

BIOLOGIE EN BESTRIJDING VAN *UROCYSTIS*
GLADIOLICOLA AINSW. OP GLADIOLEN¹

With a summary: Biology and control of Urocystis gladiolicola
Ainsw. on gladioli

DOOR

P. K. SCHENK

Laboratorium voor Bloembollenonderzoek te Lisse

INHOUD

1. INLEIDING	317
Aanleiding tot het onderzoek	317
Identiteit en nomenclatuur van de brandschimmel	317
Gladioleteelt	318
2. SYMPTOMEN	320
2.1. ALGEMEEN VOORKOMENDE SYMPTOMEN	320
2.2. BIJKOMENDE VERSCHIJNSELEN	321
Analyse van de aantasting in een vroegbloeiende cultivar	321
Rustbreking tengevolge van infectie door brand	324
2.3. GELIJKTIJDIGE AANTASTING DOOR ANDERE ZIEKTEN	325
3. BIOLOGIE	326
3.1. HET VERLOOP VAN DE AANTASTING	326
3.1.1. <i>De Standaardmethode (S.M.) voor het microscopische onder-</i> <i>zoek</i>	326
Methodiek	326
Typering van de aantasting met behulp van de S.M.	327
3.1.2. <i>Het eerstejaarsstadium (S1 en S1B)</i>	328
Infectie in natuurlijk besmet plantmateriaal	328
Infectie in besmette grond	329
3.1.3. <i>Het tweedejaars- en uitgestelde tweedejaarsstadium (S2 en</i> <i>S2U)</i>	330
Definiëring van de begrippen S2 en S2U	330
De groei van brandmycelium in knollen met laag aantastings- <i>cijfer na het planten</i>	332
Het verloop van de aantasting na het planten van knollen met	
aantastingscijfers variërend van 1 tot en met 4	333

¹ Aangenomen voor publikatie 13 oktober 1961

Het voorkomen van S2U bij vroegbloeiende gladiolen . .	335
Overzicht van het verloop van de aantasting	336
Correlatie tussen het microscopische onderzoek (S.M.) en de waarnemingen te velde	337
3.2. DE INFECTIE	337
3.2.1. <i>De invloed van inoculatiemethode en sporenconcentratie</i> . .	337
Het inoculum	337
Infectie in kunstmatig besmet plantmateriaal in afhankelijk- heid van de plaats van inoculatie	338
Inoculatie van vroegbloeiende cultivars	340
Vorming van sori in de bovengrondse delen in S1 na inocu- latie in vacuüm	342
Vergelijking van vacuüm-inoculatie met enige andere inocu- latie-methoden	343
3.2.2. <i>Het tijdstip en de wijze van infectie</i>	345
Inoculatie op verschillende data in de loop van het groeisei- zoen	345
De infectie en het verloop van de aantasting in de eerste maanden van de groei van de gladiool bij optimale bodem- temperatuur	348
De wijze van infectie door <i>U. gladiolicola</i> in vergelijking met die door andere brandschimmels	349
3.2.3. <i>Variatie in het effect van de infectie in S1</i>	350
3.3. DE INVLOED VAN HET MILIEU OP DE ONDERSCHIEDEN STADIA . . .	353
3.3.1. <i>De invloed van enkele cultuurmaatregelen in S1</i>	353
Invloed van plantdatum, plantdiepte en bemesting op de in- fectie	353
Invloed van het rooitijdstip op het aantastingstype	353
3.3.2. <i>De invloed van de temperatuur en het vochtgehalte van de grond in S1</i>	354
Methodiek	354
Invloed op de groei van de waardplant	355
Invloed op de infectie en het verloop van de aantasting . .	357
3.3.3. <i>De invloed van de bewaartemperatuur in S1B</i>	359
3.3.4. <i>De invloed van de bodemtemperatuur in S2</i>	361
3.4. DE INVLOED VAN DE VERSCHILLENDE STADIA VAN DE ZIEKTE OP DE GROEI VAN DE GLADIOOL	364
Invloed van S1 op de groei van de gladiool	364
Mate van aantasting van gladioleknollen in S1 in afhanke- lijkheid van de grootte	364
Invloed van S2 op de groei van de gladiool	366
3.5. DE VATBAARHEID VAN GLADIOLESOORTEN EN -CULTIVARS	366
3.6. DE BRANDSCHIMMEL	369
3.6.1. <i>De infectie en het mycelium in de waardplant</i>	369

Sporekieming	369
Infectie en groei van de brandschimmel in gladioleweefsel	370
3.6.2. <i>De levensduur van de brandsporen</i>	374
4. BESTRIJDING	375
4.1. MAATREGELEN TER VOORKOMING VAN S1	375
4.1.1. <i>Grondontsmetting</i>	375
4.1.2. <i>Plantgoedontsmetting</i>	377
4.2. MAATREGELEN TER VOORKOMING VAN S2	378
4.2.1. <i>Warmwaterbehandeling</i>	378
Warmwaterbehandeling van kleine knollen van de cultivar "Van Tienhoven".	379
Warmwaterbehandeling van grote knollen van de cultivar "Van Tienhoven"	380
De invloed van tijdsduur en temperatuur op het resultaat van de behandeling met warm water	380
De invloed van de bewaartemperatuur voor en na de warmwaterbehandeling	381
De invloed van sterke uitdroging van de knollen vóór de warmwaterbehandeling	382
Effect van de warmwaterbehandeling op de gladiool	383
Praktische toepassing van de warmwaterbehandeling bij gladiolen vergeleken met die bij tarwe en gerst	384
4.2.2. <i>Onderdompeling in water en anaërobe behandeling</i>	385
Tegen stuifbrand in tarwe en gerst	385
Tegen brand in gladiolen	386
4.2.3. <i>Droge bewaring bij 34°C</i>	388
De invloed van de behandelingsduur bij 34°C	389
4.3. MAATREGELEN TER VOORKOMING VAN S1 EN S2 IN EEN EN DEZELFDE PARTIJ	390
4.3.1. <i>Het optreden van nieuwe infecties na warmwaterbehandeling</i>	390
Bestrijding van sporen die de warmwaterbehandeling hebben overleefd	391
4.3.2. <i>Maatregelen ter voorkoming van S1 en S2 bij kralen</i>	393
Warmwaterbehandeling van kralen bij 53 en 55°C	395
4.4. BESTRIJDING BIJ VROEGBLOEIENDE GLADIOLLEN	396
SAMENVATTING	401
SUMMARY	406
LITERATUUR	414

1. INLEIDING

Aanleiding tot het onderzoek

De gladiool neemt onder de in ons land geteelde bloembollen en -knollen een steeds belangrijker plaats in. De beplante oppervlakte schommelt sterk van jaar op jaar; in het laatste decennium varieerde zij van 1600 tot 2500 ha. De exportwaarde nam in deze periode toe tot circa f 25.000.000, waarvan de Verenigde Staten van Noord-Amerika omstreeks 20% voor hun rekening namen.

Verschillende schimmelziekten vormen een bedreiging voor de cultuur van dit gewas. Jaarlijks gaan honderdduizenden knollen verloren door het optreden van *Fusarium oxysporum* f. *gladioli* (Mass.) Snyder et Hans., *Stromatinia gladioli* (Drayt.) Whetz., *Botrytis gladiolorum* Timmermans en, in afnemende mate, *Septoria gladioli* Pass. De verwekker van de brandziekte, *Urocystis gladiolicola* Ainsw., behoort niet tot deze categorie. Hij komt al tientallen jaren in ons land voor, doch nooit is gebleken dat hij een groot gevaar voor de teelt van gladiolen vormt, evenmin overigens als in de ons omringende landen.

In de jaren na de tweede wereldoorlog werden door de fytosanitaire instanties in de Verenigde Staten, bij inspectie van geïmporteerde gladiolen, in een aantal gevallen door brand aangetaste knollen gevonden. Daar deze ziekte tot op dat moment slechts eenmaal in dat land was waargenomen (MACLEAN, 1951) en toen met succes was onderdrukt, terwijl geen gegevens bekend waren over de omstandigheden die het optreden bevorderen, vreesde men, dat introductie van de parasiet in Amerika wel eens ernstige gevolgen zou kunnen hebben voor de eigen, zeer belangrijke cultuur (LIMBER, 1953). Het voorkomen van brand in Nederlandse partijen gladiolen zou dus een bedreiging voor de export naar Amerika kunnen worden. In verband met dit gevaar werden door de Plantenziektenkundige Dienst en de Bloembollenkeuringsdiensten zeer strenge maatregelen getroffen. Partijen waarin te velde meer dan 1% van het aantal planten was aangetast, moesten worden vernietigd. Bij een aantasting van minder dan 1% werden de knollen slechts onder bepaalde voorwaarden vrijgegeven voor export.

De getroffen maatregelen berustten echter niet op een gedegen kennis van de ziekte, waarover geen betrouwbare gegevens bleken te bestaan. Nader onderzoek naar de wijze van infectie, het verloop van de ziekte en de bestrijding was dus zeer gewenst en werd in het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek ter hand genomen.

Identiteit en nomenclatuur van de brandschimmel

In 1830 beschreef DUBY (zie voor deze en enkele van de volgende auteurs AINSWORTH, 1949) de verwekker van een ziekte op gladiolen onder de naam *Uredo gladioli* Requien. SMITH (1876) schreef, na overleg met o.a. BREFELD in Berlijn, een rot van gladioleknollen toe aan een brandschimmel, die hij *Urocystis gladioli* Smith noemde. DE TONI (1888) veronderstelde dat beide schimmels identiek waren en schiep de naam waaronder de brandziekte van gladiolen lange tijd heeft bekend gestaan: *Urocystis gladioli* (Requien) Smith.

In 1922 stelde LIRO voor — op grond van zijn conceptie van het geslacht *Tubercinia* Fries — de brandschimmel van gladiolen onder de naam *Tubur-*

cinia gladioli (Requien) Liro hierin onder te brengen. De meeste auteurs gaven hieraan echter geen gevolg.

WERNHAM (1938) meende de brandziekte voor het eerst in Amerika te hebben waargenomen. Hij gaf bovendien aan, dat (voor een brandschimmel wel zeer merkwaardig) in vitro reeds na een week "chlamydosporen" werden gevormd. De verwarring werd nog groter toen DODGE & LASKARIS (1941) op grond van hun onderzoek van Amerikaans materiaal tot de conclusie kwamen, dat er bij gladiolen in het geheel geen sprake was van een brandziekte. Alle vroegere auteurs zouden ten onrechte een saprofytische of hoogstens zeer zwak parasitaire schimmel van het geslacht *Papulaspora* voor een brandschimmel hebben gehouden. Dit hield echter geen stand toen HOTSON in 1942, door vergelijking van de Amerikaanse schimmel met Europees herbariummateriaal, aantoonde dat in het laatste geval wel degelijk sprake was van een echte brandzwam.

Het verlossende woord werd door AINSWORTH (1949) gesproken. Hij maakte het aannemelijk, dat *Uredo gladioli* Requien synoniem is met *Puccinia gladioli* Cast. en dat de schimmel die door SMITH werd beschreven een *Papulaspora*-soort is geweest. De laatstgenoemde auteur heeft ook aan deze mogelijkheid gedacht en zijn afbeeldingen komen met die van *Papulaspora* overeen, doch mede op gezag van BREFELD en anderen kwam hij tot de conclusie, dat hier sprake was van een *Urocystis*-soort. AINSWORTH beschreef vervolgens de brandschimmel onder de naam *Urocystis gladiolicola*, waaraan tot nu toe niet is getornd.

Als gevolg van de genoemde verwarring zijn de meeste oudere meldingen van het optreden van deze ziekte onbetrouwbaar. In de volgende landen is de ziekte met zekerheid waargenomen: Engeland (COLLINGE, 1912; PETHYBRIDGE, 1926; MOORE, 1939, 1948), Nederland (VAN POETEREN, 1924, 1925, 1928, 1929; SCHENK, 1958), Duitsland (PAPE, 1927, 1955) en Italië (SCURTI, 1955). In de Verenigde Staten is, zoals reeds werd opgemerkt, de ziekte slechts eenmaal gevonden (MACLEAN, 1951).

G l a d i o l e t e e l t

Ter wille van een goed begrip van de levenswijze van de desbetreffende brandschimmel is het dienstig hier enige opmerkingen over de cultuur van gladiolen te maken.

Men onderscheidt in dit gewas een vroeg- en een laatbloeiende groep. De belangrijkste vertegenwoordigers van de eerste zijn de cultivars die tot *Gla-diolus*×*nanus* en *G.*×*colvillei* worden gerekend. Deze worden meestal omstreeks december geplant en door een dikke laag riet tegen vorst beschermd. Iedere knol vormt, afhankelijk van de grootte, twee tot vijf spruiten, die evenzoveel jonge knollen doen ontstaan. De bloeitijd valt in juni en de rooitijd in augustus.

Tot de laatbloeiende gladiolen behoort de grootste en verreweg belangrijkste groep van de grootbloemige rassen. Deze worden vermenigvuldigd door middel van kralen¹, die in maart-april worden geplant. Het hieruit groeiende

¹ Kralen zijn kleine, door een goed gesloten, harde schub beschermde knolletjes. Morfologisch zijn het bulbillen. Zij worden gevormd aan korte stolonen, die groeien uit het verbindingsstuk tussen de oude en de jonge knol.

gewas vormt meestal geen bloemen. Het wordt in augustus-oktober gerooid en levert dan het zogenaamde plantgoed, waarvan de knolgrootte kan variëren van 2-10 cm omtrek. Het volgende voorjaar (april) worden deze weer uitgeplant om tot een leverbaar produkt (10-14 cm of meer) uit te groeien. In tegenstelling tot de vroegbloeiende gladiolen vormen de knollen van de grootbloemige cultivars slechts een of soms twee op de top ingeplante spruiten. Dit gewas bloeit omstreeks augustus en wordt vanaf de tweede helft van september gerooid. Kralen worden zowel gevormd door planten gegroeid uit kralen, als door die uit knollen. De praktijk spreekt daarom van "kralen van kralen" en "kralen van knollen" en duidt daarmee ook het gewas aan, dat uit deze organen groeit. In het hierna volgende zijn deze termen enkele malen gebruikt.

Voor de bouw en ontwikkeling van de grootbloemige gladioleplant moge naar HARTSEMA (1937) worden verwezen. Fig. 8A (blz. 35) geeft een beeld van de ondergrondse delen.

2. SYMPTOMEN

2.1. ALGEMEEN VOORKOMENDE SYMPTOMEN

In een vroegere publikatie werd reeds meegedeeld, dat het aantastingsverloop van *Urocystis gladiolicola* Ainsw. op gladiolen tweejarig is (SCHENK, 1958). Daarin werd uiteengezet, dat soms aan het eind van het seizoen waarin infectie is opgetreden, symptomen op de knollen kunnen worden waargenomen, terwijl in andere gevallen de infectie uitsluitend microscopisch kan worden onderkend. Uit deze zieke knollen, met al of niet met het blote oog waarneembare symptomen, groeien in het tweede jaar de aangetaste planten.

Macroscopisch zichtbare ziekteverschijnselen ontstaan uitsluitend wanneer de parasiet overgaat tot sporenvorming. De sporen ontstaan in dichte massa's in blad- en stengelweefsel. De hierbij gevormde holten, de sori, zijn gevuld met een donkerbruin tot zwart sporenpoeder, waardoor zij met het blote oog waarneembaar zijn. In de bladachtige delen van de gladioleplant bevinden de sori zich aanvankelijk tussen de nerven; in een later stadium volgt meestal totale desintegratie van het waardplantweefsel.

Als in het eerste jaar infectie heeft plaatsgevonden, kunnen de eventueel in de ondergrondse delen gevormde sori meestal in de loop van september worden gevonden. In het dan nog blanke weefsel van de knolschubben, stolonen en kralen zijn ze zichtbaar als licht- tot donkerloodgrijs doorschemerende, soms iets opgezwollen vlekken. Na verwijdering van de epidermis en eventueel ook van enkele cellagen daaronder, komt de kenmerkende zwarte sporen-massa te voorschijn. De grootte van de sori varieert van nauwelijks met het blote oog waarneembare puntjes, tot grote aaneengesloten plekken (fig. 1c). Vaak ligt een groot aantal kleinere sori groepsgewijs bijeen. Na het rooien, drogen en schoonmaken zijn de schubben van knollen en vooral van kralen donkerder van kleur, zodat eventueel aanwezige sori minder opvallen.

Ook in het knolvlees kunnen dikwijls sori worden gevonden; vaak zijn zij klein, alleenliggend of in groepjes, in andere gevallen echter vormen zij grote holten in het weefsel, veelal op een willekeurige plaats in de knol (fig. 1a).

In het tweede jaar zijn dikwijls al direct na opkomst de eerste verschijnselen van de aantasting zichtbaar. De planten groeien scheef (fig. 1b) en de jonge bladeren vertonen aanvankelijk witachtige strepen, die reeds na enkele dagen, bij het rijpen van de sporen, donker verkleuren op dezelfde wijze als dit door NOBLE (1924) is beschreven voor *Urocystis tritici* op tarwe. Deze ernstig aangetaste planten groeien nog enige tijd door, doch in de loop van de zomer kleuren ze geel en sterven af. Ze rotten weg, waardoor de sporen vrij komen, die dan in de grond achterblijven en tijdens de handelingen bij het rooien ook op de knollen en kralen van gezonde planten terecht komen. Dit laatste is in 1956 het geval geweest bij een partij "Van Tienhoven", waarover eerder werd gepubliceerd (SCHENK, 1958).

In andere gevallen treden de tweedejaars-symptomen echter niet zo snel op. Aanvankelijk groeien de planten normaal en pas in de loop van de zomer wordt duidelijk, dat er iets aan de hand is. Vooral bij tegenlicht zijn de zwarte strepen in het blad dan duidelijk waarneembaar; dikwijls groeien de planten krom en blijft de bloem steken. Sporadisch komt het voor, dat aan een ogenschijnlijk gezonde plant de bloeiwijze wel tot ontwikkeling komt, doch dat de stengel,

de schutbladen en soms zelfs het vruchtbeginsel en de meeldraden sori bevatten (fig. 1D).

Als uiterste geval zijn bovengronds in het geheel geen aanwijzingen te vinden, dat de plant door brand is aangetast, terwijl dan bij het rooien op de ondergrondse delen dezelfde symptomen te zien zijn, die ook aan het einde van het eerste jaar kunnen optreden; dit is het uitgestelde tweedejaarsstadium (S2U), dat in 3.1.3 nader wordt besproken.

Naarmate de ziekte later zichtbaar wordt, ondervindt de groei van de waardplant minder stagnatie.

Zoals hierboven is uiteengezet, blijven de symptomen in het eerste jaar in het algemeen beperkt tot de ondergrondse delen. Bij infectie onder natuurlijke omstandigheden kunnen echter laat in het seizoen in een gewas gegroeid uit kralen, soms al enkele planten met sori in het blad worden aangetroffen. In een dergelijk geval vormen deze planten slechts een fractie van het totale aantal geïnfecteerde planten. Na kunstmatige inoculatie in vacuüm en onder optimale omstandigheden voor het optreden van brand, kunnen ook bij planten uit knollen in september al symptomen in de bladeren worden gevonden, terwijl dan tevens in veel gevallen sori in de bloemaar aanwezig zijn, zoals die ook in het tweede jaar kunnen voorkomen (3.2.1, blz. 25 e.v.).

2.2. BIJKOMENDE VERSCHIJNSELEN

Analyse van de aantasting in een vroegbloeiende cultivar

In 1957 werd een aantal waarnemingen verricht in een partij *G. × nanus* "Peach Blossom", waarin te velde veel planten door brand waren aangetast. De grootte van de geplante knollen bedroeg 6-8 cm.

Op 29 mei werden hiervan 765 planten gerooid en onderzocht op het voorkomen van uitwendig zichtbare symptomen in de spruiten. Uit het samenvattende overzicht in tabel 1 blijkt, dat 32,7% van het totale aantal planten was aangetast. Bij 25% was dit echter slechts zichtbaar in een deel van de spruiten per plant. Uit het hogere gemiddelde aantal spruiten per zieke plant, in

TABEL 1. Het voorkomen van uitwendig zichtbare symptomen in een ernstig door brand aangetaste partij *G. × nanus* "Peach Blossom" (29 mei 1957).

The incidence of externally visible smut symptoms in a heavily diseased lot of G. × nanus 'Peach Blossom' (29th May, 1957).

Spruiten van de plant <i>Sprouts of the plant</i>	Aantal planten <i>Number of plants</i>	%	Aantal spruiten <i>Number of sprouts</i>	Gemiddeld aantal spruiten per plant <i>Mean number of sprouts per plant</i>
Zonder symptomen <i>Showing no symptoms</i>	515	67,3	1494	2,90
Gedeeltelijk met sympt. <i>Some showing symptoms</i>	191	25,0	659	3,45
Alle met symptomen <i>All showing symptoms</i>	59	7,7	190	3,22
Totaal aantal planten met symptomen <i>Total number of plants showing symptoms</i>	250	32,7	849	3,40

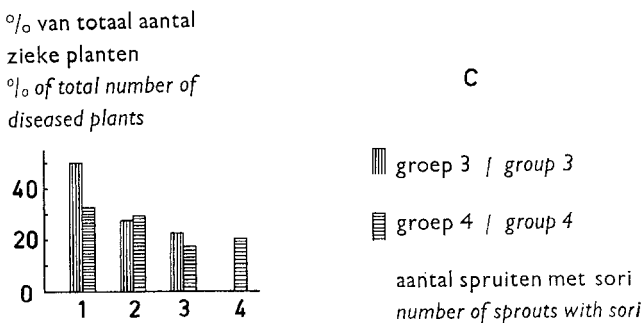
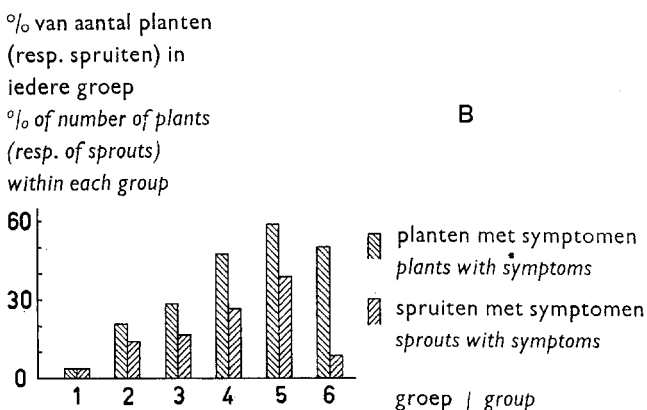
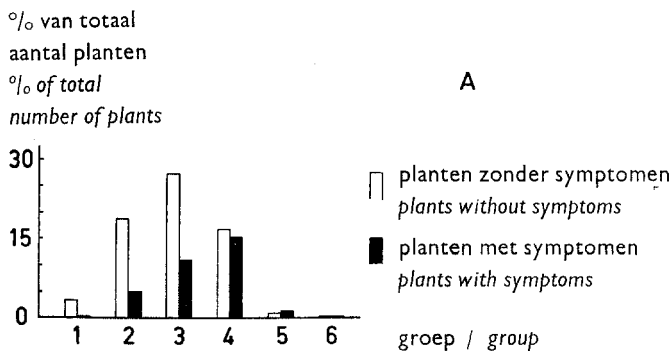


FIG. 2. Analyse van het voorkomen van sori in planten en spruiten van een zwaar aangetaste partij *G. × nanus* "Peach Blossom". Het materiaal is ingedeeld in groepen met eenzelfde aantal spruiten per plant; dit aantal komt overeen met het groepnummer.
Analysis of the presence of sori in plants and sprouts of a heavily diseased stock of G. × nanus 'Peach Blossom'. The material is divided in groups with the same number of sprouts per plant; this number corresponds with the number of the group.

vergelijking met dat van gezonde exemplaren, valt op te maken dat de moederknol tengevolge van de aantasting meer knoppen had doen uitgroeien.

Een nadere analyse van dit materiaal wordt in fig. 2 gegeven, waar een indeling is gemaakt in groepen met eenzelfde aantal spruiten per plant. Planten zonder symptomen in de bladeren waren het talrijkst in de groep met drie spruiten per plant (korthedshalve aangeduid als groep 3); planten met symptomen kwamen echter het meest in groep 4 voor (fig. 2A). Het percentage zieke planten binnen iedere groep nam toe van 3,7 in groep 1 tot 58,8 in groep 5. De verhouding van het aantal spruiten met sori tot het totale aantal spruiten binnen iedere groep nam in dezelfde volgorde toe van 3,7 tot 38,8% (fig. 2B). Uit het verloop van het percentage zieke planten met toenemend aantal aangetaste spruiten in de groepen drie en vier blijkt tenslotte, dat planten met slechts één zieke spruit het talrijkst waren, terwijl volledige aantasting het minst voorkwam (fig. 2C).

Van 250 ogenschijnlijk gezonde planten van dezelfde partij "Peach Blossom" werden ook de oude en jonge knollen op de aanwezigheid van brandsymptomen onderzocht. Bij acht planten met totaal 24 spruiten werden in negen jonge knollen sori in het knolvlees aangetroffen. Bovendien bleek in twee planten de moederknol sori te bevatten, terwijl toch de spruiten en de jonge knollen geen symptomen te zien gaven. Op grond van deze waarnemingen mag de conclusie worden getrokken, dat bij vroegtijdig verwijderen van alle bovengronds zichtbaar zieke planten, toch een deel van de aantasting in het gewas achterblijft.

TABEL 2. Het voorkomen van macroscopische symptomen in de oude en jonge knollen en spruiten van 13 van de 50 bij het rooien (29 juli 1957) onderzochte planten, twee maanden na de in tabel 1 vermelde analyse. Eind mei waren alle planten met sori in de bovengrondse delen verwijderd.

The incidence of macroscopical symptoms at lifting (29th July, 1957), in the old and young corms and the sprouts of 13 out of 50 plants from the same field as in table 1. All the smutted plants had been removed by the end of May.

	Oude knol Old corm	Spruiten Sprouts									
		1		2		3		4		5	
		Jonge knol Young corm	Blad Leaf	Jonge knol Young corm	Blad Leaf	Jonge knol Young corm	Blad Leaf	Jonge knol Young corm	Blad Leaf	Jonge knol Young corm	Blad Leaf
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
2	+	+	+	+	+	-	-				
3	?	+	+	+	+	-	-				
4	+	+	+	+	+						
5	+	+	+	-	-	-	-				
6	+	+	+	+	-	-	-				
7	+	+	-	+	-	-	-				
8	+	+	-	+	-	-	-				
9	-	+	-	+	-	-	-	-	-		
10	-	+	-	+	-	-	-				
11	+	-	-	-	-	-	-	-	-		
12	+	-	-	-	-	-	-				
13	+	-	-	-	-	-	-				

+: sori gevonden/sori present

- : geen sori gevonden/no sori present

Tegen de tijd dat men in het algemeen vroegbloeiende cultivars rooit, nl. op 29 juli, werden opnieuw 50 planten onderzocht van veldjes, waaruit eind mei alle zichtbaar aangetaste exemplaren waren verwijderd. Ondanks deze selectie werden toch nog 13 planten met macroscopische symptomen gevonden. Tabel 2 geeft een overzicht van het voorkomen van sori in de verschillende delen van deze planten. Bij zes planten (no's 1 tot en met 6) was de aantasting zichtbaar in de bovengrondse delen van een of meer spruiten, terwijl plant 6 bovendien nog een schijnbaar gezonde spruit met een zieke knol droeg. De volgende vier planten (7 tot en met 10) leken op het eerste gezicht gezond, doch bij nader onderzoek bleek, dat in acht van de dertien jonge knollen sori in het knolvlies waren gevormd; in twee van de vier moederknollen werd geen brand waargenomen. Bij de resterende planten daarentegen (11 tot en met 13) was wel de oude knol aangetast, doch de dochterknollen waren gezond, voorzover dit met het blote oog kon worden nagegaan.

Het hier besproken macroscopische onderzoek van *G. × nanus* "Peach Blossom" kan als volgt kort worden samengevat:

- a. Aangetaste knollen vormen meer spruiten per plant dan gezonde.
- b. Binnen een partij treedt de ziekte het sterkst op in de groepen met het hoogste aantal spruiten per plant.
- c. In de meeste gevallen is slechts een deel van de spruiten van een plant zichtbaar ziek. Planten met één aangetaste spruit zijn talrijker dan die met twee of meer zieke spruiten.
- d. Verwijdering van alle planten met een of meer aangetaste spruiten, voor en tijdens het rooien, geeft geen garantie dat de partij vrij van brand is gemaakt.

Rustbreking tengevolge van infectie door brand

Het zojuist voor *G. × nanus* "Peach Blossom" beschreven verschijnsel, dat knoppen die gewoonlijk slapende blijven wel uitlopen als de knol door brand is aangetast, komt ook bij de grootbloemige cultivars dikwijls voor. Kleine knollen (b.v. 4-6 cm) vormen bij deze groep normaal slechts één goed ontwikkelde spruit; als ze door brand geïnfecteerd zijn, groeien echter vaak twee, soms drie spruiten uit en bovendien nog wel eens enkele kleine, eenbladige spruitjes. Sporadisch ontstaan op deze wijze heksenbezemachtige verschijnselen (fig. 3A).

Behalve de knoppen van het vorige jaar kunnen ook pas gevormde vegetatiepunten van kralen en jonge knollen tengevolge van de infectie uitlopen. Bij grootbloemige gladiolen kan zo de ziekte soms in het eerste jaar bovengronds herkend worden aan een klein, aangetast blaadje, dat uit een jonge kraal is gegroeid; de moederplant is dan ogenschijnlijk gezond. Zowel bij de vroegbloeiende als de grootbloemige cultivars ontstaan soms merkwaardige misvormingen van de jonge knollen, wanneer pas gevormde vegetatiepunten voortijdig uitlopen en op hun beurt overgaan tot vorming van knolweefsel (fig. 3B). Ook tijdens de bewaring in de wintermaanden kan het voorkomen, dat de hoofd- en/of zijknoppen van zieke knollen uitlopen onder omstandigheden, waarbij gezonde knollen hier niet toe overgaan. Dikwijls zijn de knoppen dan sterk misvormd, met een begin van knolvorming en met jonge sori in de bladachtige delen (fig. 3C en D).

Het binnendringen van de brandschimmel heeft dus een duidelijk rustbrekend effect. Ook bij andere gewassen heeft men waargenomen, dat na infectie door brand het aantal scheuten toeneemt. FISCHER & HOLTON (1957) geven hiervan een overzicht, waaruit blijkt, dat het verschijnsel bekend is van Gramineae (*Tilletia caries*, *T. foetida* en *T. contraversa* op tarwe, *Ustilago avenae* op haver, *Sphacelotheca cruenta* en *S. sorghi* op sorghum, *S. destruens* op gierst). Verder vermelden zij een geval bij Compositae (*Ustilago scorzonerae* op schorseneer). Gladiolen zijn de enige vertegenwoordigers van de Iridaceae, waarbij tot nu toe een brandziekte is waargenomen. Deze familie is nu dus de derde waarbinnen het bovenbeschreven verschijnsel is geconstateerd.

2.3. GELIJKTIJDIGE AANTASTING DOOR ANDERE ZIEKTEN

In de loop van het onderzoek werd verschillende malen waargenomen, dat brand kan samengaan met infectie door andere gladioleparasieten.

Tijdens de groei kunnen van spruiten met brandsori de blad- en stengeldelen juist bij het grondoppervlak wegrotten tengevolge van aantasting door *Botrytis gladiolorum*, waarbij dikwijls de sclerotiën van deze schimmel kunnen worden gevonden. Bewaarrot, veroorzaakt door dezelfde schimmel, kan ook bij brandknollen optreden. Er zijn zelfs aanwijzingen dat de laatste vatbaarder zijn voor *Botrytis* dan gezonde knollen. In het voorjaar van 1958 bleek namelijk van een partij "Firmament" 50% van het aantal knollen met brandsori geheel door *Botrytis* te zijn doorwoekerd, terwijl dit slechts bij 2% van de exemplaren zonder brandsymptomen het geval was.

De cultivars uit de groep van de vroegbloeiende gladiolen worden dikwijls aangetast door een *Fusarium*-soort, waarvan niet bekend is of deze met *F. oxysporum* f. *gladioli* identiek is. In 1960 werd in een inoculatieproef waargenomen, dat infectie door deze *Fusarium* vooral op die gedeelten van de knol plaatsvond, waar eerst de brandschimmel was binnengedrongen. Meestal doorwoekerde de eerstgenoemde parasiet het weefsel zeer snel, daarbij *Urocystis* voorbijstrevend en deze verdere groeiomogelijkheden ontnemend. Blijkbaar was ook hier de vatbaarheid voor *Fusarium* verhoogd door de aanwezigheid van de brandschimmel. Bij grootbloemige gladiolen werd enkele malen een ongewoon hevige infectie door *F. oxysporum* f. *gladioli* waargenomen in partijen met een hoog percentage brand. Het voorkomen van sori in de schubben ging dan dikwijls samen met een hevige *Fusarium*-aantasting van het knolvlees.

In door *Urocystis* aangetaste knollen van zowel grootbloemige als vroegbloeiende rassen is enkele malen gelijktijdige infectie door hardrot (*Septoria gladioli*) waargenomen. Bij microscopisch onderzoek bleek het mycelium van beide schimmels gemengd in het knolweefsel voor te komen, soms tezamen met de sclerotiumachtige lichaampjes van de laatstgenoemde parasiet.

Eenmaal werd een zowel door brand als door droogrot (*Stromatinia gladioli*) aangetaste spruit gevonden.

Blijkbaar wordt dus geen van de verwekkers van belangrijke gladioleziekten door de aanwezigheid van *Urocystis*-mycelium gehinderd; in sommige gevallen zijn er zelfs aanwijzingen dat brandzieke knollen vatbaarder zijn voor infectie door andere schimmels.

3. BIOLOGIE

3.1. HET VERLOOP VAN DE AANTASTING

3.1.1. De standaardmethode (S.M.) voor het microscopische onderzoek

Methodiek

Bij veel brandziekten is de parasiet na het tot stand komen van de infectie kortere of langere tijd latent aanwezig. Dit wil zeggen dat het mycelium, zonder tot sporenvorming over te gaan, zich in de waardplant heeft gevestigd, doch haar groei niet of nauwelijks beïnvloedt. Bij de stuifbranden van tarwe en gerst (*Ustilago tritici* en *U. nuda*) heeft men zich veel moeite getroost om methoden te ontwikkelen, die waarneming van het latente mycelium in het embryo mogelijk maken. Het is vooral het onderzoek van POPP (1951, 1958, 1959) geweest, waardoor thans op vrij grote schaal zaadmonsters microscopisch op de aanwezigheid van stuifbrand kunnen worden gecontroleerd. In 1958 beschreef GASKIN een methode om de uitbreiding van het mycelium van *Ustilago syntherismae* in planten van *Panicum sanguinale* na te gaan, door deze op te helderen in een oplossing van chloraalhydraat en te kleuren in lactofenol met katoenblauw.

Enkele maanden later verscheen, onafhankelijk van het werk van GASKIN, de eerste publikatie over het te Lisse verrichte onderzoek omtrent de brandziekte van gladiolen (SCHENK, 1958), waarin kort werd aangegeven hoe knolweefsel op aanwezigheid van latent mycelium kan worden gecontroleerd. De methodiek — verder aangeduid als S.M. (standaardmethode) — is ongeveer gelijk aan die van GASKIN en wordt hier uitvoeriger beschreven, daar zij van essentiële betekenis is gebleken voor het begrijpelijk maken van het verloop van de aantasting.

Men snijdt de knollen radiaal door, in het vlak waarin de okselknoppen liggen. Met een scheermes in houder wordt een plak ter dikte van 0,5 tot 0,8 mm van het snijvlak afgeschaafd. Bij groeiende planten kan op deze wijze zelfs een doorsnede worden verkregen van de moederknol met een of meer dochterknollen en enkele stolonen. Ook stukken knolschub of plakjes van stolonen kunnen op de hierna te beschrijven wijze worden geprepareerd. De plakjes worden 5 tot 24 uur in alcohol 95% gefixeerd, daar anders bij de volgende bewerking onvoldoende opheldering plaats vindt. Langdurige bewaring in alcohol moet worden vermeden, omdat deze de kleurbaarheid van het mycelium vermindert. Na afschenken van de fixatievloeistof wordt het ondoorzichtige knolweefsel opgehelderd door enkele minuten opkoken in een geconcentreerde chloraalhydraatoplossing (8 g in 5 ml aqua dest.). Ook deze vloeistof wordt afgegoten, waarna de kleuring geschiedt door de plakjes vier tot vijf minuten te koken in lactofenol met 0,05% katoenblauw. Bij kleincellig weefsel van jonge knollen of extra dikke plakken kan de intensiteit van de kleuring worden verhoogd door ze daarna enkele dagen in de oplossing van de kleurstof te bewaren of door ze op te koken met de dubbele concentratie katoenblauw. In het laatste geval moet hierna nog worden gedifferentieerd door koken in lactofenol zonder kleurstof. Men kan ze vervolgens bij sterke, doervallende belichting en 70-malige vergroting onder een binoculaire loop op de aanwezigheid van het gemakkelijk herkenbare mycelium controleren.

Typering van de aantasting met behulp van de S.M.

Met behulp van de S.M. werd gevonden, dat de mate waarin en de wijze waarop het brandmycelium in gladioleknollen voor kan komen, sterk varieert. Bij grootbloemige cultivars begint de infectie in de basis van de knol om vandaar uit verder in het weefsel door te dringen. De schimmel vertoont daarbij een duidelijke voorkeur voor de stele en de bladspoorbundels, doch vooral tijdens de groei van de jonge knol vestigt hij zich ook in het parenchymatische schorsweefsel. Bij de vroegbloeiende rassen komt dit ook het meest voor, doch soms treedt hier een afwijkend aantastingsbeeld op, waarbij de parasiet is binnengedrongen via een van de knopen hoger op de stengelknol. In dit geval wordt gesproken van een zijdelingse infectie.

Om de mate van aantasting te kunnen vastleggen, worden de volgende typen onderscheiden (zie ook fig. 4).

Type 1: mycelium doorgedrongen tot maximaal $\frac{1}{4}$ van de afstand van basis tot top van de knol en uitsluitend eenzijdig in stele of aangrenzend schorsweefsel aanwezig.

Type 2: als type 1, doch het mycelium komt voor over de hele basis van de stele en eventueel ook in het aangrenzende schorsweefsel.

TYPE

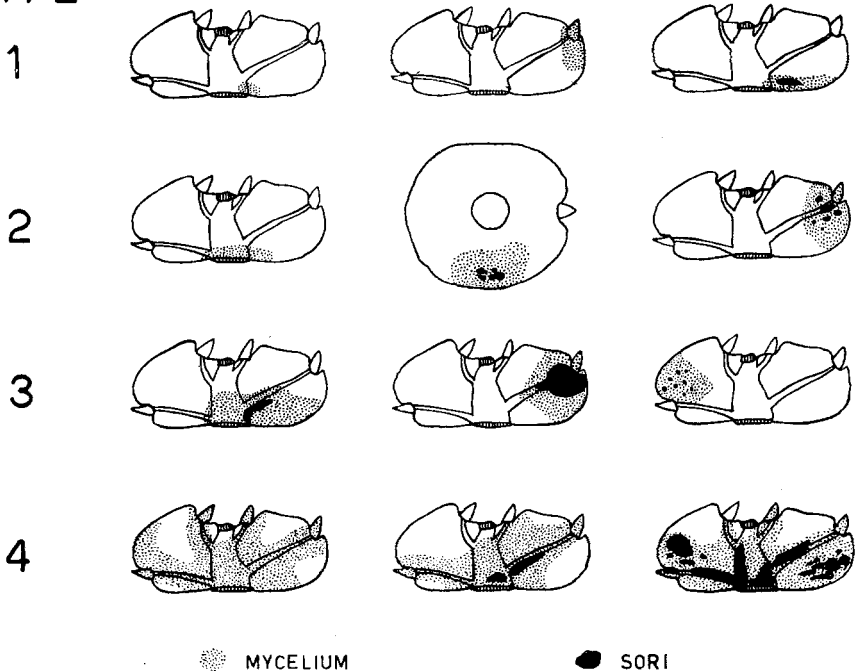


FIG. 4. Aantastingstypen van brand in gladioleknollen, nadat in het voorafgaande groei-seizoen infectie heeft plaatsgevonden. Radiale doorsneden, behalve de middelste knol van type 2, welke dwars is gesneden.

Infection types of smut in gladiolus corms, following infection in the preceding growing season. Radial sections, except the second corm of type 2, which is a cross section.

Type 3: mycelium doorgedrongen tot boven $\frac{1}{4}$ maar niet hoger dan $\frac{3}{4}$ van de afstand van basis tot top van de knol.

Type 4: mycelium aanwezig tot boven $\frac{3}{4}$ van de knolhoogte, dikwijls al in de jonge vegetatiepunten terug te vinden.

Bij zijdelingse infecties is de bovenbeschreven typering niet bruikbaar. In dit geval wordt type 1, 2 of 3 gegeven, naar gelang het mycelium vanaf de zijkant van de knol respectievelijk $0 - \frac{1}{4}$, $\frac{1}{4} - \frac{2}{4}$ of $\frac{2}{4} - \frac{3}{4}$ van de afstand tot het centrum heeft doorwoekerd. Indien zijdelingse infecties dicht bij de basis van de knol zijn opgetreden, is het meestal niet meer mogelijk ze als zodanig te herkennen.

Jonge aantastingen van het type 1 en zijdelingse infecties kunnen in zeldzame gevallen buiten de radiale snede door de vegetatiepunten vallen en zo ontsnappen aan microscopische waarneming. Bij de bepaling van het percentage knollen met mycelium mag deze mogelijkheid verwaarloosd worden. Wel moet hier nog met nadruk worden gesteld, dat met de S.M., toegepast na het rooien en schoonmaken van de knollen, uitsluitend het aantal gevallen met mycelium in het knolvlees kan worden bepaald. Het totale aantal geïnfecteerde planten is dikwijls hoger, daar infecties in de stolonen en kralen of in de knolschubben er veelal niet in slagen het knolvlees te bereiken (zie 3.2.3, blz. 38).

In de hierna te behandelen proeven werd behoefte gevoeld, de mate van aantasting van de geïnfecteerde knollen uit een partij in een cijfer vast te leggen. Daartoe werd aan iedere zieke knol een cijfer toegekend, dat correspondeerde met het desbetreffende type, b.v. een knol met een aantasting vallende onder type 3 ontving het aantastingscijfer 3. Het gemiddelde aantastingscijfer werd verkregen door de som van de aantastingscijfers te delen door het aantal knollen met mycelium.

3.1.2. *Het eerstejaarsstadium (S1 en S1B)*

Infectie in natuurlijk besmet plantmateriaal

Bij het begin van het onderzoek in 1957 werden enkele proeven opgezet om na te gaan hoe infectie door *U. gladiolicola* tot stand kan komen. Knollen en kralen van de cultivar "Van Tienhoven", die vrijwel geen macroscopische symptomen vertoonden en bij onderzoek volgens de S.M. slechts voor een zeer laag percentage mycelium bleken te bevatten, doch die alle wel uitwendig met brandsporen waren besmet, werden op onbesmette grond uitgeplant. Uit de resultaten, die vroeger reeds werden gepubliceerd (SCHENK, 1958), konden de volgende conclusies worden getrokken.

Uitwendig op knollen en kralen aanwezige brandsporen kunnen tijdens het groeiseizoen aanleiding geven tot infectie. De groei van de planten wordt daar niet merkbaar door beïnvloed. Tegen de rooitijd kunnen soms macroscopische symptomen in de knolschubben en de stolonen worden waargenomen. Microscopisch (S.M.) kan in gezond schijnende knollen toch dikwijls het mycelium van de parasiet worden aangetoond. Aantasting van de bovengrondse delen vindt eerst plaats in het tweede jaar, wanneer knollen die mycelium bevatten worden geplant.

In het vervolg wordt het eerste deel van de aantasting het *eerstejaarsstadium* genoemd en aangeduid door het symbool S1. De aantasting kan zich tijdens de

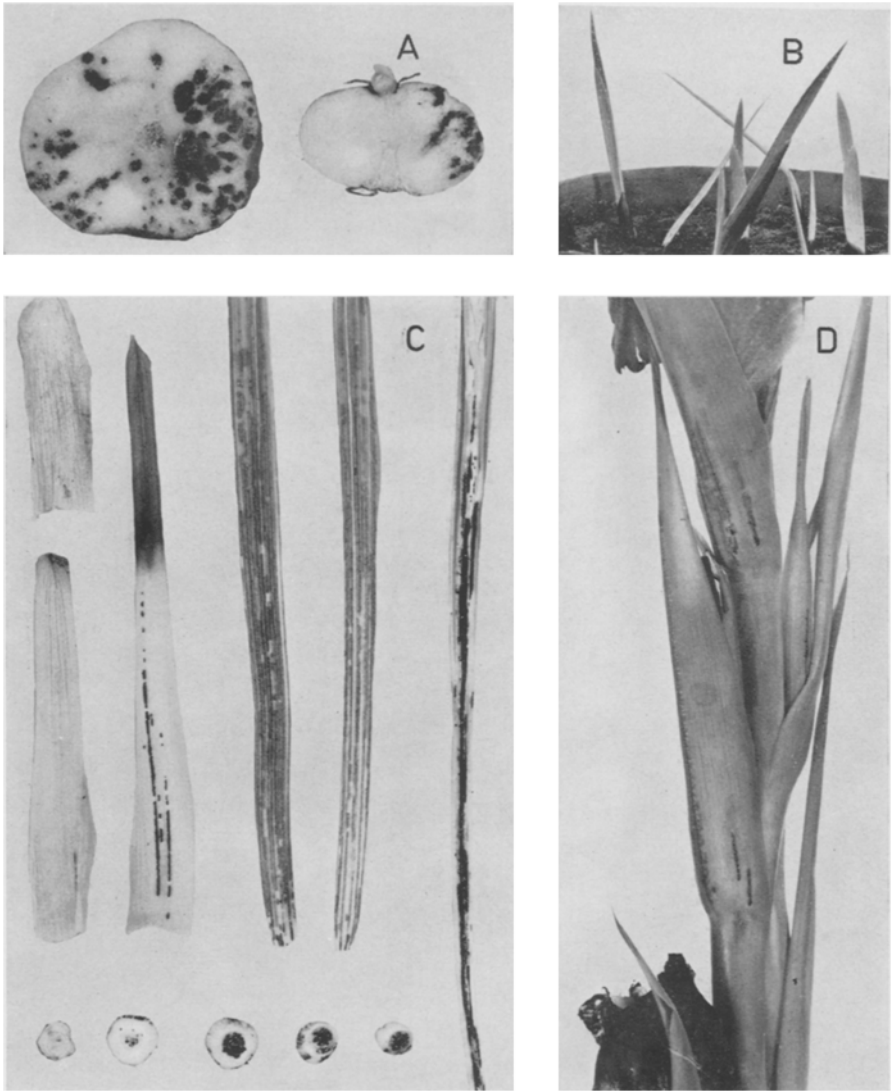


FIG. 1. Brandsymptomen in planten en knollen van de gladiool.

A: sori in het knolvlees van een vroegbloeiende cultivar.

B: scheef groeiende planten uit aangetaste knollen van een grootbloemige cultivar.

C: sori in het jonge knolvlees en de bladachtige delen van een door brand aangetaste spruit van *G. × nanus* "Peach Blossom" (links: drie schedebladen; midden: twee bladescheden; rechts: doorgesneden bloemsteel).

D: sori in de bloeiwijze van een grootbloemige cultivar.

Smut symptoms in plants and corms of gladiolus.

A: sori in the corm flesh of an early flowering cultivar.

B: malformation of plants growing from diseased corms of a large-flowered cultivar.

C: sori and in the flesh of the young corm (below) in the leaves and in the cut flower stalk (from left to right) of the early flowering cultivar 'Peach Blossom'.

D: sori in the inflorescence of a large-flowered cultivar.

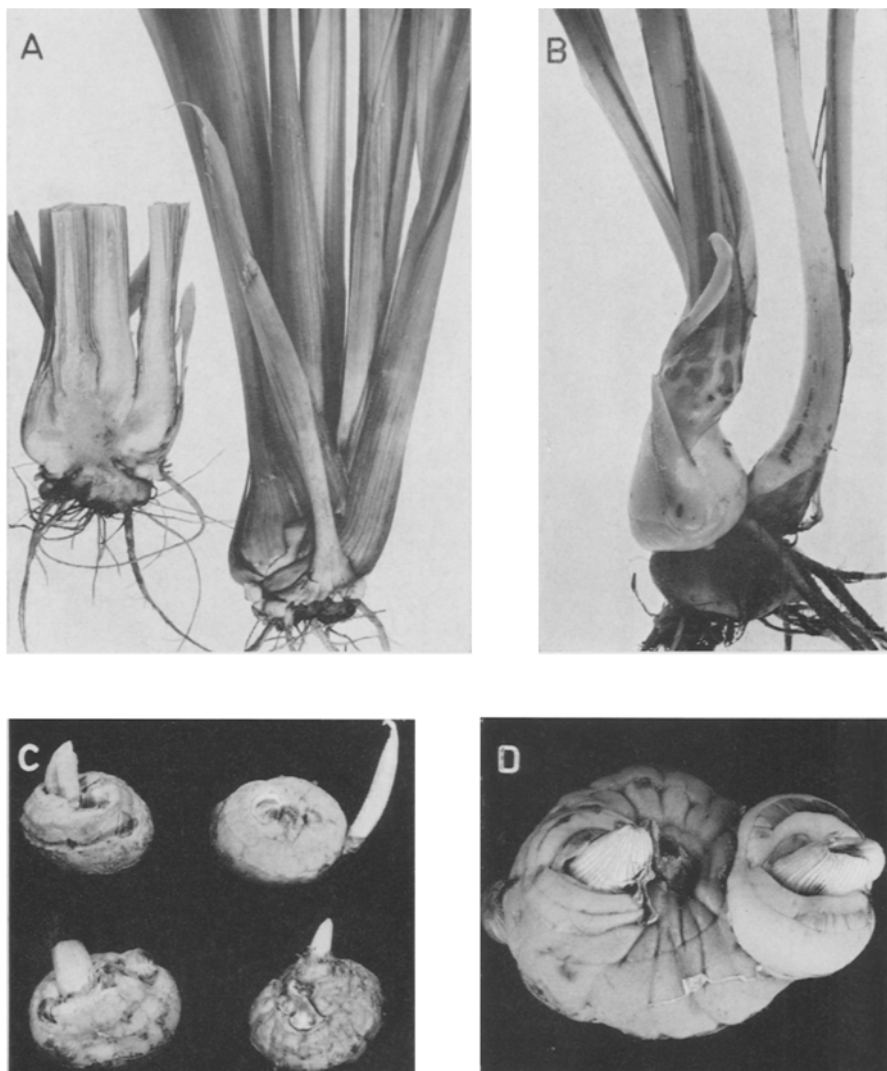


FIG. 3. Misvormingen tengevolge van de aantasting door brand.

A: heksenbezem-achtige groei.

B: voortijdig uitlopen en knolvorming door pas gevormde knoppen.

C en D: als B, doch tijdens de bewaarperiode.

Malformations caused by smut infection.

A: symptoms of witches' broom.

B: premature sprouting and corm formation by newly formed buds.

C and D: the same as B, but during storage.

bewaring van de knollen verder uitbreiden. Deze fase in het verloop van de aantasting wordt aangeduid met het symbool S1B. De daarop volgende stadia S2 en S2U zullen later worden gekarakteriseerd (3.1.3, blz. 18).

Infectie in besmette grond

Op 1 mei 1957 werden gezonde, onbesmette kralen en knollen van de vatbare cultivar "Dr. Fleming" geplant op een perceel, waar in 1956 een partij „Van Tienhoven" had gestaan met 17,6% door brand aangetaste planten. De zieke exemplaren waren in de loop van het seizoen gaan rotten, waardoor de sporen waren vrijgekomen. Uit een hiertoe ingesteld onderzoek¹ bleek, dat het terrein (een grofkorrelige zandgrond) vrij homogeen met sporen was besmet. Eerst zullen de resultaten van het onderzoek aangaande planten uit knollen worden behandeld; vervolgens zal de infectie bij planten uit kralen worden besproken.

De planten uit knollen groeiden geheel normaal en gaven geen bovengronds zichtbare brandsymptomen te zien. Op 15 augustus werden 50 planten gerooid en nauwkeurig onderzocht op het voorkomen van macroscopische symptomen in de ondergrondse delen, welke evenwel niet werden gevonden. Bijna zes weken later, op 23 september, werden weer 25 planten onderzocht. Bij 23 hiervan bleken nu sori aanwezig te zijn in de knolschubben en/of de kralen en stolonen. De sori kwamen onafhankelijk van elkaar in de genoemde delen voor. In betrekkelijk korte tijd was dus een zeer hevige, met het blote oog waarneembare aantasting ontstaan.

Microscopisch onderzoek van een drietal planten met symptomen toonde aan, dat het mycelium hier was doorgedrongen tot in het verbindingsstuk tussen oude en jonge knol en in een geval reeds in de basale delen van het jonge knolweefsel.

Na het rooien, drogen en schoonmaken van het resterende gedeelte van de partij werden de knollen met en zonder sori in de schubben gescheiden en geteld. Er bleken op een totaal van 549 knollen 187 (34%) met en 362 (66%) zonder macroscopische symptomen voor te komen. Vervolgens werd met behulp van de S.M. bepaald, in welke mate in beide groepen mycelium van de brandschimmel in het knolvlees voorkwam. Dit leverde het volgende resultaat (tussen haakjes het aantal onderzochte knollen): knollen met sori in de schubben: 62% met mycelium (55); knollen zonder sori in de schubben: 49% met mycelium (75).

Dit vormt enerzijds een bevestiging van hetgeen bij de partij "Van Tienhoven" werd gevonden (SCHENK, 1958), daar schijnbaar gezonde knollen dikwijls toch aangetast bleken te zijn. Anderzijds kon thans bij "Dr. Fleming" in veel knollen met schubsori geen mycelium worden aangetoond, hetgeen bij "Van Tienhoven" wel steeds het geval was. In 3.2.3 op blz. 38 e.v. wordt hier nader op ingegaan.

Zowel bij "Van Tienhoven" als "Dr. Fleming" bleken de aangetaste knol-

¹ Hiertoe werden grondmonsters van enige cm³ met water geschud. Na het bezinken van de gronddeeltjes werd de bovenstaande vloeistof afgeschonken en bij laag toerental gecentrifugeerd. In het neerslag werden bij microscopisch onderzoek talloze brandsporen aangetroffen. Deze werkwijze leverde op met brandsporen besmette zavel- en humusrijke zandgronden toegepast, geen betrouwbare resultaten op.

len van knollen bij onderzoek na het rooien vrijwel uitsluitend te behoren tot de aantastingstypen 1 en 2.

Bij de planten uit kralen kwamen op 13 september 1957 enkele exemplaren met sori in de bladeren voor. Dit dus in tegenstelling tot wat bij de zojuist beschreven proef met planten uit knollen werd geconstateerd. Voor nader onderzoek werden 47 planten gerooid, waaraan het volgende werd waargenomen:

29 planten hadden geen symptomen in enig plantedeel,

15 planten vertoonden uitsluitend sori in de knolschubben,

3 planten lieten tevens sori in bovengronds bladweefsel zien.

Bij microscopisch onderzoek van de drie laatstgenoemde planten bleek, dat de aantasting van alle jonge knollen van het type 4 was, terwijl het mycelium via de schedelbladen en bladscheden in directe verbinding stond met de sori in de hogere delen. Bij zes planten met uitsluitend schubsori werd in alle gevallen de parasiet ook in het knolvlees aangetroffen, waarbij de mate van aantasting varieerde van type 1 tot en met 4. Bij onderzoek van tien knollen zonder sori werd geen schimmel in het knolvlees waargenomen. Uit dit onderzoek bleek dus, dat bij planten van kralen de parasiet dikwijls veel verder in de jonge knol en eventueel zelfs al in de bladeren was doorgedrongen dan bij de overeenkomstige grote planten.

3.1.3. *Het tweedejaars- en uitgestelde tweedejaarsstadium (S2 en S2U)*

Definiëring van de begrippen S2 en S2U

Naar wij zagen kan het aantastingstype in S1 van jonge, pas gerooide knollen variëren van 1 tot en met 4. Onder 3.3.3 (blz. 47 e.v.) wordt besproken hoe de bewaartemperatuur gedurende het winterhalfjaar van invloed is op de groei van het mycelium in de knollen in rust. In knollen met een laag aantastingscijfer groeit de schimmel bij temperaturen tussen 13 en 20 °C in de loop van enkele maanden door tot in de top van de jonge knol. Thans zal aandacht worden besteed aan de invloed van het aantastingstype van de knollen bij het planten op het verdere verloop van de ziekte.

Knollen met schubsori van "Dr. Fleming", afkomstig van een proefveld op besmette grond, werden bewaard bij respectievelijk 9, 17 en 25,5 °C. Microscopische controle (S.M.) vlak voor het planten op 1 maart 1958 wees uit, dat het gemiddelde aantastingscijfer van de zieke knollen respectievelijk 1,4, 3,4 en 2,2 bedroeg. Van elk der drie partijtjes werden 25 knollen in potten geplant en in een warme kas geplaatst.

Reeds direct na opkomst van de planten werden opvallende verschillen waargenomen. Veel planten uit de bij 17 °C bewaarde knollen groeiden scheef, terwijl de planten uit de bij 9 °C bewaarde knollen geen afwijkingen te zien gaven. De knollen bewaard bij 25,5 °C liepen onregelmatig en minder snel uit, waarschijnlijk omdat de rust bij deze hoge temperatuur niet volledig gebroken was. In deze groep werden enkele scheef groeiende planten waargenomen. Op verschillende tijdstippen werd het aantal aangetaste spruiten ten opzichte van het totale aantal bepaald. Bij het beëindigen van de proef werden bovendien alle knollen van spruiten zonder symptomen volgens de S.M. op aanwezigheid van mycelium gecontroleerd. Het resultaat is in tabel 3 samengevat.

TABEL 3. Het verband tussen de bewaartemperatuur, het aantastingscijfer bij het planten (1 maart 1958) en de ontwikkeling van de ziekte.

The relation between the storage temperature, the rate of infection at the time of planting (1st March, 1958) and the development of the disease. Cultivar 'Dr. Fleming'.

Bewaar-temperatuur <i>Storage temperature</i>	Gemiddeld aantastingscijfer <i>Mean rate of infection</i>	Macroscopische symptomen				Microscopische symptomen (S.M.) op 17 september. Knollen met mycelium / totaal aantal knollen <i>Corms with mycelium/ total number of corms</i>	Spruiten zonder sori, knollen met mycelium <i>Sprouts without sori, corms with mycelium</i>
		Spruiten met sori / totaal aantal spruiten op: <i>Sprouts with sori / total number of sprouts on:</i>					
		21 maart <i>21 March</i>	14 april <i>14 April</i>	20 mei <i>20 May</i>	17 sept. <i>17 Sept.</i>		
9°C	1,4	0/25	4/26	5/26	11/28	17/28	6
17°C	3,4	12/25	15/25	15/25	15/25	15/25	0
25,5°C	2,2	3/18	5/21	7/21	10/24	15/24	5

Wanneer bij het planten het mycelium in de top van de knol aanwezig was, werden drie weken daarna reeds 12 van de 25 spruiten aangetast bevonden. Na zes weken was dit aantal opgelopen tot 15. Daarna werd geen verdere toename meer geconstateerd, terwijl microscopisch bleek, dat na het rooien ook geen latente infecties aanwezig waren. Bij knollen met een laag aantastingscijfer was het aantal spruiten met sori aanvankelijk gering, om daarna tot aan het einde van de groeiperiode langzaam toe te nemen tot respectievelijk 11 van de 28 en 10 van de 24 spruiten. Bovendien bleek latent mycelium aanwezig te zijn in respectievelijk zes en vijf van de knollen waarvan de spruiten gezond schenen. In al deze knollen was het aantastingstype 4.

Blijkbaar was de schimmel tijdens de groei van de planten uit de basale delen van de bij 9 en 25,5 °C bewaarde moederknollen omhoog gegroeid. In een aantal gevallen was hij erin geslaagd om vroeger of later het groeipunt te bereiken voor de laatste bladeren waren uitgegroeid, zodat bovengronds nog symptomen konden ontstaan. In zes respectievelijk vijf gevallen was dit echter niet gelukt, zodat uitsluitend het jonge-knolweefsel kon worden aangetast. Hier zou dus de parasiet een jaar langer latent aanwezig zijn gebleven, zodat het gehele ziekteproces niet in twee doch in drie jaar zou zijn voltrokken.

Wanneer in het jaar na de infectie spruiten bovengronds zichtbaar zijn aangetast, wordt gesproken van het *tweedejaarsstadium* (S2), terwijl die gevallen, waarin het mycelium een jaar langer latent blijft of hoogstens aanleiding geeft tot het ontstaan van sori in de ondergrondse delen, worden aangeduid met de term *uitgesteld tweedejaarsstadium* (S2U).

Een andere verklaring voor het na het rooien in de knollen gevonden latente mycelium dient nog te worden overwogen. Het uitgangsmateriaal in de zojuist besproken proef bestond uit knollen met schubsori. De hierin aanwezige sporen zouden ook aanleiding tot infecties hebben kunnen geven. Na het rooien is dan niet meer uit te maken of er sprake is van S1, dan wel van S2U. De kans, dat veel nieuwe infecties zijn opgetreden is echter gering, daar deze dan ook gevonden zouden moeten zijn in de nakomelingen van de bij 17 °C bewaarde knollen, hetgeen niet het geval was. Ook de resultaten van de hierna te beschrijven proeven geven nadere aanwijzingen, dat men de bovengenoemde latente aantastingen, althans voor het grootste deel, tot S2U moet rekenen.

De groei van brandmycelium in knollen met laag aantastingscijfer na het planten

Knollen zonder schubsori van dezelfde partij "Dr. Fleming" als die, welke in de zojuist besproken proef is gebruikt, werden gedurende de winter bij 9 °C bewaard. Bij microscopisch onderzoek van 75 knollen (S.M.) vlak na het rooien was gebleken, dat circa 49% mycelium bevatte, waarbij de volgende aantastingstypen waren gevonden: 27 maal type 1, 8 maal type 2, 1 maal type 3 en 1 maal type 4 (gemiddeld aantastingscijfer 1,4). Op 7 mei 1958 werden zowel buiten als in een kas 60 knollen uitgeplant. Tijdens de groei werd op 19 juni, 8 augustus en 30 september een aantal planten op macroscopische symptomen onderzocht, waarbij onderscheid werd gemaakt tussen aantasting van de hoofdspruit (ingeplant op de top van de oude knol) en aantasting van de zijdelings of basaal ingeplante spruiten. Van alle planten waarvan de hoofdspruit bovengronds geen symptomen vertoonde werden de moederknollen en jonge hoofdknollen ook microscopisch (S.M.) onderzocht. De waarnemingen zijn samengevat in tabel 4.

TABEL 4. Groei van brandmycelium in knollen, na uitplanten in een kas en buiten op 7 mei 1958 en de ontwikkeling van S2 en S2U. De meeste knollen met mycelium vertoonden bij het planten het aantastingstype 1 of 2.
Growth of mycelium of the smut fungus in corms ('Dr. Fleming') after planting in the open and in a glass-house on 7th May, 1958, and the development of S2 and S2U. Most of the corms with mycelium showed the infectiontype 1 or 2 at planting time.

Geplant Planted	Datum Date	Totaal aantal onderzochte planten Total number of plants examined	Hoofdspruit in S2 Main sprout in S2	Mycelium in oude knol, bijbehorende hoofdspruit zonder sori <i>Mycelium in the old corm, corresponding main sprout without sori</i>			
				Aantal ¹ Number ¹	Gem. aantastingscijfer oude knol Mean rate of infection of the old corm	Jonge hoofdknollen met mycelium (S2U) <i>Young main corms with mycelium (S2U)</i>	
						Aantal Number	Gemiddeld aantast.cijfer Mean rate of infection
Buiten <i>In the open</i>	19/6	10	3	3 (0)	1,0	0	—
	8/8	17	2	6 (3)	2,8	1	4,0
	30/9	27	3	12 (7)	3,7	8	2,1
In de kas <i>In the glass-house</i>	19/6	10	3	1 (0)	1,0	0	—
	8/8	15	4	0 (0)	—	0	—
	30/9	26	13	5 ² (0)	3,6	3	2,4

¹ Tussen haakjes het aantal planten met uitsluitend een zijspruit in S2.

In parentheses the number of plants with only a secondary sprout in S2.

² Waaronder drie met macroscopische S2U symptomen in de ondergrondse delen.

Three showing macroscopical S2U symptoms in the underground parts.

Wanneer buiten S2-symptomen werden waargenomen, bleek dit vooral later in het seizoen dikwijls uitsluitend in de zijspruiten het geval te zijn, terwijl in de hoofdspruiten geen sori konden worden gevonden. In de kas waren de omstandigheden blijkbaar gunstiger voor een snelle groei van het mycelium, daar hier de S2-symptomen, behalve in een of meer zijspruiten, in alle gevallen ook in de hoofdspruit konden worden waargenomen.

In de loop van het seizoen was vooral in de buiten geplante serie de groei van de parasiet vanuit de basis van de oude knollen mooi te volgen. Dit blijkt uit de toeneming van het gemiddelde aantastingscijfer van de oude knollen en van het aantal jonge hoofdknollen met mycelium. Bij de serie in de kas kwam dit minder duidelijk naar voren, daar hier op 19 juni en 8 augustus weinig of geen planten werden getroffen met een latente aantasting. Het feit, dat op 30 september nog oude knollen werden gevonden met mycelium dat er niet in was geslaagd in de jonge knol door te dringen, bewijst dat de waardplant aan een aantasting met een laag cijfer kan ontgroeien.

Hoofdspruiten met latente infecties moeten tot S2U worden gerekend, ook wanneer de bijbehorende zijspruiten bovengronds sori te zien geven. Op deze wijze was het totale aantal hoofdspruiten in S2U (inclusief de verloren gegane latente aantasting) op 30 september buiten 12, of wel 44% van het aantal planten dat op die datum werd nagezien. Aannemende, dat uitsluitend uit knollen van aantastingstypen 1 en 2 planten kunnen groeien die dit stadium van aantasting vertonen, mochten we op grond van het microscopische onderzoek bij het begin van de proef verwachten, dat circa 47% van de knollen (27 stuks type 1 + 8 stuks type 2 op een totaal van 75) hoofdspruiten met S2U zouden vormen. Onder de omstandigheden die buiten heersten, bestond dus een goede overeenstemming tussen de te verwachten en de werkelijk gevonden waarden, hetgeen pleit voor de juistheid van de genoemde veronderstelling. In de kas werden echter op 30 september maar drie gevallen van echte S2U-planten gevonden, waarbij sterke sorusvorming in de ondergrondse delen was opgetreden, terwijl bij twee planten het mycelium uitsluitend in de oude knollen voorkwam. Zowel het weinige optreden van S2U, als het sterke voorkomen van sori in de ondergrondse delen, is in overeenstemming met het boven geuite vermoeden, dat in de kas de omstandigheden voor een snelle groei van het mycelium veel gunstiger waren dan buiten.

Het verloop van de aantasting na het planten van knollen met aantastingscijfers variërend van 1 tot en met 4

Daar in beide vorige proeven het optreden van nieuwe infecties door aanhangende sporen, hoewel niet waarschijnlijk, toch niet geheel mocht worden uitgesloten, werd in 1959 nogmaals een proef ingezet om het optreden van S2U in afhankelijkheid van de bewaartemperatuur na te gaan. Het ter beschikking staande materiaal bestond uit "Dr. Fleming"-knollen van 11-13 cm. Bij een korte tijd na de oogst uitgevoerd microscopisch onderzoek (S.M.) van een monster, groot 25 knollen, werden er 12 met brandmycelium gevonden, die als volgt over de verschillende aantastingstypen konden worden verdeeld: 2 maal type 1, 1 maal type 2, 4 maal type 3 en 5 maal type 4 (gemiddeld aantastingscijfer 3,0). Gedurende de winter werden 260 knollen bij 5 °C bewaard en een gelijk aantal bij 17 °C. Ter vermindering van nieuwe infecties werden vlak voor het planten op 23 april alle knolschubben zorgvuldig verwijderd, waarna beide partijtjes gedurende een uur werden ontsmet in 1% Aamersil. Tijdens de groei in de zomermaanden werd enkele malen het aantal geheel en gedeeltelijk aangetaste planten bepaald. Na het rooien op 5 oktober werden de ondergrondse delen onderzocht op het voorkomen van S2U-symptomen, terwijl alle hoofdknollen met spruiten zonder sori microscopisch (S.M.) op de

aanwezigheid van latent mycelium werden nagekeken. Het resultaat van deze proef is in tabel 5 samengevat.

TABEL 5. Het optreden van S2 en S2U in de zomer van 1959, in afhankelijkheid van de bewaar­temperatuur in de voorafgaande winter, in procenten van het totale aantal planten. Aantastings­typen in een monster van 25 knollen na het rooien in 1958: 2 maal type 1; 1 maal type 2; 4 maal type 3; 5 maal type 4.
The effect of storage temperature in winter on the incidence of S2 and S2U in the following summer (1959), as percentages of the total number of plants. Infection types in a sample of 25 corms ('Dr. Fleming') after lifting in 1958: twice type 1; once type 2; 4 times type 3; 5 times type 4; other corms without mycelium.

Bewaartemperatuur Storage temperature	Aantal planten Number of plants	Sori in alle spruiten van de plant (I) of in deel daarvan (II) op: <i>Sori in all sprouts of the plant (I) or only in part of them (II) at:</i>						Na het rooien/ <i>After lifting</i>		
		18 juni <i>18 June</i>		10 augustus <i>10 August</i>		5 oktober <i>5 October</i>		Macroscopische S2U-symptomen	Zonder macroscopische S2U-symptomen <i>Without macroscopical S2U-symptoms</i>	
		I	II	I	II	I	II		Aantal Number	Mycelium in oude knol <i>Mycelium in old corm</i>
5°C	242	32,6	7,9	42,1	3,3	44,6	2,9 ¹	5,8 ²	46,7	6,6 ³
17°C	233	52,8	1,7	54,5	0	54,5	0	0	45,5	0

¹ Totaal 7 planten met 8 grote spruiten zonder S2-symptomen, waaronder 6 met mycelium in de knollen (gemiddeld aantastingscijfer: 3,7).

Total of 7 plants with 8 main sprouts without S2-symptoms; 6 with mycelium in the corms (mean rate of infection: 3.7).

² Totaal 14 planten met 17 grote knollen, waaronder 11 met mycelium (gemiddeld aantastingscijfer: 2,9).

Total of 14 plants with 17 big corms; 11 with mycelium (mean rate of infection: 2.9).

³ Totaal 16 spruiten, waaronder 4 met mycelium in de jonge knol (gemiddeld aantastingscijfer: 2,0).

Total of 16 sprouts, 4 with mycelium in the young corm (mean rate of infection: 2.0).

Na bewaring bij 17 °C gaven alle gevormde spruiten snel S2-symptomen te zien. Op 18 juni waren bijna alle planten uit knollen met mycelium reeds geheel aangetast, terwijl het totale percentage bovengronds zichtbaar zieke planten na die datum niet meer toenam. Na het rooien werden geen — al of niet latente — S2U-aantastingen gevonden. Wanneer de knollen echter gedurende de winter bij 5 °C waren bewaard, bleef het totale aantal planten met S2-symptomen tot aan het einde van het groeiseizoen toenemen (van 40,5% op 18 juni tot 47,5% op 5 oktober). Bij het rooien bleek 5,8% van het totale aantal planten macroscopisch S2U-symptomen te vertonen, terwijl onder de schijnbaar gezonde planten enkele met een latent gebleven S2U-aantasting in de hoofdknollen werden gevonden en een aantal waarbij het mycelium uitsluitend in de moederknol voorkwam. In het laatste geval had de parasiet het jonge weefsel niet tijdig kunnen bereiken en waren de knollen dus aan de ziekte ontsnapt.

Het totale percentage planten met hoofdknollen in S2U plus dat wat aan de ziekte was ontsnapt, bedroeg: 2,9% + 5,8% + 6,6% = 15,3% (dit getal is waarschijnlijk iets te hoog, daar in het percentage 6,6 mogelijk­erwijs enkele planten dubbel zijn geteld). Bij het microscopische onderzoek van het uitgangsmateriaal waren 3 van de 25 knollen van de typen 1 en 2, of wel 12%. Ook

in deze proef werd dus weer een zeer goede overeenstemming gevonden tussen het aantal moederknollen met laag aantastingscijfer en het voorkomen van S2U vermeerderd met het aantal planten dat aan de aantasting ontgroeide.

Het voorkomen van S2U bij vroegbloeiende gladiolen

Hierboven werd het optreden van S2U bij grootbloemige gladiolen aangetoond. Het verschijnsel berust hierop, dat bij deze cultivars gewoonlijk slechts een of twee spruiten worden gevormd op de top van de moederknol, zodat in het geval van een aantasting met laag cijfer het mycelium van de brandschimmel nog een zekere afstand moet afleggen, alvorens de jonge spruiten te kunnen aantasten.

Bij de vroegbloeiende gladiolen lopen echter meestal drie of meer knoppen uit, waaronder ook basaal ingeplante, welke onderling gelijkwaardige spruiten vormen. De kans, dat een infectie van het type 1 of 2 latent blijft is in dit geval dus gering, dit temeer daar eventueel aanwezig mycelium rustbrekend werkt op knoppen die anders slapend zouden zijn gebleven. Onder 4.4 (blz. 84 e.v.) zal worden aangetoond, dat in deze groep gladiolen, na ontsmetting van de knollen voor het planten (ter voorkoming van infecties door aanhangende sporen), gecombineerd met het zorgvuldig verwijderen van alle planten met een of meer aangetaste spruiten in het daaropvolgende groeiseizoen, de geoogste knollen vrij zijn van brand. Ook dit wijst erop, dat een knol met mycelium altijd wel een zieke spruit vormt, waardoor de plant als geheel in S2 valt.

Het bovenstaande sluit uiteraard het optreden van S2U bij individuele spruiten niet uit. De macroscopische analyse van aangetaste planten van de cultivar "Peach Blossom" (zie 2.2, blz. 9 e.v.; zie ook fig. 2) doet vermoeden, dat

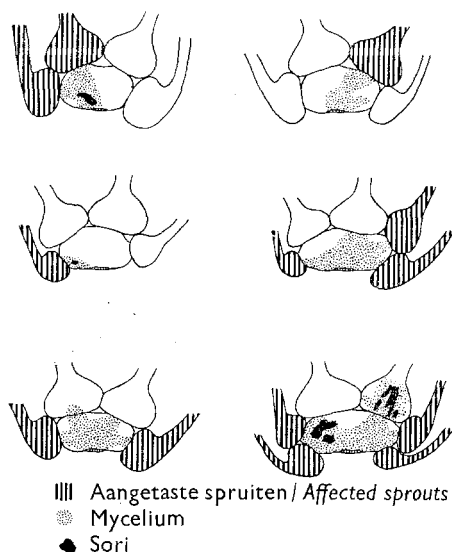


FIG. 5. Verspreiding van mycelium en sori van de brandschimmel in planten van *G. x nanus* "Peach Blossom" met een of meer S2-spruiten.

*The spread of mycelium and sori of the smut fungus in plants of *G. x nanus* 'Peach Blossom' with one or more S2-sprouts.*

dit verschijnsel hier een belangrijke rol kan spelen. Om dit te bevestigen werd op 26 juni 1958 in een 30-tal aangetaste planten de verspreiding van het mycelium microscopisch nagegaan (S.M.). Fig. 5 geeft een overzicht van enkele karakteristieke gevallen. Bij de in totaal 127 spruiten werden de volgende situaties waargenomen:

Spruiten met S2-symptomen	: 60
Jonge knollen met sori en/of mycelium, spruiten echter zonder S2-symptomen	: 5
Mycelium in de moederknol tot aan het verbindingsstuk met de jonge knol	: 7
Mycelium in de moederknol, doch niet in de nabijheid van de jonge knol	: 55

Wanneer bij de vroegbloeiende cultivars te velde uitsluitend aangetaste spruiten worden verwijderd, zal dus in de geoogste knollen met het voorkomen van S2U rekening moeten worden gehouden.

Overzicht van het verloop van de aantasting

Uit de resultaten van de hiervoor beschreven proeven kan thans een volledig beeld van het verloop van de brandaantasting van gladiolen worden ontworpen. Een schematische weergave daarvan is gegeven in fig. 6, welke geheel voor zichzelf spreekt.

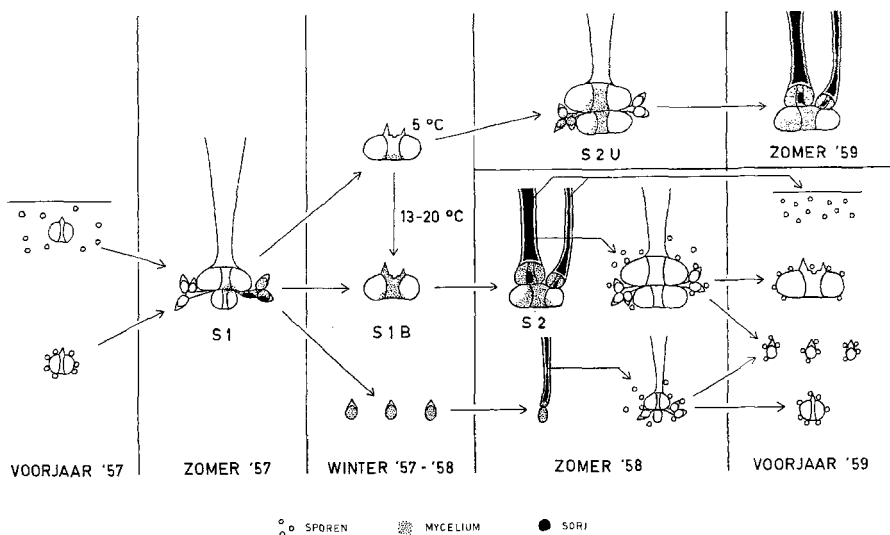


FIG. 6. Schematisch overzicht van het verloop van de aantasting van grootbloemige gladiolen door *Urocystis gladiolicola*. Bij de vroegbloeiende cultivars treedt een verschuiving op van de seizoenen, terwijl S2U daar zelden of nooit voorkomt bij planten in hun geheel, doch uitsluitend bij individuele spruiten.

Schematical view of the infection cycle of Urocystis gladiolicola on large-flowered gladioli. In the early flowering cultivars a shifting of the seasons occurs, and S2U seldom or never arises in plants as a whole, but only in individual sprouts of diseased plants. Voorjaar = spring; zomer = summer.

Correlatie tussen het microscopische onderzoek (S.M.) en de waarnemingen te velde

Tenslotte moeten hier nog enkele opmerkingen worden gemaakt over de correlatie tussen het volgens de standaardmethode bepaalde percentage infectie van de knollen en het aantal zieke planten dat te velde kan worden herkend. Bij de partij "Van Tienhoven" bestond een zeer goede overeenstemming tussen de beide waarden (SCHENK, 1958). Bij de grootbloemige gladiolen is dit meestal het geval, zoals uit vele van de hierna te bespreken proeven zal blijken. Een uitzondering moet worden gemaakt voor zieke knollen met een laag aantastingscijfer, waar het percentage S2-planten lager kan liggen dan volgens microscopisch onderzoek (S.M.) zou mogen worden verwacht, dank zij het voorkomen van S2U en het ontgroeien aan latente aantastingen.

Bij de vroegbloeiende gladiolen daarentegen is de aantasting te velde meestal belangrijk lager dan het percentage S1 van de moederknollen zou doen verwachten, zonder dat van S2U sprake is (zie tabellen 26 en 27). Waarschijnlijk moet dit worden toegeschreven aan de verhoogde vatbaarheid van door brand aangetaste knollen voor andere ziekten, waardoor veel knollen met mycelium uitvallen zonder spruiten te hebben gevormd.

Bij stuifbrand van gerst vond POPP (1951) een goede correlatie tussen het microscopische onderzoek en de aantasting te velde. Bij tarwe is dit echter in sterke mate afhankelijk van het tarveras, de fysio van de parasiet, de hoeveelheid mycelium in het embryo en van de interactie waardplant-parasiet in de verschillende ontwikkelingsstadia van de plant. Hij vond een goede overeenstemming, wanneer uitsluitend rekening werd gehouden met het al of niet voorkomen van mycelium in de plumula (POPP, 1959). Bij zogenaamd resistente rassen kunnen dikwijls stuifbrandhyfen in het scutellum worden aangetoond, zonder dat dit leidt tot aantasting van de uitgroeïende plant.

Op grond van statistische gegevens veronderstelde PETIT (1955), dat in embryo's met weinig mycelium de waardplant ontsnapt, terwijl zeer zwaar aangetaste zaden geen of verzwakte kiemplantjes geven.

OHMS & BEVER (1955) vonden dat fysio 11 in het tarveras "Wabash" een overgevoeligheidsreactie veroorzaakte, hetgeen een verminderde stand en een geringe zichtbare brandaantasting tengevolge had. In gestoomde grond was de reductie minder, zodat waarschijnlijk bepaalde bodemorganismen ook een rol spelen. In andere gevallen verklaarden zij de veldresistentie door aan te nemen, dat het mycelium geen gelijke tred kan houden met de groei van de waardplant.

Onafhankelijk van microscopisch onderzoek werd het verschijnsel van de overgevoeligheid van tarwerassen voor stuifbrand voor het eerst door OORT (1944) waargenomen en uitvoerig beschreven.

3.2. DE INFECTIE

3.2.1. *De invloed van inoculatiemethode en sporenconcentratie*

Het inoculum

Tenzij anders vermeld, werd bij alle hierna te bespreken proeven gebruik gemaakt van brandsporen die werden verzameld door bladweefsel met sori na

toevoeging van water in een mixer fijn te slaan. De sporen werden door kaasdoek gezeefd en verder gezuiverd door ze vele malen te laten bezinken en de bovenstaande vloeistof af te schenken en te verversen. Daarna werden zij bij kamertemperatuur gedroogd en in een gesloten fles bij 1-3 °C bewaard. De aldus behandelde sporen behielden het vermogen tot infectie gedurende minstens twee jaar.

In vele proeven werden de gladioleknollen geïnoculeerd door ze in een sporensuspensie met 1% methylcellulose onder vacuüm te brengen. Meestal werd de lucht twee of drie maal afgezogen en opnieuw toegelaten. Daar in het begin na toepassing van deze methode enkele keren zeer zware infectie door *Fusarium oxysporum* f. *gladioli* werd waargenomen, werden naderhand de knollen voor de inoculatie gedurende een of twee uur ontsmet met 2% Aagli-tan, waarna zij een nacht in stromend water werden gespoeld.

Infectie in kunstmatig besmet plantmateriaal in afhankelijkheid van de plaats van inoculatie

In 1957 werd een proef opgezet, waarin knollen en kralen op verschillende manieren kunstmatig werden besmet. Als inoculum diende in dit geval een suspensie van brandsporen met 1% methylcellulose, afkomstig van sori in planten van *G. tristicus*. Knollen van de cultivars "Dr. Fleming" (4-5 cm) en "Alfred Nobel" (5-6 cm) werden kaal gemaakt, zodat de jonge knoppen onbeschermde lagen. De volgende inoculatiemethoden werden toegepast:

1. De knollen werden geplant met de basis op een watje gedrenkt in de suspensie.
2. De holte om de jonge knop werd gevuld met de suspensie.
3. De knollen werden gedompeld in de suspensie; tevens werden knollen in een suspensie zonder methylcellulose gedoopt.
4. Een druppeltje suspensie werd met een fijne injectienaald in de jonge knop gebracht.
5. Met een kurkboor werd een holte in de knol geboord, van de bovenrand af schuin onder de knop door tot in de stele. Deze ruimte werd gevuld met suspensie en met een houten propje afgesloten.

Op 16 mei werden 25 knollen volgens elk van deze methoden behandeld, in potten geplant en in een kas gebracht. Bovendien werden groepen van 25 gepelde of ongepelde kralen van "Dr. Fleming" uitsluitend volgens methode 3 geïnoculeerd. De eerste maanden na opkomst van de planten werden geen afwijkingen geconstateerd. Op 24 augustus werden drie plantjes van kralen gevonden met sori in de bovengrondse bladdelen, terwijl enkele weken later, op 10 september, ook enkele planten uit knollen symptomen te zien gaven. In de loop van de daaropvolgende twee maanden nam dit aantal nauwelijks toe. In de tweede week van november werden alle planten gerooid en macro- en microscopisch op de aanwezigheid van sori en mycelium onderzocht. De waarnemingen zijn samengevat in tabel 6.

Opvallend is, dat de inoculatiemethoden 1, 4 en 5 in geen enkel geval tot infectie hebben geleid. Blijkbaar was de brandzwam niet in staat direct het oude knolweefsel binnen te dringen, terwijl de afstand tot de wel vatbare, jonge delen van de plant te groot was om infectie mogelijk te maken. Ook

TABEL 6. Invloed van de inoculatiemethode op infectie door brand en het optreden van macro- en microscopische symptomen in S1 bij planten van kralen en knollen van "Dr. Fleming" en "Alfred Nobel".

The effect of different methods of inoculation on infection by the smut fungus, and the appearance of macro- and microscopical symptoms in S1 in plants from corms and cornels ('Dr. Fleming' and 'Alfred Nobel').

Methods of inoculation at time of planting:

1. Suspension of spores at the base of the corms; 2. Suspension of spores in the hollow around the buds; 3. Corms dipped in the suspension; 4. Suspension injected into the bud; 5. Suspension placed in a cavity in the corm flesh, made just below the bud.

Cultivar (grootte) (circumf. in cm)	Inoculatie methode (zie blz. 26) <i>Inoculation method</i>	Aantal planten <i>Number of plants</i>	Macroscopische symptomen		Microscopische symptomen (S.M.)				Aantal niet geïnfecteerd planten <i>Number of plants not infected</i>
			In bovengr. delen <i>In leaves above soil</i>	Uitsluitend in ondergr. delen <i>In underground parts only</i>	Mycelium in jonge knollen <i>Mycelium in young corms</i>		Mycelium in oude knollen <i>Mycelium in old corms</i>		
					Aantal <i>Number</i>	Gemiddeld aantastings- cijfer <i>Mean rate of infection</i>	Aantal <i>Number</i>	Gemiddeld aantastings- cijfer ¹ <i>Mean rate of infection¹</i>	
"Dr. Fleming" (4-5 cm)	1	25	0	0	0	—	0	—	25
	2	25	9	0	20	3,8	19	3,2	5
	3	23	0	0	10	4,0	10	2,1	13
	4	23	0	0	0	—	0	—	23
	5	22	0	0	0	—	0	—	22
"Alfred Nobel" (5-6 cm)	1	24	0	0	0	—	0	—	24
	2	20	12	2	19	3,8	19	2,6	1
	3	22	6	1	10	3,8	11	2,8	11
	4	25	0	0	0	—	0	—	25
	5	25	0	0	0	—	0	—	25
"Dr. Fleming" kralen gepeld <i>cornels shelled</i> niet gepeld <i>not shelled</i>	3	25	2	3	6	3,9	5 ²	3,6	19
	3	22	1	4	5	4,0	1 ²	3,0	17
"Dr. Fleming" (4-5 cm) "Alfred Nobel" (5-6 cm)	3 ³	25	2	0	5	3,2	5	3,0	20
	3 ³	23	10	0	12	4,0	12	2,8	11

¹ Myceliumgroei in de oude knollen beoordeeld op analoge wijze als in de jonge, doch in dit geval gemeten van boven naar beneden.

² Veel rotte knollen/Many rotted corms.

³ Sporensuspensie in water/Spore suspension in water, in all other cases in 1% methylcellulose.

sporen die in de jonge knoppen waren gebracht, slaagden er niet in de ziekte te verwekken.

Wanneer de brandsporen buiten om de jonge knop werden aangebracht, bleek een zeer hevige infectie tot stand te komen. Vooral veel planten van "Alfred Nobel" vertoonden dan bovengrondse symptomen. In alle gevallen werden deze uitsluitend gevonden in de binnenste bladen. Blijkbaar was de parasiet er in deze gevallen in geslaagd zo snel in het vegetatiepunt binnen te dringen, dat de laatst gevormde delen waren aangetast voor ze uitgroeiden. Dat de omstandigheden de ziekte begunstigden, blijkt ook uit het hoge aantastingscijfer dat alle jonge knollen, dus ook die zonder macroscopische symptomen, na het rooien te zien gaven. Een interessant verschijnsel is verder, dat de schimmel na de infectie via de jonge delen ook was doorgedrongen in het ondertussen reeds grotendeels leeggezogen weefsel van de moederknol. Dikwijls kon hij zelfs in de basale delen worden waargenomen. Ook in andere infectieproeven is dit vastgesteld en zelfs is een enkele maal geconstateerd, dat hier sori werden gevormd. Dit is een bij brandschimmels weinig voorkomend verschijnsel, daar deze parasieten meestal uitsluitend in jonge weefsels groeien. Opvallend was, dat bij beide cultivars dompelen in de suspensie een minder hevige infectie tot gevolg had dan het toedienen van de sporen in de holte om de jonge spruit. Waarschijnlijk is in het laatste geval de concentratie van sporen in de omgeving van de jonge, vegetatieve delen groter geweest, daar na de dompeling een deel van de suspensie is afgevoerd.

In 1961 werd nogmaals een groot aantal knollen van "Dr. Fleming" (6-8 cm) volgens methode 4 besmet met een suspensie met 10.000 sporen per mm^3 . Na de behandeling werd onder een binoculaire loop vastgesteld, dat zich een groot aantal sporen tussen de blaadjes van de knoppen bevond. De op deze wijze besmette knollen werden in bakken geplant, die vervolgens bij de voor het optreden van brand optimale temperatuur van 20 °C werden geplaatst (zie 3.3.2, blz. 45 e.v.). In de daarop volgende maanden werden enige malen vijf tot tien planten microscopisch onderzocht. Ook in deze proef werden geen aanwijzingen gevonden, dat de schimmel er in was geslaagd in de waardplant binnen te dringen. Het is dus vrijwel uitgesloten, dat brandsporen op deze wijze in de jonge knoppen gebracht, infectie tot stand brengen.

Inoculatie van vroegbloeiende cultivars

Nadat in 1957 het verloop van de aantasting van grootbloemige gladiolen door *U. gladiolicola* in grote lijnen bekend was geworden, werd in de daaropvolgende winter een inoculatieproef met een tweetal vroegbloeiende cultivars opgezet; enerzijds met het doel om na te gaan of ook in dit geval het ziekteproces in principe twee jaar duurt, anderzijds om de invloed van de inoculatiemethode en de sporenconcentratie te bestuderen.

Van de cultivars "Spitfire" en "Peach Blossom" werden op 3 januari 1958 telkens 25 knollen geïnoculeerd door deze enkele minuten te roeren in een brandsporensuspensie met 1% methylcellulose of door ze in de suspensie enkele malen onder vacuüm te brengen. Dit werd gedaan met inocula, die respectievelijk 300, 30 en 3 sporen per mm^3 bevatten. Enkele dagen later werden alle partijtjes buiten uitgeplant, tezamen met 25 onbehandelde knollen van beide rassen. In de loop van het groeiseizoen werden de planten onderzocht op het voorkomen van sori in de bladeren, terwijl na het rooien de geoogste

knollen werden nagekeken op macro- en microscopische symptomen. De waarnemingen zijn vermeld in tabel 7.

TABEL 7. Invloed van de inoculatiemethode en de sporenconcentratie op infectie door brandsporen bij de vroegbloeiende gladioli "Spitfire" en "Peach Blossom". Knollen geroerd in de suspensie (D) of onder vacuüm in de suspensie gedompeld (V); 25 knollen per behandeling.

The effect of the method of inoculation and spore concentration on infection by smut spores in the early flowering gladioli 'Spitfire' and 'Peach Blossom'. Corms inoculated either by stirring them for a few minutes in a spore suspension in 1% methylcellulose (D), or by placing them in a vacuum in the same medium (V); 25 corms per treatment.

Cultivar	Inoculatiemethode en aantal sporen per mm ³ <i>Inoculation method and number of spores per mm³</i>	S2-symptomen	Gerooid aantal knollen <i>Number of corms lifted</i>	Aantal met sori in de knolschubben <i>Number with sori in the corm scales</i>	Monsters van 25 knollen per object <i>Samples of 25 corms per treatment</i>		
					Sori in het knolvlees <i>Sori in the corm flesh</i>	Microscopisch (S.M.)	
						Aantal met mycelium <i>Number with mycelium</i>	Gemiddeld aantastingscijfer <i>Mean rate of infection</i>
"Spitfire"	D 300	0	72	6	3	7	2,3
	D 30	0	88	1	1	1	4,0
	D 3	0	80	0	0	0	—
	D totaal	0	240	7	4	8	2,5
	V 300	0	88	5	7	9	3,2
	V 30	0	81	3	3	6	2,2
	V 3	0	76	0	0	0	—
	V totaal	0	245	8	10	15	2,8
"P. Blossom"	D 300	2	65	10	8	17	2,7
	D 30	0	101	5	3	8	2,4
	D 3	1	83	1	1	2	2,5
	D totaal	3	249	16	12	27	2,6
	V 300	1	63	14	17	22	2,9
	V 30	1	101	8	8	12	2,3
	V 3	1	85	1	1	1	3,0
	V totaal	3	249	23	26	35	2,7
"Spitfire"	onbeh. control	0	86	0	0	0	—
"P. Blossom"	onbeh. control	1	73	0	0	0	—

Uitsluitend bij "Peach Blossom" werden enkele planten met bovengronds zichtbare symptomen waargenomen. Daar echter ook een plant in de controle sori in de bladeren had, moet worden aangenomen, dat enkele moederknollen van "Peach Blossom" bij het planten latent mycelium bevatten. De verschijnselen na het rooien wijzen uit, dat het aantastingsverloop van brand ook in deze groep gladioli in principe tweejarig is.

De methode van inoculatie had een duidelijke invloed op het optreden van de infectie. Na inoculatie in vacuüm kwamen knollen met macroscopische S1-symptomen talrijker voor, terwijl ook het totale aantal knollen met mycelium groter was dan na dompelen zonder meer. Het voorkomen van macro- zowel als microscopische symptomen was ook in sterke mate afhankelijk van de ge-

bruikte sporenconcentratie. Met drie sporen per mm^3 was bij "Spitfire" in het geheel geen infectie tot stand gekomen en bij "Peach Blossom" slechts een zeer geringe, terwijl bij 300 sporen per mm^3 het percentage aangetaste knollen na vacuüm-inoculatie circa 36% bedroeg in het eerstgenoemde ras en circa 88% in het laatste. Gezien het verschil in aantasting tussen "Spitfire" en "Peach Blossom" bleek de cultivar een derde factor te vormen die van invloed is op de mate van aantasting.

Dat de hevigheid van de aantasting bij "Peach Blossom" in sterke mate afhankelijk is van de wijze waarop de sporen worden aangebracht, bleek opnieuw uit een in 1960 genomen proef. De knollen werden in dit geval besmet door toepassing van vacuüm-inoculatie (500 sporen/ mm^3 in 1% methylcellulose) of door schudden met sporenpoeder (circa $7 \cdot 10^4$ sporen per knol). Het resultaat hiervan bij tien willekeurig gekozen dochterknollen uit beide groepen is in fig. 7 weergegeven. Duidelijk blijkt hieruit, dat sterke sorusvorming in het knolvlees vooral voorkwam na vacuüm-inoculatie van de moederknollen.

Vorming van sori in de bovengrondse delen in S1 na inoculatie in vacuüm

Enkele oriënterende proeven, genomen in de eerste jaren van het onderzoek met vatbare rassen uit de groep van de grootbloemige gladiolen, wezen uit dat ook hier meestal enkele honderden brandsporen per mm^3 inoculum aanwezig moeten zijn om een hoog percentage infectie te verkrijgen. Behalve de inoculatiemethode, de sporenconcentratie en de cultivar, bleek echter ook de aard van het plantmateriaal (kralen of knollen) een rol te spelen, zoals de volgende proef laat zien.

In 1958 werden kralen en knollen van "Dr. Fleming" en "Alfred Nobel" in vacuüm geïnoculeerd (300 sporen/ mm^3 in 1% methylcellulose) en buiten uitgeplant. Na het rooien werd het percentage knollen in S1 microscopisch vastgesteld (S.M.), met het volgende resultaat (tussen haakjes het aantal onderzochte knollen):

Plantmateriaal	% knollen in S1
"Dr. Fleming" (kralen)	5 (75)
"A. Nobel" (kralen)	30 (100)
"Dr. Fleming" (knollen, 2-4 cm)	53 (125)
"A. Nobel" (knollen, 4-6 cm)	92 (25)

Bij kralen was dus minder infectie opgetreden dan bij knollen en bij "Dr. Fleming" minder dan bij "A. Nobel".

Daarnaast leverde deze proef ook nog een ander belangwekkend resultaat op. Begin september werd namelijk bij de planten uit knollen van beide rassen een aantal exemplaren gevonden met bovengronds zichtbare S1-symptomen, in de vorm van lichte sorusvorming in de binnenste bladeren of in de bloeiwijze. Bij het microscopische onderzoek van geoogste knollen, gevormd door planten zonder deze met het blote oog zichtbare verschijnselen, werd gevonden dat in verreweg de meeste gevallen het aantastingscijfer 4 was. Het mycelium bleek dikwijls zelfs aanwezig te zijn in de resten van de afgebroken bloemstengel. Op grond hiervan werd verondersteld, dat na vacuüm-inoculatie de schimmel er onder bepaalde omstandigheden in slaagt zeer snel het knol-

vlees te bereiken. Soms zelfs zo snel, dat het in het vegetatiepunt binnendringt als de laatste bladeren en/of de bloemaar nog niet of nauwelijks zijn uitgegroeid, zodat nog tijdens S1 bovengronds symptomen kunnen ontstaan. In de meeste gevallen zal de parasiet echter niet op tijd zijn om dit laatste te bewerkstelligen. Doch een hoog aantastingscijfer tegen het einde van het groeiseizoen bewijst dan, dat hij hier bijna in was geslaagd.

Bij infectie onder natuurlijke omstandigheden werden aan het eind van het groeiseizoen uitsluitend bij kralen wel eens enkele planten met bovengronds zichtbare S1-symptomen waargenomen. Bij knollen was dit echter nooit het geval.

Vergelijking van vacuüm-inoculatie met enige andere inoculatie-methoden

In 1959 werd een veldproef opgezet, waarin de vacuüm-inoculatie werd vergeleken met inoculatiemethoden die meer met de natuurlijke wijze van besmetting overeenkomen. Per behandeling werden circa 1000 knollen van "Dr. Fleming" (2,5-4 cm) en "A. Nobel" (3-4 cm) gebruikt, die gedurende de winter een warmwaterbehandeling gedurende een half uur bij 46 °C hadden ontvangen, om de mogelijkheid uit te sluiten, dat tijdens de groei S2-planten aanwezig zouden zijn (zie 4.2.1, blz. 66 e.v.). De knollen werden op de volgende wijze met brandsporen besmet:

1. Vacuüm-inoculatie: in een suspensie met 500 sporen/mm³ in 1% methylcellulose.
2. Dompelen: de knollen werden een halve minuut in de genoemde suspensie geroerd.
3. Bespuiten: ieder partijtje knollen werd bespoten met 60 cm³ van de genoemde suspensie (totaal aantal sporen circa 3.10⁷).
4. Bepoederen: de iets bevochtigde knollen werden met 60 mg sporen bestoven en enige tijd heftig geschud (totaal aantal sporen circa 3.10⁷).

Op 15 april werden alle groepen buiten uitgeplant. Na een goede opkomst en groei in de eerste maanden werd reeds begin augustus, vooral bij "Dr. Fleming" na vacuüm-inoculatie, een groot aantal planten met bladsymptomen waargenomen. Bij deze planten stagneerde de groei en bleef de bloeiwijze meestal steken. Minder ernstig aangetaste planten produceerden wel bloemen, die in een aantal gevallen sori vertoonden. Soms waren de sori uitsluitend aanwezig in de steel; ze werden dan meestal pas zichtbaar na afsnijden van de aar. Tabel 8 geeft een overzicht van de veldwaarnemingen.

De resultaten van deze proef bevestigden het vermoeden, dat het al of niet optreden van sori in de bladeren tijdens de laatste maanden van het eerste groeiseizoen na de inoculatie, bij een gewas uit knollen gegroeid, in eerste instantie wordt beïnvloed door de inoculatiemethode. Bij "Dr. Fleming" en in mindere mate bij "A. Nobel", was de bovengronds zichtbare aantasting geringer naarmate de besmetting van de knollen op een natuurlijker wijze had plaatsgevonden.

Op 26 september werden uit alle nummers 25 planten zonder bovengrondse symptomen gerooid, waarna de ondergrondse delen op macro- en microscopische symptomen werden onderzocht. Het resultaat is gegeven in tabel 9.

Onafhankelijk van inoculatiemethode en cultivar waren in stolonen en kra-

TABEL 8. Invloed van de inoculatiemethode op het optreden van bovengrondse symptomen van brand in het eerste seizoen na de inoculatie (S1).

The effect of the method of inoculation on the incidence of smut symptoms in the first season after inoculation (S1), in the leaves and flowers of the cultivars 'Dr. Fleming' and 'Alfred Nobel'.

Inoculation methods:

1. *Vacuum-inoculation: in a suspension with 500 spores/mm³ in 1% methylcellulose.*

2. *Dipped: corms stirred for half a minute in the suspension.*

3. *Sprayed: 60 ml of the suspension sprayed upon the corms.*

4. *Dusted: corms dusted with an amount of spores equivalent to 3.*

Cultivar	Inoculatiemethode	Aantal planten <i>Number of plants</i>	Sori in de bladeren (%) <i>Sori in the leaves</i> (%)	Sori in de bloemen (%) <i>Sori in the flowers</i> (%)
"Dr. Fleming"	vac. inocul.	824	26,3	5,7
	dompelen	810	7,0	1,9
	dipped			
	bespuiten	789	1,8	0,5
	sprayed			
"A. Nobel"	bepoederen	806	2,0	0,2
	dusted			
	vac. inocul.	903	1,2	0,1
	dompelen	891	0,7	0
	dipped			
	bespuiten	906	0	0
	sprayed			
	bepoederen	841	0,4	0
	dusted			

TABEL 9. Aantal planten met macroscopische en microscopische S1-symptomen in een monster van 25 planten zonder bovengronds zichtbare aantasting. Dezelfde objecten als in tabel 8.

Number of plants with macroscopical and microscopical S1-symptoms in a sample of 25 plants without sori in the leaves and flowers, taken from the same lots as mentioned in table 8.

Cultivar	Inoculatie-methode	Sori in stolonen en kralen <i>Sori in stolons and cormels</i>	Sori in knol-schubben <i>Sori in corm scales</i>	Sori in knolvlees <i>Sori in corm flesh</i>	Microscopisch (S.M.)	
					Met mycelium <i>With mycelium</i>	Gemiddeld aantastings-cijfer <i>Mean rate of infection</i>
"Dr. Fleming"	vac. inocul.	25	25	24	24	4,0
	dompelen	24	20	19	25	4,0
	dipped					
	bespuiten	25	22	12	24	4,0
	sprayed					
"A. Nobel"	bepoederen	20	10	9	23	3,9
	dusted					
	vac. inocul.	25	25	4	25	2,8
	dompelen	25	22	0	19	2,0
	dipped					
	bespuiten	24	15	0	14	1,9
	sprayed					
	bepoederen	24	17	0	13	1,5
	dusted					

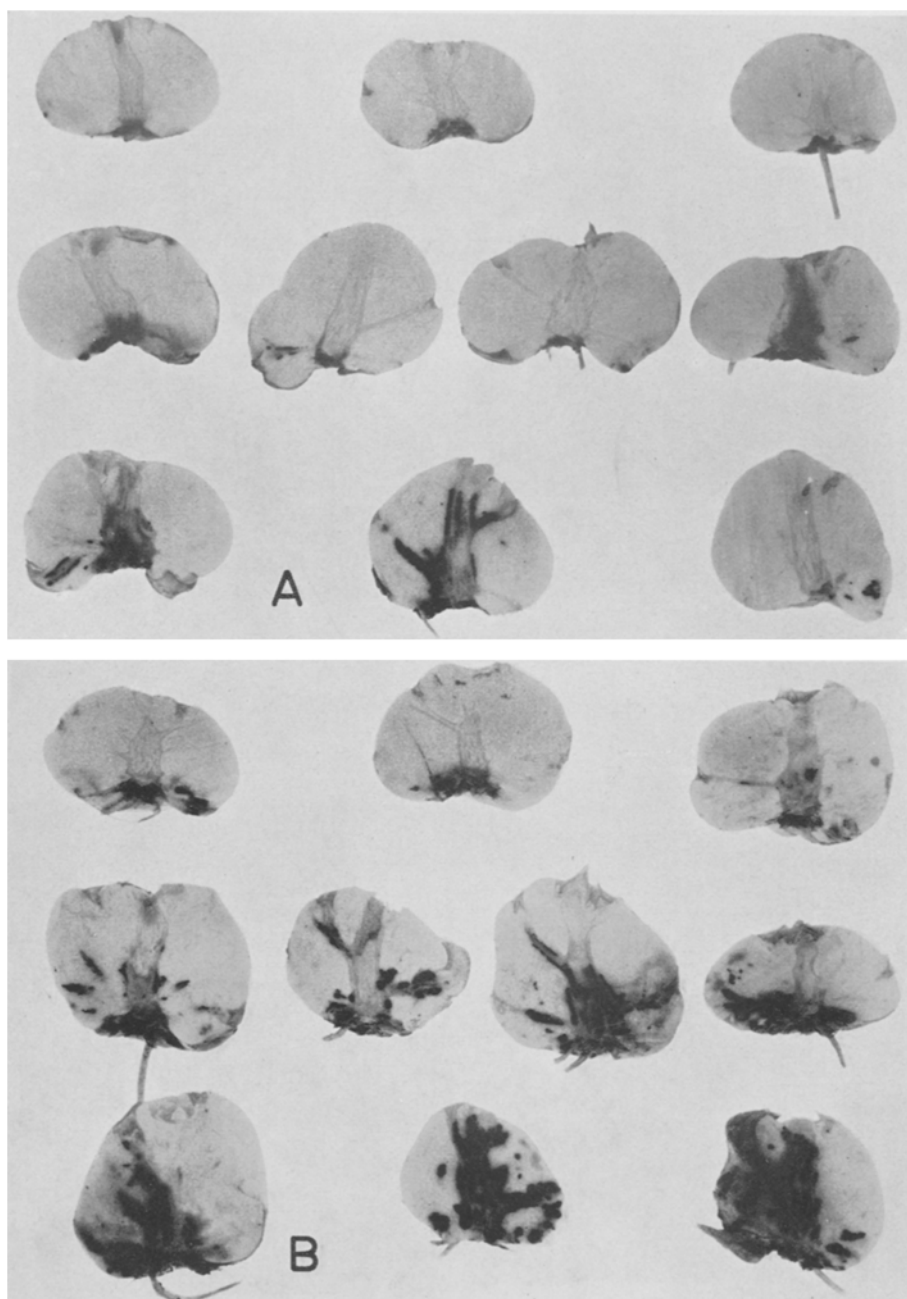


FIG. 7. De mate van aantasting in afhankelijkheid van de inoculatiemethode bij *G. x nanus* "Peach Blossom"; ziektebeeld op doorsnede in een tiental willekeurig gekozen knollen, waarvan de moederknollen (A): met sporenpoeder werden bestoven en (B): in vacuüm waren geïnoculeerd.

*The degree of infection in relation to the method of inoculation (*G. x nanus* 'Peach Blossom'); disease symptoms in radial sections of ten corms, chosen at random, from mother corms which were (A) dusted with smut spores or (B) inoculated in vacuum.*

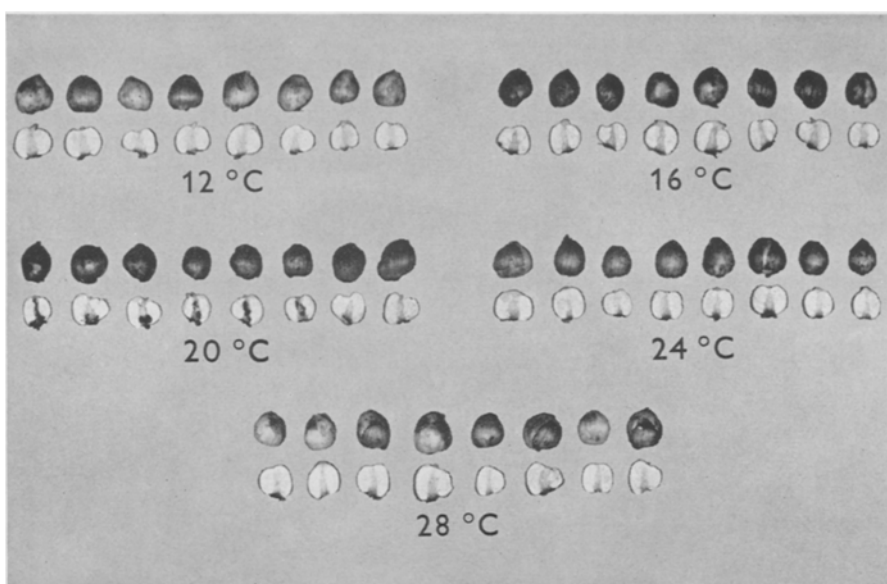


FIG. 11. De invloed van de bodemtemperatuur op het optreden van infectie en het voorkomen van sori in het knolvlees in S1. De aanwezigheid van schubsori verraadt zich in de figuur alleen door het donkerder uiterlijk van de knollen, gegroeid bij 16 en 20°C.
The effect of soil temperature on infection and the formation of sori in the corm flesh in S1. The presence of sori in the scales of the corms grown at 16 and 20°C is indicated by the darker appearance of the corms in this illustration.

len in bijna alle gevallen sori gevormd. In de knolschubben kwamen de sori minder algemeen voor, behalve na vacuüm-inoculatie. Bij "Dr. Fleming" waren de symptomen in het knolvlies minder talrijk, naarmate de knollen op minder drastische wijze waren besmet. Bij "A. Nobel" werden deze, in gering aantal, uitsluitend na vacuüm-inoculatie waargenomen. Ook het microscopische onderzoek liet zien, althans bij "A. Nobel", dat zowel het totale aantal geïnfecteerde knollen als het aantastingscijfer lager was, naarmate de besmetting op natuurlijker wijze had plaats gevonden.

Het tussen de beide cultivars waargenomen verschil is merkwaardig, daar de reactie juist tegengesteld was aan die in enkele hiervoor beschreven proeven. In de op blz. 26 beschreven kasproef gaf vooral "A. Nobel" bovengronds S1-symptomen te zien, terwijl de op blz. 30 gegeven resultaten van een proef met in vacuüm geïnoculeerde kralen en knollen van beide rassen uitwezen dat bij "A. Nobel" een hoger percentage S1-planten optrad dan bij "Dr. Fleming".

Een factor die van invloed was op het resultaat in 1959 is ongetwijfeld de bodemtemperatuur geweest. Het aantal uren zonneschijn van mei tot en met oktober was ongewoon groot. Tengevolge van de sterke instraling lag de gemiddelde bodemtemperatuur op 10 cm diepte — gemeten in het open, onbegroeide veld — veel hoger dan normaal; in mei bedroeg deze reeds (tussen haakjes het verschil met het veeljarig gemiddelde) 18,0 °C (+5,1°) en in de daaropvolgende maanden respectievelijk 22,2 °C (+6,5°), 22,8 °C (+5,2°), 21,4 °C (+4,0°), 18,5 °C (+3,9°). Een bodemtemperatuur van circa 20 °C is optimaal voor het optreden van brand in gladiolen in S1 (3.3.2, blz. 42 e.v.).

Het blijkt dus, dat in 1959 de omstandigheden al spoedig na het planten gunstiger waren voor de ziekte dan meestal het geval zal zijn. In de hierboven besproken proef werden jammer genoeg geen bodemtemperaturen geregistreerd, doch we mogen aannemen dat de temperatuur hier iets lager heeft gelegen dan in de zojuist vermelde gegevens tot uiting komt, daar de zoninstraling door de begroeiing werd belemmerd. Daar het gewas van "A. Nobel" zeer hoog en dicht was, dat van "Dr. Fleming" daarentegen kort en ijl, zal de bodemtemperatuur in het eerste geval minder hoog zijn opgelopen dan in het tweede. Dit zou dan het in 1959 gevonden verschil tussen de beide cultivars, althans ten dele, kunnen verklaren.

3.2.2. Het tijdstip en de wijze van infectie

Inoculatie op verschillende data in de loop van het groeiseizoen

In 1960 werd de volgende proef opgezet om tijdstip en wijze van infectie na te gaan. "Dr. Fleming"-knollen (6-8 cm) werden op 21 april buiten uitgeplant, na gedurende een half uur in $\frac{1}{3}\%$ Panosan te zijn ontsmet. Gelijktijdig werden knollen van dezelfde partij geplant na vacuüm-inoculatie in een brandsporensuspensie met 425 sporen/mm³. Gedurende het groeiseizoen werd op 4 juni, 1 juli en 3 augustus telkens een deel van de planten van de onbesmette knollen op de volgende wijze geïnoculeerd. De ondergrondse delen werden voorzichtig blootgelegd en schoongespoten met water; vervolgens werd een wattenprop, gedrenkt in een sporensuspensie met 1% methylcellulose (circa 400 sporen/mm³), aangebracht om de basis van de jonge knol en — op 1 juli en 3 augustus — tevens tegen de reeds gevormde stolonen. In de loop

van de zomer werden op verschillende tijdstippen enkele planten van de diverse behandelingen gerooid en microscopisch nader onderzocht op de aanwezigheid van jonge infecties. Op 7 oktober werden de resterende planten gerooid, beoordeeld op het voorkomen van macroscopische symptomen en microscopisch geanalyseerd door middel van de S.M. Een samenvatting van de waarnemingen is gegeven in tabel 10 en fig. 8.

Opvallend is de zeer zware infectie, die in alle op 4 juni en later geïnoculeerde planten in de stolonen optrad. Nadat dit op 19 juli in de "inoculatie 4/6" voor het eerst was geconstateerd (45 dagen na het aanbrengen van de spo-

TABEL 10. Waargenomen infecties in stolonen, kralen en knolschubben na inoculatie op verschillende data en de invloed van het tijdstip van infectie op het aantastingscijfer van de knollen na het rooien.

Microscopically observed infections in stolons, cormels and corm scales after inoculation at different dates and the effect of the time of entry of the fungus on the rate of infection of the corms after lifting (7th October). Inoculation on 4th June, 1st July and 3rd August by bringing spores around the base of the growing plants.

Inoculatie op Inoculation on	Onderzocht op Examined on	Infecties ¹ Infections ¹	Opmerkingen Remarks
21/4 (vacuüm- inoculatie)	13/6 19/7 7/10	- + +++	24 planten, alle met sori in de ondergrondse delen. Knollen (S.M.): 22 met mycelium, gemiddeld aantastingscijfer: 2,0. <i>24 plants, all with sori in underground parts. Corms (S.M.): 22 with mycelium, mean rate of infection: 2.0.</i>
4/6	19/7 3/8 7/10	++ ++ +++	45 dagen na inoculatie/45 days after inoculation Eerste sori, 8½ week na inoculatie <i>First sori, 8½ weeks after inoculation</i> 26 planten, alle met sori in de ondergrondse delen. Knollen (S.M.): alle met mycelium, gemiddeld aantastingscijfer: 2,4. <i>26 plants, all with sori in underground parts. Corms (S.M.): all with mycelium, mean rate of infection: 2.4.</i>
1/7	26/7 7/10	++ +++	25 dagen na inoculatie/25 days after inoculation 25 planten, alle met sori in de ondergrondse delen. Knollen (S.M.): alle met mycelium, gemiddeld aantastingscijfer: 1,8. <i>25 plants, all with sori in underground parts. Corms (S.M.): all with mycelium, mean rate of infection: 1.8.</i>
3/8	16/8 25/8 7/10	+ +++ +++	13 dagen na inoculatie/13 days after inoculation 15 planten, alle met sori in de schubben en stolonen, 9 weken na inoculatie. Knolvlies zonder mycelium. <i>15 plants, all with sori in corm scales and stolons, 9 weeks after inoculation. Corm flesh without mycelium</i>

¹ -: Geen infectie waargenomen/No infections observed

+ : Enkele infecties in de stolonen/A few infections in the stolons.

++ : Talrijke en hevige infecties in de stolonen/Many and heavy infections in the stolons.

+++ : Infecties in stolonen, kralen en knolschubben/Infections in stolons, cormels and corm scales.

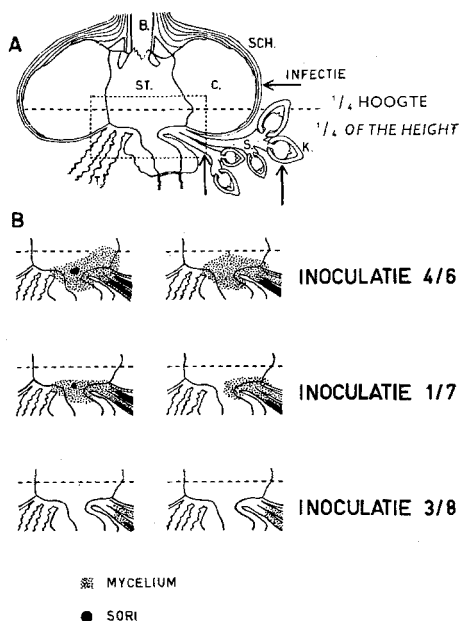


FIG. 8. A. Doorsnede door de basale delen van een gladiolusplant en de plaatsen waar infectie kan optreden. ST: stele van de stengelknol; C: cortex; B: bloemsteel; SCH: knolschubben (basale delen van de schede- en loofbladen); S: stolonen; K: kralen; T: trekwortels.

B. Doorsneden door het verbindingsstuk tussen oude en jonge knol en het aangrenzende weefsel, met de verspreiding van mycelium en sori van brand op 7 oktober 1960, nadat op 4 juni, 1 juli en 3 augustus was geïnoculeerd.

A. *Section through the basal parts of a gladiolus plant and the possible points of infection.* ST: stele of the corm; C: cortex; B: flower stalk; SCH: corm scales (basal parts of the leaves); S: stolons; K: cormels; T: contractile roots.

B. *Sections through the connecting parts between old and young corm and the surrounding tissues, and the spread of mycelium and sori of the smut fungus by 7th October 1960, after inoculation on 4th June, 1st July and 3rd August.*

ren), werd bij latere inoculaties de eerste controle kortere tijd na de behandeling uitgevoerd. Zo werden op 16 augustus in de "inoculatie 3/8" de eerste infecties waargenomen. Onder gunstige omstandigheden kunnen de brandsporen dus 2 weken nadat ze met de vatbare delen van de waardplant in contact zijn gekomen, reeds infecties tot stand hebben gebracht. Ongeveer 2 maanden na de inoculatie werden in de op 4 juni en 3 augustus behandelde planten de eerste sori gevonden. Onder optimale condities is de incubatietijd dus circa 8 weken.

Op 25 augustus werd van "inoculatie 3/8" behalve de epidermis van de stolonen, ook die van de kralen en knolschubben onderzocht. Hierbij bleek, dat de infectie ook in deze delen kan plaats vinden. Bij het beëindigen van de proef op 7 oktober werden van "inoculatie 1/7" twaalf stukken knolschub verzameld, die gelegen waren onder een sorus in de buitenste schub. In geen enkel geval werden hierin sori aangetroffen. Bij microscopisch onderzoek (S.M.) bleek echter, dat in zeven stukken brandschimmel voorkwam. In vier

van deze gevallen was het mycelium duidelijk gelokaliseerd. Blijkbaar kan de parasiet dus van de ene schub op de andere overgroeien.

Uit fig. 8 blijkt hoe de parasiet op het tijdstip van rooien verder in het knolweefsel was doorgedrongen, naarmate de inoculatie vroeger in het seizoen had plaats gevonden. De inoculaties uitgevoerd op 4 juni en latere data gaven aanleiding tot 100% infectie van een zeer homogeen aantastingstype. Blijkbaar was op deze wijze, dank zij de hoge sporenconcentratie, steeds infectie opgetreden op de gunstigste plaats om het knolweefsel te bereiken, zodat de schimmel in alle knollen die op dezelfde datum waren geïnoculeerd ongeveer even ver was doorgedrongen. Na inoculatie op 3 augustus was het mycelium wel in de stolonen aanwezig, doch het was er nog niet in geslaagd om twee maanden na het aanbrengen van de sporen tot in de knollen door te dringen. Onder de omstandigheden van deze proef groeide het mycelium dus wel zeer langzaam in het weefsel van de waardplant.

De infectie na vacuüm-inoculatie was veel minder homogeen. Van de 24 volgens de S.M. onderzochte knollen waren er acht waarin het mycelium ongeveer even ver in het knolvlees was doorgedrongen als na "inoculatie 4/6". In de overige gevallen was het aantastingscijfer lager, terwijl twee knollen vrij waren van de schimmel. Het totale aantal sporen per plant was hier veel minder dan bij de later toegepaste methode en blijkbaar zijn ze niet steeds in voldoende aantallen op de voor infectie gunstigste plaatsen aanwezig geweest, om snel binnen te kunnen dringen.

Uit het bovenstaande mogen de volgende conclusies worden getrokken. Infectie van gladiolplanten door *U. gladiolicola* vindt plaats in de stolonen, kralen en knolschubben. Vervolgens groeit het mycelium van de stolonen en misschien soms ook van de knolschubben uit, via het verbindingsstuk, tot in het weefsel van oude en jonge knol.

De infectie en het verloop van de aantasting in de eerste maanden van de groei van de gladiool bij optimale bodemtemperatuur

In 3.2.1 (blz. 33) is verondersteld, dat het in 1959 in sterke mate voorkomen van S1-symptomen bij planten van in vacuüm geïnoculeerde knollen, veroorzaakt werd door de voor ons land ongewoon hoge bodemtemperaturen in dat jaar. Reeds in het begin van de groeiperiode van de gladiool lagen deze dicht bij het optimum voor het optreden van de ziekte.

Om de invloed van een optimale bodemtemperatuur in de eerste maanden na het planten te demonstreren, werd in 1961 de volgende proef uitgevoerd. "Dr. Fleming"-knollen (6-8 cm) werden op 5 januari in vacuüm geïnoculeerd (2500 sporen/mm³) en uitgeplant in bakken, die vervolgens bij 20 °C werden gebracht. Bij de eerste microscopische controle (S.M.) op 24 januari werden in de basale delen van de buitenste, vlezige schedelbladen talloze infecties waargenomen. Bij later onderzoek bleek, dat de aantasting zich snel uitbreidde in beide richtingen in de lengte van deze bladen, terwijl ook in toenemende mate in het tweede en in enkele gevallen zelfs in het derde en laatste vlezige schedelblad mycelium kon worden aangetoond.

Deze schedelbladeren zijn aan de basis van de jonge knol ingeplant; de daarbinnen gelegen drie à vier loofbladen staan zijdelings en op de top van de jonge knol (HARTSEMA, 1937).

Via de inplantingsplaats van de schedebladen drong de schimmel al spoedig door tot in het basale weefsel van de nog zeer kleine knol, om vandaar uit in korte tijd het vegetatiepunt te bereiken. Op 15 maart werden tien planten onderzocht en in zes daarvan was het mycelium al volop in de groeipunten aanwezig, terwijl het in de overige vier iets minder ver was doorgedrongen. In geen enkel geval werd het in de basale delen van de beide eerste, zijdelings ingeplante loofbladen waargenomen, terwijl het een enkele maal in het derde en nog vaker in het vierde, nog niet uitgegroeide loofblad kon worden gevonden.

De gang van zaken was hierna duidelijk. De parasiet drong na de infectie in de schedebladen snel door tot in de knol, doch kwam te laat om de beide buitenste, reeds uitgegroeide loofbladen aan te kunnen tasten, terwijl ook de groei naar binnen van blad op blad te langzaam plaats vond om deze beide delen binnen te kunnen dringen. Daar de jonge knol nog zeer klein was, werd het vegetatiepunt dikwijls bereikt voordat het derde en het vierde loofblad waren uitgegroeid.

Dat bovengrondse symptomen in S1 vrijwel uitsluitend optreden na vacuüm-inoculatie kan nu worden verklaard door aan te nemen, dat de brandsporen uitsluitend infecties tot stand kunnen brengen als ze in zeer nauw contact met de vatbare weefsels komen. Na besmetting in vacuüm kunnen namelijk talloze sporen op de buitenste, vlezige blaadjes van de knoppen worden gevonden. Deze knoppen worden beschermd door enkele goed gesloten, vliezige schubjes, die bij minder drastische besmetting verhinderen, dat de sporen in aanraking komen met de daarbinnen gelegen delen. Infectie in een jong stadium is dan zo goed als uitgesloten; deze vindt pas later in het seizoen en op grotere afstand van de knolbasis plaats, met het gevolg dat het mycelium het vegetatiepunt niet meer of in ieder geval te laat bereikt om nog S1-symptomen in de bladeren te kunnen doen ontstaan.

Dat bij planten uit kralen onder minder gunstige omstandigheden soms wel in het eerste jaar bovengronds symptomen worden gevormd, moet worden toegeschreven aan het feit, dat de groei van de knollen in dit geval minder sterk is en later in het seizoen begint. Bovendien vindt de vorming en het uitgroeien van de binnenste bladeren later plaats. De parasiet heeft dus een minder grote afstand af te leggen en kan daar langer over doen.

De wijze van infectie door *U. gladiolicola* in vergelijking met die door andere brandschimmels

We kunnen ons thans afvragen hoe deze manier van infectie zich verhoudt tot die van andere brandschimmels. FISCHER & HOLTON (1957) onderscheiden de volgende vier groepen:

1. Kiemplant-infectie: de infectie vindt plaats in het kiemplant-stadium; het mycelium groeit later systemisch.
2. Lokale infectie: de infectie vindt plaats daar, waar later ook de symptomen te voorschijn treden; het mycelium groeit niet systemisch.
3. Embryo-infectie: de infectie vindt tijdens de bloei plaats; het mycelium overwintert in het embryo en groeit naderhand systemisch met de waardplant mee.
4. Scheut-infectie: de infectie vindt plaats in jonge knoppen en/of uitgroeiende scheuten; het mycelium groeit systemisch.

De brandziekte van gladiolen valt niet onder een van de eerste drie groepen. Bij de tot nu toe tot groep 4 gerekende gevallen is meestal weinig bekend over de wijze waarop de infectie plaats vindt. Een uitzondering hierop vormt *Ustilago scitaminea* op suikerriet, waarvoor DASTUR (1920) heeft aangetoond, dat de schimmel in jonge, tere knoppen binnendringt via dunwandige haren. De infectie kan hier zowel in slapende als in uitlopende knoppen plaats vinden. Bij *Ustilago violacea* op koekoeksbloem (HECKE, 1926) en *Tolyposporium ehrenbergii* op sorghum (PRASAD, 1945) treedt scheut-infectie op als jonge knoppen met brandsporen of sporidiën worden besmet. LEACH et al. (1946) verkregen infectie door *Ustilago striaeformis* bij *Poa pratensis*, wanneer zij de brandsporen met behulp van een injectienaald in de jonge knoppen brachten. Onder 3.2.1 (blz. 26 e.v.) is reeds aangetoond, dat deze wijze van inoculatie bij gladiolen niet tot infectie leidt.

Bij *Sphacelotheca occidentalis* op *Andropogon* (DUNLEAVY, 1956) en *Ustilago spegazzinii* op *Agropyron* (FISCHER, 1945) komt geen infectie voor na inoculatie van de bloemen, zaden en, althans bij de eerstgenoemde schimmelziekte, van kiemplanten. Dit is echter wel het geval als de ondergrondse delen worden besmet. DUNLEAVY veronderstelde dat de infectie plaats vindt in de rhizomen, daar inoculatie van knoppen en heel jonge scheuten geen succes opleverde. De zeer lange incubatietijd van twee à drie jaar in het bovenvermelde geval van *U. spegazzinii* doet vermoeden, dat de knoppen of jonge scheuten ook hier niet direct worden geïnfecteerd.

Gladiolen vormen, voor zover bekend, het eerste gewas waarbij met zekerheid is vastgesteld, dat bij scheut-infectie de brandschimmel niet steeds direct in de knoppen of jonge scheuten binnendringt, doch het vegetatiepunt ook via een omweg kan bereiken. Bij deze plantensoort worden gewoonlijk de stolonen geïnfecteerd en van daaruit groeit de parasiet naar het vegetatiepunt, dat meestal na een of soms zelfs pas na twee jaar wordt bereikt. Een uitzondering op deze regel kwam hiervoor (blz. 36) ter sprake; daar werd aangetoond, dat wanneer knollen na vacuüm-inoculatie worden geplant onder omstandigheden, optimaal voor het optreden van infectie, de schimmel snel in de basale delen van de schedelbladen (dat zijn dus de jonge knolschubben) binnendringt en reeds drie à vier maanden later in de bovengrondse delen tot sporenvorming kan overgaan.

3.2.3. Variatie in het effect van de infectie in S1

Zoals beschreven, werden bij diverse gelegenheden gladioleplanten in S1 macro- en microscopisch onderzocht op het voorkomen van sori en mycelium van de brandschimmel. Hierbij waren planten van kralen en knollen van "Dr. Fleming" en "A. Nobel" betrokken, terwijl infectie had plaats gevonden in besmette grond zowel als in kunstmatig besmet plantmateriaal (zie onder 3.1.2, 3.2.1 en 3.2.2). De verschillen in mate van aantasting die in S1 werden waargenomen, zijn schematisch in fig. 9 weergegeven. Steeds werden de eerste macroscopisch zichtbare verschijnselen gevonden in de stolonen en, gelijktijdig of iets later, ook in de kralen en de knolschubben. Het mycelium was echter steeds meer of minder ver vooruit op de eventueel gevormde sori en was dikwijls via het verbindingsstuk tussen oude en jonge knol al in het weefsel van beide doorgedrongen, waar soms in een later stadium ook sori konden worden gevormd.

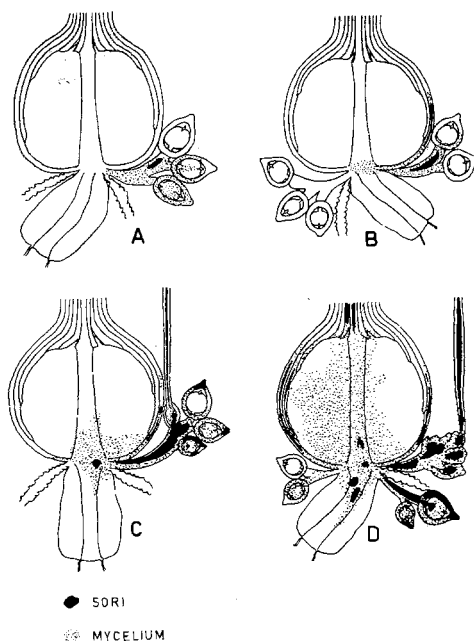


FIG. 9. Verschillende stadia van aantasting door brand in S1, aan het einde van de groei-periode.

Different stages of infection by smut in S1 at the end of the growing season.

Bij infectie onder natuurlijke omstandigheden was bij planten uit knollen de situatie tegen de rooitijd meestal als aangegeven in fig. 9A, B of C. Bij kralen was de parasiet dikwijls verder doorgedrongen en soms slaagde hij er zelfs in om tijdens S1 in de bovengrondse, bladachtige delen sori te vormen (fig. 9D). Na vacuüm-inoculatie en onder gunstige omstandigheden voor het optreden van de ziekte werd ook bij planten uit knollen deze zware aantasting waargenomen; dikwijls kwamen dan sori in de binnenste bladeren en/of de bloeiwijze voor.

Na het rooien wordt in het basale deel van de jonge knol een periderm gevormd. Bij het schoonmaken breken de verdroogde moederknol en de resten van trekwortels en stolonen hierlangs af. Terwijl bij de meeste andere gladiolenziekten de vorming van deze kurklaag geheel of gedeeltelijk wordt verhinderd, waardoor het "pellen" moeilijkheden oplevert, heeft de aanwezigheid van brandmycelium geen invloed op het ontstaan van deze laag. Het fellogeen vormt cellen in longitudinale richting, zodat de vaatbundels worden gebroken en afgesloten door de kurklaag. Hetzelfde gebeurt met het brandmycelium, waarvan later soms restjes in het periderm kunnen worden teruggevonden.

Als het mycelium uitsluitend in de basale delen van de knollen voorkomt (fig. 9 B), is het afhankelijk van de plaats waar de kurklaag ontstaat, of het al of niet in het jonge knolweefsel wordt opgenomen. "Dr. Fleming"-knollen gegroeid in besmette grond (blz. 17) bleken na de oogst, vrijwel onafhankelijk van het voorkomen van sori in de schubben, al of niet mycelium te bevatten. Blijkbaar was hier de parasiet bij het rooien in de meeste planten ongeveer

in het stadium van fig. 9A of B, zodat de schimmel in het ene geval net wel en in het andere net niet in de knol terecht kwam. Bij de knollen van kralen van "Van Tienhoven" (SCHENK, 1958) en in andere gevallen waar de schimmel bij het rooien reeds verder was doorgedrongen, werd gevonden dat in bijna alle knollen met schubsori ook mycelium in het knolvlees voorkwam.

Op grond van de geschetste gang van zaken tijdens en na de infectie mag worden verwacht, dat wanneer een knol mycelium van de brandschimmel bevat, meestal een of meer van de aan dezelfde plant gevormde kralen ook mycelium zullen dragen. Wanneer omgekeerd enkele kralen van een plant zijn geïnfecteerd, zal de knol niet noodzakelijkerwijs aangetast behoeven te zijn.

In de herfst van 1958 werden van vier partijen gladiolen (drie na vacuüm-inoculatie en een in besmette grond) waarin infectie was opgetreden, telkens 50 knollen met de bijbehorende kralen apart gerooid. Tot 25 februari 1959 werden deze bewaard bij 17 °C om de S2-symptomen na het uitplanten snel en volledig te voorschijn te roepen. Daarna was de bewaartemperatuur 9 °C om te voorkomen dat de rust, vooral van de kralen, bij het planten onvoldoende gebroken zou zijn, hetgeen tot verminderde en vertraagde opkomst had kunnen leiden. Voor het planten werden de harde schubjes van de kralen verwijderd, ook al om verzekerd te zijn van een zo volledig mogelijke kieming. Op 20 april werden de knollen met bijbehorende kralen afzonderlijk in potten geplant en in een kas gebracht. Na opkomst werden de planten met S2-symptomen regelmatig verwijderd. Tabel 11 geeft een samenvatting van de waarne-

TABEL 11. Het voorkomen van S2-symptomen in 1959 in de nakomelingschap (knol + kralen) van 200 planten, waarin in 1958 infectie door brand was waargenomen; 29 planten uitgevallen door *Fusarium*-aantasting.

The incidence in 1959 of S2-symptoms in the progeny (corm with cormels) of 200 plants which had shown smut infection in 1958; 29 plants killed by Fusarium.

Knollen met S2-spruit <i>Corms with S2-sprout</i>	Een of meer bijbehorende kralen met S2-spruit <i>One or more of the accessory cormels with S2-sprout</i>	Aantal planten <i>Number of plants</i>	Aantal kralen <i>Number of cormels</i>	% S2-planten uit kralen <i>% S2-plants from cormels</i>	% S2-planten uit knollen <i>% S2-plants from corms</i>
+ ¹	+	85	2471	59,0	36,5
+	-	3	73	0	
-	+	12	254	8,7	
-	-	71	1258	0	
		100			51,5

¹ + betekent met S2-spruit, - zonder S2-spruit.

+ *with S2-sprout*, - *without S2-sprout*.

mingen, waarbij een indeling is gemaakt in vier groepen (respectievelijk ++, +- , -+ en --) al naar gelang de moederknol en een of meer van de door deze gevormde kralen wel of geen S2-symptomen te zien gaven. Bij het beëindigen van de proef op 29 juli, werden de oude knollen van de -+ gevallen microscopisch op de aanwezigheid van mycelium onderzocht. Drie planten vielen toen alsnog in groep ++.

Het totale aantal gevallen waarin op enigerlei wijze S2-symptomen naar voren kwamen bedroeg 100 (som van de groepen ++, +- en -+), waarvan 85% viel in de groep ++, 12% in de groep -+ en 3% in de groep +- . Daar gladiolekralen zelden voor 100% uitlopen is het zeer wel moge-

lijk, dat het aantal + — gevallen met 3% te hoog is gewaardeerd. De op grond van het microscopische onderzoek geuite veronderstelling, dat het in sterke mate optreden van + — planten zeer onwaarschijnlijk is, wordt door deze proef bevestigd.

De verhouding tussen het aantal gevallen in de groepen + + en — + zal afhankelijk zijn van de omstandigheden in S1. Wanneer de brandzwam bij het rooien in het stadium van fig. 9A of B verkeert, zullen veel — + gevallen voorkomen. Is de schimmel echter reeds verder in het knolweefsel doorgedrongen, dan zal het + + type gaan overheersen. Dit laatste is in deze proef het geval geweest. In alle partijen werd namelijk na het rooien in de herfst van 1958 door microscopisch onderzoek (S.M.) vastgesteld, dat het aantastingstype van de zieke knollen in verreweg de meeste gevallen twee tot vier bedroeg. Achteraf bezien was het gebruiken van in vacuüm geïnoculeerd materiaal dus minder gunstig om de mogelijkheid van het talrijk optreden van het — + type te demonstreren.

3.3. DE INVLOED VAN HET MILIEU OP DE ONDERSCHIEDEN STADIA

3.3.1. *De invloed van enkele cultuurmaatregelen in S1*

Invloed van plantdatum, plantdiepte en bemesting op de infectie

In 1958 werden enkele oriënterende proeven opgezet om na te gaan of bemesting, plantdiepte en plantdatum van invloed zijn op de infectie in S1. Enerzijds werden in vacuüm geïnoculeerde kralen van "Dr. Fleming" in onbesmette grond uitgezaaid, terwijl anderzijds gezonde, onbesmette knollen van dezelfde cultivar (3-4 cm) werden geplant in besmette grond waar het jaar tevoren brandzieke gladiolen hadden gestaan. De proeven werden opgezet in een blokkenschema met drie herhalingen. De volgende objecten waren in de proeven opgenomen: *plantdiepte* (3, 9 en 15 cm), *bemesting* (geen, matig — 6 kg/are mengmeststof 6-18-28 bij het planten, 3 kg/are kalkammonsalpeter in juli — en ruim — respectievelijk 12 kg/are en 6 kg/are) en *plantdatum* (9 en 29 april en 20 mei).

Na de oogst werden de knollen gedurende de winter bij 17 °C bewaard (om S2U en het verloren gaan van latente infecties te vermijden) en daarna opnieuw uitgeplant. Het percentage S2-planten in de zomer van 1959 gaf dus een weerspiegeling van de invloed van de behandeling op de infectie in 1958. Uit de verkregen resultaten bleek, dat de bestudeerde culturomstandigheden geen duidelijke invloed hebben op het tot stand komen van infectie door brand.

Invloed van het rooitijdstip op het aantastingstype

Om na te gaan of het rooitijdstip van invloed kan zijn op het percentage infectie en het aantastingscijfer in S1, werd in 1959 van de op blz. 31 e.v. besproken inoculatieproef op 15 en 26 september en 19 oktober een aantal planten van "A. Nobel" geroid, waarvan de knollen voor het planten met sporenpoeder waren bestoven. Het hierna volgende staatje geeft het resultaat van het microscopische onderzoek (S.M.):

rooidatum	totaal aantal planten	% S1-planten	gemiddeld aantastingscijfer
15/9	62	57	1,7
26/9	25	52	1,5
19/10	71	56	2,1

In dit geval was er dus geen sprake van een hoger percentage zieke knollen, noch van een verhoging van het aantastingscijfer bij later rooien. In het algemeen zullen de bodemtemperaturen in de herfst te laag zijn (zie ook 3.3.2) om een duidelijke invloed in deze richting uit te oefenen. Kralen worden gerooid van augustus tot oktober en soms zelfs november. Het is dan niet uitgesloten dat een groot verschil in rooidatum een merkbare invloed heeft, in het bijzonder wanneer de bodemtemperaturen in die tijd nog hoog zijn, zoals bijvoorbeeld in 1959 het geval was.

3.3.2. De invloed van de temperatuur en het vochtgehalte van de grond in S1

Methodiek

Voor het onderzoek naar de invloed van de bodemtemperatuur stonden grote, in een kas geplaatste tanks ter beschikking. Elke tank was gevuld met circa 600 l water, dat met behulp van een verwarmingselement en een koelaggregaat met spiraal, door middel van contact-thermometers nauwkeurig op iedere gewenste temperatuur tussen 0 en 35 °C kon worden ingesteld. De planten werden opgekweekt in gegalvaniseerde ijzeren bakken (13 × 30 cm en 30 cm diep), inwendig met plasticverf bestreken en gevuld met grond. Deze bakken werden in de tanks gehangen, met het water tot enkele centimeters onder de rand. De grond werd met een circa 2 cm dikke laag Tempex-vlokken (een witte, isolerende, niet waterabsorberende kunststof) bedekt om beïnvloeding van de bodemtemperatuur door zoninstraling zoveel mogelijk tegen te gaan.

Gedurende een deel van de groeiperiode in de zomer van 1959 werd de bodemtemperatuur met behulp van thermokoppels op verschillende plaatsen continu geregistreerd. Hierbij bleek, dat de temperatuurschommelingen in droge grond iets groter waren dan in vochtige. Zo bedroeg de afwijking in matig vochtige grond bij een watertemperatuur van 12 °C middenin de bak op 5 cm diepte bij zonnig weer overdag +1,5 tot +1,7 °C en 's nachts +0,5 °C. In droge grond was dit respectievelijk +2,4 tot +2,5 °C en +0,5 tot +0,7 °C. In de 28 °C tank, op dezelfde plaats in de bak gemeten, werd overdag geen verschil met de watertemperatuur geregistreerd; 's nachts trad echter een afwijking op van -0,8 tot -1,0 °C in matig vochtige grond en van -1,0 tot -1,4 °C in droge grond.

De regeling van het vochtgehalte van de grond vormde bij deze langdurige proeven een groot probleem. Wanneer men namelijk het waterverlies in de bakken aanvult door van bovenaf water te geven, dan stelt het vochtgehalte in de bovenlaag van de grond zich in op dat bij veldcapaciteit, terwijl de grond onderin de bak droog blijft. Het was daarom niet mogelijk om gedurende de gehele tijdsduur van de proef verschillende vochtgehalten van de grond homogeen te handhaven. De enige mogelijkheid om weer een bij benadering homo-

gene bevochtiging te verkrijgen was dan ook zoveel water toe te voegen, dat de grond in de hele bak op veldcapaciteit werd gebracht.

Als medium werd een mengsel gebruikt van zandgrond met bladaarde (3 : 1), waarvan het volumegewicht na het planten circa 1,09 bedroeg. Het vochtgehalte bij veldcapaciteit was 33%. Bij het begin van de proef werd alle grond tot dit punt bevochtigd, daarna werd variatie aangebracht volgens het onderstaande schema:

Droge grond: water aangevuld tot veldcapaciteit als het gemiddelde vochtgehalte van de grond tot beneden 8% was gedaald.

Matig vochtige grond: aangevuld zodra het gemiddelde vochtgehalte minder dan 18% bedroeg.

Vochtige grond: aanvankelijk een maal, later twee maal per week aangevuld. Achteraf werd berekend, dat het vochtgehalte in dit geval bij 12 °C tussen 28 en 33% en bij 28 °C tussen 22 en 33% had gevarieerd.

De bakken met planten werden wekelijks gewogen; die met vochtige grond al spoedig zelfs twee maal per week. Steeds werd het oorspronkelijke gewicht van de bak hersteld, zonder dat rekening werd gehouden met het toenemende gewicht van de planten. Bij het beëindigen van de proef bleken de planten van een bak 350-400 gram te wegen, overeenkomend met 3,5 à 4% vochtgehalte van de grond. Op dat tijdstip werd inderdaad gevonden, dat het werkelijke vochtgehalte enkele procenten lager lag, dan werd berekend op grond van het totale gewicht van de bakken. Aan de hand van grondmonsters, die toen op verschillende diepten werden getrokken, werd vastgesteld dat een goed homogene bevochtiging was verkregen; uit enkele bepalingen van het volumegewicht bleek, dat vooral in de bakken met vochtige grond bij hogere temperatuur een zekere inklinking had plaats gevonden (zo was bij "28 °C-vochtig", dank zij de 23 l water die gedurende de proefduur per bak was toegevoegd, het volumegewicht van 1,09 tot 1,13 opgelopen).

De proef werd uitgevoerd met "Dr. Fleming"-knollen (2,5-3 cm), welke gedurende de winter een warmwaterbehandeling gedurende een uur bij 46 °C hadden ontvangen om het optreden van S2 te vermijden (zie 4.2.1, blz. 66). Voor het planten op 30 juni 1959 werden deze gedurende 5 uur in 2% Aagli-tan ontsmet, vervolgens 19 uur gespoeld in stromend water en tenslotte in vacuüm geïnoculeerd in een suspensie met 300 brandsporen per mm³ in 1% methylcellulose. De controles werden in 1% methylcellulose onder vacuüm gebracht. Per bak werden 30 knollen op vijf cm diepte geplant. Tijdens de groei werd drie maal 1,5 l Knops voedingsoplossing per bak en eenmaal een oplossing van de mengmeststof 12-10-18 (in een dosering equivalent met 5 kg per are) toegediend. Om van een goede opkomst verzekerd te zijn, werden de bakken tot 29 juli in een kas gezet, waar de temperatuur tijdens zonneschijn soms tot hoge waarden opliep. Daarna werden ze geplaatst in de tanks bij watertemperaturen van respectievelijk 12, 16, 20, 24 en 28 °C. In iedere tank werden zes bakken met geïnoculeerde knollen (voor ieder vochtgehalte twee) en twee met controles gebracht, welke laatste werden behandeld volgens de werkwijze voor matig vochtige grond.

Invloed op de groei van de waardplant

De ontwikkeling van de planten in droge grond was bij alle bodemtemperaturen opvallend minder dan bij een hoger vochtgehalte, terwijl bij 20 °C en

hoger de groei van de planten in matig vochtige grond iets minder was dan die in vochtige. De overeenkomstige vochtgehalten bij 20 °C en hoger gaven geen aanleiding tot opvallende standsverschillen. Bij 12 °C bleven de planten duidelijk achter, bij 16 °C was dit nauwelijks het geval. Tussen planten uit geïnoculeerde knollen en die van de controles werden geen verschillen in groei waargenomen.

Het gemiddelde gewicht van de knollen na het rooien op 19 oktober (zie tabel 12) vertoonde een tamelijk goede correlatie met de waargenomen ver-

TABEL 12. De groei van planten van in vacuüm geïnoculeerde knollen van "Dr. Fleming" bij verschillende bodemtemperaturen en wisselend vochtgehalte van de grond; gemiddelden van twee herhalingen.

The yield of plants grown from vacuum-inoculated corms of 'Dr. Fleming', growing at different soil temperatures and changing soil humidity limits; means of two plantings of 30 corms each.

Temperature controlled in large constant temperature tanks.

Humidity controlled by bringing the moisture content back to field-capacity (33%) at different stages of drying out of the soil.

Bodem-temperatuur Soil temp.	Grenzen vochtgehalte van de grond (%) Soil humidity limits (%)	Behandeling van de knollen Treatment of the corms	Aantal ge- rooide knollen Number of corms lifted	Gemiddeld gewicht per knol (g) Mean weight per corm (g)	Gemiddeld aantal kralen per plant Mean number of cormels per plant
12 °C	9-33 (droog/dry)	vac.-inoc.	24	2,2	3,1
	18-33 (matig/medium)	"	22	3,2	4,8
	28-33 (vochtig/moist)	"	23	3,2	5,4
	15-33 (matig/medium)	onbehandeld untreated	27	3,1	6,5
16 °C	9-33 (droog/dry)	vac.-inoc.	26	2,1	4,1
	14-33 (matig/medium)	"	24	3,2	6,9
	26-33 (vochtig/moist)	"	26	3,3	7,8
	14-33 (matig/medium)	onbehandeld untreated	28	2,8	9,0
20 °C	8-33 (droog/dry)	vac.-inoc.	22	2,3	5,5
	16-33 (matig/medium)	"	26	3,1	6,5
	24-33 (vochtig/moist)	"	26	4,0	9,2
	16-33 (matig/medium)	onbehandeld untreated	28	3,0	12,0
24 °C	7-33 (droog/dry)	vac.-inoc.	22	2,1	1,8
	17-33 (matig/medium)	"	28	3,8	5,8
	23-33 (vochtig/moist)	"	24	4,3	5,3
	17-33 (matig/medium)	onbehandeld untreated	25	4,0	6,7
28 °C	7-33 (droog/dry)	vac.-inoc.	24	2,2	0,4
	16-33 (matig/medium)	"	23	3,7	1,9
	22-33 (vochtig/moist)	"	22	4,2	2,6
	14-33 (matig/medium)	onbehandeld untreated	27	3,5	2,2

schillen in ontwikkeling van de planten, met deze uitzondering, dat de mindere stand bij 12 °C niet in het knolgewicht tot uitdrukking kwam. Blijkbaar was in droge grond bij alle bodemtemperaturen water de beperkende factor. Bij 12 en 16 °C was de temperatuur, bij voldoende vocht, te laag voor op-

timale groei, terwijl bij 20 °C en hoger ook in matig vochtige grond het water weer als beperkende factor optrad. De knolgroei werd niet beïnvloed door de brandinfectie, zelfs niet bij 20 °C, waar, zoals hierna wordt besproken, toch sprake was van een zeer zware aantasting.

Het gemiddelde aantal kralen per plant was in sterke mate afhankelijk van de bodemtemperatuur, zoals vooral blijkt bij de onderlinge vergelijking van de controlegroepen. Een duidelijk optimum lag bij 20 °C, terwijl bij 28 °C nauwelijks kralen waren gevormd. Dezelfde tendens komt tot uiting bij de geïnoculeerde partijen. De kralenvorming werd, in tegenstelling tot de groei van de knollen, wel door de brandinfectie beïnvloed, zoals blijkt bij vergelijking van het aantal kralen in de controles met dat in de overeenkomstige met brand besmette partijen. Naarmate een heviger reactie op de infectie door brand optrad, werden verhoudingsgewijs minder kralen gevormd.

Invloed op de infectie en het verloop van de aantasting

Bovengrondse S1-symptomen werden slechts bij een plant uit "16 °C" en drie planten uit "20 °C" waargenomen. Om de infectie en de daaropvolgende aantasting onder de verschillende omstandigheden te kunnen beoordelen, werden na het rooien op 19 oktober de volgende bepalingen gedaan:

- a. Het aantal knollen met schubsori.
- b. De mate van sorusvorming in de schubben, gewaardeerd naar een index van 1 (zeer kleine, met het blote oog nauwelijks zichtbare sori) tot 4 (de helft of meer van het oppervlak der schubben met sori bedekt).
- c. Het aantal knollen met sori in het vlees.
- d. Het aantal kralen met uitwendig zichtbare sori.
- e. Het totaal aantal geïnfecteerde knollen, bepaald met behulp van de S.M.
- f. Het gemiddelde aantastingscijfer van de geïnfecteerde knollen.

De waarnemingen aan de planten uit de zes bakken bij iedere temperatuur zijn in fig. 10 grafisch uitgezet. In de controles werd geen brand gevonden. Duidelijk blijkt, dat bij 20 °C een uitgesproken optimum lag, zowel voor macro- als microscopische symptomen. Schubsori, die bij 20 °C en in iets geringere mate ook bij 16 °C zeer talrijk en goed ontwikkeld waren, kwamen bij 12 °C weinig voor en waren bovendien zo onopvallend, dat ze onder normale culturomstandigheden niet ontdekt zouden zijn. Knollen gegroeid bij 24 en 28 °C waren geheel vrij van schubsori. Voor kralen met schubsori werd dezelfde tendens gevonden. Merkwaardigerwijs werden sori in het knolvlees vrijwel uitsluitend bij 20 °C gevormd (fig. 11). Het totale percentage geïnfecteerde knollen, microscopisch (S.M.) bepaald, lag iets hoger dan dat voor de knollen met schubsori. Bij 24 °C werden enkele knollen gevonden met weinig, slecht ontwikkeld mycelium. Bij vergelijking van de aantastingscijfers bij de verschillende temperaturen valt op, dat bij 16 en 20 °C de schimmel in beide gevallen ongeveer tot in de top van de knollen was doorgedrongen. Dat uitsluitend bij 20 °C sorusvorming in het knolvlees had plaats gevonden, doet vermoeden, dat dit verschijnsel aan nauwere temperatuurgrenzen is gebonden dan de groei van het mycelium.

Het feit dat in deze proef zelfs bij een bodemtemperatuur van 20 °C nage-

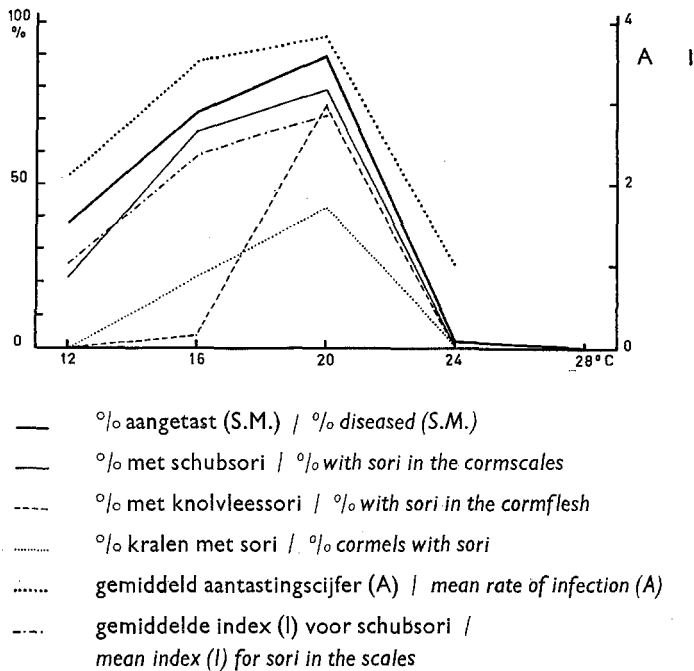


FIG. 10. De invloed van de bodemtemperatuur op de infectie door brand en het optreden van macro- en microscopische symptomen in S1 (gemiddelden van zes maal 30 geplante knollen per temperatuur).

The effect of soil temperature on the infection by smut and the appearance of macro- and microscopical symptoms in S1 (means of six times 30 corms planted at each temperature). The size of the sori in the scales was measured by an arbitrary index (I) from 1 (pinpoint sori) to 4 (more than half of the surface with sori).

noeg geen bovengrondse S1-symptomen werden gevormd, moet worden toegeschreven aan de omstandigheden in de kas waar de bakken de eerste maand na het planten hebben gestaan. Daar de temperatuur hier overdag opliep tot ver boven het optimum, kon in de beginperiode van de groei van de planten geen infectie tot stand komen.

De invloed van het vochtgehalte van de grond bij die bodemtemperaturen, waar infectie was opgetreden, valt uit fig. 12 af te lezen. Bij 12 en 16 °C was de mate van infectie en het optreden van schubsori het sterkst wanneer het vochtgehalte van de grond varieerde tussen 8 en 33%, dus onder droge condities. Tussen vochtige en matig vochtige grond werden hier geen belangrijke verschillen geconstateerd. Bij de voor brand optimale temperatuur van 20 °C speelde de vochthuishouding in de grond nauwelijks een rol.

Samenvattend leidt deze proef dus tot de conclusie, dat in S1 de bodemtemperatuur in belangrijke mate zowel het tot stand komen van de infectie, als de ontwikkeling van de ziekte bepaalt. Boven de optimale temperatuur van 20 °C neemt de kans op infectie zeer snel af en reeds bij 24 °C treedt deze niet of nauwelijks meer op. Het vochtgehalte van de grond heeft op deze verschijnselen slechts een geringe invloed. Blijkbaar bestaat er weinig verband

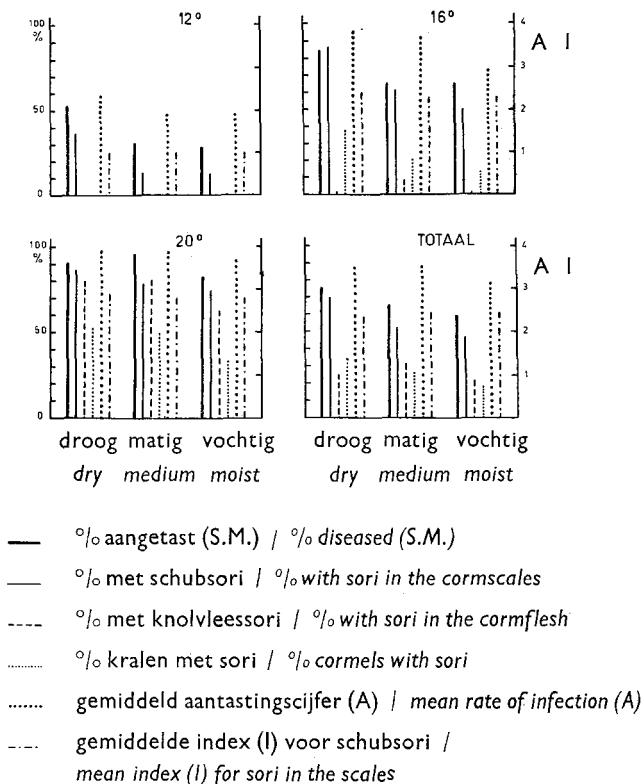


FIG. 12. De invloed van het vochtgehalte van de grond op de infectie door brand en het optreden van macro- en microscopische symptomen in S1 bij verschillende bodemtemperaturen; gemiddelden van twee maal 30 geplante knollen.

The effect of soil humidity on the infection by smut and the appearance of macro- and microscopical symptoms in S1 at three different soil temperature levels; means of twice 30 corms planted. See also fig. 10 and table 12.

tussen de omstandigheden die van invloed zijn op het optreden van brand en die welke de groei van de gladioleplant bepalen.

3.3.3. De invloed van de bewaartemperatuur in S1B

Hiervoor (zie 3.1.3 blz. 18) werd reeds behandeld hoe de bewaartemperatuur tijdens de wintermaanden van invloed is op de groei van brandmycelium in gladioleknollen van grootbloemige cultivars en daardoor ook op de aantasting in S2. Nadat dit was gevonden werden verschillende pogingen gedaan om de optimale temperatuur voor de groei van de parasiet in S1B nauwkeurig te bepalen. In fig. 13 zijn de resultaten weergegeven van enkele proeven, die een meer of minder duidelijke lijn te zien gaven. Het volgende materiaal werd hiertoe gebruikt:

I. "Dr. Fleming" 1957-1958: de knollen waren afkomstig van besmette grond. De waarnemingen in S1 en S2 zijn besproken in 3.1.2 (blz. 17 e.v.) en 3.1.3 (blz. 18 e.v.).

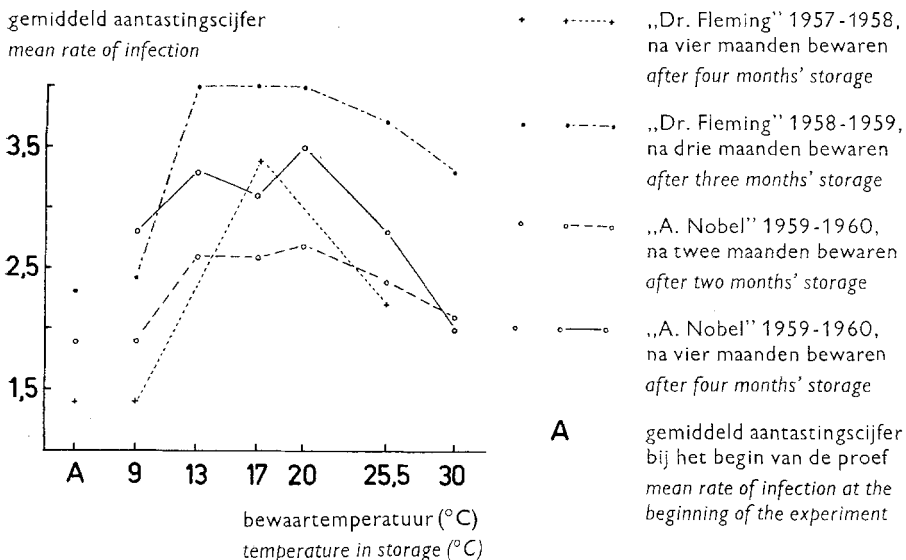


FIG. 13. De invloed van de bewaartemperatuur in S1B op de groei van brandmycelium in gladioleknollen, weergegeven door de toeneming van het gemiddelde aantastingscijfer.

The effect of storage temperature in S1B on the growth of smut mycelium in gladiolus corms, as shown by the increase of the mean rate of infection.

II. "Dr. Fleming" 1958-1959: ook deze knollen waren in besmette grond geïnfecteerd.

III. "A. Nobel" 1959-1960: dit materiaal was afkomstig van de inoculatieproef, die in 3.2.1 (blz. 31 e.v.) werd behandeld. De moederknollen waren in de sporensuspensie gedompeld of met droge sporen bepoederd. In deze serie werd het aantastingscijfer bepaald na twee en vier maanden bewaring bij de aangegeven temperaturen.

De gemiddelde waarden in de grafische voorstelling werden in de beide eerste gevallen berekend op grond van slechts vijf tot acht aangetaste knollen; bij "A. Nobel" bedroeg dit aantal ongeveer 30.

Een nauwkeurige bepaling van de optimale temperatuur voor de uiterst langzame myceliumgroei in S1B was op grond van de resultaten niet mogelijk. In het traject van 13 tot 20 °C was de groei het snelst, terwijl de schimmel waarschijnlijk ook bij 9 en 25,5 °C in de loop van vele maanden iets verder was doorgedrongen.

Door verschillende oorzaken was het in enkele andere series moeilijk om het effect van bewaring bij diverse temperaturen vast te stellen. Men moet immers, om betrouwbare verschillen te kunnen waarnemen, beschikken over partijen knollen met een hoog percentage infectie met homogeen laag aantastingscijfer. Dergelijk materiaal was niet gemakkelijk te vinden. Verder bleek uit analoge proeven met knollen van vroegbloeiende rassen, dat de parasiet er bij zijdelingse infecties niet of zelden in slaagde om verder door te dringen, terwijl dit bij de aantastingen vanuit de basis bij temperaturen tussen 17 en

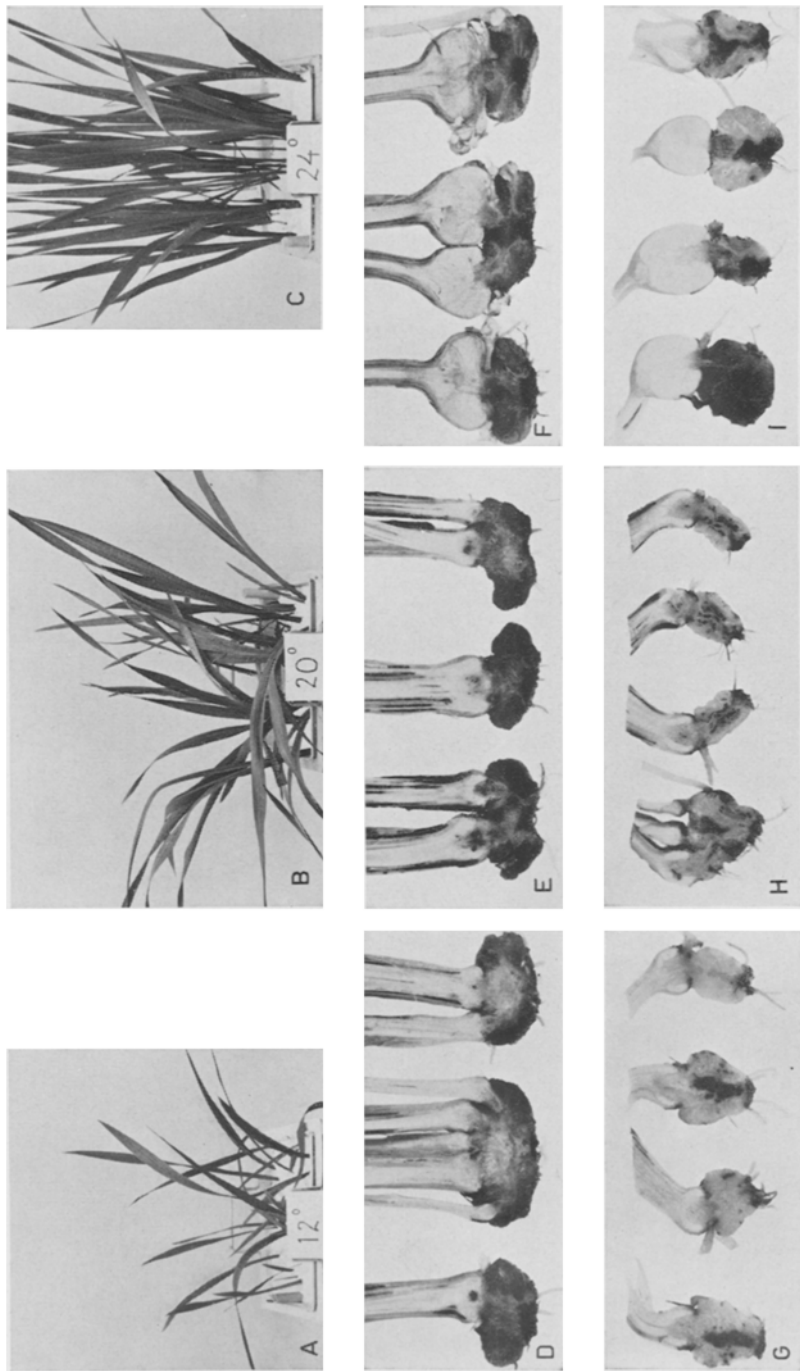


FIG. 14. De invloed van de bodemtemperatuur op het ziektebeeld in S2.

A, B en C: bovengrondse symptomen tijdens de groei bij "A. Nobel" (partij II, blz. 49).
D, E en F: symptomen in doorsneden van de planten direct na het rooien (eveneens in partij II).
G, H en I: als D, E, en F, doch bij planten van "Dr. Fleming" (partij I, blz. 49).

The effect of soil temperature in S2.

A, B and C: symptoms in plants of "A. Nobel" (lot II, see table 13).
D, E and F: symptoms in underground parts of the plants directly after harvesting (same lot as mentioned above).
G, H and I: as D, E and F, but in plants of "Dr. Fleming" (lot I, table 13).

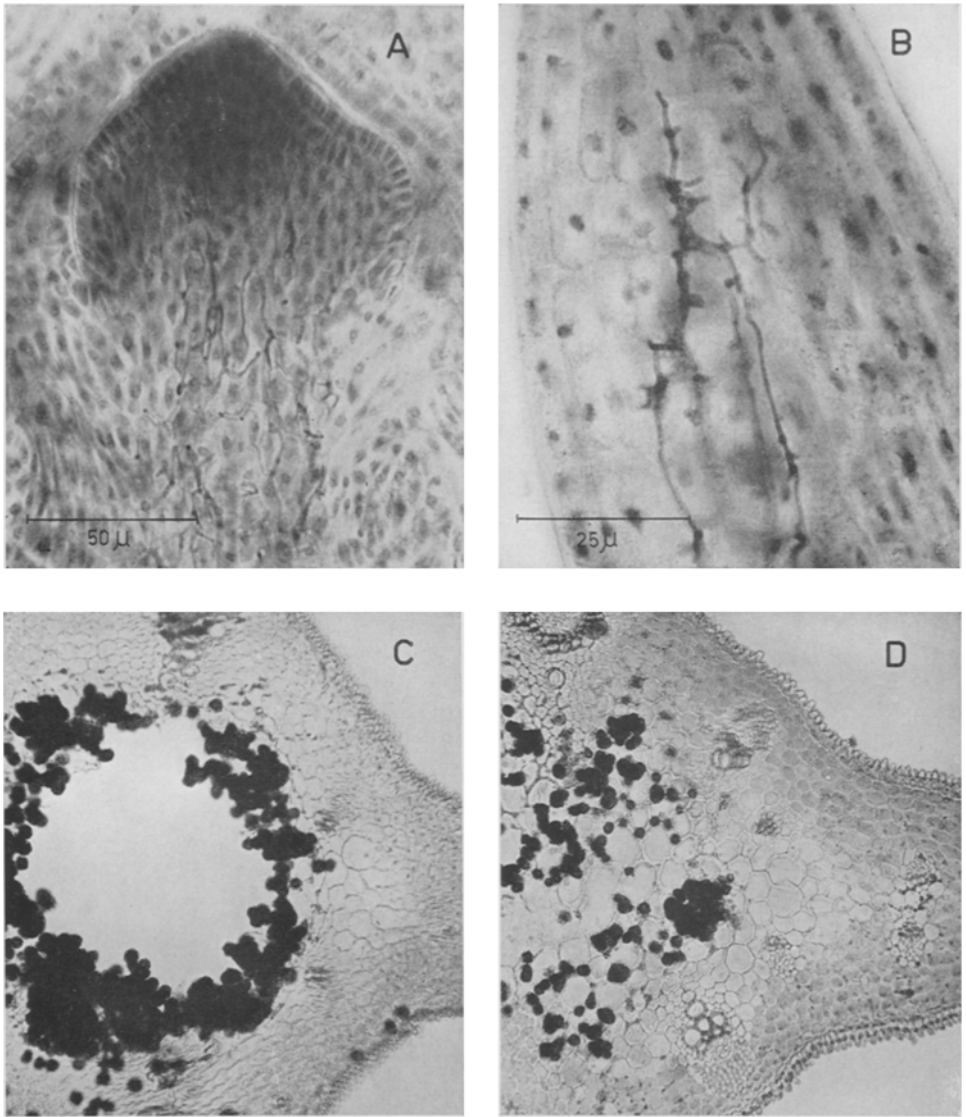


FIG. 17. A en B: Het mycelium van de brandschimmel in het vegetatiepunt (A) en in een blaadje van een jonge knop (B).

C: grote sorus in het bladweefsel van de sterke symptomen vertonende cultivar "Dr. Fleming"; ruimte oorspronkelijk geheel gevuld met brandsporen.

D: sporenvorming in de intercellulaire holten van een blad van de cultivar "Firmament" met minder opvallende uitwendig zichtbare symptomen.

A and B: mycelium of the smut fungus in the vegetative point (A) and in the young leaf of the bud (B).

C: large sorus in leaf tissue of the cultivar 'Dr. Fleming', which shows heavy disease symptoms; originally the cavity was completely filled with smut spores.

D: formation of spores in the intercellular cavities in a leaf of the cultivar 'Firmament', which shows less distinct disease symptoms.

20 °C wel het geval was. Bij grootbloemige gladiolen werd waargenomen, dat in zeer licht aangetaste knollen van het type 1, waarbij uitsluitend hyfen in het schorsweefsel tegen de basis van de stele voorkwamen, geen verdere groei van de schimmel plaatsvond. Blijkbaar kan het mycelium in S1B alleen dan verder woekeren, wanneer het bij het rooien van de knollen reeds vaste voet in de centrale cylinder heeft gekregen. Tenslotte kan de groei worden verhinderd, doordat soms necrotische plekken in het vaatbundelweefsel ontstaan of doordat andere parasitaire schimmels het knolweefsel aantasten.

Gladioletelers meenden te hebben waargenomen, dat knollen door voortschrijdende sorusvorming tijdens de bewaring geheel te gronde kunnen gaan. Om na te gaan of in S1B brandsori in het knolvlees kunnen ontstaan, dan wel zich verder kunnen uitbreiden, werden in twee opeenvolgende winters knollen met enerzijds uitsluitend mycelium en anderzijds mycelium en sori bij een reeks verschillende temperaturen bewaard. Een gedeelte van de partijtjes werd in gesloten papieren zakken gedaan om de eventuele invloed van te sterke uitdroging uit te schakelen. Zelfs na bewaring gedurende een half jaar werd echter geen vorming of uitbreiding van sori geconstateerd. Of dit ook zo is bij de vroegbloeiende cultivars is niet met zekerheid bekend. Bij "Peach Blossom" en "Spitfire" werden eenmaal, na maandenlange bewaring bij 17 en 20 °C, enkele knollen aangetroffen met grotere sori dan bij andere temperaturen het geval was. Het uitgangsmateriaal was echter te heterogeen om hieraan conclusies te kunnen verbinden.

3.3.4. De invloed van de bodemtemperatuur in S2

Met behulp van de in 3.3.2 (blz. 42) beschreven installatie werd in 1960 de invloed van de bodemtemperatuur in S2 bestudeerd. Het volgende plantmateriaal stond hiertoe ter beschikking:

I. "Dr. Fleming" (4-6 cm); afkomstig van planten met S1-symptomen van de inoculatieproef beschreven onder 4.3.2 (blz. 81). Het aantastingscijfer was onbekend, doch waarschijnlijk hoog.

II. "A. Nobel" (8-12 cm); knollen met schubsori, afkomstig van de inoculatieproef beschreven onder 3.2.1 (blz. 31, vacuüm-inoculatie). Het gemiddelde aantastingscijfer bedroeg na het rooien in 1959 circa 2,8.

III. "A. Nobel" (10-12 cm); als II, doch besmet door dompelen. Het gemiddelde aantastingscijfer in de herfst van 1959 was circa 1,9.

Alle partijen werden tot de plantdatum (21 juli) bij 9 °C bewaard, daar werd verondersteld, dat bij deze temperatuur geen groei van het mycelium plaats zou vinden. Achteraf is het echter waarschijnlijk, dat de schimmel tijdens de tien maanden durende bewaring niet geheel in rust heeft verkeerdd (zie ook 3.3.3). Voor het planten werden de knollen kaal gepeld en gedurende een uur ontsmet in 1/3% Panosan ter voorkoming van nieuwe infecties. Per temperatuur werden van I twee bakken à 20 knollen van van II en III ieder vier bakken à acht knollen ingezet bij een plantdiepte van tien centimeter. Direct na het planten werd een hoeveelheid mengmeststof 12-10-18 toegediend, equivalent aan 10 kg per are. In deze proef werd regelmatig naar behoefte water toegediend. Van de aanvang af werden de volgende bodemtemperaturen gehandhaafd: 12, 16, 20, 24, 28 en 32 °C.

De zeer snelle opkomst van de planten bij 20, 24 en 28 °C werd al spoedig gevolgd door die bij 16 en 32 °C, terwijl de planten bij 12 °C zeer traag opkwamen. Hierbij deden zich al direct grote verschillen voor. Bij 24 °C en hoger groeiden de planten kaarsrecht op, zonder enige afwijking te vertonen. Bij 20, 16 en naderhand ook bij 12 °C gaven de meeste planten, zodra ze boven de grond kwamen, het typische beeld te zien van een zware aantasting uit knollen met hoog aantastingscijfer: geknikte, scheef gegroeide exemplaren, met de ten gevolge van sorusvorming aanvankelijk witachtig doorschemerende, later donker verkleurende strepen. Na enkele weken vertoonden de zwaar aangetaste planten in grond van 20 °C reeds de eerste afstervingsverschijnselen, op de voet gevolgd door die in grond van 16 °C. Bij een bodemtemperatuur van 12 °C was het ziekteproces sterk vertraagd (fig. 14A, B en C).

Tot het beëindigen van de proef in de eerste week van november werden aan planten in de bakken bij 24 °C en hoger geen brandsymptomen waargenomen. Op dat tijdstip werden alle planten gerooid en op de gebruikelijke wijze macroscopisch en, voor zover nodig, microscopisch onderzocht. De groei van de gladiolen kon uitsluitend worden beoordeeld bij de drie hoogste temperaturen, aangezien nagenoeg alle planten in de overige series waren afgestorven. Opvallend was, dat bij 24 °C goed ontwikkelde knollen met gesloten schubben en veel kralen waren gevormd. Bij 28 en 32 °C daarentegen waren in overeenstemming met de resultaten in 1959 (3.3.2, blz. 42 e.v.) vrijwel geen kralen aanwezig, terwijl bovendien de knolschubben dikwijls waren gescheurd, alsof de bases van de bladscheden de groei van de knol niet hadden kunnen bijhouden.

Bij de drie hoogste temperaturen werden ook ondergronds geen symptomen gevonden, met uitzondering van een tweetal planten bij 24 °C, waar op de bladscheden juist aan het grondoppervlak enkele speldepunt-grote sori voorkwamen. In dit verband is het nog interessant te vermelden, dat in aangetaste spruiten bij 12 en 16 °C sorusvorming in het knolvlies was opgetreden, hoewel dit vooral bij 12 °C in veel mindere mate het geval was dan bij 20 °C (fig. 14). In S1 (3.3.2, blz. 45 e.v.) werd dit verschijnsel uitsluitend bij de laatstgenoemde temperatuur waargenomen.

Alle goed ontwikkelde knollen van spruiten zonder S2-symptomen werden inclusief de moederknol microscopisch (S.M.) onderzocht. In tabel 13, waar de resultaten zijn samengevat, is onderscheid gemaakt tussen die gevallen, waarbij het mycelium uitsluitend in de oude knol werd teruggevonden en die, waar het bovendien tot in de jonge knol was doorgedrongen. Het meest verrassende was wel, dat de schimmel bij 24 °C in vrijwel alle gevallen bovenin de jonge knollen aanwezig bleek te zijn. De stolonen van deze planten, die afzonderlijk werden onderzocht, bleken ook volop mycelium te bevatten. Het merkwaardige verschijnsel viel dus waar te nemen, dat de brandziekte van gladiolen zich bij een bodemtemperatuur van 24 °C latent kon handhaven, zonder de groei van de waardplant merkbaar te beïnvloeden. Mycelium dat zich bij het planten in het vegetatiepunt bevond, kon bij deze temperatuur de zeer snelle groei van de bladachtige delen blijkbaar niet volgen, doch slaagde er wel in gelijke tred te houden met de zich langzaam ontwikkelende knol en de door deze gevormde stolonen.

Bij 28 en 32 °C was echter ook deze mogelijkheid uitgesloten. De parasiet kon hier niet in de jonge weefsels binnendringen. Bij microscopisch onderzoek

TABEL 13. De invloed van de bodemtemperatuur in S2.

The effect of soil temperature in S2. Date of planting: 21st July, date of lifting: 1st November.

Plant material:

I: 'Dr. Fleming' (4-6 cm); rate of infection unknown, but probably high; twice 20 corms at each temperature.

II and III: 'A. Nobel' (8-12 and 10-12 cm respect.); mean rate of infection before nine months' storage at 9°C: 2.8 and 1.9; 4 times 8 corms of both lots at each temperature.

Partij Lot	Bodemtemperatuur Soil temperature	Totaal aantal spruiten Total number of sprouts	Aantal S2-spruiten Number of S2-sprouts	Microscopisch onderzoek (S.M.) na het rooien Microscopical examination (S.M.) after lifting				
				Onderzocht aantal jonge knollen Number of young corms examined	Mycel. uitsluitend in oude knol Mycel. in old corm only		Mycel. ook in jonge knol Mycel. also in young corm	
					Aantal Number	Gem. aantastingscijfer oude knollen Mean rate of infection of the old corms	Aantal Number	Gem. aantastingscijfer jonge knollen Mean rate of infection of the young corms
I	12°C	45	42	2	0	—	1	1
	16°C	41	40	1	1	4	0	—
	20°C	55	54	1	1	4	0	—
	24°C	47	0	28	0	—	27	3,6
	28°C	32	0	25	24	4,0	0	—
	32°C	17 ¹	0	11	10	4,0	0	—
II	12°C	75	71	4	4	3,8	0	—
	16°C	62	61	1	0	—	1	4
	20°C	73	71	2	0	—	1	2
	24°C	70	0 ²	50	0	—	50	3,8
	28°C	48	0	43	42	4,0	0	—
	32°C	39	0	36	35	4,0	0	—
III	12°C	42	33	8	5	3,4	3	2,7
	16°C	45	36	9	6	3,0	2	1,5
	20°C	57	49	8 ³	2	4,0	6	2,7
	24°C	45	0	32	3	4,0	29	3,3
	28°C	36	0	31	31	3,7	0	—
	32°C	26	0	24	24	3,5	0	—

¹ Slechts 20 knollen geplant/Only 20 corms planted.

² Twee planten met enkele speldepunt-grote sori vlak boven de grond.
Two plants with a few pin-point sori just above soil.

³ Waaronder drie planten met sori in ondergrondse delen.
Three plants with sori in underground parts.

maakte het mycelium een gedegenereerde indruk, op dezelfde wijze als ook na een warmwaterbehandeling het geval is (zie 4.2.1, blz. 68).

Daar blijktbaar het gemiddelde aantastingscijfer van de zieke knollen in partij III bij het planten hoger is geweest dan was verondersteld, gaf deze proef geen duidelijke lijn te zien wat betreft het optreden van S2U bij lagere temperaturen. Bij 20 °C werden drie planten gevonden met macroscopische S2U-symptomen. De microscopische waarnemingen wezen uit, dat het mycelium bij deze temperatuur vaker was doorgegroeid tot in de jonge knol, waardoor minder latente infecties verloren gingen dan bij 12 en 16 °C het geval was.

3.4. DE INVLOED VAN DE VERSCHILLENDE STADIA VAN DE ZIEKTE OP DE GROEI VAN DE GLADIOOL

Invloed van S1 op de groei van de gladiool

In verreweg de meeste gevallen, waarbij infectie in S1 optrad, werd geen opvallende beïnvloeding van de groei van de waardplant waargenomen. De belangrijkste uitzondering op deze regel vormde de hiervoor besproken inoculatieproef met "Dr. Fleming" en "A. Nobel" (3.2.1, blz. 31 e.v.).

Dank zij de in 1959 bijzonder gunstige omstandigheden voor het optreden van infectie werden toen in de laatste maanden van het groeiseizoen, vooral bij "Dr. Fleming" na vacuüm-inoculatie, zeer veel planten gevonden waarvan de bovengrondse delen sterk waren aangetast. In deze gevallen groeiden de jonge knollen niet verder. Ook werd uit de bodemtemperatuurproef met in vacuüm geïnoculeerde knollen (3.3.2, blz. 43 e.v.) de aanwijzing verkregen, dat de vorming van kralen in S1 kan worden gehinderd.

In 1960 werd een proef opgezet om deze vragen nader te bestuderen. Knollen van "Dr. Fleming" (6-8 cm) en "Firmament" (3,5-4 cm) werden op de gebruikelijke wijze in vacuüm geïnoculeerd (in 1% methylcellulose met 400 sporen/mm³) of met sporenpoeder bestoven (respectievelijk circa $21 \cdot 10^6$ en $13 \cdot 10^6$ sporen per partijtje van 100 knollen), terwijl als controles onbehandelde en met 1% methylcellulose behandelde knollen werden opgenomen. Op 14 april werden van iedere behandeling 4 maal 100 knollen in een blokkenschema uitgeplant.

Tijdens de groei werden bovengronds geen zichtbare S1-symptomen waargenomen¹. Na de oogst werden van ieder nummer 25 knollen macro- en microscopisch op de aanwezigheid van brand onderzocht; bovendien werd het gewicht van de geoogste kralen en knollen bepaald. Uit het overzicht van de resultaten, gegeven in tabel 14, blijkt, dat ook in dit geval weer de hevigste infectie plaats vond na vacuüm-inoculatie. De cijfers over de groei van de gladiool zijn veel sterker beïnvloed door de in de noot genoemde afwijkingen, dan door de brandinfectie en zijn daarom weinig betrouwbaar. Zij geven echter wel duidelijke aanwijzingen voor de juistheid van het vermoeden, dat de groei van de waardplant in S1 onder Nederlandse omstandigheden zelden ernstig wordt belemmerd.

Mate van aantasting van gladioleknollen in S1 in afhankelijkheid van de grootte

Het bovengestelde probleem werd ook nog op andere wijze benaderd, door knollen van natuurlijk besmette kralen van "Van Tienhoven" van verschillende grootteklassen na de oogst microscopisch (S.M.) te onderzoeken. Tabel 15 geeft een overzicht van het resultaat, waaruit blijkt dat er geen sprake was van een hoger percentage aantasting bij de kleine knollen, zoals verwacht kon worden, indien de groei door brandinfectie was gehinderd.

Interessant is het verloop van het gemiddelde aantastingscijfer, waaruit

¹ Te velde werden in deze proef, vooral bij "Dr. Fleming", pleksgewijs bepaalde afwijkingen waargenomen, die, onafhankelijk van de gegeven behandelingen, ook in naburige gladioleproeven op deze tuin voorkwamen. In ernstige gevallen trad een karteling aan de bladranden op, terwijl bij veel planten de groei werd vertraagd of soms helemaal stilstond. Kralen werden door de zwaar aangetaste exemplaren nauwelijks gevormd.

TABEL 14. Invloed van de infectie op de groei van gladiolen in S1, wanneer geen bovengronds zichtbare symptomen optreden. Gemiddelden van vier herhalingen (mc. = 1% methylcellulose). De aantasting door brand werd na het rooien bepaald aan 4 maal 25 knollen per behandeling.

Effect of the infection on the growth of gladioli ('Dr. Fleming' 6-8 cm and 'Firmament' 3.5-4 cm) in S1 when no sori in the leaves are formed. Means of four replicates, 4 times 100 corms per treatment. After lifting, smut infection was determined on 4 times 25 corms per treatment.

Methods of inoculation:

Dusted: corms dusted with spores.

Vacuum-inoculated: in suspension of 400 spores/mm³ in 1% methylcellulose.

Controls: untreated and vacuum-treated in 1% methylcellulose (= vac. in mc.).

Behandeling <i>Treatment</i>	Macroscop. sympt.		Microscop. sympt.		Gemiddeld gewicht (g) <i>Mean weight (g)</i>		
	% sori in knolschubb. % sori in corm scales	% sori in knolvl. % sori in corm flesh	% knollen in S1 % corms in S1	Gemiddeld aantastingscijfer <i>Mean rate of infection</i>	per knol <i>per corm</i>	van de kralen per knol <i>of the cormels per corm</i>	
						kralen 1-2 cm <i>cormels 1-2 cm</i>	kralen > 2 cm <i>cormels > 2 cm</i>
"Dr. Fleming"							
Bepoederen	1	0	7	1,8	26,0	0,65	1,77
Dusted							
Vac.-inocul.	8	0	42	2,0	24,4	0,77	1,82
Onbehandeld	0	0	0	—	26,4	0,85	1,64
Untreated							
Vac. in mc.	0	0	0	—	23,5	0,61	1,38
"Firmament"							
Bepoederen	0	0	15	1,8	12,0	1,09	0,88
Dusted							
Vac.-inocul.	24	40	89	3,5	10,4 ¹	0,90	0,89
Onbehandeld	0	0	0	—	11,4	1,01	0,77
Untreated							
Vac. in mc.	0	0	0	—	11,9	1,03	0,81

¹ Bij weglating van een zeer slecht gegroeid nummer gemiddeld 11,2.

Mean 11.2 with one badly grown lot omitted.

TABEL 15. Verdeling van de microscopisch waargenomen mate van aantasting in S1 over knollen van verschillende grootte van een partij.

Microscopically examined infections in S1, in relation to the size of the corms.

Grootte van de knollen <i>Size of the corms</i>	Aantal onderzocht <i>Number examined</i>	Met mycelium <i>With mycelium</i>	Gemiddeld aantastingscijfer <i>Mean rate of infection</i>
2-3 cm	100	11	3,5
3-4 cm	100	15	3,1
4-5 cm	100	18	2,4
5-6 cm	100	12	2,0
6-7 cm	95	16	2,0

blijkt dat de kleine knollen grotendeels geheel door de parasiet waren doorwoekerd, terwijl hij in de grote knollen nog niet veel verder was gekomen dan de basale delen. Dit past in het beeld, dat van de wijze van infectie is gegeven. Als de schimmel het vlees van knollen van verschillende grootte op eenzelfde tijdstip binnendringt, zal hij, bij gelijke groeisnelheid, in kleine knollen eerder

tot in de top doorgedrongen zijn. In enkele andere proeven werden de conclusies bevestigd, dat het percentage infectie onafhankelijk is van de knolgrootte, terwijl het aantastingscijfer afneemt naarmate de knollen sterker zijn gegroeid.

Invloed van S2 op de groei van de gladiool

Zoals eerder is uiteengezet, wordt de groei van de gladioleplant in S2 ernstiger belemmerd, naarmate het aantastingscijfer bij het planten hoger is en de symptomen dientengevolge sneller optreden. Daartegenover doen zich gevallen voor waarbij latente infecties geheel verloren gaan of zich als S2U (al of niet macroscopisch zichtbaar) openbaren. Bovendien is gebleken, dat bij een bodemtemperatuur van 24 °C de schimmel in knollen van het aantastings-type 4 er niet in slaagt door te dringen in de bovengrondse delen, doch wel latent van oude op jonge knollen overgaat (3.3.4, blz. 49 e.v.).

Alhoewel hierover geen cijfers ter beschikking staan, is uit de proeven nooit de indruk verkregen, dat de groei van de gladiool ernstig wordt geschaad wanneer de parasiet uitsluitend in de ondergrondse delen aanwezig is.

Samenvattend kan dus de conclusie zijn, dat de brandschimmel van gladiolen noch in S1, noch in S2 en S2U, de groei van de waardplant duidelijk beïnvloedt, zolang hij niet tot in de bovengrondse bladachtige delen weet door te dringen. Slaagt hij daarin wel, dan zijn de gevolgen ernstiger, naarmate dit in een vroeger stadium van de groei van de gladioleplant plaats vindt.

3.5. DE VATBAARHEID VAN GLADIOLESOORTEN EN -CULTIVARS

In de praktijk kan men de brandziekte van gladiolen vooral vinden in de vroegbloeiende cultivars uit de groepen *G. × nanus* en *G. × colvillei*. Uit tuinbouwkundig oogpunt is het belang van deze groepen gering vergeleken met dat van de grootbloemige gladiolen, waar brand slechts in enkele cultivars regelmatig wordt gevonden en dan in de meeste gevallen in een zeer laag percentage (minder dan 1%).

Teneinde gegevens te verzamelen over de vatbaarheid van het grootbloemige sortiment, werden in 1958 van 57 van de belangrijkste in cultuur zijnde rassen ongeveer 150 knollen (2-4 of 4-6 cm) in vacuüm geïnoculeerd in een suspensie met 300 sporen/mm³ in 1% methylcellulose. Om verspreiding van andere ziekten van het ene partijtje naar het andere tijdens de inoculatie zoveel mogelijk te voorkomen, werden de knollen van te voren gedurende een half uur ontsmet in een oplossing van Panosan (1½%) en daarna 2½ uur gespoeld in stromend water. Op 24 april werden de aldus behandelde knollen geplant in een onverwarmde kas. Om te controleren of de omstandigheden overal even gunstig waren voor het optreden van infectie, werden van de vatbare cultivar "Dr. Fleming" vier op deze wijze besmette partijtjes op verschillende plaatsen in de kas in het plantschema opgenomen.

Na het rooien op 10 oktober werden de knollen onderzocht op de aanwezigheid van sori in de knolschubben, terwijl van ieder ras 25 knollen zonder macroscopische symptomen microscopisch (S.M.) werden gecontroleerd. De resterende knollen zonder schubsori werden in 1959 weer uitgeplant, waarna tijdens de groei het aantal S2-planten werd bepaald. Van de 57 cultivars werd slechts bij 29 aantasting door brand waargenomen.

In tabel 16 zijn alle genoemde waarnemingen verenigd in het totale percentage infectie, dat in 1958 was opgetreden. Dit werd vastgesteld aan ongeveer 125 knollen per cultivar. Bovendien zijn in deze tabel de cultivars van de vroegbloeiende en grootbloemige groepen vermeld, waarin de Bloembollenkeuringsdienst bij de keuring te velde brandaantasting heeft waargenomen. Verder is een aantal *Gladiolus* species opgenomen, die volgens schriftelijke mededeling van Dr. WHEELER van het U.S. Department of Agriculture vatbaar voor brand zouden zijn. Enkele in dit schrijven genoemde cultivars komen ook voor in de opgave van de Bloembollenkeuringsdienst, met uitzondering van "Joost van den Vondel" uit de groep Herautgladiolen, waarin – voor zover bekend – in Nederland nooit brand werd geconstateerd.

De aantasting van enkele zeer vatbare cultivars was in de inoculatieproef betrekkelijk laag. Dit kan misschien worden verklaard door aan te nemen, dat het kwikbevattende ontsmettingsmiddel door 2½ uur spoelen in water onvoldoende verwijderd was. Daar bovendien het percentage infectie bij de verschillende partijtjes van "Dr. Fleming" varieerde van 2,5 tot 18,7 moet worden geconcludeerd, dat in 1958 de omstandigheden in de kas niet homogeen zijn geweest. De in de tabel vermelde percentages geven dus geen betrouwbare inlichtingen over de tussen de cultivars bestaande verschillen in vatbaarheid, terwijl ook het niet optreden van infectie geen zekerheid biedt, dat het desbetreffende ras onvatbaar is. De cultivars waarin geen brand werd geconstateerd zijn daarom ook niet opgenomen, met uitzondering van die welke door de Bloembollenkeuringsdienst op grond van veldwaarnemingen als wel vatbaar werden opgegeven.

Het volgende staatje geeft een overzicht van de herkomst van de inlichtingen omtrent de vatbaarheid van de 55 in de tabel genoemde grootbloemige gladiolen (+ betekent vatbaar).

aantal cultivars	opgave Bloembollenkeuringsdienst	inoculatieproef
13	+	+
19	+	niet opgenomen
16	niet vermeld	+
7	+	geen infectie
55	39 cultivars vatbaar	29 cultivars vatbaar

In zeven gevallen is de ziekte te velde geconstateerd, hoewel in de inoculatieproeven geen infectie werd waargenomen. De oorzaak kan enerzijds worden gezocht in de blijkbaar minder gunstige omstandigheden in de kas waar de besmette knollen werden uitgeplant, waardoor weinig vatbare rassen een kans kregen te ontsnappen. Anderzijds werd in deze zeven cultivars dikwijls maar een- of tweemaal brand aangetoond, meestal slechts in enkele planten, zodat het niet geheel zeker is, dat ze alle inderdaad vatbaar zijn.

In de kleurbeschrijvingslijsten die jaarlijks vanwege de Nederlandse Gladiolus Vereniging worden uitgegeven, worden ongeveer 700 in cultuur zijnde grootbloemige cultivars genoemd. Op grond van het feit dat van de 57 cultivars, die in de inoculatieproef waren opgenomen, er 29 geïnfecteerd werden,

TABEL 16. De vatbaarheid voor brand van *Gladiolus* species en van cultivars uit de vroegbloeiende en grootbloemige groepen.

Gladiolus species and cultivars in the early flowering and the large-flowered groups susceptible to smut-infection.

×: vatbaar volgens schriftelijke mededeling van Dr. WHEELER (U.S. Department of Agriculture).

susceptible according to Dr. WHEELER, U.S. Department of Agriculture.

+: vatbaar volgens opgave van de Bloembollenkeuringsdienst.

susceptible as shown by field inspection of the Bulb Inspection Service.

(): percentage infectie na vacuüm-inoculatie.

percentage infection after vacuum-inoculation.

GLADIOLUS SPECIES

<i>G. byzantinus</i> Miller	×
<i>G. communis</i> L.	×
<i>G. cuspidatus</i> Jacq.	×
<i>G. grandis</i> Thunb.	×
<i>G. imbricatus</i> L.	×
<i>G. palustris</i> Gaudin	×
<i>G. segetum</i> Ker-Gawl.	×
<i>G. triphyllus</i> Sibthorp	×
<i>G. tristis</i> L.	×

VROEGBLOEIENDE CULTIVARS/EARLY FLOWERING CULTIVARS

Albus en Albus The Bride	+	×
Charm en Charm Rose	+	×
Cinderella	+	
Edith Cadel	+	
Floriade	+	
Joost van den Vondel		×
Nymph	+	×
Peach Blossom	+	×
Queen Wilhelmina	+	×
Robinetta	+	
Rosa Munda	+	
Rose Mary	+	
Spitfire	+	×
Succes	+	

GROOTBLOEMIGE CULTIVARS/LARGE-FLOWERED CULTIVARS

Acca Laurentia	+	(1,0)
Alfred Nobel	+	(15,5)
Allard Pierson	+	(13,3)
Arc de Triomphe	+	
Atlantic		(3,8)
Benares	+	(0)
Benjamin Britten	+	
Bloemfontein	+	(6,7)
Doctor Fleming	+	(13,4)
Don Camillo	+	
Elan	+	(5,2)
Firmament	+	(10,9)
Flowerdream		(7,5)
Friendship		(3,4)
Goal		(8,8)
Gregor Mendel		(4,0)
Gustav Mahler	+	(0)
Han van Meegeren	+	(10,1)
Hopman's Glory	+	(0)
Johann Strauss	+	(0)
Jo Wagenaar		(0,8)
Juniklokken		(1,6)
Lady Boreel	+	
Lavender Dream		(2,7)
Lavender Giant	+	
Lilac Time	+	
Lovely Melody	+	
Lustige Witwe		(6,7)

Mabel Violet	+	(0,8)
Mansoor		(0,9)
Mary Housley	+	
Memorial Day		(0,8)
Modern Times	+	(3,2)
New York	+	
Orange Queen	+	
Pactolus		(1,0)
Pandion	+	
Pastel Beauty	+	
Patriot	+	
Paul Rubens		(1,6)
Prinses Beatrix	+	(0)
Queen Elizabeth	+	
Red Fox	+	
Red Signal	+	(0)
Rosa van Lima	+	(15,0)
Salman's Sensation		(12,5)
Scarlet Leader		(1,1)
Skymaster	+	
Sneeuwprinses	+	(0)
Sunny Boy	+	(2,5)
Vanguard		(2,4)
Van Tienhoven	+	
Victory Day	+	
Vink's Glory	+	
Zigeunerliebe	+	(16,4)

mag worden aangenomen dat circa 50% van de rassen in de genoemde groep meer of minder vatbaar is voor brand. Daar de ziekte tot nu toe slechts in 39 cultivars werd gevonden - en dan vrijwel altijd nog slechts in zeer lichte mate - bewijst wel dat de parasiet niet in staat is om zich snel uit te breiden. Van een werkelijke bedreiging van de gladiolencultuur door deze parasiet is dan ook geen sprake.

3.6. DE BRANDSCHIMMEL

3.6.1. *De infectie en het mycelium in de waardplant*

Sporekieming

In de loop van het onderzoek werden verschillende mislukte pogingen gedaan om brandsporen in vitro tot kieming te brengen, in de hoop op deze wijze meer kennis te verzamelen over de wijze waarop dit essentiële deel van de levenscyclus van de parasiet verloopt en over de omstandigheden die daarop van invloed zijn. Bovendien zou dan waarschijnlijk de mogelijkheid bestaan de saprofytische stadia van de schimmel in voedingsmedia te kweken.

AINSWORTH (1949) vermeldt vergeefse pogingen, de sporen van *Urocystis gladiolicola* te doen kiemen. Daar ook andere brandschimmels in dit opzicht soms moeilijkheden geven, hebben veel onderzoekers gezocht naar methoden om dit proces in vitro sneller en vollediger te laten verlopen (zie voor een overzicht FISCHER & HOLTON, 1957).

In eigen proeven werden sporen van de gladiolibrandschimmel gebracht in vaste en vloeibare media, variërend van gedestilleerd water en grondextract tot voedingsbodems met een hoog gehalte aan koolhydraten en eiwitten, bij verschillende temperaturen en blootgesteld aan daglicht of duisternis. In de proeven werden pas gevormde sporen gebruikt en sporen die een of meer jaren oud waren.

Om de eventuele invloed van een 38-tal anorganische en organische stoffen (waaronder boterzuur en benzaldehyde, die bij *Urocystis tritici* en *U. occulta* sterk stimulerend werken) na te gaan, werden smalle strookjes filtreerpapier gedompeld in de desbetreffende vloeistoffen of in oplossingen van deze verbindingen. In steriele petrischalen met water of grondextractagar werden brandsporen gestoven, waarna een doordrenkt papiertje midden in de schaal werd gelegd. In een andere proefserie werden de sporen in een waterige suspensie of op wateragar in de loop van een aantal dagen een of meer malen bevroren en weer ontdooit; in dezelfde periode werden andere suspensies een- tot driemaal gedurende een uur tot 40 °C verwarmd. Verder werden droge en bevochtigde sporen aan verschillende doses ultraviolet licht blootgesteld. De aldus met fysische middelen behandelde sporen werden op wateragar en grondextractagar gebracht.

In de herfst van 1960 werden stolonen verzameld van groeiende planten van een vatbaar cultivar. Deze werden op drie manieren gesteriliseerd, namelijk in een autoclaaf (20 min. bij 130 °C), door gassterilisatie (1 ml propyleen-oxyde per liter inhoud, gedurende 26 uur) en door ontsmetting in een oplossing van een fenolverbinding, gevolgd door spoelen in steriel water. Op deze wijzen behandelde weefselstukjes werden in een sporensuspensie gedompeld

en uitgelegd op wateragar of in een vochtige kamer in een hangende druppel water.

In geen der hier aangeduide proeven werd ook maar enige aanwijzing verkregen, dat kieming van de sporen optrad. Blijkbaar stellen deze een of meer bijzondere eisen aan het milieu, waaraan in geen enkel geval werd voldaan.

In 3.2.2 (blz. 33 e.v.) werd beschreven hoe onder gunstige omstandigheden reeds enkele weken nadat een wattenprop gedrenkt in een brandsporensuspensie met de stolonon van groeiende gladiolaplanten in contact werd gebracht, de parasiet volop in de vatbare delen kon worden aangetoond. Bij de controles op de verschillende data (zie tabel 10) werden de restanten van de reeds ten dele verteerde wattenproppen onderzocht op de aanwezigheid van kiemende sporen. Zelfs onder deze voor infectie gunstige omstandigheden, had slechts een gering aantal sporen kiembuizen gevormd (minder dan 1%). In die gevallen waren lange, tere hyfen uitgelopen. De indruk werd verkregen dat deze soms met die uit andere sporen waren verbonden. Mede door de aanwezigheid van andere schimmels en verterende vezels van de wattenproppen was het onmogelijk het kiemingsproces te reconstrueren.

Infectie en groei van de brandschimmel in gladioleweefsel

Door onderzoek van laterale en dwarscoupes door stolonon met jonge infecties (3.2.2) kon het binnendringen van de parasiet in de waardplant nader worden bestudeerd. Enkele malen werden buiten op de epidermis lange infectiehyfen waargenomen, die zich op een of twee plaatsen door de cuticula boorden en via de middenlamellen tussen twee opperhuidcellen in de intercellulair van het onderliggende weefsel groeiden (fig. 15A). Daar ontstonden grillig gevormde, vertakte hyfen (fig. 15B en C), die reeds spoedig naar alle zijden, doch vooral in de lengterichting van de stolonon lange, dunne schimmeldraden deden uitgroeien. Op dwarsdoorsnede bleek, dat zij de epidermale laag vrijwel niet binnendrongen. In het onderliggende parenchymatische weefsel ontstonden echter dichte massa's van intercellulair mycelium (fig. 15D), aanvankelijk vrijwel zonder haustoriën, die voor de latere stadia – vooral in het knolvlees – zo karakteristiek zijn. De diameter van de hyfen in de stolonon varieerde van 1,6 tot 2,8 μ (gemiddeld 2,1 μ ; $n = 20$).

Bij microscopisch onderzoek op 16 augustus van de "inoculatie 3/8" (zie tabel 10) bleken alle zeer jonge infecties die konden worden gevonden binnen te dringen via de stomata. Bij vroegere controles was deze wijze van binnendringen nooit waargenomen. Hoewel de infecties op de genoemde datum nog te jong waren om met zekerheid als afkomstig van brandsporen te worden herkend, maakt het verdere verloop van de aantasting bij de op hetzelfde tijdstip geïnoculeerde planten het zeer waarschijnlijk, dat inderdaad sprake was van *Urocystis*-mycelium. Indien dit juist is, moet de conclusie worden getrokken, dat in een bepaald stadium of onder bepaalde omstandigheden de infectie (overwegend?) direct via de cuticula plaats vindt, terwijl de parasiet in andere gevallen uitsluitend via de stomata kan binnendringen. Het ligt voor de hand in dit verband te denken aan de toestand van de stolonon, die aanvankelijk zacht en sappig zijn, doch tegen het einde van het seizoen stug en hard worden. Infectie via de cuticula zal in het laatstgenoemde geval vermoedelijk minder gemakkelijk tot stand kunnen komen.

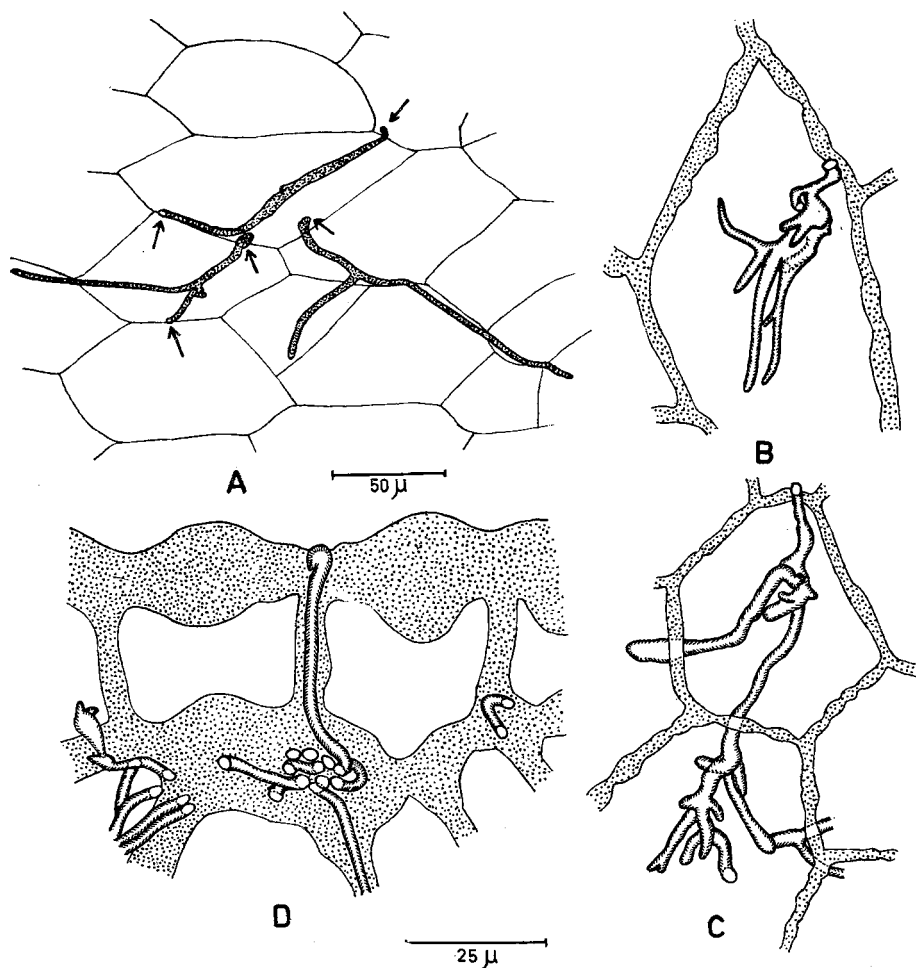


FIG. 15. De infectie en de groei van de brandschimmel in de stolonen.

A: infectiehyfen op de epidermis; pijlen: plaatsen van binnendringen.

B en C: grillig vertakte hyfen in de sub-epidermale laag, direct na de infectie.

D: punt van binnendringen via de cuticula en intercellulaire groei.

Infection and growth of the smut fungus in the stolons.

A: infection hyphae on the epidermis; arrows: points of entry.

B and C: young, strongly branched hyphae in the sub-epidermal layer, directly after infection.

D: point of entry and intercellular growth of the fungus.

Uit de stolonen of eventueel de basale delen van de schedebladen drong de parasiet binnen in de knollen. Naarmate dit in een vroeger stadium gebeurde, kon het mycelium gemakkelijker alle delen van dit orgaan doorgroeien, dus ook het parenchymatische schorsweefsel. Als de knol reeds grotendeels was gevormd, wanneer de schimmel de basale delen bereikte, bleef de groei hoofdzakelijk beperkt tot het vaatbundelweefsel van de stele en tot de bladspoor-

bundels. Tijdens de bewaring in de wintermaanden (S1B) vond eventuele groei uitsluitend plaats in de centrale cylinder. Opvallend was, dat de schimmel slechts sporadisch in de houtvaten werd waargenomen; bij hoge uitzondering werden hierin haustoriën aangetroffen.

In S2 werd het intercellulaire mycelium in dichte massa's in de moederknollen gevonden. De hyfen waren dikker dan die in de stolonen; de diameter varieerde bij een 20-tal bepalingen in het knolweefsel van "Dr. Fleming" van 2,0 tot 4,7 μ (gemiddeld 3,0 μ). De cellen van de waardplant werden door de parasiet omgroeid, zonder dat de eerstgenoemde hier blijkbaar veel hinder van ondervond. De schimmeldraden waren sterk gesepteerd, op veel plaatsen vertakt en ze vormden soms opvallende uitstulpingen. Het meest in het oog lopend waren wel de merkwaardige, grillig gedraaide en veelal vertakte haustoriën, die in de cellen van de gladiool binnendrongen (fig. 16A).

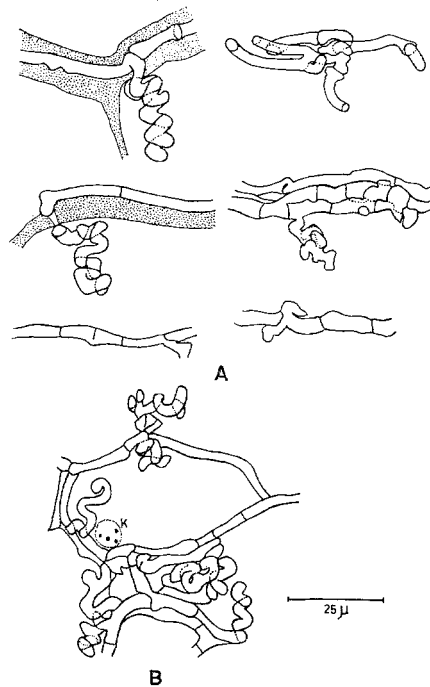


FIG. 16. Het mycelium van de brandschimmel in het knolweefsel.

A: intercellulair mycelium met haustoriën in de oude knollen van S2-planten.

B: stromatische myceliumgroei in jong knolweefsel van een S2-plant, kort voor de sporenvorming. K: kern in gladiolecel.

Mycelium of the smut fungus in corm tissue.

A: intercellular mycelium with haustoria in the old corm of an S2-plant.

B: stromatic mycelium growth in the tissue of the young corm of an S2-plant, shortly before spore formation. K: nucleus of the host plant.

In het weefsel van de jonge knollen van planten in S2 was de concentratie van de schimmel meestal nog veel sterker; om de cellen van de waardplant werden een tot twee hyfen dikke mycelium-lagen gevonden (fig. 16B). De diameter van deze schimmeldraden was iets kleiner dan die in het oude-knol-

weefsel; deze varieerde in dezelfde plant als waarvan hierboven de waarnemingen in de oude knol werden vermeld van 1,9 tot 3,9 μ (gemiddeld 2,6 μ ; $n = 20$).

De parasiet drong in het algemeen vanuit het knolweefsel in het vegetatiepunt en de blaadjes van de jonge knop binnen (fig. 17A en B). Eerst wanneer hij hierin slaagde en door de groei van het blad mee omhoog werd gevoerd, begon het agressieve stadium van de ziekte. In de jonge, groeiende spruiten bleef de schimmel nooit latent aanwezig, doch hij ging altijd over tot vorming van sporen. Op deze regel werd een uitzondering waargenomen, namelijk wanneer knollen met mycelium in de vegetatiepunten werden uitgeplant bij een bodemtemperatuur van 24 °C of hoger (3.3.4, blz. 49 e.v.).

In de intercellularen van het bladweefsel vormde de parasiet aanvankelijk dichte, stromatische massa's, welke uitwendig als witachtige strepen zichtbaar werden. Haustoriën waren in deze delen minder talrijk en veel kleiner dan in de knollen. Spoedig werden de cellen van het mesofyl samengedrukt door de voortschrijdende groei van de schimmel, terwijl tegelijkertijd de vorming van sporen begon. Reeds na enkele dagen werden zo grote, in de lengterichting van het blad verlopende holten gevormd, die geheel met brandsporen waren gevuld (fig. 17C).

Bij enkele cultivars werd het bladweefsel in minder sterke mate gedesorganiseerd. Zo werd dikwijls waargenomen, dat de strepen in de bladeren van "Firmament" minder opvallend en lichter van kleur waren dan bij de meeste andere rassen het geval was. Ook stierven de planten minder snel af. Na openbreken van de sori kwam een grijsbruine sporenmassa aan het licht. Bij microscopisch onderzoek bleek, dat de brandsporen bij deze planten uitsluitend in de intercellulaire holten werden gevormd (fig. 17D). De parasiet verdrukte de cellen van de waardplant niet, waardoor deze blijkbaar minder in hun functies werden gestoord. De massa in de sori bestond dus uit een mengsel van sporen en cellen van het bladweefsel, hetgeen de lichtere kleur verklaarde.

Een afbeelding van de sporen van *U. gladiolicola* is in fig. 18 weergegeven.

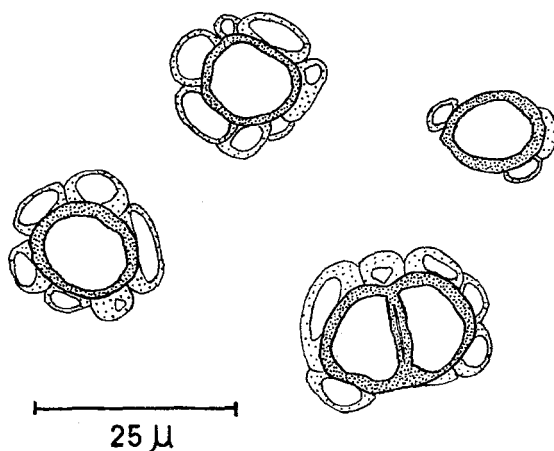


FIG. 18. Sporen van *Urocystis gladiolicola*.
Spores of *Urocystis gladiolicola*.

3.6.2. De levensduur van de brandsporen

In 3.1.2 (blz. 17 e.v.) is aangetoond, dat brandsporen in de grond, in het groeiseizoen volgende op dat waarin ze zijn gevormd, hun infectievermogen niet hebben verloren. In een van de inoculatieproeven werd geen infectie verkregen met brandsporen die waren verzameld uit gedroogd, aangetast plantmateriaal, dat drie jaar lang bij kamertemperatuur was bewaard. Planten uit knollen, die op hetzelfde tijdstip waren geïnoculeerd met een jaar oude sporen, werden wel ziek. Hieruit mag worden geconcludeerd, dat de sporen in droge toestand bij 15-20 °C betrekkelijk snel hun vitaliteit verliezen.

Met het oog op eventueel te nemen cultuurmaatregelen was het gewenst nader onderzoek te verrichten naar de levensduur van brandsporen in de grond. In de herfst van 1958 werden grote hoeveelheden sporen, die in de voorafgaande zomer waren verzameld, homogeen gemengd met zandgrond uit Lisse en met zavelgrond uit West-Friesland. De op deze wijze besmette aarde werd in bloempotten gedaan en in het open veld ingegraven. In de daaropvolgende jaren werd telkens een deel van deze grond gebruikt om daarin knolletjes of kralen van een vatbare cultivar te planten. In de loop van het groeiseizoen werden de jonge knollen onderzocht op het voorkomen van macro- en microscopische S1-symptomen.

In 1959, 1960 en 1961 werd steeds een zeer zware infectie waargenomen, waaruit de conclusie mag worden getrokken, dat sporen van *U. gladiolicola* zowel in zavel- als zandgrond minstens drie jaar in leven kunnen blijven.

In de gladiolecultuur wordt dikwijls een vruchtwisselingscyclus gehandhaafd van vier à vijf jaar. De mogelijkheid, dat sporen afkomstig van niet uit het gewas verwijderde zieke planten in een daaropvolgende aanplant van gladiolen infecties tot stand brengen, kan op grond van de beschikbare gegevens niet worden uitgesloten. De intensieve controle die in ons land te velde op de brandziekte wordt uitgeoefend en de strenge maatregelen die worden getroffen wanneer de ziekte wordt geconstateerd, maken het echter vrijwel onmogelijk, dat infectie in besmette grond een rol van enige betekenis speelt.

4. BESTRIJDING

Na hetgeen in het voorgaande bekend is geworden omtrent het verloop van de aantasting van gladiolen door brand is het duidelijk, dat het veelal zo gemakkelijk gegeven advies "aangetaste planten zorgvuldig verwijderen en vernietigen" in dit geval slechts een betrekkelijke waarde heeft. Daar immers de beide stadia S1 en S2 meestal tegelijkertijd in een partij zullen optreden, waarbij de S1- en eventueel aanwezige S2U-symptomen in de praktijk gewoonlijk aan de waarneming ontsnappen, zullen de resultaten van een nauwgezet doorgevoerde selectie, in ieder geval op korte termijn, meestal teleurstellend zijn. Het nut van deze maatregel is voornamelijk, dat besmetting van de grond wordt voorkomen.

De drie punten, waarop de bestrijding gericht dient te zijn, springen onmiddellijk in het oog bij beschouwing van het chematische overzicht van het verloop van de ziekte in fig. 6. Ter voorkoming van S1 moeten ten eerste eventueel in de grond aanwezige sporen onwerkzaam worden gemaakt en ten tweede besmette knollen van de parasiet worden bevrijd. Daar besmetting van de grond bij de teelt van gladiolen in ons land ongetwijfeld van ondergeschikt belang is (3.6.2, blz. 62), werd aan dit aspect van de bestrijding minder aandacht geschonken. In de praktijk is de besmetting van het plantmateriaal het belangrijkste middel waardoor de ziekte zich kan handhaven. Het doden van aanhangende sporen of van sporen aanwezig in sori in de knolschubben bleek dan ook essentieel te zijn om de ziekte volledig te onderdrukken. Het derde punt, waarop de bestrijding kan worden gericht, vormt het mycelium van de parasiet in de knollen. Verschillende mogelijkheden om de schimmel in dit stadium te inactiveren werden uitvoerig onderzocht.

Daar de vroegbloeiende gladiolen anders op bepaalde bestrijdingsmethoden reageren dan de grootbloemige, zijn deze in het laatste hoofdstuk apart behandeld.

4.1. MAATREGELEN TER VOORKOMING VAN S1

4.1.1. *Grondontsmetting*

Op hetzelfde proefveld waar in 1957 het optreden van S1 bij "Dr. Fleming" werd bestudeerd (3.1.2, blz. 17) werden tegelijkertijd enkele bestrijdingsproeven uitgevoerd.

Om na te gaan in hoeverre plantgoedontsmetting afdoende bescherming zou kunnen geven tegen infectie door sporen die in de grond aanwezig zijn, werden "Dr. Fleming"-knollen (4-5 cm) vlak voor het planten ontsmet op de tegen andere gladioleziekten gebruikelijke wijze, nl. door onderdompeling in een kwikbevattende oplossing – 1% Aamersil, $\frac{1}{2}$ uur – en daaropvolgende bepoedering met thiram¹ – 5 gram van een produkt met 80% actieve stof per kg knollen. Vergelijking van de oogst van deze knollen met die uit onbehan-

¹ De bepoedering met thiram wordt geadviseerd in die gevallen waar men aantasting door droogrot (*Stromatinia gladioli*) vreest.

TABEL 17. De invloed van ontsmetting van met brandsporen besmette grond met verschillende fungiciden op het optreden van infectie. Alle middelen, met uitzondering van Brassicol en hexachloorbenzen, werden ongeveer zes weken voor het planten toegepast.

The effect of soil treatment with different fungicides on the degree of infection in contaminated soils. All products applied about six weeks before planting, except Brassicol and hexachlorobenzene.

Formaline: 40% formaldehyde; CBP 55: chloorbroompropeen; N 521: 85% 3,5-dimethyltetrahydro-1,3,5,2 H-thiadiazine-2-thion; Trapex: 20% methylisothiocyanaat in xylol; Brassicol: 20% pentachloornitrobenzeen.

Jaar-cultuur-aantal herhalingen en hoeveel- heid per nummer <i>Year-culture-replicas and number per replicate</i>	Grondbehandeling <i>Soil treatment</i>	Dosering <i>Dosage</i>	Na het rooien, gemiddeld <i>After lifting, mean</i>			Knollen zonder schubsoori, % S2-planten in het volgende groeiseizoen <i>Cornus without sori in the season, % S2-plants in the next season</i>
			aantal knollen <i>number of corns</i>	% met schubsoori % with sori in the scales	zonder schubsoori, % met mycelium (S.M.) 25 kn. per herhaling without sori in the scales, % with mycelium (S.M.) 25 corns per replicate	
1957 "Dr. Fleming", 5-6 cm 3 x 200 knollen 3 x 200 corns	onbehandeld/control	—	183	34	49	43
	formaline ¹	260 ml/m ²	180	1	5	6
	CBP 55 ¹	110 ml/m ²	184	4	7	7
	N 521 (mylone)	30 g/m ²	183	6	9	10
1958 "Dr. Fleming", 3-4 cm 3 x 200 knollen 3 x 200 corns	onbehandeld/control	—	150	0,7	16	13
	formaline ¹	215 ml/m ²	157	0,0	0	2
	formaline ²	215 ml/m ²	154	0,2	1	2
	onbehandeld/control	—	135	3,4	18,4	
1960 "Dr. Fleming" kralen/cormels 5 x 50 gram	formaline ²	290 ml/m ²	108	0,9	5,6	
	Trapex geïnjecteerd/ <i>soil-injection</i>	80 ml/m ²	148	0,0	3,2	
	hexachloorbenzeen 30% regelbehandeling ³	20 g/str.m per m. run	120	0,0	4,8	
	row-application ³ Brassicol ⁴	75 g/m ²	132	0,4	3,2	

¹ Geabsorbeerd aan vermiculiet uitgestrooid en ingefreesd/Absorbed in vermiculite, mixed with the soil by rototilling.

² Ingespoeld met veel water/Drenched with water.

³ Poeder voor het planten in de opengetrokken regel gestrooid/Powder sprinkled in the open furrow just before planting.

⁴ Uitgestrooid en ingefreesd vlak voor het planten/Mixed with the soil by rototilling just before planting.

delde partijen wees uit, dat van enige invloed van deze behandeling op het optreden van S1 nauwelijks sprake was.

In 1957, 1958 en 1960 werd grondontsmetting met verschillende fungiciden toegepast. De beide eerste jaren op natuurlijk besmet terrein, in 1960 op grond die kunstmatig was besmet door gemalen en gedroogde brandzieke planten over het veld te verspreiden en in te frezen. Formaline, N521, CBP 55 en Trapex werden omstreeks zes weken voor het planten op de in de toelichting bij tabel 17 beschreven wijze toegepast. Hexachloorbenzeen en Brassicol werden tijdens het planten aangewend. In 1957 en 1958 werden knollen, in 1960 kralen van "Dr. Fleming" gebruikt.

De groei en opbrengst van de planten was in alle drie jaren in de ontsmette objecten gelijk aan of iets beter dan die in de controles. De opgetreden infectie werd beoordeeld op grond van de macro- en microscopische symptomen na het rooien en gedeeltelijk ook door de knollen in het volgende seizoen weer uit te planten en het percentage S2-planten vast te stellen.

Het resultaat is vastgelegd in tabel 17, waaruit blijkt dat met alle middelen een goede bestrijding van brand werd verkregen.

Voorzover in de praktijk ooit behoefte mocht bestaan aan een middel om de sporen in de grond te bestrijden, is Brassicol, in verband met de betrekkelijk lage prijs en de eenvoudige toepassingswijze, het daarvoor in de eerste plaats in aanmerking komende middel. Een regelbehandeling, toegepast bij het planten, zal in dat geval de kosten nog kunnen drukken en waarschijnlijk het resultaat nog verbeteren.

4.1.2. *Plantgoedontsmetting*

Wanneer brandsporen uitwendig aan het plantmateriaal kleven ligt het voor de hand om door middel van een ontsmetting te voorkomen, dat infectie op kan treden.

In 1957 stonden kralen en knollen van "Van Tienhoven" ter beschikking die alle op natuurlijke wijze met brandsporen waren besmet, doch waarin vrijwel geen macro- en microscopische S1-symptomen voorkwamen. Dit materiaal werd gebruikt om na te gaan of enkele tegen andere gladioleziekten toegepaste fungiciden, ook in dit geval resultaat af zouden kunnen werpen.

De proeven werden uitgevoerd volgens de in tabel 18 verstrekte gegevens en in een blokkenschema uitgeplant.

Na het rooien en schoonmaken in de herfst bleken de "knollen van knollen" vrij te zijn van macroscopische symptomen; de "knollen van kralen", afkomstig van onbehandelde en met captan ontsmette partijtjes, vertoonden daarentegen in circa 10% van de gevallen schubsori. Bij microscopisch onderzoek (S.M.) bleek, dat de knollen met sori in de schubben bijna alle ook mycelium in het knolvlees bevatten. Het verdere onderzoek van knollen zonder sori en de nateelt daarvan in 1958 wees uit, dat ontsmetting met een oplossing van de organische kwikverbinding of van het fenolderivaat het optreden van S1 vrijwel volledig had voorkomen. Captan had hier, evenals tegen de meeste andere gladioleziekten, geen of nauwelijks effect.

TABEL 18. De invloed van een ontsmetting voor het planten op het tot stand komen van infecties in met brandsporen besmette knollen en kralen van "Van Tienhoven". Beide proeven opgezet met twee herhalingen, resp. 2 maal 100 knollen en 2 maal 50 g kralen per behandeling.

The effect of a pre-planting disinfection of gladiolus corms and cormels contaminated with smut spores on the incidence of infection in the next season. Cultivar 'Van Tienhoven', both experiments with two replicates, twice 100 corms (8-9 cm) and twice 50 g cormels per treatment resp.

Aamersil: 2,75 % ethylkwikverbinding/ethylmercury compound

Aaglitan: 20 % fenolverbinding/phenol compound

Orthocide 50: 50 % captan.

Behandeling voor het planten in 1957 <i>Treatment before planting in 1957</i>	Na het rooien, som van beide herhalingen <i>After lifting, sum of two replicates</i>				Knollen zonder schubsori, % S2-planten in de zomer van 1958 <i>Corms without sori in the scales, % S2-plants in the summer of 1958</i>
	Aantal knollen <i>Number of corms</i>	% met schubsori <i>% with sori in the scales</i>	Zonder schubsori <i>Without sori in the scales</i>		
			Aantal microsc. onderz. (S.M.) <i>Number of corms for microsc. examination (S.M.)</i>	% met mycel. <i>% with mycelium</i>	
Knollen/Corms					
Onbeh./Control	196	0	50	12	8
Aamersil, 1 % - $\frac{1}{2}$ u./hr.	200	0	50	0	0
Aaglitan, 2 % - $\frac{1}{2}$ u./hr.	200	0	50	2	0
Orthocide 50, 1 % - $\frac{1}{2}$ u./hr.	200	0	50	4	5
Kralen/Cormels					
Onbeh./Control	738	11,8	345	14,5	—
Aamersil, 1 % - 2 u./hrs.	728	0,0	50	0,0	0,1
Aaglitan, 2 % - 2 u./hrs.	756	0,7	100	0,0	0,0
Orthocide 50, 1 % - 2 u./hrs.	778	9,8	300	14,7	—

4.2. MAATREGELEN TER VOORKOMING VAN S2

4.2.1. Warmwaterbehandeling

Terwijl het tot stand komen van de infectie bij gladiolebrand analogieën te zien geeft met de steenbranden van tarwe en gerst, vertoont de wijze van overwinteren in S1B, in de vorm van latent mycelium in het knolvlies, sterke overeenkomst met de stuifbranden van de genoemde gewassen.

Tot voor kort was de enig bekende methode ter bestrijding van de laatstgenoemde graanziekten de eind vorige eeuw door JENSEN ontwikkelde warmwaterbehandeling van het zaaizaad. Het lag voor de hand om ter onderdrukking van S2 van brand in gladiolen de mogelijkheden van deze methode te onderzoeken.

VAN POETEREN (1928) vermeldt, dat bij *G. × nanus* "Peach Blossom" in 1925 en 1926 gunstige resultaten werden verkregen door een warmwaterbehandeling gedurende een half uur bij 43,3 °C, vlak voor het planten toegepast. Gezien de hierna te bespreken proefnemingen moet de suggestie, dat hier van bestrijding sprake is geweest, worden verworpen. Onbekendheid met

het aantastingsverloop en waarschijnlijk onvoldoende controles zullen tot dit misverstand hebben geleid.

In 1955 werd met "Dr. Fleming"-knollen (3-4 cm), waarvan circa 16% sori in het knolvlies bevatte, een proef opgezet om de invloed van een warmwaterbehandeling op het optreden van brand na te gaan. Steeds werden 400 knollen gedurende een half uur bij respectievelijk 40, 42, 43¹/₂, 45 en 47 °C behandeld. Door bijzondere omstandigheden konden geen waarnemingen te velde worden verricht; de resultaten na de oogst gaven evenwel een duidelijke aanwijzing, dat uitsluitend de behandeling bij 47 °C enig effect op de ziekte had gehad.

Nadat het verloop van de aantasting in grote lijnen bekend was geworden, werden in 1958 opnieuw proeven uitgevoerd ter bestrijding van de ziekte in S2, waarbij een warmwaterbehandeling gedurende een half uur bij 47 °C als uitgangspunt werd gekozen. Steeds werd de behandeling uitgevoerd in vaten met water dat intensief werd geroerd en door thermostatisch geregelde elektrische verwarmingselementen nauwkeurig op de gewenste temperatuur werd gehouden (afwijking minder dan 0,1 °C). Na het inbrengen van de knollen werd de ingestelde temperatuur meestal binnen vijf minuten weer bereikt. De behandelingsduur werd gerekend te beginnen, zodra dit het geval was. Na afloop van de behandeling werden de knollen gedroogd in een goed geventileerde ruimte bij 20 of 25 °C.

Dikwijls moesten de proeven worden uitgevoerd met minder geschikt materiaal of op kleinere schaal dan wenselijk was geweest, daar geen grote, zwaar aangetaste partijen ter beschikking stonden. De laatste jaren van het onderzoek werden in het voorjaar kunstmatig besmette kralen en knollen uitgeplant om op deze wijze in de behoefte te kunnen voorzien.

Warmwaterbehandeling van kleine knollen van de cultivar "Van Tienhoven"

Kleine knollen (3-4 cm) van de cultivar "Van Tienhoven", zonder opvallende schubsori, waarvan – volgens de S.M. bepaald – 14,5% brandmycelium bevatte, werden vlak voor het planten met warm water behandeld. De volgende objecten werden vergeleken: 80 min. 46 °C, 30 en 60 min. 47 °C, 30 min. 48 °C, 30 min. 20 °C en onbehandeld; per object 50 knollen. Tijdens de groei werden S2-planten verwijderd en na het rooien werden de jonge knollen microscopisch (S.M.) op de aanwezigheid van het mycelium van de parasiet onderzocht.

Het resultaat wees uit dat een behandeling gedurende een half uur bij 47 °C het voorkomen van S2-planten geheel had onderdrukt, terwijl na 80 min. 46 °C slechts één aangetaste plant werd gevonden. Alle hogere doseringen, gerekend naar tijdsduur en temperatuur, hadden eveneens een volledige bestrijding van de brandziekte in dit stadium gegeven.

De oogst van behandelde partijen was op één knol na gezond. Daaruit mag de conclusie worden getrokken, dat het mycelium door de behandeling niet slechts in zijn vitaliteit en ontwikkeling was geremd, zoals voor stuifbrand van tarwe en gerst wel is verondersteld (NIEMANN, 1956), doch werkelijk was gedood. Als het eerste het geval was zou de schimmel immers in de jonge knollen moeten zijn teruggevonden.

De volgende waarneming bevestigt deze conclusie. In het voorjaar van 1958

werden knollen van "Van Tienhoven", met brandmycelium tot in de vegetatiepunten, gedurende een half uur behandeld in warm water van 46 °C en vervolgens buiten geplant. In de loop van de zomer werden geen S2-planten gevonden. Enkele malen werden coupes gemaakt van het verbindingsstuk tussen de oude en de jonge knol. Bij microscopisch onderzoek daarvan bleek, dat de schimmel uitsluitend voorkwam in de oude weefsels. In het grensvlak was het mycelium door de groei van de waardplant uiteen getrokken, zodat enkele losse hyfestukken in de basis van de nieuw gevormde delen konden worden waargenomen. De schimmeldraden kleurden zeer goed met katoenblauw, doch ze waren dikwijls enigszins gerimpeld en in elkaar gedrukt. Ook dit wijst erop, dat men de parasiet door de warmwaterbehandeling werkelijk doodt.

Warmwaterbehandeling van grote knollen van de cultivar "Van Tienhoven"

Ook met grote knollen van "Van Tienhoven" zonder opvallende schubsori werd in 1958 nog een proef uitgevoerd. Voor elk object werden 60 knollen gebruikt van 8-10 cm, 70 van 10-12 cm en 70 van 12-14 cm; vergeleken werden knollen, die gedurende 30 en 60 min. in water van 47 °C waren gedompeld, met onbehandelde knollen. Ook in deze proef werd de behandeling kort voor het planten uitgevoerd. Na de behandelingen werden geen S2-planten gevonden. Het microscopische onderzoek na het rooien en de nateelt van de resterende knollen in het volgende seizoen wezen uit, dat in dit geval ruim 2,5% van de dochterknollen na de oogst toch weer mycelium bevatte. In 4.3.1 (blz. 78 e.v.) zal worden aangetoond, dat dit nieuwe infecties waren, tot stand gebracht door sporen die de warmwaterbehandeling hadden overleefd.

Na behandeling bij 47 °C werden meer knollen gerooid dan er waren geplant. Het bleek nl. dat in dit geval veel grote exemplaren (> 10 cm) twee spruiten per plant hadden gevormd; bij die van 8-10 cm was dit niet het geval. Blijkbaar had de hoge temperatuur, toegepast vlak voor het planten, rustbrekend gewerkt op knoppen die normaal slapend zouden zijn gebleven. Bij een behandeling in december of januari werd dit verschijnsel nooit geconstateerd.

De invloed van tijdsduur en temperatuur op het resultaat van de behandeling met warm water

Om de invloed van tijdsduur en temperatuur op het effect van de warmwaterbehandeling nader te bestuderen werden in december 1958 grote en kleine knollen van "A. Nobel" (per behandeling respectievelijk 10 knollen van 10-12 cm en 50 knollen van 3-4 cm) gedurende verschillende tijden behandeld in water van 44, 45, 46 en 47 °C. In deze proeven werd aan het water 1/4% Aretan toegevoegd. De opkomst van de kleine knollen was na de lange dompelingen bij 44 en 45 °C slecht, hetgeen moet worden toegeschreven aan beschadiging door de toegevoegde kwikverbinding. Een betrouwbare beoordeling van het effect van de hoge temperatuur op het mycelium van de brandschimmel was daardoor niet meer mogelijk; de waarnemingen aan laatstgenoemde partij blijven daarom verder onbesproken. Bij de grote knollen was de opkomst wel volledig.

Het aantal planten binnen ieder object was te klein om nauwkeurig de doseringen, die volledige bestrijding van het mycelium in de knollen bewerkstelligen, te kunnen vaststellen. Bij 46 en 47 °C bleek het effect van de warmwa-

terbehandeling toe te nemen met de tijdsduur, doch zelfs na een half uur bij 47 °C werd nog een S2-plant gevonden. Ook langdurige behandeling bij 44 en 45 °C onderdrukte de aantasting in sterke mate. De ervaring in deze en soortgelijke proeven opgedaan wees erop, dat de gevoeligheid van de parasiet voor de warmwaterbehandeling wisselde van partij tot partij en in hetzelfde materiaal zelfs van knol tot knol. Het was daarom gewenst om na te gaan in hoeverre voor- en nabehandeling van invloed zijn op het resultaat.

De invloed van de bewaartemperatuur voor en na de warmwaterbehandeling

In 1959 werd de invloed van de bewaartemperatuur onderzocht. Knollen van "A. Nobel" (5-7 cm) werden voor de warmwaterbehandeling gedurende 6 weken bewaard bij temperaturen tussen 9 en 34 °C en daarna negen weken bij 17 °C, of omgekeerd, eerst zes weken bij 17 °C en naderhand negen weken bij de verschillende temperaturen. Ter controle werden partijtjes gedurende zes weken bij 9, 17 en 34 °C bewaard. Nadere gegevens zijn opgenomen in de toelichting bij tabel 19, waarin de resultaten van deze proef zijn samengevat.

TABEL 19. De invloed van de bewaarmstandigheden voor en na de warmwaterbehandeling op de overlevingskansen van brandmycelium in gladioleknollen. Bij microscopisch onderzoek (S.M.) van 100 knollen voor de behandeling bleken 30 mycelium te bevatten. Som van twee herhalingen, per object 2 maal 50 knollen (5-7 cm). W.B. = warmwaterbehandeling gedurende een half uur bij 46 °C in $\frac{1}{4}$ % Aretan. *The effect of storage conditions before and after hot-water treatment on the survival of smut mycelium in gladiolus corms. Microscopical examination (S.M.) of 100 corms before treatment revealed 30 with mycelium. Cultivar 'A. Nobel'; sum of two replicates, twice 50 corms (5-7 cm) per treatment. H.T. = hot-water treatment for half an hour in $\frac{1}{4}$ % Aretan at 46 °C.*

Bewaartemperatuur (°C) gedurende <i>Storage-temperature (°C) during</i>		Totaal aantal planten <i>Total number of plants</i>	Aantal S2-planten <i>Number of S2-plants</i>
zes weken voor de W.B. <i>six weeks before H.T.</i>	negen weken na de W.B. <i>nine weeks after H.T.</i>		
9	17	102	0
17	17	93	0
25 $\frac{1}{2}$	17	97	16
34	17	103	0
17	9	98	0
17	25 $\frac{1}{2}$	98	0
17	34	99	0
Controles (zonder W.B.) <i>Controls (without H.T.)</i>			
9	17	104	32
17	17	107	31
34	17	101	0

De uitkomst was wel zeer onverwacht. Uit onbehandelde, gedurende zes weken bij 34 °C bewaarde knollen, groeiden geen S2-planten. Na bewaring bij 25 $\frac{1}{2}$ °C gevolgd door warmwaterbehandeling, was het aantal S2-gevallen daarentegen slechts tot ongeveer de helft van dat in de beide andere controles teruggebracht. Alle overige partijen bleven te velde vrij van brand.

De enig mogelijke verklaring leek te zijn, dat bewaring gedurende zes weken bij 34 °C het mycelium in de knollen had gedood (onder 4.2.3 wordt deze mogelijkheid verder onderzocht) en dat na bewaring bij 25¹/₂°C de resistentie van de parasiet tegen de warmwaterbehandeling was verhoogd. In het laatste geval waren de knollen voor de behandeling zeer sterk uitgedroogd, dank zij de zeer lage relatieve luchtvochtigheid (waarschijnlijk 25 à 30%) en de intensieve ventilatie in de bewaarruimte. Het lag dan ook voor de hand om verband te zoeken tussen de verminderde gevoeligheid van de schimmel en het vochtgehalte van de knollen.

Indien dit verband inderdaad bestaat, dan geeft deze proef dus geen aanwijzingen, dat de bewaar temperatuur voor en na de warmwaterbehandeling direct van invloed is op de overlevingskansen van de parasiet.

De invloed van sterke uitdroging van de knollen vóór de warmwaterbehandeling

Om de invloed van het vochtgehalte van het knolvlies te onderzoeken werden in 1960 de schubben van grote knollen van "Dr. Fleming" (8-10 en 12-14 cm) verwijderd, waarna de opperhuid langs de rand werd afgeschild, om tijdens de daaropvolgende bewaring bij 25¹/₂°C verzekerd te zijn van sterke uitdroging van het knolvlies. Dit bleek een te zware ingreep te zijn geweest: van de op deze wijze mishandelde knollen – al of niet met warm water behandeld – kwam vrijwel niets op.

In de winter van 1960-1961 werd opnieuw een proef uitgevoerd om de invloed van de genoemde factor op de overlevingskansen van het brandmycelium tijdens de warmwaterbehandeling te onderzoeken. Een partij "Dr. Fleming" (3-4 cm), waarvan op grond van microscopisch onderzoek (S.M) van 25 knollen mocht worden aangenomen dat circa 16% mycelium bevatte, werd in zes groepen van 200 knollen verdeeld. Het gewicht van ieder partijtje werd nauwkeurig op 163 gram gebracht.

Vier groepen, waaronder een verpakt in plastic-folie, werden gedurende zes weken bewaard bij 25¹/₂°C in een ruimte met zeer sterke ventilatie en lage relatieve luchtvochtigheid (variërend van 24 tot 29%). De resterende 2 maal 200 knollen werden gebracht in een cel bij 9 °C met hoge luchtvochtigheid (85-90%). Na afloop van deze periode bleek, dat alle bij 25¹/₂°C bewaarde groepen, dus ook de in plastic verpakte, 10% van het oorspronkelijke gewicht hadden verloren. De beide partijtjes, die bij 9 °C waren bewaard, hadden nog vrijwel hetzelfde gewicht als voor de bewaring. Een van de sterk gedroogde partijen werd 24 uur in water geweekt; vervolgens werd op 27 januari de warmwaterbehandeling gedurende een half uur bij 46 °C toegepast, volgens het schema in tabel 20. Na afloop werden de knollen in kistjes geplant, die in een kas bij 20 °C werden geplaatst. Enkele maanden later werden de opkomst en het aantal S2-planten bepaald. Uit het resultaat, weergegeven in tabel 20, bleek het volgende.

Na sterke uitdroging in de periode voorafgaande aan de warmwaterbehandeling was de overlevingskans van het brandmycelium in het knolvlies zeer groot (zie objecten I en III). Door de gedroogde knollen eerst 24 uur in water te weken werd de verminderde gevoeligheid van de schimmel voor de hoge temperatuur grotendeels opgeheven; het optreden van S2-planten werd daardoor echter niet geheel onderdrukt (object II). Na bewaring in vochtige lucht

TABEL 20. De invloed van sterke uitdroging van gladioleknollen op de overlevingskans van het brandmycelium tijdens een daaropvolgende warmwaterbehandeling. Per behandeling 200 knollen van 3-4 cm. W.B. = warmwaterbehandeling gedurende een half uur bij 46°C.

The effect of severe desiccation of gladiolus corms on the survival of smut mycelium during subsequent hot-water treatment. Cultivar 'Dr. Fleming', 200 corms of 3-4 cm per treatment. H.T. = hot-water treatment for half an hour at 46°C.

Bewaring gedurende zes weken voor de W.B. <i>Storage for six weeks before the H.T.</i>	Behandeling <i>Treatment</i>	Totaal aan planten <i>Total number of plants</i>	Aantal S2-planten <i>Number of S2-plants</i>
I. 25½°C, sterke ventilatie, in droge lucht <i>25½°C, strong ventilation, in dry air</i>	W.B. H.T.	196	12
II. Als I, daarna 24 uur in water <i>As I, afterwards 24 hours in water</i>	W.B. H.T.	195	4
III. Als I, knollen verpakt in plastic <i>As I, corms packed in plastic bags</i>	W.B. H.T.	198	21
IV. 9°C, in vochtige lucht <i>9°C, in humid air</i>	W.B. H.T.	198	0
V. Als I <i>As I</i>	onbehandeld <i>control</i>	194	31
VI. Als IV <i>As IV</i>	onbehandeld <i>control</i>	196	50

bij 9 °C, gevolgd door warmwaterbehandeling, werden in het geheel geen planten met sori in de bladeren waargenomen (object IV).

Op grond van de resultaten van de in het voorgaande besproken proeven kunnen de volgende conclusies worden getrokken. Brandmycelium in gladioleknollen van de grootbloemige cultivars kan afdoende worden bestreden door een behandeling gedurende een half tot een uur in water van 46 of 47 °C. Te sterke uitdroging van de knollen voor de warmwaterbehandeling vergroot de overlevingskansen van de parasiet.

Effect van de warmwaterbehandeling op de gladiool

Grootbloemige-gladioleknollen kunnen de warmwaterbehandeling bij 47 °C in het algemeen zeer goed verdragen. Bij het zogenaamde "koken" van andere bolgewassen wordt steeds Aretan of Germisan aan het warme water toegevoegd om verspreiding van andere ziekteverwekkers (vooral *Fusarium*-soorten) te voorkomen. Bij gladiolen werden aanwijzingen verkregen, dat de genoemde fungiciden soms aanleiding geven tot beschadiging van de knollen, indien deze na de warmwaterbehandeling weer moeten worden gedroogd. Door de gladiolen snel te drogen na de dompeling in warm water en de ontsmetting vlak voor het planten uit te voeren, kon de uitbreiding van andere ziekten ook worden tegengegaan.

Op 18 oktober 1957 werden knollen van vijf verschillende cultivars van de oogst 1956, die een half jaar of langer bij 2 °C waren bewaard, gedurende 1½, 1 en 2 uur behandeld in warm water bij de temperaturen 43½, 45, 47 en 48 °C. Direct daarna werden ze uitgeplant in een warme kas. Zelfs na deze buitengewoon ongunstige voorbehandeling gaf de hoge temperatuur geen aanleiding tot ernstige beschadiging. Bij enkele cultivars kwamen de planten trager op naarmate de tijdsduur van dompeling langer en de temperatuur hoger

was geweest; na twee maanden waren de verschillen met de controles echter gering.

Door BEIJER (1960) is een methode ontwikkeld om onder Nederlandse omstandigheden in mei grootbloemige gladiolen in de kas in bloei te brengen. Na overleg met genoemde auteur werden in 1958 knollen van een drietal cultivars, na een warmwaterbehandeling te hebben ondergaan, opgenomen in de broeiproeven.

Twee van de drie rassen bleken na een behandeling gedurende een half en een uur bij 47 °C vollediger in bloei te komen, doordat minder uitval optrad door andere gladioleziekten (in hoofdzaak *Botrytis gladiolorum*); de derde cultivar reageerde niet op de warmwaterbehandeling. Bij een cultivar was de bloei enkele dagen later dan in de controles; de beide andere gaven geen verschuiving van het bloeitijdstip te zien. In de daaropvolgende jaren werden van alle voor de broeiproeven gebruikte rassen ook met warm water behandelde objecten opgenomen. Meestal had de toepassing van een uur bij 47 °C een gunstig effect op het percentage planten, dat in bloei kwam; enkele cultivars gaven echter minder goede resultaten (BEIJER, 1960).

Bij de normale cultuur treden deze verschillen niet of nauwelijks op. Om ieder risico van beschadiging te vermijden dient de warmwaterbehandeling bij voorkeur in december of januari te worden gegeven, daar de rust van in Nederland gegroeide gladiolen in die periode dikwijls nog niet geheel gebroken is. Sterke uitdroging van de knollen voor de behandeling dient te worden voorkomen. Na het rooien, drogen en schoonmaken kunnen zij daarom het beste worden bewaard bij de gebruikelijke temperaturen, nl. tussen 10 en 17 °C.

Praktische toepassing van de warmwaterbehandeling bij gladiolen vergeleken met die bij tarwe en gerst

Het effect van een warmwaterbehandeling bij de bestrijding van stuifbrand van tarwe en gerst wordt mede bepaald door het vochtgehalte van het zaad. Bij veel moderne methoden is het voorschrift, dat voorafgaande aan de eigenlijke behandeling een kortere of langere periode in water moet worden geweekt. Talloze onderzoeken zijn verricht om te komen tot een combinatie van tijdsduur en temperatuur bij het voorweken met die bij de eigenlijke behandeling, welke een afdoende brandbestrijding verenigt met praktische toepasbaarheid op grote schaal en geringe beschadigingskansen voor het zaad. Het drogen na de behandeling bepaalt mede in belangrijke mate of de opkomst in nadelige zin wordt beïnvloed.

Om de toepassing van de warmwaterbehandeling op grote hoeveelheden zaad te vereenvoudigen, zijn vele variaties in de methodiek onderzocht, o.a. een warme behandeling van bevochtigd zaad, doorleiden van waterdamp van 50 tot 53 °C en – in tropische landen – het blootstellen van voorgeweekt zaad aan het zonlicht. Voor recente overzichten van de ontwikkeling op het gebied van stuifbrandbestrijding door middel van hoge temperaturen moge worden verwezen naar NIEMANN (1956) en FISCHER & HOLTON (1957). Onder 4.2.2 (blz. 73) wordt nader ingegaan op de nieuwste inzichten, die door onderzoeken in het laatste decennium zijn verkregen.

Ondanks het vele werk dat is verricht omtrent de bestrijding van stuifbrand van tarwe en gerst door middel van een warmwaterbehandeling, blijven aan

iedere methodiek bezwaren klevende die een algemene toepassing in de praktijk belemmeren. Bij de brandziekte van gladiolen ligt dit, althans bij de grootbloemige cultivars, om de volgende redenen veel eenvoudiger.

- a. De Nederlandse bloembollentelers bezitten dikwijls de benodigde "kookketels" om de warmwaterbehandeling uit te kunnen voeren. Bovendien beschikken zij over de nodige ervaring, omdat veel bolgewassen op deze wijze moeten worden behandeld tegen verschillende plagen.
- b. Bij de grootbloemige gladiolen wordt een praktisch volledige bestrijding van de ziekte in S2 verkregen door een behandeling gedurende een half tot een uur bij 47 °C.
- c. De kans op beschadiging van de knollen is klein en aan voor- en nabehandeling worden geringe eisen gesteld.
- d. De waarde van het gewas maakt de behandeling economisch mogelijk.

4.2.2. *Onderdompeling in water en anaërobe behandeling*

Tegen stuifbrand in tarwe en gerst

Lange tijd heeft men de bestrijding van het in de embryo's overwinterende mycelium van de stuifbranden van gerst en tarwe vrijwel uitsluitend gezocht in behandelingen van het zaad bij hogere temperaturen. In de vorige paragraaf is er reeds op gewezen, dat een aantal praktische bezwaren aan de algemene toepassing van deze methoden in de weg staat. Onderzoek naar andere mogelijkheden om deze ziekten te onderdrukken was dus gewenst.

Vooral TYNER heeft in dit opzicht baanbrekend werk verricht. Hij onderzocht – bij kamertemperatuur – het effect van een groot aantal stoffen in waterige oplossing op de kiemkracht en het optreden van stuifbrand bij gerst. Goede resultaten verkreeg hij met Spergon (chloranil), door het zaad zes uur in water te weken en vervolgens 40 uur in een oplossing met 0,2% van dit fungicide te behandelen (TYNER, 1951).

Voortgezet onderzoek leidde tot de conclusie, dat de brandziekte ook door langdurige onderdompeling in zuiver water (56-64 uur bij 72-77 °F) werd onderdrukt (TYNER, 1953). Overigens had ZALESSKY (1935) al veel eerder op overeenkomstige wijze een zeer goede bestrijding van tarwestuifbrand verkregen, doch blijkbaar waren zijn resultaten aan de algemene aandacht ontsnapt. HEBERT (1955) vond dat de waterdompeling kan worden vervangen door een anaërobe behandeling. Hij weekte gerstezaad twee tot zes uur in water en bracht het vervolgens gedurende een aantal uren in luchtdicht gesloten flessen. Het ziektebestrijdende effect was sterk afhankelijk van temperatuur en tijdsduur.

Vooral Amerikaanse en Duitse onderzoekers hebben veel aandacht besteed aan deze nieuwe methoden van stuifbrandbestrijding (voor een overzicht zie NIEMANN, 1957).

Voortbouwend op het werk van andere onderzoekers toonde PICHLER (1956) aan, dat tijdens een warmwaterbehandeling in het zaad van tarwe en gerst in toenemende mate een anaërobe ademhaling op gaat treden, die zich na afloop van de behandeling nog enige tijd voortzet. De verbindingen die hierbij ontstaan – alcohol en acetaldehyde – zouden de schimmel doden of in zijn ontwikkeling remmen. De resultaten van dit onderzoek maakten het

mogelijk verband te leggen tussen de bestrijding door middel van een warmwaterbehandeling en die door waterdompeling of anaërobe behandeling, welke bij lagere temperaturen plaats vinden. In 1958 toonde PICHLER aan, op grond van door NIEMANN verkregen resultaten bij de bestrijding van tarwestuifbrand, dat er een logaritmisch verband bestaat tussen de tijdsduur h van waterdompeling (c.q. anaërobe behandeling) en de temperatuur t , volgens de vergelijking

$$t = k \log h + c$$

De beide constanten k en c waren voor de waterdompelingsmethode en de anaërobe behandeling vrijwel gelijk, op grond waarvan PICHLER concludeerde, dat er geen principieel verschil bestaat tussen de beide bestrijdingswijzen. De warmwaterbehandeling blijkt dus slechts een bijzonder geval van de waterdompelingsmethode te zijn.

Een nieuwe ontwikkeling op het gebied van de stuifbrandbestrijding bij gerst is door WAGNER (1959) ingezet. Hij ontdekte, dat het zaad van dit gewas in mindere mate door oplossingen van methanol wordt beschadigd, naarmate de concentratie daarvan hoger is; zo werd in kiemprouven na vijf uur dompelen in 100% methanol nagenoeg geen opkomstvermindering geconstateerd. Zeer belangrijk was de vondst dat planten, groeiende uit op deze wijze behandeld zaad, vrij bleven van stuifbrand. De genoemde auteur heeft vervolgens bepaalde preparaten ontwikkeld die ook op grotere schaal zeer goede resultaten opleverden, doch waarvan de samenstelling blijkbaar niet voor publikatie in aanmerking komt. Zelfs een droge zaadontsmetting van gerst schijnt tot de mogelijkheden te behoren (WAGNER, 1960).

Tegen brand in gladiolen

Toen eenmaal was gevonden, dat het mycelium van *Urocystis gladiolicola* in gladioleknollen door een warmwaterbehandeling kan worden gedood, rees de vraag of bestrijding van deze ziekte ook bij lagere temperatuur kan worden bereikt.

De eerste proeven werden uitgevoerd in januari 1959 met de cultivar "A. Nobel". Door microscopisch onderzoek (S.M.) van 25 knollen was vastgesteld dat circa 32% mycelium bevatte. Een gedeelte van de gladiolen werd $4\frac{1}{2}$ uur in water geweekt en vervolgens in geheel gevulde, met rubberstoppen gesloten flessen bewaard (anaërobe behandeling). Andere knollen werden ondergedompeld in vers gekookt water (waterdompelingsmethode). De proeven werden gedaan bij 20, $25\frac{1}{2}$ en 30 °C, gedurende de in tabel 21 vermelde tijden. Iedere behandeling werd toegepast op 25 knollen. Zowel voor als na de behandeling werden de partijtjes bewaard bij 17 °C om ervan verzekerd te zijn, dat de S2-symptomen na het planten snel te voorschijn zouden komen en het optreden van S2U zou worden vermeden. In het voorjaar werden de aldus behandelde knollen buiten uitgeplant, waarna in de loop van het seizoen de opkomst en het aantal S2-planten werd bepaald. In het eerste gedeelte van tabel 21 zijn de waarnemingen vermeld.

Na een anaërobe behandeling gedurende 96 en 144 uur bij 30 °C en een waterdompeling gedurende 144 uur bij 30 °C werden geen planten met sori in de bladeren gevormd. De resultaten met dompelen in water bij $25\frac{1}{2}$ °C zijn moeilijk verklaarbaar; waarschijnlijk is hier een vergissing in het spel geweest.

Na de oogst werden de jonge knollen microscopisch (S.M.) op de aanwezigheid van mycelium onderzocht. Alle planten, die geen S2-symptomen te

TABEL 21. Bestrijding van brandmycelium in gladioleknollen door middel van een langdurige anaërobe behandeling of onderdompeling in water. De invloed van de temperatuur tijdens de behandeling en de duur daarvan op het optreden van S2-planten in het daaropvolgende groeiseizoen.
A: Anaërobe behandeling; B: Waterdompelingsmethode (in 1961 werden 20 d.p.m. Panosan aan het water toegevoegd).
Control of smut mycelium in gladiolus corms by means of an anaerobic treatment or by soaking in water, and the effect of temperature and duration of the treatment on the incidence of S2-plants in the next season.
A: Anaerobic treatment: after soaking in water for 4½ hours the corms were stored in bottles sealed with rubber stoppers.
B: Water-soaking treatment: corms soaked in freshly boiled water (20 p.p.m. Panosan – containing an organic mercuric compound – were added to the water in 1961, to prevent bacterial growth).

Cultivar (grootte van de knollen); aantal planten per behandeling <i>Cultivar (corm size); number of plants per treatment</i>	Wijze van behandeling <i>Treatment</i>	Behandelingsduur in uren <i>Duration of treatment in hrs.</i>	Aantal S2-planten na behandeling bij <i>Number of S2-plants after treatment at</i>					
			30°C		25½°C		20°C	
1959 "A. Nobel" (4–5 cm); 21–25	A	27	7		3		8	
	A	48	8		6		6	
	A	96	0		5		8	
	A	144	0		2		5	
	B	48	1		0*		6	
1960 "Dr. Fleming" (4–5 cm); 19–22	B	144	0		9*		9	
	Onbehandeld <i>Control</i>	–	10		10		9	
	B	72	0					
	B	120	0					
	B	192			0		10	
1961 a. "Dr. Fleming" (4–5 cm); 35–41 b. "Firmament" (8–12 cm); 10 c. "Dr. Fleming" (3–4 cm); 19–21	Onbehandeld <i>Control</i>	–	a	b	c	a	b	c
	B	48	0	0	0			
	B	72	0	0	0			
	B	168				0	0	0
	B	192				0	0	0
1961 a. "Dr. Fleming" (4–5 cm); 35–41 b. "Firmament" (8–12 cm); 10 c. "Dr. Fleming" (3–4 cm); 19–21	B	240				0	0	0
	B	792						
	Onbehandeld <i>Control</i>	–				15	0	0
						6	6	2

* Vermoedelijk een vergissing/*Probably erroneous.*

zien hadden gegeven, bleken gezonde knollen te hebben gevormd. Ook in deze proef was de brandzwam dus kennelijk door de behandeling in verscheidene objecten gedood.

In 1960 werd de waterdompelingsmethode op de bovenbeschreven wijze toegepast op knollen van de cultivar "Dr. Fleming", waarbij de behandelingsduur bij $25\frac{1}{2}$ en 20°C veel langer werd genomen. In deze proeven trad na meer dan 192 uur dompelen een troebeling op in het water tengevolge van sterke bacteriegroei; de gladioleknollen gingen tot rotting over, waardoor de opkomst na het planten sterk verminderde of geheel achterwege bleef. In het tweede gedeelte van tabel 21 zijn de resultaten samengevat. Hierin zijn uitsluitend de waarnemingen vermeld bij partijtjes, waarvan ongeveer eenzelfde aantal planten was opgekomen als in de controles.

Na een behandeling in water gedurende 72 en 120 uur bij 30°C of 192 uur bij $25\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$ werden geen aangetaste planten meer gevonden.

In 1961 werden met drie partijen van twee cultivars nogmaals waterdompelingsproeven uitgevoerd, vooral met het doel om de voor bestrijding van de schimmel benodigde behandelingsduur bij 20 en $25\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$ nauwkeuriger vast te stellen. Ter vermindering van bacteriegroei werden 20 d.p.m. Panosan aan het gekookte water toegevoegd. Het bleek op deze wijze mogelijk de dompeltijden sterk te verlengen zonder nadelige gevolgen voor de gladioleknollen. Bij 20°C trad na lange tijd toch weer een troebeling op in het water waarin de knollen werden bewaard. Van de gedurende 792 uur bij deze temperatuur behandelde knollen was de opkomst na het uitplanten in een kas bij 20°C slechts bij twee groepen volledig. Uit het resultaat, gegeven in het derde gedeelte van tabel 21, blijkt het volgende.

Een waterdompeling van 48 en 72 uur bij 30°C of van 168, 192 en 240 uur bij $25\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$ gaf volledige bestrijding van de brandschimmel in het knolvlees. Ook in de twee groepen die 792 uur bij 20°C onder water waren bewaard, zonder daardoor ernstig te worden beschadigd, werden geen S2-planten aangetroffen.

Samenvattend kan de conclusie worden getrokken, dat evenals bij de stuifbranden van tarwe en gerst het mycelium van de brandschimmel in gladioleknollen wordt gedood door een langdurige anaërobe behandeling of onderdompeling in water. De voor de bestrijding benodigde tijdsduur neemt waarschijnlijk snel toe naarmate de temperatuur tijdens de behandeling lager is. De beschikbare gegevens zijn te summier om na te kunnen gaan of ook bij brandziekte van gladiolen het verband tussen de beide factoren door een logaritmische functie kan worden weergegeven.

Bij gladiolen komen de zojuist behandelde bestrijdingsmethoden nauwelijks voor toepassing in de praktijk in aanmerking. In de eerste plaats omdat de warmwaterbehandeling sneller en efficiënter werken mogelijk maakt (zie ook de opmerkingen op blz. 73), terwijl in de tweede plaats de behandeling bij lagere temperaturen meer kans op beschadiging van de knollen geeft.

4.2.3. Droge bewaring bij 34°C

Op grond van de in 4.2.1 (blz. 69) besproken resultaten rees het vermoeden, dat door een droge behandeling van aangetaste knollen gedurende zes weken bij 34°C het mycelium van de brandschimmel wordt gedood.

Om dit nader te onderzoeken werd in 1960 een proef uitgevoerd met grote knollen (8-10 en 12-14 cm) van "Dr. Fleming", die voor een zeer hoog percentage mycelium en meestal ook sori van *Urocystis gladiolicola* bevatten. Op 2 maart werden alle knolschubben zorgvuldig verwijderd om in de nakomelingen het optreden van nieuwe infecties te voorkomen. Daarna werden gedurende zeven weken 100 knollen bij 34 °C en twee maal 100 bij 25¹/₂ °C bewaard. Op 21 april werd een van de bij 25¹/₂ °C bewaarde partijtjes een uur behandeld met warm water van 47 °C, waarna alle knollen werden ontsmet in een oplossing van een kwikhoudende organische verbinding (1¹/₂ uur 1¹/₃% Panosan) en buiten geplant.

Gewoonlijk komen knollen van de vermelde grootte volledig op. In deze proef viel van de bij 25¹/₂ °C bewaarde knollen circa 25% uit, na bewaring bij 34 °C en na toepassing van een warmwaterbehandeling was dit met circa 50% het geval. Blijkbaar waren de knollen door het verwijderen van de schubben en de daaropvolgende behandeling sterk verzwakt. Desondanks kwam uit deze proef duidelijk naar voren, dat langdurige droge bewaring bij 34 °C hetzelfde effect heeft als een warmwaterbehandeling. Deze conclusie wordt nog bevestigd door de resultaten van het microscopische onderzoek (S.M.) van de jonge knollen na het rooien. Daaruit bleek, dat zowel de behandeling bij 34 °C als die in warm water de groei van het brandmycelium niet alleen had vertraagd, doch deze geheel had verhinderd.

De invloed van de behandelingsduur bij 34 °C

In de winter van 1960-1961 werd de invloed van de behandelingsduur bij 34 °C nader bestudeerd. Hiervoor werden knollen gebruikt van "Firmament" (6-8 cm; met een hoog percentage brand) en van "Dr. Fleming" (2-3 cm; met een geringe aantasting). Groepen van respectievelijk 30 en 500 knollen werden twee, vier en zes weken bij 34 °C bewaard, terwijl de controles bij 9 °C lagen opgeslagen. Na afloop van de behandeling werd een van de twee partijtjes van "Dr. Fleming" die zes weken bij 34 °C waren bewaard, gedurende 24 uur in water geweekt. Na te zijn ontsmet werden alle knollen op 28 januari in kistjes geplant en in een kas bij circa 20 °C gebracht. De bij 34 °C bewaarde knollen van "Firmament" kwamen minder snel en volledig op dan die, welke bij 9 °C waren bewaard. De cultivar "Dr. Fleming" had niet veel hinder ondervonden van de hoge temperatuur. Reeds een bewaring gedurende twee weken bij 34 °C bleek het optreden van S2-planten geheel te onderdrukken; 24 uur dompelen in water na zes weken bewaren bij de genoemde temperatuur had geen herstel van het brandmycelium gegeven.

De zojuist beschreven methode ter bestrijding van het mycelium van de brandzwam in gladioleknollen is door haar eenvoud bijzonder aantrekkelijk voor de teler. De verkregen ervaring is echter nog te gering om thans reeds te kunnen beoordelen of zij de warmwaterbehandeling zal kunnen vervangen.

Bestrijding van planteziekten door middel van een enkele weken durende, droge bewaring bij hogere temperatuur wordt weinig toegepast. BRUDER (1953) vond dat plantgoed van uien, na 15 tot 30 dagen bij 35 tot 40 °C, geen *Fusarium*-aantasting te zien gaf. STEPANOVA (1954) bestreed *Sclerotinia sclerotiorum* in zonnebloemzaad door dit gedurende 7 tot 10 dagen te behandelen in een goed geventileerde ruimte bij 40 °C. KASSANIS (1957) vermeldde 24 virussen die kunnen worden geïnactiveerd door zieke planten of knollen op een

dergelijke wijze te behandelen. LAMB (1930) vond dat *Bacterium malvacearum* in katoenzaad wordt gedood door dit gedurende twee weken dagelijks aan de zonnestraling bloot te stellen; de temperatuur van het zaad liep in zijn proeven soms op tot 60 °C. Bij het z.g. "heetstoken" van hyacinten (twee maanden bij 30 °C, daarna zes weken bij 37 tot 37,5 °C) tegen *Xanthomonas hyacinthi* ontwikkelt de ziekte zich in matig tot zwaar aangetaste exemplaren zo sterk dat ze gemakkelijk kunnen worden herkend en verwijderd; in zeer licht aangetaste bollen wordt de bacterie geïnactiveerd (DOLK & VAN SLOGTEREN, 1930).

Teneinde na te gaan of ook stuifbrand van tarwe op deze wijze kan worden bestreden, werd in een oriënterende proef geïnfecteerd zaad van drie tarwerassen gedurende 2, 4 en 6 weken bij 34 °C bewaard. Planten groeiende uit aldus behandeld zaad vormden echter niet minder brandaren dan die in de controles.

4.3. MAATREGELEN TER VOORKOMING VAN S1 EN S2 IN EEN EN DEZELFDE PARTIJ

4.3.1. Het optreden van nieuwe infecties na warmwaterbehandeling

Onder 4.2.1 (blz. 66 e.v.) werd vermeld, dat nakomelingen van met warm water behandelde knollen soms toch weer mycelium bevatten. In de thans te bespreken proef was dit in sterke mate het geval.

In 1958 stonden knollen van "Firmament" (12-14 cm) ter beschikking, die alle geheel met mycelium waren doorwoekerd en in sterke mate sori in de schubben te zien gaven. Op 3 maart werden deze behandeld volgens de aanwijzingen in tabel 22 en direct daarna uitgeplant in een onverwarmde kas.

Alle planten in de controle vertoonden al snel na opkomst S2-verschijnselen; ze werden op 22 mei verwijderd. In de bovengrondse delen van de resterende planten werden gedurende het gehele groeiseizoen geen afwijkingen waargenomen. Op 23 september, toen de proef werd beëindigd, bleken echter veel sori in de ondergrondse delen voor te komen; bij het microscopische onderzoek (S.M.) van de geoogste knollen werd in een groot deel hiervan mycelium aangetoond (zie tabel 22).

Ter verklaring van de aanwezigheid van brandmycelium in de nakomelingen van knollen die met warm water zijn behandeld staan twee wegen open. Enerzijds bestaat de kans dat de schimmel door de behandeling niet wordt gedood, doch slechts tijdelijk geïnactiveerd. Laat in het seizoen zou hij zich dan herstellen en alsnog in de jonge weefsels binnendringen. De waargenomen verschijnselen zouden dan tot S2U moeten worden gerekend. Onder 4.2.1 (blz. 67) is reeds besproken dat deze mogelijkheid mag worden uitgesloten.

Anderzijds kan het verschijnsel worden verklaard door aan te nemen, dat de brandsporen, die zich aan en in de schubben bevinden, de warmwaterbehandeling overleven en vervolgens in het seizoen na de behandeling nieuwe infecties tot stand kunnen brengen; de waardplant wordt daardoor weer in S1 gebracht.

Het besproken verschijnsel trad vooral op bij plantmateriaal met sori in de schubben en kon bovendien – zoals hierna zal blijken – volledig worden on-

TABEL 22. Brandaantasting van gladioleplanten, gegroeid uit met warm water behandelde knollen met sori in de schubben. Per behandeling 10 knollen.
Smut infection of gladiolus plants grown from hot-water treated corms with sori in the scales. Cultivar 'Firmament', 10 corms of 12–14 cm per treatment.

Warmwaterbehandeling <i>Hot-water treatment</i>	Totaal aantal planten <i>Total number of plants</i>	Aantal S2-planten <i>Number of S2-plants</i>	Na het rooien / <i>After lifting</i>					microsc. onderzoek (S.M.) <i>microsc. examination (S.M.)</i>	
			Aantal planten met sori in ondergr. delen <i>Number of plants with sori in underground parts</i>	Totaal aantal knollen <i>Total number of corms</i>	Aantal met sori in knolvlees <i>Number with sori in corm flesh</i>	Aantal knollen met mycelium <i>Number of corms with mycelium</i>	Aantal knollen zonder mycelium <i>Number of corms without mycel.</i>		
30 min. 46 °C	9	0	5	22	10	15	7		
60 min. 46 °C	10	0	4	19	6	12	7		
30 min. 47 °C	8	0	3	15	4	7	8		
60 min. 47 °C	10	0	7	16	4	8	8		
60 min. 48 °C	7	0	1	10	3	5	5		
60 min. 47 °C in Ar. ¹	10	0	2	15	1	5	10		
Totaal na W.B. <i>Total after H.T.</i>	54	0	22	97	28	52	45		
Onbehandeld <i>Control</i>	10	10	—	0	—	—	—		

¹ Warmwaterbehandeling (W.B.) in $\frac{1}{4}$ % Aretan.
Hot-water treatment (H.T.) in $\frac{1}{4}$ % Aretan.

derdrukt door verwijdering van alle schubben gevolgd door ontsmetting voor het planten. Hieruit mag worden geconcludeerd dat de tweede verklaring inderdaad de juiste is. Het verdere onderzoek diende dus gericht te zijn op bestrijding van sporen zowel als mycelium in een en dezelfde partij.

Bij knollen lag het voor de hand te zoeken naar een combinatie van de warmwaterbehandeling bij 47 °C met een uitwendige ontsmetting door middel van een oplossing van een kwikbevattende verbinding. Toevoeging van een dergelijk fungicide aan het warme water waarin de knollen worden gedompeld – zoals bij andere bol- en knolgewassen gebruikelijk is om verspreiding van levende *Fusarium*-sporen te voorkomen – brengt alleen dan geen risico mee als de behandeling kort voor de planttijd geschiedt. Wanneer de knollen echter nog enkele maanden moeten worden bewaard, kan de genoemde toevoeging aanleiding geven tot oppervlakkige beschadiging van het knolvlees. Er wordt daarom de voorkeur aan gegeven om de warmwaterbehandeling en de ontsmetting gescheiden toe te passen; deze laatste is ook bij gladiolen met het oog op andere ziekten beslist noodzakelijk.

Wanneer aan bepaalde voorwaarden wordt voldaan kunnen kralen veel hogere temperaturen verdragen dan knollen. De mogelijkheden, die hierin liggen opgesloten, worden onder 4.3.2 besproken.

Bestrijding van sporen die de warmwaterbehandeling hebben overleefd

De onder 4.1.2 (blz. 65) besproken ontsmettingsproeven wezen uit, dat ontsmetting met kwikhoudende oplossingen vlak voor het planten – thans alge-

meen in de praktijk toegepast ter bestrijding van andere gladioleziekten (SCHENK, 1956) – ook aanhangende sporen van brand volledig doodt. Wanneer de sporen in dichte massa's zitten opgesloten in de sori van de schubben, is het echter moeilijker ze alle met een ontsmettingsmiddel te bereiken.

In een oriënterend proefje in 1959 werden met warm water behandelde knollen met sori in de schubben vóór de eigenlijke ontsmetting gedurende 16 uur in water geweekt, in de hoop dat daardoor het kwikbevattende middel beter door zou kunnen dringen. Het aantal nieuwe infecties werd daardoor echter niet verlaagd.

In 1960 stonden zeer zwaar aangetaste knollen van "Dr. Fleming" (10-12 cm) ter beschikking. Bij alle exemplaren kwamen dikwijls grote sori in de schubben voor, bovendien bevatte ongeveer 90% merendeels goed ontwikkelde sori in het knolvlees. Enerzijds werd dit materiaal gebruikt om na te gaan in hoeverre ook de sporen in het knolvlees gevaar opleveren voor nieuwe infecties. In deze serie werden alle schubben voor de warmwaterbehandeling zorgvuldig afgepeld; enkele knollen met sori in de blaadjes van de jonge knop werden verwijderd. Anderzijds werd aan de resterende, niet kaal gemaakte knollen onderzocht of een langdurige ontsmetting voor het planten met een

TABEL 23. Het optreden van nieuwe brandinfecties (S1) na warmwaterbehandeling van gladioleknollen met sori in de schubben en het knolvlees en de invloed van een ontsmetting voor het planten. Som van twee herhalingen, 2 maal 50 knollen per behandeling.

New smut infections (S1) after hot-water treatment of gladiolus corms with sori in the scales and the corm flesh, and its control by a pre-planting disinfection. Cultivar: 'Dr. Fleming' (10-12 cm), all corms with sori in the scales and about 90% also with sori in the flesh; sum of two replicates, twice 50 corms per treatment.
Panosan: methylmercury dicyaandiamide (1,2% Hg).

Warmwaterbehandeling op 2 maart <i>Hot-water treatment on 2nd March</i>	Ontsmetting voor het planten op 21 april <i>Pre-planting disinfection on 21st April</i>	Totaal aantal planten <i>Total number of plants</i>	Aantal S2-planten <i>Number of S2-plants</i>	Microsc. onderzoek (S.M.) na het rooien van knollen > 8 cm <i>Microsc. examination (S.M.) after lifting of corms > 8 cm</i>	
				aantal number	aantal met myce- lium number with mycelium
Knollen met schubben <i>Corms with scales</i>					
60 min. 47°C	—	87	0	128	19
60 min. 47°C	Panosan 0,3%, $\frac{1}{2}$ u./hour	95	0	146	5
60 min. 47°C	Panosan 0,1%, 24 u./hours	96	0	141	3
Onbehandeld/Control	—	96	96	0	—
Knollen zonder schubben <i>Corms without scales</i>					
60 min. 47°C	—	61	0	56	1
60 min. 47°C	Panosan 0,3%, $\frac{1}{2}$ u./hour	76	0	78	0
60 min. 47°C	Panosan 0,1%, 24 u./hours	80	0	82	0
Onbehandeld/Control	—	92	86	0	—

lage concentratie van de kwikverbinding een betere bestrijding van nieuwe infecties door sporen in schubsori zou kunnen geven dan de standaardontsmetting (in dit geval met Panosan $1/3\%$, $1/2$ uur).

De warmwaterbehandeling vond plaats op 2 maart 1960 en de ontsmetting vlak voor het planten op 21 april. Nadere gegevens over de opzet van de proef zijn vermeld in de toelichting bij tabel 23.

Te velde werden uitsluitend in de niet met warm water behandelde partijen S2-planten waargenomen. Uit het resultaat van het microscopische onderzoek (S.M.) na het rooien in de groep zonder schubben blijkt, dat de sori in het knolvlees, die niet door het fungicide konden worden bereikt en dus levende sporen bevatten, geen nieuwe infecties hadden doen ontstaan. Uitsluitend wanneer de knolschubben niet waren verwijderd werd in een aantal gevallen mycelium in de geoogste knollen waargenomen. De toegepaste ontsmettingen hadden dit tot een minimum beperkt, waarbij tussen de standaardbehandeling en de langdurige dompeling geen betrouwbare verschillen bestonden.

De kritische waarnemer, die mocht opmerken dat volledige bestrijding dus blijkbaar onbereikbaar is, dient het volgende te overwegen. In de praktijk is nog nooit een zo hevig aangetaste partij waargenomen, als voor deze proeven werd gebruikt. In de regel bedraagt het percentage zieke planten te velde minder dan een procent. Door de Bloembollenkeuringsdienst werd in de afgelopen jaren slechts eenmaal tijdens de bewaring een partij grootbloemige gladiolen gevonden waarin schubsori voorkwamen.

Het is dan ook duidelijk, dat na toepassing van een warmwaterbehandeling, gevolgd door de normale ontsmetting voor het planten, met het optreden van brand geen rekening meer behoeft te worden gehouden.

4.3.2. MAATREGELEN TER VOORKOMING VAN S1 EN S2 BIJ KRALEN

In Florida en Californië heeft men het afgelopen decennium een methode van warmwaterbehandeling ontwikkeld, waardoor gladiolekralen bijna volledig van parasitaire schimmels kunnen worden bevrijd (BALD, 1956; ROISTER et al., 1957). Tijdens het onderzoek over de brandziekte werden de mogelijkheden onderzocht die deze bestrijdingswijze onder Nederlandse omstandigheden bood. Hierbij bleek, dat de in Amerika toegepaste behandeling gedurende een half uur bij 135°F (circa 57°C) in ons land meestal tot ernstige beschadiging van de kralen leidt, zodat deze hier niet in aanmerking komt om op grote schaal te worden toegepast. Daar echter door een half uur dompelen bij 53°C reeds vrijwel volledige bestrijding van *Septoria gladioli* en *Stromatinia gladioli* wordt bereikt, terwijl *Fusarium oxysporum* f. *gladioli* beter wordt bestreden dan door de tot nu toe geadviseerde ontsmetting met kwikhoudende middelen voor het planten, liggen hier toch goede mogelijkheden voor de Nederlandse gladiolecultuur (SCHENK, 1959, 1960 a, 1960 b, 1961).

De eigenlijke behandeling vindt plaats in januari; de kralen worden dan twee dagen geweekt, vervolgens een half uur in water van 53°C (eventueel 55°C) gebracht, daarna snel afgekoeld in koud water, gedroogd en tot de planttijd koel bewaard.

Nadat gebleken was, dat de brandsporen een behandeling bij 47°C kunnen overleven, was het gewenst, met het oog op de bovengenoemde bestrijdingsmethode een onderzoek in te stellen naar de thermoresistentie van deze orga-

TABEL 24. Thermoresistentie van droge en in water geweekte brandsporen. Het effect van de behandeling bij hoge temperatuur werd nagegaan door gladiolkralen voor het uitzaaien in vacuum te inoculeren met behandelde sporen, waarna in het daaropvolgende groeiseizoen het al of niet optreden van infectie werd vastgesteld.
Heat resistance of dry and water-soaked smut spores. The effect of the treatment at high temperatures was studied by vacuum-inoculation of gladioluscormels ('Dr. Fleming') with treated spores (500 per mm²) and the incidence of infections in the next season.

Behandeling van de sporen <i>Treatment of the spores</i>	Sporen droog / Spores dry			Sporen in water (na 24 uur weken) <i>Spores in water (after soaking for 24 hours)</i>		
	Totaal aantal planten <i>Total number of plants</i>	% met sori in ondergr. % with sori in underground parts	Microsc. onderz. van 100 knollen (S.M.) <i>Microsc. examination of 100 corms (S.M.)</i>	Totaal aantal planten <i>Total number of plants</i>	% met sori in ondergr. % with sori in underground parts	Microsc. onderz. van 100 knollen (S.M.) <i>Microsc. examination of 100 corms (S.M.)</i>
Onbehand./Control	93	62		137	81	
30 min. 47°C	120	73		146	73	
60 min. 47°C	126	72		119	71	
30 min. 50°C	117	95		148	41	
30 min. 53°C	142	80		148	0	0
30 min. 55°C	129	83		133	0	0
30 min. 57°C	158	79		124	0	
30 min. 60°C	139	71		122	0	
30 min. 70°C	153	1		114	0	
30 min. 80°C	128	2	0	117	0	
30 min. 90°C	119	0	0	103	0	

nen. In een in 1958 op kleine schaal genomen oriënterende proef bleken zowel droge als voorgeweekte sporen een behandeling gedurende een half en een uur bij 51 °C te kunnen overleven.

In 1959 werden sporen gedurende verschillende tijden bij hoge temperaturen behandeld in dunwandige glazen buisjes, gedeeltelijk na 24 uur voorweken in water, gedeeltelijk droog. De inhoud van de buisjes werd na afloop gesuspenderd in 1% methylcellulose, zodanig dat een concentratie van 500 sporen/mm³ werd verkregen. Kralen van "Dr. Fleming" werden hiermee in vacuüm geïnoculeerd en buiten uitgezaaid. Dank zij de voor brandinfectie zeer gunstige omstandigheden in de zomer van 1959 werden bij het rooien in veel partijtjes zeer opvallende S1-symptomen op de ondergrondse delen gevonden. De macroscopische beoordeling gaf in dit geval voldoende gegevens. Uitsluitend van de behandelingen bij de twee laagste temperaturen, waar geen of nauwelijks infectie meer werd gevonden, werden ook 100 knollen microscopisch (S.M.) onderzocht.

Uit het in tabel 24 samengevatte resultaat blijkt, dat droge sporen de behandeling gedurende een half uur bij 60 °C gemakkelijk hadden overleefd en dat ze bij 70 en 80 °C nog niet alle waren gedood. Dat voorgeweekte sporen de behandeling gedurende een half uur bij 53 °C al niet meer bleken te kunnen verdragen, was een prettige verrassing die de natuur had weggelegd. Verwacht mocht worden dat de tegen andere ziekten ontwikkelde methode van warmwaterbehandeling van de kralen zonder meer ook op brand van gladiolen toegepast zou kunnen worden.

Warmwaterbehandeling van kralen bij 53 en 55 °C

Gelijktijdig met de hiervoor beschreven proef werden "Dr. Fleming"-kralen – afkomstig van besmet terrein en met dikwijls grote sori in de schubben – gebruikt om de mogelijkheid van een gecombineerde bestrijding van brandsporen en -mycelium door middel van een warmwaterbehandeling bij 53 en 55 °C te onderzoeken. De gegevens over de opzet van de proef zijn vermeld in de

TABEL 25. Warmwaterbehandeling van gladiolekralen ter voorkoming van S2 en tegelijkertijd van nieuwe infecties door in het plantmateriaal aanwezige brandsporen. De kralen werden voor de behandeling op 12 januari 1959 twee dagen in water gekweekt. Gemiddelden van vier herhalingen, 4 maal 50 gram kralen per behandeling.
Hot-water treatment of gladiolus cormels to control both S2 and new infections by smut spores present in the plant material. The cormels, many of them with sori in the scales, were soaked in water for 48 hours prior to hot-water treatment on 12th January, 1959. Cultivar 'Dr. Fleming', means of four replicates, each of 50 gm cormels.

Warmwater-behandeling <i>Hot-water treatment</i>	Totaal aantal planten <i>Total number of plants</i>	% S2-planten <i>% S2-plants</i>	Microscopisch onderzoek (S.M.) na het rooien (4 × 50 knollen): % met mycelium <i>Microsc. examination (S.M.) after lifting (4 × 50 corms): % with mycelium</i>	Tweede groeiseizoen (4 herhalingen tezamen) <i>Second growing season (4 replicates together)</i>	
				Totaal aantal planten <i>Total number of plants</i>	% S2-planten <i>% S2-plants</i>
30 min. 53 °C	197	0	0,5	204	0
30 min. 55 °C	175	0	0,5	231	0,4
120 min 48 °C	183	0	—	329	4,3
Onbeh. Control	149	10,8	9,5	260	7,0

toelichting bij tabel 25. In de zomer van 1959 werden de aanwezige S2-planten verwijderd en na het rooien op 30 oktober werden van enkele behandelingen 4×50 knollen met behulp van de S.M. op aanwezigheid van mycelium onderzocht. In 1960 werd een deel van de knollen weer opgeplant om te velde het percentage S2-planten vast te kunnen stellen. De uitkomsten van deze proef bewijzen, dat zowel het mycelium als het merendeel der sporen door de warmwaterbehandeling bij 53 en 55 °C waren gedood. Een behandeling gedurende twee uur bij 48 °C werd gevolgd door talrijke nieuwe infecties.

Wanneer de warmwaterbehandeling bij 53 °C om de een of andere reden niet toegepast kan worden, zal men terug moeten vallen op de behandeling zoals die ook voor de knollen wordt geadviseerd. Het is in dat geval echter gewenst om een langdurige ontsmetting toe te passen, daar sori in de dikke schubben van kralen nog moeilijker getroffen worden dan bij knollen het geval is. In een hier niet nader te beschrijven proef werd het optreden van nieuwe infecties vrijwel geheel voorkomen door gedurende twee uur in warm water van 48 °C behandelde kralen voor het planten tien uur te dompelen in een oplossing van een van de gebruikelijke kwikbevattende fungiciden.

4.4. BESTRIJDING BIJ VROEGBLOEIENDE GLADIOLLEN

In de winter van 1957-1958 stonden knollen van de vroegbloeiende cultivar "Peach Blossom" ter beschikking, waarvan bij microscopisch onderzoek (S.M.) van 100 knollen was gebleken, dat circa 15% mycelium van de brandschimmel bevatte. In de meeste aangetaste exemplaren kwamen tevens sori in het knolvlees voor. Vlak voor het planten op 21 december werden ze behandeld volgens de in de toelichting bij tabel 26 verstrekte gegevens.

Uit de in 1958 gegeven standcijfers blijkt, dat de warmwaterbehandeling in alle gevallen ernstige schade had veroorzaakt. Ontsmetting in $1/4\%$ Aretan direct na de dompeling in warm water verminderde de ongewenste gevolgen in sterke mate, doch maakte deze niet ongedaan (vergelijk 1 uur 47 °C in de series 1 en 2). De oogstcijfers laten zien, dat het totale aantal gerooide knollen in enkele gevallen zelfs hoger was dan in onbehandelde objecten; ze waren echter slecht gegroeid en klein van stuk. In de zomer van 1958 werden na warmwaterbehandeling geen S2-planten gevonden; hier mogen echter geen conclusies aan worden verbonden, daar waarschijnlijk in de eerste plaats de door brand geïnfecteerde en verzwakte knollen, waarvan het grootste deel sori in het vlees bevatte, door de behandeling zullen zijn gedood.

In december 1958 werden alle partijtjes gedurende een half uur ontsmet in $1/3\%$ Panosan en opnieuw uitgeplant, waarna in de zomer van 1959 het percentage S2-planten werd vastgesteld. Toen bleek het effect van de in december 1957 gegeven behandeling. De nakomelingen van knollen die destijds met formaline of met Aretan waren ontsmet vertoonden vrijwel geen planten met sori in de bladeren. De controlegroepen onbehandeld-Aretan en formaline-onbehandeld waren zelfs geheel vrij van brand. In 1959 was in serie 2, waar in december 1957 geen ontsmetting was toegepast, 2,9 tot 4,8% van het aantal planten bovengronds zichtbaar aangetast.

Ongeveer 2000 knollen van serie 2 werden nog een jaar nageteeld, om na te kunnen gaan of ook de in december 1958 gegeven ontsmetting het optreden

TABEL 26. De invloed van warmwaterbehandeling en ontsmetting vlak voor het planten op de groei van het gewas en de aantasting door brand bij de vroegbloeiende cultivar "Peach Blossom". Bij microscopisch onderzoek (S.M.) van 100 knollen in de winter van 1957 bleken 15 mycelium te bevatten, waaronder 13 met dikwijls grote sori in het knolvlees. Gemiddelden van twee herhalingen, 2×150 knollen per behandeling in 1957.
The effect of hot-water treatment and disinfection just before planting on 21st December, 1957, on growth and attack by the smut fungus in the early flowering cultivar 'Peach Blossom'. Microscopical examination (S.M.) of 100 corms in the winter of 1957 revealed 15 with mycelium, including 13 with sori in the flesh. Means of two replicates, twice 150 corms per treatment in 1957.

Serie Series	Behandeling in winter 1957-1958 Treatment in winter 1957-1958	Zomer 1958 / Summer 1958			Aantal knollen geplant (winter 1958-1959) Number of corms planted (winter 1958-1959)	Zomer 1959 % S2-planten Summer 1959 % S2-plants
		Gemiddeld standcijfer op 17 juli ¹ Mean crop-rating on 17th July	% S2-planten % S2-plants	Totaal aantal knollen gerooid Total number of corms lifted		
1	30 min. 47°C-Aretan ²	8	0	568	508	0,8
	60 min. 47°C-Aretan	6,5	0	344	306	0
	90 min. 47°C-Aretan	3	0	135	105	0,5
	Controle-Aretan	10	5,7	414	208	0
2	Control-Aretan					
	60 min. 45°C	9	0	384	241	2,9
	60 min. 46°C	5	0	238	158	3,2
	60 min. 47°C	1	0	13	0	-
3	Onbehandeld/Control	10	5,7	330	168	4,8
	Formaline ³ -30 min. 47°C	5	0	221	180	0,6
	Formaline-60 min. 47°C	0,5	0	0	0	-
	Formaline-90 min. 47°C	0	0	0	0	-
	Formaline-control	10	7,0	357	272	0
	Formalin-control					

¹ Stand gewaardeerd volgens een index van 1 (slechts enkele planten per veldje, zeer vertraagde opkomst) tot en met 10 (normale, snelle opkomst, vol gewas).

² Crop-rating by an arbitrary index from 1 (only a few plants, delayed sprouting) to 10 (full crop, normal sprouting).

³ Na de warmwaterbehandeling een half uur ontsmet in $\frac{1}{4}$ % Aretan.

⁴ Dipped in $\frac{1}{4}$ % Aretan for half an hour after hot-water treatment.

⁵ Voor de warmwaterbehandeling 10 uur ontsmet in $\frac{1}{4}$ % handelsformaline.

⁶ Dipped in $\frac{1}{4}$ % formalin for 10 hours before hot-water treatment.

van S2-planten in het tweede seizoen na de behandeling zou onderdrukken. In de zomer van 1960 werden slechts twee planten met sori in de bladeren waargenomen.

Wanneer dus de knollen van vroegbloeiende gladiolen voor het planten worden ontsmet met een kwikhoudende vloeistof en in het daaropvolgende groeiseizoen zorgvuldig alle planten met sori in een of meer van de spruiten geheel worden verwijderd (en niet uitsluitend de aangetaste spruiten, daar anders knollen in S2U achter kunnen blijven), zal de oogst van dit gewas nage-nog vrij van brand zijn. Het is interessant op te merken, hoe licht de arge-loze gladioteler wordt misleid. In het seizoen volgende op de behandeling ziet hij immers geen enkel resultaat, daar in ontsmette partijen het optreden van S2 niet wordt onderdrukt. Als hij dan het volgende jaar, door ervaring "wijs" geworden, de ontsmetting maar achterwege laat, is de ziekte plotseling verdwenen. Zijn conclusie ligt dan voor de hand.

Verder onderzoek wees uit, dat de nadelige gevolgen van een warmwater-behandeling bij de vroegbloeiende gladiolen sterk konden worden beperkt door de knollen na het rooien bij 20 °C te bewaren en de behandeling toe te passen in de eerste maanden na de oogst. Toevoeging van kwikhoudende mid-delen aan het warmwaterbad leidde tot duidelijke stagnatie van de groei, zodat de ontsmetting evenals bij de grootbloemige gladiolen uitgesteld moest worden tot vlak voor het planten. Ook wanneer al deze voorzorgen in acht werden ge-nomen was de groei echter dikwijls minder gunstig, vooral doordat meer knop-pen uitliepen dan normaal waardoor meer doch slecht gegroeide knollen wer-den geoogst.

In een proef op kleine schaal werden op deze wijze analoge resultaten ver-kregen als bij grootbloemige gladiolen. Knollen van "Peach Blossom" en "Spitfire", met sori in knolschubben en -vlees, werden na bewaring bij 20 °C op 24 november 1958 gedurende een half uur bij 46 °C behandeld.

In deze proef werd het optreden van S2 door de behandeling onderdrukt. Nieuwe infecties traden uitsluitend op als een warmwaterbehandeling was toe-gepast; in tegenstelling tot de in tabel 23 (blz. 80) vermelde resultaten bij grootbloemige gladiolen, was dit ook het geval als de schubben voor de behan-deling zorgvuldig waren verwijderd en de partijtjes voor het planten werden ontsmet. Blijkbaar waren de niet door de ontsmetting gedode sporen in het knolvlees er in deze proef wel in geslaagd om soms infectie teweeg te brengen. In deze groep gladiolen ontstaan dikwijls grote sori vlak onder de epidermis van de knollen. Als deze openbreken doordat het bedekkende weefsel verteert of de moederknol wordt samengedrukt tussen de zich ontwikkelende dochter-knollen, zal gemakkelijk infectie tot stand kunnen komen. Juist na toepassing van een warmwaterbehandeling kan dit een reëel gevaar gaan vormen, daar dan het optreden van S2-spruiten uit knollen met sori geheel of gedeeltelijk wordt voorkomen. De jonge knollen worden echter, ondanks de ontsmetting, opnieuw geïnfecteerd. De gecombineerde behandeling leidt dus slechts tot uitstel van executie van een jaar.

Een volgend bezwaar tegen de warmwaterbehandeling in deze groep gla-diolen is echter, dat zij dikwijls het optreden van S2 onvoldoende bleek te on-derdrukken. Een van de proeven, waarin dit werd waargenomen, wordt hier nader besproken.

In september 1959 werden partijen van verschillende cultivars, waarin tij-

dens de voorafgaande groeiperiode brand was geconstateerd, in drie groepen verdeeld. Deze werden behandeld volgens de gegevens in tabel 27. In de zomer van 1960 werden de S2-planten verwijderd. Het percentage aangetaste exemplaren bleek hier, evenals in de in tabel 26 beschreven proef, veel lager te liggen dan op grond van het microscopische onderzoek voor het planten mocht worden verwacht. Blijkbaar waren veel door brand aangetaste knollen zodanig verzwakt dat ze niet meer uitliepen. Het percentage S2-planten was in de thans besproken proef in ontsmette, niet met warm water behandelde objecten, ongeveer het dubbele van dat in onbehandelde groepen; vermoedelijk speelden andere parasitaire organismen ook een rol bij het geheel wegvallen van brand-zieke knollen.

Na warmwaterbehandeling werden toch nog vrij veel S2-planten gevonden. Bij het onderzoek van deze exemplaren werden bijna altijd sori gevonden in het weefsel van de moederknol, grenzend aan de plaats waar de S2-spruit was ingeplant. Het lijkt daarom waarschijnlijk, dat het mycelium plaatselijk de behandeling heeft overleefd, misschien doordat de droge sporenmassa isolerend werkte, zodat de temperatuur onvoldoende kon doordringen of doordat het knolweefsel met mycelium in de nabijheid van de sori te sterk was uitgedroogd.

Samenvattend blijkt dus, dat toepassing van warmwaterbehandeling bij vroegbloeiende gladiolen de volgende bezwaren heeft:

- a. Het optreden van S2 wordt dikwijls onvoldoende onderdrukt.
- b. In veel gevallen treedt beschadiging op.
- c. Na toepassing van een warmwaterbehandeling is de kans op nieuwe infecties veel groter dan bij grootbloemige gladiolen, waarschijnlijk doordat deze ook door de sporen in oppervlakkig in het knolvlees gelegen sori veroorzaakt kunnen worden.

De bestrijding vindt in dit geval het beste plaats door ontsmetting vlak voor het planten met een oplossing van kwikbevattende organische fungiciden, gecombineerd met zorgvuldige verwijdering van alle geheel of gedeeltelijk aangetaste planten in het daaropvolgende groeiseizoen.

TABEL 27. Het effect van warmwaterbehandeling enkele weken na het rooien en ontsmetting vlak voor het planten op de brandaantasting in verschillende partijen knollen van vroegbloeiende cultivars.
The effect of hot-water treatment some weeks after lifting, and of disinfection just before planting on the development of the smut disease in different stocks of corms of early flowering gladiolus cultivars.

Partij en aantal knollen per behandeling Stock and number of corms per treatment	Voor het planten, % met mycelium ¹ Before planting, % with mycelium	Warmwater- behandeling ² Hot-water treatment	Ontsmetting vlak voor het planten ³ Disinfection just before planting	S2-planten, in % van aantal geplante knollen S2-plants in % of corms planted	Microscopisch onderzoek (S.M.) na het rooien Microscop. examination (S.M.) after lifting	
					Aantal knollen Number of corms	% met mycelium % with mycelium
"Nymph" (7-8 cm) 750	0	- - +	- + +	0,4 0,3 0		
"Nymph" (6-7 cm) 3595	7	- - +	- + +	0,2 0,6 0,1	100	0
"Nymph" (> 5 cm) 625	3	- - +	- + +	1,3 1,8 0,3	100	0
"Peach Blossom" (> 5 cm) 605	7	- - +	- + +	1,3 1,8 0,2	200 300 100	4 0 0
"Peach Blossom" (< 5 cm) 1050	0	- - +	- + +	0,1 0,3 0	100 300 100	3 0 0
"Succes" (> 5 cm) 1155	0	- - +	- + +	0,4 1,2 0,3	100 300 100	3 0 0
Gewogen gemiddelde van alle partijen Weighted mean of all stocks	3,9	- - +	- + +	0,41 0,81 0,14		

¹ Van iedere partij 30 knollen microscopisch (S.M.) onderzocht/30 corms of each stock examined microscopically (S.M.).

² + : warmwaterbehandeling toegepast gedurende 45 min. bij 47 tot 47,5°C op 4 september 1959.

+ : hot-water treatment for 45 min. at 47 to 47,5°C on 4th September, 1959.

³ + : ontsmetting gedurende 1 uur in Panosan 0,2% (plantdatum van enkele partijen 12 november en van andere 16 december).

+ : disinfection for 1 hour in Panosan 0.2% (planting date of some stocks 12th November and of others 16th December).

SAMENVATTING

In deel 1 wordt de aanleiding tot het onderzoek naar biologie en bestrijding van *Urocystis gladiolicola* Ainsw. op gladiolen besproken en een kort overzicht gegeven van de geschiedenis van de ziekte en van de identiteit en nomenclatuur van de parasiet; enkele opmerkingen over de teelt van gladiolen dienen tot een beter begrip van het daaropvolgende betoog.

De symptomen, die in de onderscheidene stadia van de ziekte optreden, zijn in deel 2 uitvoerig beschreven. De met brandsporen gevulde sori van de schimmel kunnen voorkomen in de blad- en stengeldelen van de gladiool. Eerst wanneer de bladeren bovengronds zichtbaar worden aangetast, wordt de groei van de waardplant in meer of minder ernstige mate belemmerd. Zowel bij grootbloemige als vroegbloeiende gladiolen leidt infectie door brand dikwijls tot breking van de rust van slapende of pas gevormde knoppen; soms ontstaan tengevolge daarvan opvallende misvormingen en sporadisch ook heksenbezemachtige verschijnselen. Verschillende malen is waargenomen, dat brandzieke gladioleplanten of -knollen tegelijkertijd door andere parasieten van dit gewas kunnen worden aangetast.

Deel 3 behandelt de resultaten van het onderzoek naar de biologie van de brandzwam van gladiolen.

In 3.1 wordt eerst de methode (standaardmethode, S.M.), die het mogelijk maakte latent in de ondergrondse weefsels van de waardplant aanwezig mycelium van de parasiet microscopisch aan te tonen, uitvoerig beschreven. De uitbreiding van de schimmel in het knolweefsel werd beoordeeld aan de hand van een indeling in vier aantastingstypen (zie fig. 4); de mate van aantasting van een zieke knol werd vastgelegd in een aantastingscijfer, dat correspondeerde met het nummer van het betreffende aantastingstype.

Het verloop van de ziekte, zoals dat op grond van de proeven kon worden bepaald, is schematisch in fig. 6 weergegeven. Brandsporen tussen of in de knolschubben van het plantmateriaal of in de grond, waar gladiolen worden geteeld, kunnen in de loop van het groeiseizoen aanleiding geven tot infectie. Onder de klimatologische omstandigheden in ons land slaagt de parasiet er zelden in reeds in het eerste jaar tot in de bovengrondse bladachtige delen door te dringen. Uitsluitend bij planten groeiende uit kralen kunnen soms in de loop van augustus of september sori in de bladeren worden waargenomen. Bij het rooien worden dikwijls sori aangetroffen in de stolonen, kralen en knolschubben en soms ook in het knolvlees. Als dit laatste niet het geval is, is het mycelium van de brandschimmel toch vaak in de knollen aanwezig; het vlees van knollen met sori in de schubben is daarentegen soms vrij van de parasiet. De mate van aantasting direct na de oogst is onder natuurlijke omstandigheden bij de nakomelingen van grote knollen gewoonlijk van het type 1 of 2, bij die van kralen varieert dit van 1 tot 4. Het hiervoor beschreven gedeelte van het ziekteverloop wordt aangeduid met het symbool S1 (*eerstejaarsstadium*).

Het daarop volgende stadium, S1B, omvat de ontwikkeling tijdens de bewaring van de droge knollen. De schimmel blijkt dan, afhankelijk van de bewaartemperatuur, langzaam verder in het knolvlees door te kunnen dringen.

Als de parasiet bij het planten reeds in de jonge knoppen op de top van de knol aanwezig is, geven de spruiten na opkomst spoedig symptomen in de bla-

deren te zien; ze sterven in de loop van een aantal weken af en rotten weg, waarbij de sporen vrij komen. Naarmate het mycelium in de knollen bij het planten een grotere afstand af moeten leggen alvorens het vegetatiepunt te bereiken, treden de symptomen in de bovengrondse delen later in het seizoen op en wordt de groei van de waardplant minder door de ziekte beïnvloed. Soms worden zelfs uitsluitend in de bloeiwijze sori gevormd. Wanneer de aantasting in het tweede groeiseizoen in de bovengrondse delen zichtbaar tot uiting komt, wordt gesproken van S2 (*tweedejaarsstadium*).

Ook komt het voor, dat bij planten uit zieke knollen van het type 1 of 2 in het geheel geen symptomen in de bladeren te voorschijn treden. Bij microscopisch onderzoek na het rooien blijkt de schimmel dan dikwijls tot in de jonge knollen te zijn doorgedrongen; soms zijn in de ondergrondse delen sori gevormd, op dezelfde wijze als dit aan het einde van S1 het geval kan zijn. Wanneer de ziekte op deze wijze verloopt, wordt gesproken van S2U (*uitgesteld tweedejaarsstadium*).

Tenslotte is de mogelijkheid aanwezig, dat het mycelium in zieke knollen er niet in slaagt voor het einde van het groeiseizoen de jonge delen van de waardplant te bereiken. De jonge knollen ontsnappen dan aan de aantasting.

Bij de vroegbloeiende cultivars lopen gewoonlijk twee tot vijf knoppen van de moederknol uit, waaronder ook basaal ingeplante. De kans dat een knol met mycelium alleen spruiten zonder sori vormt, mag vrijwel worden uitgesloten. De plant als geheel valt dan altijd in S2. Wanneer echter uitsluitend wordt gelet op individuele spruiten, blijkt S2U in deze groep gladiolen zeer veel voor te komen.

Onder 3.2 wordt de invloed van de inoculatiemethode, de sporenconcentratie en het tijdstip van inoculatie op de aantasting besproken. Geen infectie treedt op wanneer de sporen aan de basis van de moederknol of in een holte in het knolvlees of met een injectienaald in de jonge knop worden gebracht. Zij moeten zich uitwendig in de nabijheid van de knoppen bevinden om infectie tot stand te kunnen brengen.

Het percentage en de mate van aantasting zijn in sterke mate afhankelijk van inoculatiemethode, sporenconcentratie, cultivar, plantmateriaal (kralen of knollen) en bodemtemperatuur. Vooral na inoculatie onder vacuüm in een sporensuspensie in 1% methylcellulose met 300 tot 500 sporen/mm³, is het percentage infectie meestal hoog en de aantasting zeer zwaar. Bij planten uit knollen van grootbloemige gladiolen kunnen dan dikwijls in augustus of september symptomen in de binnenste bladeren en de bloeiwijze worden gevonden. Als de knollen op natuurlijker wijze worden besmet, b.v. door ze te schudden met sporenpoeder, komen deze symptomen in S1 zelden voor.

Infectie vindt plaats in de stolonen, kralen en knolschubben binnen enkele weken nadat deze delen met brandsporen in contact zijn gebracht. Gewoonlijk groeit het mycelium via de stolonen tot in het verbindingsstuk van oude en jonge knol, om vervolgens de weefsels van deze organen te doorwoekeren. Naarmate de parasiet het knolvlees eerder bereikt is het aantastingscijfer bij het rooien hoger.

Wanneer in vacuüm geïnoculeerde knollen worden geplant bij optimale bodemtemperatuur, dringt de schimmel na infectie in de buitenste twee of drie basaal ingeplante schedelbladeren door tot in de jonge, nog zeer kleine knol. In een onder deze omstandigheden uitgevoerde proef kon reeds zeven weken na

het planten volop mycelium in de vegetatiepunten worden aangetoond. De buitenste twee of drie hoger op de knol ingeplante loofbladeren zijn in dat stadium reeds uitgegroeid, doch alle daarbinnen gelegen delen voeren naderhand de parasiet mee omhoog. Dit heeft tot gevolg dat in de laatste maanden van de groeiperiode de binnenste bladeren en de bloeiwijze van de plant sori te zien geven. Het feit, dat in de zomer van 1959 planten uit in vacuüm geïnoculeerde knollen in hevige mate bovengronds S1-symptomen vertoonden, wordt verklaard door de ongewoon hoge bodemtemperaturen, die al in het begin van de groeiperiode werden geregistreerd.

In 3.3 wordt de invloed van het milieu op de onderscheiden stadia van de ziekte behandeld. Plantdatum, plantdiepte, bemesting en rooidatum bleken geen duidelijke invloed op de mate van aantasting in S1 te hebben.

De resultaten van een proef met in vacuüm geïnoculeerde knollen, die bij verschillende bodemtemperaturen in droge, matig vochtige en vochtige grond werden geplant, leidden tot de conclusie, dat het vochtgehalte van de grond een ondergeschikte rol speelt bij het tot stand komen van S1. Bij 12 en 16 °C was de aantasting in droge grond iets heviger dan onder vochtiger omstandigheden. Bij 20 °C speelde de invloed van het vochtgehalte geen rol van betekenis. De bodemtemperatuur daarentegen is verreweg de belangrijkste factor bij het tot stand komen van de infectie en het verdere verloop van de aantasting. Een temperatuur van 20 °C bleek optimaal te zijn voor de ontwikkeling van de ziekte, hetgeen tot uiting kwam in een sterke ontwikkeling van sori in kralen, knolschubben en -vles en een hoog aantastingscijfer van de jonge knollen. Bij 16 °C was het verloop minder hevig; in de genoemde proef werden sori uitsluitend waargenomen in de kralen en knolschubben. In grond van 12 °C trad wel infectie op, doch in lichte mate; sorusvorming kwam dan nauwelijks voor en het gemiddelde aantastingscijfer na het rooien was laag. Bij 24 °C en hoger zag de schimmel nauwelijks of geen kans om in de plant binnen te dringen.

De temperatuur tijdens bewaring van zieke knollen in S1B bepaalt of in dit stadium verdere groei van het mycelium plaats vindt. Tussen 13 en 20 °C bleek de schimmel meestal in de loop van enkele maanden tot in het vegetatiepunt op de top van de knol door te dringen. Bij 25½ en 9 °C was de groei, indien deze al plaats vond, nog veel langzamer. Vorming of uitbreiding van sori werd in dit stadium, althans bij grootbloemige gladiolen, niet waargenomen.

Ook de ontwikkeling van de ziekte in S2 is zeer sterk afhankelijk van de bodemtemperatuur. Planten uit knollen met aantastingstype 4 gaven na uitplanten in grond van 12, 16 of 20 °C al direct na opkomst symptomen te zien. Bij 24, 28 en 32 °C was de ontwikkeling van de planten gedurende de gehele groeiperiode gelijk aan die van gezonde exemplaren. Bij 24 °C drong het mycelium van de parasiet langzaam door tot in de jonge knollen en de stolonen, zonder tot vorming van sori over te gaan. Na het rooien was het aantastings-type van de bij deze temperatuur gevormde jonge knollen 3 tot 4.

Bij een bodemtemperatuur van 24 °C trad S1 dus niet of nauwelijks op, doch eenmaal in de knollen aanwezig mycelium kon zich latent in de waardplant handhaven. Knollen, bij een bodemtemperatuur van 28 of 32 °C gevormd op moederknollen met een aantasting van het type 4, bleven geheel vrij van de parasiet. In knollen met een laag aantastingscijfer drong de schim-

mel bij 12 en 16 °C waarschijnlijk langzamer tot in de jonge delen door dan bij 20 °C.

De ontwikkeling van S2 of S2U, dan wel een algehele ontsnapping van de waardplant aan de ziekte, wordt dus bepaald door het aantastingstype van de knollen bij het planten – en dus, afhankelijk van de knolgrootte, door de afstand die het mycelium dan nog af moet leggen alvorens de jonge weefsels te bereiken – en de bodemtemperatuur.

In 3.4 wordt de invloed van de verschillende stadia van de ziekte op de ontwikkeling van de gladiool behandeld. Zolang de aanwezigheid van de schimmel beperkt blijft tot de ondergrondse delen van de waardplant, is er niet of nauwelijks sprake van belemmering van de groei. In S2 en eventueel S1 zijn de gevolgen ernstiger naarmate de parasiet vroeger in het groeiseizoen tot in de bovengrondse delen weet door te dringen.

Onder 3.5 wordt een overzicht gegeven van de *Gladiolus*-species en de cultivars uit de grootbloemige en vroegbloeiende groepen, waarin vatbaarheid voor brand is geconstateerd. Op grond van de resultaten van een inoculatieproef met 57 grootbloemige cultivars mag worden aangenomen, dat circa 50% van de in cultuur zijnde rassen in deze groep vatbaar is voor brand. In de praktijk heeft men de ziekte slechts waargenomen in een zeer klein deel daarvan. Blijkbaar vormt de brandziekte van gladiolen onder Nederlandse omstandigheden dus geen werkelijke bedreiging voor de teelt van dit gewas.

In 3.6 wordt de parasiet nader besproken. Ondanks vele pogingen daartoe lukte het niet sporenkieming in vitro tot stand te brengen. Wanneer de sporen echter in nauw contact worden gebracht met de vatbare delen van de groeiende waardplant, kiemen ze – zij het in gering aantal – binnen 14 dagen. De infectiehyfen groeien over de epidermis en dringen, via de cuticula en de middenlamellen van de opperhuidcellen, tot in de subepidermale laag door. De indruk werd verkregen dat de infectie soms ook via de stomata kan geschieden. Spoedig na vestiging doorwoekert de parasiet het parenchymatische weefsel intercellulair. Voornamelijk van de stolonen uit dringt de schimmel door tot in het knolvlies; vooral in de cellen van dit weefsel worden grillige, vertakte haustoriën gevormd. Als het vegetatiepunt op de top van de knol is bereikt, worden alle hierna afgesplitste bladeren doorwoekerd. In deze organen ontstaan dichte, stromatische schimmelmassa's, die de cellen verdringen en overgaan tot vorming van brandsporen. Sporen die in de grond achterblijven behouden minstens drie jaar hun vermogen tot infectie. Gezien de strenge maatregelen die in ons land tegen gladiolebrand worden getroffen, mag de kans, dat besmette grond een belangrijke rol speelt bij het in stand houden van de ziekte, vrijwel worden uitgesloten.

Deel 4 behandelt de bestrijding van de ziekte.

In 4.1 worden de middelen besproken ter voorkoming van S1. Brandsporen in de grond kunnen met diverse fungiciden worden gedood. Goede resultaten zijn bereikt met formaline, chloorbroompropeen, 3,5-dimethyltetrahydro-1, 3, 5, 2 H-thiadiazine-2-thion, methylisothiocyanaat, hexachloorbenzeen en pentachloornitrobenzeen. Indien men bang is voor het optreden van infecties vanuit de grond, komt vooral het laatstgenoemde middel voor praktische toepassing in aanmerking. Infectie door sporen klevend aan het plantmateriaal kan afdoende worden bestreden door een ontsmetting van de knol-

len vlak voor het planten in een oplossing van een kwikbevattend organisch fungicide.

Verschillende methoden om in het knolvlees aanwezig mycelium van de brandzwam te inactiveren, komen in 4.2 ter sprake. Een warmwaterbehandeling van de knollen gedurende een half tot een uur bij 47 °C onderdrukt het voorkomen van S2-planten bij grootbloemige gladiolen zonder het gewas te beschadigen. Sterk uittroeven van de knollen vóór deze behandeling vermindert de gevoeligheid van de schimmel voor de hoge temperatuur en dient dus te worden vermeden. Evenals het in de embryo's van tarwe en gerst overwinterende mycelium van de stuifbranden, blijkt ook de parasiet in het knolvlees van gladiolen bij lagere temperatuur te worden gedood door een langdurige onderdompeling in water of een anaërobe behandeling. De voor een afdoende bestrijding benodigde tijdsduur van behandeling neemt snel toe, naarmate de temperatuur lager wordt. Het is eveneens mogelijk de brandzwam in de knollen te doden door een droge bewaring gedurende twee tot zes weken bij 34 °C.

In 4.3 wordt aangetoond, dat brandsporen de warmwaterbehandeling bij 47 °C gemakkelijk overleven. Zij kunnen dus in het groeiseizoen, volgende op de doding van het mycelium in het knolvlees, de waardplant opnieuw in S1 brengen. Dit kan worden voorkomen door de met warm water behandelde knollen vlak voor het planten met een kwikbevattende oplossing te ontsmetten. De eventueel in schubsoorten aanwezige compacte massa's sporen worden daardoor echter niet steeds volledig bestreden, zodat na de gecombineerde behandeling soms toch nog enkele nieuwe infecties worden waargenomen.

Droge brandsporen kunnen een behandeling gedurende een half uur bij 60 °C gemakkelijk overleven. Na 24 uur weken in water worden ze echter reeds gedood door een half uur dompelen in water van 53 °C. Wanneer aan een aantal voorwaarden wordt voldaan, kunnen gladiolekralen, na 48 uur te zijn voorgeweekt, een half uur in water van 53 of 55 °C worden gedompeld, zonder dat dit aanleiding geeft tot verminderde opkomst en groei van de planten. Deze behandeling, die thans in de praktijk wordt toegepast ter bestrijding van andere gladioleziekten, voorkomt tegelijkertijd het optreden van S1 zowel als S2 van brand. De bovenvermelde mogelijkheden tot bestrijding gelden uitsluitend voor de grootbloemige gladiolen.

Bij de vroegbloeiende cultivars, die in 4.4 afzonderlijk worden behandeld, heeft toepassing van een warmwaterbehandeling de volgende bezwaren.

- a. Het optreden van S2 wordt dikwijls niet geheel onderdrukt.
- b. De knollen van de vroegbloeiende cultivars worden, in tegenstelling tot die van de grootbloemige, gemakkelijk beschadigd.
- c. De kans op nieuwe infecties is hier veel groter.

In deze groep van gladiolen wordt een geheel of vrijwel geheel afdoende bestrijding bereikt door de knollen voor het planten met een oplossing van een kwikbevattend fungicide te ontsmetten, tijdens het groeiseizoen gevolgd door zorgvuldige verwijdering van alle planten met een of meer bovengronds zichtbaar aangetaste spruiten.

SUMMARY

1. INTRODUCTION

From the point of view of the cultivation of gladioli, smut, caused by *Urocystis gladiolicola* Ainsw. is of minor importance compared with other diseases affecting this crop. As this smut is not endemic in countries outside Europe, strong measures had to be taken by the phytosanitary officials in the Netherlands to prevent exporting diseased corms. Therefore the study of the biology and control of the fungus, about which nothing was yet known, had to be carried out. The great confusion about the identity of this parasite was finalised by the work of AINSWORTH (1949), who described the smut fungus under its present name.

2. SYMPTOMS

2.1. GENERAL SYMPTOMS

The symptoms arising in the different stages of the disease are fully dealt with. The sori of the fungus, filled with a dark brown to black spore dust, are formed in the leaf- and stem-like parts of the host (fig. 1). Infection of the leaves above soil level impedes more or less seriously the growth of the plants.

2.2. SECONDARY EFFECTS

From an analysis of the macroscopically visible symptoms in the sprouts of 765 plants from a stock of heavily diseased *G. × nanus* "Peach Blossom" it is concluded that:

a) diseased corms form more sprouts per plant than healthy ones (table 1), b) within a stock the disease is concentrated in the groups with a higher number of sprouts per plant (fig. 2A and B), c) in most cases only part of the sprouts of a plant show sori in the leaves (table 1); diseased plants with only one affected sprout are more numerous than those with two or more (fig. 2C), d) removal of all plants with one or more sprouts with symptoms, before and during lifting, does not guarantee that the rest of the stock is free of smut (table 2).

Infection by *U. gladiolicola* often breaks dormancy in dormant and newly formed buds in both the early flowering and the large-flowered gladioli. This sometimes gives rise to malformations and sporadically even to witches'-broom like growth in the field and in dry storage (fig. 3).

2.3. SIMULTANEOUS INFECTION BY OTHER PARASITES

It was often observed that smutted plants or corms were simultaneously infected by one of the other *Gladiolus* parasites (viz. *Fusarium oxysporum* f. *gladioli* Snyder et Hans., *Stromatinia gladioli* (Drayt.) Whetz., *Botrytis gladiolorum* Timmermans and *Septoria gladioli* Pass.).

3. BIOLOGY

3.1. THE CYCLE OF INFECTION

3.1.1. *The standard method (S.M.) for microscopical investigation*

Radial sections (0.5 to 0.8 mm thick) through the corms were examined for the presence of latent mycelium of the smut fungus after fixation for 5 to 24 hours in ethanol 95%, clearing in a boiling saturated solution of chloralhydrate and boiling in lactophenol with 0.05% cotton blue for 4 to 5 minutes. Parts of the corm scales or sections through the stolons could be prepared and examined in the same way.

The spread of the mycelium in the corm was assessed by an arbitrary classification in four infection types (fig. 4). In the large-flowered cultivars the fungus always penetrated the corms in the basal parts; in the early flowering ones the infection sometimes started in a node higher up the corm. Corms were given an infection rating, fixed in a mark corresponding with the number of the infection type.

3.1.2. *The first year stage (S1 and S1B)*

A schematical view of the infection cycle as it was determined on the basis of the results, is given in fig. 6.

Smut spores adhering to the scales of corms and cormels or present in the soil where gladioli are grown, can give rise to infections in the course of the growing season (see also SCHENK, 1958). Under the climatological conditions in the Netherlands the parasite seldom succeeds in reaching the leaves above soil in the first year. Only in plants grown from cormels are sori in the leaves sometimes visible in this stage in August or September. The sori can often be observed in stolons, cormels, corm scales and sometimes also in the corm flesh at lifting time. Latent mycelium of the fungus is often present in corms without macroscopical symptoms; on the contrary it is sometimes absent in the flesh of corms with sori in the scales. Under natural conditions the infection rating of the offspring of large corms, just after lifting, is normally 1 or 2; that of corms grown from cormels varies from 1 to 4. The part of the infection cycle just described is called the *first year stage* (S1).

The following stage (S1B), includes development of the disease in the dry corms during storage. The fungus then slowly penetrates further into the corm flesh, the rate of spread depending on temperature (see 3.3.3.).

3.1.3. *The second year and delayed second year stage (S2 and S2U)*

From the results of experiments given in the tables 3, 4 and 5 it is concluded, that the rate of infection of the corms at planting time in the second year has a great effect on the development of the disease. If at that time the parasite has reached the buds at the top of the corm, the main sprouts show symptoms in the leaves as soon as they appear above soil; they die after some weeks and rot away, releasing the spores. The lower the rate of infection at planting time, the longer it takes for the symptoms to appear in the main sprout. Sometimes sori may be observed in the inflorescence only. In some cases an infected plant is evident only by sori in one or more secondary sprouts growing from a bud on the lower part of the corm. If in the second season symptoms appear in the parts above soil, we call this the *second year stage* (S2).

Sori in the leaves sometimes do not occur at all in plants growing from corms of the infection types 1 or 2. Microscopical examination after lifting often shows that the fungus has succeeded in reaching the young corms; occasionally sori are present in the underground parts, in the same way as may be observed at the end of S1. This stage in the development of the disease is called *delayed second year stage* (S2U).

Finally the fungus in diseased corms with a low rate of infection is sometimes not able to penetrate the young tissues at all. In that case the young corms escape infection.

Usually two to five sprouts per plant are formed in the early flowering cultivars, including one or more from buds implanted in the lower half of the mother corm. The chance that a diseased corm gives rise only to sprouts without sori, may be fairly well excluded. Consequently the plant as a whole falls in S2. On the other hand, looking at individual sprouts reveals that S2U is an important phenomenon in this group of gladioli (fig. 5).

3.2. THE INFECTION

3.2.1. *Effect of inoculation method and concentration of spores*

No infection occurs when smut spores are placed in contact with the base of the corm, or in a hole in the corm flesh, or – by means of a syringe – between the young leaves of the bud. They must be in the area outside the buds to be effective (table 6).

The percentage and degree of infection are strongly influenced by inoculation method, concentration of spores, cultivar, plant material (cormels versus corms) and soil temperature (tables 6, 7, 8, 9 and fig. 7, see also 3.3.2). Especially after inoculation under vacuum in a spore suspension with 300 to 500 spores/mm³, the percentage and rate of infection are usually very high. Plants grown from corms inoculated in a vacuum often show symptoms in the inner leaves of the inflorescence in August or September (table 8). After inoculation of the corms in a more natural way, e.g. by dusting the corms with smut spores, these S1-symptoms in plants from corms are rare.

3.2.2. *Time and place of infection*

The infection takes place in stolons, cormels and corm scales within a couple of weeks after bringing these parts in close contact with smut spores (table 10). Usually the fungus grows from the stolons into the connecting tissue between the old and young corm, and from this point penetrates the flesh of both parts. The earlier the infection is accomplished, the higher is the rate of infection of the corms at lifting time (table 10, fig. 8).

When vacuum inoculated corms are planted in a soil at optimal temperatures for disease development, the smut fungus penetrates the outer two or three sheath-leaves (implanted in the basal node of the young corm) within a fortnight. From there it grows into the still very small young corm, and soon reaches the top. In an experiment carried out under these conditions, an abundance of mycelium was found in the vegetative points, seven weeks after planting. The outer two or three foliage-leaves (implanted in nodes higher up the corm) are fully grown out at that time, and the fungus is not able to penetrate the parts above soil level. The younger leaves and the inflorescence,

however, are invaded by the mycelium in a very early stage of development and carry the fungus as they grow out later on. This explains the appearance of sori in the inner leaves and the flowers in the last months of the growing season. In the summer of 1959 plants growing from vacuum inoculated corms of the cultivar "Dr. Fleming", showed unusual heavy symptoms in S1 (table 8), apparently due to the uncommonly high soil temperatures, observed already in the beginning of the growing period.

3.2.3. *Variable effects of the infection in S1*

At lifting time plants in S1 show different degrees of penetration by the fungus. After infection under natural conditions the situation in plants grown from corms is normally that of fig. 9A, B or C. In plants from cormels the mycelium often succeeds in invading the whole young corm and sometimes even the leaves. In such corms the symptoms may vary widely (fig. 9A to D). In the case of plants from corms the situation of fig. 9D is generally only realized after vacuum inoculation and under growing conditions favourable to the disease.

After lifting, a periderm is formed in the basal parts of the young corms; this enables the roots and old corms to be broken off easily during cleaning. The infection by smut does not interfere with the development of this cork layer, as is the case with some other parasites. In stages of infection such as those shown in fig. 9A and B, this layer may exclude the fungus from the corm flesh in cases where sori in the scales are present.

On the basis of this type of infection it might be expected that in a number of cases, one or more of the cormels of one plant will carry mycelium, even though the corm flesh were free of the pathogen. The reverse, mycelium in the corms but not in the cormels, is less probable. The results of an experiment, given in table 11, confirm this assumption.

3.3. THE EFFECT OF ENVIRONMENT ON THE DIFFERENT STAGES OF THE DISEASE

3.3.1. *Effect of some culture practices in S1*

Planting date, plant depth, dressing and lifting date appeared to have no significant effect on the percentage of infection in S1.

3.3.2. *Effect of soil humidity and temperature in S1*

The result of an experiment with corms inoculated in a vacuum, carried out at different soil temperatures and varying soil moisture levels (table 12), led to the conclusion that soil moisture is of minor importance for the infection in S1 (fig. 12). In soil of 12 and 16 °C the infection in dry soil was slightly heavier than in medium moist and moist soil. At 20 °C the moisture content had no effect at all.

Soil temperature appeared to be by far the most important factor in inducing infection and a high degree of attack (fig. 10 and 11). A soil temperature of 20 °C is optimal for the development of the disease, as was shown by the formation of large sori in cormels, scales and corm flesh and the high rate of infection of the young corms after lifting. At 16 °C the effect of the infection was less severe; in the experiment, sori were formed only in corm scales and

cormels, but not in the corm flesh. At 12 °C a slight infection took place; the sori in the corm scales were very small and inconspicuous and the rate of infection was low. In soil of 24 °C and higher temperatures the fungus was not able to penetrate the host at all or only to a negligible extent.

3.3.3. *Effect of storage temperature in S1B*

The growth of smut mycelium in the dry corms in storage depends on temperature (fig. 13). Between 13 and 20 °C the fungus in corms with a low rate of infection succeeded in most cases in reaching the vegetative points in the course of several months. At 25½ and 9 °C the growth, if taking place at all, was much slower.

Formation or extension of sori in this stage of the disease was not observed, at least in the large-flowered cultivars.

3.3.4. *Effect of soil temperature in S2*

Soil temperature also has a great effect on the development of the disease in S2 (table 13, fig. 14). Plants growing from corms with a high rate of infection at a soil temperature of 12, 16 or 20 °C, showed the S2-symptoms as soon as they appeared above soil. At 24, 28 and 32 °C the plants grew quite normally, without any sign of smut. The apparently healthy plants were microscopically examined after lifting for the presence of mycelium in the young tissues. At 24 °C the fungus had slowly invaded the corms and stolons, without being able to form sori in the underground parts. The rate of infection of the young corms was 3 to 4. So the conclusion is that at this soil temperature S1 does not occur, but mycelium, once present in the corms, succeeds in growing in the host in a latent form. Corms formed at a temperature of 28 or 32 °C, on mother corms of the infection type 4, were not invaded by the parasite at all and thus escaped attack by the disease. If corms with a low rate of infection are planted, the mycelium apparently grows more slowly at 12 and 16 °C than at 20 °C (see lot III, table 13; probably the rate of infection of the corms at planting was higher than indicated in the table, due to very slow growth of the parasite during the nine months' storage).

So it may be concluded that whether S2 and S2U develop or whether the host totally escapes from the disease, is determined by the rate of infection at planting time, the distance the fungus has to grow before reaching the young tissues, and the soil temperature.

3.4. THE EFFECT OF THE DIFFERENT STAGES OF THE DISEASE ON THE GROWTH OF THE HOST

As long as the presence of the parasite is limited to the underground parts of the plants, the growth of the host is not seriously interfered with (table 14). In S2 and eventually in S1, the consequences of the attack are more damaging the earlier in the season the fungus reaches the leaves above soil level.

The analysis of the infections in a group of corms grown from cormels infested by smut spores, is given in table 15. The figures indicate that the percentage of diseased corms is independent of their size (and consequently of the growth) and that the rate of infection is higher in the smaller corms.

3.5. THE SUSCEPTIBILITY OF GLADIOLUS SPECIES AND CULTIVARS

In table 16 a survey is given of *Gladiolus* species and cultivars in the early flowering and large-flowered groups in which smut has been observed. The results with 57 large-flowered cultivars inoculated in vacuum and planted in a glasshouse, indicate that approximately 50% of the clones in this group are susceptible to smut. In commercial culture the disease has been observed only in 39 out of more than 700 cultivars grown in Holland. Obviously, smut in gladioli is not a real threat to this crop in the Netherlands.

3.6. THE SMUT FUNGUS

3.6.1. *The infection and the mycelium in the host*

Many attempts were made to germinate smut spores in vitro, but without success. When on the other hand, spores were brought in close contact with the susceptible parts of the growing host, germination – to a very small extent – occurred within a fortnight.

The infection hyphae grow over the epidermis and penetrate, via the cuticle and the middle lamellae of the epidermis cells, into the underlying parenchyma tissues (fig. 15). Observations indicate that in some instances infection may take place through the stomata. The parasite grows with an abundance of intercellular mycelium soon after its establishment in the tissues of the host. From the stolons, and eventually the sheath-leaves, the fungus reaches the corm, where often dense masses of hyphae are formed; especially in the cells of his particular part coiled and branched haustoria are formed (fig. 16). After penetration of the vegetative point on top of the corm, all the young leaves are invaded (fig. 17A and B). Starting in the intercellular spaces, stromatic masses of mycelium arise, pushing aside the cells of the mesophyll and forming sori filled with smut spores within a few days (fig. 17C and 18). In some cultivars the symptoms in the leaves are less conspicuous. In these cases the stroma only fills up the intercellular spaces, without much interference with the cells of the host (fig. 17D).

3.6.2. *The longevity of spores in the soil*

Spores, remaining in the soil after a diseased crop, keep their infection capacity for at least three years. The strong measures taken by the Bulb Inspection Service against smut, and the fact that usually only very lightly infected stocks are found in the field (seldom higher than 1%), make it unlikely that infections arising from infested soil are of any importance in the cultivation of gladioli in the Netherlands.

4. CONTROL

4.1. PREVENTION OF S1

4.1.1. *Soil disinfection*

Smut spores in the soil can be killed by several fungicides. Good results were obtained with formalin, chlorobromopropene, 3, 5-dimethyl tetrahydro-1, 3, 5,

2 H-thiadiazine-2-thione, methylisothiocyanate, hexachlorobenzene and pentachloronitrobenzene (table 17). If infection from the soil is expected, the last named chemical is considered especially useful on a field scale, from the viewpoint of economics and ease of application.

4.1.2. *Pre-planting disinfection*

The spores adhering to the plant material are far more important than those in the soil. Effective control of these can be attained by dipping the corms just before planting in a solution of an organic mercuric fungicide (this treatment is generally used against other gladiolus diseases in Holland) or of a phenol compound (table 18).

4.2. PREVENTION OF S2

4.2.1. *Hot-water treatment*

A hot-water treatment of diseased corms for half to one hour at 47 °C kills the mycelium of the parasite in the flesh, without damaging the crop. Strong desiccation of the corms before treatment decreases the sensitivity of the fungus to the high temperature (tables 19 and 20).

4.2.2. *Water-soaking and anaerobic treatment*

Just as the latent mycelium of the loose smuts in the embryos of wheat and barley, the parasite in the corm flesh of gladioli can be killed at lower temperatures by prolonged water-soaking or anaerobic treatments. The time of treatment needed for effective control, increases rapidly with decreasing temperature (table 21).

4.2.3. *Dry storage at 34 °C*

The results of the experiment given in table 19, indicated that the mycelium of gladiolus smut was killed by dry storage at 34 °C for six weeks. Further investigations showed that two to six weeks' storage of diseased corms at 34 °C prevents the appearance of S2-plants in the next growing season.

4.3. PREVENTION OF S1 AND S2 IN ONE STOCK

4.3.1. *New infections after hot-water treatment*

Smut spores appeared to survive the hot-water treatment at 47 °C easily; in the season following the killing of the mycelium in the corm flesh, they are able to give rise to new infections and so the host is brought back in S1 (table 22). To prevent this, hot-water treated corms have to be disinfected before planting using an organic mercuric fungicide. If thick masses of spores occur in sori in the scales they are not always killed completely by this dip, so that some new infections may occur. In the large-flowered cultivars spores in sori in the corm flesh obviously do not infect the young corms (table 23).

4.3.2. *Smut control in cormels*

Dry spores easily survive a treatment lasting half an hour at 60 °C. After a 24 hours' pre-soak in water, they are killed when treated for half an hour at 53 °C (table 24). Presoaked, Dutch-grown cormels can stand a hot-water treatment at 53 or 55 °C for half an hour, without much risk to the crop

(SCHENK, 1961). This treatment is recommended nowadays against other important gladiolus parasites. At the same time it prevents the occurrence of S1 and S2 (table 25).

4.4. SMUT CONTROL IN THE EARLY FLOWERING CULTIVARS

In the group of early flowering gladioli the application of the hot-water treatment at 47 °C has several disadvantages: *a*) the occurrence of S2-plants is not always suppressed (table 27), *b*) the corms of early flowering cultivars are easily damaged, whereas the corms of the large-flowered cultivars are not (table 26), *c*) the risk of new infections is higher, as apparently in this case spores in sori in the corm flesh also lead to new infections.

Complete or nearly complete control is obtained by a pre-planting disinfection of the corms with a solution of an organic mercuric fungicide, followed by discarding all plants with one or more diseased sprouts during the following growing season (tables 26 and 27).

LITERATUUR

- AINSWORTH, G. C., – 1949. The gladiolus smut. Trans. Brit. mycol. Soc. 32:255–257.
- BALD, J. G., – 1956. Development and production of pathogen-free gladiolus cormels. Plant Dis. Rep. Suppl. 238:81–84.
- BELER, J. J., – 1960. Het vervroegen van gladiolen. De Hobaho 34 (29):2.
- BRUDER, J., – 1953. The results of hot air treatment of onion sets (transl. title). Kertész. és Szőlész. 2: 15–16 (Rev. appl. Myc. 33, 1954:518).
- COLLINGE, W. E., – 1912. Gladiolus smut. Urocystis gladioli, Smith. Rep. econ. Biol. 2:49.
- DASTUR, J. F., – 1920. The mode of infection by smut in sugar cane. Ann. Bot. 34:391–397.
- DODGE, B. O. & T. LASKARIS, – 1941. Papulaspora gladioli. Bull. Torrey bot. Club 68:289–294.
- DOLK, H. E. & E. VAN SLOGTEREN, – 1930. Ueber die Atmung und die Absterbeerscheinungen bei Hyacinthen-Zwiebeln bei höheren Temperaturen im Zusammenhang mit der Bekämpfung der Gelbkrankheit. Gartenbauwiss. 4:113–158.
- DUNLEAVY, J., – 1956. Kernel smut of big bluestem. Phytopath. 46:116–120.
- FISCHER, G. W., – 1945. The mode of infection and the incubation period in the stem smut of grasses, Ustilago spagazzinii (U. hypodytes). Phytopath. 35:525–532.
- FISCHER, G. W. & C. S. HOLTON, – 1957. Biology and control of the smut fungi. New York, 622 pp.
- GASKIN, T. A., – 1958. Studies on crabgrass smut, Ustilago syntherismae. Plant Dis. Rep. 42: 735–736.
- HARTSEMA, A. M., – 1937. Periodieke ontwikkeling van Gladiolus Hybridus, var. Vesuvius. Verhand. Kon. Akad. Wet., 2e sectie, 36:1–35.
- HEBERT, T. T., – 1955. A new method of controlling loose smut of barley. Plant Dis. Rep. 39: 20–22.
- HECKE, L., – 1926. Die Ansteckung von Blattakselknospen durch Ustilago violacea (Pers.) Fuckel. Fortschr. d. Landwirtsch. (Vienna) 1:150–151.
- HOTSON, H. H., – 1942. The morphological distinction between Urocystis gladioli and Papulaspora gladioli. Mycologia 34:52–58.
- KASSANIS, B., – 1957. Effects of changing temperature on plant virus diseases. Advances Virus Res. 4:221–241.
- LAMB, P. H., – 1930. Annual Report on the Agricultural Department for the year 1929, Nigeria:20 pp.
- LEACH, J. G., C. V. LOWTHER & M. A. RYAN, – 1946. Stripe smut (Ustilago striaeformis) in relation to bluegrass improvement. Phytopath. 36:57–72.
- LIMBER, D. P., – 1953. Warning to glad bulb growers. Watch for signs of smut fungus, a threat to gladiolus culture. Flor. Exchange 120 (13):17.
- LIRO, J. I., – 1922. Ueber die Gattung Tubercinia Fries. Ann. Univ. Aboensis Ser. A 1:153 pp.
- MACLEAN, N. A., – 1951. Gladiolus smut. Phytopath. 41:941 (abstr.).
- MOORE, W. C., – 1939. Diseases of bulbs. Min. Agric. Fish., London, Bull. 117, 176 pp.
- MOORE, W. C., – 1948. Report on fungus, bacterial and other diseases of crops in England and Wales for the years 1943–1946. Min. Agric. Fish., London, Bull. 139, 80 pp.
- NIEMANN, E., – 1956. Fortschritte bei der Bekämpfung des Weizen- und Gerstenflugbrandes (Ustilago tritici [Pers.] Rostr. und U. nuda [Jens.] Rostr.) in den letzten Jahren. I. Die Heiss- und Warmwasserbeizung. Z. Pfl.-Krankh. Pfl.-Schutz 63:389–404.

- NIEMANN, E., – 1957. Neue Wege zur Bekämpfung des Weizen- und Gerstenflugbrandes (*Ustilago tritici* [Pers.] Rostr. und *U. nuda* [Jens.] Rostr.). Z. Pfl.-Krankh. Pfl.-Schutz 64: 79–86.
- NOBLE, R. J., – 1924. Studies on the parasitism of *Urocystis tritici* Koern., the organism causing flag smut of wheat. J. agr. Res. 27: 451–489.
- OHMS, R. E. & W. M. BEVER, – 1955. Types of seedling reaction of Kawvale and Wabash winter wheat to three physiologic races of *Ustilago tritici*. Phytopath. 45: 513–516.
- OORT, A. J. P., – 1944. Onderzoekingen over stuifbrand. II. Overgevoeligheid van tarwe voor stuifbrand (*Ustilago tritici*). T. Pl.-Ziekten 50: 73–106.
- PAPE, H., – 1927. Die Krankheiten und Schädlinge der Gladiole. In: Sandhack – Dahlien und Gladiolen – Paul Parey, Berlin, p. 243–268.
- PAPE, H., – 1955. Krankheiten und Schädlinge der Zierpflanzen. Paul Parey, Berlin–Hamburg, 559 pp.
- PETHYBRIDGE, G. H., – 1926. Report on the occurrence of fungus, bacterial and allied diseases of crops in England and Wales for the years 1922–1924. Misc. Publ. Min. Agric. Fish., London, 97 pp.
- PETTI, A., – 1955. Remarques préliminaires sur la détection du charbon interne du blé (*Ustilago tritici* [Pers.] Jens.). Ann. Serv. botan. agron. Tunisie 28: 55–65.
- PICHLER, F., – 1956. Zur Frage der Warmwasserbehandlung des Saatgutes bei der Flugbrandbekämpfung II. Mitteilung. Pfl.-Schutzber. 17: 1–26.
- PICHLER, F., – 1958. Zur Frage der Flugbrandbekämpfung mittels Einquellung oder Benetzung des Saatgutes. Z. Pfl.-Krankh. 65 (8): 472–475.
- POETEREN, N. VAN, – 1924. Verslag over de werkzaamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in het jaar 1923. Versl. Meded. Pl.-Ziektenk. Dienst Wag. 34, 66 pp.
- POETEREN, N. VAN, – 1925. Verslag over de werkzaamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in het jaar 1924. Versl. Meded. Pl.-Ziektenk. Dienst Wag. 41, 62 pp.
- POETEREN, N. VAN, – 1928. Verslag over de werkzaamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in het jaar 1926. Versl. Meded. Pl.-Ziektenk. Dienst Wag. 51, 100 pp.
- POETEREN, N. VAN, – 1929. Verslag over de werkzaamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in het jaar 1927. Versl. Meded. Pl.-Ziektenk. Dienst Wag. 55, 93 pp.
- POPP, W., – 1951. Infection in seeds and seedlings of wheat and barley in relation to development of loose-smut. Phytopath. 41: 261–175.
- POPP, W., – 1958. An improved method of detecting loose-smut mycelium in whole embryos of wheat and barley. Phytopath. 48: 641–643.
- POPP, W., – 1959. A new approach to the embryo test for predicting loose-smut of wheat in adult plants. Phytopath. 49: 75–78.
- PRASAD, N., – 1945. Long smut of sorghum – method of infection. Curr. Sci. 14: 239.
- ROISTACHER, C. N., K. F. BAKER & J. G. BALD, – 1957. Hot-water treatment of *gladiolus* corms for the eradication of *Fusarium oxysporum* f. *gladioli*. Hilgardia 26: 659–684.
- SCHENK, P. K., – 1956. De bestrijding van gladiolenziekten. Wbl. Bloemb.-Cult. 66: 467.
- SCHENK, P. K., – 1958. De infectiecyclus van *Urocystis gladiolicola* op gladiolen. T. Pl.-Ziekten 64: 475–478.
- SCHENK, P. K., – 1959. Warmwaterbehandeling van gladiolekralen. Wbl. Bloemb.-Cult. 70: 246 en 251.
- SCHENK, P. K., – 1960a. Hardrot van gladiolen, veroorzaakt door *Septoria gladioli*. T. Pl.-Ziekten 66: 205–227.
- SCHENK, P. K., – 1960b. De warmwaterbehandeling van kralen, een belangrijk hulpmiddel in de strijd tegen gladiolenziekten. Wbl. Bloemb.-Cult. 71: 330–332.

- SCHENK, P. K., – 1961. Warmwaterbehandeling van gladiolekralen. Meded. Dir. Tuinb. 24: 173–185.
- SCURTI, J. C., – 1955. Le colture industriali dei gladioli e le malattie che le insidiano. Ann. Sper. agr., N.S. 9 (1), suppl.:97–106 (Engl. summary).
- SMITH, W. G., – 1876. The gladiolus disease. Gard.'s Chron. 6:420–422.
- STEPANOVA, M. Y., – 1954. Heating sunflower seeds as a method of controlling *Sclerotinia* (transl. title). Trud. vsesoyuz. Inst. Zashch. Rast. 5: 115–119 (Rev. appl. Myc. 36, 1957: 765–766).
- TYNER, L. E., – 1951. Control of loose smut of barley by chemical and physical treatments. Sci. Agr. 31:187–192.
- TYNER, L. E., – 1953. The control of loose smut of barley and wheat by Spergon and by soaking in water at room temperature. Phytopath. 43:313–316.
- WAGNER, F., – 1959. Zur Problematik der chemischen Flugbrandbekämpfung. Mitt. biol. Bundesanst. Land- u. Forstwirtsch., Berlin-Dahlem 97:211–215.
- WAGNER, F., – 1960. Versuchsergebnisse 1959 zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes mit chemischen Mitteln. Prakt. Bl. Pfl.-Bau Pfl.-Schutz, 55:44–55.
- WERNHAM, C. C., – 1938. Chlamydospore production on artificial media by *Urocystis gladioli*. Phytopath. 28:598–600.
- ZALESSKY, V., – 1935. Anaerobic method for the control of loose smut of wheat (transl. title). Pl. Prot. Leningrad 1935 (1):135–138 (Rev. appl. Myc. 15, 1936:431).