



Bronnenonderzoek wortelaaltjes bij roos

Teeltbedrijven: inventarisatie en maatregelen

J.J. Amsing en N. García

© 2003 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden veeelvoudigd, 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.

PPO Publicatienr. 586; € 25,-



Projectnummer 41103168

Project gefinancierd door:

Productschap  Tuinbouw

Productschap Tuinbouw
Postbus 280
2700 AG Zoetermeer

Foto omslag: Tweede-stadium-juvenielen J2 van wortelknobbelaaltjes *Meloidogyne* sp. in water.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Business unit Glastuinbouw

Adres : Linnaeuslaan 2a, 1431 JV Aalsmeer

Tel. : 0297-352525

Fax : 0297-352270

E-mail : infoglastuinbouw.ppo@wur.nl

Internet : www.ppo.wur.nl



Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	5
SUMMARY	6
1 INLEIDING.....	7
1.1 Probleemstelling	7
1.2 Doelstelling.....	8
2 MATERIALEN EN METHODEN	9
2.1 Inventarisatie besmettingsbronnen.....	9
2.1.1 Teeltbedrijven	9
2.1.2 Goten en stekers.....	11
2.2 Inventarisatie teelthandelingen.....	11
2.3 Maatregelen ter voorkoming van herbesmetting	12
2.3.1 Teeltwisseling	12
2.3.1.1 Tijdens de teeltwisseling.....	13
2.3.1.2 Na de teeltwisseling.....	13
2.3.2 Ontsmetten gereedschap.....	14
2.3.3 Ontsmetten stekers.....	15
3. RESULTATEN EN DISCUSSIE	17
3.1 Inventarisatie besmettingsbronnen.....	17
3.1.1 Teeltbedrijven	17
3.1.2 Goten en stekers.....	19
3.2 Inventarisatie teelthandelingen.....	20
3.3 Maatregelen ter voorkoming van herbesmetting	20
3.3.1 Teeltwisseling	20
3.3.1.1 Tijdens de teeltwisseling.....	20
3.3.1.2 Na de teeltwisseling.....	21
3.3.2 Ontsmetten gereedschap.....	22
3.3.3 Ontsmetten stekers.....	23
4 ALGEHELE DISCUSSIE EN CONCLUSIES	25
5 HYGIËNEPROTOCOL.....	29
5.1 Maatregelen om aantasting te voorkomen.....	29
5.2 Maatregelen om verspreiding te voorkomen.....	29
5.3 Maatregelen om een besmet teeltsysteem te reinigen.....	29
LITERATUUR.....	31

Samenvatting

Probleem- en doelstelling

De laatste jaren zijn steeds meer rozenteelten op substraat aangetast geraakt door plantenparasitaire wortelaaltjes. Daarbij gaat het met name om het noordelijk wortelknobbelaaltje *Meloidogyne hapla* en een enkele keer om de wortellesieaaltjes *Pratylenchus penetrans* en *P. vulnus*. Om het aantal bedrijven, c.q. afdelingen met aantastingen door wortelaaltjes te doen afnemen, is een bronnenonderzoek op teeltbedrijven uitgevoerd, gefinancierd door Productschap Tuinbouw. Dit onderzoek had tot doel om 1) de bronnen op teeltbedrijven te inventariseren waarin aaltjes aanwezig zijn, 2) na te gaan door middel van welke teelthandelingen aaltjes verspreid kunnen worden en 3) te laten zien door middel van welke maatregelen verspreiding van aaltjes is te voorkomen.

Resultaten

• bronnen

Op elf teeltbedrijven met rozen op substraat zijn allerlei bronnen onderzocht op aanwezigheid van plantenparasitaire wortelaaltjes. Deze zijn gevonden in: wortels, substraat, stekers, goten, drainwater, water na het langzaam zandfilter, kasgrond en regenwaterbassin/-silo. Geen aaltjes gevonden, maar toch verdacht: strooisel op het gronddoek en het oppervlaktewater. Geen aaltjes gevonden en tevens niet verdacht: water na de verhitte.

• teelthandelingen

Aaltjes kunnen worden verspreid door aanraking met allerlei besmette onderdelen van het teeltsysteem. Zo worden tijdens het bemonsteren van wortels, substraat, voedingsoplossing en drainwater aaltjes verspreid via handen en gereedschap, zoals een mes, grondboor en zuigapparaat voor voedingsoplossing.

• maatregelen

Tijdens een teeltwisseling moeten allerlei maatregelen worden genomen om een met aaltjes besmet teeltsysteem weer aaltjesvrij te krijgen. In de praktijk wordt een reinigingsproces gehanteerd bestaande uit een voorbehandeling met water en een nabehandeling met 4% chloorbleekloog-oplossing. Dit is in een hygiëneprotocol nader omschreven. Dertien of mogelijk zelfs veertien van de zestien onderzochte afdelingen die tijdens de teeltwisseling een reinigingsproces hebben ondergaan om aaltjesvrij te worden, bleken één tot twee jaar later nog steeds aaltjesvrij te zijn.

Besmet gereedschap en stekers van druppelaars kunnen het beste aaltjesvrij worden gemaakt door ze gedurende tenminste één minuut in water van minimaal 60°C te dompelen. Zowel eitjes als J2 (tweede stadium-juvenielen) van *M. hapla* en alle stadia van het wortellesieaaltje *P. penetrans* worden er door gedood, zelfs in wortels is dat het geval. Ethylalcohol is onvoldoende effectief. Zo heeft een behandeling van eitjes van *M. hapla* in 70% ethylalcohol gedurende twee uur niet kunnen voorkomen dat vier dagen later nog 12% van de behandelde eitjes uitkwam.

Conclusie

Op basis van het bronnenonderzoek op teeltbedrijven wordt gesteld dat het zeer goed mogelijk is dat rozen op substraat gevrijwaard blijven van aantasting door wortelaaltjes. Uitgangspunten daarbij zijn: een aaltjesvrij teeltsysteem (nieuw dan wel ontsmet), een 100% effectief werkende ontsmetter, aaltjesvrij planmateriaal en hygiënische maatregelen tijdens de teelt.

Summary

Introduction

The last years the number of rose-cultures on hydroponics which became infested with plant parasitic nematodes continually increased, mostly by the northern root knot nematode *Meloidogyne hapla* and occasionally by the root lesion nematodes *Pratylenchus penetrans* and *P. vulnus*. In order to decrease the number of rose crops infested with root nematodes, research on sources of nematodes was conducted by the Applied Plant Research, Glasshouse Horticulture and financed by the Dutch Horticultural Board.

The objectives of this study were (1) to detect all sources of plant parasitic nematodes in rose greenhouses, (2) to determine by which cultivation activities these nematodes could be spread and (3) to point out which measures should be taken to prevent an attack by plant parasitic nematodes and to avoid them from spreading.

Results

• sources

Plant parasitic nematodes were found in and/or on: roots, substrate, drip-pegs, gutters, drainage water, recirculation water cleaned by slow sand filters, greenhouse soil and rainwater basins. No plant parasitic nematodes were detected in inorganic and organic material collected from the soil cover and in the sediment of the ditches surrounding the greenhouse. Nevertheless the soil cover and surface water are still suspected to be infested with nematodes. As expected, no alive nematodes were found in the drainage water disinfected with the heating installation before recirculation.

• spreading activities

Nematodes can be spread by means of cropping activities if nematode-infested parts of the growing-system are contacted by hands or tools used for sampling roots, substrate, nutrient solution and recirculation water. Sampling roots is one of the most risk-bearing activities.

• measures

During crop replacement, the nematode-infested growing-system has to be made free of nematodes. A proven effective cleaning procedure has been described in the sanitation protocol at the end of this report, and consists of a pre-treatment with water, followed by a treatment with 4% sodium hypochlorite (active ingredient: 14% chlorine). Thirteen (possibly fourteen) out of sixteen cleaned compartments were still free of nematodes one to two years after replacement of the nematode-infested crop.

Infested tools and drip-pegs can be freed of nematodes by dipping them into water of at least 60°C for one minute. Even eggs and nematodes in roots are killed by this hot-water-treatment. Treatment with 70% ethylalcohol for two hours is insufficient to kill all the eggs of *M. hapla*.

Conclusion

This research has showed that it is very well possible to cultivate roses on recirculating hydroponic systems without plant parasitic nematodes. Conditions to be fulfilled are: a nematode-free growing-system, a 100% effective disinfection device to disinfest water, nematode-free planting material and hygienic measures during the cultivation of roses.

1 Inleiding

Het bronnenonderzoek naar wortelaaltjes in de teelt van roos op substraat is uitgevoerd door het Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. – Business unit Glastuinbouw en is tot stand gekomen in samenwerking met de LTO commissie Roos. Dit project (41103168) is voortgekomen uit het feit dat de afgelopen jaren steeds meer bedrijven te maken hebben gekregen met aantastingen door wortelaaltjes. Het onderzoek is gefinancierd door het Productschap Tuinbouw.

1.1 Probleemstelling

Met het overschakelen van grondteelten naar substraatteelten leken aanvankelijk de grondgebonden problemen met plantparasieten tot het verleden te behoren. Naarmate de tijd echter verstreek deden er zich niet alleen nieuwe problemen voor (Amsing en Kerssies, 1992), maar staken oude problemen weer de kop op. In dit laatste verband moeten wortelaaltjes worden genoemd die een toenemend probleem vormen in de substraatteelten van roos. Bij de teelt van roos in substraat gaat het voornamelijk om aantastingen door het noordelijk wortelknobbelaaltje *Meloidogyne hapla*. Ook aantastingen door de wortellesieaaltjes *Pratylenchus penetrans* en *P. vulnus* worden een enkele keer gemeld, maar deze aaltjes lijken nauwelijks of geen schade te veroorzaken. In het begin was de aanwezigheid van wortelaaltjes in de substraatteelten goed verklaarbaar doordat toen vaak wortelenten en afgeknipte zetlingen als plantmateriaal werden gebruikt. Hiermee kunnen aaltjes en andere ziekteverwekkers gemakkelijk in de substraatteelten terecht komen. Wortels van dergelijk plantmateriaal hebben immers buiten in de grond gestaan. In de beginjaren negentig was de introductie van de schimmel *Phytophthora* hiervan een sprekend voorbeeld (Amsing en Kerssies, 1991). De kans op introductie van ziekteverwekkers in de substraatteelten middels plantmateriaal wordt sterk verkleind wanneer alleen stentlingen of stekken worden gebruikt, wat inmiddels de praktijksituatie is. Niettemin nam de afgelopen jaren het aantal met aaltjes besmette rozenbedrijven op substraat toe wat een aantal vragen oproept. Waar komen de aaltjes vandaan, waar bevinden ze zich op een bedrijf, door welke handelingen worden aaltjes verspreid en welke maatregelen kunnen er genomen worden om de bronnen van besmetting en verspreiding uit te schakelen? Om te weten om welke bronnen van besmetting en verspreiding het gaat, moet een inventarisatie worden uitgevoerd op vermeerderings- en teeltbedrijven. Zijn de bronnen eenmaal bekend dan is daarmee ook aangegeven op welke punten er maatregelen genomen moeten worden om aantasting en verspreiding tegen te gaan. Daarvoor moeten de volgende activiteiten worden uitgevoerd:

1. inventarisatie van aaltjesbronnen op vermeerderingsbedrijven.
2. inventarisatie van aaltjesbronnen op teeltbedrijven.
3. inventarisatie van teelthandelingen waardoor aaltjes worden verspreid.
4. testen van maatregelen ter voorkoming van aantasting.

In project 41103168 zijn de punten 2 t/m 4 onderzocht waarvan in dit rapport verslag is gedaan. Hoewel het onderzoek genoemd onder punt 1 van groot belang is om na te gaan of er op de vermeerderingsbedrijven aangetast plantmateriaal aanwezig is of kan zijn, is eerst het onderzoek met betrekking tot de overige punten uitgevoerd. Een belangrijke reden hiervoor was dat de telers daarmee zelf allerlei mogelijkheden in handen krijgen om op het eigen bedrijf maatregelen te nemen met als doel aantasting of verspreiding door plantenparasitaire wortelaaltjes te voorkomen.

Naar aanleiding van voorlopige resultaten van dit onderzoek is op verzoek van de Landelijke Gewas Commissie Roos en met instemming van de vermeerderders, een onderzoeksproject geschreven voor onderzoek naar vermeerderingsbedrijven als mogelijke besmettingsbron van aaltjes op praktijkbedrijven (punt 1). Dit onderzoek is in 2003 door PT goedgekeurd en gaat in de eerste helft van 2004 plaatsvinden.

1.2 Doelstelling

Het bronnenonderzoek op teeltbedrijven had met betrekking tot plantenparasitaire wortelaaltjes het volgende tot doel:

- Inventariseren waar op de teeltbedrijven wortelaaltjes aanwezig zijn (bronnen).
- Inventariseren door middel van welke teelthandelingen aaltjes verspreid kunnen worden.
- Nagaan welke maatregelen effectief zijn om verspreiding van aaltjes te voorkomen.

Na de 'Inleiding' in hoofdstuk 1 laat hoofdstuk 2 'Materialen en methoden' zien welke bronnen en teelthandelingen zijn onderzocht en hoe dat is gebeurd. Het laatste deel van dit hoofdstuk behandelt de maatregelen ter voorkoming van herbesmettingen met aaltjes. Hoofdstuk 3 'Resultaten en discussie' behandelt de resultaten van het onderzoek dat in het vorige hoofdstuk is besproken. Hoofdstuk 4 'Algehele discussie en conclusies' gaat in op de resultaten en wat dit voor consequenties heeft voor de praktijk. Hierin is ook een lijst met besmettingsbronnen op de teeltbedrijven opgenomen. Als afsluiting is in hoofdstuk 5 'Hygiëneprotocol' een protocol opgenomen volgens welke aantasting en verspreiding van plantenparasitaire wortelaaltjes kan worden voorkomen, inclusief de maatregelen die tijdens een teeltwisseling genomen moeten worden om een met aaltjes besmet teeltsysteem weer aaltjesvrij te krijgen.

2 Materialen en methoden

2.1 Inventarisatie besmettingsbronnen

2.1.1 Teeltbedrijven

Op basis van onderstaande criteria is een aantal rozenbedrijven gekozen waarop een eerste inventarisatie is uitgevoerd naar de aanwezigheid van besmettingsbronnen met plantenparasitaire wortelaaltjes.

Criteria

1. Kassen met aantasting door wortelknobbel- en/of wortellesieaaltjes
2. Aangetaste stekken of stentlingen
3. Recirculatie van drainwater
4. Ontsmetting door middel van verhitting of UV-straling

Aan de bovenste drie criteria moest zeker worden voldaan om voor inventarisatie in aanmerking te komen. Wat betreft het tweede criterium kwamen bedrijven met uitsluitend plantmateriaal waarvan de wortels in de vollegrond hebben gestaan, zoals (afgeknipte) zetlingen en wortelenten, niet voor inventarisatie in aanmerking. Reden daarvoor is dat met het toepassen van dergelijk plantmateriaal wortelaaltjes en andere grondgebonden ziekten en plagen gemakkelijk de kas worden binnen gehaald (Amsing en Kerssies, 1991). Het gebruik van (afgeknipte) zetlingen en wortelenten als plantmateriaal wordt dan ook sterk ontraden voor de substraatteelten.

Wat het laatste criterium betreft, is bekend dat tot nu toe alleen verhitting en UV-straling de enige twee praktisch toepasbare methoden zijn door middel waarvan water op een betrouwbare manier kan worden ontsmet tegen wortelaaltjes (Amsing en Runia, 2000). Ontsmetting door middel van langzame zand- of lavafiltratie, ozon en waterstofperoxide zijn minder effectief en daarom niet voor dit doel geschikt. Dit was de reden waarom bij voorkeur gekozen is voor bedrijven met een verhitter of UV-ontsmetter.

In eerste instantie zijn negen bedrijven uitgekozen om te worden onderzocht op aanwezigheid van plantenparasitaire wortelaaltjes. Van deze negen bedrijven, die aan de eerste drie criteria voldeden, werd het drainwater ten tijde van de inventarisatie op zes bedrijven ontsmet door middel van verhitting (nr. 1, 2, 3, 4, 6 en 8). Voorheen werd op vier van deze bedrijven ontsmet door middel van langzame zand- of lavafiltratie (nr. 2, 3, 4 en 8) en één bedrijf door middel van UV-straling (nr. 1), terwijl bedrijf 6 voorheen recirculeerde zonder te ontsmetten. Van de overige drie bedrijven maakten twee bedrijven op het moment van inventarisatie nog gebruik van een langzaam zandfilter (nr. 5 en 9). Deze zijn inmiddels overgeschakeld op respectievelijk een verhitter en een UV-ontsmetter. Bedrijf 7 recirculeerde tijdens het inventariseren zonder te ontsmetten nadat enige tijd een langzaam zandfilter was gebruikt, maar heeft inmiddels een UV-ontsmetter in gebruik. In de loop van de tijd heeft er op deze negen bedrijven dus een verschuiving plaatsgevonden van langzame zand- en lavafiltratie naar met name verhitting. Zeven bedrijven ontsmetten thans door middel van verhitting en twee maken gebruik van UV-straling, terwijl voordien op zeven bedrijven een langzaam zand- of lavafilter aanwezig was.

Op acht van de negen bedrijven zijn de meeste van onderstaande bronnen bemonsterd op aanwezigheid van plantenparasitaire wortelaaltjes. Op het negende bedrijf zijn alleen de drainwaterput en het langzaam zandfilter onderzocht. Nadat de eerste ronde op de negen bedrijven was afgesloten, is een tweede ronde uitgevoerd om vast te stellen of er in het regenwaterbassin of -silo aaltjes aanwezig zijn. In deze tweede ronde zijn drie bedrijven uit de eerste ronde nogmaals onderzocht en daarnaast twee nieuwe bedrijven. Zodoende waren er in totaal elf teeltbedrijven betrokken bij het bronnenonderzoek.

Onderzochte besmettingsbronnen

- regenwaterbassin of -silo
- drainwaterput
- drainwatersilo (voor ontsmetter)
- schoonwatersilo (na ontsmetter)
- wortels
- kasgrond
- strooisel
- sloot (sediment)

• *regen-, drain- en schoonwater*

Alle soorten water, met uitzondering van het drainwater in de drainwaterputten en het water uit de twee langzame zandfilters, zijn bemonsterd door 100 liter water over een 10 µm-zeef te gieten en vervolgens met water af te spoelen. Telkens na 24-36 liter of eerder, indien het zeefgaas dichtslibde, is de zeef afgespoeld. Het spoelwater is verzameld, waaruit in het laboratorium eventuele aaltjes met behulp van nematodenfilters zijn geëxtraheerd.

Het drainwater in de drainwaterputten is bemonsterd door 2 of 10 liter drainwater te verzamelen, bij voorkeur rechtstreeks uit de drainbuis. In deze monsters zijn alle aaltjes geteld door de aaltjes te laten bezinken en het water daarna af te hevelen tot op ongeveer 15 ml. Dit is in verschillende afhevel- en bezinkstappen gebeurd. Alleen die drainputten zijn bemonsterd waarvan ook de planten in de bijbehorende afdelingen zijn bemonsterd. Omdat elke afdeling over een eigen drainwaterput beschikt, geeft deze bemonstering derhalve informatie over de aaltjessituatie in de betreffende afdeling. Ook het water dat uit beide langzaam zandfilters stroomde, is bemonsterd in een hoeveelheid van 2 of 10 liter. Dit is op dezelfde wijze verwerkt als hierboven. Op een aantal bedrijven is onderuit het bassin of silo sediment verzameld met behulp van een fijnmazig schepnetje. Het sediment is op nematodenfilters geëxtraheerd.

• *planten (wortels)*

In de te bemonsteren afdelingen zijn van ca. 20 planten wortels verzameld, resulterend in ongeveer 40 g wortels. In geval van steenwolmatten zijn de wortels onder de steenwolmatten vandaan gehaald, terwijl bij een teelt op kokos de wortels bovenuit de containers zijn genomen. Nadat de wortels in stukjes ter grootte van ca. 5 mm zijn geknipt, is uit elk wortelmonster een submonster van 15 g genomen wat op nematodenfilters is geëxtraheerd.

• *kasgrond en strooisel*

Op de meeste bedrijven is de kasgrond afgedekt met gronddoek, wat na verloop van enkele jaren hier en daar stuk gaat, waardoor de grond bloot komt te liggen. Deze plekken kunnen een bron van besmetting zijn indien er nog aaltjes in de grond aanwezig zijn. Na een jarenlange substraatteelt zal dit in de meeste gevallen echter niet meer het geval zijn, tenzij er vanuit het teeltsysteem water besmet met aaltjes op de grond terecht komt. Dit was ook reden om het fijne strooisel op het gronddoek te bemonsteren op aaltjes en wel met name op vochtige plekken. Van de grond is ongeveer 0,5 liter verzameld en van het fijne strooisel ca. 250 ml. De grond is daarvoor bemonsterd met behulp van een grondboor, terwijl het strooisel met een schepje van het gronddoek is geschraapt. Uit een grondmonster is een 100 ml-submonster genomen wat met behulp van een Oostenbrinktrechter is opgespoeld (Bezooijen, 1999a) en waarvan het opgespoelde gedeelte op nematodenfilters is geëxtraheerd. Uit elk strooiselmonster is een 15 g submonster genomen wat eveneens op nematodenfilters is geëxtraheerd.

• *slootsediment*

Indien het regenwaterbassin leeg raakt, is het gebruik van slootwater niet uitgesloten. Op de onderzochte bedrijven wordt dit niet gedaan. In plaats daarvan wordt bronwater gebruikt na te zijn gezuiverd met behulp van omgekeerde osmose. Niettemin zijn de sloten wel onderzocht op aanwezigheid van wortelaaltjes, omdat slootwater een bron van besmetting kan zijn indien het onverwachts wel wordt gebruikt of het na een hoosbui de kas binnenkomt. Op omringende sloten zijn op een aantal plekken bemonsterd door sediment te verzamelen. Dit is op dezelfde wijze gebeurd als waarop het sediment in het bassin of de silo is verzameld. De monsters met slootsediment zijn verwerkt overeenkomstig de grondmonsters.

Bij alle bovengenoemde monsters die op nematodenfilters zijn geëxtraheerd zijn de extractieschalen na één of twee dagen afgegoten. De filters zijn teruggeplaatst en aanvullend nog tot veertien dagen geëxtraheerd om eventuele eitjes de gelegenheid te geven uit te komen. Dit resulteerde in een tweede telling. Niet alle aaltjes zijn in de afgegoten 100 ml suspensies geteld, maar 2x 5 ml submonsters. De resultaten van beide tellingen zijn samengevoegd en als zodanig vermeld.

Het bronnenonderzoek op teeltbedrijven is grotendeels uitgevoerd door een particulier onderzoekslaboratorium, dit in opdracht van PPO Glastuinbouw. Het drainwater in de drainputten en het water uit de zandfilters is door onderzoekers van PPO Glastuinbouw bemonsterd en geanalyseerd op aaltjes.

2.1.2 Goten en stekers

Op PPO Glastuinbouw zijn in twee rozenteelten op substraat, die zijn aangetast door het wortelknobbelaaltje *M. hapla*, goten en stekers van druppelaars onderzocht op aanwezigheid van wortelknobbelaaltjes.

- *goten*

Voor het onderzoek naar aanwezigheid van wortelknobbelaaltjes in de goten zijn vijf goten gebruikt met een lengte van 103 cm. Op elke goot stonden vijf containers met kokos met daarin twee jaar oude rozenstruikjes aangetast door ca. 8000 J2 (tweede-stadium-juvenielen) van *M. hapla* per 10 g wortels. Nadat de containers waren verwijderd, zijn de goten in twee fasen schoongemaakt met leidingwater. In de eerste fase zijn de goten met behulp van een borstel en water zo goed mogelijk gereinigd van allerlei organisch vuil, zoals bladeren, kokos en algen. Wortelresten waren niet aanwezig. De suspensie met organisch vuil is opgevangen en op nematodenfilters geëxtraheerd om de in de suspensie aanwezige aaltjes te kunnen vinden. In de tweede fase zijn de in de eerste fase schoongemaakte goten nogmaals met water en borstel gereinigd om na te gaan in hoeverre de eerste reinigingsronde effectief is geweest. Ook deze suspensie is opgevangen en op nematodenfilters geëxtraheerd. In beide fasen zijn de extractieschalen na een extractieduur van 72 uur afgegoten waarin na bezinken en afhevelen alle aaltjes zijn geteld.

- *stekers*

In een bestaande proef met rozen in kokos, perliet en steenwolmatten die ruim een jaar waren aangetast door *M. hapla* zijn de stekers van druppelaars uit het substraat verwijderd om te onderzoeken in welke mate ze zijn besmet met aaltjes. Om vast te stellen hoeveel wortelknobbelaaltjes er zich aan de stekers bevinden zijn deze in water afgespoeld. De aldus verkregen suspensies zijn op nematodenfilters gedurende 24 uur geëxtraheerd. Na bezinken en afhevelen zijn alle aaltjes geteld. Het onderzoek is in tweevoud uitgevoerd met 20 stekers per herhaling. Op het moment waarop het onderzoek plaatsvond, waren de rozen aangetast door gemiddeld 15.662 J2 van *M. hapla* per 10 g wortels.

2.2 Inventarisatie teelthandelingen

Bij een aantal handelingen of werkzaamheden die in een door wortelaaltjes aangetast gewas worden uitgevoerd, is de kans op het verspreiden van aaltjes levensgroot aanwezig. Het gaat daarbij om handelingen waarbij men op de een of andere manier met het substraat, wortels, drainwater dan wel met andere met aaltjes besmette delen van het teeltsysteem in contact komt. Dit zal met name het geval zijn als er wordt bemonsterd op aaltjes of andere pathogenen (ziekteverwekkers) en als er voedingsoplossing uit de steenwolmatten wordt gezogen ten behoeve van het vaststellen van de voedingssituatie in de mat. Om enig inzicht te krijgen in het gevaar op verspreiding van wortelaaltjes bij het bemonsteren van wortels en kokos en het opzuigen van voedingsoplossing uit steenwolmatten is hiernaar onderzoek verricht. Alle onderstaande monsters die op nematodenfilters zijn aangebracht, zijn gedurende 24 uur geëxtraheerd.

- *bemonsteren wortels*

In een 21 weken oud rozengewas op steenwolmatten dat is aangetast door het wortelknobbelaaltje *M. hapla* zijn aan de onderkant van de steenwolmatten wortels met de hand verwijderd. Dit is op acht plekken gebeurd. Na het verwijderen van een aantal wortels, zijn de handen afgeschud waarna ze in een maatbeker

met ca. 2 liter water zijn afgespoeld (1^e spoelsel). Daarna zijn de handen wederom afgeschud en in een tweede maatbeker met 2 liter water voor de tweede keer afgespoeld (2^e spoelsel). Bevonden er zich in het 1^e spoelsel nog wortelresten, in het tweede spoelsel was dat niet het geval. Zowel de verzamelde wortels als beide spoelsels zijn onderzocht op wortelknobbelaaltjes. Daarvoor zijn de wortels, na in een mixer te zijn stukgeslagen (6 sec.; toerental 16.000 omw./min.), op nematodenfilters geëxtraheerd. Ook beide spoelsels zijn op filters geëxtraheerd. Bij het 2^e spoelsel zijn na bezinken en afhevelen van het extract alle aaltjes geteld, terwijl bij de andere twee extracten submonsters zijn geteld. Dit onderzoek is in drievoud uitgevoerd.

- *bemonsteren kokos*

In een drie maanden oud rozengewas, geteeld in containers met kokos en aangetast door het wortelknobbelaaltje *M. hapla*, zijn met behulp van een grondboor (Ø 20 mm; lengte: 23 cm) twintig prikken kokos genomen. Na elke prik is de grondboor in een maatbeker met 2 liter water afgespoeld en gedroogd alvorens de volgende prik werd genomen. Van de verzamelde hoeveelheid kokos is een 100 ml-kokosmonster met behulp van de melkflessenmethode opgespoeld en op nematodenfilters geëxtraheerd (Bezooijen, 1999b). Het kokosspoelsel is direct op de nematodenfilters gegoten en geëxtraheerd. Uit alle afgegoten aaltjessuspensies zijn 20 ml-submonsters genomen waarin de aaltjes zijn geteld. De proef is in viervoud uitgevoerd.

- *bemonsteren voedingsoplossing*

In een ruim acht maanden oud rozengewas op steenwolmatten aangetast door het wortelknobbelaaltje *M. hapla*, is met behulp van een zuigapparaat voorzien van een 9,5 cm lange holle naald, op 24 plaatsen voedingsoplossing uit de steenwolmatten gezogen. Na elke prik is de naald en het deel van het zuigapparaat dat met de matten in contact is geweest, afgespoeld in een maatbeker met water. Totaal is 400 ml voedingsoplossing uit de matten gezogen wat op nematodenfilters is geëxtraheerd. Het water waarin het zuigapparaat na elke prik is afgespoeld, is niet geëxtraheerd, maar hierin zijn na bezinken en afhevelen alle wortelknobbelaaltjes direct geteld. Ook in de geëxtraheerde aaltjessuspensies zijn alle aaltjes geteld. Acht maanden later is dit onderzoek in hetzelfde gewas nog twee keer uitgevoerd.

2.3 Maatregelen ter voorkoming van herbesmetting

2.3.1 Teeltwisseling

Indien een gewas op substraat is aangetast en het gewas aan vervanging toe is, moeten er tijdens de teeltwisseling maatregelen worden genomen om in de volgende teelt aantasting te voorkomen. Uit het bronnenonderzoek is gebleken dat in een met aaltjes besmet teeltsysteem alle onderdelen die met aangetaste wortels, besmet substraat en drainwater in aanraking zijn geweest, als besmet moeten worden aangemerkt. Besmette onderdelen die niet worden vervangen, vereisen derhalve een grondige reiniging. Thans wordt dit in de praktijk steeds vaker toegepast. Zo worden de goten, na te zijn gereinigd met water onder gebruikmaking van een borstel, afgespoten met een oplossing die chloorbleekloog of Jet 5 bevat. De leidingen worden tenminste 24 uur volgezet met een chloorbleekloog-oplossing. Soms wordt ook de schoonwatersilo leeggepompt, gereinigd en nabehandeld met chloorbleekloog. Dit laatste gebeurt alleen als de schoonwatersilo, waarin het ontsmette water terechtkomt, verontreinigd is met plantenparasitaire wortelaaltjes. Hiermee moet rekening worden gehouden als de ontsmetter niet 100% effectief werkt ten aanzien van het af doden van aaltjes. Dit is zeker het geval als net is overgeschakeld van een langzaam zand- of lavafilter naar een verhitter of UV-apparaat.

De effectiviteit van de maatregelen die tijdens een teeltwisseling worden genomen, is op twee manieren vastgesteld. Op één bedrijf is dit gebeurd tijdens de teeltwisseling en op negen bedrijven een of twee keer enige tijd na de teeltwisseling. Al het onderzoek tijdens en na de teeltwisseling is in opdracht van PPO Glas-tuinbouw uitgevoerd door een particulier onderzoekslaboratorium.

2.3.1.1 Tijdens de teeltwisseling

In februari 2003 zijn op een bedrijf waar een teeltwisseling plaatsvond, allerlei reinigingsstappen uitgevoerd die moesten leiden tot een teeltsysteem dat vrij is van plantenparasitaire wortelaaltjes. Het ging om het reinigen van goten waarin een door wortelknobbelaaltjes aangetast gewas op steenwolmatten heeft gestaan. Tijdens deze stappen zijn bemonsteringen uitgevoerd om de effectiviteit van het reinigingsproces te volgen. In twee goten met een lengte van 62,5 m elk zijn de volgende reinigings- en bemonsteringsstappen uitgevoerd.

1. Bemonsteren wortels aangetast gewas \Rightarrow 1 monster/goot.
2. Verwijderen aangetast gewas.
3. Droog schoonvegen goten om alle losse plantenresten te verwijderen \Rightarrow 1 monster/goot.
4. Goten met water schoonborstelen \Rightarrow 1 monster/goot.
5. Helft van de goten naspoelen met water om te bepalen of stap 4 afdoende was \Rightarrow 1 monster/goot.
6. Goten afgieten met 4% chloorbleekloog-oplossing (= 4 liter handelsproduct (15% chloor)/100 liter water),

één uur later nagieten met water. Per 62,5 m goot is 5 liter chloorbleekloog-oplossing gebruikt.

7. Goten naspoelen met water om na te gaan of stap 6 afdoende is geweest \Rightarrow 1 monster/goot.

Opmerking: Onder punt 5 is niet de hele goot nagespoeld en bemonsterd, maar dit is slechts over de halve lengte gebeurd. Dit is gedaan om te voorkomen dat de hele goot door deze bemonsteringsstap van alle daarin eventueel aanwezige aaltjes zou worden ontdaan, waardoor het effect van stap 6 niet meer kon worden vastgesteld.

De stappen 2, 3, 4 en 6 zijn de zogenaamde reinigingsstappen. Onder punt 1 en 3 is per monster respectievelijk 15 g wortels en 15 g gewas- en substraatresten onderzocht op wortelknobbelaaltjes. Zowel de wortels als de gewas- en substraatresten zijn in 5 mm stukjes geknipt en 48 uur op nematodenfilters geëxtraheerd. Het onder punt 4 opgevangen sterk verontreinigde water is in jerrycans meegenomen en 24 uur op nematodenfilters geëxtraheerd. Het opgevangen spoelwater onder punt 5 en 7 is over een zeef met 10 μ m polyester zeefgaas gegoten. Wat op de zeef is blijven liggen, is er afgespoeld en eveneens 24 uur op nematodenfilters geëxtraheerd. Op alle afgegoten suspensies zijn na bezinken en afhevelen 100%-tellingen uitgevoerd, dat wil zeggen dat alle daarin aanwezige wortelknobbelaaltjes zijn geteld.

Het was de bedoeling om in het najaar van 2003 nog enkele bedrijven tijdens een teeltwisseling te volgen. Dit kon helaas niet worden uitgevoerd, omdat zich daarvoor geen geschikte bedrijven hebben aangediend.

2.3.1.2 Na de teeltwisseling

Op bedrijven, die reeds enige tijd geleden een teeltwisseling hadden uitgevoerd, zijn de nieuwe teelten onderzocht op aanwezigheid van plantenparasitaire wortelaaltjes. Met een interval van bijna een jaar is dit twee keer gebeurd, waarbij de bedrijven die de eerste keer zijn bemonsterd ook deel uitmaakten van de tweede ronde. Alleen bedrijven die aan de volgende criteria voldeden, kwamen hiervoor in aanmerking.

1. Het te vervangen gewas moest zijn aangetast door *M. hapla* of *P. penetrans*.
2. Hergebruik van oude goten.
3. Nemen van allerlei maatregelen, waaronder het reinigen van goten volgens bovengenoemd protocol tijdens de teeltwisseling
4. Ontsmetten van het recirculatiewater middels een verhitter of UV-apparaat.
5. Stekken of stentlingen als nieuw aan te planten gewas.

• eerste ronde

In de eerste ronde, die in november 2002 is uitgevoerd, waren acht bedrijven betrokken. Op deze bedrijven zijn totaal dertien afdelingen bemonsterd waarin teeltwisselingen hebben plaatsgevonden, 4 tot 25 maanden voorafgaand aan het bemonsteren. Gemiddeld bedroeg de periode tussen de teeltwisseling en het bemonsteren ruim tien maanden. In alle te bemonsteren afdelingen is 100 liter drainwater direct uit de drainwaterbuis verzameld en over een 10 μ m zeef met polyester zeefgaas uitgegoten. Tussendoor is de zeef enkele keren afgespoeld. Het afgespoelde water is opgevangen en verzameld en gedurende 24 uur op nematodenfilters geëxtraheerd. Na bezinken en afhevelen zijn alle aaltjes in de aaltjessuspensies geteld.

- *tweede ronde*

De tweede ronde vond plaats in oktober 2003. Behalve de acht bedrijven die deel uitmaakten van de eerste ronde, is de tweede ronde uitgebreid met een negende bedrijf waarop in november 2002 in twee afdelingen een teeltwisseling heeft plaatsgevonden. Ook nu zijn er totaal dertien afdelingen bemonsterd. Dit betekent dat niet alle afdelingen die in de eerste ronde zijn bemonsterd ook nu weer aan bod kwamen. Uit Tabel 3 (par. 3.3.1.2) wordt duidelijk welke afdelingen afvielen en welke zijn toegevoegd.

In tegenstelling tot de eerste ronde is nu niet alleen het drainwater onderzocht op plantenparasitaire wortelaaltjes, maar ook de wortels om de kans op een foutieve uitspraak ten aanzien van het wel of niet vrij zijn van wortelaaltjes te verkleinen. Uit elk te bemonsteren afdeling is een wortel- en drainwatermonster genomen. Voor elk wortelmonster zijn van 40 planten wortels verzameld. Deze zijn in het laboratorium in stukjes van ca. 5 mm geknipt, waaruit na menging een 20 g wortelmonster is genomen. De dertien wortelmonsters zijn op nematodenfilters geëxtraheerd en na zeven dagen afgegoten. Alle plantenparasitaire wortelaaltjes in de aldus verkregen aaltjessuspensies zijn na bezinken en afhevelen geteld.

Wat betreft het bemonsteren van het drainwater is evenals in de eerste ronde 100 liter drainwater rechtstreeks uit de drainwaterbuis verzameld. Maar nu is deze hoeveelheid niet over een 10 µm zeef gegoten, maar over vier gestapelde 45 µm zeven. De reden hiervan is dat met een set van vier gestapelde zeven meer aaltjes worden opgevangen dan met een 10 µm zeef vervaardigd van polyester zeefgaas (Amsing en Zijlstra, 2003). De suspensies die het afspoelen van de zeven heeft opgeleverd, zijn gedurende 24 uur op nematodenfilters geëxtraheerd. Ook hierin zijn alle plantenparasitaire wortelaaltjes geteld.

2.3.2 Ontsmetten gereedschap

In dit onderzoek is nagegaan op welke wijze gereedschap, zoals bijvoorbeeld messen die worden gebruikt bij het bemonsteren van wortels, zodanig kan worden ontsmet dat het weer aaltjesvrij is. Een dergelijke maatregel is noodzakelijk om in ieder geval besmetting tussen bedrijven en tussen afdelingen op het eigen bedrijf te voorkomen. In de praktijk wordt daarvoor vaak ethylalcohol gebruikt. Middels diverse proefjes is vastgesteld welk percentage ethylalcohol in relatie tot de behandeltijd nodig is om alle aaltjesstadia te doden. Omdat het in de praktijk meestal gaat om besmettingen met wortelknobbelaaltjes is het onderzoek met twee stadia van dit aaltje uitgevoerd, namelijk eitjes en larven in het tweede-juveniele-stadium (J2). De gebruikte alcohol betrof het product Nedalco-Alcohol Fortior met 96,2% ethylalcohol. Het onderzoek met beide stadia van wortelknobbelaaltjes is uitgevoerd met 0, 40, 55 en 70% ethylalcohol. Bij J2 van *M. hapla* zijn behandeltijden gebruikt van 1 tot 12 minuten en bij eitjes van *M. hapla* 8 tot 120 minuten. De behandelingen zijn uitgevoerd in 100 ml-potjes met 70 ml ethylalcohol-oplossing waaraan 0,5 ml suspensie met eitjes of J2 is toegevoegd en gemengd. Na het verstrijken van de behandeltijd is de inhoud van elk potje over een 25 µm zeefje gegoten. De aaltjes en eitjes die op het zeefje zijn blijven liggen, zijn - na te zijn nagespoeld met 800 ml water om alle ethylalcohol te verwijderen - met behulp van ca. 80 ml water van het zeefje gespoeld en opgevangen. Dit leverde suspensies op die afhankelijk van het aaltjesstadium verschillend zijn beoordeeld op effectiviteit van het ontsmetten. Beide onderzoeken zijn twee keer uitgevoerd.

- *controle J2*

De in de suspensie aanwezige J2 zijn op twee tijdstippen gecontroleerd, namelijk op de dag van het behandelen zelf (dag 0) en één dag later (dag 1). De beoordeling op dag 1 diende er voor om na te gaan of niet-gedode J2 zich kunnen herstellen. Het effect van de behandeling is vastgesteld op basis van het bewegend vermogen. Hierbij zijn drie vormen te onderscheiden: spontaan bewegende J2, J2 die alleen bewegen na aanraking en J2 die ook na aanraking niet bewegen. Deze laatste aaltjes worden als dood aangemerkt. Is herstel mogelijk dan moet dat blijken uit een afname van het aantal J2 dat pas na aanraking beweegt, ten gunste van het aantal J2 dat spontaan beweegt.

- *controle eitjes*

De in de suspensie aanwezige eitjes zijn op twee tijdstippen na het behandelen gecontroleerd. In dit geval is nagegaan of de eitjes nog konden uitkomen wat moet blijken uit de aanwezigheid van spontaan bewegende J2. Dit larvale stadium komt uit het eitje, nadat er in het eitje een eerste vervelling heeft plaatsgevonden. De

eerste controle is uitgevoerd op dag 0 en de tweede controle op dag 4. De controle-behandelingen in water zonder ethylalcohol hebben geen speciale behandeltijden ondergaan. Daarvan zijn de suspensies met eitjes en J2 gecontroleerd op het moment waarop dat ook bij de behandelingen met ethylalcohol is gebeurd.

2.3.3 Ontsmetten stekers

Indien druppelaars opnieuw worden gebruikt en de stekers daarvan in een met aaltjes besmet substraat hebben gestaan, dan is ontsmetting van de stekers noodzakelijk om herbesmetting van de nieuwe teelt te voorkomen. Omdat in de groeven van de stekers vaak wortelresten aanwezig zijn, is een warmwaterbehandeling (wwb) van de stekers een geschikte methode om de aaltjes in de wortels te doden. Dit is onderzocht met rozenwortels die zijn aangetast door het wortellesieaaltje *P. penetrans* en het noordelijk wortelknobbelaaltje *M. hapla*. De wortels waren afkomstig van Vendela-stekken die in week 19 van 2003 in kokos zijn opgepot en twee weken later met beide wortelaaltjes zijn besmet. Achtentwintig weken na het besmetten zijn de wortels gebruikt voor de wwb en zijn daarvoor in stukjes van 1 tot 2 cm geknipt. De behandelingen zijn uitgevoerd bij 60 en 80°C, waarbij de behandeltijd varieerde van 1 tot 32 minuten. Bij elke temperatuur/tijd-combinatie zijn, afhankelijk van de totale hoeveelheid beschikbare wortels, 7 tot 10 g wortels behandeld. Direct na het verstrijken van de behandeltijd zijn de wortels uit de warmwaterbak gehaald en in water van 18°C ondergedompeld om de wortels snel af te laten koelen.

- *controle wortels*

Het effect van wwb is vastgesteld door de wortels in stukjes van maximaal 5 mm te knippen en deze gedurende drie dagen op nematodenfilters te extraheren. Indien wwb onvoldoende effectief is, dan moet dit na extractie resulteren in levende aaltjes.

3. Resultaten en discussie

3.1 Inventarisatie besmettingsbronnen

3.1.1 Teeltbedrijven

Uit Tabel 1 blijkt dat er op de elf onderzochte teeltbedrijven verschillende punten aanwezig zijn waar plantenparasitaire wortelaaltjes zijn aangetroffen. Daarbij ging het op bedrijf 5 om het wortellesieaaltje *P. penetrans* en op de overige bedrijven om het noordelijk wortelknobbelaaltje *M. hapla*. Er zijn geen identificaties uitgevoerd, maar de soortvermelding is gebaseerd op historische gegevens van het bedrijf. Indien er in een vakje een '0' staat, dan wil dit niet zeggen dat er geen plantenparasitaire aaltjes aanwezig zijn, maar dit betekent dat dergelijke aaltjes niet in het monster zijn aangetroffen.

Tabel 1 - Onderzochte besmettingsbronnen op teeltbedrijven. Situatie eind mei - begin juni 2002.

Bronnen	Bedrijf:	Aantal plantenparasitaire wortelaaltjes ¹⁾										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Afd. 1: wortels ²⁾		70	80	20	40	40	220	1000	440			
drainwaterput ³⁾		15	75	20	0	2	0,5	395	75			
Afd. 2: wortels		95	60	0	100	0		700	0			
drainwaterput		15	115	15	0,5	1		150	10			
Afd. 3: wortels			0	0		0		0	20			
drainwaterput			0	0		0		2,5	0			
Afd. 4: wortels									0			
drainwaterput									0,2			
Afd. 5: wortels									0			
drainwaterput									0			
Afd. 6: wortels									0			
drainwaterput									0			
Drainwatersilo: water ⁴⁾		0	660	40	80	0	0	820	60	800		
Drainwatersilo: sediment ⁵⁾		60		40				560				
Water na zandfilter ⁴⁾						200				20		
Water na verhitter ⁴⁾		0	0	0	0		0		0			
Sediment silo na verhitter ⁵⁾					0							
Regenwaterbassin/-silo: water ⁴⁾		0	0	20 ^{4a)}	20 ^{4a)}	0	10 ^{4a)}	0	0		2 ^{4b)}	1 ^{4b)}
Regenwaterbassin/-silo: sediment ⁵⁾		0		0	0	0	0	0				
Kasgrond ⁶⁾		20				0	0	0	0			
Strooisel op gronddoek ⁷⁾			0		0							
Sediment sloot ⁸⁾		0	0	0	0	0	0	0				

Verhitter

UV-ontsmetter

Langz. zand- of lavafilter

Geen ontsmetter

¹⁾ Plantenparasitaire wortelaaltjes: wortellesieaaltjes *Pratylenchus* spp. en wortelknobbelaaltjes *Meloidogyne* spp.

Bedrijf 5: wortellesieaaltjes en op de overige bedrijven wortelknobbelaaltjes.

²⁾ Aantal plantenparasitaire wortelaaltjes/10 g wortels; extractieduur: max. 14 dagen.

³⁾ Aantal plantenparasitaire wortelaaltjes/liter drainwater; geen extractie, maar 100%-telling na bezinken en afhevelen.

⁴⁾ Aantal plantenparasitaire wortelaaltjes/100 liter water; extractieduur: max. 14 dagen.

^{4a)} Telling van 5 ml-submonsters uit 100 ml extractiemonster; ^{4b)} 100%-telling na bezinken en afhevelen 100 ml extractiemonster.

⁵⁾ Aantal plantenparasitaire wortelaaltjes/100 ml sediment; extractieduur: max. 14 dagen.

⁶⁾ Aantal plantenparasitaire wortelaaltjes/100 ml grond; extractieduur: max. 14 dagen.

⁷⁾ Aantal plantenparasitaire wortelaaltjes/250 ml strooisel; extractieduur: max. 14 dagen.

⁸⁾ Aantal plantenparasitaire wortelaaltjes/500 ml sediment; extractieduur: max. 14 dagen.

- *afdelingen: wortels en drainwaterput*

Alle bemonsterde afdelingen zijn ingekleurd. De kleuren geven aan of er wel of geen ontsmetter is gebruikt en zo ja, welk type ontsmetter. De kleur groen laat zien dat de afdeling uitsluitend op een verhitter heeft gedraaid. Alle overige kleuren laten zien dat het drainwater in die afdeling eventueel ook nog op een andere manier is ontsmet of zelfs enige tijd niet ontsmet is geweest: blauw (UV-straling), rood (langzaam zand- of lavafilter) en geel (geen ontsmetting).

Op alle bedrijven waar wortelmonsters zijn genomen, bleken een of meer afdelingen besmet te zijn met plantenparasitaire wortelaaltjes. In elf van de 23 bemonsterde afdelingen waren zowel de wortelmonsters als de drainwatermonsters besmet met dergelijke wortelaaltjes. Ontbraken deze wortelaaltjes in beide soorten monsters, dan ging het vier keer om afdelingen die uitsluitend op een verhitter hebben gedraaid (nr. 2, 3 en 8). Deze afdelingen zijn tijdens de teeltwisseling ontsmet. Ook op bedrijf 5 was een afdeling aanwezig waar in de monsters geen plantenparasitaire wortelaaltjes zijn gevonden, hoewel deze afdeling op een langzaam zandfilter draaide (inmiddels is deze vervangen door een verhitter) en dergelijke aaltjes wel in de andere twee afdelingen aanwezig waren. De teelt in de 'aaltjesvrije' afdeling dateerde van februari 2002 wat blijktbaar te kort was om eind mei 2002 een meetbare aantasting op te leveren. Opmerking: Een jaar later zijn wel plantenparasitaire wortelaaltjes in een wortelmonster uit deze afdeling gevonden. In enkele afdelingen die uitsluitend op een verhitter hebben gedraaid (groen), zijn wel aaltjes gevonden. Het blijkt afdelingen te zijn waarin leidingen en/of goten tijdens de teeltwisseling niet zijn ontsmet. Ook op bedrijf 1 heeft er in afdeling 1 geen reiniging tijdens de teeltwisseling plaatsgevonden wat mogelijk de reden is dat er in deze afdeling ondanks de UV-ontsmetter toch aaltjes aanwezig waren.

- *drainwatersilo: water en sediment*

Op drie van de negen bedrijven zijn geen plantenparasitaire wortelaaltjes gevonden in het water van de drainwatersilo, terwijl deze wel in één of meer drainwaterputten aanwezig waren. Dit verschil in uitslag kan worden verklaard doordat in een drainwatersilo al het drainwater van het hele bedrijf wordt verzameld. Zijn niet in alle afdelingen aaltjes aanwezig dan kan het gebeuren dat het drainwater uit de besmette drainwaterputten zo sterk wordt verdund dat het moeilijk is om aaltjes te vinden, zelfs met een 10 µm-zeef. Of mogelijk juist vanwege het gebruik van deze zeef wat achteraf bleek. Later uitgevoerd onderzoek heeft namelijk laten zien dat het gebruikte 10 µm polyester zeefgaas ook mazen bevat van ca. 20 µm (Amsing en Zijlstra, 2003). Aangezien J2 van *M. hapla* een diameter heeft van ca. 14 µm, laat dit type zeefgaas ook een zekere hoeveelheid J2 door en wel des te meer naarmate er tijdens het gieten meer water op de zeef blijft liggen, wat steeds het geval was. Onder dergelijke omstandigheden krijgen de aaltjes meer tijd om met kop of staart in een maas terecht te komen en zo door de zeef te verdwijnen (Amsing en Zijlstra, 2003). In het sediment dat van de bodem van de drainwatersilo is geschept, waren wel steeds plantenparasitaire wortelaaltjes aanwezig.

- *ontsmetter: verhitter en langzaam zandfilter*

Op twee van de negen bedrijven was nog een langzaam zandfilter in bedrijf (nr. 5 en 9). In beide gevallen waren plantenparasitaire wortelaaltjes aanwezig in het water dat na de zandfilters is opgevangen. Op bedrijf 9 is zowel het drainwater als de langzaam zandfilter bemonsterd door 10 liter water te verzamelen, dit te laten bezinken en na afhevelen het aantal aaltjes hierin te tellen. Omgerekend naar 100 liter water, werden er in het drainwater 800 J2 van *M. hapla* gevonden en na de zandfilter nog 20 van deze aaltjes. Dat betekent dat het langzaam zandfilter 2,5% aaltjes heeft doorgelaten.

Op bedrijf 5 zijn in de drainwatersilo voor het zandfilter geen plantenparasitaire wortelaaltjes gevonden, terwijl deze wel uit het zandfilter stroomden. Dit onverwachte resultaat kan wederom verklaard worden door een verschil in bemonsteringsmethode: het drainwater in de silo is bemonsterd met behulp van de 10 µm-zeef, terwijl na het langzaam zandfilter twee liter water is afgetapt, wat na bezinken en afhevelen is onderzocht op aaltjes.

In tegenstelling tot de langzaam zandfilters zijn in het door de verhitters behandelde water nooit levende aaltjes gevonden. Hiermee is nogmaals aangetoond dat verhitting een betrouwbare ontsmettingsmethode is, wat in overeenstemming is met eerder onderzoek (Amsing en Runia, 2000).

In een geval was het mogelijk om sediment uit de schoonwatertank (water dat door de verhitter was behandeld) te halen. Hierin zijn geen plantenparasitaire aaltjes aangetroffen.

- *regenwaterbassin/-silo*

Aanvankelijk is alleen op de eerste acht bedrijven het regenwaterbassin/-silo onderzocht. Op drie van deze bedrijven (nr. 3, 4 en 6) werden er J2 van wortelknobbelaaltjes, *Meloidogyne* sp., in de watermonsters gevonden. Dit was aanleiding om ze later nogmaals te bemonsteren en twee nieuwe bedrijven (nr. 10 en 11) daaraan toe te voegen. In de tweede bemonsteringsronde zijn in de regenwatermonsters van de drie eerder genoemde bedrijven geen wortelknobbelaaltjes meer aangetroffen, terwijl dat wel het geval was op de twee nieuw onderzochte bedrijven. In het laatste geval ging het slechts om 1 tot 2 aaltjes per 100 liter water, terwijl in de eerste bemonsteringsronde 10 tot 20 aaltjes per 100 liter zijn gevonden. Dit verschil kan mogelijk worden toegeschreven aan het feit dat de verwerking van de monsters is gewijzigd om de nauwkeurigheid te verhogen. Werden in de eerste ronde uit de verkregen 100 ml-extractiemonsters nog 2x 5 ml submonsters genomen waarin het aantal aaltjes is geteld, in de tweede ronde werden na bezinken en afhevelen alle aaltjes in de 100 ml-extractiemonsters geteld wat de nauwkeurigheid ten goede komt. In het eerste geval wordt het resultaat over beide 5 ml-submonsters namelijk gemiddeld en vervolgens vermenigvuldigd met 20x om te berekenen hoeveel aaltjes er zich in het 100 ml-extractiemonster bevinden. Bij hele geringe aantallen aaltjes kan de uitkomst zodoende gemakkelijk een factor 10x te hoog vallen. Vandaar dat in de tweede ronde de verwerking van de monsters is aangepast.

Zes keer is sediment uit het regenwaterbassin/-silo verzameld. Hierin zijn nooit plantenparasitaire wortelaaltjes aangetroffen.

- *kasgrond en strooisel*

Totaal zijn acht grondmonsters genomen en drie strooiselmonsters. In een paar gevallen vertegenwoordigt een '0' in de tabel meer dan één bemonstering. Slechts één keer zijn in de kasgrond J2 van *Meloidogyne* sp. aangetroffen, namelijk op bedrijf 1. Daarbij ging het om een kas waarin al dertien jaar niet meer in de grond is geteeld. Voor een natuurlijke aaltjesbesmetting is deze periode veel te lang om te overleven. Dit betekent dat de huidige besmetting geen restant geweest kan zijn van een eventuele besmetting dertien jaar geleden, maar deze heeft zijn oorsprong zeer waarschijnlijk in een herbefmetting vanuit een lekkend teeltsysteem.

Wat het strooisel betreft, hierin zijn nooit plantenparasitaire wortelaaltjes gevonden. Toch mag een besmetting niet worden uitgesloten indien er vanuit het teeltsysteem besmet drainwater op de grond terecht komt.

- *slootwater*

Uit elf omringende sloten is op de onderzochte bedrijven sediment verzameld en onderzocht op plantenparasitaire wortelaaltjes. In geen enkele sedimentmonster zijn dergelijke aaltjes aangetroffen, toch moet slootwater als verdacht worden beschouwd. Uit de literatuur is namelijk bekend dat oppervlaktewater besmet kan zijn met onder andere wortelknobbel- en wortellesieaaltjes (Faulkner en Bolander, 1966, 1970a en 1970b, Tobias and Palacios, 1974).

3.1.2 Goten en stekers

- *goten*

De eerste schoonmaakronde, waarin de goten met water zijn schoon geborsteld, heeft per meter goot gemiddeld 13 J2 van *M. hapla* opgeleverd. In de tweede schoonmaakronde, die diende om na te gaan in hoeverre het schoonborstelen met water in de eerste schoonmaakronde effectief is geweest, zijn geen wortelknobbelaaltjes meer gevonden. Hiermee is aangetoond dat goten waarop een door aaltjes aangetast rozengewas staat of heeft gestaan, een besmettingsbron met aaltjes is. Maar tevens laat dit onderzoek zien dat het met water schoonborstelen van goten een effectieve methode kan zijn om de goten als besmettingsbron te elimineren. Voorwaarde daarbij is wel dat al het water goed kan weglopen. Aangezien men er nooit zeker van is dat alle aaltjes uit de goten zijn verdwenen, moet een nareiniging worden uitgevoerd.

- *stekers*

De stekers van de druppelaars, die uit de steenwolmatten, perliet en kokos zijn gehaald en in water zijn afgespoeld, waren besmet met gemiddeld 8, 9 en 6 J2 van *M. hapla* per steker. Stekers en daarmee dus ook het substraat waarin de stekers zijn gestoken, zijn derhalve een bron van besmetting.

3.2 Inventarisatie teelthandelingen

- *bemonsteren wortels*

De wortels, die aan de onderkant van de steenwolmatten met de hand zijn verwijderd, waren besmet met gemiddeld 26.823 J2 van *M. hapla* per 10 g wortels. In het water waarin de handen na elke monsternamen zijn afgespoeld (1^e spoelsel), waren 342 J2 van *M. hapla* aanwezig. In het 2^e spoelsel was dit aantal teruggebracht tot vijf aaltjes. In beide spoelsels waren de aaltjes afkomstig van acht bemonsteringsplekken. Dit betekent dat de handen na het bemonsteren van wortels op één bemonsteringsplek besmet waren met gemiddeld 43 J2 van *M. hapla* en dat dit aantal na één keer afspoelen van de handen was gereduceerd tot 0,6 aaltjes. De handen kunnen dus als een bron van besmetting fungeren indien ze na een monsternamen niet of onvoldoende worden gereinigd.

- *bemonsteren kokos*

In 100 ml kokos waren gemiddeld 140 J2 van *M. hapla* aanwezig. Het water waarin de grondboor na elke prik is afgespoeld, bevatte gemiddeld negen wortelknobbelaaltjes. Daar er twintig prikken zijn genomen en de boor na elke prik is afgespoeld, komt dit per prik neer op een besmetting van de boor met 0,45 J2 van *M. hapla*. Hoewel dit aantal erg gering is, mag de boor als overbrenger van aaltjes niet worden uitgesloten, tenzij de boor goed wordt gereinigd.

- *bemonsteren voedingsoplossing*

In de uit steenwolmatten gezogen hoeveelheid voedingsoplossing van 380 tot 480 ml varieerde het aantal wortelknobbelaaltjes van 0,7 tot 1,2 J2 per ml. Gemiddeld over de drie proeven waren er per ml voedingsoplossing 0,9 J2 van *M. hapla* aanwezig. Het spoelwater waarin de naald van het zuigapparaat telkens is afgespoeld, bevatte gemiddeld 0,1 J2 per prik. Per tien prikken zou er dus één aaltje kunnen worden meegenomen naar een andere mat als reiniging van de naald achterwege blijft.

Dit onderzoek heeft aangetoond dat het bemonsteren een handeling is via welke aaltjes kunnen worden verspreid. Risico op verspreiding blijft natuurlijk niet beperkt tot het bemonsteren, maar is ook aanwezig indien besmette onderdelen van het teeltsysteem met de handen worden aangeraakt en de niet gereinigde handen vervolgens in contact komen met andere delen van het teeltsysteem.

3.3 Maatregelen ter voorkoming van herbesmetting

3.3.1 Teeltwisseling

3.3.1.1 Tijdens de teeltwisseling

De resultaten in Tabel 2 van het onderzoek naar de effecten van verschillende reinigungsstappen op een praktijkbedrijf laten zien dat de wortels in de twee onderzochte goten waren aangetast door *M. hapla*. Maar ook werd duidelijk dat deze aantasting nauwelijks resulteerde in besmette goten. In het organisch vuil uit de droog schoongeveegde goten zijn in ieder geval geen wortelknobbelaaltjes gevonden. Normaal gesproken, dat wil zeggen als de goten direct na het verwijderen van het gewas nog vochtig zijn, bevinden er zich wel aaltjes in het organisch vuil. Dat deze nu niet zijn gevonden komt vermoedelijk doordat de goten op het moment van schoonvegen droog waren. Tegen de afspraak in waren de steenwolmatten drie dagen eerder, op vrijdag, door de tuinder uit de goten verwijderd. Hierdoor waren de goten op het moment van schoonvegen geheel opgedroogd. Niettemin leverde het schoonborstelen met water nog wel enkele wortelknobbelaaltjes op, maar dit was slechts in één goot het geval. Drie wortelknobbelaaltjes op een goot van 62,5 m mag een uitermate lage besmetting worden genoemd. Dat de besmetting zeker hoger kan zijn, is gebleken in paragraaf 3.1.2 waarin de goten besmet bleken te zijn met 13 J2 van *M. hapla* per meter goot. Het opdrogen is blijkbaar gunstig om de besmetting terug te dringen, maar dit vergemakkelijkt niet het schoonmaken. Om er zeker van te zijn dat ook het laatste plantenparasitaire wortelaaltje in de goten onschadelijk wordt gemaakt, is een nabehandeling met chloorbleekloog of een ander reinigungsmiddel op zijn plaats.

Tabel 2 - Bemonsteringsresultaten van verschillende reinigingsstappen tijdens een teeltwisseling van een door *M. hapla* aangetast rozengegewas op een praktijkbedrijf.

Handeling	Monster	Aantal J2 van <i>M. hapla</i>	
		goot 1	goot 2
Bemonsteren wortels in goten	15 g wortels	1041	644
Goten droog schoonvegen	15 g organisch vuil	0	0
Goten schoon boenen met water	boenwater	3	0
Goten naspoelen met water	spoelwater	0	0
Naspoelen na chloorbehandeling	spoelwater	0	0

Vanwege de uitermate geringe besmetting op dit bedrijf heeft het onderzoek geen duidelijk inzicht gegeven in de effectiviteit van de verschillende reinigingsstappen. Dit was reden om hetzelfde onderzoek op twee andere bedrijven te herhalen. Maar omdat zich hiervoor geen geschikte bedrijven hebben aangediend, kon dit niet worden uitgevoerd.

3.3.1.2 Na de teeltwisseling

In Tabel 3 zijn de resultaten opgenomen van de bemonsteringen op praktijkbedrijven die op twee tijdstippen zijn uitgevoerd nadat de teeltwisselingen hebben plaatsgevonden. Dit om na te gaan in hoeverre de maatregelen overeenkomstig het protocol (paragraaf 5.3) tot aaltjesvrije teelten hebben geleid. In Tabel 3 is ook aangegeven wanneer de teeltwisselingen zijn uitgevoerd.

- *eerste ronde*

In de eerste bemonsteringsronde is slechts in één van de dertien afdelingen aantasting door wortelknobbelaaltjes aangetroffen. Dit mag een uitstekend resultaat worden genoemd en is zeer hoopgevend wat betreft de effectiviteit van de maatregelen die tijdens de teeltwisseling zijn genomen.

- *tweede ronde*

De tweede bemonsteringsronde die een jaar later plaatsvond, is uitgebreid met wortelbemonsteringen om de kans op het vinden van aanwezige aantastingen te verhogen. De afdeling die in de eerste ronde bleek te zijn aangetast, is nu niet opnieuw bemonsterd, de overige twaalf afdelingen uit de eerste ronde wel. Van deze twaalf afdelingen uit de eerste ronde bleken elf afdelingen een jaar later nog steeds aaltjesvrij te zijn, althans er zijn geen plantenparasitaire wortelaaltjes in de wortel- en drainwatermonsters gevonden. Slechts één afdeling bleek licht besmet te zijn met wortelknobbelaaltjes (bedrijf 5). Voor de betreffende teler een onbegrijpelijk resultaat, aangezien op zijn bedrijf zowel drainwater als bassinwater worden ontsmet met behulp van een UV-ontsmetter.

Van de drie afdelingen die in de tweede ronde extra zijn opgenomen, was er één besmet (bedrijf 9). De onderzochte afdelingen op dit bedrijf hebben uitsluitend op een verhitter gedraaid. Hierin zal de reden voor de besmetting dan ook niet gezocht moeten worden, tenzij de verhitter een keer niet goed heeft gefunctioneerd. Maar als dat een keer het geval geweest zou zijn, dan is de kans groot dat ook de andere afdeling besmet is met aaltjes, maar deze zijn niet in het drainwater- en wortelmonster gevonden. Een besmetting vanuit andere afdelingen op dit bedrijf waarvan de rozen wel zijn aangetast door wortelknobbelaaltjes, mag zeker niet worden uitgesloten. Vermoedelijk is de gevonden besmetting in de tweede ronde een schijnbesmetting geweest. Dit werd duidelijk doordat de teler later zelf het drainwater in de 'besmette' afdeling door hetzelfde onderzoekslaboratorium nogmaals heeft laten onderzoeken. Toen zijn geen wortelknobbelaaltjes of andere voor rozen plantenparasitaire wortelaaltjes in het drainwater aangetroffen. Zijn de gebruikte zeven voor de bemonstering in de eerste ronde misschien onvoldoende gereinigd geweest, waardoor de schijnbesmetting zich heeft voor gedaan? Maar toch mag een aantasting niet worden uitgesloten. In geval van een lichte aantasting kan het namelijk voorkomen dat deze door het bemonsteren van het drainwater wordt gemist. Dat dit mogelijk is, is gebleken uit onderzoek naar het optimaliseren van het bemonsteren van wortelaaltjes in substraatteelten van roos (Amsing *et al.*, 2004).

Tabel 3 - Resultaten van bemonsteringen uitgevoerd op twee tijdstippen na teeltwisselingen in zestien afdelingen verdeeld over negen praktijkbedrijven.

Bedrijf	Afdeling (m ²)	Teeltwisseling	Aantal wortelknobbelaaltjes <i>M. hapla</i> per		
			100 liter drain nov. 2002	100 liter drain okt. 2003	20 g wortels okt. 2003
1	7500	juni 2002	0	0	0
2	4500	september 2001	0	0	0
	5300	oktober 2001	6	n.b. ¹⁾	n.b.
	5000	oktober 2001	0	0	0
3	4400	juni 2002	0	0	0
	4400	juni 2002	0	0	0
4	6500	mei 2001	0	0	0
5	10.000	augustus 2002	0	6	0
	10.000	augustus 2002	0	0	0
6	5500	oktober 2000	0	0	0
7	20.000 (2 afd.)	maart 2002	0	0	0
	20.000 (2 afd.)	maart 2002	0	0	0
	20.000	nov. 2002	n.b.	0	0
8	5000	december 2001	0	0	0
9	4800	november 2002	n.b.	0	0
	4800	november 2002	n.b.	14 ²⁾	0

¹⁾ n.b.: niet bemonsterd.

²⁾ mogelijk een schijnbesmetting, zie uitleg in tekst onder 3.3.1.2.

3.3.2 Ontsmetten gereedschap

In Figuur 1 zijn de resultaten grafisch weergegeven betreffende de behandelingseffecten van J2 van *M. hapla* in oplossingen met ethylalcohol. Daarbij is de doding van J2 op twee tijdstippen na het behandelen beoordeeld, namelijk op dag 0 en dag 1. Hoewel de resultaten betrekking hebben op twee proeven, laat Figuur 1 niet de gemiddelde resultaten zien maar de minimale doding, dat wil zeggen het minst goede effect. Figuur 2 heeft betrekking op het effect van ethylalcohol op eitjes van *M. hapla*. Dit effect is vastgesteld op dag 0 en dag 5 na het beëindigen van de behandelingen.

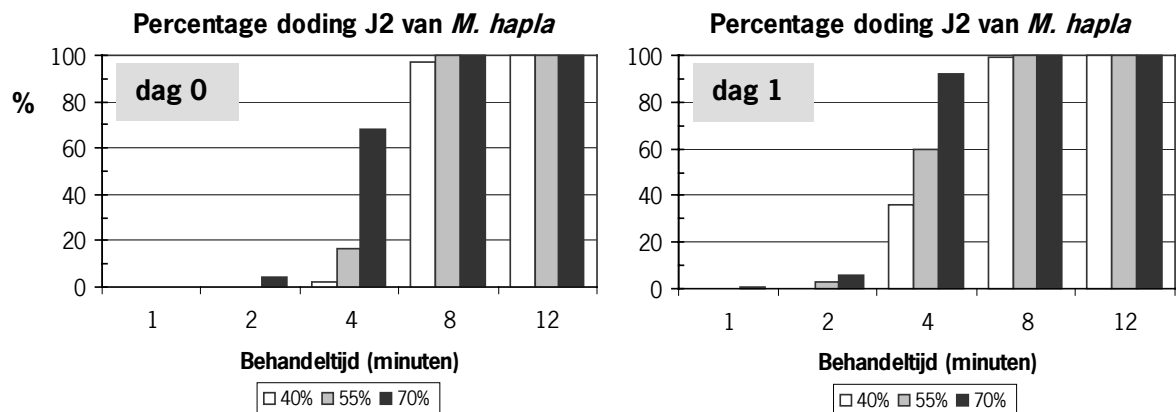
• effect op J2

Uit Figuur 1 blijkt dat de dodingspercentages toenemen naarmate de tweede-stadium-juvenielen J2 langer aan ethylalcohol zijn blootgesteld. Uit de controle op dag 0 blijkt dat na acht minuten behandelen alleen de twee hoogste ethylalcoholpercentages tot 100% doding kwamen. Voor hetzelfde resultaat bij 40% ethylalcohol was een behandeltijd van twaalf minuten nodig. De controle op dag 1 laat zien dat de percentages doding zijn toegenomen ten opzichte van dag 0. Dit betekent dat er geen herstel is opgetreden en de resultaten op dag 0 dus als maatgevend voor het effect gebruikt mogen worden. Het ontsmetten van eitjes laat daarentegen een heel ander beeld zien.

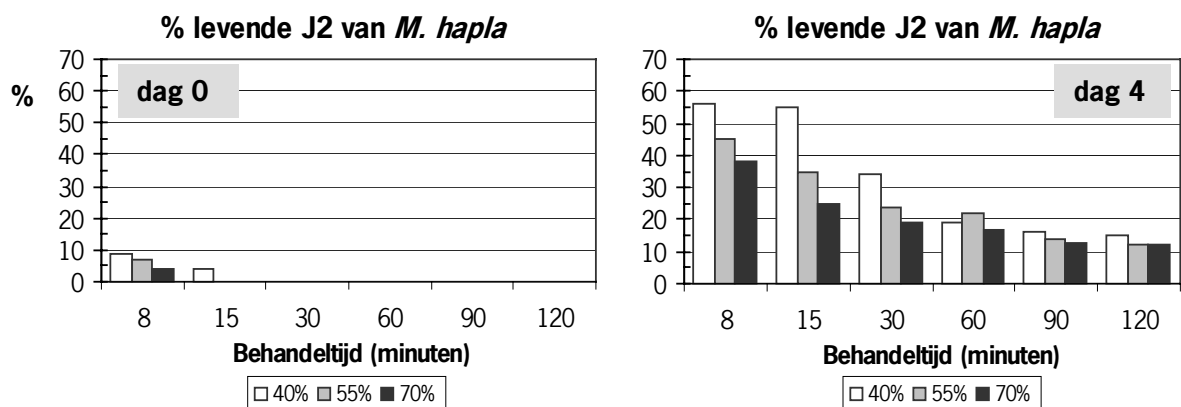
• effect op eitjes

Uit Figuur 2 blijkt dat bij controle op dag 0 een behandeltijd van 30 minuten voldoende is om geen levende J2 te hebben. Dat wil zeggen dat de behandeling verhinderd heeft dat er eitjes zijn uitgekomen. Maar dag 4 laat een heel ander beeld zien. Vier dagen na het beëindigen van de alcoholbehandelingen was bij alle alcohol/tijd-combinaties het aantal levende J2 sterk toegenomen. Zelfs 120 minuten was onvoldoende om het uitkomen van eitjes te verhinderen.

Uit het onderzoek met eitjes en J2 van *M. hapla* is dus gebleken dat J2 gevoeliger zijn voor ethylalcohol dan eitjes. Aangezien beide aaltjesstadia in aangetaste wortels aanwezig zijn en zich derhalve ook kunnen bevinden op gereedschap dat met wortels of substraat in aanraking komt, biedt ethylalcohol geen oplossing om ze te doden.



Figuur 1 - **Effect op J2.** Effect van behandelingen in oplossingen met 40, 55 en 70% ethylalcohol op het doden van J2 van *M. hapla* in relatie tot behandelzeiten van 1 tot 12 minuten (n=2). Controle op dag 0 en dag 1 na het behandelen.



Figuur 2 - **Effect op eitjes.** Effect van behandelingen in oplossingen met 40, 55 en 70% ethylalcohol op het uitkomen van eitjes van het wortelknobbelaaltje *M. hapla* in relatie tot behandelzeiten van 8 tot 120 minuten (n=2). Controle op dag 0 en dag 4 na het behandelen.

3.3.3 Ontsmetten stekers

Het onderzoek naar het effect van warmwaterbehandelingen (wwb) op rozenwortels die zijn aangetast door het wortellesieaaltje *P. penetrans* en het wortelknobbelaaltje *M. hapla* hebben uitstekende resultaten opgeleverd. In de eerste wwb-proef zijn de wortels blootgesteld aan 80°C gedurende 1 tot 32 minuten. Bij geen van deze behandelingen zijn na een extractietijd van drie dagen levende aaltjes gevonden. De aaltjes en eitjes hebben het dus niet overleefd. Dit was reden om dezelfde behandelzeiten te toetsen bij 60°C. Dit om na te gaan hoe kritisch de temperatuur is. Maar ook bij 60°C was de kortste behandelzeit van 1 minuut voldoende om alle aaltjes en eitjes in en op de wortels te doden. Per 10 g wortels bleken de niet behandelde wortels na een extractietijd van drie dagen besmet te zijn met gemiddeld 150 *P. penetrans* en 14.307 J2 van *M. hapla*.

4 Algehele discussie en conclusies

• *ontsmetter*

Uit de inventarisatie van besmettingsbronnen op teeltbedrijven is gebleken dat een goede ontsmetter een belangrijke voorwaarde is om verspreiding van aaltjes via besmet drainwater vanuit aangetaste afdelingen te voorkomen. Verhitting is een goede ontsmettingsmethode om alle aaltjes onschadelijk te maken en zo doende een nieuwe teelt te vrijwaren van aantasting (Amsing en Runia, 2000). De inventarisatie en het onderzoek dat na de teeltwisselingen heeft plaatsgevonden, hebben dit bevestigd. Hoewel ook uit onderzoek van Amsing en Runia (2000) is gebleken dat UV-straling een goede ontsmettingsmethode is, wordt hieraan in de praktijk getwijfeld (Hartog, 2003, pers. mededeling). Langzame zand- en lavafilters voldoen zeker niet als ontsmetter (Amsing en Runia, 2000). Ook dit is door deze inventarisatie bevestigd. Ontsmetters op basis van ozonisatie waren niet op de geïnventariseerde bedrijven aanwezig, maar ook dit is geen goede ontsmettingsmethode.

• *teeltwisseling*

Naast een 100% effectieve ontsmetter is het uiteraard van belang dat een besmet teeltsysteem tijdens een teeltwisseling geheel wordt gereinigd van aaltjes. Ook wanneer geen aaltjesaantasting wordt vermoed of deze niet door een bemonstering is aangetoond, is toch een reiniging op zijn plaats. Aaltjes zijn immers niet de enige ziekteverwekkers die in het teeltsysteem aanwezig kunnen zijn. In het verleden werd aan reiniging van het teeltsysteem geen of onvoldoende aandacht besteed. Op de onderzochte bedrijven is dit in diverse oudere afdelingen ook niet gebeurd wat misschien wel tot gevolg had dat daarin aaltjes zijn gevonden. Sinds een paar jaar echter wordt reiniging tijdens een teeltwisseling steeds meer gemeengoed. De resultaten van de inventarisatie hebben laten zien dat daardoor de kans op aantasting door aaltjes aanzienlijk wordt verminderd. Dit is bevestigd door het onderzoek naar aanwezigheid van aantasting door wortelaaltjes in afdelingen waarin een teeltwisseling inclusief reiniging heeft plaatsgevonden. In drie, maar vermoedelijk slechts in twee van de oorspronkelijk zestien besmette afdelingen die tijdens een teeltwisseling zijn gereinigd zijn weer aaltjes gevonden. Hieruit blijkt dat de maatregelen zeer effectief kunnen zijn. Dat één tot twee jaar na de teeltwisseling 81%, of mogelijk zelfs 88% van de onderzochte afdelingen nog steeds aaltjesvrij zijn, biedt goede perspectieven voor de toekomst. Het reinigingsproces dat in de praktijk wordt toegepast om het teeltsysteem aaltjesvrij te krijgen, bestaat uit een aantal stappen (paragraaf 5.3).

• *besmettingsbronnen*

Wanneer het teeltsysteem tijdens een teeltwisseling aaltjesvrij is gemaakt en er een 100% effectief werkende ontsmetter wordt gebruikt, moet men niettemin alert blijven. Aantasting blijft mogelijk, zeker wanneer er in andere afdelingen aaltjes aanwezig zijn. In dat geval zijn er (interne) aaltjesbronnen op het bedrijf van waaruit aaltjes verspreid kunnen worden. Daarnaast zijn ook externe bronnen (regenwater) van aaltjes gevonden, die een schoon bedrijf theoretisch zouden kunnen besmetten.

Onderstaand overzicht laat zien in welke onderzochte bronnen er wel en geen plantenparasitaire wortelaaltjes voor roos zijn aangetroffen en welke bronnen toch als verdacht worden aangemerkt ondanks het feit dat deze aaltjes daarin niet zijn gevonden.

Aaltjes gevonden in:

- wortels
- substraat
- drainwater
- goten
- stekers
- water na langzaam zandfilter
- regenwaterbassin/-silo
- kasgrond

Geen aaltjes gevonden, maar toch verdacht:

- strooisel op gronddoek
- oppervlaktewater

Geen aaltjes gevonden en niet verdacht:

- water na verhitte

Het meest opvallend in het bronnenoverzicht is dat er ook wortelknobbelaaltjes in het regenwater zijn aangetroffen. Het ging weliswaar om hele lichte besmettingen, maar ook deze kunnen een aantasting veroorzaken, wat is te voorkomen door het regenwater te ontsmetten. Omdat nooit bekend is wanneer het regenwaterbassin besmet raakt, is het raadzaam dit water altijd te ontsmetten. Niet alleen vanwege aaltjes is dit gewenst, maar misschien nog meer vanwege schimmels die zich in tegenstelling tot plantenparasitaire aaltjes veelal wel in water kunnen vermeerderen. Aaltjes kunnen op verschillende manieren in het regenwaterbassin terechtkomen. Allereerst via dieren, zoals zwemmende huisdieren, vogels en waterratten. Ook onkruid mag zeker niet als bron van besmetting worden uitgesloten. Daarbij valt te denken aan onkruid dat op de randen van het bassin aanwezig is of zelfs in het bassin groeit. Ook moet worden gedacht aan onkruid in dakgoten, via welke het regenwater wordt verzameld. In 2003 was het de bedoeling onkruid in dakgoten te verzamelen en te onderzoeken op aaltjes die voor roos plantenparasitair zijn. Maar vanwege de droge, warme zomer kon geen onkruid worden gevonden. Wind is een andere mogelijkheid via welke aaltjes kunnen worden verspreid (Tobar & Gallardo, 1974 en 1976, Carroll & Viglierchio, 1981). Onder Nederlandse omstandigheden lijkt dit weinig realistisch daar de meeste grond is begroeid, maar in het najaar als de gewassen op de akkerbouwgronden zijn verwijderd mag verspreiding van aaltjes onder invloed van wind niet worden uitgesloten, zeker niet wanneer de bovenste grondlaag opdroogt. Een afgedekt bassin kan een aantal van deze mogelijke besmettingsvormen voorkomen.

- *gereedschap en handen*

Om te voorkomen dat aaltjes vanuit het ene naar het andere teeltsysteem worden verspreid, kan er het beste van worden uitgegaan dat elk teeltsysteem besmet is en daar de maatregelen op af te stemmen. Dit geldt met name voor die teelthandelingen waarbij contact met besmette onderdelen, zoals wortels, substraat, drainwater, goten e.d. onvermijdelijk is. Daartoe behoort onder andere het bemonsteren van wortels, substraat, voedingsoplossing en drainwater. Ons onderzoek heeft aangetoond dat door het bemonsteren in een besmet teeltsysteem aaltjes worden verslept. Dit is te voorkomen door het reinigen van handen, messen, zuigapparatuur en ander gereedschap die met het besmette teeltsysteem in contact zijn geweest. Reiniging moet met name plaatsvinden wanneer van het ene bedrijf naar het ander bedrijf wordt gegaan of van de ene afdeling naar de andere afdeling. Gereedschap en handen die in contact geweest zijn met besmette onderdelen van het teeltsysteem kunnen besmet zijn met de aalvormige stadia, maar ook met eitjes. Gereedschap kan het beste worden gereinigd door het gedurende tenminste één minuut in water van 60°C te dompelen. Daarmee worden alle aaltjesstadia gedood, ook in eventueel aanwezige wortelresten. Reiniging door middel van alcohol wordt ontraden, omdat eitjes hiermee zeer moeilijk zijn te doden. Zelfs een behandeling gedurende twee uur in 70% ethylalcohol voorkomt niet dat er geen levensvatbare aaltjes meer uit de eitjes komen. Het aaltjesvrij maken van zeven die gebruikt worden voor het bemonsteren van water kan ook het beste gebeuren met veel water van tenminste 60°C. Handen die in aanraking zijn geweest met besmette onderdelen van het teeltsysteem moeten met warm water worden gewassen. Houd er daarbij ook rekening mee dat er zich aaltjes of eitjes onder de nagels kunnen bevinden.

- *bemonsteren wortels of drainwater*

Wat betreft het bemonsteren van wortels en drainwater dat tijdens de inventarisatie van besmettingsbronnen op teeltbedrijven is gebeurd, blijkt dat er in drainwatermonsters vaker aaltjes zijn gevonden dan in wortelmonsters. Zo zijn er vijf keer geen aaltjes in de bemonsterde wortels gevonden, terwijl deze wel in de drainwatermonsters aanwezig waren. Twee keer was het tegenovergestelde het geval. Blijkbaar worden aaltjes dus gemakkelijker in drainwater gevonden dan in wortels. Dit zal met name het geval zijn als er sprake is van een beginnende aantasting waarbij het percentage aangetaste planten gering is. De reden dat ze dan gemakkelijker in drainwater dan in wortels worden gevonden, is de volgende. Op de eerste plaats heeft

dit te maken met het feit dat de afdelingen vaak erg groot zijn, een halve hectare is vaak het minimum. Hierin staan al gauw 40.000 planten, waarvan er maximaal 40 worden bemonsterd. De kans dat er dan bij een beginnende aantasting aangetaste wortels in het wortelmonster terechtkomen is uitermate gering. In tegenstelling hiermee is het te bemonsteren drainwater afkomstig van alle planten uit een afdeling. Dat er twee keer geen aaltjes in het drainwater zijn gevonden en wel in de wortels had mogelijk voorkomen kunnen worden door voldoende grote drainwatermonsters te nemen. In het onderzoek is 2 tot 10 liter water verzameld. Dit kan gemakkelijk worden verhoogd tot bijvoorbeeld 50 of 100 liter en is minder tijdrovend dan het verhogen van het aantal te bemonsteren planten van 40 naar bijvoorbeeld 80 planten. Heeft het bemonsteren tot doel om vast te stellen of er wel of geen aaltjes in een afdeling aanwezig zijn, dan komt het bemonsteren van drainwater daarvoor vermoedelijk eerder in aanmerking dan het bemonsteren van wortels.

Op basis van het feit dat een tot twee jaar na het toepassen van een grondige reiniging tijdens de teeltwisseling van met aaltjes besmette teeltsystemen 81% of mogelijks zelfs 88% van deze afdelingen nog steeds aaltjesvrij is, mag gesteld worden dat aaltjesvrij telen tot de mogelijkheden behoort. Om dat mogelijk te maken, kan niet alleen worden volstaan met een goede reiniging van het teeltsysteem, maar moet ook een 100% effectief werkende ontsmetter worden gebruikt voor het ontsmetten van drainwater en zonodig het regenwater, aaltjesvrij plantmateriaal worden aangekocht en de nodige hygiëne tijdens de teelt worden betracht.

Het aspect van aangetast plantmateriaal als bron via welke aaltjes het bedrijf kunnen binnenkomen, is niet in dit onderzoek opgenomen, maar komt in 2004 in een ander project aan de orde. Hierin wordt nagegaan welke maatregelen er op de vermeerderingsbedrijven worden genomen om te voorkomen dat het plantmateriaal in de vorm van stek en stentlingen door aaltjes wordt aangetast.

5 Hygiëneprotocol

Hieronder zijn een aantal maatregelen opgesomd die in acht genomen moeten worden om 1) aantasting te voorkomen, 2) verspreiding op het eigen bedrijf tegen te gaan en 3) een besmet teeltsysteem zodanig te reinigen dat de volgende teelt aaltjesvrij kan worden begonnen.

5.1 Maatregelen om aantasting te voorkomen

- Dek de grond af met gronddoek.
- Start met schone leidingen en goten.
- Plant ziektevrij uitgangsmateriaal (alleen stek en stentlingen).
- Voorkom aanraking van leidingen en druppelaars met de grond of met plekken op het gronddoek waar het tijdens de vorige teelt lekte.
- Waterbassin afdekken.
- Indien mogelijk bassinwater ontsmetten.
- Gebruik geen oppervlaktewater zonder dit te ontsmetten.
- Zie ook onder 5.3.

5.2 Maatregelen om verspreiding te voorkomen

- Regelmatig bemonsteren van bassin- en drainwater om een beginnende aantasting zo snel mogelijk op te sporen, waardoor er tijdig maatregelen kunnen worden genomen om verspreiding over het hele bedrijf te voorkomen.
- Gebruik een goed werkende ontsmetter (verhitter, UV) om opgevangen drainwater te desinfecteren.
- Bij ontsmetting met UV: houd de transmissiewaarde van het te ontsmetten water in de gaten. Bij een te lage transmissiewaarde werkt het apparaat niet goed.
- Komt er bij storing van de ontsmetter niet-ontsmet water met plantenparasitaire wortelaaltjes in de schoonwatersilo terecht, dan moet de silo worden gereinigd.
- Handen na aanraking van besmette onderdelen van het teeltsysteem, zoals wortels, substraat, goten en drainwater, goed wassen met warm water en zeep en daarna afdrogen. Reinig ook de nagels.
- Ontsmet (bemonsterings-)gereedschap dat besmet is met wortelresten, eitjes en/of aaltjes gedurende één minuut in water van tenminste 60°C.
- Voorkom lekkages van drainwater naar gronddoek en elk contact van leidingen etc. met eventuele lekplekken.

5.3 Maatregelen om een besmet teeltsysteem te reinigen

- Verwijder het aangetaste gewas, matten of ander substraat in bijvoorbeeld containers.
- Veeg de goten schoon om alle losse plantenresten en overig organisch vuil te verwijderen.
- Goten met water schoonboenen en naspoelen met water.
- Goten afgieten met 4% chloorbleekloog-oplossing (= 4 liter handelsproduct (15% chloor) per 100 liter water). Hoe langer het systeem nat blijft, hoe beter het effect.
- Goten na minimaal een uur goed afspoelen met schoon water om alle chloorresten te verwijderen.
- Goten laten drogen voor het leggen van een nieuwe mat of aanbrengen van een ander substraat.

- Aanvoer- en druppelleidingen gedurende 12 uur volzetten met genoemde chlooroplossing, daarna leidingen goed doorspoelen met schoon water.
- Worden de druppelaars opnieuw gebruikt, dompel deze dan tenminste één minuut in water van 60°C.
- Mogelijk moet ook de schoonwatersilo na de ontsmetter worden gereinigd. U kunt dit na-gaan door deze te laten bemonsteren.
- Alle mogelijke maatregelen nemen om verspreiding vanuit eventueel nog aangetaste afde-lingen te voorkomen.

Opmerkingen

- Voordat het teeltsysteem wordt gereinigd, moeten eerst alle andere schoonmaakwerk-zaamheden in de kas zijn uitgevoerd waardoor anders het schone teeltsysteem weer wordt verontreinigd.
- Ga na bij uw leverancier of uw goten en druppelsysteem chloorbestendig zijn.
- De gebruikte chlooroplossing mag niet in het riool terecht komen. Het kan over het grond-doek verspreid worden en aan de lucht drogen.
- Gebruik beschermende kleding overeenkomstig de gebruiksaanwijzing op de verpakking van chloorbleekloog.

Literatuur

- AMSING, J.J. en A. KERSSIES, 1991. Zetlingen en wortelenten bronnen van ziekteverwekkers: enquête *Phytophthora* bij rozen op substraat. *Vakblad voor de Bloemisterij* 7: 50-51.
- AMSING, J.J. en A. KERSSIES, 1992. Meer duidelijkheid over wortelrot – *Gnomonia* en *Phytophthora* in roos onderzocht. *Vakblad voor de Bloemisterij* 32: 26-29.
- AMSING, J.J. en W.Th. RUNIA, 2000. Verhitting en UV-straling fruikend voor aaltjes: manieren van waterontsmetting tegen aaltjes onderzocht. *Vakblad voor de Bloemisterij* 3: 46-47.
- AMSING, J.J. en C. ZIJLSTRA, 2003. Detectie van wortelaaltjes in water: exudaten, membraanfiltratie en zeeffiltratie. *PPO Rapport* 583.
- AMSING, J.J., M.A. DE JONGH en N. GARCÍA, 2004. Optimaliseren bemonsteren en extraheren van wortelaaltjes in substraatteelten roos. *PPO Rapport* (in druk).
- BEZOOIJEN J. VAN, 1999a. Oostenbrinktrechter. In: Methoden en technieken voor Nematologie. *Landbouwwuniversiteit, Vakgroep Nematologie, Wageningen, 125 pp.*
- BEZOOIJEN J. VAN, 1999b. Erlenmeyer- of (melk)flessenmethode. In: Methoden en technieken voor Nematologie, *Landbouwwuniversiteit, Vakgroep Nematologie, Wageningen, 125 pp.*
- CARROLL, J.J. and D.R. VIGLIERCHIO, 1981. On the transport of nematodes by the wind. *Journal of Nematology* 13 (4): 476-483.
- FAULKNER, L.R. and W.J. BOLANDER, 1966. Occurrence of large nematode populations in irrigation canals of South Central Washington. *Nematologica* 12: 591-600.
- FAULKNER, L.R. and W.J. BOLANDER, 1970a. Acquisition and distribution of nematodes in irrigation waterways of the Columbia Basin in Eastern Washington. *Journal of Nematology* 2: 362-367.
- FAULKNER, L.R. and W.J. BOLANDER, 1970b. Agriculturally-polluted irrigation water as a source of plant-parasitic nematode infestation. *Journal of Nematology* 2: 368-374.
- TOBAR, A. and F. PALACIOS, 1974. Nematode dispersal by irrigation water. *Simposio Internacional (XII) de Nematología, Sociedad Europea de Nematólogos, 1-7 Septiembre, 1974, Granada, Spain, 103-105.*
- TOBAR, A. and M. GALLARDO, 1974. An experimental study on the role of wind in the dispersal of some non cyst-forming nematodes. *Simposio Internacional (XII) de Nematología, Sociedad Europea de Nematólogos, 1-7 Septiembre, 1974, Granada, Spain, 102-103.*
- TOBAR, A. and M. GALLARDO, 1976. Evaluation of the role of wind in the dispersion of desiccation-susceptible plant-parasitic nematodes. *Revista-Iberica-de-Parasitología* 36(1-2): 89-130.

