

KUNSTMATIGE BESMETTING VAN HAVER MET STUIFBRAND, *USTILAGO AVENAE* (PERS.) JENS.¹⁾

With a summary: Artificial contamination of oats with loose smut, Ustilago avenae (PERS.) JENS.

DOOR

J. A. J. VEENENBOS en T. W. BRANDSMA
Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

INLEIDING

Voor het toetsen van de fungicide werking van zaadontsmettingsmiddelen voor granen op basis van een organische kwikverbinding wordt onder meer haverstuifbrand gebruikt. Dit betekent, dat er elk jaar een partijtje haver aanwezig moet zijn, waarvan mag worden verwacht, dat de zaden voor een belangrijk percentage met stuifbrand zijn besmet. Voorheen werd dit zaad uit de praktijk verkregen. De laatste jaren bleek het echter niet meer mogelijk nog een perceel haver te vinden met veel brandpluimen. Bovendien was in de nateelt van een dergelijk perceel het percentage brandpluimen veelal zó gering (ca. 0,1 %), dat een betrouwbare conclusie omtrent de fungicide eigenschappen van de te onderzoeken middelen niet mogelijk was.

In verband hiermee werd gezocht naar een eenvoudige en doeltreffende methode om haver kunstmatig met stuifbrand te besmetten, opdat haverstuifbrand als toetsobject bij het onderzoek zou kunnen worden gehandhaafd. Dit onderzoek is van betekenis, omdat de schimmel door ontsmettingsmiddelen met een gering doordringend vermogen onvoldoende wordt bestreden. De infectie komt namelijk tot stand via mycelium of sporen, die zich tussen het kafje en het zaadje bevinden. Haverstuifbrand – hoewel geen ziekte van groot economisch belang – kan dus gegevens verschaffen omtrent de eigenschappen van het middel.

WERKWIJZE

Met het onderzoek werd in 1956 begonnen. In 1957 werden de proeven herhaald. In het jaar voorafgaande aan het jaar van onderzoek werden in de praktijk door stuifbrand aangetaste haverpluimen verzameld. Alvorens met de kunstmatige besmetting te beginnen, werd de kiemkracht van de sporen bepaald. Daartoe werden gepelde haverkorrels gedoopt in een suspensie van de te onderzoeken sporen, waarna de zaden op vochtig filtreerpapier werden uitgelegd en bij 24 °C bewaard. Na 42 uur werden de sporen voorzichtig van de zaden gewassen en werd onder de microscoop het percentage gekiemde sporen bepaald. Dit bedroeg in 1956 10% en in 1957 38%.

¹⁾ Aangenomen voor publikatie 4 december 1957.

De onderstaande besmettingsmethoden werden beproefd:

I. Methode van HAARRING (1930). In een exsiccator werden achtereenvolgens gebracht 500 ml voedingsoplossing, 1 g stuifbrandsporen en 250 g haver. De voedingsoplossing bevatte per liter gedestilleerd water 1 g druivesuiker, 1 g NaCl, 1 g CaCl_2 , 2 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2 g K_2SO_4 en 2 g KH_2PO_4 . De exsiccator werd 10 minuten lang aangesloten op een luchtzuigpomp, die de luchtdruk deed dalen tot ca. 1 cm kwikdruk. Voor en tijdens het afzuigen van de lucht werd de exsiccator enige malen geschud, teneinde de luchtbellens tussen de zaden en tussen zaad en kaf te laten ontwijken en de sporensuspensie homogeen te houden. Vervolgens werd de haver uit de exsiccator gehaald en snel gedroogd.

Het principe van deze „natte vacuüm-methode” is, dat de lucht, die tussen de kafjes en het zaadje zit, wordt verwijderd en de sporensuspensie de gelegenheid krijgt tot deze plaats door te dringen.

II. Dezelfde methode als onder I, doch met leidingwater in plaats van een voedingsoplossing.

III. Volgens een mondelinge mededeling uit Zweden zou ook een „droge vacuüm-methode”, waarbij de zaden in een exsiccator worden gedaan zonder toevoeging van een vloeistof, een zware besmetting kunnen veroorzaken. Aan 1 kg zaad werden door ons 4 g sporen toegevoegd. Daarna werd de luchtzuigpomp gedurende tweemaal 10 minuten in werking gesteld, onderbroken door een korte periode waarin weer lucht werd toegelaten.

IV. Methode van PONCHET (1955). Gedurende 6 of 12 uur werd 500 g haver geweekt in 1 l sporensuspensie, die 4 g sporen per liter leidingwater bevatte. Daarna werd het zaad of direct gedroogd of eerst nog 20, 40 of 60 uur op filtreerpapier bewaard en daarna gedroogd.

Volgens genoemde onderzoeker is het gebruik van een luchtzuigpomp niet nodig, omdat bij langdurige onderdompeling van de zaden, de kafjes gaan wijken. Hierdoor kan de lucht tussen het zaadje en het kafje ontsnappen en de sporensuspensie binnendringen.

Het bewaren van het zaad op vochtig filtreerpapier had tot doel de sporen reeds op dat tijdstip de gelegenheid te geven te kiemen, omdat dit ook bij de natuurlijke besmetting van het zaad in de praktijk het geval kan zijn.

V. In navolging van PONCHET werd de onder IV beschreven methode enigszins gewijzigd. Het zaad werd niet ondergedompeld in een sporensuspensie, doch gedurende een gelijk aantal uren voorgeweekt in leidingwater en vervolgens goed vermengd met droge sporen (4 g sporen per kg zaad), nadat eerst de vloeistof was afgegoten. Daarna werd het zaad snel gedroogd, dan wel 20, 40 of 60 uur op filtreerpapier bewaard en ten slotte gedroogd.

VI. De droge sporen en het droge zaad werden grondig gemengd, zonder dat van een exsiccator gebruik werd gemaakt.

Zowel in 1956 als in 1957 vond de besmetting volgens de zes beschreven methoden eind februari plaats. Er werd gewerkt bij kamertemperatuur (16 tot 20 °C). De sporen waren afkomstig van brandpluimen uit het ras Marne. Dit was ook het ras, waarmede de proeven werden genomen. Een bepaling van de kiemkracht van het zaad wees uit, dat deze door geen van de behandelingen nadelig was beïnvloed.

Alle monsters werden uitgezaaid op het proefveld van de Plantenziektenkundige Dienst te Wageningen. In 1956 werd gezaaid op 19 maart en in 1957 op

7 maart. De ervaring heeft namelijk geleerd, dat bij vroeg zaaien de infectiekansen groter zijn. Per object werd 125 g haver uitgezaaid. Aangezien het proefveld gelijkmatig was, werd er de voorkeur aan gegeven deze hoeveelheid zaaizaad op één veldje van 10 m² uit te zaaien. Het resultaat van het onderzoek kon begin juli worden vastgesteld door het aantal door stuifbrand aangetaste pluimen te tellen.

RESULTATEN

Tabel 1 geeft een overzicht van de resultaten. Met de natte vacuüm-methoden van HAARRING (I en II) werd het hoogste percentage aangetaste pluimen bereikt (12 tot 16 %). Het blijkt echter niet noodzakelijk te zijn de door HAARRING aanbevolen voedingsoplossing te gebruiken, want met leidingwater werd het zelfde resultaat verkregen.

De methoden III en VI, waarbij het zaad en de sporen in droge toestand werden vermengd, leidden slechts tot een zeer geringe besmetting (ca. 1 %). Het verlagen van de luchtdruk bleef in dit geval dus zonder gevolg.

De methoden van PONCHET (IV en V) leverden een zeer bevredigend resultaat op (ca. 8 % stuifbrandpluimen). Vermoedelijk is de kans op infectie bij methode V groter dan bij methode IV.

TABEL 1. Vergelijkend onderzoek van verschillende methoden om haver kunstmatig met stuifbrand te besmetten.

Comparison of different methods of artificial contamination of oats with loose smut.

Omschrijving van de methode <i>Description of the method</i>	Stuifbrandpluimen per 10 m ² <i>Smuted panicles per 10 m²</i>			
	1956		1957	
	Aantal <i>Number</i>	%	Aantal <i>Number</i>	%
I. Natte vacuüm-methode met voedingsoplossing <i>Wet vacuum method with nutrient solution</i>	369	12	510	16
II. Natte vacuüm-methode met leidingwater <i>Wet vacuum method with tap water</i>	402	13	483	15
III. Droge vacuüm-methode <i>Dry vacuum method</i>	24	1	29	1
IV. 6 uur ondergedompeld in een sporensuspensie; daarna direct gedroogd <i>6 hours submerged in a spore suspension; dried directly afterwards</i>	192	6	223	7
V. 12 uur voorgeweekt en daarna gemengd met droge sporen <i>12 hours presoaked in water and afterwards mixed with dry spores</i>	174	6	363	11
VI. Sporen en zaad in droge toestand gemengd <i>Mixing of dry spores and dry seed</i>	—	—	31	1

Tabel 2 toont aan, dat indien het zaad direct na de behandeling werd gedroogd, er meer zieke pluimen ontstonden, dan indien het zaad eerst enige tijd op filtreerpapier werd bewaard en daarna werd gedroogd.

Omdat bij de methode van PONCHET geen exsiccator en luchtzuigpomp worden

TABEL 2. Invloed van de tijd tussen besmetting en drogen van het zaad op de mate van aantasting. Getallen geven het aantal stuifbrandpluimen per 10 m² aan.
Influence of the time between contamination and drying of the seed on the degree of infection. Numbers indicate the smutted panicles per 10 m².

Omschrijving van de methode <i>Description of the method</i>	uren (hours)	Tijd (in uren) tussen infectie en drogen <i>Time (in hours) between contamination and drying</i>			
		0	20	40	60
IV. Tijd van onderdompeling in sporensuspensie <i>Time of submersion in a spore suspension</i>	6	223	71	89	57
	12	111	119	63	31
V. Tijd van weken voor het mengen met droge sporen <i>Time of presoaking before mixing with dry spores</i>	6	366	59	79	125
	12	363	264	173	57

gebruikt, kan deze veel eenvoudiger worden uitgevoerd dan die van HAARRING. Dat de besmettingsgraad iets lager ligt dan bij de methode van HAARRING, is voor het onderzoek van zaadontsmettingsmiddelen geen bezwaar.

De 10 % aangetaste pluimen in de nateelt van het niet ontsmette zaad geven voldoende ruimte om de fungicide werking van de middelen te leren kennen.

SAMENVATTING

Bij het onderzoek naar de fungicide werking van zaaizaadontsmettingsmiddelen voor granen is het zeer gewenst te beschikken over een partij haver, die zwaar met stuifbrand is besmet. In verband hiermede zijn enkele methoden vergeleken om haver kunstmatig met stuifbrand te besmetten.

De zwaarste aantasting (ca. 14 %) werd verkregen, indien volgens de natte vacuüm-methode van HAARRING werd gewerkt. Bij deze methode bleek het vervangen van de voedingsoplossing door leidingwater geen afbreuk te doen aan het resultaat.

Een iets lager percentage (ca. 10 %) stuifbrandpluimen werd bereikt bij de dompel- en de voorweek-methode van PONCHET. De mate van aantasting mag echter nog ruim voldoende worden geacht om de volgens deze methode besmette partij geschikt te doen zijn voor gebruik bij het onderzoek van zaadontsmettingsmiddelen. Een voordeel van de methode van PONCHET boven die van HAARRING is, dat hierbij geen exsiccator en luchtzuigpomp benodigd zijn. De methode is dan ook zeer geschikt voor het verkrijgen van besmet zaaizaad, bijvoorbeeld voor het aanleggen van een demonstratieveldje met haverstuifbrand.

Andere onderzochte methoden, waarbij de zaden en de sporen zonder toevoeging van water werden vermengd, leverden slechts een zeer gering percentage (ca. 1 %) aangetaste pluimen op.

Bij alle besmettingsmethoden gold, dat direct drogen van het zaad na de behandeling de mate van aantasting deed toenemen.

SUMMARY

Seeds of oats contaminated with loose smut were used for testing the fungicidal value of cereal seed disinfectants. As it was impossible to obtain contaminated seed from the field in recent years several methods for artificial contamination were tried.

The best result (14 % of smutted panicles) was obtained with the „wet vacuum” method of HAARRING. With the aid of a dessiccator and a water jet pump the air between the glumes and kernels was replaced by a spore suspension. The degree of infection was the same when the nutrient solution was replaced by tap water.

The method used by PONCHET gave 10 % of diseased panicles. Here the seed is merely submerged in a spore suspension or is presoaked in tap water and mixed afterwards with dry spores. To obtain contaminated seeds of oats for the testing of seed disinfectants this method is preferable because of its easy application and the satisfactory degree of infection obtained.

Some other methods of mixing seed and spores without the addition of water gave only 1 % of smutted panicles. The highest degree of diseased plants was obtained when the seed was dried directly after the artificial contamination.

LITERATUUR

- HAARRING, F., – 1930. Eine Infektionsmethode für Haferflugbrand (*Ustilago avenae* JENS.) und ihre Anwendung zu Beiz- und Immunitätsversuchen im Laboratorium und Feld. Bot. Arch. 29: 444–473.
- PONCHET, J., – 1955. Sur le traitement de la carie du blé et du charbon de l'avoine. Ann. Epiphyt. 3: 301–313.