0 - 5 %	# partijen met 5 - 10 %	# partijen met 10 - 50 %	# partijen met > 50 %
'Snowflakes'	9/24	Ca. 8 jaar op het bedrijf; Weefselkweek; zelf opgebouwd	2	0	0	2	0
'Sagae'	0/24	Ca. 9 jaar op het bedrijf; Weefselkweek; zelf opgebouwd	5	5	0	0	0
'Elegans'	0/24	14 jaar op het bedrijf	33	33	0	0	0
'Frances Williams'	0/24	14 jaar op het bedrijf	28	28	0	0	0
'August Moon'	2/24	Ca. 10 jaar op het bedrijf	15	14	1	0	0
'Blue Angel'	0/24	Ca. 8 jaar op het bedrijf; Weefselkweek; zelf opgebouwd	12	11	1	0	0
'Paul's Glory'	0/24	Ca. 8 jaar op het bedrijf; Weefselkweek; zelf opgebouwd	11	9	2	0	0
'Brim Cup'	5/24	Ca. 8 jaar op het bedrijf; Weefselkweek; zelf opgebouwd	10	9	0	1	0
'Shade Fanfare'	5/24	Ca. 8 jaar op het bedrijf; Weefselkweek; zelf opgebouwd	8	7	0	1	0
'Fortunei Albopicta'	8/24	> 12 jaar op het bedrijf	12	9	2	1	0
'Love Pat'	0/24	Ca. 8 jaar op het bedrijf; Weefselkweek; zelf opgebouwd	5	4	0	1	0
'Wide Brim'	16/24	12 jaar op het bedrijf; Weefselkweek; zelf opgebouwd	28	20	2	5	1
'Regal Splendor'	8/24	Ca. 10 jaar op het bedrijf; Weefselkweek; zelf opgebouwd	13	8	1	3	1
'So Sweet'	9/24	Ca. 10 jaar op het bedrijf; Weefselkweek; zelf opgebouwd	14	11	0	2	1
'Undulata Albomarginata'	18/24	14 jaar op het bedrijf	40	26	6	7	1
'Ground Master'	24/24	Ca. 8 jaar op het bedrijf; Weefselkweek; zelf opgebouwd	5	3	1	0	1
'Royal Standard'	1/24	Ca. 10 jaar op het bedrijf	16	11	2	1	2
'Aureomarginata'	24/24	Ca. 16 jaar op het bedrijf	44	33	5	3	3
'Patriot'	24/24	12 jaar op het bedrijf; weefselkweek; zelf opgebouwd	35	21	6	4	4
'Krossa Regal'	24/24	> 12 jaar op het bedrijf	13	6	4	2	1
'Francee'	24/24	Oorspronkelijke partij ca. 16 jaar op het bedrijf; tot 1995 aangevuld met plantgoed uit weefselkweek.	38	22	5	7	4
'Gold Standard'	24/24	Ca. 14 jaar op het bedrijf; Daarvoor samengevoegde partij van veel herkomsten	22	15	0	6	1
'Halcyon'	15/24	14 jaar op het bedrijf; Daarvoor samengevoegde partij van veel herkomsten	26	11	2	8	5
Totaal op dit bedrijf			23	7	1	9	6

Naast deze 23 partijen zijn er in 2004 2 partijen weggegooid omdat er virus in zat, namelijk 'Blue Cadet' en 'Sum and Substance'. In deze partijen waren al vanaf 2001 virussymptomen zichtbaar.

Bedrijf E heeft van 1992 tot 2000 op contract gekweekt voor een exporteur. Hierna zijn al deze partijen overgenomen.

Evaluatie besmettingsniveau op bedrijf:

Op het bedrijf waren veel zwaar besmette cultivars aanwezig (15 van 23). Met name weinig gevoelige cultivars waren ook weinig besmet. Alle partijen waren al 8 tot 14 jaar op het bedrijf. Veel partijen kwamen oorspronkelijk uit weefselkweek; ook waren er enkele partijen die ontstaan waren na samenvoeging van een aantal partijen. Gezien de zware aantasting over een breed sortiment is het niet waarschijnlijk dat de besmetting nog maar kort geleden had plaatsgevonden. Toch waren niet alle cultivars zo besmet als theoretisch zou kunnen ('Royal Standard', 'Love Pat', 'Regal Splendor' en 'So Sweet'). De cultivar 'Royal Standard' was zelfs relatief laag besmet in vergelijking met andere partijen van die cultivar.

Volgens bedrijf E hebben cultivars met dikkere wortels minder besmetting.

Teelthandelingen:

Plantgoed snijden:	Planten worden uit kuubskist op tafel gekiept. Planten worden gesneden met een mes. Bij het snijden worden de onderkanten eraf gesneden. Door de relatief zware grond is het moeilijker rooien; daarom worden de planten ondieper geplant, waardoor de moederplant dichter onder de jonge plant zit. Bij het snijden van deze planten ontstaat er een grotere wond. Na het snijden gaan de planten in een veenmanbak
Warmwaterbehandeling:	N.v.t.
Planten:	Met rijenfrees zijn veuren gemaakt waarin handmatig wordt geplant.
Onkruidbestrijding:	Onkruid is altijd handmatig bestreden (dus zonder machines) en plaatselijk chemisch.
Bloemen maaien:	Als proef is er enkele jaren gemaaid; dit gebeurde om het jaar. Totaal 3 keer bloemen gemaaid.
Afklepelen:	Klepelen begint afhankelijk van bestellingen als het gewas half groen is. Hiervoor wordt een afslagapparaat gebruikt. Regelmatig wordt een klein gedeelte geklepeld en gerooid. Laatste wordt gerooid als het gewas afgestorven is.
Rooien:	Rooien gebeurt met een omgebouwde Amac-rooimachine, waarna planten in kuubskisten of in een kiepwagen komen. Dit is afhankelijk van de partijgrootte
Spoelen:	Sinds 1998 zijn vieze partijen dubbel gespoeld met een eigen spoelmachine (spoeltrommel) en een eigengemaakte bandspoeler. Als spoelwater werd slootwater gebruikt, waarbij beide machine een eigen inlaat hadden (ca. 300 m uit elkaar)

Evaluatie teelthandelingen:

Plantgoed snijden en spoelen lijken de grootste risicofactoren te zijn (zie tabel 32).

Tabel 32: Mate van risico op overdracht van HVX bij verschillende teelthandelingen bij bedrijf E

Teelthandeling	Risico	Opmerkingen
Plantgoed snijden	Groot	Groter wondvlak
Plantgoed dompelen	N.v.t.	Wordt niet toegepast
Warmwaterbehandeling	N.v.t.	Wordt niet toegepast
Planten	Klein	
Onkruidbestrijding	Klein	Handmatig en chemisch
Bloemen maaien	Matig	Bloemen maaien mogelijk gevaarlijk; echter niet vaak gedaan
Afklepelen	Klein	Risico-inschatting op basis van proeven PPO 2004/2005; toch vaak halfgroen gewas
Rooien	Klein-matig	
Spoelen	Groot	Risico-inschatting op basis van proeven PPO 2005/2006; mede omdat dubbel gespoeld word.

5.2.4 Conclusies

- Diverse keren waren besmette partijen al jaren op een bedrijf aanwezig, terwijl andere gevoelige cultivars niet of nauwelijks besmet zijn. HVX moet daarom al minimaal 8 jaar in Nederland aanwezig zijn.

- Besmetting met HVX treedt naar verwachting makkelijker op binnen een partij dan tussen partijen.
- Toename van HVX binnen een partij lijkt niet zeer snel te verlopen (enkele jaren).
- Er waren tussen de bedrijven bij de verschillende toegepaste teelthandelingen, grote verschillen in de besmettingsgraad.
- Bij sommige bedrijven was, ondanks het spoelen of ondanks het maaien van de bloemen, toch weinig besmetting met HVX aanwezig.
- Ook op bedrijven met weinig risicovolle teelthandelingen kwam soms veel besmetting voor.

6 Literatuur

- Currier, S. and Lockhart, B.E.L. (1996). Characterization of a potexvirus infecting Hostas spp. *Plant Disease* 80: 1040-1043.
- Lockhart, B.E.L. (2002). Differential response of Hosta cultivars to infection by Hosta Virus X Potexvirus – A basis for practical disease management. *Acta Hort.* 568, ISHS 2002
- Rast, A. Th.B., 1977. Bij TMV in paprika; magere melk moet! *Tuinderij* 17 (7) 38-39
- Stijger, C.C.M.M., 1995. Preventing spread of mechanically transmitted viruses by skimmed milk. *Proceedings of the 8th Conference on Virus Diseases of Vegetables*: 171-174

