

*Staten plantepatologiske Forsøg (H. Ingv. Petersen)*  
*Virologisk afdeling (H. Rønne Kristensen)*

## Augustasyge hos tulipaner

Markundersøgelser af tobak nekrose virus (TNV) og dets vektor, *Olpidium brassicae*.

*Augusta disease in tulips. – Field experiments concerning tobacco necrosis virus and its vector*  
*Olpidium brassicae.*

Lene Lange

### Resumé

Vektoren for TNV, *Olpidium brassicae* (Wor.) Dang., er aldrig konstateret i rødder af tulipaner og formodes derfor udelukkende at formere sig i rødder af andre planter i Augustasyge-angrebne tulipanmarker (som f.eks. ukrudt og planter fra forrige afgrøde). Formålet med denne undersøgelse var at afklare dette værtsforhold for vektoren og samtidig belyse de øvrige smitteforhold ved undersøgelse af virusets tilstedeværelse i den pågældende periode i forsøgstulipanerne, jorden og ukrudtsplanterne.

Undersøgelsen blev udført på to prøvearealer placeret, hvor der året før var konstateret stærke Augustasyge-angreb i tulipaner. Prøvearealerne blev udlagt med sunde forsøgsløg (tulipaner af sorten 'Gul Apeldoorn'). Af disse blev der udtaget 10 par pr. prøveareal hver måned vinteren og foråret igennem. Det udtagne materiale blev testet for TNV-indhold, dels umiddelbart efter op-tagningen og dels efter drivning. Ved hver løgoptagning blev der ligeledes udtaget ukrudtsprøver og jordprøver. Ukrudtsrødderne blev undersøgt for tilstedeværelsen af *Olpidium brassicae* (i form af hvilesporangier og/eller zoosporangier) og i enkelte tilfælde tillige testet for TNV. Jordprøverne blev undersøgt for både virus- og nematodindhold.

I de udtagne tulipanprøver blev der ialt kun konstateret 2 systemiske angreb – ét symptom-givende og ét latent. Der var imidlertid ved forsøgets afslutning en rodinfektionsprocent hos tulipanerne på 90 på det ene forsøgsareal – mens forsøgsplanterne på det andet aldrig nåede over en rodinfektionsprocent på 20–30.

Det blev konstateret, at kornplanter, vokset op fra kerner i dækhalmen, kan fungere som en effektiv vært for *Olpidium brassicae*'s opformering (og i nogle tilfælde også for TNV); det samme gælder gul sennep, der i dette tilfælde var anvendt som efterafgrøde.

Det påvist endvidere, at rug, hvede, havre og gulerod alle kan fungere som vært for TNV-vektor-linjen af *Olpidium brassicae*, og at denne svamp kan overføre TNV-smitte til disse arters rødder. En systemisk infektion af planternes overjordiske dele er dog aldrig konstateret.

Undersøgelsen bestyrker formodningen om, at Augustasyge-symptomer kan opstå ud fra primær-smitte, såfremt denne finder sted på et tidligt tidspunkt af udviklingen.

**Nøgleord:** Tulipan, TNV, *Olpidium brassicae*.

### Summary

The fungus vector of TNV, *Olpidium brassicae*, has never been observed to parasitize roots of tulips and consequently it is presumed exclusively to propagate in roots of other plants in diseased tulip fields (e.g. weeds and plants from the former crop).

The object of the investigation was to elucidate this host-relationship of the vector and at the same time to examine the presence of the virus in the soil, weeds, and in tulips in order to clarify the mode of infection of tulips by Augusta disease.

Healthy tulip bulbs ('Golden Apeldoorn') were laid out in two test areas. These were placed where heavy Augusta disease infections had been observed the year before. Every month during the winter and the spring ten pairs of tulips were examined per area. This material was tested for the presence of TNV infections both immediately after the uptake and after growing. Samples of weeds and soil were taken every month. The weed roots were examined for infection with *Olpidium brassicae* (in the form of resting-spore and/or zoospore) and in selected cases for TNV. The soil samples were tested for the presence of virus and nematodes.

At the end of the investigation only two of the test-tulips had been shown to be systemically infected with TNV. (One carrying Augusta disease symptoms and the other with a latent infection). At test area B about 90 percent of the test-tulips had TNV root infections, while on area A only 20 to 30 percent were infected. The surprisingly low level of systemic infections may be a consequence of the very late setting of the bulbs (the sixth of December), however, the extremely dry spring may also be an explanation.

*Olpidium brassicae* was present in both areas throughout the period. It was primarily confined to a few hosts (see table 4 and 5) and did not spread readily to the other weeds growing in these areas.

The investigation shows that cereal plants grown from grain in the straw-cover of the tulip fields may act as hosts for *Olpidium brassicae* as well as for tobacco necrosis virus.

In the previous year mustard was used on one of the test areas as a second crop after the diseased tulip crop. *Olpidium brassicae* isolated from roots of these mustard plants was shown to be able to transmit TNV (by inoculation of mung beans). Thus it was possible to demonstrate that a vector strain of *Olpidium brassicae* is capable of propagating itself in this Cruciferous plant – however it was not possible to demonstrate that all the observed *Olpidium* infection belongs to the same vector strain.

It was demonstrated that mustard, carrots, and the four species of grain may serve as hosts for *O. brassicae* (the vector for disease transmittance) and the virus TNV (the causal agent for Augusta disease). None of these plants were systemically infected; the only symptoms observed were on the small side roots of infected carrots. (Lange 1975).

The nematode population in the test areas was recorded in this investigation as it is not possible to rule out that another vector for TNV may exist. The observed occurrence of nematodes could not be correlated with TNV infections.

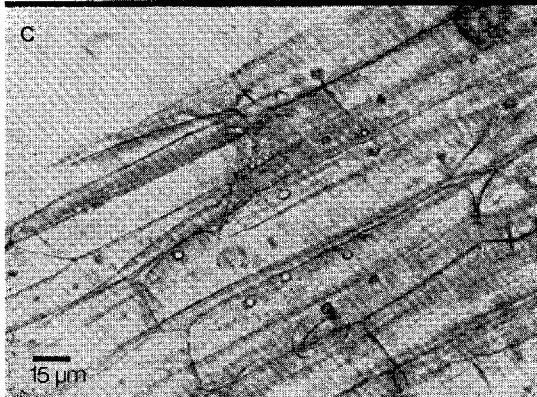
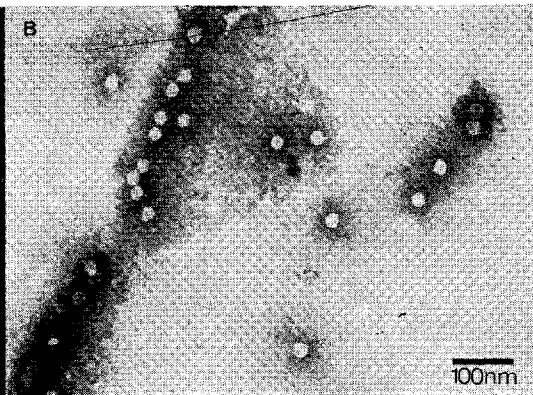
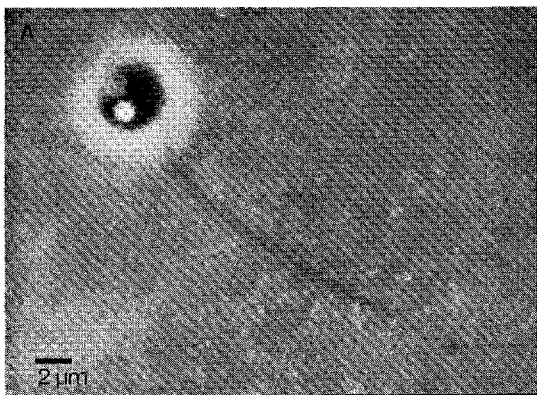
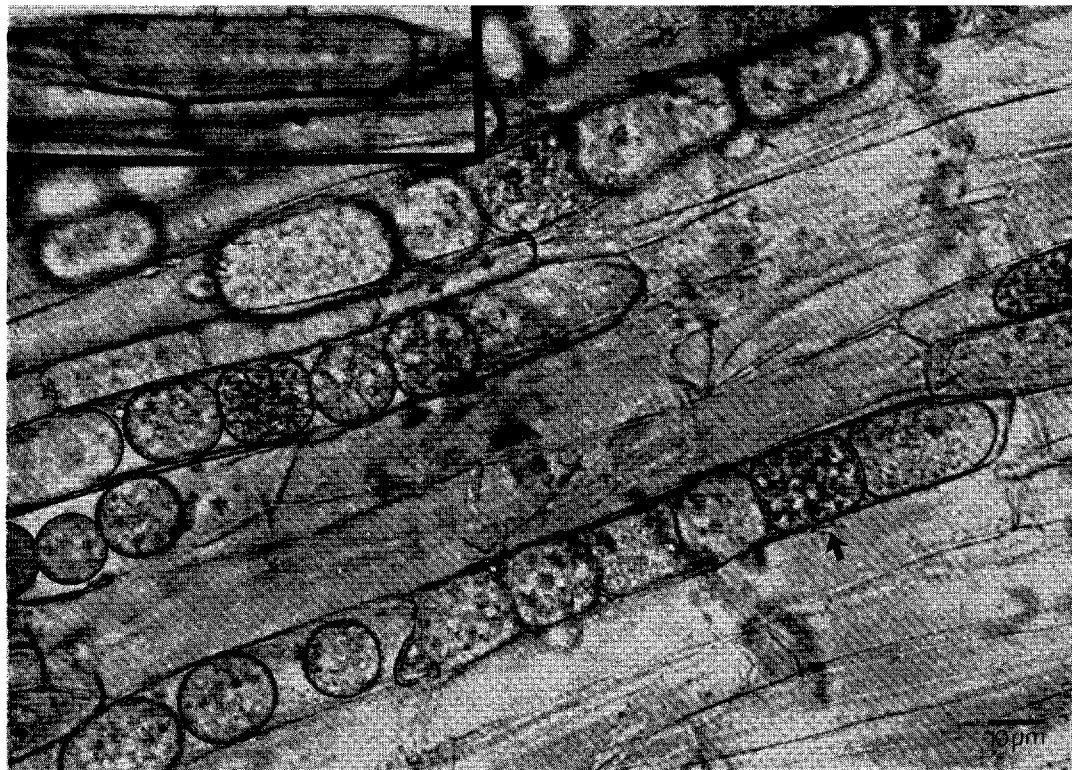
Fig. 1. Zoosporangier af *Olpidium brassicae* i rod af *Solanum villosum*. Pilen viser det sporangium, hvor opdelingen i zoosporer ses tydeligst.

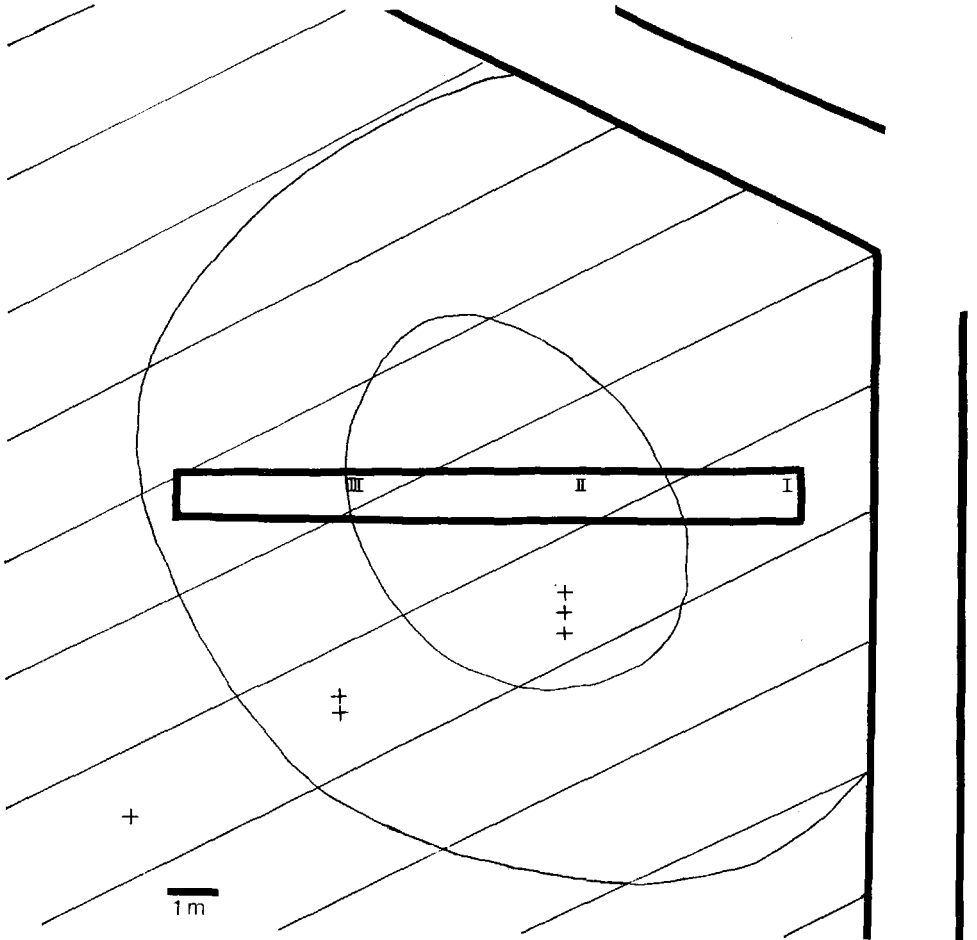
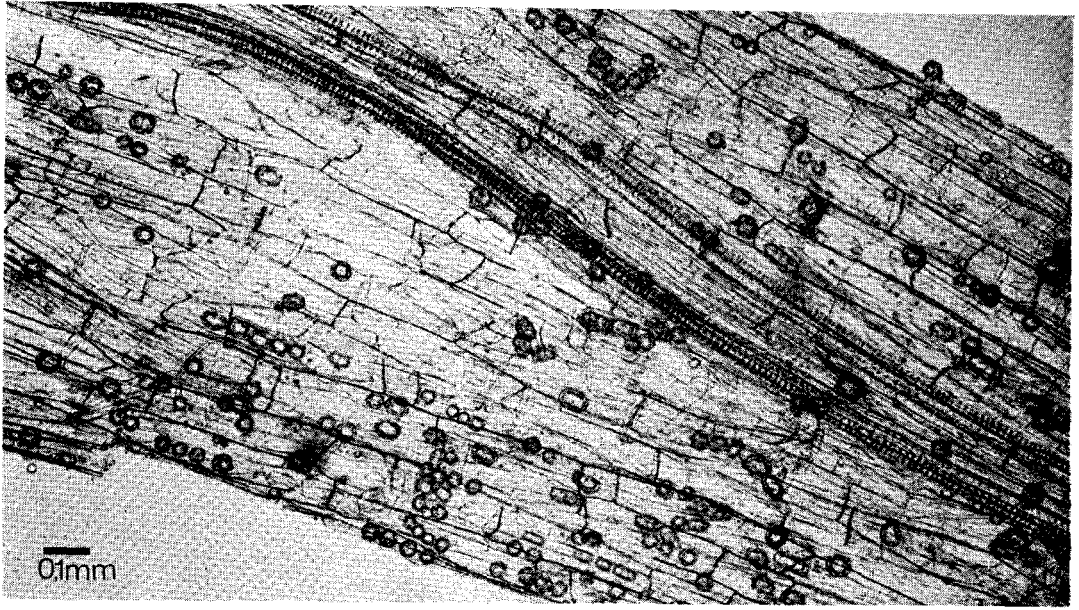
a) Et udtømt zoosporangium med to halse.

Fig. 1. Zoosporangia of *Olpidium* in a root of *Solanum villosum*. The arrow indicates the most distinct segregation of a zoosporangium into zoospores. a) An emptied zoosporangium with two exit tubes.

Fig. 2. *Olpidium brassicae*, infektionsfasen. a) Fritsvømmende zoosporer, ufarvet. Fasekontrast. b) Suspensionspræparat af TNV-partikler, negativ-farvet med ammonium molybdat. c) Overflade af rod af *Solanum villosum* med encystrerede zoosporer. d) Encystreret zoospore, der halvvejs har udtømt sit indhold i værten ved penetration af rodhårcelle. Fasekontrast.

Fig. 2. *Olpidium brassicae* in the infective phase. a) Free swimming zoospore, unstained. Phasekontrast. b) Particles of TNV, negatively stained with ammonium molybdate. c) Encysted zoospores on the surface of a root of *Solanum villosum*. d) Encysted zoospore on a roothair. The cyst-content is partially emptied into the hostcell.





It was found that a direct correlation between the fluctuations in the amount of *Olpidium* found in the roots of the weeds and the time of occurrence of TNV infections in tulips can only be made if very frequent samples are taken.

The results of this investigation together with earlier reports demonstrate that the largest risk of serious Augusta disease occurs when the autumn and early winter are humid and without hard freezing. These conditions are optimal for the propagation of *Olpidium*, at a time when the tulips roots are most sensitive to infection which later leads to outbreaks of Augusta disease.

**Key-words:** Tulips, TNV, *Olpidium brassicae*.

### Indledning

Augustasygens symptomer blev første gang beskrevet i 1928. I 1949 blev det erkendt, at denne sygdom skyldes angreb af tobak nekrose virus (TNV) (*Kassanis 1949, de Bruyn Ouboter & van Slogteren 1949*). I hvert tilfælde så tidligt som i 1954 var det vist med sikkerhed, at sygdommen var jordbåren; først ved *Teakle's* undersøgelser, publiceret i 1962, blev det bevist, at *Olpidium brassicae* er vektor ved overføringen af dette virus. For Augustasygens vedkommende blev dette system af svampevektor og virus efterprøvet og bekræftet i 1967 af *van Slogteren & Visscher*.

*Olpidium brassicae* (Wor). Dang. tilhører Phycomycet-ordenen *Chytridiales*. Svampen formerer sig intracellulært ved dannelse af et zoosporangium (fig. 1), hvis indhold opdeles i mange zoosporer. Disse udtømmes gennem en hals (fig. 1 a) og går derved over til det fritsvømmende zoosporestadie (fig. 2 a). Det er i dette stadie, at eventuelle TNV-partikler associeres på overfladen af zoosporerne. Viruset vil derefter kunne overføres til den plante, på hvis rødder zoosporerne lidt senere encystrer sig (fig. 2 c og 2 d). I *Olpidium brassicae's* livscyklus indgår desuden et tykvægget sporangium – et hvilesporangium, der på grund af vægfortykkelse får et næsten stjerneformet udseende (fig. 3).

Fig. 3. Salatrod med tæt infektion af hvilesporangier af *Olpidium brassicae*. (Squash-præparat, ufarvet).  
Fig. 3. A lettuce root with a heavy infection of resting sporangia of *Olpidium brassicae*.

Fig. 4. Prøveareal A: Angivelse af tulipanbeddenes retning. Augustasyge-angrebets styrke (+, ++ eller +++-testet juni 1973) og prøvearealets beliggenhed i forhold hertil (det næstfølgende år).

Fig. 4. Test area A: Indication of the direction of the tulips-beds, the strength of the Augusta disease attack (+, ++, or +++-tested June 1973) and the placement of the test area (the following season).

Styrken og udbredelsen af Augustasyge-angreb på tulipanmarker varierer meget fra år til år. Inden for den sidste snes år havde man således de stærkeste angreb i 1968, men også i begyndelsen af 70'erne var Augustasygen ret alvorlig. I 1972 og 1973 foretog Statens plantepatologiske Forsøg, Lyngby, grundigere undersøgelser af nogle angrebne tulipanmarker i Nordsjælland (*Lange 1973*). Dette arbejde belyste nogle af emnets aspekter, men især rejste det nye uafklarede spørgsmål. Undersøgelserne blev derfor fortsat og udvidet det følgende år.

### Materialer og metoder

Projektet blev udført inden for følgende ramme: På to af de tulipanmarker, hvor der i foråret 1973 var konstateret stærke Augustasyge-angreb (i sorterne 'Rød Apeldoorn' og 'Blendå') blev der udlagt prøvearealer, hvori der i efteråret 1973 blev lagt sunde løg (af sorten 'Gul Apeldoorn'). Disse blev fulgt ved fortløbende undersøgelser vinteren og foråret igennem. Jordprøver og ukrudtsprøver blev ligeledes udtaget perioden igennem. Undersøgelse af ukrudtsrødderne blev anset for særlig vigtig, da vektoren ikke kan formere sig i tulipanrødder og derfor formentlig udelukkende er afhængig af formering i ukrudtsrødder (*van Slogteren & Visscher 1967, Mowat 1970*).

De to prøvearealer (A og B) målte begge  $2 \times 25$  m og var placeret, hvor de kraftigste Augustasyge-angreb forekom i 1973. (Fig. 4 viser placeringen af prøvefelt A). I hver ende af prøvearealerne udlagdes 2,5 m til værn. De sunde løg blev lagt i en række  $\frac{1}{2}$  m fra arealets ene langside, parvis og med 20 cm mellem parrene. Den resterende stribe af prøvearealet blev benyttet til udtagning af ukrudtsprøver og jordprøver. Da løgene fra forrige sæson, p.g.r.a. sygdomsangrebet, ikke var taget op, domineredes denne del af arealet hen på foråret også for en stor del af tulipaner (gengroninger). – I begge marker blev der uden om forsøgsarealet sået byg (vårsæd).

Projektet blev startet relativt sent, hvilket medførte, at løgene først blev lagt i begyndelsen af december. Ved lægningen blev den første udtagning af jordprøver og ukrudtsprøver foretaget. De senere prøveudtagninger fandt sted med ca. 1 måneds mellemrum – ialt 6 gange i tidsrummet fra den 6/12 1973 til den 11/6 1974 – og bestod af jord- og ukrudtsprøver samt de optagne forsøgsløg. Der blev taget 1 par løg pr. 2 m, ialt 10 par løg pr. prøvefelt. Jord- og ukrudtsprøverne blev derimod kun udtaget 3 steder i hvert areal (senere benævnt I, II og III – se fig. 4).

Behandlingen af de optagne løg bestod, dels i en direkte saftinokulation med de grundigt afvaskede rødder til testplanten *Tetragonia expansa* fra det ene af løgene i parret og dels af en potning efter forudgående vask af det andet løg. Rødderne af dette blev efter drivningen ligeledes inokuleret til *T. expansa*. I enkelte tilfælde blev tulipanrødderne underkastet en elektronmikroskopisk undersøgelse for tilstedeværelsen af TNV-partikler (se fig. 2 b). (Suspensionspræparater fremstillet ved cut-squeeze metoden (Begtrup 1971) suppleret med 30 min. fixering i 20 pct. formaldehyd).

De hjembragte ukrudtsprøver bestod af 1–3 eksemplarer af hver ukrudtsart, der forefandt indendørs for den pågældende trediedel af prøvefeltet. Rødderne blev grundigt afvasket og herefter mikroskoperedes 8 rodstykker af ca. 2 cm's længde fra hver ukrudtsart skønsomt

udtaget fra de forskellige eksemplarer og mellem de forskellige steder på rødderne. Ved mikroskoperingen blev det undersøgt, om *Olpidium brassicae* forekom enten i form af hvilesporangier eller zoosporangier, og desuden foretoges en graduering af infektionstætheden.

De hjemtagne jordprøver anbragtes i potter (3 pr. udtagning – ialt 9 pr. prøveareal). Disse blev herefter tilplantet med *Nicotiana tabacum* 'Xanthi' og tilsået med *Stellaria media*, der begge er effektive fangplanter for tobak nekrose viruset. Efter 4–6 ugers vækst blev rødderne af fangplanterne inokuleret til *Tetragonia expansa* og *Nicotiana tabacum* 'Samsun' (fig. 5). Allerede 2–3 dage efter inokulationen blev planterne eftersat for eventuelle TNV-reaktioner, hvorved det var muligt at adskille symptomerne fra eventuelle rattle virus-symptomer.

Jordprøverne blev desuden på zoologisk afdeling, Statens plantepatologiske Forsøg, undersøgt for forekomst af migrerende nematoder. Dette blev gjort, primært fordi nogle arter af nematodslægten *Trichodorus* fungerer som vektor for rattle virus, der ofte optræder sammen med Augustasyge; men også på grund af, at muligheden for at TNV kan overføres med en anden vektor end *Olpidium* – f. eks. nematoder – stadig står åben. Undersøgelsen blev de første tre gange foretaget ved, at 250 ml pr. prøveudtagning blev behandlet i en Seinhorst elutriator. De sidste 4 gange blev  $2 \times 250$  ml pr. udtagning sat til uddrivning i 48 timer i et tågeapparat.

*Nogle supplerende enkeltheder ved forsøgsomstændighederne, specielt vedrørende meteorologiske forhold, jordtype og ukrudtsbestand skal her kort opregnes.*

Ved lægningen af løgene i begyndelsen af december var der let barfrost, efter at sneen fra november var tøet. Løgene blev dækket med halmballer (let flytbare ved prøveudtagning). Ved udtagningen i januar forekom en lettere barfrost, mens jorden under halballerne var frostfri. Desværre havde adskillige mus indta-

get dette skjulested på prøveareal A, hvilket havde til følge, at flere løg blev spist – helt eller delvist. Halmballerne blev herefter straks udskiftet med granris.

Fra december til februar var ukrudtsbestanden i felt A mest domineret af fuglegræs (*Stellaria media*) og stubbe af byg, stammende fra kerner i sidste års dækningshalm. På areal B var der ligeledes nogle (få) bygstubbe, men mest iøjnefaldende var sennepsplanterne (*Sinapis alba*) fra efterkulturen sommeren 1973.

Ved udtagningen i februar havde de gen-groede tulipaner grønne spirer op over jorden, mens forsøgsløgene kun havde ca. 4 cm lange spirer (endnu under jorden). Med hensyn til ukrudtsbestanden var *Stellaria media* stadig den dominerende (og i stærk vækst), men adskillige andre arter var også spiret frem. Det bør således fremhæves, at både alm. kvik

(*Agropyrum repens*) og én-årig rapgræs (*Poa annua*) havde skudt nye skud.

Inden prøveudtagningen i marts var de om-givende marker til både mark A og B harvet. På dette tidspunkt forekom der stadig natte-frost, og jorden var allerede begyndt at ud-tørre. Denne tørkeprægede tilstand var antage-lig grunden til, at der faktisk ikke havde været nogen vækst i ukrudtet i den forløbne måned. Forsøgsløgenes spirer havde nu nået jordskor-pen.

Tørketendensen fortsatte og blev mere og mere udpræget foråret igennem (se tillige over-sigten i tabel 1 fra den meteorologiske station i Tuse – beliggende ca. 5 km fra prøvefelterne). Ukrudtsprøverne fra maj og juni var for en stor del deforme og ubrugelige på grund af sprøjtning med hormonpræparater på den om-givende mark.

Tabel 1 a) Nedbør målt i mm ved den meteorologiske station i Tuse fra oktober 1972 til juni 1974  
*Rainfall in mm, measured at the meteorological station appr. 5 km from the test areas from October 1972 to June 1974.*

	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	Maj	Juni	Juli	Aug.	Sep.	Okt.	Nov.	Dec.
1972 .....												
1973 .....	28	54	25	60	63	22	45	60	104	19	77	25
1974 .....	63	39	25	7	25	54,5				41	78	64

Tabel 1 b) Detaljeret nedbørsoversigt for perioden december 1973 til juni 1974 (ligeledes station Tuse)  
*Detailed outline of the rainfall in the period December 1973 to June 1974*

	Dec. 1973	Jan. 1974	Feb. 1974	Mar. 1974	Apr. 1974	Maj 1974	Juni 1974
Antal dage m. nedbør over 0,5 mm .....	15	12	11	4	1	6	10
Dato for største nedbørsmængde .....	6/12	17/1	10/2	21/3	25/4	3/5	18/6
Volumen af største nedbørsmængde i mm .....	11,5	12,2	10,4	11,2	6,4	14,0	19,6
Total nedbørsmængde i mm .....	64	63	39	25	7	25	54,5

Tabel 2. Karakteristik af jordens næringstilstand i de to prøvearealer.  
*Measurements of the composition of the soil in the two test areas*

	Reaktions- tal	Fosfor- syretal	Kalium- tal	Magnesium- tal	Mangan- tal
Forsøgsmark A .....	7,1	49,2	44,0	7,0	1,1
Forsøgsmark B .....	7,5	12,9	19,2	5,8	1,2

## Resultater

I det samlede TNV-infektionsresultat af forsøgstulipanerne indgår kun 2 systemiske TNV-angreb – ét symptomgivende og ét latent. De øvrige TNV-angreb var alle begrænset til rødderne. I så at sige hele forsøgsperioden var der i materialet fra mark A tale om ret svage TNV-rodinfektioner, mens der, specielt i materialet fra de sidste prøveudtagninger fra mark B, var tale om stærke TNV-angreb af rødderne (se tabel 3 a).

Inokulationerne fra de forsøgsløg, der blev taget op 11. januar, gav alle negativt resultat, hvilket betyder, at der inden for den første måneds vækst (til en rodlængde på ca. 3 cm) ikke kunne konstateres nogen TNV-smitte.

Inokulationen af februar-materialet gav et infektionsniveau på ialt 3 ud af 10 for areal A og 4 ud af 10 for areal B (se tabel 3 a). De direkte inokulationer af tulipanrødderne (se under materialer og metoder) gav kun få (men distinkte og typiske) lokal-læsioner. Dette gælder hele forsøget igennem, undtagen i juni på areal B. Ved drivning af et af løgene udtaget i februar fra prøveareal A, kvadrat 3, fremkom tydelige Augustasyge-symptomer (fig. 6). En EM-undersøgelse bekræftede dette ved at vise en temmelig høj koncentration af TNV-

partikler i bladet. En lignende EM-undersøgelse af løget fra februar areal B, kvadrat 7, viste, at et symptomfrit blad indeholdt TNV-partikler. Undersøgelsen af planten fra kvadrat 9 var derimod negativ.

Med hensyn til resultaterne angivet i tabel 3 a for marts skal det tilføjes, at inokulationerne af de drevne tulipaner mislykkedes på grund af for stærk varme i drivhuset under og efter inokulationen.

Resultaterne fra april og maj fremgår af tabellen.

Ved materialet i juni er der ingen angivelser for inokulation af drevne tulipaner, da planterne allerede ved hjemtagningen var afgroede. De 16 af maksimalt 20, der blev hjemtaget i juni fra areal B, var alle stærkt angrebne og gav fra 20 til 120 lokal læsioner pr. blad på *Tetragonia expansa*-planterne. Fra disse 8 par inficerede planter blev ligeledes løgskællene og bladene anvendt som inokulat. Resultatet var dog negativt for alle undtagen inokuleringen med løgskæl af planten fra kvadrat 4. – Ved optagningen i juni på areal A manglede nr. 7, 8 og 10 (højst sandsynligt på grund af den omtalte »museskade«).

Resultaterne af testen for TNV-indhold i jordprøverne fremgår af tabel 3 b.

Tabel 3 a, 3 b, 3 c: Inokulationsresultater af test for TNV-indhold i det til de forskellige datoer hjemtagne materiale.

(+) betyder 1 læsion i gennemsnit pr. testplanteblad; + 2-5; ++ 5-15; +++ mere end 15 lokallæsioner pr. blad. ÷ betyder ingen testplanterreaktion og - at ingen inokulation blev foretaget.

*Results of TNV inoculation test of the material taken out to the different dates listed, with a specification of the degree of testplant reaction. A line designates that no inoculation has been made.*

Tabel 3 a. TNV i forsøgstulipanerne. Tallene angiver, hvilket kvadrat (1-10) i prøvearealet den pågældende tulipan blev taget fra.

*TNV in the tulips. The numbers refer to where in the test area the tulip concerned had grown*

	6/12	11/1	11/2	11/3	4/4	6/5	11/6
A inok. direkte	-	÷	7+	3(+); 7(+)	2(+)	1(+)	2+; 6+
først drevne	-	÷	3++++; 8+	-		3+; 5+++	- se tekst
B inok. direkte	-	÷	3+; 10+	4+; 9+	3(+); 6+;	1(+);	2, 3, 4, 5, 6,
først drevne	-	÷	7++++; 9++	-	9+; 10+	8(+); 10	8, 9, 10
					9+++	4+; 8(+);	se tekst
						9+++;	
						10+	



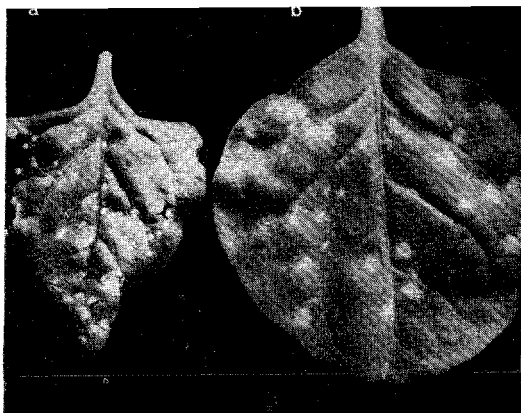


Fig. 5. TNV-testplantreac-tion. a) *Tetragonia expansa*. b) *Nicotiana tabacum* 'Samsun'.

Tabel 3 b. TNV-indholdet i jorden. Separat inokulationstest af fangplanterødder for hver tredjedel af de to prøvearealer A og B.

The TNV content of the soil. Based on inoculation tests of the roots of the bait plants made for every third part of the two areas A and B.

	6/12	11/1	11/2	11/3	4/4	6/5	11/6
A I .....	÷	(+)	+	++	+	+	++
A II .....	+	++	++	++	÷	+++	+++
A III .....	÷	++	++	+	++	+++	++
B I .....	÷	+++	++	++	+	+++	++
B II .....	+	+++	+++	÷	++	+++	++
B III .....	+	(+)	+++	+	+	++	++

Nogle af de ukrudtsplanter, der konstateredes at have et stort indhold af *Olpidium brassicae* (se tabel 4 og 5) blev undersøgt for eventuel TNV-infektion. Resultatet af dette fremgår af tabel 3 c. Byg (*Hordeum vulgare*) opført under den 6/12 og 11/1 er for både areal A og B's vedkommende, planter fra kerner i dækningshalmen sidste år, mens *Hordeum* opført under den 11/6 i tabel 3 c er det nye korn, der er vokset op i den omgivende mark. Den gennemgående tendens er, at byg kan

være TNV-inficeret (oftest lettere), mens senep ikke er det.

Som angivet under materialer og metoder blev den mikroskopiske gennemgang af ukrudtsrødderne foretaget for hver tredjedel af de 2 arealer A og B. En oversigt ved projektets afslutning viste dog, at der ingen signifikant forskel var mellem de 3 stykker. Resultatet af mikroskopien gengives derfor her i 2 tabeller, nr. 4 og 5, hvor hver af dem omfatter alle undersøgelser af felterne I, II og III.

Tabel 3 c. TNV-indhold i rødder af *Olpidium*-værtsplanter  
TNV in the roots of the hostplants of *Olpidium*

	6/12	11/1	11/2	11/3	4/4	6/5	11/6
A Hordeum+	Hordeum++	-	Agropyrum÷	-	-	Hordeum÷	
			Poa annua÷				
B Hordeum+	Hordeum+++	-	Stellarina media÷	-	-	Hordeum÷	
Sinapis÷	Sinapis÷		Sinapis÷				

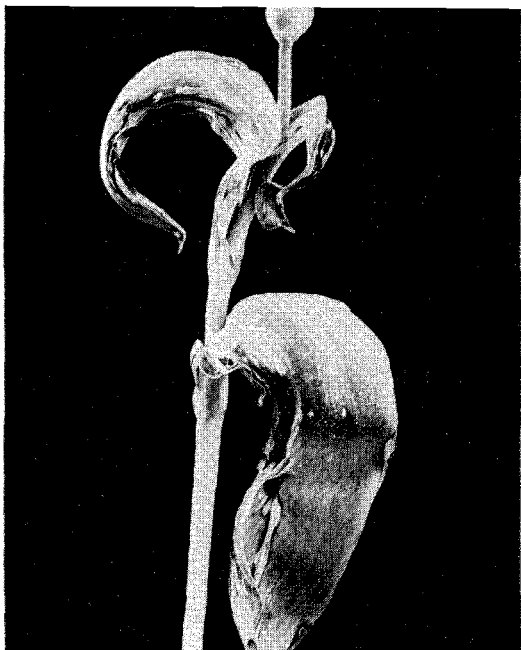


Fig. 6. Augustasjyge-symptomer hos tulipan.  
 Fig. 6. *Symptomes of Augusta disease in tulip.*

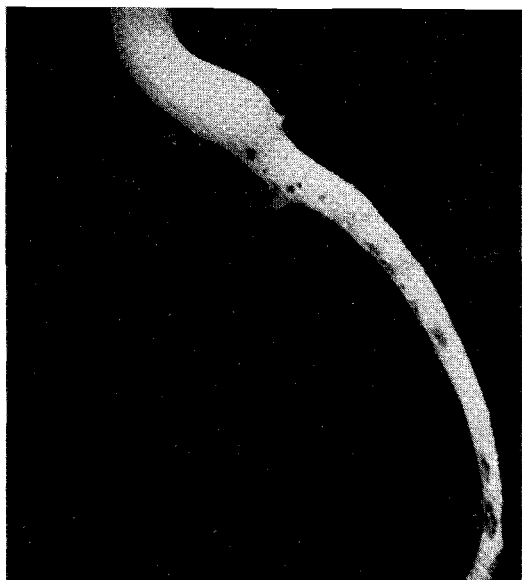


Fig. 7. Nekroser på rod af *Phaseolus aureus* ca. 48 timer efter inokulation med en blanding af TNV og *Olpidium*-zoosporer.  
 Fig. 7. *Necrosis on a mung bean root appr. 48 hrs after it has been inoculated with a mixture of TNV and Olpidium zoospores.*

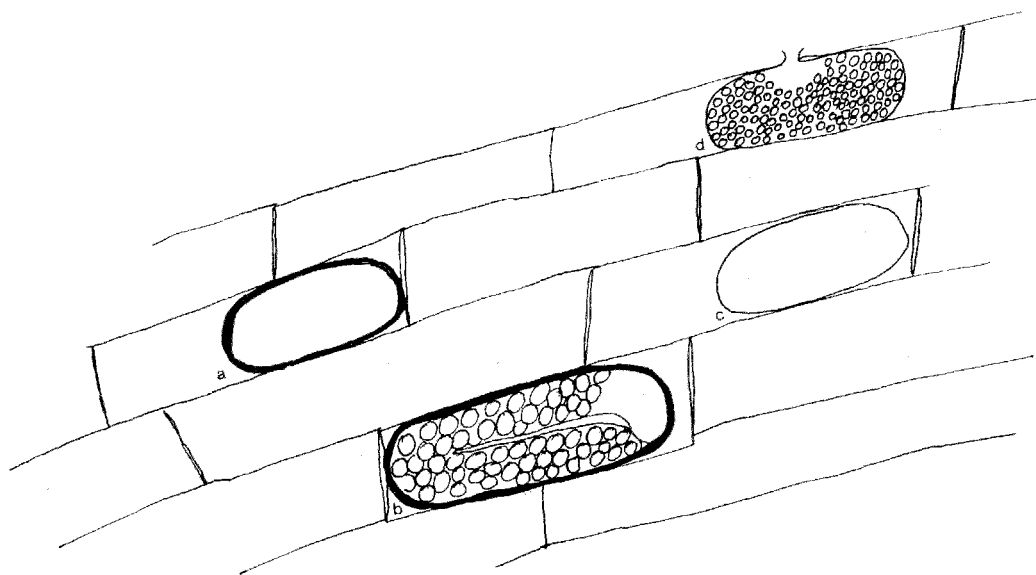


Fig. 8. Skematisk tegning af to stadier i ægudviklingen af *Pratylenchus neglectus* (a og b) og et umodent og et modent zoosporangium af *Olpidium brassicae* (c og d).

Fig. 8. *Schematic diagram of two stages in the eggdevelopment of the nematode Pratylenchus neglectus (a and b) and an immature and a mature zoosporangium of Olpidium brassicae (c and d).*

I prøvefelt A er langt den største koncentration og mængde af *Olpidium brassicae* konstateret i bygrødderne. Det skal dog her bemærkes, at der ikke på noget tidspunkt i mark A blev fundet zoosporangier i rødderne af denne art (se tabel 4). Dette kan have sin forklaring i, at der ikke sker nyinfektioner i stubbenes døde rødder. Det er iøvrigt interessant, at de to øvrige græsarter, én-årig rapgræs (*Poa annua*) og almindelig kvik (*Agropyrum repens*) er de næstvigtigste med hensyn til *Olpidium*-forekomst (med både hvile- og zoosporangier).

På mark B (tabel 5) er byg ligeledes dominerende med hensyn til hvilesporangie-forekomst. (At de slutter i marts skyldes for både

A og B's vedkommende, at der ikke var flere bygstubbe tilbage på prøvefelterne). Der er desuden her en enkelt gang konstateret et zoosporangium på byg. Ved alle mikroskoperinger af gul sennep er der fundet indtil mange zoosporangier i rødderne. Sporangiehalse og zoosporudtømminger er iagttaget adskillige gange. Ved to prøveudtagninger er der desuden konstateret hvilesporangier. Byg og gul sennep var så langt de dominerende værter for *Olpidium* i prøvemærk B, men den blev desuden fundet i *Stellaria media*, *Lamium rubrum* og de to græsser, *Agropyrum repens* og *Poa annua*.

Tabel 4. Forekomst af *Olpidium brassicae* i rødder af planterne udtaget på forsøgsareal A.  
List of plants in which roots *Olpidium brassicae* has been observed on test area A.

Prøvetagningsdato .....	6/12	11/1	11/2	11/3	4/4	6/5	11/6
<i>Agropyrum repens</i> .....	-	-	÷	*0	÷	÷	÷
<i>Artemisia vulgaris</i> .....	-	-	-	÷	-	÷	-
<i>Capsella bursa pastoris</i> .....	÷	-	-	÷	÷	÷	÷
<i>Chenopodium album</i> .....	÷	-	÷	-	*	-	-
<i>Fumaria officinalis</i> .....	-	-	-	-	-	÷	÷
<i>Galeopsis tetrahit</i> .....	-	-	-	-	-	-	÷
<i>Hieracium pilosella</i> .....	-	-	-	÷	-	-	-
<i>Hordeum vulgare</i> 1) .....	***	***	***	-	-	-	-
<i>Hordeum vulgare</i> 2) .....	-	-	-	-	÷	÷	÷
<i>Lamium rubrum</i> .....	-	÷	-	-	-	÷	-
<i>Matricaria maritima</i> .....	÷	*	-	-	-	÷	-
<i>Matricaria matricarioides</i> .....	-	-	÷	÷	÷	÷	÷
<i>Myosotis arvensis</i> .....	-	-	-	-	-	÷	÷
<i>Poa annua</i> .....	-	-	÷	*0	÷	÷	-
<i>Polygonum aviculare</i> .....	-	-	-	-	-	-	÷
<i>Polygonum convolvulus</i> .....	-	-	-	-	-	÷	÷
<i>Senecio vulgaris</i> .....	-	-	÷	÷	÷	÷	÷
<i>Stellaria media</i> .....	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷
<i>Veronica persica</i> .....	-	-	÷	-	-	÷	-
<i>Urtica urens</i> .....	-	-	÷	÷	-	-	-

(0 = zoosporangier, \* = hvilesporangier; hyppigheden er angivet ved fra 1-3 af disse tegn. ÷ står for, at der ved mikroskoperingen hverken fandtes hvile- eller zoosporangier og - betyder, at der ikke på den pågældende dato er udtaget prøve af denne art).

1) Byg fra dækhalmen fra 1973.

2) Byg fra den omgivende mark i 1974.

(0 = zoosporangia; \* = resting sporangia; the frequency is indicated by from 1 to 3 of these signs. ÷ states that neither resting nor zoosporangia have been observed, and - means that at the given date no sample of the species concerned was taken at the given date).

1) Barley from the cover straw 1973.

2) Barley from the surrounding field 1974.

Tabel 5. Forekomst af *Olpidium brassicae* i rødder af ukrudtsprøver udtaget på forsøgsfelt B.  
*List of plants in which roots Olpidium brassicae has been observed on test area B.*

Prøvetagningsdato	6/12	11/1	11/2	11/3	4/4	6/5	11/6
<i>Agropyrum repens</i>	-	-	***	-	÷	÷	÷
<i>Brassica campestris</i>	-	-	-	-	-	-	÷
<i>Chenopodium album</i>	-	-	÷	-	-	÷	÷
<i>Cirsium arvense</i>	-	-	-	-	÷	-	-
<i>Fumaria officinalis</i>	-	-	-	-	-	-	÷
<i>Hordeum vulgare</i> 1)	**	***0	***	-	*	-	-
<i>Hordeum vulgare</i> 2)	-	-	-	-	÷	÷	*
<i>Lamium rubrum</i>	-	-	÷	0	÷	÷	÷
<i>Matricaria maritima</i>	-	-	-	÷	-	-	-
<i>Myosotis arvensis</i>	-	-	-	-	-	-	÷
<i>Poa annua</i>	-	-	÷	-	÷	÷	÷
<i>Polygonum aviculare</i>	-	-	-	-	-	-	÷
<i>Senecio vulgaris</i>	÷	÷	÷	-	÷	-	-
<i>Sinapis alba</i>	00	000*	÷	000**	000	-	-
<i>Stellaria media</i>	÷	0	÷	00*	÷	-	÷
<i>Taraxacum vulgare</i>	÷	÷	÷	÷	-	÷	÷
<i>Veronica persica</i>	-	-	÷	-	-	-	-

Tegnforklaringer som tabel 4.

*For explanation of signs, see table 4.*

Resultaterne gengivet i tabellerne 3 c, 4 og 5 gav anledning til en nærmere undersøgelse af i første omgang sennep og bygs værtsegenskaber for TNV og *Olpidium brassicae*. Senere blev den udvidet til at omfatte de 4 kornarter samt sennep og gulerødder i et forsøg på at belyse, hvad der sker med smitten ved afgrødeskift efter et Augustasyge-angreb.

Der iværksattes følgende infektionseksperimenter (i drivhus): Smitning af byg, havre, rug, hvede og gulerødder ved vanding med udtræk af *Olpidium*-inficerede rødder tilsat TNV i renfremstilling. Svampen blev påvist ikke blot at kunne formere sig i alle disse 5 arter, men tillige at kunne overføre viruset til samtlige. – Virus smitten førte dog ikke i noget tilfælde til systemiske infektioner i de grønne dele af planterne, og synlige rodsymptomer udvikledes kun hos gulerod (Lange 1975). Med hensyn til sennep er det ofte refereret (f. eks. Teakle 1962, Temmink & Campbell 1969), at *Olpidium brassicae* på korsblomstrede udgør en ikke-virusoverførende linje. For at efterprøve, om dette var tilfældet her, blev forspirede *Phaseolus aureus*-rødder lagt ned i en 1/2 time i en blan-

ding af zoosporeudtræk fra sennepsrødderne sammen med et morteret, TNV-inficeret *Tetragonia*-blad fra jordprøveinokulationerne. *Phaseolus aureus*-rødderne blev herefter skyllet i rindende vand og lagt i et fugtigt kammer; (for yderligere beskrivelse af metoden se Teakle & Yarwood 1962). Som det ses af fig. 7, fremkom mange og tydelige nekroser på rødderne (fotograferet 48 timer senere), mens *Phaseolus*-kontrolleddene med henholdsvis kun tilsat zoosporeudtræk og kun TNV-inficeret blad, ikke gav årsag til nekroser. Det er hermed vist, at en *Olpidium brassicae*-linje, der kan overføre TNV – i hvert tilfælde til nogle planter – kan formere sig på sennepsrødder.

Ved undersøgelse af jordprøvernes nematodindhold blev der lagt særlig vægt på forekomsten af de virus-overførende nematod-slægter *Trichodorus* og *Longidorus*. Den konstaterede hyppighed af de to slægter fremgår af tabel 6. De hyppigst fundne nematod-slægter var iøvrigt *Pratylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Ditylenchus*, *Aphelencoides*, *Tylenchus* og *Paratylenchus*.

Tabel 6. Forekomst af *Trichodorus* (T) og *Longidorus* (L) i forsøgsarealerne A og B; for øvrigt nematod-indhold – se teksten  
*Occurrence and observed frequency of Trichodorus (T) and Longidorus (L) in the two areas A and B. Concerning the other nematodes observed, see the list in the text above*

Udtag.dato		6/12	11/1	11/2	11/3	4/4	6/5	11/6
Forsøgsareal A	I	3T	3T	–	1T	3T	2T	9T
	II	3T	11T	–	3T	1T	3T	–
	III	1T, 1L	1T	–	–	2T	2T	3T
Forsøgsareal B	I	9T	8T	20T	5T	10T	3T	3T, 1L
	II	–	–	–	–	1T	2T	4T
	III	13T	14T	–	43T	2T	23T	6T

### Diskussion

I foråret 1973 konstateredes et kraftigt symptomgivende Augustasyge-angreb. Gennem prøveudtagninger vinteren og foråret 1974 blev det påvist, at både *Olpidium brassicae* og TNV var tilstede i marken, hvor angrebet forekom.

Til trods herfor registreredes kun ét symptomgivende angreb på forsøgstulipanerne i 1974. Smitteforholdene de to år var imidlertid også forskellige, hvilket fremgår af følgende:

Ved mikroskopering i juni 1973 af bygplanter hidrørende fra kerner i dækhalmen konstateredes en høj koncentration af *Olpidium*-hvilesporanger i rødderne, hvorimod der ved tilsvarende undersøgelser i juni 1974 kun påvistes sporadiske forekomster af *Olpidium*; på samme tid indeholdt bygplanterne iøvrigt heller ikke TNV (se tabel 3 c). Endvidere var nedbørsforholdene forskellige de to forsøgsår (se tabel 1). Effekten af det tørre forår i 1974 forstærkedes af, at forsøgsarealerne lå i en kornmark uden at blive kunstvandet. En medvirkende årsag til det lave symptomniveau i 1974 har desuden utvivlsomt været den sene lægning af forsøgsløgene.

#### *Olpidium brassicae*. – Værtsforhold.

Undersøgelserne af ukrudtsrødderne er gennemført ved direkte mikroskopering af rødderne. Ganske vist ville en undersøgelse for forekomst af *Olpidium* ved mikroskopering af et rodudtræk have været betydelig hurtigere – og også i en vis forstand mere effektivt – men herved ville der være risiko for forveksling med

andre svampes zoosporiestadie. Desuden er det af en vis betydning at registrere, om svampen forekommer i et umodent stadie, i hvilesporangiestadiet eller i det mere virulente zoosporangiestadie.

Den tydeligste tendens i resultaterne vist i tabel 4 og 5 er, at kornplanterne fra sidste års dækningshalm er en vigtig ressource for overlevelsen af *Olpidium brassicae* (i hvilesporangiestadiet).

På forsøgsmark B var efterafgrøden i 1973, gul sennep, den dominerende vært for *Olpidium*-zoosporangier. Det er i denne undersøgelse fastslået, at en vektorlinje af *Olpidium brassicae* kan formere sig på en plante tilhørende de korsblomstrede, hvilket imødegår opfattelsen, at *Olpidium* på korsblomstrede udgør en ikke virusoverførende linje (Teakle 1962). Det er imidlertid ikke vist, om den observerede store koncentration af zoosporangier helt tilhører vektorlinjen, da det er muligt, at der er mere end én linje af *Olpidium* tilstede.

For begge forsøgsmarker var det karakteristisk, at der til stadighed ikke registreredes *Olpidium* i de fleste af de undersøgte ukrudtsarter, trods det, at der blev observeret vækst i ukrudtsarterne, og *Olpidium* fandtes i nogle arter perioden igennem. Da de fleste af disse arter er rapporteret som mulige værter for *Olpidium brassicae* (Jacobsen 1943) tyder dette på en forholdsvis lille spredningseffekt, eventuelt suppleret af, at den tilstedeværende *Olpidium*-population har en vis værtsselektivitet.

### *Angreb af Olpidium brassicae og TNV i andre afgrøder.*

Ved udtagning i marken og ved infektions-eksperimenter er det påvist, at rug, hvede, byg, have, sennep og gulerod alle kan fungere som vært for TNV-vektorlinjen af *Olpidium brassicae*.

Ved overføringsforsøg er TNV-rodinfektion ikke vist med sikkerhed for sennep, men derimod for alle de øvrige. En systemisk infektion af toppen af planterne er aldrig konstateret.

Det ville have været af interesse for f.eks. valg af dækningshalm, hvis der havde været en signifikant forskel i de 4 kornarters værtskarakterer for henholdsvis *Olpidium* og TNV. Disse forsøg har dog ikke kunnet påvise en sådan.

Selv om TNV-infektionerne i de her omtalte afgrøder er symptomløse (på nær i gulerod), kan det dog ikke udelukkes, at angrebene kan have betydning for planternes vækst. En nærmere afklaring af dette forhold og dets eventuelle betydning i praksis kræver omfattende forsøg under både drivhus- og markvilkår.

Fælles for alle de nævnte arter er, at de plantedele, der er angrebne af *Olpidium* og TNV, bliver tilbage i jorden efter høsten og således udgør en fortsat smitterisiko.

### *Forekomst af Olpidium brassicae sammenholdt med de registrerede TNV-angreb.*

Tallene i tabel 3, 4 og 5 kan forklares ved, at der i januar og februar på begge marker fandt en svag TNV-smitte sted. Nyinfektionerne stoppede imidlertid i marts-april på grund af de ekstreme tørkevilkår. (Det er her svampen, der er den begrænsende faktor, idet TNV hele tiden i et vist mål frigjordes i jorden ved henfald af rødderne fra sidste års angrebne planter).

I stedet for at regne med et fuldstændigt stop for nyinfektioner i en vis periode, kunne en konstant – lav – infektionsrate kombineret med en evne hos tulipanerne til at »vokse fra« et sporadisk angreb lige så vel forklare de registrerede tal i de tidlige forårs måneder. Denne eventuelle »selvkurering« kunne hænge sam-

men med, at tulipanrødderne, da de først kom igang, voksede særlig hurtigt på grund af det sene læggetidspunkt.

I maj-juni er infektionen startet med fornyet styrke i forsøgsmark B. Dette korrelerer med en øget nedbørsmængde i denne periode.

Forskellen mellem de to forsøgsmarker kan skyldes, at *Olpidium*-populationen i mark B med sit større indhold af zoosporangier reagerede hurtigere på de forbedrede fugtighedsforhold. Desuden kan en lokal forskel i nedbørsmængde og eventuelt jordtype spille en rolle.

Selve livscyklus'en hos *Olpidium brassicae* kan imidlertid også medvirke til at kaste lys over tabellerne 3, 4 og 5's til tider manglende korrelation: Denne svamps livscyklus – fra infektion til ny zoosporeproduktion – er uhyre kortvarig, ialt ca. 72 timer, hvilket medfører, at man ved månedlige udtagninger kan gå glip af selv store udsving i *Olpidium*-forekomsten, selv om sådanne i reglen vil give årsag til senere registrerbare hvilesporangier i ukrudtsrødderne. Muligheden for, at sådanne kortvarige udsving i *Olpidium*-forekomsten kan være afgørende, forstærkes af, at det ikke nødvendigvis er de største TNV- og *Olpidium*-koncentrationer, der er afgørende, men tilstedeværelsen af gunstige smitteforhold i marken (Smith, Campbell & Fry 1969).

### *TNV-angrebstyper hos tulipaner.*

Der har i det ovenstående været omtalt forskellige grader af TNV-angreb. Hos tulipaner arbejdes med følgende 3 angrebsgrupper: 1) Angrebet begrænset til rødderne; 2) Toppen systemisk angrebet, men symptomfri; 3) Toppen systemisk angrebet og symptombærende. Kassanis (1954) beskriver, at egentlige Augustasymptomer udvikler sig året efter, at selve infektionen har fundet sted. Mowat (1970) refererer, at en TNV-rodinfektion året før ikke nødvendigvis fører til Augustasyge-symptomer året efter.

I afgrøden 1973 var ca. 50 pct. af tulipanerne på forsøgsområdet symptombærende. Denne høje infektionsgrad plus tilstedeværelsen af *Olpidium* og TNV i marken peger imod,

at tulipanerne dette år udviklede Augustasyge-symptomer ud fra en infektion foregået efter lægningen (primær smitte). At dette er muligt ses af, at der i forsøgsløgene i 1974 udvikledes én tulipan med Augustasyge-symptomer (se tabel 3 a og fig. 6) optaget kun 2 måneder efter lægningen. Ved samme optagning registreredes efter drivning 1 tulipan med latent TNV-smitte i toppen. At ingen af de senere inficerede tulipaner udviklede symptomer tyder på, at et tidligt smittetidspunkt er afgørende i spørgsmålet om symptomdannelse. Denne observation supplerer van Slogteren & Asjes' resultater fra 1970 gående ud på, at tulipaner er langt mere modtagelige for Augustasyge-smitte, når rødderne endnu er korte. – At smittetidspunktet er vigtigt for symptomdannelsen, udelukker dog ikke, at miljøfaktoren er medbestemmende; f. eks. er der en del, der tyder på, at en let sandjord vil give færre synlige Augustasyge-angreb end en tung jord. En afklaring af dette vil dog kræve yderligere forsøg.

#### *Bekæmpelse af Olpidium brassicae.*

Overlevelsen af *Olpidium* i form af hvilesporangier er omtalt nogle gange i det ovenstående, men endnu et aspekt skal nævnes: Selv om der kræves gunstige vilkår, for at hvilesporangierne udvikler fritsvømmende zoosporer, så vil en én gang angreben mark have en betydelig ressource af *Olpidium*-hvilesporangier i rødder og rodstykker, der vil udgøre en potentiel smiterisiko så længe, der også er TNV tilstede i jorden. Hvilesporangierne vil kunne overleve i jorden i et langt åremål (Campbell & Fry 1966), og de kan så at sige ikke rammes af jordbehandlingsmetoder. Der arbejdes for øjeblikket på at finde alternative måder til at rense jorden for *Olpidium*-infektion. Dette investeres der fortrinsvis i på grundet salatdyrkingen, fordi BVV (big vein virus), der ligeledes overføres af *Olpidium*, kan forvolde en betydelig nedgang i udbyttet af denne afgrøde (Haeske 1958). Een af mulighederne er således at forsøge at provokere hvilesporangierne til at udvikle zoosporer på et tidspunkt, hvor jor-

den er totalt rensat for mulige værter. Zoosporernes levetid er begrænset til timer, såfremt de ikke finder en egnet vært. Det forsøges at opnå dette ved behandling af jorden med ethylen under en eller anden form (Gold pers. comm. 1974).

#### *Nematodpopulationen.*

Nematodundersøgelsen viste, at *Trichodorus* (tabel 6) for begge arealers vedkommende forekom i en nogenlunde jævn population. De kvantitative udsving samt mangelen på forekomst i de fleste af prøverne den 11/2 kan skyldes udtagningen og opbevaringen. Det mest bemærkelsesværdige ved denne tabel fremkommer ved sammenligning med virustesten af jordprøverne (tabel 3 b), hvor der på intet tidspunkt blev konstateret tilstedeværelse af rattle virus (undersøgt ved både symptomaflæsning og EM-undersøgelser – se materialer og metoder).

Enkelte gange er *Longidorus*-slægten påvist i jordprøverne (tabel 6). Dette fremhæves i denne sammenhæng på grund af, at denne nematodslægt er vektor for visse sfæriske vira. Mali & Hooper 1974 beskriver således *Longidorus euonymus* som vektor for den sfæriske *Euonymus* mosaik virus (EMV), og dette virus er samtidig beskrevet som overført af *Olpidium brassicae*. Nærværende undersøgelse viser dog ingen sammenhæng mellem nematod-forekomsten og TNV-infektion af tulipanerne.

Ved jordprøvegangen så vel som ved ukrudtsundersøgelsen blev undersøgelsens eneste migrerende, endoparasitære nematod, *Pratylenchus neglectus* konstateret adskillige gange, både i æg-stadiet og i det bevægelige stadie. Det tidlige ægstadium er meget distraherende ved sådanne undersøgelser, da det til forveksling i form og placering ligner unge zoosporangier af *Olpidium brassicae* (se fig. 8).

#### **Konklusion**

Undersøgelsen viser, at kornplanter vokset op fra kerner i tulipanmarkernes dækningshalm, kan fungere som vært for *Olpidium brassicae*'s

opformering. Det er ligeledes konstateret, at disse planter kan være TNV-angrebne. Hvor væsentligt dette er for den faktiske viderebringelse af smitten er ikke fastslået.

På grundlag af konstaterede *Olpidium*-angreb på *Sinapis*, der på en af forsøgsmarkerne var anvendt som efterafgrøde for tulipaner, er det vist, at en vektor-linje af denne svamp kan fuldende sin livscyklus i en Crucifér.

Endvidere er det påvist, at både *Olpidium brassicae* og tobak nekrose virus kan inficere rødder af rug, hvede, havre og gulerødder. Resultaterne rummer ingen signifikant forskel i disse planters egenskab som vært for hverken viruset eller vektoren.

En erfaring fra dette forsøg er, at en direkte korrelation mellem fluktuationerne i *Olpidium*-forekomsten i ukrudtsrødderne og tidspunktet for TNV-infektion af tulipanerne kun kan anstilles, såfremt man foretager meget hyppige prøveudtagninger.

Den meteorologiske faktor kan ligeledes kun bruges i detaljer ved fortolkningen, såfremt målingerne foretages på stedet. Begge disse forhold skyldes *Olpidium brassicae*'s effektivitet som TNV-vektor og dens korte livscyklus med den deraf følgende evne til en hurtig reaktion på ændrede kår.

Resultaterne af de her refererede forsøg kombineret med egen erfaring og litteratur-opgivelser viser, at den største risiko for alvorlige Augustasyge-angreb på tulipaner forekommer, når efteråret og begyndelsen af vinteren er våd og uden frost. Dette giver *Olpidium* de bedste formeringsmuligheder på et tidspunkt, hvor løgene er modtagelige for et angreb, der senere vil blive symptomgivende.

### Erkendtlighed

Jeg ønsker at takke forvalter *Arne B. Jørgensen*, Hørbygård, og løgavlere *Uffe Hansen*, Tuborgvej, Fårevejle, for den velvilje, hvormed de stillede areal til rådighed for disse forsøg. Jeg vil desuden takke kontrollør *Hans Jørgen Jensen* for bistand ved materialeudtagningen.

### Litteratur

- Begtrup, J.* (1971). Metodik ved elektronmikroskopiske undersøgelser af plantevira. Tidsskr. f. Planteavl 75, 563/576.
- Bruyn Ouboter, M. P. de and E. van Slogteren* (1949). Het Augusta-Ziek der Tulpen een Virus-Ziekte van het Tabaks-Necrosetype. Tijdschrift over Plantenziekten 55, 5: 262-267.
- Campbell, R. N. and P. R. Fry* (1966). The nature of the association between *Olpidium brassicae* and lettuce big-vein and tobacco-necrosis-viruses. Virology 29: 222-233.
- Haeske, E.* (1958). Untersuchungen über das Blattnervenmosaik des Salats. Thesis Justus Liebig University, Giessen.
- Jacobsen, B.* (1943). Studies on *Olpidium brassicae* (Wor.) Dang. Contr. Dep. Pl. Path. R. Vet. Agric. Coll. Copenhagen 24: 1-53.
- Kassanis, B.* (1949). A necrotic disease of forced tulips caused by tobacco necrosis viruses. Ann. appl. Biol. 36: 14-17.
- Kassanis, B.* (1954). Tobacco necrosis viruses affecting tulips. Pl. Path. 3: 26-29.
- Lange, L.* (1973). Nogle iagttagelser og undersøgelser vedrørende angreb af Augustasyge hos tulipaner. Ugeskr. f. agronomer og hortonomer 28: 493-494.
- Lange, L.* (1975). Infection of *Daucus carota* by tobacco necrosis virus. Phytopath. Z. 83: 136-143.
- Mali, V. R. and D. J. Hooper* (1974). Observations on *Longidorus euonymus* N. sp. and *Xiphinema vuittenezi* luc et al., associated with spindle trees infected with *Euonymus mosaic virus* in Czechoslovakia. Nematologica 19: 459-567.
- Mowat, W. P.* (1970). Augusta disease in tulip - a reassessment. Ann. appl. Biol. 66: 17-28.
- Slogteren, D. H. M. van and H. R. Visscher* (1967). Transmission of a tobacco necrosis virus causing 'Augusta disease' to the roots of tulip by zoospores of the fungus *Olpidium brassicae* (Wor.) Dang. Meded. Rijksfac. Landb.-Wetensch. Gent. 32, ¾: 927-938.
- Slogteren, D. H. M. van and C. J. Asjes* (1970). Virus diseases in tulips. Laboratorium von Bloembollenonderzoek, Lisse. 193: 85-97.
- Smith, P. R., R. N. Campbell, and P. R. Fry* (1969). Root discharge and soil survival of viruses. Phytopath. 59: 1678-1687.
- Teakle, D. S.* (1962). Transmission of tobacco necrosis virus by a fungus, *Olpidium brassicae*. Virology 18: 224-231.



*Teakle, D. S. and C. E. Yarwood (1962). Improved recovery of TNV from roots by means of Olpidium brassicae. Phytopath. 52: 366.*

*Temmink, J. H. M. and R. N. Campbell (1969).*

Specific adsorption of tobacco necrosis virus particles onto zoospores of *Olpidium brassicae*. *Phytopath. 59: 1053.*

Manuskript modtaget den 14. juli 1975.