

RATELVIRUS ALS OORZAAK VAN ZIEKTEN
IN BLOEMBOLGEWASSEN EN DE MOGELIJKHEDEN
DE INFECTIE DOOR MIDDEL VAN GRONDONTSMETTING
TE BESTRIJDEN¹

*With a summary: Rattle virus as the cause of diseases in flower bulbs
and the possibilities of controlling infection by means of soil disinfectants*

DOOR

D. H. M. VAN SLOGTEREN

Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse

INLEIDING

Het voorkomen van ratelvirus in Nederland werd door QUANJER (1943) het eerst aangetoond. Hij vond het virus in tabak en bewees, dat de besmetting van de grond uitgaat. ROZENDAAL & VAN DER WANT (1948) toonden aan, dat het ratelvirus bij aardappel stengelbont teweegbrengt en voerden inoculatie-proeven op tabak en aardappel uit. NOORDAM (1956) bestudeerde het voorkomen van ratelvirus in de wortels van verscheiden soorten van onkruiden, die hij in het veld had verzameld. USCHDRAWIT & VALENTIN (1956) isoleerden het virus uit verschillende siergewassen, die in de praktijk waren gekweekt. SCHMELZER (1957) vermeldde, dat zeer veel plantesoorten, behorende tot een groot aantal families, met behulp van sap met het ratelvirus kunnen worden besmet. CADMAN (1958) beschreef een ziekte in aardappel in Schotland, waarschijnlijk veroorzaakt door hetzelfde virus.

Door VAN SLOGTEREN & DE BRUYN OUBOTER (1941) werd melding gemaakt van het voorkomen van donkere strepen op de bloemen van verschillende tulpevariëteiten, o.a. Zenith, Wildfire en Heraut. Deze verschijnselen vertoonden enige overeenkomst met z.g. donkere breking, teweeggebracht door bepaalde stammen van het virus der gebroken tulpen. De waarneming dat de breking tot smalle streepjes beperkt bleef en het feit dat het onmogelijk was de ziekte kunstmatig op tulp over te brengen, waren echter aanleiding om deze „verdachte verschijnselen” aan een onbekende oorzaak toe te schrijven. Bij nader onderzoek, dat door DE BRUYN OUBOTER begonnen werd en door schrijver dezes voortgezet, bleek dat tabak, geïnoculeerd met het perssap van dergelijke tulpen, binnen drie dagen reageerde met typische symptomen van de ratelziekte. Inmiddels heeft de naam ratel voor de ziekte in tulpen algemeen ingang in de praktijk gevonden.

Veel langer bekend is een ziekte in de hyacintecultuur, die vanouds de naam malaria draagt en die op pas in cultuur gebrachte grond voorkwam. In recente tijd werd gevonden, dat tabak, geïnoculeerd met sap van malariazieke hyacinten, ratelsymptomen gaat vertonen. Gedurende de laatste jaren is gebleken, dat sommige incidenteel optredende mozaïekverschijnselen in andere gewassen eveneens door het ratelvirus worden veroorzaakt. Het gaat hier om *Allium moli*, *Ornithogalum thyrsoides*, *Scilla campanulata* en sommige variëteiten van *Crocus*-, *Narcissus*- en *Eremurus*-soorten.

¹ Aangenomen voor publikatie 3 september 1958.

In dit artikel zullen de ziekteverschijnselen bij deze gewassen, die het gevolg zijn van infectie met ratelvirus, worden beschreven. Voorts zal worden medegedeeld hoe de aanwezigheid van dit virus in de betrokken planten werd aangetoond en op welke gronden de identiteit van het virus werd vastgesteld. Ook wordt melding gemaakt van veld- en potproeven, waarin werd geprobeerd het ratelvirus respectievelijk op natuurlijke wijze en kunstmatig op tulpen over te brengen. Ten slotte zullen de proeven aangaande grondontsmetting met chemische middelen ter sprake komen.

BESCHRIJVING VAN HET ZIEKTEBEELD OP DE VERSCHILLENDE GEWASSEN

Tulp. Op het bloemdek van roze en rode variëteiten (Zenith, Imperator) komen intens rode strepen voor (fig. 1 en 2); bij donkerrode variëteiten (Brilliant Star, *Tulipa fosteriana* var. Red Emperor (syn. Madame Lefebvre), *Tulipa eichleri*) zijn de strepen bij opvallend licht bijna zwart. Witte tulpen (var. White Sail, var. Pax) vertonen glazig doorschijnende strepen van dezelfde vorm. Op de bladeren ziet men bij doorvallend licht doorschijnende, bij opvallend licht geelgroene streep- of ruitvormige figuurtjes, soms tot evenwijdig met de nerven verlopende snoeren verenigd. Bij primaire aantasting komen zij doorgaans uitsluitend voor aan de bladbasis, bij secundair zieke planten zijn zij wat verder over de bladoppervlakte verspreid (fig. 1 en 2). De variëteit Brilliant Star heeft bij primaire aantasting uitsluitend donkere streepjes op de bloemen (fig. 3). In de volgende generatie kunnen ook min of meer duidelijke bladsymptomen voorkomen. Als gevolg van besmetting treden dikwijls groeiremmingen op, kenbaar aan de gedrongen groeiwijze en verkorte bloemsteel. Bij het broeien van besmette bollen worden bloemen van veel mindere kwaliteit geproduceerd (fig. 4).

Bij de variëteit Brilliant Star komen op een bol naast de hoofdbloem soms een aantal kleinere bloemen voor. Bij primaire besmetting zijn het dikwijls deze bijbloemen welke donkere strepen vertonen, terwijl de hoofdbloem zonder symptomen is. Indien van zulke planten de nieuwgevormde bollen het volgende seizoen worden geplant, ziet men meestal dat slechts een gedeelte hiervan met ratelvirus is besmet.

Hyacint. Op de bladeren komen lichtgroene tot gele, ruitvormige figuren voor, dikwijls in snoeren verenigd tot evenwijdig met de nerven verlopende strepen (fig. 5), welke soms door necrose in een bruine kleur overgaan. Inwendig op de bolrokken kunnen donkerbruine vlekjes voorkomen, die beperkt zijn tot de dikte van één rok en zich niet voortzetten op de aangrenzende rokken. Bij afpellen van de afzonderlijke rokken ziet men bij doorvallend licht primair glazige ellipsvormige vlekjes, welke in een later stadium bruin worden door necrose.

Scilla campanulata en *Ornithogalum thyrsoides*. Het ziektebeeld komt sterk overeen met dat op hyacint.

Allium moli en *Eremurus* spec. (fig. 6 en 7). Op de bladeren gele, ruitvormige figuurtjes.

Narcis. Gele vlekjes, vooral aan de bladbasis en op de stengel.

Crocus. Gele, ruitvormige, ringvormige en boogvormige figuurtjes op de bladeren.

Voorkomen van de ziekte in het veld

In het voorjaar van 1956 troffen wij op een akker, beplant met verschillende tulpevariëteiten, een zeer duidelijk geval van pleksgewijze aantasting aan over een lengte van 25 naast elkaar gelegen bedden van een akker, die beplant was met de variëteiten White Sail en Pax. Op een oppervlakte met een lengte van ongeveer 30 m was naar schatting de helft van het gewas in groei achtergebleven. De desbetreffende planten hadden niet normaal uitgegroeide bloemstelen. De grens tussen het zieke en het gezonde gedeelte van het gewas liep grillig zigzagsgewijs dwars door de bedden heen en was tijdens de bloei van de witte tulpen duidelijk zichtbaar, doordat de langere bloemstelen van het gezonde gewas tezamen als een groene band tegen de er naast groeiende, kortere, zieke tulpen afstaken (fig. 8). Op een ander gedeelte van de akker, die met *T. fo steriana* var. Red Emperor was beplant, viel de aantasting minder op, doordat deze tulp van nature al kortstellig is, doch aan de symptomen op de bladeren van deze planten kon worden vastgesteld dat ook hier besmetting was opgetreden. Dit geval bevestigde op frappante wijze de reeds in voorgaande jaren opgedane ervaring aangaande het pleksgewijs optreden van deze ziekte.

Een aanwijzing, dat de besmetting via de grond optreedt, leverde de waarneming dat er samenhang bestaat tussen de mate van aantasting en de plantdiepte van de bollen. Deze waarneming heeft betrekking op de resultaten van een veldproef, uitgevoerd op het zojuist genoemde veld. Hier werden 300 bollen van de variëteit White Sail op normale plantdiepte (ongeveer 10 cm), 150 bollen op 5 cm diepte en 150 bollen op 22 cm diepte geplant. Bij het rooien werd van elke plant een bol bewaard en in het najaar opnieuw geplant, waarna de partijtjes op ziekteverschijnselen werden beoordeeld. De verschillen in besmetting waren zeer duidelijk, nl. 36,2 % (5 cm plantdiepte), 46,1 % (10 cm plantdiepte) en 95,1 % (22 cm plantdiepte). De zeer diep geplante bollen zijn dus het sterkst besmet geraakt.

In overeenstemming met de sterkere besmetting op grotere plantdiepte is de waarneming uit de praktijk, dat zowel ratelziekte bij tulpen als malaria bij hyacint dikwijls optreedt op nieuw, vers gedolven land of op „spuitland”, waarbij de grond uit diepere lagen naar boven wordt gehaald.

Kunstmatige overdracht van het virus van plant op plant

Inoculatie van tabaksbladeren (White Burley) met sap uit planten met de beschreven symptomen, heeft binnen enkele dagen het ontstaan van de typische primaire verschijnselen van de ratelziekte tot gevolg, te weten ringvormige en soms ronde necrotische vlekken, die belangrijk groter in diameter zijn dan die welke door tabaksnecrosevirussen worden teweeggebracht. Deze overdracht van het ratelvirus uit de genoemde gewassen op tabak geschiedt bij niet te hoge temperatuur zonder enige moeite.

Spreadsymptomen op de geïnoculeerde tabaksplanten treden lang niet in alle gevallen op; meestal blijft het alleen bij verschijnselen op de geïnoculeerde bladeren. De spreadsymptomen bestaan uit donkerbruine, ingezonken plekken op stengels en hoofdnerfven, benevens fijne, necrotische, meestal lichtgrijs getinte figuurtjes op de bladeren, die na de inoculatie worden gevormd. In de genoemde bolgewassen komen dus stammen van het ratelvirus voor, die zich al dan niet in

tabak kunnen verspreiden. Deze onderscheiding werd door ROZENDAAL & VAN DER WANT (1948) reeds gemaakt voor isolaties van het virus uit aardappel.

Er werd op verschillende manieren getracht, het virus van tulp op tulp en van tabak op tulp over te brengen. In de kas werd perssap van ratelzieke tulpen (variëteiten Zenith en Heraut) uitgestreken op de bladeren van virusvrije tulpen (var. Zenith, Fridjoff Nansen en Red Emperor) met gebruik van carborundumpoeder, maar in geen enkel geval werd infectie tot stand gebracht. Andere proeven, die in het veld werden uitgevoerd leverden evenmin resultaat op. Hierbij werden tulpebollen geplant in grond, waaraan tevoren hetzij fijngemaakt, hetzij intact blad van ratelzieke tabak was toegevoegd. Ook werd sap van ratelzieke tabak in de neuzen van tulpebollen ingespoten, dan wel werden de neuzen met virushoudend sap en carborundumpoeder ingewreven of werden de wortelkransen der bollen op dezelfde wijze geïnoculeerd. Een deel der proeven werd op verschillende tijdstippen in het voorjaar herhaald, doch in geen enkel geval werden infecties tot stand gebracht.

Serologische en elektronenmicroscopische waarnemingen

Antisera¹ werden verkregen door konijnen in te spuiten met partieel gezuiverd virus van tabaksplanten, die door inoculatie met sap van ratelzieke tulpen besmet waren. Ook werd een werkzaam antiserum verkregen door een konijn in te spuiten met partieel gezuiverd virus uit ratelzieke tulpebladeren (*T. eichleri*, var. Excelsa).

Bij de zuivering gaat veel virus verloren, dat tegelijk met zwaardere bestanddelen uit het perssap neerslaat, indien men bij laag toerental centrifugeert. Daarom werd het sap kort gecentrifugeerd (10 min. bij 3000 t.p.m.), het sediment gesuspendeerd in 0,85 % NaCl-oplossing (in een kwart tot een half deel van het oorspronkelijk volume sap) en deze suspensie nogmaals gecentrifugeerd, waarna de beide bovenstaande vloeistoffen bijeen werden gevoegd. Hierna werd het virus met 30 % ammoniumsulfaat neergeslagen, afgecentrifugeerd, opgelost in een vijfde deel van het oorspronkelijk volume sap en gedialyseerd, waarna vast NaCl werd toegevoegd tot een concentratie van 0,85 %. Met deze geconcentreerde suspensies werden konijnen intraveneus ingespoten. Ongeveer 16 injecties waren nodig om sera met een bruikbare titer te verkrijgen. In plaats van het virus met $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ neer te slaan, werd het ook wel – na kort centrifugeren van het sap bij laag toerental – met de ultracentrifuge gesedimenteerd. Het neerslag werd dan in een fysiologische zoutoplossing tot een vijfde deel van het oorspronkelijke sapvolume gesuspendeerd.

De verkregen sera gaven positieve reacties met helder gecentrifugeerd perssap van ratelzieke tabak of tulp (precipitatiereactie). De titers van deze sera varieerden van 1/320 tot 1/640.

Drie jaar achtereen reageerden de tegen het virus uit ratelzieke tabak gemaakte sera duidelijk positief met sap van tabaksplanten (onverdund en in een reeks van verdunningen), besmet met dezelfde isolatie als die, waartegen het serum was gemaakt. Met tabaksplanten, besmet met andere isolaties van ratelvirus, waren de resultaten wisselvallig; met sap van stengelbonte aardappelplanten werden nooit resultaten bereikt. Hoewel eerst gedacht werd dat een te geringe concentratie van het virus in deze planten de oorzaak was, is er reden om te ver-

¹ De schrijver is dank verschuldigd aan Mej. N. P. DE VOS voor de uitvoering van de werkzaamheden bij het bereiden van de sera.

onderstellen, dat ook de antigene eigenschappen van de virusstammen onderling sterk verschillen. Uitgaande van verschillende isolaties zullen meer antisera moeten worden gemaakt om klaarheid te brengen in dit probleem.

In de door partiële zuivering verkregen preparaten en ook in gedialyseerde extracten van ratelzieke tulpen, hyacinten en crocussen werden met de elektronenmicroscopie de typische korte, dikke, staafvormige deeltjes waargenomen, in vorm en afmetingen geheel identiek met die, welke door VAN DER WANT & ROZENDAAL (1948) werden gevonden in ratelzieke tabak en stengelbontzieke aardappel.

Bespreking

Uit de voorgaande onderzoeken is gebleken, dat de beschreven ziekteverschijnselen bij de met name genoemde bolgewassen door het ratelvirus worden teweeggebracht. Hierop wijzen zowel de resultaten van de inoculatieproeven op tabak als de morfologische eigenschappen van het virus. De wisselvallige resultaten bij de vergelijking van verschillende isolaties van ratelvirus uit bolgewassen komen overeen met de ervaringen, die wij met andere isolaties van het virus verkregen en die ook door CADMAN (mondelinge mededeling, 1958) worden vermeld. Ook de besmetting van de planten, welke van de grond uitgaat, is kenmerkend voor dit virus.

Opvallend is, dat het wel gelukte het virus o.m. van tulp op tabak over te brengen, doch niet van tabak op tulp of van tulp op tulp. De besmetting van tulp kan blijkbaar niet worden verwezenlijkt door het ratelvirus op eenvoudige wijze bij of na het planten in nauw contact met de plant te brengen. Voor een natuurlijke infectie, die op bepaalde, besmette akkers plaats vindt, zijn dus blijkbaar geheel andere, thans nog onbekende factoren essentieel.

In dit verband kan een parallel worden getrokken met de ervaringen bij aardappel (ROZENDAAL & VAN DER WANT, 1948). Het gelukte nl. wel het ratelvirus van stengelbontzieke aardappelen op tabak over te brengen, doch de inoculatie van het virus op aardappel had slechts het optreden van lokale ziekteverschijnselen tot gevolg en er had in het geheel geen verspreiding van het virus in de plant plaats. Bij tulp komen zelfs na inoculatie met ratelvirus geen lokale verschijnselen tot ontwikkeling.

Zowel bij tulp als bij aardappel is de ziekte uitsluitend in de vegetatieve nakomelingschap terug te vinden als de ouderplanten op besmet terrein hebben gestaan en daar geïnfecteerd werden. Dat bij de aardappelplant het virus slechts in een deel van de geoogste knollen wordt teruggevonden, vindt eveneens zijn analogie bij de tulp. Zoals reeds bij de beschrijving van het ziektebeeld werd medegedeeld is ook hierbij soms slechts een deel van de nakomelingschap van een besmette moederbol ziek.

Al deze feiten duiden op een langzame verspreiding van het virus in de plant of op een belemmering van de verspreiding die mogelijk samenhangt met de fysiologische toestand van de plant in een bepaalde fase van haar ontwikkeling.

BESTRIJDINGSPROEVEN

Werkwijze en middelen

Op het hierboven genoemde terrein, waar de ratelziekte in het voorjaar van 1956 in sterke mate voorkwam, werd in het najaar van 1956 een veldproef uitge-

voerd. Als grondontsmettingsmiddelen werden chloorbroompropeen (C.B.P.)¹ en formaline toegepast, respectievelijk in een dosis van 1,25 l per bed (14 m²) en 3 l per bed. De middelen werden zeven weken voor het planten met een z.g. injector in de grond gebracht². Er werden vijf bedden met C.B.P. en vijf bedden met formaline behandeld, terwijl vijf bedden onbehandeld bleven. Zeven weken na de behandeling werden zes bedden met de tulpevariëteit White Sail en negen bedden met de tulpevariëteit Brilliant Star beplant, zodanig dat de behandelingen gelijkelijk over deze variëteiten verdeeld waren. Per bed werden telkens 600 bollen geplant.

Bovendien werd in 1956 een proef op kleinere schaal genomen dan de vorige waarin 2 l handelsformaline (40 % formaldehyde) verdund met 20 l water direct voor het planten in het plantbed werd gegoten. Als nevenobject waren in deze proef aanwezig: injectie met formaline zeven weken voor het planten toegepast (net zoals in de vorige proef) en onbehandeld. Het ging hier om 200 planten per behandeling per variëteit (White Sail en Brilliant Star).

In 1957 werd een proef genomen op een ander stuk van het bovengenoemde besmette terrein. In deze proef werd begieten van het plantbed met formaline (in dezelfde verdunning als zojuist genoemd) kort vóór het planten vergeleken met onbehandeld laten van de grond. De gebruikte tulpevariëteiten waren ook hier White Sail en Brilliant Star. In tabel 1 is de opzet van deze proef met de verdeling van de objecten en de gebruikte variëteiten af te lezen.

Van de in de proeven gebruikte partijen waren in onbesmette grond geplaatste controlemonsters vrij van ratelvirus.

TABEL 1. Invloed van een behandeling van de grond met formaline (direct voor het planten toegepast) op de aantasting van tulpen door ratelvirus. F = behandeld met formaline; 1 l handelsprodukt op 10 l water per half bed; C = onbehandeld.

Effect of a soil treatment with formaldehyde, applied directly before planting, on the infection of tulips with rattle virus. F = treated with formaldehyde; 1 l 40% commercial product diluted with 10 l water per half bed; C = untreated.

Variëteit Variety	Object	Mate van infectie * Rate of infection *	% ziek diseased	Object	Mate van infectie * Rate of infection *	% ziek diseased
Brilliant Star	F	0/420	0,0	C	11/430	2,6
White Sail	C	60/390	15,4	F	16/360	4,4
White Sail	F	6/390	1,5	C	53/420	12,6
Brilliant Star	C	19/300	6,3	F	0/300	0,0
White Sail	F	5/360	1,4	C	37/360	10,3
White Sail	C	37/390	9,5	F	12/420	2,8
Brilliant Star	F	2/300	0,7	C	39/300	13,0
White Sail	C	33/360	9,2	F	14/360	3,9
White Sail	F	4/360	1,1	C	61/360	16,9
Brilliant Star	C	39/300	13,0	F	4/300	1,3
White Sail	F	13/300	4,3	C	65/300	21,7
White Sail	C	97/300	32,3	F	8/300	2,7
Brilliant Star	F	7/300	2,3	C	51/300	17,0
White Sail	C	71/300	23,7	F	28/300	9,1
White Sail	F	59/360	16,4	C	157/330	47,6

* Aantal zieke planten op totaal aantal per half bed.

Number of diseased plants on total number per half bed.

¹ Dit middel is thans niet meer in de handel verkrijgbaar. ² De schrijver is Drs. A. F. G. SLOOTWEG dank verschuldigd voor advies en hulp bij het injecteren van deze middelen.

Resultaten

De gegevens verkregen uit de proef waarin C.B.P., respectievelijk formaline in de grond waren geïnjecteerd, zijn in het kort als volgt. De percentages zieke planten van de vatbare variëteit White Sail waren op de onbehandelde bedden respectievelijk 73,4 en 75,4, op de twee met C.B.P. behandelde bedden respectievelijk 24,5 en 24,4 en op de twee met formaline behandelde bedden respectievelijk 84,9 en 77,6. Voor de variëteit Brilliant Star waren de besmettingspercentages belangrijk geringer, nl. 12,7 (onbehandeld), 7,1 (C.B.P.) en 10,9 (formaline). Deze cijfers zijn gemiddelden van steeds drie bedden per object.

De in 1956 genomen veldproef, waarin een verdunde formalineoplossing direct vóór het planten in de bedden werd gegoten, leverde het volgende op: White Sail, onbehandeld 61,0 %, met formaline begoten 8,2 % en met formaline geïnjecteerd (zeven weken voor het planten) 64,5 % zieke planten; Brilliant Star, onbehandeld 5,5 %, met formaline begoten 0,5 % en met formaline geïnjecteerd 6,0 % zieke planten.

De gegevens, verkregen uit de in 1957 opgezette proef, zijn in tabel 1 samengevat. Hieruit blijkt, dat bij White Sail het gemiddelde percentage ratelzieke planten in de onbehandelde halve bedden 19,9 bedraagt tegen 4,8 in de met formaline behandelde halve bedden. Bij paarsgewijze vergelijking van de percentages aantasting van „behandeld” en „onbehandeld” op de bij elkaar behorende halve bedden, bedraagt het gemiddelde verschil in percentage besmetting $15,0 \pm 2,8$. Voor Brilliant Star zijn de desbetreffende cijfers: onbehandeld 10,4 % tegen behandeld 0,9 % zieke planten, overeenkomend met een gemiddeld verschil in percentage besmetting van $9,5 \pm 2,2$.

Uit deze drie veldproeven blijkt duidelijk, dat White Sail vatbaarder is dan Brilliant Star. De behandeling met C.B.P. heeft de infectiekans verminderd; hetzelfde geldt voor een behandeling met formaline, die direct voor het planten der bollen is toegepast. Daarentegen heeft de behandeling met formaline, die zeven weken voor het planten werd uitgevoerd, geen effect gehad.

Bespreking

Opvallend is het verschil in effect tussen toepassing van injectie met formaline, zeven weken voor het planten en het gieten van formaline in het plantbed vlak voor het planten. Alleen de behandeling direct voor het planten heeft nl. een vermindering van de infectie opgeleverd. Een verklaring van dit verschil kan niet met zekerheid worden gegeven, aangezien de wijze, waarop de formaline aan de grond werd toegevoegd niet dezelfde is en er bovendien een belangrijk verschil is in het tijdstip van toepassing ten opzichte van het planten. Zeker is het, dat bij het gieten van het middel in het plantbed vlak voor het planten de laag, waarin de wortels worden gevormd, volkomen met de formalineoplossing doordrenkt is. Het is denkbaar, dat bij de injectie een deel van de formaline in diepere lagen van de grond terecht is gekomen en daardoor de werking er van niet zo sterk in de plantlaag tot uiting kwam.

Met het middel C.B.P. blijkt enige desinfectie te zijn bereikt. Het effect hiervan is echter geringer dan van het gieten met een formalineoplossing vlak voor het planten. Uit andere ervaringen met C.B.P. verkregen is bekend, dat het resultaat van de hiermee uitgevoerde grondontsmetting mede afhankelijk is van de weersomstandigheden tijdens de periode na de toepassing. De behandeling met formaline kort voor het planten heeft in twee achtereenvolgende jaren gunstig

gewerkt. Nu C.B.P. niet meer in de handel is, is er aanleiding, de werking van formaline in nieuwe praktijkproeven verder na te gaan. Aangezien formaline, afhankelijk van het tijdstip van de wortelvorming, beschadiging van het wortelstelsel teweeg kan brengen, zullen wij in de toekomst andere bodemdesinfectantia op hun effect ten aanzien van de ratelziekte, niet alleen bij tulpen, maar ook bij andere bolgewassen dienen te bestuderen.

SLOTOPMERKINGEN

Bij de bestrijding van de ratelziekte in de tulpecultuur is het van betekenis het volgende te overwegen. De primaire besmetting van de planten geschiedt van de grond uit en men kan deze infectie tegengaan door de grond te ontsmetten, b.v. door toepassing van formaline vlak voor het planten.

In ten dele besmette partijen, die op onbesmette grond werden nageteeld, werd nimmer overgang van het virus van zieke op gezonde planten geconstateerd. Is een plant besmet, dan gaat het virus dus slechts over op haar vegetatieve nakomelingschap. De ervaring heeft geleerd, dat deze nakomelingschap in sommige gevallen slechts ten dele ziek is. De waarnemingen wijzen er op, dat er van variëteit tot variëteit met betrekking hiertoe verschillen bestaan. Bij Brilliant Star b.v. is het aantal gezonde planten, voortgekomen uit een primair zieke plant, steeds groter gebleken dan bij andere variëteiten. In dit opzicht is er een analogie met de overgang van het virus van een stengelbontzieke aardappelplant op haar nakomelingschap. Ook hier gaat het virus niet voor 100 % op de nateelt over (ROZENDAAL & VAN DER WANT, 1948).

Doordat de ratelzieke planten over het algemeen gemakkelijk kunnen worden herkend, houdt men na verwijdering van de zieke planten een gezonde partij over. Er moet dus in hoofdzaak voor worden gezorgd, dat gezonde partijen tulpen en andere bolgewassen niet op besmette grond worden geïnfecteerd.

De ervaring, dat er op een onbesmet perceel geen infectie uitgaat van een secundair zieke plant op gezonde individuen, die in haar omgeving groeien, is belangrijk. Zij zou er namelijk op kunnen wijzen, dat er in de besmette grond factoren aanwezig zijn, die voor de infectie essentieel zijn, doch die ontbreken bij een secundair zieke plant, groeiende op onbesmette grond. Deze factoren ontbreken blijkbaar ook, als men onbesmette grond mengt met virus, zoals het zich in kunstmatig besmette tabaksplanten bevindt, en in dit mengsel bollen plant; ook dan heeft immers geen besmetting plaats.

De resultaten van de veldproeven met formaline zouden zodanig kunnen worden geïnterpreteerd, dat bij tulp de infectie met ratelvirus slechts gedurende een korte, kritieke periode mogelijk is. Formaline, zeven weken voor het planten toegepast, bleek namelijk geen aanwijsbare werking meer te hebben, doch bij toepassing vlak voor het planten in de herfst was het effect er van zeer duidelijk. Gedurende het voorjaar is infectie blijkbaar niet meer mogelijk; de periode, waarin de besmetting kan optreden, valt dus wellicht samen met die van de wortelvorming.

Een verklaring voor deze feiten zou gevonden kunnen worden door aan te nemen, dat een vector van het ratelvirus zich in natuurlijk besmette grond bevindt. Zonder deze vector – een analoge situatie wordt beschreven door MCKINNEY et al. (1957) voor wheat mosaic en oat mosaic – zou het virus niet in de plant kunnen komen. In dit verband moet ook worden gewezen op het

negatieve resultaat van de inoculatieproeven, die er op waren gericht het ratelvirus met sap in tulp te brengen. Blijkbaar zijn in de praktijk de omstandigheden voor infectie gunstiger, o.m. door het mogelijk optreden van een vector die op verfijnder wijze dan de onderzoeker het virus in de tulp kan introduceren.

Met het oog op het bovenstaande is het de vraag of men langs kunstmatige weg alle waardplanten van het ratelvirus kan vinden, zoals door SCHMELZER (1957) is gedaan. Uit het hier beschreven werk met tulp volgt namelijk, dat een plantesoort, die onder natuurlijke omstandigheden vatbaar blijkt te zijn, kunstmatig niet geïnfecteerd kan worden.

Het is van grote betekenis, dat er methoden zijn om de aanwezigheid van het ratelvirus in de grond vast te stellen. Volgens NOORDAM (1956) kan het ratelvirus worden geïsoleerd uit de wortels van onkruiden, afkomstig van percelen waarvan bekend is dat er stengelbont of kringerigheid in aardappel op kan treden. Onkruiden (*Capsella bursa pastoris*, *Senecio vulgaris* en *Stellaria media*), verzameld op ons besmette proefveld, bleken ook ratelvirus in hun wortels te bevatten, zoals inoculaties op tabak uitwezen. Wortels van dezelfde onkruidsoorten, verzameld op onbesmet tulpeland, bleken geen ratelvirus te bevatten. Deze onkruiden, die op bijna alle plaatsen kunnen worden aangetroffen, geven de mogelijkheid de met ratelvirus besmette percelen op te sporen.

Een andere methode om het voorkomen van besmetting in de grond vast te stellen zou het planten van enkele regels van de voor ratelziekte zeer vatbare tulpevariëteit White Sail kunnen zijn. Voor dit doel moeten uiteraard bollen van virusvrije, gekeurde partijen worden gebruikt.

SAMENVATTING

Aangetoond werd, dat het ratelvirus de oorzaak is van bepaalde ziekteverschijnselen, die bij verschillende bolgewassen bekend zijn. Besmetting van tulpen kan worden tegengegaan door de bedden vlak voor het planten der bollen met een formalineoplossing (2 l handelsprodukt 40 %, verdund met 20 l water per bed van 14 m²) te behandelen. Injectie van grond met 3 l handelsprodukt 40 %, zeven weken voor het planten uitgevoerd, had echter geen effect. Wel werd een gunstig resultaat verkregen met injectie van de grond met chloorbroompropeen (C.B.P.) (1,25 l per bed van 14 m²), zeven weken voor het planten uitgevoerd. De bestrijding bestaat voorts uit het verwijderen van de zieke planten uit een partij.

Op grond van de resultaten van het hier beschreven onderzoek worden beschouwingen gewijd aan het mogelijk voorkomen van een vector van het ratelvirus in de grond, die essentieel is voor de infectie en aan het bestaan van een kritieke periode, waarin de besmetting plaats vindt en die mogelijk samenvalt met de periode van wortelvorming.

SUMMARY

Disease symptoms in tulips as described by VAN SLOGTEREN & DE BRUYN OUBOTER (1941) have been revealed to be caused by the rattle virus. Furthermore it could be demonstrated that the same virus causes a disease in hyacinth which has long been known to occur predominantly on newly cultivated sandy soils. In recent years this virus has been found in some species of the genera *Allium*, *Ornithogalum*, *Scilla*, *Crocus*, *Narcissus* and *Eremurus*.

The flowers of red tulip varieties (fig. 1, 2 and 3) exhibit dark stripes. In white varieties the stripes are transparent and of the same shape. In general infected plants may show stunting and decline (fig. 4). In the hyacinth and other plant species mentioned the leaf symptoms are somewhat similar to those in the tulip (fig. 5, 6 and 7). Moreover hyacinth often shows necrotic spots inside the bulb (fig. 5).

The disease may be confined to patches in the field in which a great proportion of the plants remain stunted and show primary symptoms (fig. 8). A significant proportion of healthy tulips, planted in the field where these observations had been made the previous year, became diseased in the next year.

It appeared that the rate of infection is affected by the depth of planting the bulbs. Lots of tulips planted at depths of 5 cm, 10 cm, and 22 cm showed 36.2 %, 46.1 % and 95.1 % infection respectively.

Inoculation of White Burley tobacco with sap of the plant species showing symptoms as described above, resulted in the development of symptoms typical for rattle disease. However, not all isolates were capable of moving systemically in tobacco as likewise found by ROZENDAAL & VAN DER WANT (1948) for strains isolated from stem mottle-diseased potatoes.

All attempts to infect healthy tulips by artificial means remained without results. These experiments consisted of rubbing leaves with sap from either rattle-diseased tulip or tobacco, field-planting tulip bulbs in soil to which either intact or mashed leaves of rattle-diseased tobacco had been added, injecting or rubbing virus-containing sap into young tulip sprouts when still inside the bulb and rubbing the rim of the bulb discs from which the roots will emerge.

Antisera were prepared by injecting rabbits with partially purified preparations from leaves of either rattle-diseased tulip or tobacco. They show titers varying between 1/320 and 1/640 against clarified sap of plants carrying the same isolates to which the preparation had taken place. With isolates collected in the field the results were irregular which indicates that virus strains exist with different degrees of serological relationships.

Electron micrographs of preparations made from rattle-diseased tulip, hyacinth and crocus revealed the presence of rod-shaped particles in size and shape similar to those described by VAN DER WANT & ROZENDAAL (1948).

Treating the soil of an infested field by spraying formaldehyde into the plant beds just before planting reduced the amount of infection considerably (table 1). The same effect had been found in a previous year when the treated beds yielded 8.2 % infection against 61.0 % in the untreated beds. Treatment with formaldehyde (3 l per 14 m²) applied by injection into the soil seven weeks before planting proved to be completely ineffective. Chlorobromopropene similarly applied to a rate of 1.25 l per 14 m² seven weeks before planting proved to be fairly effective.

As in the most successful experiment the formaldehyde was sprayed just into the layer of soil in which the bulbs had to be planted immediately afterwards, it is assumed that there may exist a critical period, in which the bulbs are susceptible to infection and that this coincides with the formation of the roots. The ineffectiveness of applying formaldehyde seven weeks before planting means that the infective principle is quickly restored. Yet, once the roots have been formed, no infection occurs during the whole following growing period of the bulbs. The existence of some kind of vector seems probable, the situation having similarity to the one described by MCKINNEY et al. (1957) for the soil-borne viruses

of wheat and oats. This assumption is supported by the failure of provoking infection in tulip by artificial means. However, when infected from the soil the tulip proves to become a natural host plant of the rattle virus. In view of this it is questionable whether it is possible to trace all host plants of this virus using sap inoculations as done by SCHMELZER (1957).

It is possible to establish the presence of rattle virus in the soil. According to NOORDAM (1956) this virus can be isolated from roots of weeds grown on soils where the occurrence of stem mottle or spraing in potato is known. The same proved to be true for roots of *Capsella bursa pastoris*, *Senecio vulgaris* and *Stellaria media*, collected from our experimental field infested with rattle virus. Roots of the just-mentioned weeds obtained from fields where the disease is unknown to occur did not contain this virus.

LITERATUUR

- CADMAN, C. H., - 1958. The ring necrosis virus of potato. Proc. 3rd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen, 1957: 168-172.
- McKINNEY, H. H., W. R. PADEN & B. KOEHLER, - 1957. Studies on chemical control and overseasoning of, and natural inoculation with, the soil-borne viruses of wheat and oats. Plant Dis. Rep. 41: 256-266.
- NOORDAM, D., - 1956. Waardplanten en toetsplanten van het ratelvirus van de tabak. T. Pl.ziekten 62: 219-225.
- QUANJER, H. M., - 1943. Bijdrage tot de kennis van de in Nederland voorkomende ziekten van tabak en tabaksteelt op kleigrond. T. Pl.ziekten 49: 37-51.
- ROZENDAAL, A. & J. P. H. VAN DER WANT, - 1948. Over de identiteit van het ratelvirus van tabak en het stengelbontvirus van de aardappel. T. Pl.ziekten 54: 113-133.
- SCHMELZER, K., - 1957. Untersuchungen über den Wirtspflanzenkreis des Tabakmauche-Virus. Phytopath. Z. 30: 281-314.
- SLOGTEREN, E. VAN & M. P. DE BRUYN OUBOTER, - 1941. Onderzoekingen over virusziekten in Bloembolgewassen. II. Tulpen. I. Meded. Landbouwhogeschool Wageningen, 45, Verh. 4, 54 pp.
- USCHDRAWITZ, H. A. & H. VALENTIN, - 1956. Das Tabakmauche-Virus an Zierpflanzen. Nachr.-Bl. dtsch. Pfl.-Sch.-D. (Braunschweig), 8: 132-133.
- WANT, J. P. H. VAN DER & A. ROZENDAAL, - 1948. Electronenmicroscopisch onderzoek van het virus dat de ratelziekte van de tabak en het stengelbont van de aardappel veroorzaakt. T. Pl.ziekten 4: 131-141.