

A
3
D
71

320 + 327.07

Stamboek nr. 5228

PROEFSTATION VOOR DE GROENTEN- EN FRUITTEELT ONDER GLAS, NAALDWIJK

Twee nieuwe ziekteverschijnselen bij knolfresia's

door:

H.J.M. van Dorst

Naaldwijk, augustus 1972

No 518/72

2203046

Twee nieuwe ziekteverschijnselen in knolfresia's

Inleiding:

Van de twee virusziekten die tot op heden in knolfresia's zijn gevonden, namelijk Phaseolus virus 2 en Freesia mozaiekvirus komt de laatstgenoemde ongetwijfeld het meest verbreid voor (van Koot e.a. 1954). Zodanig zelfs dat van vele oudere cultivars geen virusvrije planten meer te vinden zijn. Bij enige gele en witte cultivars zijn bij aanwezigheid van Freesia mozaiekvirus noch blad- noch bloemafwijkingen te zien, terwijl bij andere, namelijk rode en blauwe, geen blad- doch uitsluitend bloemafwijkingen vallen waar te nemen, bestaande uit streepjes en vlekjes. Afgezien van dit ziektebeeld in de bloemen, leek het er op dat besmette cultivars in quantitatief opzicht ogenschijnlijk niet van een aantasting door het Freesia mozaiekvirus te lijden hadden. Opbrengstvergelijkingsproeven konden niet genomen worden omdat er in het begin van de zestiger jaren in het toen aanwezige sortiment geen virusvrije planten van geschikte cultivars aanwezig waren. Om toch proeven in deze richting te kunnen nemen stelde de N.V. Handelskwekerij M.C. van Staaveren te Aalsmeer in het najaar van 1963 de toen nog niet in de handel zijnde donkerrose cultivar "Rose Marie" ter beschikking. Deze partij was vrij van de beide genoemde virusziekten. Een gedeelte der planten is toen, door middel van perssap uit de bladeren, besmet met Freesia mozaiekvirus op de bladeren en bloemstengels.

Kort nadat in 1963 de virusvrije partij was uitgeplant kwam hierin een aantal planten met afwijkingen voor die ons onbekend waren, voorlopig wordt dit ziektebeeld "Bladnecrose" (B.N.) genoemd.

In 1965 werd opnieuw in deze partij een ziektebeeld waargenomen dat in het verleden wel eens meer bij enige cultivars was gezien. Voorlopig wordt dit ziektebeeld "Extreme blad- en knolnecrose" (E.B.K.N.) genoemd.

Naast opbrengstvergelijkingsproeven is onderzoek verricht naar de oorzaak en verspreiding van beide ziekten. Voor zover niet anders is vermeld, is steeds gebruik gemaakt van de cultivar "Rose Marie".

Bladnecrose

Ziektebeeld:

De eerste symptomen bij planten gegroeid uit knollen, ontstaan op z'n vroegst op het 4e loofblad. Dit kan wel 9 - 10 weken na het uitpoten zijn. Bij planten gegroeid uit kralen op z'n vroegst op het 2e loofblad. Er ontstaat, beginnend bij de bladtop, een chlorose-achtig beeld in de vorm van lichtgroene vlekjes en strepen. Later over het gehele blad verspreid worden deze vrij snel geel en na korte tijd grijs-bruin waardoor het geheel zich voordoet als een necrotisch beeld (Fig. 1), soms zijn alleen maar enkele lichtgrijze strepen op de onderste bladschede waarneembaar. Op de bloemen en knollen vallen geen afwijkingen waar te nemen. Eer dergelijk gewas vertoont een minder goede stand dan een gezond gewas.

Er zijn aanwijzingen dat bij lagere temperaturen en vochtige grond en sterke schommelingen in het klimaat het ziektebeeld erger is dan bij hogere temperaturen en drogere grond. Men zou bij dit ziektebeeld aan een virusziekte kunnen denken.

Extreme blad- en knolnecrose:

Ziektebeeld:

Voor dit ziektebeeld geldt in principe hetzelfde als is vermeld bij B.N. Het kan echter al bij het 1e loofblad zichtbaar zijn. Verder verloopt het hele proces veel sneller en het ziektebeeld wordt veel heviger (Fig. 2). Veel planten sterven zonder tot bloemvorming te zijn gekomen vroegtijdig af.

Voor zover er nog wel bloemen zijn gevormd vertonen deze sterke afwijkingen. Meestal zijn dan slechts 2-3 bloemen per kam aanwezig, ze zijn veel kleiner dan de gezonde en de bloemkroon-slippen zijn sterk gereduceerd. Praktisch alle knollen en kralen van dit type planten hebben necrotische plekken, die aan de buitenzijde ontstaan, of zijn reeds geheel verrot. Voor zover er nog ogenschijnlijk gave knollen en kralen worden gerooid, zullen deze toch of tijdens de preparatie de afwijkingen gaan vertonen, uiteindelijk gelijkend op mummies, of na wederom uitplanten (Fig. 3).

Planten van de cultivar Rose Marie, door deze ziekte aangetast, zijn volkomen waardeloos. Is een hele partij zo dan is de opbrengstderving aan bloemen en knollen 100 %.

Op het eerste gezicht zou deze ziekte wel voor Fusarium kunnen worden aanzien. De typische vaatbundelverkleuring ten gevolge van Fusarium treedt echter niet op bij E.B.K.N.

Overdracht

a. Overdracht bij de vermenigvuldiging van fresia's.

Omtrent de overdracht van B.N. met het zaad, is geen speciaal onderzoek verricht. Het sortiment van de laatste 2-3 decennia bestaat praktisch uitsluitend uit cultivars die vegetatief worden vermeerderd. Indien deze cultivars inderdaad clonen zijn en dus uit één knol, in casu één zaadje, zijn ontstaan, is het niet waarschijnlijk dat deze ziekte via het zaad in het gewas is gekomen, omdat er bij vele cultivars zieke en gezonde planten voorkomen.

Om na te gaan of deze ziekte in het vegetatieve vermeerderingsmateriaal, in casu de knollen en kralen, aanwezig blijft, werden in maart 1965 tijdens de bloei van de cultivar Rose Marie 8 gezonde en 16 planten met B.N. uitgezocht. Gedurende 4 jaar werden alle knollen en kralen die uit deze planten ontstonden apart uitgeplant en beoordeeld (Tabel 1). De nakomelingschap van de gezonde bleef geheel gezond en van de planten met B.N. kregen allen dit ziektebeeld. Onomstotelijk is komen vast te staan dat deze ziekte met het vegetatieve vermeerderingsmateriaal wordt overgebracht.

Dit geldt eveneens voor E.B.K.N. waarvan vermeerderingsmateriaal geen jaren kan worden gecontroleerd, omdat de knollen en kralen zo ernstig worden aangetast, dat ze spoedig te gronde gaan.

b. Overdracht bij het afsnijden van de bloemen.

Tijdens de teelt van fresia's worden weinig cultuurhandelingen verricht, waarbij het gewas zodanig mechanisch beschadigd wordt dat de ziekten van zieke naar gezonde planten zouden kunnen worden overgebracht. Alleen bij het afsnijden van de bloemstengels is deze mogelijkheid aanwezig. Hierover zijn met B.N. en E.B.K.N. een aantal proeven genomen.

Bladnecrose: Om vast te stellen of mechanische overdracht in principe mogelijk is, is eerst in twee proeven getracht de ziekte via het blad over te brengen. Voor deze beide bladbesmettingsproeven 1 en 3 tabel 2, is sap gebruikt van Rose Marie planten met B.N. Het sap is uit de bladeren geperst en 2 maal met water verdund. De inoculatie geschiedde op gezonde planten in het derde loofbladstadium door middel van carborundum en een watje. In hetzelfde seizoen werden geen bijzonderheden aan de planten opgemerkt. Door de knollen te rooien en later weer uit te poten, konden de planten nogmaals gedurende een seizoen gecontroleerd worden.

Voor de bloemstengelbesmettingsproeven 2 en 5 tabel 2 is eveneens sap gebruikt van Rose Marie planten met B.N. Het sap is uit de bladeren geperst en 1 maal met water verdund. In proef 2 geschiedde de inoculatie door na het afsnijden van de bloemstengels op het wondvlak een druppel verdund sap te brengen met behulp van een pipet. In proef 5 werd na het afsnijden van de bloemstengels op het overgebleven stengelstukje een smal rubber slangetje van 10 cm lengte geplaatst, zodanig dat 0,5 cm van het slangetje over het stengelstuk was geschoven. Hierna werd het slangetje volgegoten met het inoculum met behulp van een injectiespuit. In elk slangetje bevond zich 0,75 ml inoculum. Na 24 uur bleek het in de meeste slangetjes nog aanwezig te zijn. Slechts enkele waren meteen na het vullen weer leeggelopen. In proef 4 tabel 2 geschiedde de inoculatie door bij het afknippen van de bloemstengels een telkens opnieuw besmette schaar te gebruiken. Dit gebeurde door beurtelings een stengel van een Rose Marie plant met B.N. en een stengel van een proefplant af te knippen. Deze methode komt overeen met wat tijdens het oogsten in de praktijk geschied. Van deze proeven zijn de knollen en kralen gerooid, geprepareerd en wederom uitgeplant om de planten gedurende een heel seizoen onder controle te houden. De tussen haakjes geplaatste cijfers in tabel 2 hebben betrekking op planten die uit de kralen zijn gegroeid. In geen van deze 5 proeven was het mogelijk door middel van blad- en bloemstengelinoculaties het B.N. verschijnsel naar gezonde fresia's over te brengen.

Extreem blad- en knolnecrose : Om te kunnen vaststellen of E.B.K.N. tijdens het afsnijden van de bloemstengels kan worden overgebracht, is sap gebruikt van Rose Marie planten, met dit ziektebeeld. Het sap is geperst uit ervoor bevroren bladeren en 2 maal met water verdund. De inoculatie in deze proef 1 tabel 3 geschiedde door na het afsnijden van de bloemstengels op het wondvlak een druppel inoculum te brengen met behulp van een pipet.

Omdat in 1965 bij serologisch onderzoek was gebleken dat in een aantal planten met E.B.K.N. het Freesia Mozaiek Virus (F.M.V.) aanwezig was, is ook een bloemstengel-inoculatieproef met F.M.V. uitgevoerd, namelijk proef 2 tabel 3. Hiervoor is sap geperst uit ervoor bevroren bladeren van Rose Marie planten met F.M.V. en 1 maal met water verdund. De inoculatie geschiedde op dezelfde wijze als bij E.B.K.N.. Van deze beide proeven zijn de knollen na preparatie weer uitgepoot en de planten een seizoen onder controle gehouden.

Het merkwaardige feit deed zich voor, dat in proef 1, 1 zieke plant voorkwam, namelijk met gezond uitziende bladeren maar gestreepte en gevlekte bloemen. Dit ziektebeeld geleek op een infectie door F.M.V. In proef 2 werden 6 zieke planten waargenomen eveneens met F.M.V.verschijnselen. Serologisch onderzoek wees uit dat alle 7 planten met F.M.V. waren geïnfecteerd (Fig. 4). Het oorspronkelijke E.B.K.N.beeld kon dus niet gereproduceerd worden op gezonde fresiaplantjes, wel bleek dat in E.B.K.N. het F.M.V. aanwezig was. Het zou er dus een component van kunnen zijn als we veronderstellen dat E.B.K.N. uit een complex bestaat. Dit laatste vermoeden we al enige tijd, namelijk dat E.B.K.N. zou worden veroorzaakt door B.N. met een andere component. Het lag dus voor de hand een partij Bladnecrose-planten te gaan besmetten met F.M.V.. Dit is gebeurd in proef 3 tabel 3. Als inoculum is sap gebruikt van bevroren bladeren en bloemen met F.M.V., het werd 1 x met water verdund. Door middel van een pipet werd het inoculum na het afsnijden van de bloemstengel op het wondvlak gebracht. Van deze proef zijn de planten gedurende 2 seizoenen gecontroleerd. Tijdens het eerste seizoen werd inderdaad het E.B.K.N. verschijnsel verkregen, zij het slechts bij 3 (1,7 %) der planten. Gezien dit lage percentage werd voor de zekerheid deze partij nog een tweede seizoen gecontroleerd. Toen was 15 % der planten door E.B.K.N. aangetast. Serologisch werd in deze planten het F.M.V. aangetoond. Ook is gebleken dat een infectie tijdens de bloei met F.M.V. niet het volgende seizoen al tot uiting behoeft te komen, maar dat dit zelfs langer dan een jaar kan duren en dan pas in het tweede seizoen zichtbaar wordt.

Op grond van deze experimenten kan worden vastgesteld dat E.B.K.N. wordt veroorzaakt door een complex van twee factoren, namelijk bij het gelijktijdig aanwezig zijn van B.N. en F.M.V.

c. Overdracht door bladluizen:

Omdat bladluizen nogal eens in fresia's worden aangetroffen, was het voor de hand liggend na te gaan of deze B.N. kunnen overbrengen. Hierover zijn 3 proeven uitgevoerd, 1 met *Macrosiphum euphorbiae* (Thos) en 2 met *Myzus persicae* (Sulzer).

Voor de 1e proef (van nov. 1969 - apr. 1971) werden virusvrije *Macrosiphum euphorbiae* gebruikt. Deze bladluis komt in fresia's het meest voor. Ze werden op virusvrije fresia's vermeerderd. Toen over voldoende exemplaren kon worden beschikt, werd een gedeelte gedurende een week te voeden gezet op jonge planten met B.N. Hierna werden ze overgebracht op 10 jonge gezonde planten en 10 met Freesia mozaiek virus in het 3e loofbladstadium. Steeds 10 ongevleugelde exemplaren per plant.

Na een week werden ze vernietigd. Tegelijkertijd gebeurde hetzelfde met bladluizen die gedurende een week te voeden waren gezet op jonge planten met Freesia mozaiek virus. Hierna werden ze overgebracht op 10 jonge gezonde planten en 10 met B.N.. Op elke plant 10 ongevleugelde. Deze werden eveneens na een week vernietigd. De hiervoor gebruikte fresia's waren alle apart in een pot geplant. De proef is in goed afgesloten kooien genomen. Er werden hetzelfde seizoen geen bijzonderheden aan de planten opgemerkt. Door de knollen van deze planten te rooien en later weer uit te poten, konden ze nogmaals gedurende een seizoen gecontroleerd worden (Tabel 4). In deze proef is het B.N. niet door *Macrosiphum euphorbiae* overgebracht; het Freesia mozaiek virus wel, zij het in beperkte mate, namelijk voor 17% naar gezonde planten en voor 27% naar planten met B.N., waarbij in het laatste geval E.B.K.N. ontstond.

Voor de 2e proef (van nov. 1969 - apr. 1971) werden virus-vrije *Myzus persicae* gebruikt. Enkele honderde exemplaren werden op 4 partijen fresia's losgelaten op het moment dat de eerste bloemen zich openden. De bladluizen kwamen vooral op de bloemen zeer snel tot vermeerdering en door het ontstaan van vele gevleugelden, konden ze zich vrijelijk door de 4 partijen verplaatsen. Aan het einde van de bloei zijn ze vernietigd, de bladluisbezetting heeft 6 weken geduurd. De 4 partijen die vlak bij elkaar in een afgescheiden ruimte waren geplant, bestonden uit 1 partij gezonde, 1 partij besmet met F.M.V. en 2 partijen met B.N. Door de knollen van deze partijen te rooien en een gedeelte ervan het volgend seizoen weer uit te poten konden de planten op ziekteverschijnselen worden gecontroleerd. Van 1 partij met B.N. werden alle knollen en bijbehorende krallen uitgepoot (proef 2 a). Van de overige 3 partijen, elk 324 knollen (proef 2, Tabel 5). Uit deze proef blijkt het B.N. niet door *Myzus persicae* te zijn overgebracht. Echter wel het F.M.V. Naar de gezonde planten maar voor 11 %, naar B.N. voor 28% en 74 % waarbij bij alle planten E.B.K.N.ontstond. Het hoge percentage van 74 kan veroorzaakt zijn doordat deze B.N.partij iets dichter bij de planten met F.M.V. hebben gestaan dan de beide andere partijen.

Voor de 3e proef (van dec. 1970 - febr. 1971) werden virus-vrije *Myzus persicae* gebruikt. Ze werden gedurende een week te voeden gezet op jonge fresiaplantjes met B.N. Hierna zijn ze op onderstaande plantensoorten overgeplaatst;

- Beta vulgaris "Corona"
- Capsella Bursa-pastoris
- Capsicum annuum "Zoete Westlandse"
- Lactuca sativa var. capitata "Deci-Minor"
- Nicotiana clevelandii
- Nicotiana rustica
- Physalis floridana
- Pisum sativum "Mansholt"
- Plantage major
- Raphanus sativus var. radicula "Nr 1, N.V. Rijk Zwaan"
- Tetragonia expansa
- Vicia faba "Witkiem"
- Vinca rosea

Per soort zijn 5 - 10 planten gebruikt en in het 4e loofbladstadium werden op elke plant 8 bladluizen geplaatst. Van elke soort zijn 5 onbehandelde planten aangehouden. Na 2 weken zijn de bladluizen vernietigd. Daarna zijn de planten nog 5 weken onder controle gehouden. Tijdens deze proef is bij geen enkele plant enige reactie waargenomen.

d. Onderzoek naar toetsplanten:

Hierover is enig onderzoek gedaan. In enkele proeven zijn inoculaties verricht met B.N. en E.B.K.N. op de in tabel 6 vermelde plantesoorten. Hiervoor zijn jonge plantjes gebruikt, waarvan gemiddeld 3 bladeren werden geïnoculeerd met behulp van carborundum en een watje. Na de inoculaties zijn de planten afgebroeid. Per soort werden 1 - 3 planten gebruikt. Voor de proeven 1 en 2 is Rose Marie gebruikt met B.N. Het sap is uit de bladeren geperst en 2 maal met water verdund. Voor proef 3 is het inoculum op dezelfde wijze bereid doch als uitgangsmateriaal zijn wortels gebruikt.

Direct na de inoculaties traden bij alle planten in meer of mindere mate verbrandingsverschijnselen op de geïnoculeerde bladeren op, die werden veroorzaakt door een toxische stof uit het fresia-materiaal. Door middel van dialyse en het gebruik van buffers is getracht de verbranding tot een minimum te beperken.

In proef 4 is zowel met B.N. als met E.B.K.N. geïnoculeerd. Na bevroren te zijn is uit bladeren, bloemen en wortels tezamen sap geperst en onverdund geïnoculeerd, de rest van het inoculum is gedurende 24 uur gedialyseerd. In proef 5 zijn drie buffers gebruikt, namelijk a Tris 0,01M. pH 7,2; b 0,01M fosfaat, 0,1 M.KCl, 0,01 M NaCl, 0,001 M Mg Cl₂, 0,001 M CaCl₂, pH 7,2 en c 0,01 M fosfaat, pH 7,2. Er is wortelsap gebruikt van B.N.planten. Aan 20 gram wortels werd 10 ml buffer toegevoegd. Het werd in een mortier gemalen en nadien door kaasdoek geperst. Zo werd 10 ml inoculum verkregen.

Op geen der planten is ooit enige virusreactie waargenomen. Inoculum, uit de wortels bereid, veroorzaakte minder verbrandingsverschijnselen dan uit bladeren. Na dialyse was de verbranding gering. Buffers hadden hierop geen invloed.

Electronenmicroscopisch onderzoek.

Er is enig electronenmicroscopisch onderzoek verricht. Hiervoor werden zowel dooppreparaten als preparaten van gezuiverd fresiasap met B.N. onderzocht. Het heeft echter geen resultaten opgeleverd. In preparaten met E.B.K.N. waren de virusdeeltjes van F.M.V. duidelijk waarneembaar.

Hoge temperatuurbehandeling van knollen en kralen

Hoewel de oorzaak van B.N. nog onbekend is, is door het geven van hoge temperaturen aan knollen en kralen toch geprobeerd of deze hierdoor weer gezond te krijgen zijn. Hierover zijn 2 proeven genomen. In één hiervan zijn ook met F.M.V. besmette kralen gebruikt.

De behandelingen zijn uitgevoerd in een broedstoof. Gedurende de in tabel 7 en 8 aangegeven tijden werden de knollen en kralen er in geplaatst bij de betreffende temperaturen. De natte behandelingen zijn uitgevoerd door ze onder water gedompeld te houden.

De in tabel 7 vermelde proef is uitgevoerd tijdens de 8e week van de knolpreparatie, de proef van tabel 8 in de 4e week.

De preparatieduur was 13 weken en de temperatuur 31 °C.

Bij een aantal series waren de knollen en kralen al meteen zacht toen deze uit de broedstoof kwamen, deze zijn meteen verwijderd. Dit is in de tabel aangegeven met zacht na temperatuurbehandeling. Bij ~~andere~~^{sonmige} series zijn de knollen of kralen zacht geworden tijdens de resterende preparatie. Bij de regelmatig verrichte controle's werden deze verwijderd. In beide tabellen is dit aangegeven met zacht tijdens preparatie.

Na de preparatie zijn de knollen en kralen geplant en gedurende een seizoen gecontroleerd. Slechts bij een serie, namelijk B.N.kralen 72 uur bij 47 °C droog, werden bij de 4 planten geen B.N.verschijnselen geconstateerd. Deze planten werden aangehouden en nogmaals een seizoen gecontroleerd. Toen kregen ze weer wel B.N. Mogelijk heeft deze behandeling enige invloed gehad, zij het slechts van tijdelijke duur.

De temperatuurbehandelingen als zodanig werden door de kralen iets beter doorstaan dan door de knollen, terwijl een droge methode gunstiger is dan een natte. Bij 47 °C kan men het vegetatieve materiaal gedurende 48 uur houden, zonder nadelige gevolgen. Bij 48 °C kan dit gedurende 24 uur. Bij 49 °C gedurende zeker 8 uur en bij 50 °C gedurende zeker 5 uur.

Opbrengstvergelijkingsproeven

Om na te gaan in hoeverre de aanwezigheid van B.N. invloed heeft op de opbrengst aan bloemstengels, knollen en kralen, zijn twee opbrengstvergelijkingsproeven genomen. In één van deze proeven was ook materiaal met F.M.V. aanwezig. Deze proeven zijn op dezelfde zavelgrond uitgevoerd, die tevoren met methyl bromide was ontsmet.

De knollen werden begin november geplant, 90 stuks per m² en de oogst van de bloemstengels vond van $\frac{1}{2}$ maart tot $\frac{1}{2}$ april plaats. Ongeveer 7 weken na de oogst zijn de knollen gerooid. Na 1 week drogen zijn ze geteld en gewogen. De bloemstengels werden in een stadium geoogst, dat de eerste bloem nog net niet geopend was. De lengte van de hoofdstengel is gemeten van de kam tot de eerste zijstengel (haakje). Aan de zijstengels zijn twee metingen verricht. De lengte van de zijstengel is gemeten vanaf de kam tot aan de hoofdstengel. Daarnaast is het stuk hoofdstengel gemeten dat bij de betreffende zijstengel behoorde. Van deze beide metingen is ook de totaallengte vermeld. De oogstbepalingen van de knollen zijn uitgevoerd, nadat deze gedroogd waren en van grond- en wortelresten waren ontdaan.

De resultaten van beide opbrengstvergelijkingsproeven zijn in tabel 9 samengevat. Uit deze tabel blijkt dat bij de cultivar Rose Marie de verschillen tussen gezonde planten en planten met B.N. in beide proeven gering tot zeer gering zijn. Het éne jaar vallen sommige metingen iets gunstiger uit voor de gezonde planten, het andere jaar voor planten met B.N. Ook de invloed van F.M.V. is gering. Het gestreept en gevlekt zijn van de bloemen bij aanwezigheid van dit virus, wat ongewenst is, wordt hier in het midden gelaten.

In beide proeven is het aantal bloemen per hoofdstengel bij planten met B.N. iets lager dan bij de gezonde planten ($P < 0,01$). Ditzelfde geldt ook voor het aantal bloemen per zijstengel in de eerste proef. Dit kan een halve bloem per stengel bedragen. Van de overige bepalingen konden geen betrouwbare verschillen worden vastgesteld.

Discussie

De oorzaak van B.N. kon aan de hand van de uitgevoerde experimenten nog niet worden vastgesteld. Het blijft vooralsnog een vraag of we hier met een virusziekte te maken hebben, hoewel er toch vermoedens in die richting zijn. Wel is komen vast te staan dat E.B.K.N. wordt veroorzaakt door de combinatie van B.N. en F.M.V.

Met een aan zekerheid grenzende waarschijnlijkheid kan worden aangenomen, dat beide ziekteverschijnselen in Nederland reeds in 1950 of nog eerder in bepaalde fresia-cultivars aanwezig waren. Door v. Koot e.a. (1954) wordt vermeld dat de resultaten van het serologisch onderzoek en het ziektebeeld en mate van aantasting bij de verschillende cultivars, de cultivar Snow Queen een geheel aparte plaats inneemt. Zij schrijven: "Wellicht treedt bij deze cultivar nog een ander virus op, hetwelk een aantasting van de knol teweeg kan brengen. Tesamen met het Freesia-virus zou dan een zeer ernstige afwijking op het blad veroorzaakt kunnen worden" en "Het ziektebeeld is zeer duidelijk doch enigszins gecompliceerd".

Het vermelde ziektebeeld stemt overeen met wat we thans bij E.B.K.N. op de cultivar Rose Marie zien. Zowel wat de bladeren, bloemen als knollen betreft. Zo ook kon door van Koot e.a. bij Snow Queen in tal van duidelijk zieke planten serologisch de aanwezigheid van het F.M.V. niet worden vastgesteld. Het lijkt zeer waarschijnlijk dat die duidelijk zieke planten toen reeds het B.N. beeld hebben vertoond. Mogelijk was het B.N.-beeld toen minder opvallend dan we thans bij Rose Marie kennen.

Een interessant aspect doet zich ook bij de oude en al jaren niet meer geteelde cultivar Marion voor. Marion stond bekend om zijn grote gevoeligheid voor virus en werd door v. Koot e.a. gebruikt bij hun proefnemingen aangaande de wijze van overbrenging van het F.M.V. Het ziektebeeld vertoonde grote gelijkenis met wat bij Snow Queen een zeer ernstige afwijking op het blad werd genoemd. Schrijver dezes beschikt thans nog over een partij ogenschijnlijk gezonde Marion welke hij 20 jaar geleden verzamelde. Bij inoculatie met F.M.V. kunnen twee verschillende ziektebeelden ontstaan, namelijk planten die gevlekte en gestreepte bloemen krijgen, terwijl de bladeren er gezond uit blijven zien en planten met E.B.K.N. In het eerste geval wijst het er op dat er Marion planten zijn die geen B.N. hebben, in het tweede geval dat er planten zijn waarbij B.N. latent aanwezig is. In dit verband lijkt het zeer waarschijnlijk dat we eertijds in Marion een cultivar hadden waarbij planten voorkwamen die bij aanwezigheid van B.N. symptomeloos bleven.

Het inoculeren van fresiaplantten met F.M.V. biedt een mogelijkheid om het latent aanwezig zijn van B.N. aan te tonen. Evenzo of een op B.N. gelijkende afwijking hierdoor inderdaad wordt veroorzaakt. In het huidige fresia-sortiment wordt in de nieuwe cultivars die de laatste jaren in de handel worden gebracht, B.N. steeds veelvuldiger aangetroffen. Het lijkt alsof in de loop der jaren de gevoeligheid voor B.N. van veel nieuwgewonnen cultivars toeneemt.

Men ziet hierbij tussen de cultivars onderling nogal wat verschillen in de hevigheid van het B.N.beeld. Zo staat Royal Blue als zeer gevoelig bekend.

In een partij fresia's kan de hevigheid waarin dit ziektebeeld zich openbaart, van jaar tot jaar en van seizoen tot seizoen variëren. Dit wordt ongetwijfeld mede door de kwaliteit van het knolmateriaal en de culturomstandigheden bepaald. Bij goed uitgegroeide knollen, op de juiste wijze geprepareerd en geteeld onder gelijkmatige omstandigheden zal B.N. het minst opvallen. De nadelige invloed zal dan ook het geringst zijn. Bij de in dit onderzoek genomen opbrengstvergelijkingsproeven trad nauwelijks enige nadelige invloed van B.N. op. Dit zal niet altijd zo zijn. Onder ongunstige omstandigheden en bij gevoeliger cultivars zal er een nadelige invloed kunnen zijn. In het algemeen wordt B.N. het meest en hevigst gezien bij decemberplantingen. Dit kan veroorzaakt worden doordat in maart en april de klimatologische omstandigheden bij de glasteelten zulke grote schommelingen vertonen waar het gewas aan bloot staat, in het bijzonder wat de temperatuur betreft.

Bij het optreden van E.B.K.N. zijn de ziekteverschijnselen overduidelijk. De incubatieperiode van het F.M.V. hierbij kan nogal variëren. Een infectie tijdens de bloei kan het volgende seizoen tot uiting komen maar kan ook nog een jaar langer duren en pas in het tweede seizoen zichtbaar worden. Een infectie in het tweede loofbladstadium kan echter reeds na 7 weken tot uiting komen. Dit bleek bij een infectieproef bij de cultivar "Ballerina" waarvan de planten B.N. hadden.

Voor de cultivar "Rose Marie" is in tabel 10 een samenvattend overzicht gegeven van de ziektebeelden bij aanwezigheid van B.N., F.M.V. en de combinatie van beide. Deze tabel is op vele nieuwe cultivars van toepassing. Hierbij dient opgemerkt te worden dat bij witte en gele cultivars bij aanwezigheid van F.M.V. de bloemen niet gestreept en gevlekt zijn. Bij deze is dit virus visueel niet te onderkennen en alleen langs serologische weg vast te stellen.

In het algemeen kan gesteld worden dat een partij fresia's waarin B.N. voorkomt in zeer korte tijd door middel van visuele selectie praktisch geheel opgezuiverd kan worden. In twee jaar tijd is dit bereikbaar.

Samenvatting

Twee nieuwe ziekteverschijnselen in knolfresia's worden beschreven, te weten "Bladnecrose" (Fig. 1), dat uitsluitend op de bladeren valt waar te nemen en "Extreme blad- en knolnecrose" dat behalve op de bladeren (Fig. 2) ook op de bloemen en knollen (Fig. 3) zeer duidelijk symptomen veroorzaakt. Het laatste ziekteverschijnsel is fataal voor de cultivar "Rose Marie" die in dit onderzoek voor alle experimenten is gebruikt.

Bladnecrose gaat over met het vegetatieve vermeerderingsmateriaal (Tabel 1). Dit geldt eveneens voor Extreme blad- en knolnecrose. Door middel van blad- en bloemstengelinoculaties (Tabel 2) en de bladluizen *Macrosiphum euphorbiae* en *Myzus persicae* (Tabel 4 en 5) kon Bladnecrose niet naar gezonde fresiaplantenvoer worden overgebracht. Extreme blad- en knolnecrose werd door middel van bloemstengelinoculaties niet naar gezonde fresiaplantenvoer overgebracht. Wel werd hieruit Freesia mozaïek virus (Fig. 4) verkregen (Tabel 3, Proef 1). Indien Freesia mozaïek virus werd geïnoculeerd op fresiaplantenvoer met Bladnecrose dan werd wel Extreme blad- en knolnecrose verkregen (Tabel 3, proef 3). Dit gelukte eveneens met de bladluizen (Tabel 4 en 5). Toetsplantenvoer werden niet gevonden (tabel 6). In de electronenmicroscoop werden alleen bij Extreme blad- en knolnecrose deeltjes van Freesia mozaïek virus gevonden. De oorzaak van Bladnecrose kon aan de hand van de uitgevoerde experimenten niet worden gevonden. Wel is vastgesteld dat Extreme blad- en knolnecrose wordt veroorzaakt door het complex van Bladnecrose en Freesia mozaïek virus. Knollen en kralen met Bladnecrose konden hiervan niet vrij gemaakt worden door droge en natte temperatuurbehandelingen te geven tot 50 °C (Tabel 7 en 8). In opbrengstvergelijkingsproeven tussen gezonde en plantenvoer met Bladnecrose, waren de verschillen gering tot zeer gering (Tabel 9).

De veronderstelling wordt uitgesproken dat beide ziekteverschijnselen in Nederland reeds in 1950 of nog eerder in bepaalde cultivars, te weten "Snow Queen" en "Marion" aanwezig waren. Bladnecrose in Marion mogelijk latent. In het huidige fresia-sortiment wordt in de nieuwe cultivars Bladnecrose steeds veelvuldiger aangetroffen. Het lijkt alsof in de loop der jaren de gevoeligheid voor Bladnecrose van veel nieuwgewonnen cultivars is toegenomen.

Het inoculeren van fresiaplantenvoer met Freesia mozaïek virus biedt een mogelijkheid om het latent aanwezig zijn van Bladnecrose aan te tonen. Evenzo of een op Bladnecrose gelijkende afwijking hierdoor inderdaad wordt veroorzaakt.

Voor de cultivar "Rose Marie" is in tabel 10 een overzicht gegeven van de ziektebeelden bij aanwezigheid van Bladnecrose, Freesia mozaïek virus en de combinatie van beide. Deze tabel is op vele nieuwe cultivars van toepassing.

De hevigheid waarin het ziektebeeld van Bladnecrose zich openbaart kan van jaar tot jaar en van seizoen tot seizoen variëren. Dit wordt ongetwijfeld mede door de kwaliteit van het knolmateriaal en de culturomstandigheden bepaald. Onder gelijkmatige omstandigheden zal Bladnecrose het minst opvallen

en zal de nadelige invloed ook het geringst zijn. Door visuele selectie kunnen fresia's in zeer korte tijd praktisch geheel van Bladnecrose worden opgezuiverd.

Dankbetuiging

Schrijver betuigt zijn grote erkentelijkheid aan de heren Ir. R. Zandvoort en H.N. Cevat van de Plantenziektenkundige Dienst voor het serologisch onderzoek van vele fresia-monsters. Aan Dr. Ir. D. Peters van het Laboratorium voor Virologie van de Landbouwhogeschool voor het onderzoek met de electronen-microscop en Mej. W. Th. Runia voor de technische assistentie.

H.J.M. van Dorst, Ing.

Literatuur

Koot, Y. van, Slogteren, D.H.M. van, Cremer, M.C. & Camfferman, J., 1954. Virusverschijnselen in Freesia's.
T. Pl. Ziekt. 60: 157-192.

Tabel 1. Het overblijven van Bladnecrose in het vegetatieve
vermeerderingsmateriaal van fnesia.

	<u>Gezond</u>		<u>Bladnecrose</u>	
	<u>Bladeren</u>	<u>Bloemen</u>	<u>Bladeren</u>	<u>Bloemen</u>
1965	-	-	+	-
1966	-	-	+	-
1967	-	-	+	-
1968	-	-	+	-
1969	-	-	+	-

Tabel 2. Inoculatie met Bladnecrose op gezonde fresiabladeren en -bloemstengels.

	Aantal gebruikte planten	Tijd en plaats inoculatie	Toestand tijdens bloei			
			apr. '66	apr. '67	apr. '68	apr. '69
Proef 1	135	dec. '65 bladeren	135 gezond 0 B.N.	169(388) gezond 0 B.N.		
Proef 2	101	apr. '66 bloemstengels		126(297) gezond 0 B.N.		
Proef 3	144	dec. '66 bladeren		144 gezond 0 B.N.	181(426) gezond 0 B.N.	
Proef 4	114	apr. '67 bloemstengels met schaar			123(289) gezond 0 B.N.	
Proef 5	13	apr. '68 bloemstengels met slangetje				19(54) gezond 0 B.N.

De tussen haakjes geplaatste cijfers hebben betrekking op planten die uit de kralen zijn gegroeid.

Tabel 3. Inoculatie met Extreem blad- en knolnecrose, en Freesia Mozaiek Virus op gezonde freesia-bloemstengels.

	Aantal gebruikte planten	Tijd en plaats inoculatie	Inoculatie met	Toestand tijdens bloei		
				apr. '68	apr. '69	apr. '70
Proef 1	459	apr. '67 bloemstengels	E.B.K.N.	1 F.M.V. (0,2%) 458 gezond		
Proef 2	477	apr. '67 bloemstengels	F.M.V.	6 F.M.V. (1,3%) 471 gezond		

Inoculatie met Freesia mozaiek virus op freesia-bloemstengels van planten met Bladnecrose.						
Proef 3	180	apr. '68 bloemstengels	F.M.V.		3 E.B.K.N. (1,7%) 177 B.N.	35 E.B.K.N. (15%) 199 B.N.

Tabel 4. Aantal en percentage fresiaplantten na besmetting door *Macrosiphum euphorbiae*.

Proef 1						
Aantal gebruikte planten	Bladluis besmet met	Aantal planten na preparatie	Gezond	F.M.V.	B.N.	E.B.K.N. (B.N. en F.M.V.)
10 gezond	controle	12	12(100%)	0	0	0
10 gezond	B.N.	12	12(100%)	0	0	0
10 gezond	F.M.V.	12	10(83%)	2(17%)	0	0
10 F.M.V.	controle	15	0	15(100%)	0	0
10 F.M.V.	B.N.	16	0	16(100%)	0	0
10 B.N.	controle	15	0	0	15(100%)	0
10 B.N.	F.M.V.	15	0	0	11(73%)	4(27%)

Tabel 5. Aantal en percentage fresiaplantten na besmetting door *Myzus persicae*.

<u>Proef 2</u>					
Gebuurktc planten	Aantal planten na preparatie	Gezond	F.M.V.	B.N.	E.B.K.N. (B.N. en F.M.V.)
gezond	324	288(89%)	36(11%)	0	0
F.M.V.	324	0	324(100%)	0	0
B.N.	324	0	0	232(72%)	92(28%)
<u>Proef 2a</u>					
B.N.	290	0	0	75(26%)	215(74%)
	544(kralen)	0	0	127(23%)	417(77%)

Tabel 6. Onderzoek naar toetsplanten

	Proef 1		Proef 2		Proef 3		Proef 4		Proef 5		
	Inoculatie met	1 apr '66 B.M. blad	2 Juni '66 B.M. blad	3 Feb. '71 B.M. wortel	4 Mei '71 B.M. E.B.K.M. blad, bloem en wortel	5 mei '71 B.M. wortel	dialyse dialyse		buffer		
Beta vulgaris "Corona"				2-	1-	1-	1-	1-	2-	2-	2-
Callistephus chinensis				2-	1-	1-	1-	1-	2-	2-	2-
Capsicum annuum "Zoete Westlandse"				2-	1-	1-	1-	1-	2-	2-	2-
Chenopodium amaranticolor		2-	3-	2-	1-	1-	1-	1-	2-	2-	2-
C. quinoa		2-		2-	1-	1-	1-	1-			
Cucumis sativus "Sporru"		2-	3-	2-	1-	1-	1-	1-	2-	2-	2-
Datura stramonium		2-	3-		1-	1-	1-	1-			
Gomphrena globosa				2-	1-	1-	1-	1-			
Lycopersicum esculentum "Ailsa Craig"		2-	3-	2-	1-	1-	1-	1-	2-	2-	2-
Nicotiana clevelandii											
N. glauca		2-	3-						2-	2-	2-
N. glutinosa		2-	3-	2-	1-	1-	1-	1-	2-	2-	2-
N. rustica		2-		2-	1-	1-	1-	1-	2-	2-	2-
N. tabacum "Samsun"		2-	3-	2-	1-	1-	1-	1-	2-	2-	2-
N. tabacum "White Burley"		2-	3-	2-	1-	1-	1-	1-	2-	2-	2-
N. tabacum "Xanthi-no"		2-	3-	2-	1-	1-	1-	1-	2-	2-	2-
Petunia hybrida		2-									
Phaseolus vulgaris "Dubbele Witte z.dr."			3-		3-	3-	3-	3-	2-	2-	2-
Physalis floridana				2-							
Pisum sativum "Mansholt"				2-							
Plantago major				2-							
Papaverus sativus var. radicula "Nr.1 NV Rijk Zwaan"				2-							
Sonchus oleraceus			3-								
Spinacia oleracea "Vital-R"			3-								
Torenia fournieri			3-								
Vinca rosea				2-							
Zee Mays "Caldera"				2-							
	duur proef	30 dagen	21 dagen	20 dagen	35 dagen				30 dagen		

Tabel 7. Droge en natte temperatuurbehandeling van fresiaknollen en kralen.

	<u>Duur</u>	<u>Temp.</u>	<u>Behandeling</u>	<u>Resultaat</u>
Rose Marie met B.N. 10 knollen per serie	24 uur	47 °C	droog	alle planten B.N.
	48 uur	47 °C	droog	alle planten B.N.
	72 uur	47 °C	droog	alle knollen zacht tijdens preparatie
	96 uur	47 °C	droog	alle knollen zacht tijdens preparatie
	120uur	47 °C	droog	alle knollen zacht tijdens preparatie
	144uur	47 °C	droog	alle knollen zacht tijdens preparatie
	onbehandeld		droog	alle planten B.N.
	24 uur	47 °C	nat	alle planten B.N.
	48 uur	47 °C	nat	8 planten B.N.; 2 knollen zacht tijdens preparatie
	72 uur	47 °C	nat	alle knollen zacht na temperatuurbehandeling
	96 uur	47 °C	nat	alle knollen zacht na temperatuurbehandeling
	120uur	47 °C	nat	alle knollen zacht na temperatuurbehandeling
Rose Marie met B.N. 25 kralen per serie	24 uur	47 °C	droog	alle planten B.N.
	48 uur	47 °C	droog	alle planten B.N.
	72 uur	47 °C	droog	4 planten - ,21 kralen zacht tijdens bewaring; het volgend seizoen 4 planten B.N.
	96 uur	47 °C	droog	alle kralen zacht tijdens bewaring
	120uur	47 °C	droog	alle kralen zacht tijdens bewaring
	144uur	47 °C	droog	alle kralen zacht tijdens bewaring
	onbehandeld		droog	alle planten B.N.
	24 uur	47 °C	nat	alle planten B.N.
	48 uur	47 °C	nat	alle planten B.N.
	72 uur	47 °C	nat	2 planten B.N.; 23 kralen zacht tijdens bewaring
	96 uur	47 °C	nat	alle kralen zacht tijdens bewaring
	120uur	47 °C	nat	alle kralen zacht tijdens bewaring
Rose Marie met F.M.V. 25 kralen per serie	24 uur	47 °C	droog	alle planten F.M.V.
	48 uur	47 °C	droog	alle planten F.M.V.
	72 uur	47 °C	droog	2 planten F.M.V.; 23 kralen zacht tijdens bewaring
	96 uur	47 °C	droog	alle kralen zacht tijd. bew.
	120uur	47 °C	droog	alle kralen zacht tijd. bew.
	144uur	47 °C	droog	alle kralen zacht tijd. bew.
	onbehandeld		droog	alle planten F.M.V.
	24 uur	47 °C	nat	alle planten F.M.V.
	48 uur	47 °C	nat	alle planten F.M.V.
	72 uur	47 °C	nat	alle kralen zacht tijd. bew.
	96 uur	47 °C	nat	alle kralen zacht tijd. bew.
	120uur	47 °C	nat	alle kralen zacht na temperatuurbehandeling.

Tabel 8. Droge temperatuurbehandeling van fresiaknollen.

	<u>Duur</u>	<u>Temp.</u>	<u>Resultaat</u>
Rose Marie met B.N. 15 knollen per serie	1 uur	48 °C	Alle planten B.N.
	2 uur	48 °C	Alle planten B.N.
	3 uur	48 °C	Alle planten B.N.
	4 uur	48 °C	Alle planten B.N.
	5 uur	48 °C	Alle planten B.N.
	6 uur	48 °C	Alle planten B.N.
	7 uur	48 °C	Alle planten B.N.
	8 uur	48 °C	Alle planten B.N.
	24 uur	48 °C	Alle planten B.N.
	48 uur	48 °C	2 planten B.N.; 13 knollen zacht tijdens preparatie
	72 uur	48 °C	Alle knollen zacht tijdens pre- paratie
	1 uur	49 °C	Alle planten B.N.
	2 uur	49 °C	Alle planten B.N.
	3 uur	49 °C	Alle planten B.N.
	4 uur	49 °C	Alle planten B.N.
	5 uur	49 °C	Alle planten B.N.
	6 uur	49 °C	Alle planten B.N.
	7 uur	49 °C	Alle planten B.N.
	8 uur	49 °C	Alle planten B.N.
	1 uur	50 °C	Alle planten B.N.
	2 uur	50 °C	Alle planten B.N.
	3 uur	50 °C	Alle planten B.N.
	4 uur	50 °C	Alle planten B.N.
	5 uur	50 °C	Alle planten B.N.
	onbehandeld		Alle planten B.N.

Tabel 9. Opbrengstvergelijkingen bij de fresia cultivar Rose Marie

	<u>Proef 1 1970</u>		<u>Proef 2 1971</u>	
	<u>Gezond</u>	<u>B.N.</u>	<u>Gezond</u>	<u>B.N.</u> <u>F.M.V.</u>
Aantal geplante knollen waarvan aan de planten oogstbepalingen zijn verricht	298	257	288	232 325
Gemiddeld aantal hoofdstengels	1,9	1,7	2,3	2,3 2,3
Gemiddelde lengte der hoofdstengels in cm's	25,9	26,7	21,4	21,6 22,3
Gemiddeld aantal bloemen per hoofdstengel	7,5	7.-	6,5	6,3 6,5
Gemiddeld aantal zijstengels				
Gemiddelde lengte der zijstengels in cm's	1,7	1,2	1,9	2.- 1,3
Gemiddelde lengte van het stuk hoofdstengel aan de zijstengels in cm's	19,9	19,4	16,5	17,5 17,2
Gemiddelde totaal lengte der zijstengels en hoofdstengel in cm's	10,8	11.-	10,6	10,3 10,1
Gemiddeld aantal bloemen per zijstengel	30,7	30,4	27,1	27,8 27,3
	5,4	4,7	4,6	4,6 4,7
Gemiddeld aantal geoogste knollen per geplante knol	1,6	1,6	1,5	1,6 1,6
Gemiddeld gewicht der geoogste knollen in grammen	9,6	9,4	12,1	11,2 10,9
Gemiddeld aantal kralen per knol	2,9	2,8	3.-	3.- 2,8
Gemiddeld gewicht der kralen in grammen	0,6	0,6	0,9	0,8 0,8

Tabel 10. Ziektebeelden op de fresia cultivar "Rose Marie" bij aanwezigheid van Bladnecrose, Freesia mozaïek virus en Extreem blad- en knolnecrose.¹

<u>Ziektebeeld op</u>			
	<u>Bladeren</u>	<u>Bloemen</u>	<u>Knollen</u>
B.N.	necrose (Fig. 1)	geen	geen
F.M.V.	geen	gestreept en gevekt ² (Fig. 4)	geen
E.B.K.N. (B.N. + F.M.V.)	extreem necrose (Fig. 2)	meestal komen bloemen niet tot ontwikkeling; voor zover aanwezig gestreept, gevlekt, misvormd en geredu- ceerd.	necrose (Fig. 3)

¹ Deze tabel is op vele nieuwe cultivars van toepassing.

² Bij witte en gele cultivars zijn bij aanwezigheid van F.M.V. de bloemen niet gestreept en gevlekt. Hierbij is dit virus visueel niet te onderkennen en alleen langs serologische weg vast te stellen.



Fig. 1

Bladeren van fresia
cultivar "Rose Marie"
met symptomen van
Bladnecrose;
links gezond.



Fig. 2

Bladeren van fresia
cultivar "Rose Marie"
met symptomen van
Extreme blad- en
knolnecrose



Fig. 3. Kleine knollen van fresia cultivar "Rose Marie" met symptomen van Extreme blad- en knolnecrose; rechts gemummificeerd; links gezond.



Fig. 4.
Bloemen van fresia
cultivar "Rose Marie"
met symptomen van
Freesia Mozaiek Virus.