

# HET AUGUSTA-ZIEK DER TULPEN EEN VIRUS-ZIEKTE VAN HET TABAKS-NECROSETYPE <sup>1)</sup>

*With a summary: „Augusta-ziek” of tulips, a virus disease of the tobacco-necrosis type*

DOOR

DR M. P. DE BRUYN OUBOTER en PROF. DR E. VAN SLOGTEREN  
(Laboratorium voor Bloembollenonderzoek te Lisse)

In April van het jaar 1928 ontvingen wij enige tulpenplanten voor onderzoek, welke oppervlakkig gezien de indruk maakten van zgn. stekers, sterk aangetast door *Botrytis tulipae*.

Bij nadere beschouwing bleek echter, dat de symptomen hiermee karakteristieke verschillen vertoonden. Zowel op de bladeren als op de stengels kwamen nl. necrotische strepen en vlekken voor (fig. 2 en 3), welke niet geleken op de aantasting veroorzaakt door *Botrytis tulipae*; zeer karakteristiek was voorts, dat bij sterk aangetaste planten de jonge bol in aanleg voor het volgend seizoen in meer of mindere mate bruine vlekken vertoonde en er zeer „mottig” uitzag (fig. 4 en 5).

Pogingen om een zwam of bacterie uit de zieke planten te isoleren gaven telkens weer een negatief resultaat en het was duidelijk, dat we met een nieuwe, althans voor ons nog onbekende ziekte te doen hadden.

De naam „nieuwe ziekte” was uit de aard der zaak slechts voor korte tijd bruikbaar en evenzo de naam: het verschijnsel van „Pieterse”, zijnde de naam van de kweker bij wie wij het verschijnsel het eerst waarnamen. Het eerste geval betrof slechts een klein aantal planten in een partij E.V.T. Brillant Star en de ziekte scheen niet van groot economisch belang.

In 1931 zagen wij echter de ziekte in zeer ernstige mate optreden in een partij E.V.T. Augusta, waarbij zij de oorzaak was van een volkomen misgewas (fig. 1).

Hier trad de ziekte op in een veld, dat nog slechts zeer kort voor bloembollen gebruikt werd en daar het wederom onmogelijk bleek een parasiet uit de zieke planten te isoleren, kregen wij de indruk met de een of andere gebrek-ziekte te doen te hebben. Tegen de opvatting, dat het een gebrek-ziekte zou zijn, pleitte echter het feit, dat wij in 1928 het eerste geval hadden gevonden in een zeer oude hyacinthentuin, alwaar, bij de toen daar nog steeds toegepaste zware bemesting met stalmest, moeilijk een „gebrek” was te verwachten.

Hier bleek ook reeds, dat bepaalde variëteiten meer vatbaar waren dan andere, daar op dit zeer sterk besmette veld de ziekte uitsluitend tot de E.V.T. Augusta was beperkt en andere variëteiten, hiernaast geplant, volkomen gezond schenen.

Al werd de ziekte hier en daar in andere tuinen sporadisch ook bij andere variëteiten gevonden, o.a. T.T. Korneforus, M.T. Delice, Darw. T. King Harold, T.T. Alberio, zo hebben wij de ziekte naar de eerste variëteit, waarin wij haar in ernstige mate zagen optreden, „Augusta-ziek” genoemd.

Herhaalde pogingen om de ziekte met de grond over te brengen, gaven slechts een negatief resultaat. De aarde van de zeer zwaar besmette akker met E.V.T.

<sup>1)</sup> Ontvangen voor publicatie September 1949.

Augusta werd overgebracht naar betonringen achter het laboratorium, maar daarin geplante tulpen van gevoelige variëteiten werden niet ziek.

Daar de aangetaste tulpen bijna steeds afsterven, geven zij geen nieuwe bollen; een sterk besmette partij, opnieuw opgeplant, geeft meestal een volkomen gezond gewas, al komt er soms zeer sporadisch nog een zieke plant in voor. Zo hebben wij van de Mendel Tulp Delice uit een zeer sterk aangetaste partij een volkomen gezonde partij opgekweekt, die wij vele jaren hebben aangehouden zonder dat wij hier ooit weer symptomen bij waarnamen.

Besmetting van tulpen-plant op tulpen-plant hebben wij in het vrije veld ook niet kunnen waarnemen. Dr BEYER stelde voorts in 1942 vast, dat van 1358 „omstanders” van zeer sterk zieke planten er slechts één was, die een zeer twijfelachtig ziektebeeld gaf.

Al kwam het verloop van de ziekte in geen enkel opzicht overeen met het verloop van de ons destijds bekende virus-ziekten, zo hebben Dr BEYER en Dr ALGERA door het ontbreken van enige zichtbare parasiet wel aan de mogelijkheid van de aanwezigheid van een virus-ziekte gedacht. Pogingen om de ziekte destijds over te brengen door middel van het perssap van zieke planten of door tussenkomst van bladluizen gaven echter negatieve resultaten.

Al scheen de ziekte met uitzondering van de zeer ernstige aantasting van de partij E.V.T. Augusta in 1931 niet van grote economische betekenis te zijn, toch werden in latere jaren de klachten steeds talrijker en in de laatste jaren van de oorlog en kort na de oorlog was dit aantal zó groot, dat we wel gedwongen waren hieraan meer aandacht te besteden.

Een opvallende eigenaardigheid van de ziekte is de gebondenheid aan de grond; zij komt nl. dikwijls zeer uitgesproken in plekken voor, die soms vrij groot kunnen zijn. Dit kan nader worden beschreven door het verloop van de ziekte op een akker, waar in 1939 de Triumph-tulp Alberio door Augusta-ziek was aangetast. Het voorgewas was hier aardappelen, welk gewas ons reeds meermalen als voorgewas bij het optreden van Augusta-ziek was gemeld. Nu werden tot nu toe zeer vaak aardappelen als voorgewas voor tulpen geplant, maar in dit geval bleek, dat in de vrij sterk besmette akker, de ziekte niet voorkwam op de plaats, waar het vorige jaar een rietschelf had gestaan en die dus vrij van aardappelen was geweest. De ergste aantasting werd verder juist gevonden op de plaats, waar de aardappelen waren gesorteerd en verwerkt.

Het jaar daarop, dus in 1940, werden op de akker hyacinthen geplant, daarna in 1941 weer aardappelen en voor 1942 wederom tulpen. Na het planten van de tulpen werd al het aardappelloof van de gehele akker als dekmateriaal op twee bedden met tulpen opgehoopt. In het voorjaar 1942 bleken de tulpen wederom zwaar ziek te zijn geworden en wel vooral op de plek, die drie jaar te voren ook sterk besmet was gebleken, zomede op de bedden waarop het aardappelloof was opgehoopt geworden. De plek, waar de rietschelf had gestaan, was weer vrij van besmetting.

In een ander geval kon worden vastgesteld, dat de aantasting sterk was op de plaats, waar een aardappelkuil was geweest. Een poging om door het opeenhopen van normaal aardappelloof in een beton-ring achter het laboratorium de ziekteverschijnselen te voorschijn te roepen, gaf wederom een negatief resultaat. Niet elk aardappelgewas geeft dus aanleiding tot de ziekte; dit was ook door de lange ervaring in de bloembollenstreek reeds voldoende gebleken. Er moest echter wel een bijzondere oorzaak zijn, die door de aardappelen werd overgebracht. Naast

aardappelen werden ons bovendien als voorgewas van Augusta-zieke tulpen spinazie en bonen gemeld.

Nu zijn in de laatste jaren, vooral in Engeland, virus-ziekten beschreven, waarbij de verspreiding niet langs de gewone weg door onderling contact van bladeren van zieke en gezonde planten of via luizen plaats vindt. De viren, die deze ziekten verwekken, bevinden zich in de grond en van hieruit worden de planten waarschijnlijk in de wortels geïnfecteerd.

Tot deze groep behoren meerdere onderling verschillende viren, welke worden samengevat onder de naam tabaks-necrose viren (zie: SMITH and BALD (1); BAWDEN and PIRIE (2) en KASSANIS (3)).

KASSANIS beschrijft het verschijnsel als een ziekte van geforceerde tulpen; hij nam het alleen in kassen waar en vermeldt geen aantasting van de jonge bollen.

Eigenaardig is, dat de tabaks-necrose viren in Engeland steeds in kassen en niet er buiten zijn waargenomen. Ze geven o.m. ziekteverschijnselen op de onderste bladeren van de tabaksplant. Deze bladeren hebben de infectie kennelijk vanuit de grond opgedaan; vooral de toppen die de grond raken, vertonen necrotische plekken, die zich voortzetten door de nerven, welke ook necrotisch worden. Het virus beweegt zich in de plant alleen naar beneden en niet naar boven. De plant groeit dan ook schijnbaar gezond door; aan de hoger gelegen bladeren is niets te bespeuren en hierin bevindt zich ook geen virus. De wortels zien er weliswaar normaal uit, maar hierin is wel virus aanwezig. Dat dit zo is, heeft men op de volgende wijze kunnen vaststellen:

Hoewel de tabaks-necrose viren zich niet door de loofbladeren heen verspreiden, ontstaan toch op tabak- en bonenbladeren, welke men insmeert met een vloeistof, waarin zich tabaks-necrose virus bevindt, plaatselijke ontstekingen, zgn. locale lesies. Deze lesies, die zich reeds  $\pm 72$  uur na behandeling vertonen, worden weliswaar na enige dagen iets groter, maar toch beweegt het virus zich in de meeste gevallen niet verder door de plant. De geïnfecteerde bladeren sterven af en de plant groeit gewoon weer verder.

Door middel van deze lesies kan men de aanwezigheid van tabaks-necrose viren vaststellen (fig. 7 en 8).

Behalve bij de tabaksplant komen de tabaks-necrose viren ook nog bij andere planten voor, b.v. in de wortels van bonen, tomaten, spinazie, e.a., ook weer zonder verschijnselen op het loof te veroorzaken; ze bevinden zich alleen in de wortels. Wrijft men echter de bladeren met het wortelsap in, dan vertonen deze spoedig de locale lesies.

Dat de verschijnselen van de tabaks-necrose door meerdere viren veroorzaakt worden, weet men doordat deze viren serologisch niet met elkaar reageren. Verder blijkt dit ook nog uit electronen-microscopische foto's.

Het is nu gebleken, dat ook het Augusta-ziek door deze grondviren wordt veroorzaakt. Als verwekkers konden reeds minstens drie verschillende viren worden vastgesteld; mogelijk zijn er nog meer!

Wrijft men bonen- of tabaksbladeren in met perssap uit bladeren, bollen of wortels van Augusta-zieke tulpen, dan gaan zij de karakteristieke lesies van de tabaks-necrose vertonen. Behandelt men gezonde tulpen met sap van deze necrotische tabaksbladeren, dan gaan ze de karakteristieke verschijnselen van het Augusta-ziek vertonen. Het beste resultaat krijgt men, indien men neusjes van



Fig. 1

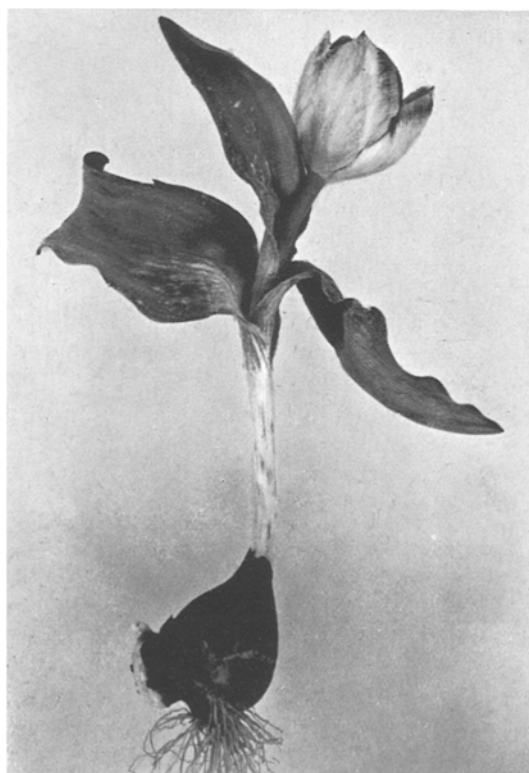


Fig. 2

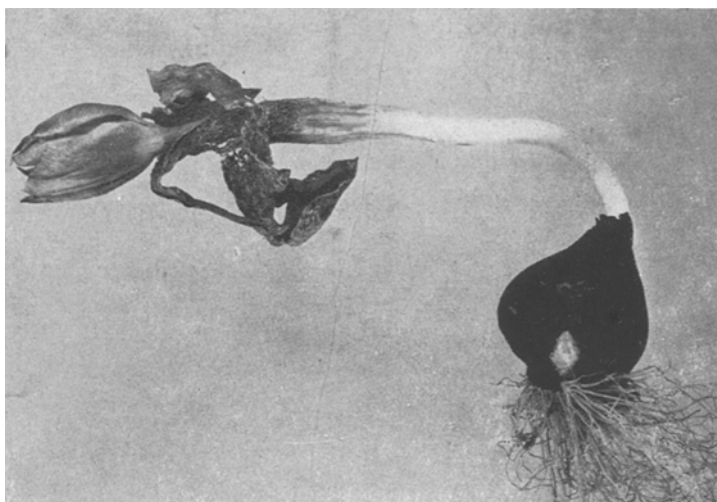


Fig. 3

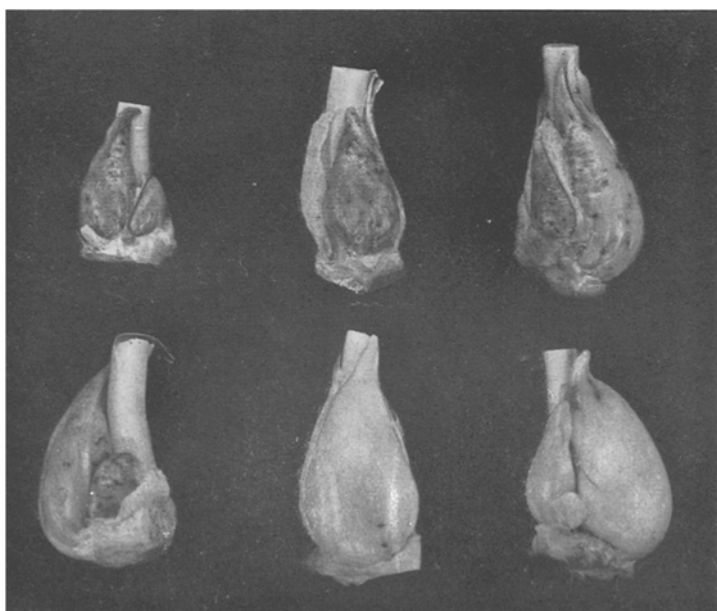


Fig. 4

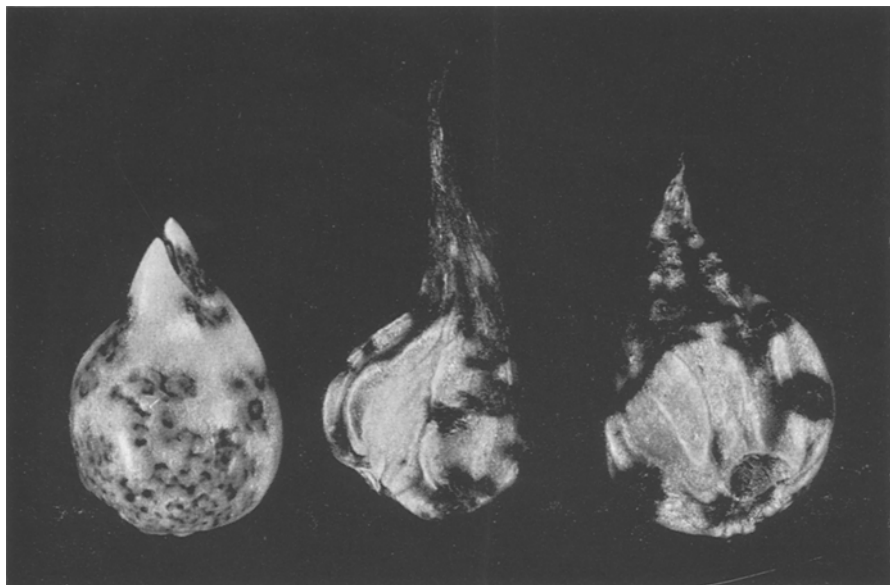


Fig. 5

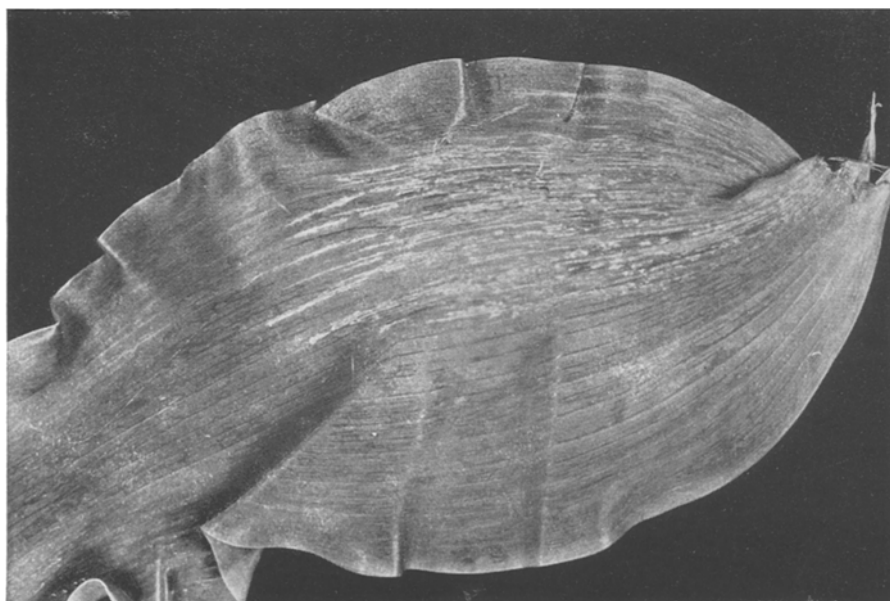


Fig. 6

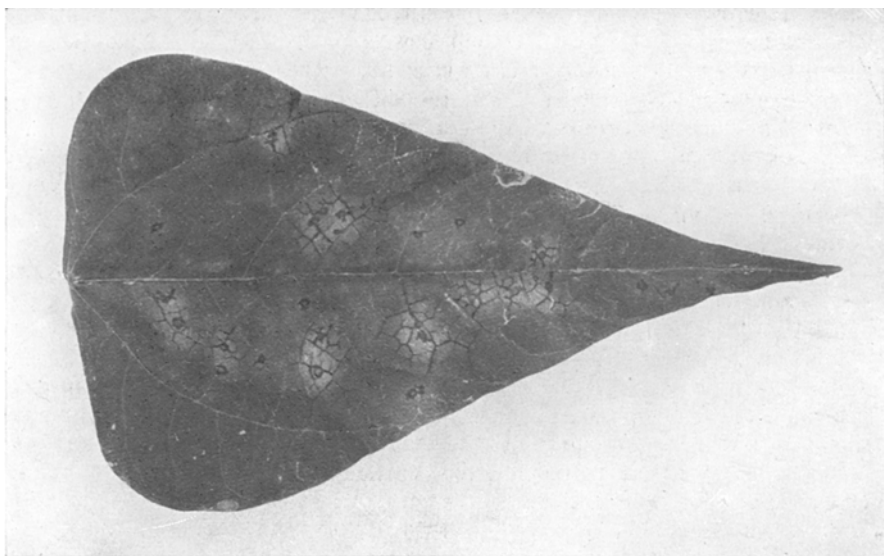


Fig. 7

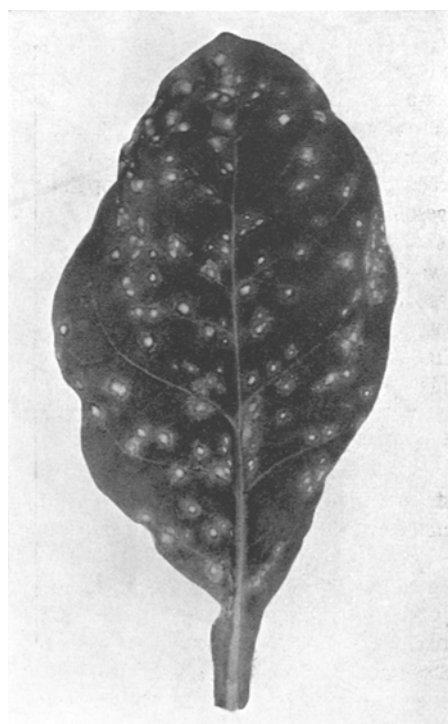


Fig. 8

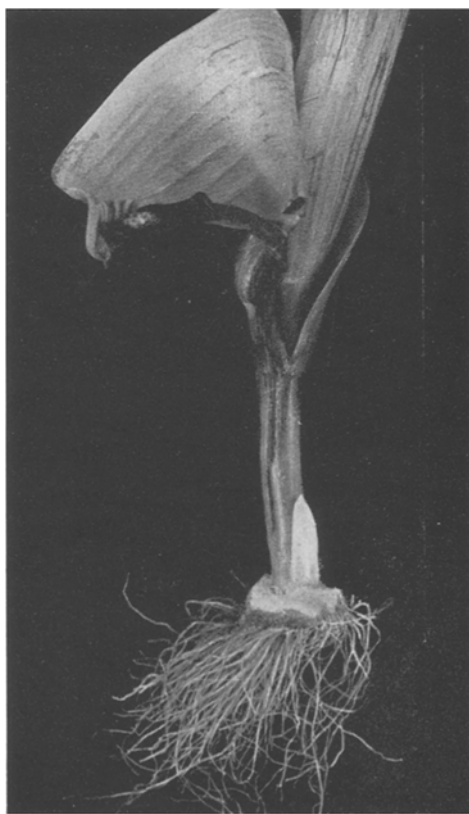


Fig. 9

nog niet geplante tulpen met het sap inwrijft, of neusjes, die juist boven de grond komen en tot die tijd in het donker zijn geweest. Infecteert men wat later, dan bepalen de symptomen zich tot witte, later necrotische strepen, die van de geïnfecteerde plek af naar beneden lopen; dus ook hier beweegt zich het virus, evenals dat bij andere planten was vastgesteld, in neergaande richting (fig. 9).

Tulpen kunnen ook direct worden geïnfecteerd met perssap uit wortels of bladeren van Augusta-zieke tulpen.

Tegen een der viren, die het Augusta-ziek der tulpen veroorzaakt, werd in het laboratorium een antiserum gemaakt.

Aangezien de mogelijkheid bestaat, dat meerdere viren tegelijk bij de aantasting een rol spelen, werden extra voorzorgen genomen om te voorkomen, dat het serum tegen meer dan één virus werd gemaakt.

Van de zieke tulp werd  $\pm 100 \times$  verdund perssap op gezonde tabak gewreven. Er ontstonden weinige, ver uit elkaar liggende lesies. Met één enkele van deze lesies werd een volgende tabaksplant geïnfecteerd. Van de op deze plant ontstane lesies werd weer met één enkele lesie een tabaksplant geïnfecteerd en dit proces werd enige malen herhaald. Indien er dus een mengsel van viren aanwezig is, kan men op deze wijze een enkel virus isoleren. Er werden zo zeven verschillende stammen geïsoleerd en verder op tabak voortgekweekt. Tegen twee van deze werd een antiserum bereid; alle zeven stammen reageerden met deze twee antisera, die dus beide tegen hetzelfde virus gemaakt zijn, terwijl men hieruit verder kan concluderen, dat al deze zeven stammen één virus vertegenwoordigen.

Van verschillende kanten kregen wij echter monsters Augusta-zieke tulpen toegezonden, die niet met ons serum reageren. Hieruit blijkt dus, dat meerdere verschillende viren het Augusta-ziek kunnen veroorzaken.

Nu eenmaal is vastgesteld, dat het Augusta-ziek door een grondvirus wordt veroorzaakt, zijn veel van de eigenaardigheden in het voorkomen van deze ziekte ons duidelijk geworden, b.v. de pleksgewijze aantasting en de rol die het gewas speelt. Uit het in de aanvang beschreven geval blijkt, dat de aardappelen, die van te voren op de tulpenakker hadden gestaan, tabaks-necrose-virus hebben bevat. Inderdaad is het ook gelukt een van deze viren uit aardappelwortels te isoleren. Hiermee is echter niet gezegd, dat wortels van aardappelen, bonen, etc. altijd tabaks-necrose-viren bevatten. De aanwezigheid der viren is niet te zien, doch alleen vast te stellen door een inoculatieproef of een serologische reactie, indien tenminste het virus in aantoonbare hoeveelheid aanwezig is.

In een pot met aarde, waarin tulpen hadden gestaan, die met Augusta-ziek besmet waren, werd direct na het rooien van de tulpen tabak geplant. Ongeveer 4 maanden later bleken de wortels van deze tabaksplanten tabaks-necrose-virus te bevatten.

Er is thans enig licht gekomen in de duisternis betreffende de oorzaak van het Augusta-ziek en we hopen hierdoor richtlijnen voor de bestrijding van deze ziekte te vinden.

Het staat vast, dat deze grondviren een nog al taai leven hebben en in bepaalde gevallen lang in de grond kunnen achterblijven.

Het veelvuldig telen van tabak en aardappelen in de oorlogsjaren kan de uitbreiding van de ziekte in de latere jaren althans gedeeltelijk verklaren. De tabaks-teelt is nu wel geheel uit onze bloembollencultuur verdwenen en de aardappelteelt staat ook al niet in een best blaadje.

In elk geval verdient het aanbeveling om op besmette grond geen gewassen te

telen als aardappels, tabak, bonen, spinazie en andere gewassen, die het virus in stand houden.

De taaiheid van het virus maakt het zelfs niet zeker, dat we door delven de kwaal geheel zullen kwijtraken. We zullen in deze richting verder moeten experimenteren en nagaan, welke omstandigheden het optreden van de ziekte in de hand werken en welke ze remmen. Dit jaar waren er reeds zeer veel minder klachten over Augusta-ziek dan wij in de laatste jaren gewend waren. Het is mogelijk, dat een doeltreffende teeltwisseling reeds iets ten goede heeft uitgewerkt, maar het is niet uitgesloten, dat ook andere factoren, die wij nog niet kennen, hierbij een rol hebben gespeeld. Al is het probleem dus nog niet opgelost, wij hebben een basis voor het verdere onderzoek.

#### SUMMARY

Since 1928 we have found sporadic outbreaks of a new disease in tulips that only in one case seemed to be of economic importance.

At first a parasite could not be found till the descriptions of tobacco-necrosis virusdiseases lead us to the cause of the disease.

During the war the culture of potatoes and tobacco in the bulb district increased and also the complaints about the disease became more frequent than before. Since the last years, however, possibly by the stopping of the tobacco-culture and by less use of the potatoes as a rotation crop, the frequency of the complaints has been considerably decreased.

In Holland the disease got the name: Augusta-ziek, by the fact that the first great outbreak of this disease concerned a stock of E.V.T. Augusta.

#### LITERATUUR

1. SMITH, KENNETH, M., and BALD, J. G., A description of a necrotic virus-disease affecting tobacco and other plants. *Parasitology* 27: 231, 1935.
2. BAWDEN, F. C., and PIRIE, N. W., Further studies on the purification and properties of a virus causing tobacco necrosis. *Brit. J. Exp. Path.* 26: 277, 1945.
3. KASSANIS, B., A necrotic disease of forced tulips caused by tobacco necrosis viruses. *Ann. of Appl. Biology*, 36 (1), 1949.

#### Verklaring der afbeeldingen

##### *Explanation of figures*

- Fig. 1. Veld met sterk aangetaste partij van E.V.T. Augusta (18-5-1931)  
*Field with heavily infested party of E.V.T. Augusta (18-5-1931)*
- Fig. 2. E.V.T. Augusta met Augusta-ziek (30-4-1931)  
*E.V.T. Augusta with „Augusta-ziek” (30-4-1931)*
- Fig. 3. E.V.T. Augusta, ziek (30-4-1931)  
*E.V.T. Augusta, diseased (30-4-1931)*
- Fig. 4. E.V.T. Augusta, zieke jonge bollen (30-4-1931)  
*E.V.T. Augusta, diseased young bulbs (30-4-1931)*
- Fig. 5. T.T. Alberio: jonge bollen met aantasting door Augusta-ziek (27-5-1937)  
*T.T. Alberio: young bulbs infested by „Augusta-ziek” (27-5-1937)*
- Fig. 6. Dwt. Red Master, lichte aantasting van het onderste blad door Augusta-ziek (6-5-1942)  
*Dwt. Red Master, slight infection of lowest leaf by „Augusta-ziek” (6-5-1942)*

- Fig. 7. Blad van *Phaseolus vulgaris* besmet met sap van Augusta-zieke tulpen (Mei 1948)  
*Leaf of Phaseolus vulgaris, inoculated with sap of tulips diseased with „Augusta-ziek” (May 1948)*
- Fig. 8. Tabak met symptomen van tabaknecrose afkomstig uit Augusta-zieke tulpen (22-8-1949)  
*Tobacco with tobacco-necrosis from tulips diseased with „Augusta-ziek” (22-8-1949)*
- Fig. 9. T.T. Korneforus: geïnfecteerd 4-10-1948 met tabaksnecrose uit Augusta-zieke tulpen Pride of Haarlem (27-1-1949)  
*T.T. Korneforus: inoculated 4-10-1948 with tobacco necrosis from tulips, Pride of Haarlem, diseased with „Augusta-ziek” (27-1-1949)*