

Mededelingenblad van de Koninklijke Nederlandse Plantenziektkundige Vereniging

Augustaziekte in tulpen: een intrigerende virusziekte

A.F.L.M. Derks, K.T.K. Pham, M.E.C. Lemmers, G.J. Blom-Barnhoorn, V.P. Bijman en C.C.M.M. Stijger

PPO-Bloembollen, Postbus 85, 2160 AB Lisse, Ineke.Stijger@wur.nl

Dit artikel hoort nog bij het themanummer over virussen, Gewasbescherming 37, nummer 5, september 2006

In de periode 2001-2003 nam het Augustaziek epidemische vormen aan. In sommige tulpenpartijen werd zelfs meer dan 70% zichtbaar ziek waargenomen. Maar net zo plotseling als de virusepidemie opkwam, zo snel verdween deze weer na 2003. Terugkijkend in de geschiedenis van de tulpen-teelt lijkt er een periodiciteit te zijn in de uitbraak van deze ziekte en wel met een interval van circa acht tot tien jaar. In 2002 werd er opnieuw onderzoek gestart bij PPO-bloembollen naar deze virusziekte met financiering door zowel het Productschap Tuinbouw (epidemiologische deel van de ziekte) als het Ministerie van LNV (detectiemethoden). In dit artikel wordt een overzicht gegeven van deze en eerdere onderzoeken.

Ziektebeeld en oorzaak

Augustaziekte werd in tulpen voor het eerst waargenomen in 1928, waarbij in eerste instantie gedacht werd aan een aantasting door *Botrytis tulipae*. Drie jaar later veroorzaakte de ziekte een volledig misgewas in de cultivar Augusta. Aan deze cultivar heeft de ziekte haar naam te danken.

Op de bladeren komen bij deze ziekte necrotische strepen en



vlekken voor. Bij een ernstige aantasting blijven de planten achter in groei, zijn misvormd en sterven vroegtijdig af, waardoor zij geen of vrijwel geen nieuwe bollen produceren. Dit is het oudst bekende beeld van Augustaziek, nu aangeduid met 'vroeg Augusta' vanwege symptoomvorming al kort na opkomst van het gewas.

Daarnaast is er een ziektebeeld waarbij de planten hun normale lengte bereiken en de necrotische vlekken en strepen pas op de bladeren zichtbaar worden tijdens of na de bloei. De planten sterven ook eerder af dan gezonde planten. Dit gematigder ziektebeeld wordt 'laat Augusta' genoemd en is naar voren gekomen nadat de tulpen-teelt zich voor een groot deel verplaatst heeft van zandgronden naar zware zavelgronden.

Behalve op de bladeren kunnen ook op de bloemen smalle strepen zichtbaar worden; in ernstige gevallen zijn de bloemen misvormd. Op de nieuwgevormde bollen kunnen glazige of bruine vlekken zichtbaar zijn, maar dit is zeker niet bij alle cultivars het geval.

In de oorlogsjaren werd het Augustaziek in tulpen steeds meer waargenomen en werd er voor het eerst intensief onderzoek aan gedaan (de Bruyn Ouboter en van Slogteren, 1949). Er werd vastgesteld dat de ziekte grondgebonden is, vaak



ARTIKEL

pleksgewijs optreedt en veroorzaakt wordt door tabaksnecrosevirus(sen).

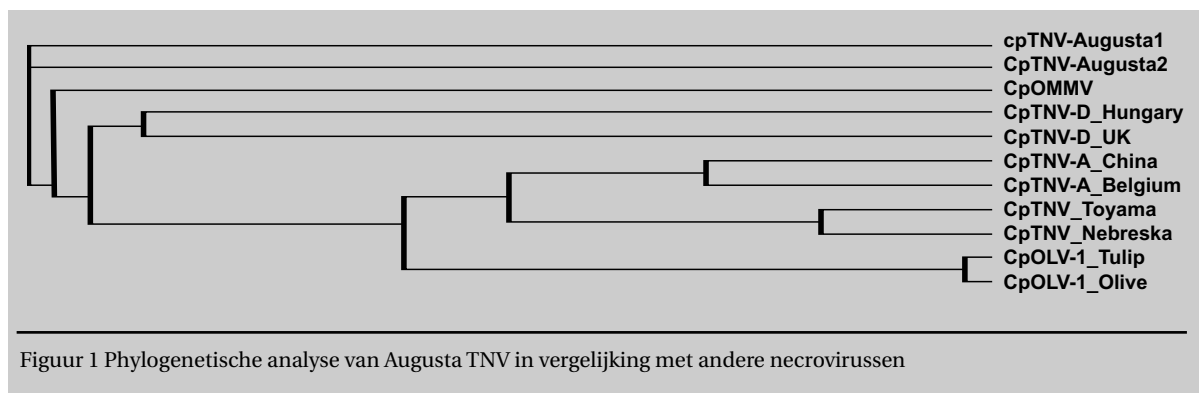
Identificatie en detectie

Op basis van serologisch onderzoek worden er twee typen van het tabaksnecrosevirus (TNV) onderscheiden, namelijk serotype A en D (Meulewater *et al.*, 1994). In Nederland

soleerd. Met moleculaire technieken zijn er dus tot nu toe drie necrovirussen geïdentificeerd in tulpen met Augustaziek.

Het TNV-D-antiserum (gemaakt tegen een virusisolaat uit Augustazieke tulpen) is goed te gebruiken bij de toetsing van tulpenbladeren met verdachte symptomen, dus voor identificatie doeleinden. Met dit antiserum zijn de tulpenbollen echter niet betrouw-

wand en flagel van de zwerm-sporen van *O. brassicae*. Direct na binnendringing van deze zwerm-sporen in de worteltoppen van een plant, komt het virus vrij en kan zich dan vermeerderen (Meulewater *et al.*, 1994). Binnen tien tot veertien dagen ontstaan bij vatbare tulpen-cultivars necrotische plekken op de wortels. Waarschijnlijk door deze necrotisering van de wortels kan de *Olpidium* zijn cyclus niet voltooien; zoösporangia en rustsporen



Figuur 1 Phylogenetische analyse van Augusta TNV in vergelijking met andere necrovirussen

komt in tulpen vrijwel alleen serotype D voor wanneer er met de twee typen antisera wordt getoetst.

Op grond van de mantelwit-sequenties zijn de verschillende isolaten uit tulp eerst gekarakteriseerd als TNV type D, maar na vergelijking met recent onderzoek (Cardoso *et al.*, 2005) blijken de nucleotidensequenties meer homologie te hebben met die van het *Olive mild mosaic virus* (OMMV; 98% homologie, figuur 1). Bij de bepaling van de basenvolgorde van een ander gen, het RNA-afhankelijk RNAPolymerasegen, blijken de onderzochte virusisolaten uit tulpen met Augustaziek zeer nauw verwant met OMMV en niet met TNV-D. Dit geldt voor drie verschillende virusherkomsten geïsoleerd over een periode van circa twintig jaar.

In Japan is in tulpen naast een TNV-isolaat (TNV-Toyama) ook *Olive latent virus 1* (OLV1) geï-

baar te toetsen, voor een deel door de ongelijke verdeling van het virus over bolbodem en bolrokken. Daarnaast zijn er cultivars waarin het virus niet of nauwelijks is aan te tonen in de bollen van zieke planten. Behalve dat de serologische boltoets het deels laat afweten is het nut van een boltoets om partijen te classificeren twijfelachtig omdat het virus maar voor een beperkt deel overgaat op de nieuwgevormde bollen.

Epidemiologie

TNV en OMMV (uit tulp) worden overgebracht in de grond door alleen de zwerm-sporen van de schimmel *Olpidium brassicae*. In de wortelzone van viruszieke planten komen virusdeeltjes vrij in het grondwater. Deze deeltjes hechten zich specifiek aan de buiten-

worden niet aangetroffen in deze wortels. In tulpen geteeld in het jaar na dergelijke Augustazieke tulpen is (vrijwel) nooit Augustaziek gevonden (van Slogteren en Visscher, 1967).

Bij later onderzoek in Japan werden echter wel zoösporangia en rustsporen aangetroffen in wortels van Augustazieke tulpen en werd virusoverdracht geconstateerd naar een volgteelt van tulpen (Nahata *et al.*, 1988). Bij menging van pelafval van tulpen, bestaande uit bolhuiden, kleine bolletjes en wortelresten, door gestoomde grond bleek ook in Nederland wel degelijk virusoverdracht van tulp naar tulp mogelijk vooral in het geval van zware zavelgrond. De verschillen tussen het eerdere en latere onderzoek zit in de grondsoort waarop de tulpen werden geteeld en in het ziektebeeld (vroeg vs. laat Augusta). *O. brassicae* komt in alle grond-

soorten voor tot op dertig centimeter diepte, maar in zandgronden minder frequent dan in zware zavelgronden.

In veel gevallen is een andere waardplant of combinatie van waardplanten (voor virus en vector) die tot een aantasting in tulpenpartijen leidt. Van zowel TNV als *O. brassicae* zijn veel waardplanten bekend. Diverse planten zijn waardplant voor zowel virus als vector. In het onderzoek in de oorlogsjaren kwamen vooral aardappel, boon en spinazie als risicovolle voorteelten naar voren (De Bruyn Ouboter en Van Slogteren, 1949).

Tegenwoordig komt Augustaziek vooral voor bij tulpen, die jaar na jaar geteeld worden op vers gescheurd grasland. In de wortels van de meeste grassoorten is geen *O. brassicae* waargenomen, wel in de wortels van kweek en straatgras en onkruiden in het grasland, zoals herderstasje, melkdistel, muur, klaver en kamille. Door het scheuren van het grasland komen er waarschijnlijk veel zwermssporen tegelijk vrij, waardoor in een nat najaar bij temperaturen rond 10°C (optimaal voor vrijkomen van en verspreiding van zwermssporen) na het planten van de bollen een flinke virusverspreiding mogelijk is. De eerste resulta-

ten met een voor *O. brassicae* ontwikkelde PCR-toetsmethode in grond wijzen op dat massaal vrijkomen van zwermssporen bij het scheuren van grasland.

Het optreden van Augustaziek in andere gebieden kan te maken hebben met partijen waarin het virus latent aanwezig is in combinatie met andere voorteelten. Als risicovolle voorteelten (naast de eerder genoemde) zijn onder andere te vermelden gerst, peen, Chinese kool en sla.

Vanwege het periodieke karakter van de ziekte is nagegaan of er een relatie is tussen jaren waarin het Augustaziek epidemische vormen aanneemt en de meteorologische gegevens van de maanden september tot en met november (het plantseizoen) van de daaraan voorafgaande jaren. Er kon echter met de gemiddelde weergegevens (temperatuur en neerslag) van het betreffende gebied geen directe relatie worden gelegd.

Om de heftigheid van de epidemie in de jaren rond 2000 te kunnen verklaren, is nagegaan welke grote veranderingen in de tulpenteelt de jaren daarvoor hadden plaats gevonden. De meest opvallende verande-

ring was in de broeierij, namelijk de overschakeling op waterbroei in plaats van teelt op potgrond. Daarbij komt dat de afgebroeide bollen vaak weer gebruikt worden als plantgoed en dan via waterbroei besmet kunnen zijn. Er was alle aanleiding toe om dit te onderzoeken omdat bij de teelt van freesia en sla in recirculatiesystemen een explosieve virusverspreiding kan plaats vinden bij besmetting van het recirculatie-water met *Olpidium*. In meerjarig onderzoek met zwaar besmette, Augustazieke partijen uit waterbroei en na teelt als plantgoed op *Olpidium*-vrije zandgrond werd geen Augustaziek geconstateerd. In de controle met broei op potgrond werd wel in beperkte mate Augustaziek waargenomen.

Symptoomexpressie

TNV en andere necrovirussen infecteren planten ondergronds. In veel gewassen, waaronder veel onkruiden, blijft het virus tot de wortels beperkt en worden er in het bovengrondse gewas geen symptomen gevormd. De tulp, maar bijv. ook boon, vormen daarop een uitzondering met (heftige) ziektebeelden boven-

ARTIKEL

Behandeling	Cultivar	Vroeg planten (1-10-02)	Laat planten (11-11-02)	Grondsoort	Pelafval	Percentage zieke planten
1	Angelique	+		zware grond	-	92
2	Angelique	+		zandgrond	-	12
3	Inzell	+		zware grond	-	88
4	Inzell	+		zandgrond	-	21
5	Angelique		+	zware grond	-	3
6	Angelique		+	zandgrond	-	0
7	Inzell		+	zware grond	-	2
8	Inzell		+	zandgrond	-	0
9	controle	Angelique	+	zware grond gestoomd	-	0
10	controle	Inzell	+	zware grond gestoomd	-	11

Tabel 1 Percentage planten met Augustaziek aantasting; cultivar Angelique en Inzell

gronds (Meulewater *et al.*, 1994). Toch komt het ook in tulpen frequent voor dat het virus beperkt blijft tot wortels en bol (Van Slogteren en Visscher, 1967; Nahata *et al.*, 1988). De latente bolinfecties kunnen in een volgend jaar, wanneer de omstandigheden voor expressie gunstiger zijn, voor problemen zorgen in een oorspronkelijk gezond ogende partij.

Vroeg planten, begin oktober, leidt bij vatbare cultivars tot het 'vroeg Augusta'. Bij laat planten, in november, komt dit beeld vrijwel niet voor, en ontwikkelt zich vooral na milde winters met weinig vorst het 'laat Augusta' op de zware zavelgronden, maar (vrijwel) niet op zandgronden. Bij droog weer in mei blijft symptoomvorming vaak achterwege (Asjes, 1994). Het vroeg of laat planten geeft geen verschil in symptoomvorming te zien bij secundair ziek materiaal.

Bij doorteelt van Augustazieke partijen op zandgrond neemt het ziektepercentage aanmerkelijk af en bij teelt op zware zavelgrond juist toe. Deze toename wordt voor een deel veroorzaakt door virusverspreiding, want bij doorteelt op gestoomde zavelgrond (waarvoor *Olpidium* wordt gedood) vindt er ook een afname in ziektepercentage plaats, hoewel niet zo sterk als op zandgrond (tabel 1). De afname van zichtbaar Augusta in een partij bij doorteelt is ook sterk cultivarafhankelijk.

Symptomen worden in tulpen meer waargenomen op gronden of plekken met een slechte structuur en waarop regenwater langer blijft staan. Zulke plekken ontstaan bijv. door het aantrappen van een plek door koeien (voormalig grasland) of het keren met een tractor.

Tussen cultivars zijn er verschillen in vatbaarheid. Vatbare cultivars behoren o.a. tot de Triumph-tulpen en Darwinhybriden en weinig vatbare zijn te vinden bij bijv. vroege en Mendel-tulpen. Tijdens de epidemie rond het jaar 2000 waren cultivarverschillen minder goed zichtbaar door de heftigheid van de epidemie. Sommige, als weinig vatbaar bekend staande cultivars, zoals cv. Inzell, bleken toen ook tot de vatbare cultivars gerekend te moeten worden. Misschien heeft deze verschuiving te maken met de opgebouwde infectiedruk, omdat uit Japans onderzoek blijkt dat hogere virusconcentraties in tulpenwortels tot meer en heftiger ziektebeelden leiden (Nahata *et al.*, 1988).

Bestrijding en beheersing

Een van de belangrijkste methoden om Augustaziek in tulpen te beheersen is door de tulpen, vooral vatbare cultivars, laat (in november) te planten (Van Slogteren and Visscher, 1967). Bij de teelt op zware zavelgronden geeft deze methode de nodige problemen. Na perioden met veel regenval zijn deze gronden onbegaanbaar voor de plantmachines; daarom hebben telers de neiging vroeg te planten als de herfstbuien nog niet zijn begonnen. Ook het feit dat veel plantwerk wordt uitbesteed aan loonwerkers maakt het vroeg planten moeilijk inpasbaar.

Het gebruik van schoon plantgoed (zonder wortelresten) en het verwijderen van zichtbare zieke planten in een zo vroeg mogelijk stadium zijn op zich effectieve beheersmaatregelen. Het verwijderen van zieke

planten is echter op de zware zavelgronden, zeker bij de teelt van tulpen in netten, praktisch niet toepasbaar.

De keuze voor minder vatbare cultivars is op zich ook een mogelijkheid. Onderzoek naar het verhogen van de weerstand van tulpen tegen Augustaziek door domping in en bespuiting met harpin (is een eiwit, dat mogelijk resistentie in tulp induceert) hebben geen positief resultaat opgeleverd.

Het onderzoek naar grondontsmetting met diverse chemische middelen en toepassing van kalkstikstofbemesting heeft deels tegenstrijdige resultaten opgeleverd en verder weinig effectieve bestrijdingsmogelijkheden vooral op zware zavelgronden (Asjes and Blom-Barnhoorn, 1996). Onkruidbestrijding zou misschien effectiever kunnen zijn, omdat daar veel waardplanten van het virus en/of de vector tussen zitten.

Recent is geëxperimenteerd met het hakselen en onderspitpen van bepaalde tussengewassen. Sarepta-mosterd leek in eerste instantie een gunstig effect te hebben, maar mogelijk is gele mosterd beter omdat hierbij in de wortels minder *Olpidium* werd vastgesteld. Daarnaast zijn er ook minder planten met symptomen van Augustaziek in de behandelingen met gele mosterd waargenomen. Aan de andere kant kunnen bepaalde voorgewassen beter vermeden worden omdat deze een waardplant zijn voor zowel virus als vector, bijv. aardappel, boon, gerst en gescheurd grasland. Dat laatste is in bepaalde gebieden in Noord-Holland juist een standaard teeltmethode.

Een bestrijding met behulp van een *Pseudomonas* bacterie

biedt in principe een mogelijkheid om Augustaziek in tulpen te bestrijden. De biosurfactant, die deze bacterie produceert, pakt de *Olpidium* zwerm-sporen aan. De toevoeging van deze bacterie aan het standaard ontsmettingsbad voor tulpenbollen leverde betere resultaten op dan de toepassing van deze bacterie alleen. In hoeverre deze bacterie op commerciële schaal is te produceren, is bepalend voor latere toepassing in de praktijk.

Drainage van gronden is in Japan een mogelijkheid gebleken om virusverspreiding te beperken (Nahata *et al.*, 1988). Het telen van een partij op zandgrond, vaak vrij van *Olpidium*, is een mogelijkheid om een partij op te knappen. Het uitrijden van pelafval en grond over

akkers dient vermeden te worden, tenzij dit eerst wordt gecomposteerd.

Augustaziek in tulpen blijft een intrigerende virusziekte door het wisselvallige karakter van de ziekte qua moment van verschijnen en mate en moment van symptoomexpressie. Er zijn ondanks vele vorderingen in het onderzoek nog diverse zaken de moeite van het onderzoek waard om telers een handvat te geven bij het beheersen van deze ziekte.

Literatuur

- Asjes, C.J., 1994. Augustaziek in tulpen. Minder kans bij teelt op zand. Bloembollencultuur **105**: 40-42
- Asjes, C.J. and Blom-Barnhoorn, G.J., 1996. Control of Augusta disease caused by to-

bacco necrosis virus in tulip affected by culture conditions and soil disinfection. In: Proceedings 3rd symposium of International working group on plant viruses with fungal vectors. Eds.: J.I. Sherwood and C.M. Rush, Dundee, Scotland: 125-128

Cardoso, J.M.S., Félix, M.R., Oliveira, S. and Clara, M.I.E., 2005. The complete genome of a new necrovirus isolated from *Olea europaea* L. Arch. Virol. **150**: 815-823

De Bruyn Ouboter, M.P. en van Slogteren, E., 1949. Het Augusta-ziek der tulpen, een virus-ziekte van het tabaks-necrosetype. Tijdschrift over plantenziekten **55**: 262-267

Meulewater, F., Danthinne, X. and van Emmelo, J., 1994. Necroviruses. In: Encyclopedia of Virology, vol.2 (Eds. R.C. Wester and A. Granoff), San Diego, Academic Press

Nahata, K., Kusaba, T. and Mukobata, H., 1988. Studies on the ecology and control of tulip virus diseases. Bull. Toyama Agric. Res. Ctr., no. 2: 1-132

Van Slogteren, D.H.M. and Visscher, H.R., 1967. Transmission of a tobacco necrosis virus, causing 'Augusta disease' to the roots of tulip by zoospores of the fungus *Olpidium brassicae* (Wor.) Dang. Meded. Rijksfaculteit Lanbouwwetenschappen Gent **32**: 927-938

ARTIKEL