

# Augustaziek bij tulp

Eindrapportage 'Inzicht in de symptoomontwikkeling van Augustaziek tijdens de bolproductie en broeierij'

Martin Verbeek, Ineke Stijger, Martin van Dam, Arie van der Lans, Miriam Lemmers, Annita van Haaster

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving,  
Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit  
PPO nr. 3236163300 / PT 14840  
December 2014

© 2012 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) onderzoeksinstituut Praktijkonderzoek Plant & Omgeving. Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van DLO. Voor nadere informatie gelieve contact op te nemen met: DLO in het bijzonder onderzoeksinstituut Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit

DLO is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Projectnummer: 3236163300  
Projectnummer PT: 14840



**Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, onderdeel van Wageningen UR  
Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit**

Adres : Postbus 85, 2160 AB Lisse  
: Prof. van Slogterenweg 2, 2161 DW Lisse  
Tel. : +31 (0) 252 46 21 21  
E-mail : [info.ppo@wur.nl](mailto:info.ppo@wur.nl)  
Internet : [www.ppo.wur.nl](http://www.ppo.wur.nl)

# Inhoudsopgave

pagina

|   |    |
|---|----|
| SAMENVATTING.....   | 5  |
| 1 INLEIDING EN PROBLEEMSTELLING .....   | 7  |
| 1.1 Doel van dit onderzoek.....   | 7  |
| 2 MATERIAAL EN METHODEN .....   | 9  |
| 2.1 Analyse van archiefstukken Augustaziek .....  | 9  |
| 2.2 Verzamelen geïnfecteerd plantmateriaal .....  | 9  |
| 2.3 Volgen van symptoomontwikkeling in partijen .....                                     | 9  |
| 3 RESULTATEN .....  | 11 |
| 3.1 Analyse van archiefstukken Augustaziek .....  | 11 |
| 3.2 Verzamelen geïnfecteerd plantmateriaal .....  | 11 |
| 3.3 Volgen van symptoomontwikkeling in partijen .....                                     | 14 |
| 3.3.1 Symptoomontwikkeling in de partijen onder afbroei-omstandigheden (kasopplant) ..... | 14 |
| 3.3.2 Symptoomontwikkeling in de partijen onder teeltomstandigheden (veld-opplant) .....  | 16 |
| 3.3.3 Detectie en inventarisatie van de aanwezige virussen.....                           | 18 |
| 4 CONCLUSIES .....  | 21 |
| BIJLAGE 1: VRAGENLIJST ENQUÊTE AUGUSTAZIEK.....   | 23 |
| BIJLAGE 2: AANMELDINGSFORMULIER ACTIEPLAN .....   | 29 |



# Samenvatting

Augustaziek bij tulp wordt veroorzaakt door het *Olive mild mosaic virus* (OMMV), een virus dat behoort tot het geslacht *Necrovirus* (waar ook het tabaksnecrosevirus (TNV) toe behoort). Dit virus kan plantenwortels infecteren vanuit de grond, een proces dat vele malen efficiënter wordt wanneer de virusdeeltjes via zwermsporen van de wortels-infecterende bodemschimmel *Olpidium brassicae* worden overgebracht. Schimmel en virus komen pleksgewijs in verschillende grondsoorten voor en leven op allerlei gewassen en onkruiden. Augusta komt in bepaalde jaren meer voor dan in andere jaren. Er wordt soms over een cyclus van ongeveer 12 jaar gesproken waarin zogenaamde Augusta-jaren voorkomen. Het onderzoek waarin in dit verslag wordt gerapporteerd had als uitgangspunt drie vragen:

- Wanneer Augustaziek uitdoeft in een partij, is het virus dan echt afwezig, of heeft men met een latente (niet zichtbare) infectie te maken? Genezen van virus is nl. geen gangbaar verschijnsel in de plantenwereld.
- Hoe groot is het risico op zichtbare schade in de broei van een partij die op het veld zichtbare Augusta-schade vertoonde? Kan de schade in de broei voorspeld worden?
- Zijn er factoren/indicatoren die een 'Augusta-jaar' aankondigen?

Om een idee te krijgen over de mogelijke antwoorden op deze vragen is als eerste een enquête gehouden onder tulpentelers (bollenteelt en afbroei). Aan de hand van die enquête is gekeken naar o.a. teeltomstandigheden, perceel, voorvrucht etc. Ook is aan deze telers gevraagd of zij materiaal beschikbaar wilden stellen van partijen waarin zij eerder Augusta-schade hadden waargenomen. Deze partijen zijn opgeplant in de kas onder afbroei-omstandigheden en op het veld onder bollenteelt-omstandigheden. Tijdens deze teelten werd de symptoomontwikkeling gevolgd en werden virustoetsen uitgevoerd om de infectie met OMMV te monitoren. Bij enkele planten met symptomen is met behulp van Next Generation Sequencing gekeken of ook daadwerkelijk OMMV betrokken was bij het ziektebeeld. Hieruit bleek dat er in enkele planten andere virussen dan OMMV voorkwamen die symptomen veroorzaakten die waarschijnlijk in de praktijk moeilijk van Augusta kunnen worden onderscheiden. Voorbeelden van deze virussen zijn het tulpenvirus X, Arabis mozaïekvirus, dravikmozaïekvirus, tabaksratelvirus en het vroege-verbruiningsvirus van erwt.

Hoewel op bovenstaande vragen nog geen duidelijke antwoorden te geven zijn, is wel een stapje in de goede richting gezet. Uit dit onderzoek zijn de volgende inzichten verkregen:

- Symptomen in tulp die in de praktijk Augustaziek worden genoemd worden over het algemeen veroorzaakt door infectie met OMMV, maar ook andere virussen kunnen op Augusta lijkende schadebeelden geven.
- OMMV lijkt in de afbroei ook symptoomloos te kunnen voorkomen, maar dat zal afhankelijk zijn van cultivar en teeltomstandigheden (over het algemeen wordt aangenomen dat bij hogere temperaturen minder schade wordt waargenomen).
- Een aantal partijen die als Augustapartijen waren aangemerkt bleken vrij te zijn van OMMV in de virustoets in het leverbaar materiaal en in de boltoetsen na kasteelt en veldteelt. Tijdens deze teelten werd geen schade waargenomen in deze partijen. Of dit ook daadwerkelijk betekent dat uitdoving heeft plaatsgevonden is niet te concluderen omdat ten tijde van de waarneming van de symptomen de zieke planten niet op virusinfecties zijn getoetst.



# 1 Inleiding en probleemstelling

Over het algemeen wordt aangenomen dat Augustaziek bij tulp wordt veroorzaakt door het *Tabaksnecrosevirus* (TNV), maar ook het *Olive mild mosaic virus* (OMMV) en het *Olive latent virus 1* (OLV-1) worden als veroorzaker genoemd. Deze virussen kunnen plantenwortels infecteren vanuit de grond, een proces dat vele malen efficiënter wordt wanneer de virusdeeltjes via zwermsporen van de wortels-infecterende bodemschimmel *Oplidium brassicae* worden overgebracht. Schimmel en virus komen pleksgewijs in verschillende grondsoorten voor en leven op allerlei gewassen en onkruiden. Grond waarop nog nooit een tulp is geteeld, kan dus ook risico's geven op infectie. Opvallend bij deze ziekte is het epidemisch voorkomen in bepaalde jaren (zgn. 'Augusta-jaren'). De kans op besmetting van de wortels door de schimmel *Oplidium* neemt namelijk toe naarmate tijdens planten de bodemtemperatuur hoger en de grond vochtiger is. Het is daarnaast belangrijk te weten dat tulpen die vanuit de grond besmet zijn met Augusta beslist geen symptomen hoeven te ontwikkelen. Bij deze symptoomontwikkeling is juist koude bevorderend. Klimaatomstandigheden bepalen dus in sterke mate (a) of er infectie optreedt, en (b) de heftigheid van schade. De klimaatomstandigheden gedurende de teelt 2011/2012 waren dermate ongunstig dat veel schade door Augustaziek is opgetreden. Naast invloed van klimaat, bestaan er zeer grote verschillen in vatbaarheid tussen de verschillende cultivars.

Over Augustaziek zijn nog veel onduidelijkheden. Een aantal hiervan zijn:

1. Waarom levert gescheurd grasland een vergroot risico op Augustaziek?
2. Beïnvloedt het moment van het doodspuiten van grasland de risico's op Augustaziek?
3. Zijn er mogelijkheden om *Oplidium*, of de door deze vector overgebrachte virussen actief te bestrijden?
4. Zijn er mogelijkheden om voorafgaand aan planten de risico's op infecties in te kunnen schatten?
5. Na hoeveel jaar kan een perceel met Augusta-infectie weer met beperkte risico's hergebruikt worden?
6. Wanneer Augustaziek uitdooft in een partij, is het virus dan echt afwezig, of heeft men met een latente (niet zichtbare) infectie te maken? Genezen van virus is nl. geen gangbaar verschijnsel in de plantenwereld.
7. Hoe groot is het risico op zichtbare schade in de broei van een partij die op het veld zichtbare Augusta-schade vertoonde? Kan de schade in de broei voorspeld worden?
8. Zijn er factoren/indicatoren die een 'Augusta-jaar' aankondigen?
9. Hebben de kritische klimaatomstandigheden invloed op
  - a. de kans op verspreiding en infectie vanuit de bodem
  - b. de heftigheid op symptoomontwikkeling

Nieuwe inzichten en nieuwe toetsmethoden kunnen nu antwoord geven op enkele van deze vragen terwijl dat enkele jaren geleden nog niet mogelijk was. Antwoorden op deze vragen veranderen hopelijk het Augustusziek bij tulp van een ongrijpbaar klimaatverschijnsel naar een beheersbare virusziekte.

Een aantal van bovenstaande vragen hebben een fundamenteel wetenschappelijk karakter. Met name vragen 3, 4, 5 en 6 zijn ondergebracht in twee deel-PPSen van de PPS "Het nieuwe doen in Plantgezondheid":

- Weerbaarheid tegen plantenvirussen (Stijger & Verbeek)
- Beheersing van grond- en substraat overgedragen virussen (Stijger & Verbeek)

Dit project richt zich met name op de vragen 6, 7 en 8.

## 1.1 Doel van dit onderzoek

- Inzicht in het verloop van de symptoomontwikkeling tijdens bolproductie en broeierij in 2013 en 2014 bij partijen die in het voorgaande teeltjaar (2012) heftige symptomen hadden van Augustaziek.
- Analyse van virussamenstelling in deze partijen.





## 2 Materiaal en methoden

### 2.1 Analyse van archiefstukken Augustaziek

Bij PPO-BBF te Lisse is in het verleden veel onderzoek gedaan naar Augustaziek bij tulp. Hierbij zijn verslagen en onderzoeksrapporten van o.a. dhr. Asjes en dhr. Derks geanalyseerd en samengevat.

### 2.2 Verzamelen geïnfecteerd plantmateriaal

Voor het traceren van partijen met (vermoedelijk) Augusta-ziek is een vragenlijst opgesteld (zie Bijlage 1). Deze vragenlijst is verspreid onder een aantal tulpentelers en broeiers. In deze vragenlijst zijn naast algemene vragen over partijenmerken ook specifieke vragen gesteld over schade, voorvrucht, de doortelt van het plantgoed en afbroei van het leverbaar.

De BKD heeft aangegeven dat de monsterkassen beschikbaar zijn voor monsteranalyse en eventueel verzamelen van materiaal.

### 2.3 Volgen van symptoomontwikkeling in partijen

In 2013 zijn een aantal partijen die in de BKD monsterkassen waren opgeplant (2012) geanalyseerd op virussymptomen en zijn de aanwezige virussen geïdentificeerd. Er is geïnventariseerd of hierin partijen voorkomen waarbij het percentage Augustaziek in de loop van de tijd niet afneemt (dus niet uitzielen). Hieruit zijn een aantal partijen geselecteerd waarvan de bollen zijn geplant in zowel de kas (afbroei) als op het veld (bollenteelt). De bollen werden in het najaar 2013 geplant en in 2014 werd de symptoom-ontwikkeling gevolgd.

In het najaar van 2013 zijn ook een aantal partijen (tulpenbollen) ontvangen van ondernemers. Deze partijen zijn geselecteerd op basis van de uitkomsten van de enquête, waarin werd aangegeven dat in 2012 veel Augusta-symptomen zijn waargenomen. De bollen zijn zowel in de kas als op het veld geplant en werden in 2014 gevolgd in hun eventuele symptoomontwikkeling.

Van de partijen die in de kas werden opgeplant zijn 120 bollen opgezet, verdeeld over twee kratten (60 bollen per krat). Op het veld werden per partij twee veldjes aangelegd, waarin per veldje 125 bollen werden geplant. De partijen uit de BKD monsterkassen voor de veldtoets werden in kratten opgeplant, waarna de kratten werden ingegraven op het proefveld.

Voor de kasteelt werden de tulpenbollen zijn na een koude droogbewaring op 20 december 2013 opgeplant in potgrond in een koude klimaatcel (na opplant 1,5 week 9 °C; daarna naar 5 °C). Op 7 februari 2014 zijn opgeplante bollen overgebracht naar de 15 °C kas. Op 21 februari zijn de kas-instellingen veranderd vanwege een te snel groeiend gewas. De temperatuur is toen teruggebracht naar 14 °C overdag en 7 °C 's nachts.

De teelt op het proefveld werd gestart op 27 november 2013.

De analyse van de aanwezige virussen in de geselecteerde partijen zijn m.b.v. ELISA en RT-PCR uitgevoerd. Enkele monsters zijn met Next Generation Sequencing (NGS) geanalyseerd op de aanwezige virussen. Tevens is er gekeken naar een eventuele correlatie met de toetsresultaten met de waargenomen symptomen tijdens de teelt en de af- broei in het seizoen 2013/2014.



## 3 Resultaten

### 3.1 Analyse van archiefstukken Augustaziek

Korte samenvatting van gevonden zaken in het archief over Augusta.

In 1988-1990 was er een behoorlijk zware Augusta-periode met veel aangetaste partijen en hoge percentages zieke planten. Dit gaf aanleiding voor een bijeenkomst van betrokkenen uit de sector, welke werd opgevolgd met een enquête.

De resultaten van deze bijeenkomst en aansluitende enquête zijn verwerkt in artikelen en adviezen (o.a. Virus in bloembollen in kaart gebracht, 1996). Het doorlezen, nu ruim 20 jaar later, van antwoorden op deze enquête levert nauwelijks nieuwe inzichten op. Een paar zaken waren wel opvallend:

- Het % humus, de afslibbaarheid en de pH waren niet van invloed op het vóórkomen van Augusta. Toch worden zware humusrijke gronden vaak genoemd als gronden waarop Augusta meer voor zou komen.
- Bijna alle ondervraagde bedrijven hadden grasland als voorvrucht, zowel bedrijven mét (99 bedrijven) als zonder Augusta (ca 50). Uit de beantwoording over type gras en onderwerkmoment is niet duidelijk een lijn halen, maar onderwerkmoment lijkt van invloed.
- Telers geven aan dat Rizolex (bestrijdt Rizoctonia) een aantasting onderdrukt, maar Monam (bestrijdt aaltjes en bodemschimmels) niet.

In “Virus in bloembollen in kaart gebracht, 1996” is de informatie wat aan de vage kant. Hiervoor is vooral de formulering van invloed (Asjes was altijd voorzichtig in zijn bewoordingen). Leest men artikelen van Toon Derks of Peter Vink, dan staan er duidelijker aanwijzingen in, zoals “Plant niet bij hoge grondtemperatuur”, “Let op vochthuishouding, vruchtwisseling”, etc.

Ten aanzien van het sortiment: er worden lijsten genoemd met vatbare, minder vatbare en niet gevoelige cultivars. Er is wel verschil, maar het lijkt beter om er van uit te gaan dat alle cultivars het wel kunnen krijgen. De BKD beaamt dit.

Een student van de HAS Den Bosch, Martin Kolken, heeft een literatuurstudie uitgevoerd over Augusta. In zijn verslag hiervan staan veel (te veel!) zaken vermeld. In zijn slothoofdstuk geeft hij de kenmerken en adviezen mooi overzichtelijk weer. Er zijn wel twijfels over enkele beweringen, maar het is het lezen waard.

Uit onderzoek (2005) naar de epidemiologie van Augusta, komt wel een en ander naar voren over bestrijdingswijzen, maar veel resultaten in dat rapport zijn nog onduidelijk. Oplossing moet gezocht worden in de complexe verhouding tussen virus, *Olpidium* en de grote groep van waardplanten (gewassen en onkruiden) voor zowel het virus als voor *Olpidium*. Dit, **en de sterke jaarinvloeden**, maken uitvoering van onderzoek haast ondoenlijk. Misschien geeft een aantal factoren een indicatie voor optreden van de ziekte, maar nog niet over de hevigheid ervan.

### 3.2 Verzamelen geïnfecteerd plantmateriaal

Telers, broeiers en teeltadviseurs die zich op open dagen in Zwaagdijk en Lisse hebben aangemeld voor betrokkenheid bij het Actieplan Minder Virus in Tulp zijn benaderd om potentiële Augusta-partijen voor onderzoek aan te leveren en informatie aan te leveren voor de vragenlijst. Van hen zijn inmiddels 34 personen benaderd. Achtentwintig van hen hebben momenteel al aangegeven elk op hun eigen wijze actieve betrokkenheid aan het onderzoek te willen geven. Op de gehouden enquête zijn 16 formulieren terug ontvangen. De uitkomsten van de enquête waren als volgt:

Tabel 1: Samenvatting uitkomsten enquête

|         | I Algemeen                              |                              |                          |          | nummeis onder<br>code 2013                            | 1               | 2                         | 3        | 4      | 5      | 6   | 7a                       | 7b               | 8          | III Teelt                            |                                      |                      |                         |            |                          |                                  |  |                |                   |                      |
|---------|---|------------------------------|--------------------------|----------|---|-----------------|---------------------------|----------|--------|--------|-----|--------------------------|------------------|------------|--------------------------------------|--------------------------------------|----------------------|-------------------------|------------|--------------------------|----------------------------------|--|----------------|-------------------|----------------------|
|         | Totaal aantal<br>cultivars/<br>partijen | Eerder Augusta<br>op bedrijf | aantal cv met<br>Augusta | bouwplan |   |                 |                           |          |        |        |     |                          |                  |            | Onderscheid<br>verwerken<br>recond - | wanneer<br>Augusta 2012 of<br>eerder | symptomen in<br>2012 | % aantasting<br>tarders | bevestigd  | in welke maat<br>schade  | Schade meer,<br>minder of gelijk | % zieke planten<br>meer, minder of<br>gelijk | voorzicht      | hyacint<br>narcis | teelt op<br>grasland |
| Teler1  | 14                                      | ja                           | 5                        | nee      | Hakuun<br>Wilbrink Star                               | altijd          | 2%                        | nee      | C      | +      | +   | hyacint<br>groenbemester | ja               | ja         | eigen +<br>huur                      | 8-nov                                | zand                 | nvt                     | 1.6        | droog                    |                                  |  | NBS            |                   |                      |
| Teler2  | 10                                      | ja                           | 4                        | *        | Silver Dollar<br>Viking                               | opkomst<br>2000 | redelijk - zwaar<br>5->20 | nee      | D      | +      | +   | bloemkool                | nee              | nee        | eigen                                | *                                    | klei                 | 45                      | 6          | bodem 10°C<br>lucht 10°C |                                  |  | NBS            |                   |                      |
| Teler3  | 18                                      | nee                          | 5                        | nee      | Jazz<br>Andre Citroen<br>Conqueror<br>Christmas Dream | 2012            | redelijk - zwaar<br>5->20 | nee      | C      | eerste |     | tulp                     | ja               | nee        | *                                    | *                                    | *                    | *                       | *          | *                        | *                                | *  | *              | *                 | *                    |
| Teler4  | 60                                      | ja                           | 8                        | *        | Dooman's Record<br>Angelier                           | 2000<br>1990    | zwaar<br>5->20            | nee      | C      | +      | 3   | *                        | ja               | nee        | eigen                                | nov                                  | zavel                |                         |            | vochtig/nat              |                                  |  | mest           |                   |                      |
| Teler5  | 9                                       | ja                           | 1                        | nee      | Shirley   | 2012            | licht                     | <5       | C      | +      | +   | gras                     | ja               | nee        | eigen                                | nov                                  | klei                 | 50                      | 15         | vochtig                  | 10°C                             | nest/<br>water                               |                |                   |                      |
| Teler6  | 10                                      | ja                           | 1                        | nee      | Match Maker   | 2012            | licht                     | <5       | C      | +/-    | +/- | gras                     | 1jr              | nee        | eigen                                | nov                                  | klei                 | 31                      | 6.6        | nat                      |                                  | bodem 8<br>lucht 12                          |                |                   |                      |
| Teler7  | 40                                      | ja                           | 10                       | nee      | Algarve   | 2013            | zwaar                     | <20      | E      | *      | *   | tulp                     | nee              | nee        | eigen                                | okt                                  | zand                 | nvt                     | *          | vochtig                  |                                  | bod 9<br>lucht 5                             |                |                   |                      |
| Teler8  | 6                                       | ja                           | 1                        | nee      | Reputation  | 2007            | redelijk                  | 5 - 20   | C      | +      | +   | gras                     | 7jr              | ja         | eigen                                | *                                    | *                    | *                       | *          | *                        | *                                | *  | *              | *                 |                      |
| Teler9  | 21                                      | ja                           | 1                        | ja       | Denmark   | 2010            | zwaar                     | >20      | D      | +      | +   | gras                     | 5jr              | ja         | eigen                                | nov                                  | klei                 | *                       | *          | vochtig                  | *                                | *  | nest/<br>water |                   |                      |
| Teler10 | 18                                      | ja                           | 1                        | nee      | Margarita   | 2012            | *                         | *        | *      | *      | *   | gras                     | *                | *          | *                                    | nov                                  | klei                 | 20                      | *          | *                        | *                                | *  | *              | *                 |                      |
| Teler11 | 25                                      | nee                          | 1                        | nee      | First Class   | 2011            | zwaar (plek)              | <5       | C      | +      | +   | biet                     | nee              | nee        | elders/eigen                         | nov                                  | zavel                | *                       | *          | *                        | *                                | *  | *              | *                 |                      |
| Teler12 | 40                                      | ja                           | 2                        | nee      | Escape<br>Malaysia                                    | 2012<br>2012    | licht/zwaar<br>licht      | <5<br><5 | C<br>C | +      | +   | gras<br>gras             | altijd<br>altijd | nee<br>nee | eigen<br>eigen                       | nov<br>dec                           | zavel<br>zavel       | 30<br>35                | 4.4<br>5.3 | vochtig                  |                                  | lucht 8<br>lucht 9                           | nest/<br>water |                   | 1.50%                |
| Teler13 | 20                                      | ja                           | 1                        | ja/nee   | Conqueror   | 2010            | zwaar                     | 5-<20    | *      | *      | *   | crocus                   | nee              | nee        | eigen                                | nov                                  | zand                 | nvt                     | 1.5        | *                        | *                                | *  | *              | *                 |                      |
| Teler14 | *                                       | *                            | *                        | *        | Carolla   | *               | *                         | *        | *      | *      | *   | gras                     | *                | *          | *                                    | okt                                  | *                    | *                       | *          | *                        | *                                | *  | *              | *                 | *                    |
| Teler15 | 50                                      | ja                           | 1                        | nee      | Flair   | 2012            | licht                     | <5       | C      | -      | -   | iris                     | *                | *          | *                                    | *                                    | *                    | *                       | *          | *                        | *                                | *  | *              | *                 | *                    |

Hieronder zijn de belangrijkste zaken uit deze enquête samengevat:

- Van de 15 telers hebben er 12 aangegeven een eerdere aantasting van Augustaziek op het bedrijf te hebben gehad;
- Acht telers geven aan 1 partij met Augusta te hebben, zes telers hebben meerdere partijen met deze ziekte (variërend van 2 tot 10 partijen).
- Bouwplan: de vraag over de bouwplannen van het bedrijf is door niemand beantwoord.
- Wordt er onderscheid gemaakt bij verwerking van zieke en gezonde partijen? Elf telers maken geen onderscheid, een ja/nee en twee telers maken wel onderscheid.
- Zes telers hebben Augusta al van voor 2010, de rest heeft recenter te maken met deze ziekte.
- De uiting van symptomen van Augustaziek wordt door acht telers als redelijk tot zwaar ervaren, vier telers zeggen lichte symptomen te zien.
- Het percentage aantasting is bij zes telers minder dan 5%, acht telers hebben in hun partijen 5-20% aantasting, 1 teler geeft aan een aantasting van boven de 20% te hebben in een partij.
- De telers geven aan hun partijen niet te hebben laten toetsen m.b.v. een laboratoriumtoets op de veroorzaker van Augustaziek.
- Op de vraag "Ziet u verschil in TNV aantasting op het veld tussen ondereind en bovineind?", wordt door negen telers geantwoord dat ze geen verschil zien tussen aantasting in ondereind of bovineind, twee telers zien meer schade in het ondereind en 1 juist meer in het bovineind.
- De meeste ondervraagde telers zien een toename in schadebeeld en percentage zieke planten wanneer dit bekeken wordt over de afgelopen jaren.
- Als voorvrucht is bij zeven telers gras geteeld, vijf geven een ander bolgewas aan, één teler heeft een groenbemester als voorvrucht gehad, een ander bloemkool en nog weer een ander biet.
- Op de vraag of tulpen teelt op gescheurd grasland heeft plaatsgevonden antwoorden 8 telers ja, en het aantal jaren geleden dat dit is gebeurd varieert van 1 tot 7 jaar. Drie telers hebben met nee geantwoord.
- Drie telers hebben Augusta-symptomen waargenomen op de geoogste bollen, negen hebben dit niet gezien.
- Over het algemeen telen de telers die aan deze enquête hebben meegewerkt op eigen grond. Twee geven aan daarbij ook nog elders te telen.
- De plantdatum varieert van oktober (2x), november (9x) en december (1x).
- Grondsoorten: zand (3x), zavel (5x) en klei (5x). Percentage organische stof varieert van 1,5 tot 15, maar de meeste telers hebben dit niet ingevuld.
- Omstandigheden bij planten is door de helft van de telers niet ingevuld. De anderen geven aan dat de grond bij planten vochtig was, met één uitzondering waarbij de grond droog was. De temperaturen bij planten variëren van 8-10 °C voor de bodem en de luchttemperatuur varieerde van 5 – 12 °C.
- Enkele telers monitoren tijdens de teelt de bemesting en watergift.

De telers die betrokken zijn bij de enquête zijn gevraagd om partijen beschikbaar te stellen voor opplant bij PPO zodat de symptoomontwikkeling kan worden gevolgd en de aanwezige virussen kunnen worden gedetecteerd en gediagnosticeerd. In totaal zijn 17 partijen beschikbaar gesteld. De partijen zijn zowel in de kas (als afbroei) als op het veld (als reguliere bollenteelt) opgeplant.

Ook zijn zes partijen uit de BKD monsterkas geselecteerd die op symptoomontwikkeling zullen worden gemonitord. Deze zes partijen zijn op het veld opgeplant en één daarvan ook in de kas.

## 3.3 Volgen van symptoomontwikkeling in partijen

### 3.3.1 Symptoomontwikkeling in de partijen onder afbroei-omstandigheden (kasopplant)

De planten in de kas werden drie maal visueel beoordeeld op hun symptoomontwikkeling (4 februari, 18 februari en 7 maart 2014). Hierbij werden het aantal planten met symptomen (duidelijk, of minder duidelijk=verdacht). In onderstaande tabel zijn de partijen weergegeven, met het percentage ziek (ELISA op TNV) in de partij leverbaar en de aantallen/percentage planten die visueel ziek werden gescoord.

Tabel 2: Waarnemingen visueel Augusta in partijen in de kas-opplant

| Partijnr. | Herhaling | Cultivar naam   | Teler          | % ziek leverbaar | aantal bollen op bak | aantal visueel Augusta | aantal verdacht | % visueel ziek |
|-----------|-----------|-----------------|----------------|------------------|----------------------|------------------------|-----------------|----------------|
| 14        | A         | Hakuun          | teler 1        | 0                | 60                   | 4                      | 3               | 6.7            |
| 14        | B         | Hakuun          | teler 1        | 0                | 60                   | 6                      | 1               | 10.0           |
| 15        | A         | Wilbrink Star   | teler 1        | 7.1              | 60                   | 8                      |                 | 13.3           |
| 15        | B         | Wilbrink Star   | teler 1        | 7.1              | 60                   | 4                      |                 | 6.7            |
| 16        | A         | Matchmaker      | teler 11       | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 16        | B         | Matchmaker      | teler 11       | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 17        | A         | First Class     | teler 10       | 0                | 62                   |                        |                 | 0.0            |
| 17        | B         | First Class     | teler 10       | 0                | 61                   |                        |                 | 0.0            |
| 18        | A         | Denmark         | teler 9        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 18        | B         | Denmark         | teler 9        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 19        | A         | Conqueror       | teler 8        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 19        | B         | Conqueror       | teler 8        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 20        | A         | Algarve         | teler 7        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 20        | B         | Algarve         | teler 7        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 21        | A         | Malaysia        | teler 6        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 21        | B         | Malaysia        | teler 6        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 22        | A         | Escape          | teler 6        | 4.3              | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 22        | B         | Escape          | teler 6        | 4.3              | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 23        | A         | Margarita       | teler 5        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 23        | B         | Margarita       | teler 5        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 24        | A         | Shirley         | teler 4        | 3.4              | 64                   |                        |                 | 0.0            |
| 24        | B         | Shirley         | teler 4        | 3.4              | 63                   | 5                      |                 | 7.9            |
| 25        | A         | Viking          | teler 2        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 25        | B         | Viking          | teler 2        | 0                | 60                   | 1                      |                 | 1.7            |
| 26        | A         | Silver Dollar   | teler 2        | 2.6              | 60                   | 1                      |                 | 1.7            |
| 26        | B         | Silver Dollar   | teler 2        | 2.6              | 60                   | 1                      |                 | 1.7            |
| 27        | A         | Christmas Dream | teler 3        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 27        | B         | Christmas Dream | teler 3        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 28        | A         | Conqueror       | teler 3        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 28        | B         | Conqueror       | teler 3        | 0                | 60                   |                        |                 | 0.0            |
| 29        | A         | Jazz            | teler 3        | 0                | 58                   |                        | 1               | 0.0            |
| 29        | B         | Jazz            | teler 3        | 0                | 58                   |                        |                 | 0.0            |
| 30        | A         | Andre Citroen   | teler 3        | 0                | 60                   | 20                     |                 | 33.3           |
| 30        | B         | Andre Citroen   | teler 3        | 0                | 60                   | 16                     |                 | 26.7           |
| 4         | A         | EN 0288         | BKD monsterkas | 0                | 60                   | 5                      | 1               | 8.3            |
| 4         | B         | EN 0289         | BKD monsterkas | 0                | 60                   | 6                      |                 | 10.0           |

Bij de waarnemingen is gekeken naar Augusta-symptomen, maar deze symptomen kunnen divers zijn. Een goede beschrijving van symptomen is ooit beschreven door Peter Vink (PPO-BBF Lisse) in de Bloembollensie (20 april 2012). Hij omschrijft de symptomen als volgt: "Augustaziek uit zich in een breed spectrum aan symptomen. Ernstige symptomen van het zogenaamde "Winter-Augusta" zijn al bij opkomst te zien. Daarbij is sprake van chlorotische en bruin-necrotische strepen op de bladeren die vaak gaan draaien. Planten vertonen vaak dwerggroei, groeien krom en de bloei kan zelfs achterwege blijven. Een minder ernstige vorm bestaat uit ovale en ronde necrotische vlekken op de bladeren, vooral optredend later in het seizoen tijdens en na de bloei. Deze symptomen worden wel aangeduid met het begrip "Laat- of Zomer-Augusta". Verwarring van bladsymptomen met een TVX-besmetting is daarbij soms mogelijk. In de bloemen is een streepvormige verkleuring zichtbaar langs de randen en op de nerven. Op de bollen kunnen licht ingezonken bruin-necrotische vlekken ontstaan, maar bij veel cultivars blijft deze symptoomvorming grotendeels tot volledig achterwege. Te velde gaan zwaar zieke planten als regel dood en brengen geen leverbare bollen voort. Bij "Zomer-Augusta" sterven zieke planten meestal vervroegd af".

In de kasproeven werden zowel typische Augusta-symptomen, zoals hierboven beschreven, waargenomen, maar ook diverse op Augusta lijkende symptomen. In de volgende figuren zijn enkele voorbeelden weergegeven van de diverse symptomen in de kasopplant.

Figuur 1: chlorotische en bruin-necrotische strepen op de bladeren in cv. 'Wilbrink Star'



Figuur 2: blad met duidelijk lichtgroene vlekken, worden "waterig" bruin in cv. 'Hakuun'



Figuur 3: lichtgroen/ geel gevlekt blad plus "waterig" necrotische vlekjes in EN0289 (BKD monsterkas)



In figuur 1 is een plant te zien met typische Augustasympptomen. Hoewel de symptomen in de figuren 2 en 3 op Augusta lijken, werd m.b.v. ELISA niet het Augusta-veroorzakende virus (OMMV) in deze planten gedetecteerd. Deze planten zijn in de visuele beoordeling wel meegeteld als zijnde ziek, maar achteraf blijkt dit ziektebeeld niet door OMMV te worden veroorzaakt. Zie verder onder punt 3.3.3. voor een verdere analyse van de aanwezige virussen in Augusta-verdachte planten.

### 3.3.2 Symptoomontwikkeling in de partijen onder teeltomstandigheden (veld-opplant)

In april 2014 werden de planten op het proefveld visueel beoordeeld op symptomen. De uitkomsten van deze waarneming staan vermeld in tabel 3.

Tabel 3: Waarnemingen visueel Augusta in partijen in de veld-opplant

| Partijnr. | Herhaling | Cultivar naam   | Teler    | % ziek leverbaar | aantal bollen per veld | aantal visueel Augusta | % visueel ziek | opmerkingen         |
|-----------|-----------|-----------------|----------|------------------|------------------------|------------------------|----------------|---------------------|
| 14        | A         | Hakuun          | teler 1  | 0                | 125                    | 9                      | 7.2            |                     |
| 14        | B         | Hakuun          | teler 1  | 0                | 125                    | 1                      | 0.8            | rest niet opgekomen |
| 15        | A         | Wilbrink Star   | teler 1  | 7.1              | 125                    | 0                      | 0.0            |                     |
| 15        | B         | Wilbrink Star   | teler 1  | 7.1              | 125                    | 1                      | 0.8            |                     |
| 16        | A         | Matchmaker      | teler 11 | 0                | 125                    | 0                      | 0.0            |                     |
| 16        | B         | Matchmaker      | teler 11 | 0                | 125                    | 0                      | 0.0            |                     |
| 17        | A         | First Class     | teler 10 | 0                | 125                    | 3                      | 2.4            |                     |
| 17        | B         | First Class     | teler 10 | 0                | 125                    | 3                      | 2.4            |                     |
| 18        | A         | Denmark         | teler 9  | 0                | 125                    | 0                      | 0.0            |                     |
| 18        | B         | Denmark         | teler 9  | 0                | 125                    | 0                      | 0.0            |                     |
| 19        | A         | Conqueror       | teler 8  | 0                | 125                    | 1                      | 0.8            |                     |
| 19        | B         | Conqueror       | teler 8  | 0                | 125                    | 3                      | 2.4            |                     |
| 20        | A         | Algarve         | teler 7  | 0                | 125                    | 4                      | 3.2            | twijfel             |
| 20        | B         | Algarve         | teler 7  | 0                | 125                    | 0                      | 0.0            |                     |
| 21        | A         | Malaysia        | teler 6  | 0                | 125                    | 0                      | 0.0            |                     |
| 21        | B         | Malaysia        | teler 6  | 0                | 125                    | 0                      | 0.0            |                     |
| 22        | A         | Escape          | teler 6  | 4.3              | 125                    | 4                      | 3.2            |                     |
| 22        | B         | Escape          | teler 6  | 4.3              | 125                    | 9                      | 7.2            |                     |
| 23        | A         | Margarita       | teler 5  | 0                | 125                    | 2                      | 1.6            | twijfel             |
| 23        | B         | Margarita       | teler 5  | 0                | 125                    | 1                      | 0.8            |                     |
| 24        | A         | Shirley         | teler 4  | 3.4              | 125                    | 7                      | 5.6            |                     |
| 24        | B         | Shirley         | teler 4  | 3.4              | 125                    | 6                      | 4.8            |                     |
| 25        | A         | Viking          | teler 2  | 0                | 125                    | 8                      | 6.4            |                     |
| 25        | B         | Viking          | teler 2  | 0                | 125                    | 4                      | 3.2            |                     |
| 26        | A         | Silver Dollar   | teler 2  | 2.6              | 125                    | 1                      | 0.8            |                     |
| 26        | B         | Silver Dollar   | teler 2  | 2.6              | 125                    | 1                      | 0.8            |                     |
| 27        | A         | Christmas Dream | teler 3  | 0                | 125                    | 0                      | 0.0            |                     |
| 27        | B         | Christmas Dream | teler 3  | 0                | 125                    | 0                      | 0.0            |                     |
| 28        | A         | Conqueror       | teler 3  | 0                | 125                    | 0                      | 0.0            |                     |
| 28        | B         | Conqueror       | teler 3  | 0                | 125                    | 0                      | 0.0            |                     |
| 29        | A         | Jazz            | teler 3  | 0                | 125                    | 5                      | 4.0            |                     |
| 29        | B         | Jazz            | teler 3  | 0                | 125                    | 4                      | 3.2            | twijfel             |

\*van partij 30 waren geen bollen aanwezig voor veld-opplant.

Ook in de veldopplant werden verschillende symptomen waargenomen. Wanneer er getwijfeld werd of de waargenomen symptomen daadwerkelijk van Augustaziek waren is dit in de laatste kolom weergegeven. Op de volgende pagina worden enkele voorbeelden gegeven van de diversiteit aan symptomen (figuur 4 t/m 7).



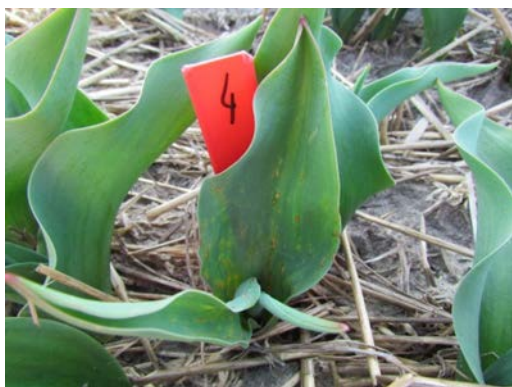
Figuur 4: Augusta-symptomen; chlorotische en bruin-necrotische strepen op de bladeren in cv. 'Silver Dollar'



Figuur 5: Augusta-symptomen; chlorotische en bruin-necrotische vlekken op de bladeren in cv. 'Shirley'



Figuur 6: chlorotische en bruin-necrotische vlekken op de bladeren in cv. 'Jazz' (virus analyse toont TVX aan).



Figuur 7: zeer lichte symptomen in cv. 'Shirley', OMMV wel aangetoond in deze plant.



### 3.3.3 Detectie en inventarisatie van de aanwezige virussen

Om een goed beeld te krijgen van de werkelijke percentages geïnfecteerde planten/bollen met de veroorzaker van Augustaziek (*Olive mild mosaic virus*, OMMV), maar ook of er andere virussen in de partijen voorkomen die een eventuele bijdrage of oorzaak zijn van de waargenomen symptomen, zijn een aantal virustoetsen uitgevoerd.

Allereerst zijn de planten uit kas en van het veld waarbij virussymptomen werden waargenomen met ELISA (met TNV antiserum, dat kruisreageert met OMMV) getoetst op aanwezigheid van OMMV. Dit om te verifiëren dat de waargenomen symptomen ook daadwerkelijk te maken hebben met een infectie met OMMV. Er werden echter ook partijen gevonden (partij 4, 14 en 30) waarbij wel symptomen werden waargenomen, maar niet of nauwelijks OMMV werd aangetoond.

Na de oogst zijn alle bollen van een groot aantal partijen (enkele partijen die geen symptomen vertoonden en altijd negatief waren in bladtoetsen zijn om logistieke redenen niet meegenomen in de boltoets) met ELISA getoetst op het voorkomen van OMMV.

In de meeste partijen werd een goede correlatie gevonden met de boltoetsing voor planten (% ziek leverbaar), de waargenomen symptomen, de bladtoetsing en de boltoetsing op OMMV. Daarbij waren drie partijen die zowel in de toets op het leverbaar, de waargenomen symptomen en de boltoets achteraf ziek waren (partij 15, 24 en 26), hoewel er bij partij 15 wel een groot verschil was tussen de kasopplant en de veldopplant. Er waren maar liefst 5 partijen (nrs. 16, 18, 20, 27 en 28) die vrij waren van OMMV, terwijl deze partijen in 2012 blijkbaar wel problemen gaven.

Er was één partij (nr. 22) die onder afbroeiomstandigheden in de kas geen symptomen van Augustaziek vertoonde, maar waarvan een gedeelte van de bollen bij de boltoetsing toch geïnfecteerd bleek met OMMV. De planten uit deze partij op het veld vertoonden wel symptomen.

Enkele partijen die in de toetsing vooraf (% ziek leverbaar) vrij waren van OMMV (maar deze partijen waren wel door telers geselecteerd als Augustapartijen), bleken toch geïnfecteerd te zijn. Opvallend was dat de infectie soms in deze partijen vooral op het veld naar voren kwam, zowel in symptomen als in de latere boltoets (partij nr. 17, 19, 23, 25 en 29).

Enkele (7) planten uit de in de kas geplante partijen zijn geanalyseerd met behulp van Next Generation Sequencing (NGS), een techniek waarbij uit een extractie van het totaal RNA van een tulpenplant gekeken kan worden naar aanwezigheid van virussequenties. Deze techniek is ingezet om te verifiëren of de waargenomen symptomen ook gecorreleerd konden worden met een infectie met OMMV. Bij deze zes planten waren ook planten waarin wel symptomen werden waargenomen, maar in de bladtoets met ELISA geen OMMV kon worden aangetoond.

In vier van de zeven planten (uit de partijen 15 en 26) was met ELISA OMMV aangetoond. Dit werd bevestigd met NGS waarmee in deze planten sequenties van dit virus werden gevonden. De planten uit partij 26 waren echter ook geïnfecteerd met een virus uit het geslacht *Trichovirus* (de sequentie kwam het meest overeen met die van *Grapevine inner necrosis virus*). In de andere drie planten werd geen OMMV gevonden. Uit partij 14 werden sequenties van een tobavirus gevonden (geslacht *Tobravirus*, sequenties kwamen het meest overeen met tabaksratelvirus (*Tobacco rattle virus*) en 'Pea early browning virus'). In de plant uit partij 4 werd een menginfectie aangetoond met *Brome mosaic virus* (geslacht *Bromovirus*) en *Arabis mosaic virus* (geslacht *Nepovirus*). Ook partij 30 is een bijzondere partij waarbij in de kas veel symptomen werden waargenomen, alhoewel die niet typisch Augustaziek waren. Helaas was er geen mogelijkheid om monsters uit deze partij te analyseren met NGS, zodat de veroorzaker van dit symptoom voornamelijk onbekend blijft.

In partij 29, waarbij op het veld in verhouding meer symptomen werden waargenomen dan dat er bollen waren geïnfecteerd met OMMV werd in de boltoetsing ook TVX gedetecteerd. Dit zou een verklaring kunnen zijn voor de waargenomen symptomen, omdat de symptomen van Augusta en TVX in bepaalde cultivars erg op elkaar kunnen lijken.

De partijen uit de BKD monsterkassen die op het veld waren geplant zijn alleen achteraf met de boltoets op OMMV getoetst. De toetsen kwamen in vier partijen overeen, maar in drie gevallen waren de toetsuitslagen negatief t.o.v. de toets op het leverbaar (nrs. 5, 7 en 12). Een overzicht van de waarnemingen, toetsuitslagen en resultaten NGS is weergegeven in tabel 4.

Tabel 4: Overzicht waarnemingen en virustoetsen partijen uit praktijk en BKD monsterkassen

| Partijnr. | Herhaling | Cultivar naam   | Teler          | % ziek leverbaar | % ziek visueel kas | % ziek visueel veld | % OMMV boltoets kas | % OMMV boltoets veld | ELISA TVX Bladtoets veld | Virusinventarisatie met NGS                                       |
|-----------|-----------|-----------------|----------------|------------------|--------------------|---------------------|---------------------|----------------------|--------------------------|---|
| 14        | A         | Hakuun          | teler 1        | 0                | 6.7                | 7.2                 | 0.0                 | 1.4                  | -                        | Pea early browning virus (Tobra) + TRV (Tobravirus)               |
| 14        | B         | Hakuun          | teler 1        | 0                | 10.0               | 0.8                 | 0.0                 | 0.0                  | -                        | Tabaksraketvirus (TRV, Tobravirus)                                |
| 15        | A         | Wilbrink Star   | teler 1        | 7.1              | 13.3               | 0.0                 | 8.6                 | 0.9                  | nt                       | Olive mild mosaic virus (OMMV, Necrovirus)                        |
| 15        | B         | Wilbrink Star   | teler 1        | 7.1              | 6.7                | 0.8                 | 1.5                 | 0.0                  | -                        | Olive mild mosaic virus (OMMV, Necrovirus)                        |
| 16        | A         | Matchmaker      | teler 11       | 0                | 0.0                | 0.0                 | nt                  | nt                   | nt                       | nt  |
| 16        | B         | Matchmaker      | teler 11       | 0                | 0.0                | 0.0                 | nt                  | nt                   | nt                       | nt  |
| 17        | A         | First Class     | teler 10       | 0                | 0.0                | 2.4                 | 0.0                 | 0.9                  | -                        | nt  |
| 17        | B         | First Class     | teler 10       | 0                | 0.0                | 2.4                 | 0.0                 | 1.9                  | -                        | nt  |
| 18        | A         | Denmark         | teler 9        | 0                | 0.0                | 0.0                 | nt                  | nt                   | nt                       | nt  |
| 18        | B         | Denmark         | teler 9        | 0                | 0.0                | 0.0                 | nt                  | nt                   | nt                       | nt  |
| 19        | A         | Conqueror       | teler 8        | 0                | 0.0                | 0.8                 | 1.6                 | 2.4                  | nt                       | nt  |
| 19        | B         | Conqueror       | teler 8        | 0                | 0.0                | 2.4                 | 0.0                 | 0.0                  | -                        | nt  |
| 20        | A         | Algarve         | teler 7        | 0                | 0.0                | 3.2                 | 0.0                 | 0.0                  | -                        | nt  |
| 20        | B         | Algarve         | teler 7        | 0                | 0.0                | 0.0                 | 0.0                 | 0.0                  | nt                       | nt  |
| 21        | A         | Malaysia        | teler 6        | 0                | 0.0                | 0.0                 | nt                  | nt                   | nt                       | nt  |
| 21        | B         | Malaysia        | teler 6        | 0                | 0.0                | 0.0                 | 4.4                 | nt                   | nt                       | nt  |
| 22        | A         | Escape          | teler 6        | 4.3              | 0.0                | 3.2                 | 14.8                | 0.9                  | -                        | nt  |
| 22        | B         | Escape          | teler 6        | 4.3              | 0.0                | 7.2                 | 1.7                 | 4.4                  | -                        | nt  |
| 23        | A         | Margarita       | teler 5        | 0                | 0.0                | 1.6                 | 0.0                 | 0.8                  | -                        | nt  |
| 23        | B         | Margarita       | teler 5        | 0                | 0.0                | 0.8                 | 0.0                 | 0.0                  | -                        | nt  |
| 24        | A         | Shirley         | teler 4        | 3.4              | 0.0                | 5.6                 | 1.5                 | 0.7                  | -                        | nt  |
| 24        | B         | Shirley         | teler 4        | 3.4              | 7.9                | 4.8                 | 23.4                | 13.8                 | -                        | nt  |
| 25        | A         | Viking          | teler 2        | 0                | 0.0                | 6.4                 | 7.9                 | 0.9                  | -                        | nt  |
| 25        | B         | Viking          | teler 2        | 0                | 1.7                | 3.2                 | 1.6                 | 3.4                  | -                        | nt  |
| 26        | A         | Silver Dollar   | teler 2        | 2.6              | 1.7                | 0.8                 | 0.0                 | 1.7                  | -                        | OMMV + Grapevine inner necrosis virus (Trichovirus)               |
| 26        | B         | Silver Dollar   | teler 2        | 2.6              | 1.7                | 0.8                 | 9.3                 | 0.0                  | -                        | nt  |
| 27        | A         | Christmas Dream | teler 3        | 0                | 0.0                | 0.0                 | nt                  | nt                   | nt                       | nt  |
| 27        | B         | Christmas Dream | teler 3        | 0                | 0.0                | 0.0                 | nt                  | nt                   | nt                       | nt  |
| 28        | A         | Conqueror       | teler 3        | 0                | 0.0                | 0.0                 | nt                  | nt                   | nt                       | nt  |
| 28        | B         | Conqueror       | teler 3        | 0                | 0.0                | 0.0                 | nt                  | nt                   | nt                       | nt  |
| 29        | A         | Jazz            | teler 3        | 0                | 0.0                | 4.0                 | 2.1                 | 0.0                  | +                        | nt  |
| 29        | B         | Jazz            | teler 3        | 0                | 0.0                | 3.2                 | 0.0                 | 0.9                  | +                        | nt  |
| 30        | A         | Andre Citroen   | teler 3        | 0                | 33.3               | nt                  | 0.0                 | nt                   | nt                       | nt  |
| 30        | B         | Andre Citroen   | teler 3        | 0                | 26.6               | nt                  | 0.0                 | nt                   | nt                       | nt  |
| 4         | A         | EN 0288         | BKD monsterkas | 0                | 8.3                | nt                  | 0.0                 | 0.0                  | nt                       | Brome mosaic virus (Bromovirus) + Arabis mosaic virus (Nepovirus) |
| 4         | B         | EN 0288         | BKD monsterkas | 0                | 10.0               | nt                  | 0.0                 | 0.0                  | nt                       | nt  |
| 3         | A         | EN 0040         | BKD monsterkas | 1.3              | nt                 | nt                  | nt                  | 2.3                  | nt                       | nt  |
| 3         | B         | EN 0040         | BKD monsterkas | 1.3              | nt                 | nt                  | nt                  | 0.0                  | nt                       | nt  |
| 5         | A         | EN 0784         | BKD monsterkas | 0.7              | nt                 | nt                  | nt                  | 0.0                  | nt                       | nt  |
| 6         | A         | EN 0542         | BKD monsterkas | 1.5              | nt                 | nt                  | nt                  | 2.3                  | nt                       | nt  |
| 6         | B         | EN 0542         | BKD monsterkas | 1.5              | nt                 | nt                  | nt                  | 1.9                  | nt                       | nt  |
| 7         | A         | EN 1109         | BKD monsterkas | 4.0              | nt                 | nt                  | nt                  | 0.0                  | nt                       | nt  |
| 7         | B         | EN 1109         | BKD monsterkas | 4.0              | nt                 | nt                  | nt                  | 0.0                  | nt                       | nt  |
| 12        | A         | AE1418          | BKD monsterkas | 3.3              | nt                 | nt                  | nt                  | 0.0                  | nt                       | nt  |
| 12        | B         | AE1418          | BKD monsterkas | 0.0              | nt                 | nt                  | nt                  | 0.0                  | nt                       | nt  |
| 13        | A         | AE1069          | BKD monsterkas | 22.0             | nt                 | nt                  | nt                  | 22.0                 | nt                       | nt  |



## 4 Conclusies

Aan het begin van dit project zijn er een drietal vragen gesteld. Deze drie vragen zijn:

- Wanneer Augustaziek uitdooft in een partij, is het virus dan echt afwezig, of heeft men met een latente (niet zichtbare) infectie te maken? Genezen van virus is nl. geen gangbaar verschijnsel in de plantenwereld.
- Hoe groot is het risico op zichtbare schade in de broei van een partij die op het veld zichtbare Augustaschade vertoonde? Kan de schade in de broei voorspeld worden?
- Zijn er factoren/indicatoren die een 'Augusta-jaar' aankondigen?

Afgaande op de resultaten die zijn gepresenteerd in hoofdstuk 3 zijn op bovenstaande vragen geen kraakheldere antwoorden te geven, daarvoor zijn de aantallen partijen en herhalingen te beperkt. Er zijn dankzij dit onderzoek wel een aantal nieuwe inzichten naar voren gekomen en kunnen er wel opmerkingen en denkrichtingen worden aangegeven bij deze vragen.

Allereerst heeft dit onderzoek meer inzicht gegeven in de betrokken virussen bij de Augustaziek in tulp. Lang werd aangenomen dat de veroorzaker van deze ziekte het tabaksnecrosevirus (TNV) is, maar in dit onderzoek kwam (nogmaals) naar voren dat de veroorzaker van Augusta het *Olive mild mosaic virus* is. Dit is zo lang onduidelijk gebleven omdat deze twee virussen zeer op elkaar lijken. Ook in het manteleiwit, het eiwit dat wordt gedetecteerd in ELISA, zijn grote overeenkomsten bij deze twee virussen. De manteleiwitten van beide virussen worden herkend door het antiserum dat is gemaakt tegen TNV. In een TNV-ELISA zullen dus zowel TNV als OMMV een positieve reactie geven. We kunnen pas onderscheid maken tussen beide virussen wanneer moleculaire methoden (op RNA-sequentie niveau) worden gebruikt.

Ook wordt wel eens gesproken over menginfecties van TNV, OMMV en nog een derde virus, *Olive latent virus-1* (OLV-1). Ook dit laatste virus behoort tot hetzelfde virusgeslacht als TNV en OMMV (genus *Necrovirus*). Deze drie virussen lijken erg op elkaar en de sequentieverschillen zijn gering. De resultaten van de NGS-analyse laten echter duidelijk een infectie met maar één virus zien, een virus dat taxonomisch het meest overeenkomt met OMMV.

Op de vraag of in partijen waar Augustaziek is 'uitgedoofd' het virus latent kan voorkomen is voorzichtig een positief antwoord te geven. In het nu uitgevoerde onderzoek is één partij gevonden (nr. 22) die tijdens de afbroei (kasteelt) geen symptomen liet zien, terwijl toch een infectiepercentage van 14.8% werd gevonden in herhaling A en een percentage van 1.7 in herhaling B (zie tabel 4). De mogelijkheid blijkt dus aanwezig dat partijen van bepaalde cultivars en onder bepaalde omstandigheden geen symptomen laten zien van een infectie met OMMV.

Bij de tweede vraag, waarin gevraagd wordt hoe groot het risico op zichtbare schade in de afbroei is na waarneming van Augusta in de bollenteelt op het veld en of de schade voorspeld kan worden, is het lastiger om conclusies te trekken op basis van de resultaten. De partijen die zijn aangeleverd door telers, zijn allemaal geselecteerd op basis van symptomen van Augusta tijdens de bollenteelt. In maar liefst vijf partijen blijkt OMMV helemaal niet voor te komen (zowel in de toetsen vóór de teelt en in de natoetsing op de bollen) en geven deze vijf partijen totaal geen symptomen in de latere kasteelt (afbroei) of op het veld. De reden hiervoor kan niet uit de experimenten worden afgeleid, omdat de symptomen van Augusta niet zijn waargenomen tijdens deze experimenten, maar door de telers zelf onder (per teler andere) praktijkomstandigheden. Het is niet te achterhalen of de waargenomen Augustasympptomen werkelijk symptomen waren van OMMV en dat de zieke planten allemaal zijn afgestorven en zodoende niet in de partij terecht zijn gekomen (dan zou uitdoven dus wel degelijk optreden) of dat deze symptomen bijvoorbeeld een fysiologisch oorzaak hadden.

Wel is in de experimenten duidelijk naar voren gekomen dat andere virussen betrokken kunnen zijn bij de ontwikkeling van symptomen die op Augustaziek lijken. Voorbeelden hiervan zijn partij 14, waarin twee tobnavirussen (tabaksratelvirus en vroege-verbruiningsvirus van erwt) aanwezig zijn, en partij 4, waarin een menginfectie van Arabis mozaïekvirus en het dravikmozaïekvirus (*Brome mosaic virus*) werd gevonden. Wanneer echter in de toets op het leverbaar materiaal OMMV is gevonden, is de correlatie met symptomen in de afbroei meestal goed. Dit was echter niet het geval in partij 22, waarin, zoals hierboven al is aangehaald, geen symptomen in de afbroei werden waargenomen.

Op de derde vraag, of er factoren zijn die een Augusta-jaar aankondigen, kan helaas uit dit onderzoek geen antwoord worden gegeven. Het is niet mogelijk om de waarnemingen van symptomen, de virusanalyses en de

antwoorden in de enquête op een zodanige manier te koppelen dat er goede indicatoren gevonden kunnen worden ter voorspelling van het optreden van Augusta. We zullen het voorlopig moeten doen met de waarnemingen en analyses uit het verleden waarin bijvoorbeeld wordt aangegeven planten bij hoge grondtemperatuur, vochtuishouding, vruchtwisseling van invloed zijn op het optreden van Augusta.

Dit onderzoek heeft de volgende nieuwe inzichten opgeleverd:

- Symptomen in tulp die in de praktijk Augustaziek worden genoemd worden over het algemeen veroorzaakt door infectie met OMMV, maar ook andere virussen kunnen op Augusta lijkende schadebeelden geven.
- OMMV lijkt in de afbroei ook symptomeloos te kunnen voorkomen, maar dat zal afhankelijk zijn van cultivar en teeltomstandigheden (over het algemeen wordt aangenomen dat bij hogere temperaturen minder schade wordt waargenomen).
- Een aantal partijen die als Augustapartijen waren aangemerkt bleken vrij te zijn van OMMV in de virustoets in het leverbaar materiaal en in de boltoetsen na kasteelt en veldteelt. Tijdens deze teelten werd geen schade waargenomen in deze partijen. Of dit ook daadwerkelijk betekent dat uitdoving heeft plaatsgevonden is niet te concluderen omdat ten tijde van de waarneming van de symptomen de zieke planten niet op virusinfecties zijn getoetst.

# Bijlage 1: vragenlijst enquête Augustaziek

## Algemeen inventarisatie formulier "Augustaziek"

Naam: : .....

Naam bedrijf : .....

Telefoonnummer : .....

Emailadres: : .....

### Het waarom van deze evaluatie.

Dit evaluatieformulier maakt deel uit van het project Augustaziek, dat door het Productschap Tuinbouw wordt gefinancierd. Doel is de kennis te vergroten m.b.t. het ziekteverloop en de factoren die hierbij een rol spelen. Augustaziek wordt veroorzaakt door het tabaks necrose virus (TNV). Het doel van deze oriënterende evaluatie is om partijen met een aantasting met TNV, die nu worden afgebroeid of zijn opgeplant te selecteren en verder te kunnen monitoren voor dit onderzoek. Het formulier is bedoeld voor telers, die op dit moment of vorig jaar last hadden van TNV en graag aan dit onderzoek mee willen doen. Naast deze inventarisatie zal het onderzoek bestaan uit het monitoren van de partijen op de bedrijven, een aanvullende enquête, waarin dieper op de specifieke geschiedenis en teeltomstandigheden van de partijen wordt ingezoomd en het nemen van bladmonsters voor analyse op TNV en andere virussen, die voor het schade verloop van belang zijn. Dit alles met als ultieme doel om deze ziekte beter beheersbaar te maken in de toekomst.

### Hoe de evaluatie in te vullen.

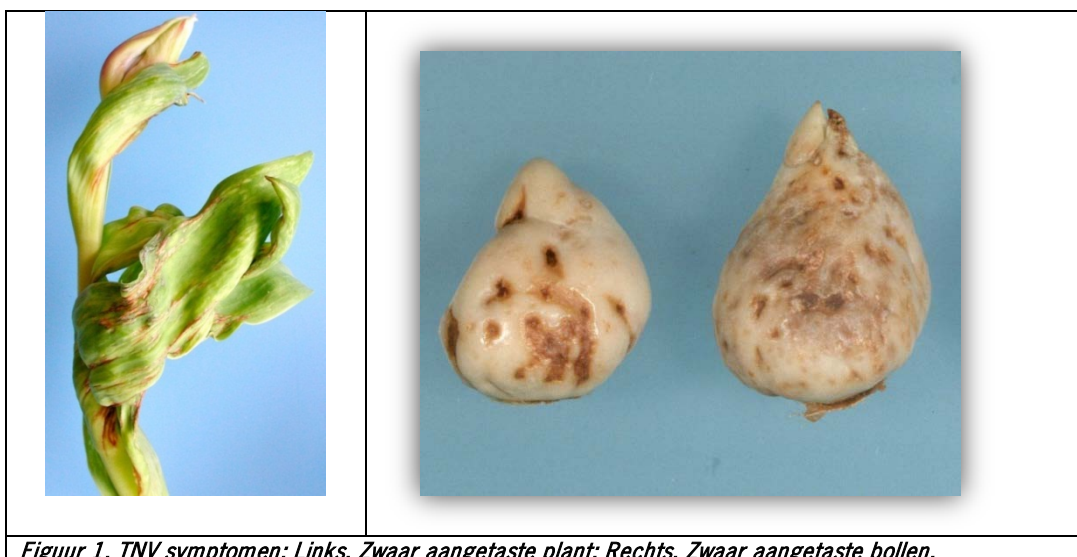
De evaluatie bestaat uit drie onderdelen:

- Deel I: algemene vragen
- Deel II: vragen m.b.t. schade en voorvrucht
- Deel III: vragen bij de doorteelt van het plantgoed en afbroei van het leverbaar.

Deel I betreft een aantal algemene vragen, slechts één keer in te vullen. Deel II en Deel III dienen voor elke cultivar apart ingevuld te worden.

**Let op! Vul in deel II en III in de header ook de CV naam en het BKD partij nr in.**

*Formulieren kunnen retour worden gezonden naar [arie.vanderlans@wur.nl](mailto:arie.vanderlans@wur.nl). Bij vragen kunt u bellen met tel. nr.: +31 (0)252 462121 en vragen naar Robert Dees of Arie van der Lans.*



**Figuur 1. TNV symptomen: Links. Zwaar aangetaste plant; Rechts. Zwaar aangetaste bollen.**

**I. Algemene vragen:**

|    |  |  |
|----|--|--|
| 1. | Hoeveel partijen tulp teelt u?<br>Hoeveel CV's?  |  |
| 2. | Hoeveel partijen hebben een aantasting met TNV ?<br>En hoeveel CV's?   |  |
| 3. | Heeft u eerder TNV gehad in partijen op uw bedrijf?  |  |
| 4. | Wat is uw bouwplan in grote lijnen?  |  |
| 5. | Maakt u bij de volgorde van werken bij bv. rooien, sorteren, uitzoeken, onderscheidt tussen TNV zieke en gezonde partijen?<br>Zo ja op welke manier houdt u er rekening mee? |  |

**Vul de rest van de vragen apart in voor de partijen uit uw assortiment waar op dit moment TNV in voorkomt. Denk hierbij om het invullen van de cultivarnaam en het BKD partij nr. in de headers.**



**II. Vragen mbt schade en voorvrucht:** Bij meerkeuze vragen omcirkelen of aankruizen wat van toepassing is.

|   |   |   |
|---|---|---|
| 1 | Wanneer is de TNV aantasting in de partij voor het eerst waargenomen?   | Datum:  |
| 2 | Wat was de mate van schade (=ziektesympomen) in 2012?   | Lichte Redelijke Zware ziektesymptomen  |
| 3 | Wat was het percentage zieke planten in 2012?   | Licht <5% Redelijk 5-20% Zwaar >20%   |
| 4 | Is infectie met Augustaziek bevestigd met een labtoets?   | Ja nee  |
| 5 | Ziet u verschil in TNV aantasting op het veld tussen ondereind en boveineind. Was de schade overal even groot?  | A. Geen schade ondereind, wel in boveineind.<br>B. Wel schade in ondereind, niet in boveineind<br>C. Schade gelijk in ondereind en boveineind<br>D. Meer schade in ondereind t.o.v. boveineind<br>E. Meer schade in boveineind t.o.v. ondereind |
| 6 | Bij een meerjarige besmetting is de schade toegenomen, gelijk gebleven, afgenomen in vergelijking met voorgaande jaren voor wat betreft:<br><br>Schadebeeld planten<br><br>Percentage zieke planten | <b>Schadebeeld:</b><br>Toegenomen                      gelijk                      afgenomen<br><br><b>% zieke planten:</b><br>Toegenomen                      gelijk                      afgenomen  |
| 7 | Bij een eerstejaars aantasting in 2012.<br>Wat was de voorvrucht:<br><br>Vond teelt plaats op eerder gescheurd grasland, zo ja hoeveel jaren terug was deze gescheurd:                              | Gewas:  |
| 8 | Waren er TNV symptomen zichtbaar aan de bollen van het plantgoed of leverbare bollen na rooien in 2012? (zie fig. 1B)   | Ja nee  |

### IIIa. Vragen bij de doorteelt van het plantgoed en afbroei van het leverbaar

| 1.                 | Waar is de partij nu?   | <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Wordt afgebroeid (ga door naar 2)</li> <li>○ staat op het veld (ga door naar 3)</li> <li>○ Verkocht (ga door naar 4)</li> </ul>  |                    |                    |    |  |    |  |    |  |    |  |    |  |
|--------------------|---|---|--------------------|--------------------|----|--|----|--|----|--|----|--|----|--|
| 2.                 | <p><b>Broei:</b><br/>Waar vindt afbroei plaats</p>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Eigen bedrijf</li> <li>○ Elders (svp naam en telefoonnummer van contactpersoon invullen):</li> </ul>   |                    |                    |    |  |    |  |    |  |    |  |    |  |
|                    | Wanneer zijn/worden de bollen geplant? Wat zijn de verwachte oogstdata?                     | <table border="0"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;"><b>Plant datum</b></th> <th style="text-align: left;"><b>Oogst datum</b></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>2.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>3.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>4.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>5.</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | <b>Plant datum</b> | <b>Oogst datum</b> | 1. |  | 2. |  | 3. |  | 4. |  | 5. |  |
| <b>Plant datum</b> | <b>Oogst datum</b>  |   |                    |                    |    |  |    |  |    |  |    |  |    |  |
| 1.                 |   |   |                    |                    |    |  |    |  |    |  |    |  |    |  |
| 2.                 |   |   |                    |                    |    |  |    |  |    |  |    |  |    |  |
| 3.                 |   |   |                    |                    |    |  |    |  |    |  |    |  |    |  |
| 4.                 |   |   |                    |                    |    |  |    |  |    |  |    |  |    |  |
| 5.                 |   |   |                    |                    |    |  |    |  |    |  |    |  |    |  |
|                    | Heeft u bezwaar tegen een bezoek door ons aan de teeltlocatie en het nemen van bladmonsters | Ja    Nee   |                    |                    |    |  |    |  |    |  |    |  |    |  |
|                    | Welke gegevens monitort u zelf tijdens de teelt?  | <p><b>Temperatuur</b><br/>lucht    water    grond</p> <p><b>Bemesting</b></p> <p><b>Watergift</b></p> <p><b>Anders (svp benoemen):</b></p>  |                    |                    |    |  |    |  |    |  |    |  |    |  |

### IIIb. Vragen bij de doorteelt van het plantgoed en afbroei van het leverbaar

|    |  |  |
|----|--|--|
| 3. | <p><b>vollegronds teelt</b></p> <p>Waar vindt de teelt plaats?</p>                           | <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Eigen bedrijf</li> <li>○ Elders (svp naam en telefoonnummer van contactpersoon invullen of indien eigen perceel de teeltlocatie(s)):</li> </ul> |
|    | Wanneer zijn de tulpen geplant?  | Plantdatum:  |
|    | Op welke grond zijn de tulpen geplant?   | Klei      zavel      zand      anders:<br><br>% afslibbaar:      % organische stof:  |
|    | Hoe waren de omstandigheden tijdens het planten?   | Grond:    droog    vochtig    nat<br>Bodemtemperatuur:      °C<br>Luchttemperatuur:      °C<br>vorstperiodes (data):   |
|    | Heeft u bezwaar tegen een bezoek door ons aan de teeltlocatie en het nemen van bladmonsters? | Ja      Nee  |
|    | Welke gegevens monitort u zelf tijdens de teelt?   | <p><b>Temperatuur</b></p> <p>lucht    water    grond</p> <p><b>Bemesting</b></p> <p><b>Watergift</b></p> <p><b>Anders (svp benoemen):</b></p>  |
| 4. | <p><b>Verkoop</b></p> <p>Is het mogelijk de partij bij de koper te volgen?</p>               | Ja      Nee<br><br>Indien Ja, svp naam en telefoonnummer van contactpersoon vermelden  |

Overige opmerkingen:



## Bijlage 2: aanmeldingsformulier Actieplan

### Aanmeldingsformulier Actieplan 'Minder Virus in Tulp'

Ja, ik wil graag actief betrokken worden bij het Actieplan 'Minder virus in Tulp'

Ja, ik werk ook graag mee aan het onderzoek

Naam: : .....

Naam bedrijf : .....

Telefoonnummer : .....

Emailadres: : .....

**Ik ben een**

- Teler
- Handelaar/exporteur
- Broeier
- Teeltadviseur
- Middelenleverancier
- .....

**Virussen van interesse:**

- Tulpenmozaïekvirus (TBV)
- Tulpenvirus X (TVX)
- Augusta-ziek (TNV)
- Arabis-mozaïekvirus (ArMV)
- .....

### Aanmeldingsformulier Actieplan 'Minder Virus in Tulp'

Ja, ik wil graag actief betrokken worden bij het Actieplan Minder virus in Tulp

Ja, ik wil werk ook graag mee aan het onderzoek

Naam: : .....

Naam bedrijf : .....

Telefoonnummer : .....

Emailadres: : .....

**Ik ben een**

- Teler
- Handelaar/exporteur
- Broeier
- Teeltadviseur
- Middelenleverancier
- .....

**Virussen van interesse:**

- Tulpenmozaïekvirus (TBV)
- Tulpenvirus X (TVX)
- Augusta-ziek (TNV)
- Arabis-mozaïekvirus (ArMV)
- .....