

MEDEDELINGEN LANDBOUWHOGESCHOOL

WAGENINGEN • NEDERLAND

72 - 30 (1972)

Ph. 243

HET VERLOOP VAN DE GEELZIEKAANTASTING
DOOR
XANTHOMONAS HYACINTHI (WAKKER)
DOWSON IN BLAD EN BOL VAN DE HYACINT

(with a summary in English)

J. J. BEIJER

*Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse
Nederland*

**MEDEDELINGEN LANDBOUWHOGESCHOOL
WAGENINGEN • NEDERLAND • 72-30 (1972)**

**HET VERLOOP VAN DE GEELZIEKAANTASTING
DOOR
XANTHOMONAS HYACINTHI (WAKKER)
DOWSON IN BLAD EN BOL VAN DE HYACINT**

(With a summary in English)

J. J. BEIJER

*Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse
Nederland*

(Ontvangen 11-IX-1972)

H. VEENMAN & ZONEN N.V.-WAGENINGEN-1972

INHOUD

1. INLEIDING	5
1.1. Voorwoord	5
1.2. Literatuuroverzicht en probleemstelling	5
1.3. Materiaal en onderzoekmethoden	7
2. DE BLADAANTASTING NA BESMETTING VAN BUITENAF	9
2.1. Bladsymptomen	9
2.2. Inoculatieproeven	12
2.3. Samenvatting	16
3. HET VERLOOP VAN DE GEELZIEKAANTASTING IN DE BOL	17
3.1. Bolsymptomen	17
3.2. De uit de aangetaste bollen voortkomende ziektebeelden	19
3.3. Het ontstaan van de zgn. 'vlaggen' of 'oude zwarten'	22
3.4. Afweer van de plant	24
3.5. Samenvatting	25
4. INOCULATIEPROEVEN EN BOLSYPMTOMEN	27
4.1. Directe bolinoculaties	27
4.2. Bolinfectie na bladinoculaties	29
4.3. Bolinfectie via de bloeias	34
4.4. De door de inoculaties verkregen ziektebeelden in de bol	34
4.5. Samenvatting	35
5. DISCUSSIE	37
5.1. Algemene opmerkingen	37
5.2. Bestrijdingsmethoden	39
5.3. Schematisch overzicht en terminologie	41
6. SAMENVATTING	44
7. SUMMARY	48
8. LITERATUUR	52

1. INLEIDING

1.1. VOORWOORD

Na de grondleggende onderzoeken over het geelziek van de hyacint door WAKKER (1883, 1884, 1885, 1889) en het daarop aansluitende werk van ERWIN SMITH (1901, 1911), duurde het tot omstreeks 1922 voordat een hernieuwd onderzoek naar deze, in die tijd katastrofaal optredende, bacterieziekte van de hyacint werd aangevat. Bij het door de toenmalige directeur van het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek Prof. Dr. E. van Slogteren ingestelde onderzoek naar betere methoden ter bestrijding van deze gevreesde ziekte (VAN SLOGTEREN, 1925), bleek dat vele verschijnselen onvoldoende konden worden verklaard. Het werd daarom noodzakelijk geacht het gehele fytopathologische verloop van de geelziekaantasting nog eens nauwkeurig na te gaan.

De resultaten van deze onder leiding van VAN SLOGTEREN in 1927 en latere jaren verrichte onderzoeken zijn wel gedeeltelijk in voordrachten en korte praktijkmededelingen bekend gemaakt (o.a. VAN SLOGTEREN, 1927b), maar niet in een samenvattende publikatie verwerkt. Daar gebleken is dat een aantal belangrijke waarnemingen en conclusies niet voldoende bekend is geworden, leek het gewenst de belangrijkste resultaten van deze onderzoeken alsnog samen te vatten. De schrijver hoopt hiermee de bestaande lacune in de kennis van het geelziek voor een deel op te heffen.

1.2. LITERAATUUR-OVERZICHT EN PROBLEEMSTELLING

De bacteriële oorzaak van het geelziek werd reeds in 1881 door WAKKER vastgesteld (BEIJER, 1966), waarmee hij een der eersten was, die kon aantonen, dat bacteriën de oorzaak van planteziekten kunnen zijn. De door hem aan deze bacterie gegeven naam *Bacterium hyacinthi* is thans veranderd in *Xanthomonas hyacinthi* (WAKKER) DOWSON (1939). De voornaamste feiten, die uit Wakkers baanbrekend werk voortkwamen, zijn de volgende. Op dwarse doorsneden door geelzieke hyacintebollen vertonen de vaatbundels in een of meer bolrokken zich als heldergele stippen, waaruit door knijpen een geel slijm te voorschijn kan worden gebracht. In dit gele slijm liggen talloze geelziekbacteriën dicht opeen. Met de microscoop is daarin geen beweging waar te nemen; pas in een voldoende waterige verdunning is de typische beweging der afzonderlijke bacteriën te zien. Tevens kon WAKKER aantonen dat eerst het xyleemgedeelte van de vaatbundel wordt verwoest en daarna pas het floëemdeel te gronde gaat. In de gele slijmmassa worden verspreid resten van de spiraalvaten aangetroffen. Op een overlangse doorsnede zijn de aantastingen als scherp begrensde, gele strepen in het bolrokweefsel zichtbaar. Pas bij een verdergaande aantasting kan ook het omringende parenchym worden aangetast, waarbij de middenlamellen tussen de cellen door de bacteriën worden opgelost.

De aantasting zou via de vaatbundels omlaaggaand de bolschijf bereiken, waarin een sterke uitbreiding van de ziekte zou plaatsvinden. Een dergelijke bol zal na het planten spoedig door verrotting te gronde gaan. Als de schijf pas in het groeiseizoen wordt bereikt, zal de plant nog boven de grond komen en zullen de bladeren ziektesymptomen vertonen. De bacteriën kunnen zich tot vlak onder de epidermis uitbreiden. Als deze barst kunnen zij vrijkomen en de omgeving besmetten. De verspreiding van het bacterieslijm zal vooral door regen en wind, eventueel ook door vliegen tot stand kunnen komen.

De aantasting van het hyacintblad na een infectie te velde vindt meestal aan de top plaats, die dan donkerbruin tot zwart verkleurt; soms loopt deze als een donkere streep omlaag. Ook kan de aantasting meer aan de rand van het blad beginnen. Vooral de grote, in het blad aanwezige luchtholten bevorderen een gemakkelijke verbreiding van de bacteriemassa. Omdat deze in de bolrokken ontbreken, zou de verspreiding in de bol via de xyleemvaten gaan.

De nauwkeurige waarnemingen van WAKKER zijn ongetwijfeld juist. Zijn beschrijving van het verloop van de ziekte is echter te statisch; een duidelijk verband tussen de beschreven symptomen in blad en bol kon door hem niet worden aangetoond. Vandaar zijn speculaties betreffende de verbreiding van de bacterie-aantasting vanuit de luchtholten in het blad naar de xyleemvaten in de bol. Behalve deze waarnemingen heeft WAKKER ook infectieproeven gedaan. Daarbij lukte het hem gezonde bollen geelziek te maken door op het snijvlak door de top van een bol bacterieslijm te brengen. Ook kon hij in het blad door de toppen in mei te verwonden en in te smeren met bacterieslijm de typische geelzieksymptomen opwekken. Het is hem echter nooit gelukt door middel van bladinfectie een geelzieke bol te verkrijgen. Daardoor is hem het proces van de overgang van de bladinfectie naar het bijbehorende bolrokgedeelte niet duidelijk geworden. Ook over de wijze waarop de infectie in de natuur optreedt, kon WAKKER geen nadere gegevens verschaffen daar het hem niet gelukt is zonder verwonding bladinfectie tot stand te brengen.

Hoewel hij er in geslaagd was geelziekbacteriën op een kunstmatige voedingsbodem te kweken, zijn vrijwel alle infectie-proeven met dit materiaal mislukt. De positieve resultaten werden na inoculatie van bol en bladeren met bacterieslijm uit zieke planten bereikt. Het is zelfs twijfelachtig of de door hem gekweekte bacteriën wel geelziekbacteriën waren; in elk geval was hierbij geen sprake van reïncultuur. Ook het feit, dat in zijn culturen 'sporevorming' optrad, hetgeen door latere onderzoekers van de geelziekbacterie nooit is waargenomen, wijst in die richting. Bovendien traden bij de weinige geslaagde infecties in de bloemsteel abnormale verschijnselen op zoals het week worden van deze steel, die daarna uitgeworpen werd. Dit wekt het vermoeden dat hier sprake is geweest van een infectie met 'witsnotbacteriën' (*Pectobacterium carotovorum*).

De onderzoekingen van SMITH (1901, 1911) hebben in de eerste plaats de belangrijkste conclusie van WAKKER, nl. dat het geelziek van de hyacint door een bacterie wordt veroorzaakt, volkomen bevestigd. SMITH is er verder in geslaagd met werkelijke reïnculturen te werken; bovendien heeft hij de morfologische en fysiologische eigenschappen van de geelziekbacterie uitvoerig bestudeerd. Zo

vond hij o.a. als gemiddelde breedte $0,5 \mu$ en als gemiddelde lengte $1,5-2 \mu$. Sporen heeft hij niet waargenomen; wel kon hij door kleuring aantonen dat *Xanthomonas hyacinthi* slechts 1 flagellum bezit.

Tenslotte kwam hij een belangrijke stap verder, doordat het hem gelukte typisch geelzieke bollen te verkrijgen na bladinoculatie. Deze infecties werden alle door middel van onderhuidse bladinjecties met een bacterie-suspensie, dus door verwonding, tot stand gebracht. Hij stelde daarbij vast dat de bladsymptomen 3 tot 30 dagen na inoculatie optraden en dat de bolaantasting pas na 2 tot 5 maanden zichtbaar werd. Ook hij spreekt alleen van vaatbundelinfectie, die vanuit de bolschijf snel omhoog gaat. Aan de andere kant verbaasde hij zich over 'the extremely slow progress of the symptoms'. Bij zijn vele infectieproeven wordt nergens het verloop van de aantasting van blad naar bol anatomisch vervolgd.

Interessant zijn zijn bloeminfecties, waarbij zonder verwonding een bacterie-suspensie in een bloem werd gebracht. Het merkwaardige is echter dat hij bij een langs deze weg licht aangetaste bol de aantasting bovenin 2 bolrokken vond en niet in de steel van de bloeiwijze! Bij geen van deze geslaagde bloeminfecties werd de aantastingsweg naar de bol onderzocht; nergens is sprake van een aangetaste bloeias.

Door het werk van WAKKER en SMITH is op overtuigende wijze aangetoond dat het geelziek een besmettelijke bacterieziekte is. Het is met name aan SMITH gelukt de parasiet uit zieke bollen te isoleren, in reïncultuur te brengen en door wondinfectie bladsymptomen te verkrijgen waarna tenslotte de typische bolsymptomen ontstonden, waaruit wederom *X. hyacinthi* kon worden geïsoleerd.

Doordat hun proeven meestal onder laboratoriumomstandigheden werden genomen met planten in potten of op glazen, is de wijze van infectie in het blad onder natuurlijke omstandigheden niet geheel duidelijk geworden. Ook het verloop van de aantasting vanuit het blad naar de bol en het verband tussen de verschillende ziektesymptomen in blad en bol onderling zijn in vele opzichten onopgelost gebleven. Ook latere onderzoekers zoals STAPP (1933) en OBATA (1968) hebben daarover geen nadere gegevens kunnen verschaffen. Het leek daarom gewenst vooral de volgende punten aan een nader onderzoek te onderwerpen:

1. Wijze en verloop van de bladbesmetting en aantasting op het veld
2. Het verdere aantastingsverloop van het blad naar de bol
3. Het verband tussen de mate van bolaantasting en de daaruit voortkomende bovengrondse ziektesymptomen.

1.3. MATERIAAL EN ONDERZOEKMETHODEN

Alle waarnemingen werden gedaan aan zieke partijen die soms een paar jaar achtereenvolgens op normale wijze werden doorgeteeld; 's zomers in een verwarmde schuur bewaard, in oktober-november geplant en in juli gerooid. Door planten en bollen op geregelde tijden open te snijden en anatomisch te onderzoeken kon tenslotte een overzichtelijk beeld van het natuurlijke geelziekverloop worden

verkregen. De volgende cultivars werden in het onderzoek betrokken. Witte cvs: 'La Grandesse', 'l'Innocence', 'Arentine Arendsen', 'Corregio' en 'Queen of the Whites'. Blauwe cvs: 'Schotel', 'Bismarck', 'Dr Lieber', 'Queen of the Blues', 'Grand Maître', 'Johan', 'Perle Brillante', 'Marie', 'Grand Lilas' en 'Perfection'. Roze cvs: 'Nimrod', 'Marconi', 'Lady Derby', 'Moreno', 'Gertrude', 'Gigantea', 'Panama', 'Gen. Pelissier' en 'Queen of the Pinks'. Rode cvs: 'La Victoire', 'Garibaldi', 'Pres. Roosevelt' en 'Jan Bos'. Gele cvs: 'Yellow Hammer' en 'City of Haarlem'. Violette cv.: 'Balfour'.

Ook de bladinfectieproeven werden voor het merendeel op het veld gedaan, dus onder zoveel mogelijk natuurlijke omstandigheden. Een zorgvuldige afzetting met eternietplaten waarborgde een goede isolatie van de verschillende partijtjes onderling. Het feit dat in geen enkel geval ziektesymptomen in de controleveldjes werden aangetroffen pleit voor de juiste isolatie en eveneens voor de goede gezondheidstoestand van de gebruikte partijen. Deze waren steeds afkomstig van een speciale, enigszins geïsoleerde kwekerij, waar in de stampartijen gedurende de voorafgaande jaren geen geelziek in blad of bol was waargenomen. Voor de inoculatieproeven werden in hoofdzaak de voor geelziek zeer gevoelige cultivars 'La Grandesse' en 'Schotel' gebruikt. De inoculaties werden uitgevoerd met reïnculturen van *X. hyacinthi* op agar of in bouillon. Deze reïnculturen waren afkomstig van de toenmalige microbioloog van het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Dr. K. Simon Thomas. Deze zorgde tevens voor de noodzakelijke geelziekiisolaties uit blad- of bolweefsel.

Het anatomisch onderzoek van het door geelziek aangetaste weefsel in blad en bol leverde bijzondere moeilijkheden op; de slijm massa, waarmee de geelziekbacteriën steeds zijn omhuld, is in een waterig milieu sterk opzwellbaar, waardoor de bacteriën zich in de microscooppreparaten verspreidden naar plaatsen waar ze oorspronkelijk in de plant niet voorkwamen. Door fixatie in alcohol en door in alcohol snijden met een sledemicrotoom kon dit worden voorkomen. Hoewel de weefsels iets te lijden hadden van deze behandeling, konden nu de plaatsen waar de bacteriën zich oorspronkelijk bevonden, volkomen zeker worden teruggevonden. Door kleuring met Bismarckbruin in alcoholische oplossing, reeds door WAKKER toegepast, konden goede preparaten worden verkregen. Het overbrengen in glycerine was echter reeds voldoende om de typische zwelling wederom teweeg te brengen. Zelfs na geheel watervrije fixatie en paraffine-insluiting trad deze zwelling alsnog bij het strekken van de coupes op een waterlaagje zeer storend op.

2. DE BLADAANTASTING NA BESMETTING VAN BUITENAF

2.1. BLADSYMPTOMEN

Infectiehaarden, waarvan het ontstaan later besproken zal worden, vormen na het in februari of maart boven de grond komen van de spruiten ('neuzen') een bron van besmetting voor het jonge loofblad. Toch duurt het meestal tot na de bloei, eind april-begin mei, voordat de eerste bladsymptomen van het geelziek op de bladeren zichtbaar worden. Deze bestaan aanvankelijk uit zeer kleine, iets in de lengterichting van het blad gerekte, donkere, waterachtige vlekjes, zowel aan de boven- als onderzijde van het blad (fig. 1). Ze komen aan de top van het blad meer voor dan op het overige gedeelte van het blad en kunnen verspreid optreden of zich meer bij de toprand bevinden. In het laatste geval zal deze bladrand bij verdergaande aantasting slap worden en nog donkerder kleuren. De naam 'zwartrand', waarmee de bladsymptomen van het geelziek door telers algemeen worden aangeduid, is hieraan ontleend. Als de kleine vlekjes ('spetters') meer verspreid over het bladoppervlak voorkomen, spreekt men van 'spetterzwart'. Deze spetters kunnen snel groter worden en zich tot streepjes verlengen, die gedeeltelijk met elkaar versmelten.

Anatomisch onderzoek toonde aan dat al deze symptomen veroorzaakt worden door het plaatselijk gevuld raken van de bladmoes-intercellulair met een slijmachtige bacteriemassa; er is dus sprake van een infiltratieverschijnsel. Bij het uitstrijken van de inhoud van zo'n zwartrandspetter op een objectglas valt terstond een samenhangende grijsachtige slijm massa op, die bij beschouwing met de microscoop vol onbeweeglijke bacteriën blijkt te zitten. Pas na verdunning van deze slijm massa met water komen de bacteriën vrij, die zich dan met grote snelheid in het beeldveld bewegen. Figuur 2 geeft een elektronenmicroscopische afbeelding van een dergelijke van slechts 1 flagellum voorziene bacterie. (Zie ook DE BRUIJN OUBOTER et al., 1951.)

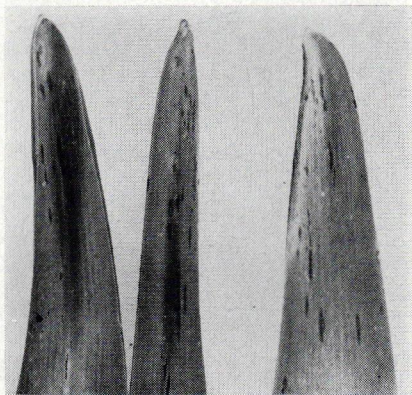


FIG. 1. Beginnend zwartrand (spetters) in het blad van hyacint

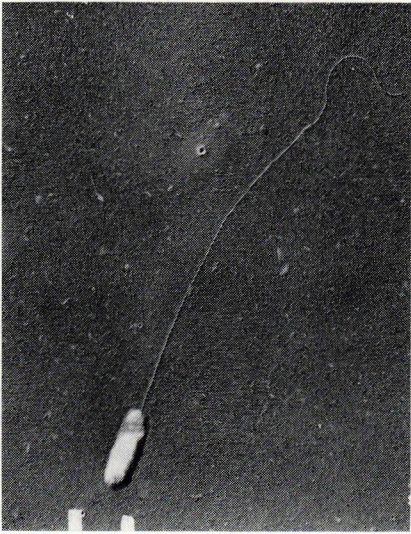


FIG. 2. *Xanthomonas hyacinthi* (vergr. 6000 x)

Voor de verdere eigenschappen van *X. hyacinthi* raadplege men SMITH (1911).

Bij het verdergaan van de zwartrandaan­tasting kunnen de aanvankelijk korte infiltratiestreepjes verscheidene centimeters lang worden en zich tenslotte over een groot deel van het blad naar omlaag uitbreiden. Hierbij raken ook de intercellulair­en in het dieper gelegen bladweefsel met bacteriën gevuld, terwijl de vaatbun­dels vrij blijven (fig. 3). Planten met dergelijke symptomen worden

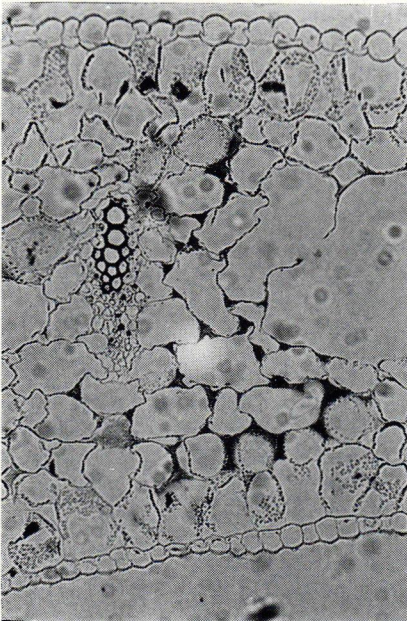
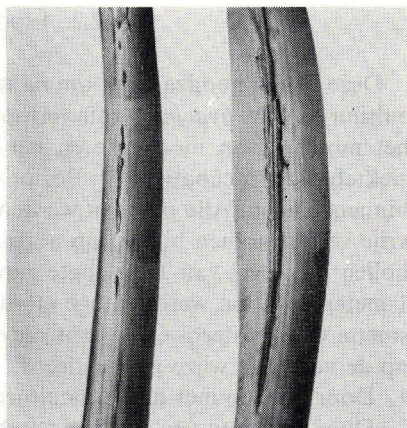


FIG. 3. Dwarse doorsnede van een door zwart­rand aangetast hyacinteb­lad. De donkere inter­cellulair­en zijn gevuld met bacteri­emassa; de vaat­bun­del is geheel vrij van bacteriën.

FIG. 4. Zwartrandstrepen in hyacintbladeren, in het rechterblad opengebarsten na regen.



'stralers' (fig. 9A) genoemd. De middenlamellen tussen de cellen lossen op, zodat zich tenslotte grotere bacteriemassa's dicht onder de opperhuid ophopen. Het bacterieslijm zwelt in het water sterk op, zodat het weefsel op de zwartrandstrepen bij regen overlans openbarst en de bacteriën in grote massa's vrijkomen (fig. 4). De op deze wijze beschadigde bladeren vervallen nu snel, krijgen een rafelig, vochtig, gemacereerd uiterlijk waarbij de bladtoppen omlaag kunnen hangen. Dergelijke bladeren zullen in de praktijk echter zelden worden aangetroffen, daar zij in verband met het enorme besmettingsgevaar reeds in een veel vroeger stadium door de teler onschadelijk worden gemaakt. Het is opvallend, dat de bacteriële aantasting zelfs bij dit vèrgaande verval van het blad steeds alleen intercellulair aanwezig is. Als tenslotte vrijwel alle weefsels verwoest zijn, blijft het xyleem-gedeelte van de vaatbundels vrij van bacteriën en uiterlijk onbeschadigd over.

Het spreekt vanzelf dat ook lager gelegen delen van aangetaste bladeren bij het vrijkomen van de bacteriën bij regen zeer gemakkelijk geïnfecteerd zullen raken, waarbij vooral het inspoelen in de bladkoker een onopvallende wijze van infectie dicht bij de bol kan betekenen. Bovendien zullen door regen en wind buurplanten over grotere afstanden kunnen worden besmet. Hiermee in overeenstemming is het feit dat op het veld 'zwartrandvlagen' zich dikwijls met de in ons land overheersende zuidwestenwind in noordoostelijke richting uitbreiden.

In perioden van droogte wordt het verdergaan van de aantasting sterk gèremd. In dat geval kunnen oppervlakkige zwartrandspetters en -strepen zelfs wat indrogen en rond de aantasting een bruinkleuring vertonen. De diepere, intercellulaire aantastingen, vooral die in de buurt van de grotere overlangse luchtholten in het blad, blijven echter actief. De kans op nieuwe besmettingen zal in dergelijke perioden echter uiterst gering zijn.

2.2. INOCULATIEPROEVEN

Deze waren noodzakelijk om na te gaan: 1e. hoe een inoculatie met een rein-cultuur van *X. hyacinthi* zou verlopen; 2e. hoeveel tijd zou verstrijken tussen het moment van inoculatie en het macroscopisch zichtbaar worden van het ziektebeeld ('incubatietijd'); 3e. op welke wijze de bacteriën het bladweefsel binnendringen. Alle proeven werden onder natuurlijke omstandigheden op het vrije veld genomen bij een op normale wijze geplant gewas. Meestal werden 5 bollen per regel van 1 m lengte geplant. Rondom de vakken die 2 regels van 1 meter bevatten werden hoge eternietplanten geplaatst, waarbij tussen de besmette vakken steeds enige controlevakken werden gelaten. De bladeren werden op de volgende wijze geïnoculeerd.

1. Door injectie met bouillonculturen (injectie-inoculatie)
2. Door insmeren van een deel van het bladoppervlak met agarculturen (smeer-inoculatie)
3. Door verstuiven van een bouilloncultuur met een vernevelaar (verstuif-inoculatie)

Na de injectie-inoculatie treedt onmiddellijk een duidelijke overlangse, \pm 5 cm lange infiltratiestreek op, die in de loop van enige dagen onduidelijk en daarna weer beter zichtbaar wordt. Bij regenweer kan het weefsel op deze infiltratiestrepen reeds na 2 weken openbarsten. Dit kan zelfs tot overlangse splijting van het blad aanleiding geven. Bij droog warm weer kan in de bladtop rondom de streep bruinkleuring optreden. Dergelijke inoculaties slagen voor 100%, doch hebben voor de kennis van het natuurlijke ziekteverloop weinig waarde.

Smeer- en verstuifinoculaties zijn belangrijker omdat deze zonder verwonding tot infectie leiden. Tabel 1 geeft een reeds zeer vroeg begonnen inoculatieproef weer, waarbij de buitenkant (onderzijde) van de bladtoppen voorzichtig met geel slijm van een agarcultuur werd ingesmeerd. De vroegste inoculatie vond op 18 februari plaats. Daar de neuzen nog niet boven de grond waren, werd zoveel grond weggegraven dat de bladtoppen vrijkwamen. Enige tijd na het opsmeren van het bacterieslijm werd de weggegraven grond weer op de plant gebracht. Bij de latere proeven werden de toppen van de 3 buitenste bladeren besmet. Het

TABEL 1. Geelziekaantasting na inoculatie door insmeren van bladeren van hyacinten met een suspensie van *Xanthomonas hyacinthi* (veldproef); 10 planten per behandeling.

cultivar	inoculatie-datum	datum eerste bladsymptomen	incubatietijd (dagen)	aantal aange-taste planten
La Grandesse	18/2 ¹	4/4	45	10
Schotel	18/2 ¹	4/4	45	9
Schotel	16/3	2/5	47	10
Schotel	22/3	24/4	33	10
l'Innocence	22/3	2/5	41	8

¹ neuzen ondergronds geïnoculeerd

moment waarop bij 1 van de 10 geïnoculeerde planten op een of meer bladeren de eerste zwartrandspetters zichtbaar waren, werd als het einde van de incubatieperiode beschouwd. Dit bleek bij de op 18 februari geïnoculeerde planten op 4 april te vallen, dus pas 45 dagen na de inoculatie. De incubatietijd bleek ook bij de op 22 maart uitgevoerde inoculaties nog meer dan een maand te duren. Van de 50 geïnoculeerde planten vertoonden tenslotte 47 (94%) typische zwartrandssymptomen. Bij de honderden controleplanten trad geen enkel symptoom op.

De methode die de natuurlijke besmetting het meest nabijkomt, is die waarbij een bacteriesuspensie over de bladeren wordt verstoven. In tabel 2 zijn de resultaten samengevat, die met deze wijze van inoculatie (in de periode tussen 19 maart en 12 juni) werden verkregen.

In de eerste plaats kon worden geconstateerd, dat de op deze wijze verkregen bladsymptomen in geen enkel opzicht afweken van de in de praktijk waargenomen ziekteverschijnselen; de zwartrandspetters waren alleen wat talrijker en kwamen dichter opeen voor. Van de 150 geïnoculeerde planten vertoonden tenslotte 130 (86,6%) de typische bladsymptomen. Van groot belang is de waarneming dat de duur van de incubatietijd terugliep van 36 à 52 dagen na een besmetting in maart tot 18 à 20 dagen na een inoculatie omstreeks eind april en in juni. Op grond van deze waarnemingen mag worden aangenomen, dat de duur van de incubatieperiode vooral afhankelijk is van de temperatuur; ongetwijfeld speelt ook de vochtigheid daarbij een grote rol.

In de praktijk kunnen na een paar dagen warm en vochtig weer op de akkers plotseling langgerekte plekken met zwartrandplanten ontstaan. De door sommigen gehuldigde mening dat 'het zwartrand er plotseling ingevallen zou zijn' is echter onjuist. Uit de gevonden incubatietijden is duidelijk gebleken, dat de besmetting al veel eerder moet hebben plaatsgevonden. Het plotseling massaal 'zichtbaar' worden van de symptomen moet worden toegeschreven aan de daar-

TABEL 2. Geelziekaantasting na inoculatie door verstoven van een suspensie van *Xanthomonas hyacinthi* over het blad van de hyacint (veldproef). (n = aantal planten per behandeling).

cultivar	n	inoculatie- datum	eerste blad- symptomen	incubatietijd (dagen)	aantal aange- taste planten
La Grandesse	10	19/3	10/5	52	5
Schotel	10	22/3	12/5	51	7
l'Innocence	10	27/3	2/5	36	8
Schotel	20	23/4	12/5	19	20
Schotel	20	5/6	25/6	20	18
La Grandesse	20	6/6	25/6	19	16
La Grandesse	20	7/6	25/6	18	19
La Grandesse	20	11/6	30/6	19	19
Schotel	20	12/6	30/6	18	18
Controle					
La Grandesse	105	—	—	—	0
Schotel	95	—	—	—	0
l'Innocence	100	—	—	—	0

voor gunstige weersomstandigheden. Zie ook SAALTINK en KAMERMAN (1971). De kortste incubatietijd, die in de vele genomen proeven werd gevonden, was 7 dagen, geconstateerd op 13 juni bij de cultivar 'Schotel'. Recente waarnemingen van SAALTINK (1966a) bij inoculatieproeven onder geconditioneerde omstandigheden, o.a. bij verschillende temperaturen, hebben de resultaten van bovengenoemde veldproeven bevestigd. Zo bedroeg de incubatietijd bij 25°C slechts 7 dagen, bij 12–15°C echter 1–3 maanden.

Bij de genomen inoculatieproeven kon ook worden bestudeerd op welke wijze de geelziekbacteriën in het blad kunnen binnendringen. Na smeer-inoculatie kon aan bladdoorsneden worden vastgesteld dat vele ademholten onder de huidmondjes en soms enige daaraan grenzende intercellulaire reeds met de bacteriële slijm massa zijn gevuld voordat macroscopische ziektesymptomen op het blad zichtbaar zijn (fig. 5). Het is dus wel aannemelijk, dat de stomata in het hyacintebblad een belangrijke, zo niet de belangrijkste invalspoort vormen voor de geelziekbacteriën. In de epidermis van aangetaste bladeren werden nergens wondjes waargenomen. Infectie via wondjes of via beschadigde cellen van de epidermis lijkt op grond van deze waarnemingen niet erg waarschijnlijk. Volgens SAALTINK (1966b) kunnen ook hydathoden bij de infectie een rol spelen, hetgeen reeds door RITZEMA BOS (1912) werd verondersteld.

Van hoe grote betekenis het vochtgehalte van de omgevende lucht voor het slagen van een geelziekinfectie is, bleek uit proeven, die in een niet verwarmd 'warenhuis', werden genomen. Noch bij 40 door smeerinoculatie, noch bij 20 door verstui finoculatie behandelde planten van de cultivars 'Schotel' en 'La Grandesse' trad ook maar een spoor van zwartrand op. In tegenstelling hiermee toonden alle 10 door verstui finoculatie besmette planten in dezelfde kas na het er overheen plaatsen van glazen klokken, waaronder het milieu vochtig werd gehouden, in april typische bladsymptomen van het geelziek.

Tenslotte kon de grote betekenis van vocht voor de infectiekans bij aanwezigheid van zieke planten in de volgende proef duidelijk worden aangetoond. Van een aantal cultivars werd telkens om de 3, 4 of 5 regels met bollen van zieke partijen 1 regel gezonde bollen geplant. Deze proef werd zowel buiten als in een warenhuis opgezet. In beide gevallen werden evenveel bollen gebruikt. De resultaten zijn in tabel 3 samengevat.

Bij de regels met bollen van zieke partijen deden zich de volgende verschijnselen voor: 1e. een deel van de bollen was zo zwaar ziek, dat ze geen spruit meer boven de grond brachten (wegblijvers); 2e. een deel kwam nog wel boven de grond maar de planten bleven in groei achter terwijl de bladeren zich naar boven uitbreidende geelziekstrepen vertoonden, van waaruit de bacteriën vooral door regen en wind gemakkelijk verspreid konden worden; 3e. tenslotte bleek een deel van de bollen niet geelziek of zo licht aangetast, dat deze geen bovengrondse ziektesymptomen vertoonden.

Uit de resultaten van de veldproef blijkt hoe ziek de regels met bollen van zieke partijen onder natuurlijke omstandigheden kunnen worden. Bijna de helft of iets meer van deze bollen was niet opgekomen of vertoonde ernstige zwartrandverschijnselen. Daar deze zieke planten niet werden verwijderd, zijn de nog

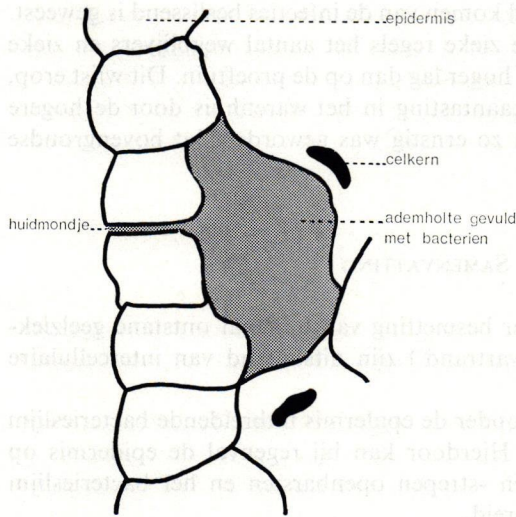


FIG. 5. Dwarse doorsnede van een hyacinteblad; ademholte geheel gevuld met bacteriemassa (grijs).

gezond opgekomen planten van cvs 'Johan' en 'Lady Derby' voor 100% en die van 'L'Innocence' voor ruim 50% door zwartrand aangetast. In de regels met gezond geplante 'La Grandesse' en 'Schotel' bedroeg de aantasting door zwartrand bijna 60%. Een vergelijking tussen deze getallen en die van de parallelproef in het warenhuis laat zien dat daar noch in de zieke geplante, noch bij de gezond geplante regels ook maar een enkel nieuw geval van zwartrand is opgetreden. Uit het feit dat de temperatuur in het warenhuis hoger was dan op het vrije veld, blijkt duidelijk dat de invloed van de weersomstandigheden, vooral

TABEL 3. Natuurlijke besmetting van hyacinten door *Xanthomonas hyacinthi* op de proeftuin en in het warenhuis. Gezonde partijtjes werden tussen zieke partijen geplant. Plantdatum 13 november. Tussen haakjes: het percentage 'zwartrand' ten opzichte van het totaal aantal aanvankelijk gezond opgroeiende planten.

ziek geplante partijen	n	Proeftuin		Warenhuis	
		aantal wegblijvers en opgekomen zieke planten	aantal zwartrandplanten	aantal wegblijvers en opgekomen zieke planten	aantal zwartrandplanten
Johan	64	28	36 (100%)	40	0
l'Innocence	152	65	44 (51%)	80	0
Lady Derby	32	21	11 (100%)	22	0
Totaal	248	114	91 (68%)	142	0
gezond geplante partijen					
La Grandesse	32	0	18 (56%)	0	0
Schotel	32	0	19 (59%)	0	0
Totaal	64	0	37 (58%)	0	0

van regen en wind, op het tot stand komen van de infecties beslissend is geweest. Opvallend is bovendien dat in de zieke regels het aantal wegblijvers en zieke planten in het warenhuis duidelijk hoger lag dan op de proeftuin. Dit wijst erop, dat een aanwezige, lichte geelziekaantasting in het warenhuis door de hogere grondtemperatuur in meer bollen zo ernstig was geworden dat bovengrondse symptomen konden optreden.

2.3. SAMENVATTING

1. De vanaf mei optredende, door besmetting van buitenaf ontstane geelziekeverschijnselen in het blad ('zwartrand') zijn uitsluitend van intercellulaire aard.
2. Het zich in de intercellularen onder de epidermis uitbreidende bacterieslijm is in water sterk opzwellbaar. Hierdoor kan bij regenval de epidermis op plaatsen met zwartrandspetters en -strepen openbarsten en het bacterieslijm door regen en wind worden verspreid.
3. Inoculaties door het zonder verwonding uitsmeren of verstuiven van bacteriesuspensies op het blad gaven bij 80-90% van de planten typische zwartrandverschijnselen. Hierbij bleek dat de incubatietijd varieerde van 52 tot 33 dagen bij inoculatie in februari of maart tegenover 18 tot 20 dagen (of zelfs minder) bij inoculatie tussen april en eind juni. De kortste incubatietijd, nl. 7 dagen, werd waargenomen in laatstgenoemde maand.
4. Stomata vormen een belangrijke invalspoort voor de geelziekebacteriën; voordat de aantasting macroscopisch waarneembaar was, bleken reeds vele ademholten met bacteriën gevuld te zijn.
5. Van hoe groot belang vochtneerslag is voor het slagen van kunstmatige en natuurlijke besmetting bleek uit een vergelijking van gelijksoortige kas- en veldproeven. In tegenstelling tot de veldproeven lieten kasproeven, zowel na inoculatie zonder verwonding als na door elkaar planten van zieke en gezonde bollen, in de gezonde planten geen enkele infectie zien.

Planten	Gezond	Ziek	Planten	Gezond	Ziek
1	0	0	1	0	0
2	0	0	2	0	0
3	0	0	3	0	0
4	0	0	4	0	0
5	0	0	5	0	0
6	0	0	6	0	0
7	0	0	7	0	0
8	0	0	8	0	0
9	0	0	9	0	0
10	0	0	10	0	0

3. HET VERLOOP VAN DE GEELZIEKAANTASTING IN DE BOL

3.1. BOLSYPMTOMEN

Uit het voorgaande is gebleken, dat de bladinfectie zich door de longitudinaal verlopende intercellulaire streepsgewijs omlaag kan uitbreiden, terwijl door inspoeling in de bladkoker op een lager niveau een hernieuwde infectie kan optreden. Op de plaats waar het blad in de bolrok overgaat, worden het aantal en de grootte van de intercellulaire kleiner. In de eigenlijke bolrok komen intercellulaire in hoofdzaak slechts tussen de epidermis en de paar daaronder liggende parenchymlagen voor. De rest van het bolrokparenchym bestaat uit een zeer nauw aaneengesloten geheel van met zetmeel gevulde cellen. Door deze structuur wordt de uitbreiding van de geelziekaantasting naar beneden belemmerd en verloopt daardoor in de bolrok veel langzamer dan in het blad. Bovendien breidt de aantasting zich door het intercellulaire systeem dat in de bolrok minder longitudinaal gerekt is, minder streepvormig uit, maar meer onregelmatig en ook meer in de breedte. Doordat de sterk zwelbare bacteriële slijm-massa dicht onder de epidermis komt te liggen, wordt de laatste plaatselijk iets naar buiten gedrukt, vooral wanneer de bacteriemassa zich door oplossing van de middenlamellen over grotere oppervlakten tussen epidermis en onderliggend parenchym uitbreidt. Op deze wijze ontstaat het typische beeld van een soms zeer onregelmatig gevormde, vrij brede en gezwollen, omlaag lopende infectieplek (fig. 6). Deze is diffuus geel gekleurd. Dit beeld kan zich zowel aan de bui-

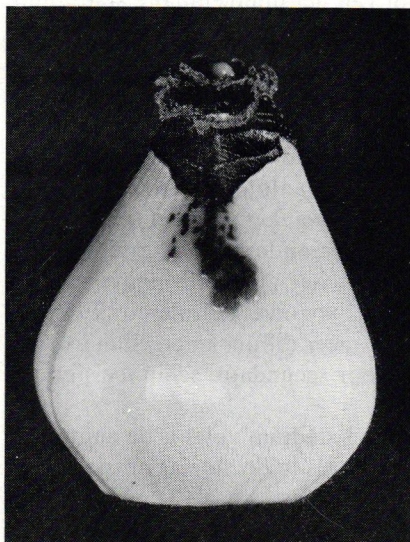


FIG. 6. Geelzieke hyacintebol in oktober, afgepeld tot op de infectierok. Het bovenste deel van deze roc is vliezig geworden en donker gekleurd. Iets beneden dit deel ligt de wat gezwollen en onregelmatig tot halverwege de bolhoogte doorgedrongen geelziekaantasting.

ten- als aan de binnenzijde van de bolrok voordoen, waarbij de bacteriemassa behalve door de epidermis ook nog wel door de subepidermale cellaag bedekt kan blijven.

De zich op deze wijze naar beneden ontwikkelende geelziekaantasting kan betrekkelijk smal blijven, maar zich ook zijwaarts over een groot deel van de bolrok uitbreiden.

Veel hangt af van de mate waarin het blad aanvankelijk was aangetast. Als deze ernstig was, zal de aantasting ook in de bolrok heviger zijn; was deze licht, dan kan het voorkomen, dat na het rooien alleen boven in de bolrok een enkel waterachtig geïnfiltreerd vlekje aanwezig is, dat moeilijk waarneembaar is en zich slechts zeer langzaam in de bolrok verder uitbreidt. Het hangt van het aantal geïnfekteerde bladeren af of één of meer rokken worden aangetast. Steeds zullen alleen die bolrokken de beschreven geelzieksymptomen vertonen, waarvan het bijbehorende bladdeel reeds was geïnfekteerd. Zolang de infectie de bolbodem nog niet heeft bereikt, is evenals in het blad, nog steeds sprake van een intercellulair aantastingsverloop, waarbij secundair door het oplossen van de middenlamellen en het afsterven van de losgeraakte cellen grotere verwoestingen in het bolrokweefsel kunnen optreden.

Het bereiken van de bolbodem betekent een kritisch moment in het verloop van de ziekte. Zodra de geelziekaantasting in het bodemweefsel is doorgedrongen, treedt een snelle, door intense geelkleuring gekenmerkte uitbreiding in de bolschijf op, uitgaande van het punt waar de aantasting vanuit de bolrok heeft plaatsgevonden. Is de bodem voor een groot deel of geheel geel gekleurd, dan wordt gesproken van 'bodemgeel'. In dit stadium treden nu snel 2 verschijnselen op. In de eerste plaats dringen de bacteriën in het vaatbundelweefsel van de bolschijf door, daarbij gebruik makend van de vele daar aanwezige vaatbundel-anastomosen. Van daaruit ontwikkelt de ziekte zich nu snel via de vaatbundels in de bolrokken omhoog. De infectie is dan van het intercellulaire stadium in het intravasculaire stadium overgegaan. In dit stadium, dat reeds door WAKKER (1883) zo voortreffelijk werd beschreven en afgebeeld, vertoont de bol het typische geelziekebeeld; op dwarsdoorsnede: talloze heldergele stippen op de plaats van de vaatbundels die in alle bolrokken kunnen voorkomen; op overlangse doorsnede of bij doorzicht: verticaal lopende, dunne, heldergele strepen. Deze beginnen steeds onderaan de basis en lopen niet altijd geheel tot boven toe door. Uit microscopisch onderzoek bleek, dat aanvankelijk alleen het xyleemgedeelte van de vaatbundels wordt aangetast en verandert in een gele bacteriemassa, waarin hier en daar nog vaatresten zichtbaar zijn. Met name uit deze aantastingen is de geelziekbacterie zeer gemakkelijk zuiver te isoleren; dit is niet het geval bij de zich naar omlaag uitbreidende, meer diffuus intercellulaire aantasting, waarbij de bacteriemassa veel meer door secundaire schimmels en andere bacteriën verontreinigd blijkt te zijn.

Het tweede verschijnsel, dat op het bodemgeel-stadium volgt is de aantasting van de nieuwe spruit. Zowel in de jonge bladeren als in de bloeias ontstaan omhooglopende infiltratiestrepen.

3.2. DE UIT DE AANGETASTE BOLLEN VOORTKOMENDE ZIEKTEBEELDEN

Welke ziektebeelden zullen ontstaan, is sterk afhankelijk van het tijdstip, waarop het 'bodemgeel-stadium' wordt bereikt. Voor de duidelijkheid zullen hier een 6-tal mogelijkheden worden besproken; het spreekt vanzelf, dat allerlei tussenvormen kunnen optreden.

a. De bladinfectie is zo vroeg en zo snel verlopen, dat het bodemgeel reeds voor of tijdens de zomerbewaring is opgetreden. Een dergelijke bol zal gedurende deze periode, vooral door secundaire bacterie-aantastingen (o.a. 'witsnot') voos worden en uitvallen.

b. Het bodemgeelstadium wordt omstreeks of kort na het planten bereikt. Daar dergelijke bollen geen wortels meer kunnen vormen, gaan ze in de winter te gronde. Dit worden de 'wegblijvers' of 'gaten'.

c. Het bodemgeel treedt in de nawinter op, waardoor nog een normale wortelvorming heeft plaatsgevonden. De spruit is echter reeds vóór het opkomen door geelziekinfiltratie vanuit de bolbodem aangetast. De uitbreiding van deze aantasting heeft intercellulair plaats met omhooggaande soms geelgekleurde infiltratiestrepen in de bladeren. Dergelijke spruiten kunnen nog boven de grond komen; ze hebben een geknepen uiterlijk, blijven korter en vertonen omhooglopende infiltratiestrepen; vandaar de naam 'stralers' (fig. 9B).

Deze stralers vormen een bron van besmetting op het veld. Vanuit de sterk aangetaste bladeren zal het bacterieslijm door regen en wind gemakkelijk verspreid kunnen worden en aanleiding geven tot nieuwe bladinfecties; infecties, die zoals eerder werd aangetoond soms pas 1 of 2 maanden later zichtbaar worden. Het is zaak deze stralers, die overigens snel te gronde gaan, zo spoedig mogelijk te ontdekken en onschadelijk te maken.

d. Het bodemgeelstadium wordt pas in het voorjaar of nog later bereikt. In dat geval is de plant nog volkomen normaal opgekomen. Doordat bij het ontstaan van het bodemgeel de fysiologische communicatie tussen wortel en spruit verbroken wordt, zakt de plant als het ware plotseling in elkaar; vandaar de naam 'zakker' of 'ploffer'. De groei is gestopt, de bladtoppen gaan slap hangen en vertonen snel gele punten. Hoewel zakkers meestal voor of tijdens de bloei optreden, waarbij ook de bloemtros slap gaat hangen, kan dit verschijnsel ook veel later tot zelfs in juni voorkomen. Men spreekt dan wel van 'late zakkers'. Voor de besmetting op het veld zijn echter de vroeg optredende zakkers het gevaarlijkst, daar bij deze het bodemgeel zo vroeg tot stand is gekomen dat geelziekinfiltraties tot de bovengrondse bladdelen hebben kunnen doordringen. Bij de late zakkers kan het gebeuren, dat de plant door watergebrek te gronde gaat voordat de geelziekaantasting vanuit de bodem ook de nu volwassen bovengrondse bladdelen heeft kunnen bereiken.

e. Het is gebleken, dat een in het voorjaar ontstane lichte bladinfectie zich zo langzaam in de bolrok naar beneden kan uitbreiden, dat de bolbodem pas in de zomer van het daarop volgende jaar wordt bereikt. In dat geval komt pas tijdens de schuurbewaring van datzelfde jaar het bodemgeelstadium tot stand zonder dat in het groeiseizoen ook maar iets van zwarttrand werd waargenomen.

Dit bodemgeel dat van een meer dan een jaar geleden tot stand gekomen bladinfectie afkomstig was, kan met 'laat bodemgeel' worden aangeduid. Dit ter onderscheiding van het uit hetzelfde jaar als de bladinfectie afkomstige 'vroeg bodemgeel'.

Het late bodemgeel heeft tot vele speculaties aanleiding gegeven over mogelijke infectie via de wortels of via inspoeling tussen de bolrokken. Een nauwkeurig systematisch onderzoek bij partijen geelzieke hyacinten, zoals hiervoor beschreven, toonde echter aan dat er voor dergelijke speculatieve interpretaties geen enkele noodzaak is. Meestal is bij een laat bodemgele bol een dwars doorsnijden reeds voldoende om de rok waarin de aantasting naar beneden doordrong zichtbaar te maken. Wel moet het afpellen van de bol en het blootleggen van de verdachte rok de bevestiging geven dat deze infectie ook werkelijk tot in de bolbodem is doorgedrongen. Daar op een dwars doorgesneden bol de verschillende jaargangen van de bolrokken gemarkeerd zijn door de nog aanwezige platte bloeias-resten, is gemakkelijk vast te stellen of een infectierok bij een loofblad uit datzelfde groeiseizoen behoort of bij een loofblad uit het voorafgaande seizoen. In het geval van 'vroeg bodemgeel' zal de infectierok ergens *tussen* de bloeias van het laatste jaar en die van het voorafgaande liggen: in het geval van 'laat' bodemgeel dichter bij de buitenkant van de bol dan de bloeiasrest van het voorafgaande jaar.

Figuur 7 geeft een typisch voorbeeld van het laatste geval. Uit deze tekening blijkt tevens, dat de oude infectierok ver naar buiten is komen te liggen en als het ware op het punt staat over te gaan in een uitgezogen vliezige bolrok. Bij dikke bollen zal een dergelijke rok steeds zijn terug te vinden. BLAAUW (1923) heeft aangetoond, dat bij een 5-jarige bol van 'Queen of the Blues' in de zomer tussen de bloemsteelrest van het vorige jaar en de buitenkant van de bol nog een 8-tal rokken zijn terug te vinden tegen slechts 3 bij een 3-jarige bol. Dit waren langzaam gegroeide bollen. Het is gebleken dat dit aantal bij een snelle groei zoals verkregen wordt met de tegenwoordige cultuurmethoden nog geringer kan zijn. Bij zo'n vlug gegroeide jonge bol is het mogelijk dat de infectierok spoedig nadat de infectie de bolbodem heeft bereikt, reeds vliezig wordt en te gronde gaat. De kans hierop zal des te groter zijn naarmate de infectie oorspronkelijk plaatsvond in één van de toen meer naar buiten gelegen loofbladeren. In die gevallen is bodemgeel ontstaan, zonder dat de infectierok later kan worden terug gevonden. Juist deze gevallen hebben tot foutieve veronderstellingen over het ontstaan van bodemgeel aanleiding gegeven.

f. De aantasting heeft zich zo langzaam naar omlaag uitgebreid, dat de desbetreffende bolrok vóórdát de bodem bereikt werd aan de buitenkant van de bol is komen te liggen, vliezig is geworden en verloren is gegaan. In dat geval doet zich het interessante feit voor dat een door geelziek aangetaste bol door het te gronde gaan van de infectierok weer gezond is geworden; het geelziek is als het ware de bol uitgegroeid.

Zoals gezegd, kunnen tussen de 6 besproken mogelijkheden vele overganggevallen voorkomen. Bovendien kunnen, terwijl reeds een of meer langzaam voortschrijdende aantastingen aanwezig zijn die in het daarop volgende groei-

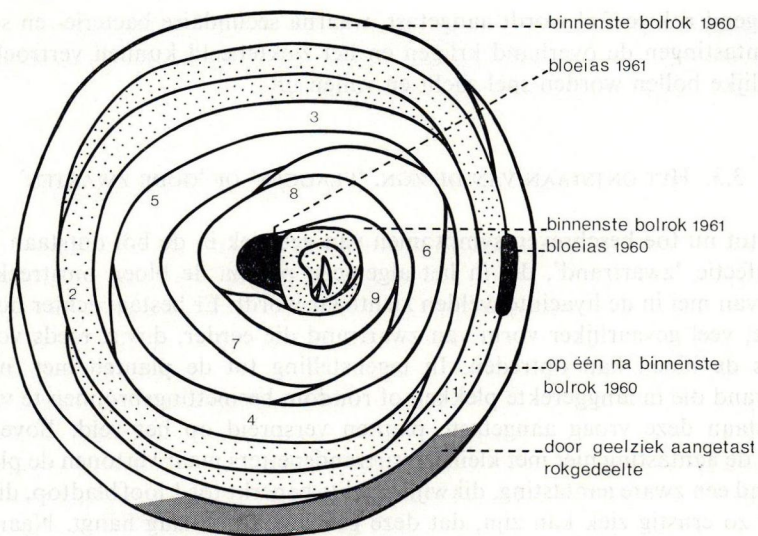


FIG. 7. Dwarse doorsnede van een hyacintbol met 'laat bodemgeel' in augustus 1961 (met tekenprisma getekend). De twee buitenste gave rokken waren verwijderd. Zwart: bloeias; gestippeld: schedelbladeren; wit: bolrokken. Buiten de bloeias van 1960 nog twee bolrokken aanwezig; de buitenste hiervan is de infectierok (geelziekaantasting grijs aangegeven). Tussen de bloeias van 1960 en die van 1961: 9 bolrokken, van buiten naar binnen 1-9 genummerd. Hiervan 1 en 2 schedelbladeren. Tussen de bloeias 1961 en de binnenste bolrok (nr. 9) liggen de 2 schedelbladeren van de nieuwe neus. De afgebeelde geelziekinfectie is in 1960 ontstaan en is zo langzaam voortgegaan, dat pas in augustus 1961 de bolschijf juist werd bereikt. Deze bol zou ongetwijfeld in het najaar van 1961 door bodemgeel te gronde zijn gegaan. - Voor de morfologische opbouw van de hyacintbol zie BLAAUW (1920).

seizoen de bodem nog niet hebben bereikt, in de ondereinden van de functionerende loofbladeren nieuwe infecties optreden. In dat geval zullen in eenzelfde bol 2 soorten aantastingen kunnen voorkomen van verschillende 'leeftijd'; de buitenste afkomstig van een loofbladinfectie tijdens het vorige groeiseizoen, de binnenste van een loofbladinfectie in het lopende groei-jaar. Het hangt dan van de mate van aantasting af, welke het eerst de bolbodem zal bereiken. Het eindresultaat is hetzelfde: vernietiging van de bol.

De boven beschreven ziekteverschijnselen komen voor in normaal geteelde partijen, waarbij de gewone ziektebestrijding niet werd nagelaten. Daardoor wordt de mate van aantasting in toom gehouden. Bij totale verwaarlozing zal het misschien mogelijk zijn, dat de bladaantastingen zo ernstig worden en in de bolneus zodanige verwoestingen worden aangericht, dat reeds in een vroeg stadium bacteriën in de vaatbundels geraken en daardoor een veel snellere vernietiging van de bol optreedt. De resultaten van te bespreken bolinfectieproeven wijzen in die richting (zie pag. 35).

Tenslotte moet nog worden vermeld, dat in bodemgele bollen vanuit de omhooglopende vaatbundelstrepen vooral door oplossing van middenlamellen ook

omringend rokweefsel wordt aangetast, waarna secundaire bacterie- en schimmelaantastingen de overhand krijgen en het ziektebeeld kunnen vertroebelen. Dergelijke bollen worden snel zacht en vallen uit.

3.3. HET ONTSTAAN VAN DE ZGN. 'VLAGGEN' OF 'OUDE ZWARTEN'

De tot nu toe beschreven symptomen van geelziek in de bol ontstaan na de bladinfectie 'zwartrand', die in het algemeen pas na de bloei, omstreeks het begin van mei in de hyacintenvelden zichtbaar wordt. Er bestaat echter nog een andere, veel gevaarlijker vorm van zwartrand die eerder, d.w.z. reeds voor of tijdens de bloei, kan optreden. In tegenstelling tot de planten met 'nieuw' zwartrand die in langgerekte plekken of rondom besmettingsbronnen te vinden zijn, staan deze vroeg aangetaste planten verspreid op het veld. Bovendien begint de aantasting niet met kleine zwartrandspetters maar vertonen de planten terstond een zware aantasting, dikwijls slechts beperkt tot 1 loofbladtop, die dan echter zo ernstig ziek kan zijn, dat deze geheel slap omlaag hangt. Naar aanleiding van de in de wind wapperende, slappe bladtoppen noemen de telers deze planten ook wel 'vlaggen'. Het spreekt vanzelf, dat deze vlaggen een buitengewoon gevaarlijke besmettingshaard vormen. Ook bij dit 'oude zwartrand' is de aantasting meestal alleen intercellulair; slechts bij uitzondering werd een enkel xyleemvat gevuld met bacteriën aangetroffen.

Het vroege en geïsoleerde optreden, het soms voorkomen in partijen waarin geen enkele besmettingsbron te vinden was en het explosieve karakter van de aantasting, hadden bij sommige practici de mening doen post vatten, dat dit zwartrand uit de bol zelf moest zijn voortgekomen, vandaar dat zij deze planten 'oude zwarten' hadden gedoopt. Het bewijs konden zij echter niet leveren daar de desbetreffende bollen bij doorsnijden geheel gezond schenen te zijn. Bovendien bleek bij anatomisch onderzoek alleen de bladtop aangetast en in het verdere bovengrondse en ondergrondse bladdeel ook microscopisch geen spoor van aantasting aantoonbaar te zijn.

Het zorgvuldig rok voor rok afpellen van de bollen gaf de verklaring, die bevestigd werd door dit gedurende een paar seizoenen op geregelde tijden te doen bij oorspronkelijk licht aangetaste partijen. Hierbij bleek, dat een in het groei-seizoen ontstane geelzieke vlek boven in een bolrok de nieuwe spruit aan de top kan besmetten tijdens het omhooggroeien in najaar en winter. Het spreekt vanzelf, dat dit strijken langs een besmette roktop alleen mogelijk is als de geelziek-aantasting zich in het rokgedeelte van een van de binnenste loofbladeren van het afgelopen groeiseizoen bevindt. Bovendien kunnen alleen de toppen van de 2 buitenste loofbladeren in contact met de geelziekplek komen. Dit klopt met het feit, dat oud zwartrand alleen in de buitenste loofbladeren optreedt. Daar de groei in de winter betrekkelijk langzaam verloopt, zal de neustop vrij lang in contact blijven met de zieke top van de bolrok. Bovendien bevordert de spanning, die in de boltop optreedt door de omhooggroeiende dikke spruit, het ontstaan van kleine overlangse scheurtjes in het zieke rokdeel, waardoor het

bacterieslijm vrijkomt. De aldus besmette bladtop zal door de lange incubatietijd in het vroege voorjaar niet direct na het opkomen herkenbaar zijn. Zodra echter in april gunstiger weersomstandigheden optreden, zullen deze zwaar besmette bladtoppen plotseling in al hun omvang zichtbaar worden. Deze gang van zaken loopt parallel met de in tabel 1 vermelde inoculatieproeven, die reeds in februari werden uitgevoerd bij nog ondergrondse neuzen; ook deze vertoonden reeds zwartrand op 4 april in tegenstelling tot het normale optreden van zwartrand na de bloei.

Bij oud zwartrand is steeds de infectierok terug te vinden. Figuur 8 geeft daarvan een typisch voorbeeld. Daar zowel de nieuwe loofbladtoppen als de oude roktoppen elkaar niet volkomen dekken, kunnen dus ook 2 bladtoppen worden aangetast, mits zij beide aan de zieke rok grenzen.

Feitelijk zou het ontstaan van oud zwartrand dus ondergebracht moeten worden bij de groepen d en e van pag. 19. De rokinfectie heeft het bodemgeelstadium nog niet bereikt; desondanks zijn door langdurig contact tussen neus en geïnfecteerde rok bovengrondse ziekteverschijnselen ontstaan. Dergelijke planten kunnen verder zeer ingewikkelde ziektebeelden opleveren. De geïnfecteerde rok kan wel of niet tot bodemgeel leiden; het oude zwartrand kan zich in het blad uitbreiden en door inspoeling in de kruidkoker vroege, lage infecties veroorzaken, die snel weer tot in de bol doordringen.

Tenslotte moet nog worden vermeld, dat tussen de binnenste rok en de nieuwe neus nog 2 schedebladeren liggen, die deze neus omhullen. Deze schedebladeren

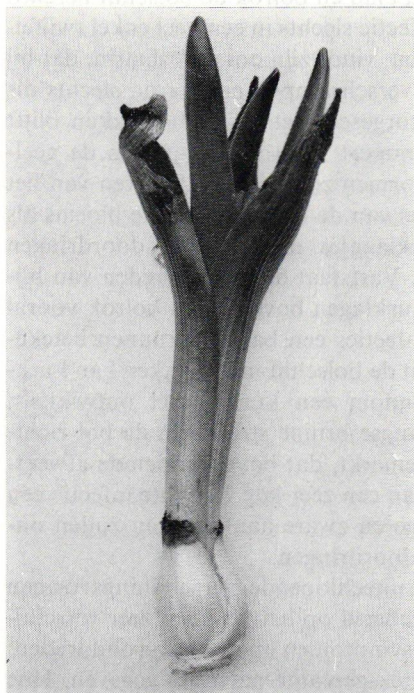


FIG. 8. Hyacint cv. 'l'Innocence'. 'Oude zwarte' of 'vlag' op 11 april. Bol afgepeld tot op de infectierokken (zie de donkergekleurde geelzieke plekken bovenin). De buitenste loofbladeren werden geïnfecteerd tijdens het groeien langs deze plekken; vandaar de zwaar aangetaste toppen van deze loofbladeren.

zijn echter minstens een halve centimeter korter dan de aanliggende oude rokken, zodat er boven in de bol toch direct contact bestaat met de nieuwe neustop. Voor nadere gegevens en metingen over deze morfologische situatie zie BLAAUW (1923).

Uit het bovenstaande is gebleken, dat oud zwartrand alleen kan ontstaan indien een van de binnenste rokken van het afgelopen groeiseizoen bovenin een geelziekvlek vertoont. Bij een meer naar buiten gelegen rok is contact met de nieuwe neus onmogelijk. Wel wordt zo'n rok aan binnen- en buitenzijde door andere bolrokken omgeven. Het is echter een feit, dat ook bij zware en brede tot dicht bij de schijf gekomen aantastingen geen infectie van de aanliggende rokken optreedt. De verklaring ligt voor de hand: in tegenstelling tot de zeer vatbare loofbladeren, bezitten de bolrokken geen huidmondjes. Wederzijdse infectie van de ene bolrok door de andere kan alleen langs een omweg via de bolschijf plaatsvinden.

3.4. AFWEER VAN DE PLANT

In bovenstaande beschouwingen is geen aandacht besteed aan een mogelijke bolaantasting via infectie van de steel van de bloemtros, de bloeias. Toch bleek deze evenals de bladeren vatbaar voor infectie te zijn en duidelijke zwartrand-symptomen te kunnen tonen. Bij de vele onderzochte bollen kon worden geconstateerd, dat de aantasting vrijwel steeds via blad en bolrok de bolschijf bereikt. Dat een aantasting als gevolg van bloeiasinfectie slechts in een heel enkel twijfelachtig geval tot in de bol werd waargenomen, vindt zijn oorzaak daarin, dat bij de hyacint reeds in augustus deze bloeias verschrompelt en daarna slechts als een platgedrukt vliezig orgaan tussen de turgescer gebleven bolrokken blijft liggen. Deze vroege verschrompeling belemmert het verdergaan van de geelziekaantasting via de bloeias. Bovendien vormen zich bij het afsterven van het bovengrondse gewas ter hoogte van de neus van de bol, zowel in de bloeias als in de bladondereinden, scheidings- en kurklaagjes, die het verder doordringen van een geelziekinfectie kunnen tegengaan. Vaststaat dat het optreden van bijvoorbeeld een 5-tal boven elkaar gelegen kurklagen bovenin een bolrok vooral voor zeer lichte, laat opgetreden geelziekinfecties een barrière kunnen betekenen. Ook bij de vaatbundelaantasting vanuit de bolschijf in de rokken kan kurkvorming een rol spelen doordat zich rondom een kurkmantel ontwikkelt. Dergelijke vaatbundels zijn later als overlangse bruine strepen in de bol zichtbaar. Hierbij moet echter wel worden opgemerkt, dat bovengenoemde afweermiddelen van de plant alleen in het geval van een zeer late en lichte infectie een rol van betekenis kunnen vervullen. Vroege en zware aantastingen zullen ondanks kurkbarrières tot in de bol kunnen doordringen.

De in dit hoofdstuk behandelde, nogal uiteenlopende verschijningsvormen van het geelziek in de bol kunnen het ziektebeeld op het veld een zeer verschillend aanzien geven al naar gelang bepaalde symptomen op de voorgrond treden. In tabel 4 is een analyse van enige zwaar ziek geplante partijtjes gegeven. Hoe

TABEL 4. Veldproef: ziekte-toestand van enige door geelziek aangetaste partijtjes van de hyacint. Elke zieke plant is bij waarneming direct geroid en onderzocht.

Cultivar	n	gezond	wegblijvers ¹	stralers en zakkers	oud zwart-rand	% geelziek
Schotel	40	13	3	15	9 ²	67,5%
Johan	27	9	16	1	1	66,7%
l'Innocence	54	47	2	4	1	12,9%
Mad. Krüger	90	65	10	11	4	27,7%
La Grandesse	31	23	4	3	1	25,8%

¹ gecontroleerd geelziek; ² waarvan 2 tevens 'late zakker'

verschillend de ziekte-toestand van uiteenlopende partijen kan zijn, blijkt uit de twee eerste gevallen in tabel 4, die toch beide vrijwel even zwaar ($\pm 67\%$) waren aangetast. In de partij 'Schotel' kwam 7,5% van de bollen niet meer op en kwam 60% als zieke planten boven de grond. Bij de partij 'Johan' bleef 60% van de bollen weg en toonde slechts 7% bovengrondse symptomen. Omgerekend op het totaal aantal opgekomen planten worden de percentages planten met bovengrondse symptomen resp. 65% en 18%. Het spreekt vanzelf, dat de 65% zieke planten, waaronder vooral de oude zwarten (24%), een veel grotere besmettings-bron vormden voor de nog gezonde rest van de eerste partij dan de 18% voor de tweede partij.

3.5. SAMENVATTING

1. Bij de uitbreiding van de geelziekaantasting via de intercellulaire (zwart-rand) vanuit het bovengrondse bladdeel naar het ondergrondse bolrokdeel vormt het relatief gering ontwikkelde intercellulaire systeem in de bolrok een belangrijke barrière.
2. Doordat de intercellulaire direct onder de epidermis groter zijn dan in de rest van de rok, hoopt het bacterieslijm zich daar gemakkelijk op. Daardoor ontstaan enigszins gezwollen, geelachtig gekleurde plekken op de bolrokken.
3. De aantastingen breiden zich slechts langzaam naar beneden uit om tenslotte de bolschijf te bereiken. Dit proces kan in extreme gevallen meer dan een jaar vergen.
4. Vooral bij zeer lichte aantasting boven in de bolrok zal verdere uitbreiding extra vertraagd kunnen worden door het optreden van afsluitende kurk-laagjes.
5. Wanneer de aantasting de bolschijf eenmaal heeft bereikt, treedt een zeer snelle uitbreiding op, waardoor de bolbodem geel wordt (bodemgeel). Van hieruit wordt het xyleemgedeelte van de vaatbundels aangetast, waardoor het geelziek zich intravasculair van beneden naar boven in de bolrokken uitbreidt. De aangetaste, op dwarse doorsnede als gele stippen zichtbare, vaatbundels hebben deze ziekte de naam geelziek bezorgd.

6. Afhankelijk van het tijdstip waarop de aantasting de bolschijf bereikt, zullen zich de volgende ziekteverschijnselen kunnen voordoen. Het bodemgeelstadium wordt bereikt:
 - a. tijdens de bewaring in de zomer: 'uitval' reeds voor het planten
 - b. kort na het planten: 'wegblijvers' te velde
 - c. tijdens het najaar: 'stralers'
 - d. tijdens winter en voorjaar: 'vroeg en late zakkers'
 - e. in de zomer of later: 'laat bodemgeel'.
7. Indien boven in een van de binnenste bolrokken in het najaar een geelziek-aantasting voorkomt, kunnen de buitenste bladeren van de nieuwe spruit in de winter bij het omhoog groeien besmet geraken en vroeg in het seizoen aanleiding geven tot het 'oude zwartrand'. In tegenstelling tot 'nieuw zwartrand', dat vanuit een naburige besmettingsbron van buiten af is ontstaan, komt oud zwartrand door besmetting vanuit de bol zelf voort.
8. Van de planten met de onder 6 en 7 genoemde, bovengrondse symptomen zullen die met oud zwartrand, de stralers en de vroeg en late zakkers de belangrijkste infectiebronnen zijn voor gezonde buurplanten.

4. INOCULATIEPROEVEN EN BOLSYMPTOMEN

4.1. DIRECTE BOLINOCULATIES

Het in het vorige hoofdstuk geschetste ziekteverloop in de bol berust geheel op waarnemingen gedaan bij geregeld gecontroleerde zieke partijen. Het was dus noodzakelijk de verkregen gegevens nader te toetsen door middel van inoculatieproeven, temeer daar vroegere onderzoekers als WAKKER en SMITH er niet in waren geslaagd zonder verwonding bladinfecties tot stand te brengen, die ook bolaantasting tot gevolg hadden. Directe inoculaties door injectie van een bacteriesuspensie in de bolschijf van uitgeplante bollen bleken gemakkelijk voor 100% aan te slaan, o.a. bij de cultivar 'Schotel', 'La Grandesse', 'La Victoire', 'l'Innocence', 'Bismarck' en zelfs bij de minder vatbare 'Queen of the Pinks'. Het resultaat was steeds een typisch bodemgeel met later de omhooglopende vaatbundelaantastingen. Wel bleek hierbij, dat het typische beeld gemakkelijk door secundaire bacterieaantastingen vertroebeld kan worden. De beste resultaten werden verkregen bij koele bewaring van de geïnfecteerde bollen bijv. bij 5–10°C, waarbij een helder geel gekleurde aantasting optrad. Reeds bewaring bij kamertemperatuur deed veel secundaire rottingsverschijnselen ('versnotting') ontstaan.

Ook na het opplanten van op deze wijze geïnoculeerde bollen in december in grond van een verwarmde kas bleek de geelziekaantasting zeer zuiver te blijven. De bollen gedroegen zich precies zo als bollen, die op natuurlijke wijze het bodemgeelstadium hadden bereikt; er ontstonden typische wegblijvers, stralers en zakkers. Hoewel er enkele aanwijzingen zijn, dat hyacintebollen ook in de praktijk direct door mechanische verwonding met geelziek geïnfecteerd kunnen geraken (SAALTINK en KAMERMAN, 1971, p. 8) hebben de genoemde infectieproeven weinig waarde voor de kennis van het normale ziekteverloop. Wel geven zij een duidelijke aanwijzing dat de zgn. 'bodemvisitatie' van de bollen om bodemgeel te herkennen zeer grote gevaren meebrengt. Wanneer hierbij niet voor elke bol een volkomen gedesinfecteerd mes wordt gebruikt, is de kans op infectie van gezonde bollen zeer groot. Inderdaad kon worden vastgesteld dat bodemgeel dikwijls was ontstaan vanuit een visitatieplek in de bolschijf. Dit werd nog eens bevestigd door een in november genomen proef met cv. 'l'Innocence'. Nadat een mespunt met een agarcultuur van geelziek was besmet, werd met ditzelfde mes achtereenvolgens bij 7 bollen een klein stukje uit de bodem gewipt, dus bodemvisitatie toegepast. Na een droge en koele bewaring bleken in maart van het volgende jaar de bollen 1, 2, 3 en 4, in volgorde van visiteren, typisch bodemgeel te vertonen; bol 5 en 7 waren gezond, bol 6 vertoonde een lichtgele waterige vlek. Hieruit kon de geelziekbacterie worden geïsoleerd. Het bleek dus mogelijk met een besmet mes na bodemvisitatie van 5 bollen nog een 6e bol met geelziek te infecteren.

Alle pogingen om onbeschadigde bollen door direct contact met geelziek-

bacteriën te infecteren hebben een negatief resultaat opgeleverd. Noch het insmeren van de wortelkranen met geelziek, noch het planten in grond vermengd met geelzieke bollen of bolresten heeft ook maar enige aanwijzing gegeven voor een mogelijke infectie vanuit of via de grond. Steeds kon worden aangetoond, dat bolaantasting slechts via een bladinfectie tot stand was gekomen.

Toch is in de praktijk gebleken, dat hyacintebollen zonder bladinfectie besmet en geïnfecteerd kunnen raken en wel tijdens een warmwaterbehandeling. Dit is natuurlijk alleen mogelijk als zich in de behandelde partij geelzieke bollen bevinden. Het staat wel vast, dat door de sterke opzwellbaarheid van het bacterie-slijm in water, gezwollen aangetaste plekken zullen openbarsten en bacteriën vrij zullen komen. Uit door de Plantenziektenkundige Dienst (P.D., 1942) genomen proeven met een warmwaterbehandeling bij 28–30°C gedurende 2 uur, bleek een gezonde partij 'l'Innocence' door bijvoegen van geelzieke 'Grand Maître' tijdens deze behandeling met geelziek besmet te zijn geraakt, zodat in mei op het veld vele planten geelziekverschijnselen vertoonden. De bijgevoegde geelzieke bollen waren na de behandeling weer uit het bad verwijderd. Ook een tweede gezonde partij 'l'Innocence', na de verwijdering van de zieke bollen in ditzelfde bad behandeld, gaf hetzelfde ziektebeeld op het veld.

Hoewel bij deze warmwaterbehandeling een oplossing van $\frac{1}{4}\%$ Aretan aan het bad was toegevoegd, bleek toch infectie mogelijk te zijn geweest. Het lijkt niet uitgesloten dat de beschermende werking van de omhullende slijmlaag de bacteriën voor inactivering heeft behoed. Daar het resultaat van parallelproeven niet altijd positief uitviel, concludeerde de P.D. 'dat verspreiding van geelziek op deze wijze inderdaad mogelijk is, al zal de kans zeer waarschijnlijk niet zo groot zijn als weleens verondersteld geworden is'.

Uit deze proeven van de P.D. is echter niet duidelijk geworden hoe de bollen besmet zijn geraakt en welke symptomen op het veld zichtbaar werden. Zou het niet mogelijk zijn, dat deze infectie alleen kan optreden als de nieuwe spruit al ver ontwikkeld is en het besmette water de bol via de neus daardoor kan binnendringen? Dan zou hier per slot van rekening toch weer sprake zijn van infectie via het blad. Een andere mogelijkheid is dat de infectie is opgetreden via de wonden ontstaan door het afbreken van vooral bij dikkere bollen aanwezige kleine klisters. Afgezien daarvan moet ook nog gedacht worden aan de mogelijkheid van infectie via het bladgedeelte in deze soms los gebouwde en enigszins openstaande klistertjes.

Ook de recente proeven van OBATA (1968) met niet-verwonde bollen zijn niet overtuigend. Het door hem toegepaste onderdompelen van de bollen in een bacteriesuspensie bewijst niet veel. Hier gelden dezelfde bedenkingen als die welke bij de bespreking over de warmwaterbehandelingsproeven naar voren zijn gebracht.

Belangrijk zijn de proeven waarbij hij, na het planten van de bollen in potten, deze begoot met een bacteriesuspensie. Daarbij gelukte het hem in één geval bij een ploeg van 20 bollen 2 bollen geelziek te maken. Daar deze behandeling pas op 12 november plaatsvond, is het mogelijk dat de aantasting door infectie via de dan reeds ver ontwikkelde spruit is ontstaan, zodat ook hier weer bladinfectie

de oorzaak kan zijn geweest. Bovendien werden de bollen pas in april van het volgend jaar onderzocht en wordt de aard van de aanwezige ziektesymptomen niet vermeld.

Bollen, geplant in grond, die in het voorjaar met geelziek was besmet, werden niet aangetast op grond waarvan ook OBATA infectie via de grond in de praktijk vrijwel uitgesloten acht.

Tenslotte is nog vermeldenswaard, dat een bolinoculatie met *Xanthomonas hyacinthi* niet alleen bij de hyacint positieve resultaten heeft gegeven, maar ook bij bollen van *Galtonia candicans* (BEIJER, 1929 en 1970, niet gepubliceerd). Deze inoculaties werden op dezelfde wijze uitgevoerd, nl. door injectie van een bacteriesuspensie in de bolschijf.

Een inoculatie van 10 bollen op 1 mei, die een dag later werden geplant, gaf het volgende resultaat. Op 25 mei bleken na het opkomen 5 planten sterk in groei achter te blijven. Onderzoek toonde aan dat in de bollen van 3 van deze planten fraai bodemgeel was ontstaan met van daaruit typische, omhooglopende, gele vaatbundelstrepen die soms tot in het onderste deel van het blad boven de bol doorliepen. De bollen van de 2 overige planten waren tot rotting overgegaan. De overige 5 en de controles bleven gezond.

Van een 7-tal, eveneens op 1 mei geïnoculeerde bollen, die niet werden geplant doch bij kamertemperatuur werden bewaard, bleken 4 reeds op 13 mei verrot te zijn en 3 typisch bodemgeel met omhooglopende gele vaatbundels te vertonen.

Een andere proef waarbij op 4 februari bodemvisitatie met een besmet mes werd uitgevoerd, gaf het volgende resultaat. Van de aldus geïnoculeerde 15 bollen die, na een bewaring bij 5–10°C, op 16 april buiten werden geplant, waren op 30 augustus 3 ernstig door geelziek aangetast en vertoonden vele tot in de ondereinden van de bladeren omhooglopende gele vaatbundelstrepen.

4.2. BOLINFECTIE NA BLADINOCULATIES

Dat inoculatie van het loofblad door injecteren met een bacteriesuspensie een grote kans op bolaantasting zou opleveren was wel te verwachten. Tabel 5 geeft de resultaten van een veldproef met verschillende cultivars. Van op 5 april geïnoculeerde planten van de cvs 'Schotel' en 'l'Innocence' toonde bij het bolonderzoek in september 65% geelziekverschijnselen in de bol. Bij een gelijksoortige proef, waarbij de planten op 2 juni waren geïnoculeerd, werd 50% van de bollen aangetast. De inoculatie datum had echter invloed op de wijze van bolaantasting. Na inoculatie op 5 april verhield zich het aantal bollen waarin het geelziek de bolschijf nog niet had bereikt (rokgeel) tot het aantal waarin dit wel het geval was (bodemgeel) als 1 tot 12; na inoculatie op 2 juni als 7 tot 3. Merkwaardig is dat de zgn. minder vatbare cv. 'Queen of the Pinks' voor 75% werd aangetast en alle aangetaste bollen reeds bodemgeel vertoonden (zie ook blz. 37). Evenals bij alle nog te bespreken inoculatieproeven werd van elke cultivar een controle van \pm 100 planten opgezet. Bij deze controleplanten werd geen enkele geelziekaantasting in blad of bol waargenomen.

TABEL 5. Veldproef: Geelziekaantasting van de bol van hyacinten als gevolg van inoculaties van de 3 buitenste loofbladen door injectie met een suspensie van *Xanthomonas hyacinthi* (bouilloncultuur). Beoordeling van de bol omstreeks half september.

cultivar	n	inoculatie- tiedatum	gezond	alleen rokgeel ¹	ook bodem- geel ²	uitval door 'versnot- ting' (<i>Pecto- bacterium caroto- vorum</i>)	% geel- ziek
Schotel	10	5/4	0	0	8	2	} 65%
l'Innocence	10	5/4	2	1	4	3	
Queen of the Pinks	12	21/5	0	0	9	3	} 75%
Schotel	10	2/6	4	3	0	3	} 50%
l'Innocence	10	2/6	3	4	3	0	

¹ rokgeel = geelziekaantasting in één of meer rokken aanwezig; bolschijf nog gaaf

² bodemgeel = geelziekaantasting is tot in de bolschijf doorgedrongen

Extra aandacht verdient de kolom 'uitval'. Deze uitval was vrijwel altijd het gevolg van het zgn. 'versnotten' van de bollen, waarbij de weefsels van bolschijf en rokken in een grijze, weke, zeer onaangenaam riekende massa veranderen. Het is een feit, dat deze versnotting veel meer optreedt in geelzieke bollen dan in gezonde bollen van eenzelfde partij. Door deze secundaire rottingsverschijnselen is het bij ernstig optreden niet meer uit te maken of geelziek de primaire oorzaak is geweest of iets anders. Daar bij bovengenoemde proeven de versnotting in de controle vrijwel afwezig was, is het waarschijnlijk dat de meeste extra uitval op geelziek zal zijn terug te voeren. Deze uitval is echter in tabel 5 niet als zodanig bij het ziektepercentage gerekend. Zou dit wel gedaan zijn, dan zouden de ziektepercentages resp. op 90, 100 en 65% zijn gekomen.

Voor de studie van de bolaantasting zijn echter de inoculatieproeven, waarbij het blad zonder verwonding werd geïnfecteerd veel belangrijker. In tabel 6 zijn

TABEL 6. Veldproef: Geelziekaantasting van de bol van hyacinten als gevolg van inoculatie door insmeren van de toppen van de 3 buitenste loofbladeren met bacterieslijm (agarculturen). Beoordeling van de bol omstreeks half september.

cultivar	n	inoculatie- datum	gezond	alleen rokgeel	ook bodemgeel	uitval door andere oor- zaak dan geelziek
La Grandesse	10	18/2 ¹	3	4	3	0
Schotel	9	18/2 ¹	4	4	1	0
l'Innocence	10	7/3	8	0	2	0
Schotel	10	16/3	3	1	4	2
Schotel	10	22/3	1	3	5	1
l'Innocence	10	22/3	5	1	2	2

¹ Neuzen nog onder de grond; na inoculatie weer met grond bedekt.

de eindresultaten gegeven van een proef waarbij de toppen van de 3 buitenste loofbladeren voorzichtig met bacterieslijm (van agarculturen) waren ingesmeerd. Van de 59 op deze wijze geïnoculeerde planten leverden 30 een geelzieke bol op waarvan 17 met bodemgeel; in totaal een aantastingspercentage van 51%. Hiermee is het bewijs geleverd, dat geelzieke bollen kunnen worden verkregen door bladinoculatie zonder verwonding, een resultaat, dat bevestigd werd door het onderzoek van OBATA (1968).

Nog meer in overeenstemming met de natuurlijke infectiewijze is het verstuiven of vernevelen van een bacteriesuspensie over de planten op verschillende tijdstippen. Uit tabel 7 blijkt ook in dat geval een behoorlijk percentage bollen te worden aangetast. Er was echter een groot verschil in resultaat tussen de in maart uitgevoerde inoculaties en die in juni; de vroege gaven in totaal 42% geelzieke bollen, de late slechts 23%.

Bij analyse van de in tabel 7 vermelde ziektepercentages van de vroege en late inoculaties blijkt de verhouding rokgeel-bodemgeel na vroege inoculatie omgerekend op 100 bollen, 12:30 te zijn en na late inoculatie 18:5. Hoewel de 30 en 5 bodemgele bollen een direct verlies betekenen, leveren zij voor de desbetreffende partijen geen gevaar op; deze zullen namelijk vóór of kort na het planten uitvallen en aldus geen besmettingsgevaar meer opleveren. Geheel anders staat het met de 12 en 18 rokgele bollen, die eventueel nog tot stralers, oude zwarten of zakkers kunnen uitgroeien met alle gevolgen vandien. Samenvoeging van de resultaten van enige parallelproeven, betrekking hebbend op een paar honderd bollen, geeft als eindresultaat voor de vroege inoculaties (maart, april): 10,9% rokgeel tegenover 36,3% bodemgeel; voor de late inoculaties (juni): 21,5% rokgeel tegenover 6,2% bodemgeel. Hieruit blijkt opnieuw dat late zwarttrandinfecties in het lopende groeiseizoen wel minder uitval (vroeg bodemgeel) geven,

TABEL 7. Veldproef: Geelziekaantasting van de bol van hyacinten als gevolg van inoculatie van de loofbladeren door verstuiven van een bacteriesuspensie op verschillende data. Beoordeling van de bol omstreeks half september.

cultivar	n	inoculatie datum	gezond	alleen rokgeel	ook bodemgeel	uitval door andere oorzaak dan geelziek	% geelziek
La Grandesse	10	19/3	7	1	2	0	} 42%
Schotel	10	22/3	9	1	0	0	
l'Innocence	10	27/3	5	2	3	0	
Schotel	20	23/4	5	2	10	3	
Totaal	50		26	6	15	3	
Schotel	20	5/6	12	4	4	0	} 23%
La Grandesse	20	6/6	17	3	0	0	
La Grandesse	20	7/6	15	4	0	1	
La Grandesse	20	11/6	16	4	0	0	
Schotel	20	12/6	16	3	1	0	
Totaal	100		76	18	5	1	

maar in het daaropvolgende groeiseizoen des te meer schade kunnen veroorzaken als infectiebronnen (rokgeel). Wel moet hieraan worden toegevoegd, dat bovengenoemde ziektepercentages waarschijnlijk hoger zijn dan bij normale cultuurmethoden, daar bij deze proeven geen ziektebestrijding werd toegepast, zodat het eenmaal ontstane zwartrand ongestoord kon voortwoekeren.

Zoals bij de inoculatieproeven betreffende nieuw zwartrand reeds werd vermeld, speelt bij het slagen van de infectie het vocht een zeer grote rol. Dit blijkt eveneens bij bepaling van het percentage zieke bollen na inoculatie in een warenhuis, d.w.z. in een omgeving zonder neerslag. In tabel 8 is het effect van deze omstandigheden op het resultaat van diverse inoculatiemethoden gegeven. Zoals te verwachten was, gaven de inoculatiemethoden zonder bladverwonding zoals verstuif- en smeerinoculatie, die in het warenhuis geen bladsymptomen veroorzaakten, ook geen zieke bollen. Alleen de op blz. 14 beschreven zwartrandgevallen, verkregen door het plaatsen van glazen klokken over de planten, gaven op 10 planten 2 zieke bollen, waarvan 1 rokgeel en 1 bodemgeel.

Dat de bladinjecties ook in het warenhuis zouden slagen lag voor de hand; het aantal geelzieke bollen was ongeveer 35% met een verhouding rokgeel-bodemgeel van 3:2. Dat dit percentage veel lager ligt dan bij dezelfde inoculatiemethode op het vrije veld (65%, zie tabel 5) is niet verwonderlijk. In de kas is de mogelijkheid van hernieuwde infecties, zoals deze op het veld tussen de eenmaal geïnfecteerde planten onderling kunnen plaatsvinden, niet aanwezig. Ook zal de infectiebron door het ontbreken van lagere, door inspoeling ontstane aantastingen in het blad, meestal beperkt blijven tot de injectieplaats. De proeven bewijzen echter, dat ook deze geringe aantasting de bol via de intercellulair kan bereiken.

Tenslotte is in tabel 8 het resultaat van een proef gegeven die het bestaan van de reeds meermalen veronderstelde mogelijkheid van bladinfectie door inspoeling bevestigde. Hierbij werd een bacteriesuspensie met een injectienaald laag in de kruidkoker gespoten zonder een blad of steel aan te raken. Het blijkt dat de bacteriesuspensie bij deze 'bladkokerinoculatie' ook zonder dat regenval optreedt zo ver tussen de bladeren omlaag kan zakken, dat een voldoende vochtig milieu wordt bereikt om bladinfectie mogelijk te maken. In de bol van 5 van de 20 op deze wijze geïnoculeerde planten trad geelziek op, waarvan in 2 gevallen zelfs met bodemgeel. Bovengrondse symptomen werden niet waargenomen. Een parallelproef op het vrije veld op hetzelfde tijdstip met 10 planten van cv. 'La Grandesse' en 10 planten van cv. 'Schotel', leverde 7 geelzieke bollen op waarvan 6 reeds met bodemgeel. Deze bladkokerinfecties bewezen bovendien, dat bacteriën niet zo maar tussen de rokken naar beneden spoelen en bodemgeel veroorzaken, zoals wel wordt verondersteld. Ze veroorzaken onder in de kruidkoker aantastingen, die zich dan via de bijbehorende bolrokken intercellulair als rokgeel omlaag uitbreiden. Bladkokerinfectie is een verschijnsel dat gemakkelijk over het hoofd wordt gezien als na de inspoeling de bovengrondse bladsymptomen door droog weer extra lang achterwege blijven.

TABEL 8. Warenhuisproef: Bolaantasting bij hyacint na verschillende blad-inoculatiemethoden. Beoordeling van de bol omstreeks begin september.

inoculatie- methode	cultivar	n	datum inoculatie	gezond	alleen rokgeel	ook bodengeel	uitval door andere oorzaak dan geelziek	% geelziek ¹
smeer- inoculatie	La Grandesse	10	15/3	10	0	0	0	} 0%
	Schotel	10	16/3	9	0	0	1	
verstuif- inoculatie	La Grandesse	10	19/3	10	0	0	0	} 0%
	La Grandesse	10	23/3	9	1	0	0	
injectie- inoculatie	Dr. Lieber	13	5/4	8	2	3	0	} 35%
	La Grandesse	10	5/4	4	4	1	1	
	Schotel	10	5/4	6	2	2	0	
bladkoker- inoculatie	La Grandesse	10	5/4	6	3	1	0	} 25%
	Schotel	10	5/4	8	0	1	1	

Controle 'La Grandesse' 40 planten; 'Schotel' 70 planten; 'Dr. Lieber' 42 planten; geelziek 0%

¹ N.B. Een vergelijkbare parallelproef gaf de volgende ziektepercentages met tussen haakjes het aantal geïnoculeerde planten: 0% (90); 0% (15); 30% (30); 23% (40).

4.3. BOLINFECTIE VIA DE BLOEIAS

Bij de beschrijving van het algemene ziektebeeld van de bol is er reeds op gewezen, dat een geelziek-aantasting zich zelden via de bloeias naar beneden uitbreidt. Toch bleek bij veldproeven dat geelzieke bollen kunnen worden verkregen door inoculatie van de bovengrondse bloeias. Een week na injectie van de bloemtrossteel bij de cvs 'Schotel' en 'La Grandesse' op 17 mei bleken reeds infiltratiestrepen op de stelen zichtbaar te zijn. Van 20 geïnoculeerde planten bleven 12 bollen gezond en werden 8 geelziek, waarvan 2 zelfs bodemgeel vertoonden. Bij nader onderzoek bleek echter dat in geen van deze gevallen de bloeias in de bol was aangetast. Bij 6 bollen die alle in 1 bolrok diffuus geel vertoonden, bleek dat steeds de binnenste, de bloeias omsluitende rok was aangetast; bij 2 bodemgele bollen was de aantasting eveneens via een dergelijke bolrok tot stand gekomen. Al deze infecties moeten door inspoeling langs de bovengronds geïnoculeerde bloeias zijn ontstaan, vandaar dat alleen het binnenste loofblad en het daarbij behorende 'bolrokgedeelte' werden aangetast.

Dat het geelziek bij zeer vroege infectie een enkele maal toch via de bloeias de bodem van de bol kan bereiken, blijkt uit het volgende geval. Hierbij had de bacterieaantasting klaarblijkelijk het bolgedeelte van de bloemtrossteel reeds bereikt voordat deze tot schrompeling of kurkvorming (zie pag. 24) was overgegaan. Het betrof hier een steelinjectie op 7 maart bij de cv. 'l'Innocence', waarbij het inderdaad in één geval gelukte het ontstaan van bodemgeel via de steel aan te tonen. Het is echter de vraag of in de praktijk reeds op 7 maart zulk een zware infectie van de bloeias kan voorkomen.

4.4. DE DOOR DE INOCULATIES VERKREGEN ZIEKTEBEELDEN IN DE BOL

Bij het anatomisch-morfologisch onderzoek van bollen met de door de kunstmatige inoculaties verkregen ziektebeelden is gebleken, dat deze laatste in geen enkel opzicht afweken van de symptomen die zich bij de natuurlijke gang van zaken in de cultuur voordoen. Een door bolinjecties verkregen bodemgele bol gedraagt zich precies zo als een bol met gele bodem die via een geïnfecteerde rok werd aangetast. Afhankelijk van het tijdstip waarop de geelziekinjectie wordt toegepast zal deze bol: tijdens de bewaring uitvallen, na het planten zonder wortels te vormen te gronde gaan, zich in het voorjaar tot straler ontwikkelen of zich als vroege of late zakker manifesteren. Alleen oud zwartrand kan niet ontstaan, daar een kunstmatig, door injectie van de bolbodem, geïnfecteerde bol de daarvoor nodige aantasting in de top van de rokken mist.

Dit alles geldt eveneens voor het geelziek dat in de bol wordt verkregen door bladinoculaties, terwijl dan bovendien door de aanwezigheid van een geïnfecteerde rok eventueel oud zwart kan optreden. De wijze van uitbreiding van het geelziek in de geïnfecteerde rokken verliep ook na de kunstmatige bladinoculaties intercellulair, waardoor deze in de bolrokken zo vertraagd kon worden dat

het rokgeel soms pas meer dan een jaar na de inoculatie in bodemgeel overging (laat bodemgeel).

Hoewel de geelziekaantasting via het blad en de bolrok naar de bolschijf in de regel een strikt intercellulair verloop heeft, zijn hierop bij het onderzoek enkele uitzonderingen waargenomen. Bij de talloze waarnemingen en inoculaties is gebleken dat een infectie van de bolschijf via een vaatbundel niet geheel onmogelijk is en dat in een paar gevallen de vaatbundel als de infectieweg naar de bolschijf had gefungeerd. Het intravasculaire infectieverloop omlaag bleef echter een uitzondering. Bovendien moet hierbij in aanmerking worden genomen, dat deze paar gevallen zijn waargenomen in partijen, die vroeg en zwaar geïnfecteerd waren geraakt en waaruit, in tegenstelling tot wat in de praktijk gebruikelijk is, de zieke planten niet waren verwijderd. Daardoor konden zwaar zieke planten ontstaan waarvan tenslotte alle bladeren als een rafelige zwartrand-massa te gronde gingen. De in zo'n geval ontstane infectie via het xyleemgedeelte van de vaatbundel naar omlaag heeft een sneller verloop dan een intercellulaire aantasting. Daardoor wordt de bolbodem vlugger bereikt, waarna de bol door bodemgeel te gronde gaat. Dergelijke bollen vallen snel na het rooien uit en betekenen geen gevaar meer voor de partij als zodanig.

4.5. SAMENVATTING

1. Inoculaties van droge hyacintebollen door injecties met bacteriesuspensies van reïnculturen in de bolschijf slagen gemakkelijker voor 100%. Het resultaat is typisch bodemgeel. Deze infectiemethode is te vergelijken met bodemvisitatie met een besmet mes.
2. Inoculatie door bladinjectie gaf voor 50–65% geelzieke bollen.
3. Ook bladinoculatie zonder verwonding door insmeren of bespuiten met een bacteriesuspensie gaf bij veldproeven 40–50% geelzieke bollen; bij late inoculatie in juni bleef dit beperkt tot 23%. Naast lichtere rokaantastingen, die de bolschijf nog niet hadden bereikt, traden ook typische bodemgeelverschijnselen op.
4. Bij vermijding van neerslag, dus onder glas, kon geen bladinfectie ontstaan en bleven de bollen gezond. Alleen door bladinjectie of door een bacteriesuspensie zonder verwonding diep in de kruidkoker te brengen kon ook onder glas bij 25–30% van de bollen een aantasting worden verkregen.
5. Bolaantasting na inoculatie van de bloeias is mogelijk doch treedt meestal slechts indirect op. Het snelle verschrompelen van het in de bol gelegen gedeelte van de bloeias verhindert de geelziekuitbreiding langs deze weg. Inspoeënd vocht kan echter de aantasting van de steel overbrengen op het binnenste, de bloeias omhullende loofblad. Via het daarbij behorende rokdeel kan de aantasting zich dan tot in de bolbodem voortzetten.
6. Het door kunstmatige inoculaties geïnduceerde ziekteproces in de bol gaf geen afwijkingen te zien van de in hoofdstuk 3 besproken verschijnselen. Ook nu bleek weer dat de omlaag verlopende ziekteuitbreiding in de regel inter-

cellulair in blad en bolrok plaatsvindt; de omhooggaande uitbreiding vanuit de bolschijf in hoofdzaak intravasculair.

7. Wel bleek uit de onder 6 vermelde inoculatieproeven, dat een snelle ontwikkeling van de geelziekaantasting vanuit het blad naar de bolschijf via de vaatbundel niet geheel onmogelijk is; een dergelijke ontwikkeling blijft echter een uitzondering.

8. Bij de inoculatieproeven met *Xanthomonas hyacinthi* bleek dat behalve bij de hyacint ook bij *Galtonia candicans* door bolinoculatie typisch geelzieke bollen kunnen worden verkregen.

5. DISCUSSIE

5.1. ALGEMENE OPMERKINGEN

Een van de belangrijkste resultaten van dit onderzoek over de geelziekaantasting bij de hyacint is wel dat het gelukt is op het veld zonder bladverwonding infecties te krijgen, die geheel overeenkomen met het natuurlijke ziektebeeld. Daardoor werd het mogelijk het gehele, zich soms over twee groeiseizoenen uitstreckende, ziekteverloop in blad en bol met alle daarbij optredende verschijnselen op de voet te volgen. In het ziekteverloop kan men duidelijk verschillende fasen onderscheiden naar de snelheid waarmee de bacterie zich in de plant verspreidt.

X. hyacinthi manifesteert zich in eerste instantie niet als vaatbacterie, maar verspreidt zich aanvankelijk na de bladinfectie alleen intercellulair door het blad- en bolrokweefsel. Dit heeft ten gevolge dat de aantasting in het blad sneller kan verlopen dan in de bolrok, doordat in het blad meer en grotere intercellulaire ruimten aanwezig zijn. Doordat het intercellulaire systeem in de bolrok veel minder ontwikkeld is, gaat de aantasting slechts langzaam verder. De vertraging in de uitbreiding van de geelziekaantasting bij de overgang van blad naar bol vormt wel het kernpunt in de ziektegeschiedenis van het geelziek van de hyacint. Indien deze 'bottle neck' niet bestond en de uitbreiding in de bolrok even snel zou verlopen als in het blad, zouden praktisch alle aangetaste bollen, vooral tijdens de behandeling bij hoge temperaturen in de schuur, in de zomer door bodemgeel uitvallen. Mede door het ontbreken van mogelijkheden van besmetting vanuit de grond, zouden dan geen symptomen in het loof kunnen ontstaan die het gevolg zijn van een aantasting van de bol. Nu zijn het juist de lichtere aantastingen boven in een of meer bolrokken die het geelziek in stand houden. Zelfs zonder dat deze lichte aantastingen in bodemgeel overgaan, kunnen zij de in de bol omhooggroeiende spruit besmetten en oorzaak zijn van het ontstaan van vroeg optredend zwarttrand (zgn. oude zwarten of vlaggen).

Zoals vermeld, worden bij de teelt in de Bloembollenstreek alle zichtbaar aangetaste planten zo spoedig mogelijk verwijderd of vernietigd. Zonder deze maatregel zou de kans groter worden dat de ziekte zulke verwoestingen in het blad veroorzaakt, dat ook de vaatbundels worden bereikt. Dan zouden er meer gevallen optreden waarbij de infectie snel via de houtvaten van de bolrokken tot in de bolbodem kan doordringen zodat bodemgeel ontstaat.

In dit verband is het van belang erop te wijzen, dat de in de praktijk als minder 'vatbaar' voor geelziek bekende cultivar 'Queen of the Pinks' zich enigszins afwijkend kan gedragen. Bij de genomen infectieproeven bleek deze cultivar zowel bij bladnecrotie als bij bolnecrotie een van de meest gevoelige te zijn. Volgens tabel 5 werd bij cv. 'Queen of the Pinks' na bladnecrotie het hoogste percentage (75%) geelzieke bollen gevonden; deze vertoonden bovendien in september alle reeds bodemgeel. Verder onderzoek toonde aan, dat de aantast-

ting bij deze bollen in de meeste gevallen via de vaatbundel de bolbodem had bereikt, waardoor deze snel te gronde waren gegaan.

Hier rijst de vraag of bij 'Queen of the Pinks' de grotere vatbaarheid voor geelziek ten gevolge heeft dat door het snelle intravasculaire ontstaan van bodemgeel naar verhouding meer bollen voortijdig uitvallen. Hierdoor zouden in het voorjaar minder infectiebronnen op het veld aanwezig zijn, hetgeen het minder voorkomen van zwartrand bij deze cultivar zou verklaren.

Een tweede anatomische factor, die bij de geelziekaantasting een grote rol speelt, is het al of niet aanwezig zijn van huidmondjes. Via de vele stomata op de boven- en onderzijde van de bladeren komt de infectie onder gunstige milieuomstandigheden zeer gemakkelijk tot stand. Bovendien zal de aantasting ook gemakkelijk van het ene op het andere blad overgaan zowel bovengronds als onder in de bladkoker. In tegenstelling hiermee treedt, wegens het ontbreken van stomata, tussen de bolrokken onderling geen infectie op, zodat zelfs zwaar aangetaste rokken door volkomen gave rokken omgeven kunnen zijn. De geelziekaantasting kan alleen via het bodemgeelstadium van de ene rok op de andere overgaan.

Het bereiken van dit bodemgeelstadium betekent een tweede kritisch moment in de ontwikkeling van het geelziek. Immers, doordat de geelziekbacterie zich hierna als vaatbacterie manifesteert, worden de bolrokken snel en zwaar aangetast, waardoor het klassieke geelziekpatroon ontstaat. Het tijdstip waarop bodemgeel tot stand komt, is beslissend voor het bovengrondse ziektebeeld dat zal ontstaan. In het gunstigste geval zal de bol reeds tijdens de schuurbehandeling uitvallen of geen spruit meer boven de grond brengen (wegblijver); bij later optredend bodemgeel zullen zieke spruiten in de vorm van stralers of zakkers een bovengrondse besmettingsbron vormen.

Een paar milieufactoren, die vooral bij bladaantastingen een zeer grote rol spelen, zijn de temperatuur en de vochtigheid. Vooral vocht in de vorm van regen beslist over het al of niet slagen van geelziekinfecties. Dit speelt om te beginnen een rol bij het actief worden van de infectiebron zelf. Doordat het slijm, waarmee de geelziekbacterie omhuld is, zeer sterk in water opzwellbaar is, zullen bacterie-infiltraties die bij de zwartrandverschijnselen optreden bij regenweer sterk opzwellen, waardoor via de openbarstende epidermis bacteriemassa's vrijkomen. Bij afwezigheid van voldoende vochtneerslag, bijv. bij teelt onder glas, zal daarentegen noch door het tussenplanten van besmette planten, noch door kunstmatige inoculatiemethoden zonder verwonding, een infectie tot stand kunnen worden gebracht. Dit is dan ook de reden, dat onderzoekers als WAKKER en SMITH, die hun infectieproeven onder laboratoriumomstandigheden namen, er niet in zijn geslaagd zonder bladverwonding bladinfecties te krijgen. Vandaar ook hun neiging om bladwondjes als een mogelijke voorwaarde voor natuurlijke infectie te beschouwen.

Behalve de neerslag speelt ook de temperatuurfactor bij de bladaantasting een grote rol. Bij blad inoculaties zonder verwonding vroeg in het seizoen (februari-maart) kan het 7 weken duren voordat zwartrandsymptomen zichtbaar worden; later bij warm weer in juni kan dit reeds na 1 week het geval zijn. Het behoeft

verder geen betoog, dat deze lange incubatietijd het in verband met de ziektebestrijding zo noodzakelijke tijdige opsporen van aangetaste planten ten zeerste bemoeilijkt.

Dat de temperatuur ook bij de bestrijding van het geelziek in de bollenschuur een zeer grote rol speelt, zal in de volgende paragraaf worden uiteengezet.

5.2. BESTRIJDINGSMETHODEN

Hoewel het niet in het kader van deze monografie past, uitvoerig in te gaan op de praktische bestrijdingsmaatregelen zoals ziekzoeken en bestrijding op het veld en in de schuur, zal de betekenis van enkele onderzoekresultaten voor de bestrijding worden aangestipt.

Van essentieel belang bij de geelziekbestrijding op het veld is het zo snel mogelijk opsporen en vernietigen van de uit ziek geplante bollen voortkomende infectiebronnen zoals oude zwarten, stralers en zakkers, die direct bij het boven de grond komen van de eerste bladtoppen (neuzen) infecties kunnen veroorzaken (VAN SLOGTEREN, 1926; 1927a, b). Het uit onderzoek gebleken feit, dat deze vroege infecties soms pas na 30–50 dagen als nieuw zwartrand voor het blote oog zichtbaar worden, betekent een grote belemmering voor een tijdige, doeltreffende bestrijding. Als het pas anderhalve maand na het vinden van de eerste besmettingsbronnen mogelijk is de omvang van de opgetreden aantasting vast te stellen, is het reeds te laat om verdere uitbreiding te voorkomen. Daar immers elk symptoom van nieuw zwartrand weer een besmettingsbron voor de omstanders betekent, is een zo vroeg mogelijke ontdekking ervan een eerste vereiste.

In de praktijk tracht men uitbreiding van de ziekte te voorkomen door 1. de gevonden eerste besmettingsbronnen te vernietigen door overgieten met vruchtboomcarbolineum, formaline of zoutzuur; 2. een verdere ontwikkeling van een eventueel reeds plaatsgevonden besmetting tegen te gaan door de omstanders zo ruim mogelijk onder de grond af te snijden en het loof vervolgens dood te spuiten. Hetzelfde dient te gebeuren met elk plekje nieuw zwartrand dat in de partij zichtbaar wordt.

Daar deze grove, weinig controleerbare methoden verre van ideaal zijn, wordt momenteel een onderzoek ingesteld naar een mogelijk meer directe bescherming van het gewas door toepassing van chemische bespuitingsmethoden (Lab. v. Bloembollenonderzoek: Jaarverslag 1966/1967, p. 45; 1967/1968, p. 53).

Behalve door wind en regen kan besmetting vanuit de infectiebronnen bij vochtig weer ook gemakkelijk plaatsvinden door versleping aan schoenen en broekspijpen, door vogels, enz. Het is daarom onverantwoord in een nat hyacintengewas werkzaamheden te verrichten.

Een derde gevaar voor infectie ontstaat bij het rooien. Vooral indien vroeg wordt gerooid en het nog niet geheel afgestorven blad vooraf wordt afgeschoufeld, kan het geelziek met de schoffel gemakkelijk van zieke op gezonde planten worden overgebracht. Daarom verdient bij zieke partijen het 'aftrekken' van het blad verre de voorkeur.

Dat een zichtbare, lichte zwartrandaantasting in werkelijkheid door inspoe-ling in de bladkoker reeds veel verder kan zijn doorgedrongen, is uit de onder-zoekresultaten voldoende gebleken. Eveneens, dat zonder dat tijdens het groei-seizoen ziektesymptomen in het blad worden waargenomen toch zieke bollen aanwezig kunnen zijn, waarbij de aantasting zich pas na het rooien als 'laat bodemgeel' kan openbaren. Dit is het gevolg van een meer dan 1 seizoen durend verloop van de geelziekaantasting naar de bolbodem.

Het herkennen van geelziek in de bollen na het rooien is alleen mogelijk door het zgn. visiteren, d.w.z. door het met een mes verwijderen van de top van de bolneus. Door deze 'visitatie' kan snel worden vastgesteld of geelziekstippen of vlekken zichtbaar zijn. Het is echter een ruwe methode, waarbij veel lichte, waterige aantastingen die nog geen duidelijk gele kleur vertonen over het hoofd worden gezien. Een andere methode om ook bodemgeel te herkennen is de 'bodemvisitatie', waarbij met een mespunt een stukje uit de bolschijf wordt gewipt. Beide methoden geven een grote kans op infectie. Alleen als voor de visitatie van elke bol een gedesinfecteerd mes wordt gebruikt is deze methode toelaatbaar.

In twijfelgevallen kan tegenwoordig in het laboratorium door middel van een 'serologische reactie' een juiste diagnose worden gesteld (OBATA, 1968; VAN SLOGTEREN, 1972).

Sedert de onderzoekingen van VAN SLOGTEREN (1927a, b; 1929) heeft als voornaamste bestrijdingsmethode tegen het geelziek een heteluchtbehandeling van de bollen tijdens de zomer algemeen ingang gevonden.

Deze 'heetstookbehandeling' heeft in de bollenschuur plaats en bestaat uit twee fasen. In de eerste fase, die zo spoedig mogelijk na het rooien moet ingaan, worden de bollen bij een temperatuur van 30°C bewaard. In de tweede fase, die de gehele maand september duurt, moet een temperatuur van 38°C worden toegepast. De methode kan alleen goede resultaten opleveren als de 'heetstook-afdeling' beantwoordt aan zeer hoge eisen, d.w.z. dat daar een constante en gelijkmatige temperatuur en een uitstekende ventilatiemogelijkheid moet kunnen worden gerealiseerd (DOLK en VAN SLOGTEREN, 1930).

De betekenis van de beide fasen van de heetstookbehandeling is verschillend en in zekere zin tegengesteld. De fase bij 30°C heeft tweemaal doel. In de eerste plaats heeft deze temperatuur een sanerende invloed, daar deze zeer gunstig is voor de groei van *Xanthomonas hyacinthi*. Hierdoor zullen alle reeds ernstig aangetaste bollen zo ziek worden dat ze tijdens de daaropvolgende heetstook-fase bij 38°C zullen uitvallen of zo sterk worden beschadigd, dat ze in het voor-jaar niet opkomen. Op grond van het onderzoek zullen dit bollen zijn, waarin het bodemgeelstadium wordt bereikt. Een ander zeer belangrijk resultaat van de 30°C-behandeling is dat de ontwikkeling van de spruit en bloem in de bol zo sterk wordt geremd, dat de daarop volgende temperatuurbehandeling bij 38°C zonder schade kan worden doorstaan. Worden de ernstig zieke bollen op deze wijze uitgeschakeld, de licht zieke met slechts geelziek bovenin de bolrokken zul-len tijdens de 30°C-behandeling het bodemgeelstadium nog niet bereiken.

Vooraf voor het uitschakelen van deze gevaarlijke lichte aantastingen dient de

tweede fase gedurende welke de bollen 1 maand bij 38 °C worden bewaard. De toepassing in de praktijk heeft bewezen, dat het dankzij deze methode mogelijk is zelfs voor geelziek zeer gevoelige cultivars als 'Anne Marie' en 'Carnegie', die grote betekenis hebben voor de handel, te kunnen blijven telen.

Desondanks is gebleken dat de methode niet geheel afdoende is, d.w.z. dat de partijen niet voor 100% gezond zijn te maken. Een resultaat van ruim 99% is mooi, maar elke zieke plant betekent in het voorjaar een gevaarlijke infectiebron. Daarom is de heetstookmethode opnieuw op het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek in studie genomen. Daarbij is als voorlopig resultaat naar voren gekomen, dat door 3 dagen 44 °C toegepast na 4-6 weken 30 °C + 2w.38 °C een afdoende bestrijding kan worden verkregen (SAALTINK en KAMERMAN, 1971).

5.3. SCHEMATISCH OVERZICHT EN TERMINOLOGIE

Hoewel aan het slot van de hoofdstukken 2, 3 en 4 reeds samenvattingen zijn gegeven, volgt hieronder nog een korte bespreking aan de hand van een schema (tabel 9). Daar vooral voor de praktijk een goede definitie van de verschillende aantastingsstadia in bol en blad gewenst is, is bij de beschrijving van deze stadia bijzondere aandacht besteed aan de terminologie. Hiervoor werden namelijk zoveel mogelijk de reeds bestaande vaktermen gebruikt.

Zo zijn alle zwartrandverschijnselen, die voortkomen uit een besmetting van buiten af, samengevat onder de term 'nieuw zwartrand'; alle bovengrondse symptomen, die vanuit een ziek geplante bol ontstaan, onder de naam 'oud zwartrand'.

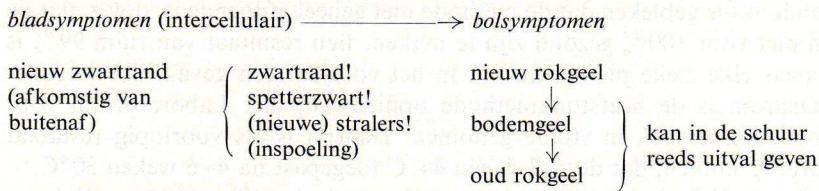
In de voorgaande hoofdstukken is reeds gesproken van rokgeel en bodemgeel. Het lijkt gewenst te spreken van 'nieuw rokgeel' indien sprake is van uit het blad voortgekomen geelziekaantastingen, die de bolbodem nog niet hebben bereikt. Deze zijn vrijwel steeds intercellulair, (voor afwijkingen zie pag. 35) gaan van boven naar beneden en treden alleen op in de rokken van de daarbij behorende aangetaste bladeren. Is eenmaal het bodemgeelstadium bereikt, dan treedt een rokgeel op, dat vanuit de bodemzieke bol voortkomt en waarop, naar analogie van het oude zwartrand, de term 'oud rokgeel' van toepassing is. Oud rokgeel verloopt in eerste instantie via de vaatbundels naar boven en kan in alle bolrokken (ook in de schedelbladeren) optreden. In tegenstelling tot nieuw rokgeel dat slechts langzaam verdergaat, ontwikkelt oud rokgeel zich veel sneller. Doordat rondom de vaatbundels ook intercellulaire uitbreiding plaatsvindt, voert oud rokgeel meestal tot een snelle vernietiging van de bol.

In het schema is onderscheid gemaakt tussen de ziekteverschijnselen, die optreden tijdens het seizoen, waarin de eerste bladinfectie van buiten af plaatsvindt, en de verschijnselen in het volgende seizoen die voortkomen uit de ziek geplante bol.

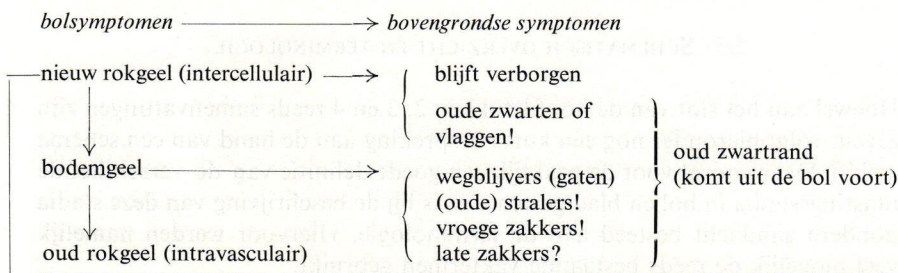
In het eerste seizoen (I) kunnen als bladsymptomen zwartrand en spetterzwart optreden. Planten met dergelijke symptomen kunnen overgaan in stralers

TABEL 9. Schematische samenvatting van de mogelijke verschijningsvormen van het geelziek.
 Bladsymptomen: 'zwartrand' of 'zwart'
 Bolsymptomen: 'geelziek' of 'geel'

I (1e seizoen): Geelzieksymptomen in blad en bol na de eerste besmetting op het veld.



II (2e seizoen): Geelzieksymptomen in bol en blad tijdens het seizoen volgend op dat van de bladinfectie.



→ *III (op het eind van het 2e groeiseizoen, soms pas na de rooitijd)* laat bodemgeel; geeft uitval in de schuur

! : besmettingsbronnen

waarbij de aantasting in het blad zich intercellulair omlaag voortzet. Behalve deze zichtbare symptomen kunnen door inspoeling aantastingen in de lager gelegen bladdelen van de bladkoker ontstaan, die gedurende het seizoen onopgemerkt blijven. In dit eerste seizoen kunnen de bladinfecties zich tot in de bol voortzetten, waardoor nieuw rokgeel ontstaat. Bij vroege en zware aantasting kan dit rokgeel reeds voor het rooien of kort daarna tijdens de schuurbehandeling bodemgeel veroorzaken waardoor de bollen reeds voor het planten uitvalen. Meestal zal nieuw rokgeel zich zo langzaam uitbreiden, dat de ziekte niet wordt herkend, als de betreffende bollen worden geplant.

In het tweede seizoen (II) zijn de bovengrondse ziekteverschijnselen afhankelijk van het tijdstip waarop het bodemgeelstadium werd bereikt. Een uitzondering hierop vormen de typische 'oude zwarten' of 'vlaggen', die reeds kunnen optreden in het beginstadium van nieuw rokgeel, als de een of twee binnenste aan de nieuwe neus grenzende roktoppen zijn aangetast. In alle andere gevallen blijft de aantasting aanvankelijk verborgen.

Het bodemgeel en het daaruit voortvloeiende, in de vaatbundels omhoog gaande, oude rokgeel kunnen aanleiding geven tot wegblijvers, 'oude stralers' (fig. 9B) en vroege en late zakkers. De naam oude straler is ingevoerd ter onderscheiding van de in het eerste seizoen optredende nieuwe straler (fig. 9A); in

tegenstelling met deze laatste ontwikkelt de aantasting zich bij de oude straler van beneden naar boven.

Tenslotte is het mogelijk dat het bodemgeelstadium pas op het eind van het tweede groeiseizoen of zelfs na het rooien wordt bereikt (III). In dat geval kan van 'laat bodemgeel' worden gesproken; de bol gaat pas na het tweede groeiseizoen, soms zonder bovengrondse ziektesymptomen te hebben vertoond, te gronde.

In het schema zijn alle bladsymptomen, die een besmettingsbron voor de omgeving betekenen met een uitroepteken (!) aangeduid.

Bij de bestudering van het schema, dat betrekking heeft op twee seizoenen, moet men zich realiseren, dat dit alleen geldt voor het ziekteverloop, indien de bollen bij de aanvang van het eerste seizoen gezond zijn en in het tweede seizoen geen nieuwe besmetting van buitenaf plaatsvindt. In de praktijk zullen in seizoen I meestal ook verschijnselen optreden die hun oorzaak vinden in aantasting tijdens het daaraan voorafgaande seizoen en overeenkomen met de onder II beschreven symptomen. Evenzo kunnen in seizoen II planten met oude zwartrandsymptomen de voor seizoen I beschreven nieuwe zwartrandverschijnselen doen optreden. Uit al deze verwickelingen kunnen zeer gecompliceerde ziektebeelden ontstaan.

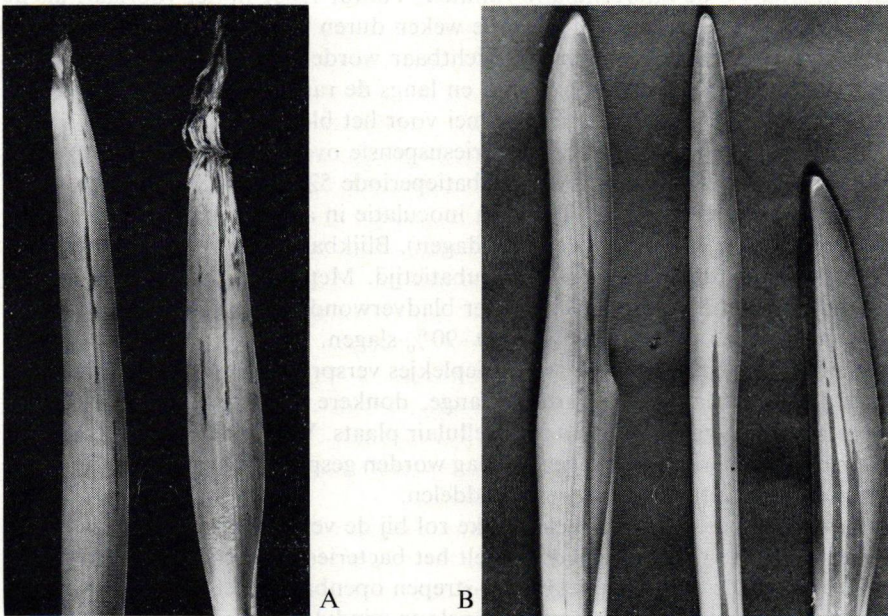


FIG. 9. Hyacintbladeren met zwartrandstrepen: 'stralers'.

A = 'nieuwe' stralers: ontstaan door infectie van buitenaf; de aantasting verloopt van boven naar beneden.

B = 'oude' stralers: ontstaan vanuit een zieke bol; de aantasting verloopt van beneden naar boven.

SAMENVATTING

WAKKER (1883, 1884, 1885, 1889) en SMITH (1901, 1911) hebben aangetoond, dat het geelziek van de hyacint wordt veroorzaakt door de bacterie *Xanthomonas hyacinthi*. Hoewel zij verscheidene symptomen van deze ziekte in het blad en in de bol hebben beschreven, konden zij niet nauwkeurig aangeven welke weg de bacteriën volgen vanaf de eerste infectie in het blad totaan de definitieve vernietiging van de bol. Beide onderzoekers voerden de infectieproeven uit onder laboratoriumomstandigheden. Dit verklaart waarschijnlijk waarom zij na inoculaties met *X. hyacinthi* er niet in slaagden de typische bladsymptomen te verkrijgen zonder de bladeren van tevoren te verwonden. Het leek daarom gewenst een nader onderzoek in te stellen naar de wijze van infectie, het verdere verloop van de ziekte in de bladeren en vandaar naar de bol onder normale cultuuromstandigheden.

Na het boven de grond komen van de hyacinte-spruiten in februari-maart worden de eerste verschijnselen van het geelziek zichtbaar in de bladeren van ziek geplante bollen. Vanuit deze planten met 'oude' ziektesymptomen kunnen de bacteriën zich vooral bij regen en wind over de bladeren van naburige, gezonde planten verspreiden. Zij komen het blad via de stomata binnen en verspreiden zich daarna via de intercellulaire ruimten. Vooral vroeg in het voorjaar, als de temperatuur nog laag is, kan het vele weken duren voordat de symptomen van een dergelijke 'nieuwe' aantasting zichtbaar worden. Deze bestaan uit kleine, donkere infiltratieplekjes aan de top en langs de randen van het blad. Meestal worden zij pas tegen het begin van mei voor het blote oog zichtbaar.

In veldproeven, waarbij een bacteriesuspensie over de bladeren van gezonde planten werd verstoven, was de incubatieperiode 52 tot 33 dagen na inoculatie in februari, tegen 20 tot 18 dagen na inoculatie in april en mei. De kortste incubatieperiode viel in juni (slechts 7 dagen). Blijkbaar is vooral de temperatuur bepalend voor de lengte van de incubatietijd. Met de verkregen resultaten is tevens bewezen dat inoculaties zonder bladverwonding onder normale cultuuromstandigheden op het veld voor 80-90% slagen.

Vanuit de kleine, donkere infiltratieplekjes verspreiden de bacteriën zich omlaag door de bladeren, waardoor lange, donkere infiltratiestrepen ontstaan. Deze verspreiding heeft alleen intercellulair plaats. Vanuit de plekjes en strepen kunnen de bacteriën door regen omlaag worden gespoeld en zo aanleiding geven tot nieuwe infecties op de lagere bladdelen.

Regenval speelt een zeer belangrijke rol bij de verspreiding van het geelziek. Onder vochtige omstandigheden zwelt het bacterieslijm sterk op, waardoor de epidermis op de infiltratieplekjes en -strepen openbarst. Het op deze wijze vrijkomende slijm wordt door regendruppels en windvlagen over de naburige planten verspreid. Gedurende droogteperioden zal geen verspreiding optreden en neigen kleine bladvlekken tot uitdroging en worden geel. Dit verklaart ook waarom in een droge kas geen besmetting van zieke naar gezonde planten plaatsvindt.

De infectie verspreidt zich door de talrijke intercellularen in het blad snel omlaag totdat de top van de bijbehorende bolrok wordt bereikt. Daar is het intercellulaire systeem veel minder sterk ontwikkeld en komt voornamelijk juist onder de epidermis voor. Dit heeft tot gevolg, dat de aantasting zich in de bolrok veel langzamer uitbreidt dan in het blad en dat het soms meer dan een jaar duurt voordat de bolschijf wordt bereikt. Het bacterieslijm in de subepidermale intercellularen drukt de epidermis plaatselijk iets naar buiten, zodat na de oogst gezwollen, geelachtig gekleurde plekken aan de top van één of meer bolrokken zichtbaar kunnen worden.

Wanneer na de intercellulaire verbreiding van het geelziek in het blad en de bolrok de aantasting zich tenslotte in de bolschijf uitbreidt, is een kritisch moment bereikt. Vanuit de bolschijf verspreidt de aantasting zich nu snel naar boven via de vaatbundels van de bolrokken. De xyleemelementen van deze vaatbundels worden verwoest en op dwarse doorsnee is het bacterieslijm als kleine heldergele stippen in het wit gekleurde weefsel van deze bolrokken zichtbaar. In een later stadium worden ook de cellen rond de vaten aangetast, tengevolge waarvan grotere delen van het omringende celweefsel een geelachtige kleur aannemen. In dit stadium wordt het bolweefsel gemakkelijk door secundaire schimmels en bacteriën aangetast, waardoor de bol tenslotte geheel te gronde gaat. Op deze wijze wordt de langzame 'intercellulaire' ontwikkeling van de aantasting via een blad en de bijbehorende bolrok omlaag naar de bolschijf gevolgd door een snelle 'intravasculaire' verbreiding omhoog via een groot aantal bolrokken.

Wat er na het rooien met een aangetaste bol gaat gebeuren, hangt af van het tijdstip waarop de aantasting tot in de bolschijf is doorgedrongen (basale aantasting).

1. Basale aantasting gedurende de bewaarperiode kort na het rooien: de bollen gaan te gronde en worden voor het planten verwijderd.
2. Basale aantasting tijdens of kort na de planttijd: de bollen komen in het voorjaar niet op doordat zij voortijdig afsterven.
3. Basale aantasting gedurende de winter voor het boven de grond komen van de spruiten: de bollen brengen nog enige bladeren boven de grond; deze bladeren zijn vanuit de bolschijf geïnfecteerd en vertonen donkere, geïnfilterde strepen van de basis tot de top.
4. Basale aantasting kort na het opkomen: de in het begin normale groei stopt plotseling; de bladtoppen worden geel en vertonen verwelkingsverschijnselen. Ook in dit geval hebben de bladeren donkere, geïnfilterde strepen.
5. Basale aantasting in mei of juni: de planten sterven plotseling in juni of juli voortijdig af, meestal zonder enig geelzieksymptoom in het blad.
6. Basale aantasting gedurende de tweede bewaarperiode, gerekend vanaf de eerste bladinfectie: in dit geval wordt een door geelziek aangetaste bolschijf gevonden in bollen die in het voorafgaande groeiseizoen geen enkel ziektesymptoom in het blad hebben vertoond. De weg omlaag waarlangs de aantasting door een van de bolrokken is gegaan, kan meestal teruggevonden worden door de bol open te snijden. Bij jonge, snel gegroeide bollen kan het echter voor-

komen, dat de aangetaste rok reeds in het vorige seizoen aan de buitenzijde van de bol is komen te liggen en in vliezige toestand is overgegaan kort nadat de aantasting de bolschijf had bereikt. In dat geval vertoont de bol een geelzieke bolschijf, terwijl symptomen in de bolrokken ontbreken. De aangetaste rok kan zelfs verdrogen voordat de aantasting de bolschijf heeft bereikt. In dat zeldzame, geval is de oorspronkelijk zieke bol weer gezond geworden.

Alleen in de gevallen 3 en 4 zullen bladeren met geelziek-symptomen boven de grond komen, van waaruit gezonde omstanders bij regen en wind kunnen worden besmet.

7. Op één wijze kunnen ook infectieuze planten ontstaan zonder de aanwezigheid van een aangetaste bolschijf. Als de aantasting namelijk niet verder is gekomen dan in de top van de bol, zullen de wortelontwikkeling en de spruitgroei normaal verlopen. Gedurende de winter kan de omhooggroeiende spruit echter in contact komen met het bovenste deel van een aangetaste bolrok. Dit kan alleen gebeuren als een van de binnenste rokken is aangetast, daar alleen deze rokken met de groeiende spruit in aanraking kunnen komen. Het gevolg is dat na een lange incubatieperiode alleen de buitenste bladeren in april zwaar aangetaste bladtoppen zullen vertonen. Deze zwaar aangetaste bladeren van normaal doorgroeiende planten betekenen een derde, zeer belangrijke en vroege infectiebron op het veld.

Talrijke veldproeven waarbij bladinoculaties zonder bladverwonding werden toegepast, hebben het beschreven verloop van de bacteriële aantasting van het geelziek in het blad en de bol van de hyacint bevestigd. Behalve het blad kan ook de bloeiwijze worden aangetast. De bloeias vertoont daarbij dezelfde donkere intercellulaire infiltratievlekjes als het blad. In tegenstelling tot bladaantastingen bereiken de bloeiasaantastingen zelden op directe wijze de bolschijf. Dit komt doordat de bloeias na het rooien vrij spoedig verschrompelt en als een dunne, vliezige membraan overblijft, die de doorgang naar de bolschijf blokkeert. Desondanks kan de aantasting zich naar beneden toe uitbreiden met het bacterie-slijm dat door regen langs de bloeias omlaag wordt gespoeld. Het onderste deel van het binnenste omhullende blad kan door deze inspoeling geïnfecteerd raken waarna de aantasting via de corresponderende bolrok de bol verder binnendringt.

Het werd aangetoond dat droge bollen zeer gemakkelijk met *X. hyacinthi* kunnen worden geïnfecteerd, hetzij door middel van injectie, hetzij door verwonding met een besmet mes. Het bleek onmogelijk bollen zonder verwonding direct te infecteren. Alleen na bovengrondse bladinoculaties konden zonder verwonding de beschreven typische symptomen van het geelziek in blad en bol worden verkregen. Bovendien kon worden vastgesteld dat infectie via de grond niet plaatsvindt.

De inoculatie met geelziek door middel van verwonding van droge bollen gaf niet alleen positieve resultaten bij de hyacint, maar ook bij *Galtonia candicans*. Inoculatie met een bacteriesuspensie in de bolschijf van *Galtonia* gaf na het planten een typische geelziekaantasting die zich in de vaatbundels van de bolrokken naar omhoog uitbreidde en zelfs tot in de ondereinden van de bladeren doorliep.

Tot slot moet gewezen worden op het feit, dat vooral de langzame wijze van voortgang van de bacterie-aantasting door de intercellulaire van blad en bol tengevolge heeft dat zo vele zieke bollen na het planten aanvankelijk goede wortels maken en normaal opgroeien. Pas gedurende de winter of wat later bereikt de geelziekaantasting de bolschijf met het gevolg dat besmette bladeren boven de grond komen en als infectiebron de ziekte in stand houden.

Enkele infectieproeven hebben echter aangetoond, dat de bacteriën na een zeer vroeg in het seizoen plaatsgevonden inoculatie erin kunnen slagen reeds in het blad de vaatbundel binnen te dringen. In dat geval gaat de aantasting zeer snel omlaag en gaat de bol spoedig na het rooien te gronde. Dit werd echter zelden vastgesteld en vond alleen plaats wanneer de bladeren zwaar werden aangetast. Het is echter de vraag of dit dikwijls zal kunnen optreden onder de in Nederland heersende cultuuromstandigheden. De zorgvuldige veldinspectie van de planten in voorjaar en voorzomer maakt het zeer onwaarschijnlijk dat zulke zwaar aangetaste planten ongestoord in het veld kunnen blijven staan. In de regel worden zulke planten in een vroeg ontwikkelingsstadium tijdig verwijderd of ter plaatse onschadelijk gemaakt.

SUMMARY

Course of the infection by Xanthomonas hyacinthi (Wakker) Dowson ('yellow disease') in the leaf and bulb of the hyacinth

WAKKER (1883, 1884, 1885, 1889) and ERWIN SMITH (1901, 1911) demonstrated the yellow disease of hyacinths to be a bacterial disease caused by *Xanthomonas hyacinthi*. Although they described many symptoms of the disease in the leaves and bulbs, they did not succeed in giving a full account of the course taken by the bacteria from the first infection in the leaf to the final destruction of the bulb. Both these authors performed infection experiments in the laboratory under conditions quite different from those in the field. This probably explains why, after inoculation with *X. hyacinthi*, they could not produce typical symptoms of the disease in the leaves without prior wounding. Therefore, it seemed necessary to make a thorough study of the course of the infection, the further development of the yellow disease in the leaves, and the transition to the bulb. In addition, inoculation experiments under normal field conditions were carried out without wounding of the leaves.

After the emergence of the hyacinth sprouts in February-March, the first visible symptoms of yellow disease occur in the shoots of diseased bulbs. From these plants with 'old' symptoms, the infection can be spread by rain and wind to the leaves of the surrounding healthy plants. The bacteria enter the leaves through the stomata and from there move inward through the intercellular spaces. Especially in early spring when temperatures are low, it can take several weeks before the typical symptoms become visible. These initial 'new' symptoms consist of small dark water-soaked spots at the top or along the edges of the leaves. Normally, these first new symptoms become visible in the beginning of May.

Inoculation experiments performed in the field by spraying a bacterial suspension over the leaves of healthy plants, showed that the time between the inoculation and the appearance of the first visible symptoms amounted 52 to 33 days after inoculation in February and March against 20-18 days after inoculation in April and May.

The shortest incubation period occurred in June, amounting to only seven days. Apparently, temperature is one of the most important factors determining the length of the incubation period. These results proved that under normal field conditions inoculation without wounding of the leaves could be 80-90% successful.

From the small dark spots the bacteria move downward in the leaves, which show long water-soaked dark stripes. This development too is only intercellular. From these spots and stripes bacteria can later be washed down by rain and thus give rise to new infections between the lower parts of the leaves.

For the spread of the yellow disease in the field, rainfall is very important. When moistened, the bacterial slime swells up until the epidermis of the water-

soaked spots and stripes bursts. The slime thus released is spread to adjoining plants by splashing rain and air currents. During dry periods, no infection will occur, and small infected leaf spots tend to turn yellow and dry out. In a dry glasshouse no infection from diseased to healthy plants occurs.

The infection moves easily down through the numerous intercellular spaces of the leaf until it reaches the top of the subtending bulb scale. There, the intercellular system is much less developed and most of the sparse intercellular spaces are situated just below the epidermis. As a consequence, the infection moves down more slowly in the bulb scale than in the leaf, and can sometimes take more than a year to reach the basal plate of the bulb. The bacterial slime in the subepidermal intercellular spaces presses the epidermis slightly outwards locally so that after harvesting yellowish swollen spots become visible at the top of one or more of the bulb scales.

When, after the intercellular development of the yellow disease in the leaf and bulb scale, the infection slowly spreads down into the basal plate, a critical phase is reached. From the basal plate the infection can progress rapidly in an upward direction through the sap-conducting vascular bundles of the bulb scales.

The xylem element of these vascular bundles is destroyed, and in a transverse section the bacterial slime becomes visible as small clear yellow spots in the white tissue of these bulb scales. Later, the cells around the vessels become involved too, and as a consequence greater parts of the surrounding tissue take on a dull yellow colour.

In this stage the tissue is easily invaded by secondary bacteria and fungi, and soon the bulb decays entirely. Thus, the slower 'intercellular' development of the infection downward through the leaves and the subtending bulb scales to the basal plate is followed by a rapid 'intravascular' movement upward through the other bulb scales.

What will happen to an infected bulb after lifting depends on the moment at which the infection penetrates the basal plate (basal infection). The following can occur:

1. Basal infection during the storage period soon after lifting: the bulbs are lost, and are discarded before planting.
2. Basal infection at planting time or shortly afterwards: the bulbs will not emerge in the spring and are lost.
3. Basal infection during the winter before emergence time: the bulbs will still send some leaves above the soil. These leaves become infected from the basal plate and will show dark watersoaked stripes from the bottom to the top.
4. Basal infection shortly after emergence: normal initial growth suddenly stops. The tips of the leaves turn yellow and show withering. In this case too some of the leaves show dark infected stripes.
5. Basal infection in May or June: the plant succumbs suddenly in June or July, usually without signs of infected leaves.
6. Basal infection during the second storage period subsequent to the first leaf infection. In this case a yellow decaying basal plate is seen in bulbs that had

shown no sign of leaf infection during the preceding growing season.

The path taken by the infection through one of the bulb scales downward to the basal plate can usually be detected by cutting the bulb open. In young, fast-growing bulbs, however, this infected bulb scale may have reached the outside of the bulb in the course of the preceding season and then dried up after the basal plate became infected. In that case the bulb will show a yellow basal plate in the absence of symptoms in the remaining bulb scales. The infected scale may even dry up before the infection reaches the basal plate. In this rare case the originally diseased bulb has become healthy again.

Only in cases 3 and 4 will diseased leaves be brought above the soil, the infection being easily transferred from these plants to the neighbouring healthy plants by rain and wind.

7. There is however one way in which such infectious plants can originate without the existence of an infected basal plate. If the infection penetrates only as far as the neck of the bulb, there will be good root development and normal shoot growth. But during the winter the growing shoot may come into contact with the upper portion of the infected scales. This can of course only occur if the innermost bulb scales are infected, since only these scales can have close contact with the growing shoot. Consequently, after a long incubation period, only the outermost leaves will show heavily infected tips in April. These severely infectious outer leaves of normally growing plants represent a third important and early source contributing to the spread of the yellow disease in the field.

Numerous inoculation experiments in unwounded leaves in the field have confirmed the above-described course of the bacterial infection of the yellow disease through the leaf and bulb of the hyacinth. Besides infection through the leaf, there is still another pathway via the inflorescence. Like the leaf, the flower stalk is easily infected after inoculation, and will show the same intercellular water-soaked spots. Experiments have shown that this infection seldom reaches the basal plate directly. Soon after lifting, the floral stalk shrivels and remains present as a dead, thin, membranous ribbon that blocks the way to the basal plate. Notwithstanding this blockade, the infection can be transmitted by the bacterial slime, which is washed down along the flower stalk by rain. The lower part of the inner leaf enveloping the flower stalk can be infected in this way, and as a consequence the corresponding bulb scale will form the usual route by which the infection spreads.

Separate inoculation experiments have shown that dry bulbs can easily be infected with *X. hyacinthi* by injection or by wounding with an infected knife. It proved impossible to infect the bulbs directly unless wounds were inflicted. The typical symptoms of the yellow disease could only be obtained in the bulb of the hyacinth after inoculation of leaf parts projecting above the soil surface. Moreover, the results of many experiments demonstrated that infection cannot be transmitted through the soil from one bulb to another.

The inoculation of dry bulbs at the site of wounds gave positive results not only with hyacinths but also with *Galtonia candicans*. The inoculation of *Galtonia* by injection of a bacterial suspension into the basal plate caused, after

planting, typical yellow symptoms in the basal plate, with yellow vascular bundles passing upward in the bulb scales and even ascending into the lower part of the leaves.

In conclusion it must be emphasized that the slow mode of bacterial infection, i.e. from the leaves via the intercellular spaces in the bulb scales, is the main reason why so many diseased bulbs root well and grow normally at first after planting. It is during the following winter or even somewhat later that these infections reach the basal plate of the bulbs, which consequently will send infectious leaves above the soil.

Some infection experiments have shown, however, that after leaf inoculation early in the season, the bacteria can already succeed in entering the vascular bundle in the leaf. In that case, the infection will move down rapidly and the bulb will succumb soon after lifting. This was seldom found, however, and only when the leaves had been heavily attacked. It is a question whether this could occur often during the normal cultivation of hyacinths under the conditions prevailing in The Netherlands. The careful inspection of the plants maintained during the spring and early summer makes it highly improbable that such severely attacked plants could remain undisturbed in the field. As a rule, such plants are removed or rendered harmless in an early stage of the development of the crop.

Wageningen 1915.
Wageningen 1916.
Wageningen 1917.
Wageningen 1918.
Wageningen 1919.
Wageningen 1920.
Wageningen 1921.
Wageningen 1922.
Wageningen 1923.
Wageningen 1924.
Wageningen 1925.
Wageningen 1926.
Wageningen 1927.
Wageningen 1928.
Wageningen 1929.
Wageningen 1930.
Wageningen 1931.
Wageningen 1932.
Wageningen 1933.
Wageningen 1934.
Wageningen 1935.
Wageningen 1936.
Wageningen 1937.
Wageningen 1938.
Wageningen 1939.
Wageningen 1940.
Wageningen 1941.
Wageningen 1942.
Wageningen 1943.
Wageningen 1944.
Wageningen 1945.
Wageningen 1946.
Wageningen 1947.
Wageningen 1948.
Wageningen 1949.
Wageningen 1950.
Wageningen 1951.
Wageningen 1952.
Wageningen 1953.
Wageningen 1954.
Wageningen 1955.
Wageningen 1956.
Wageningen 1957.
Wageningen 1958.
Wageningen 1959.
Wageningen 1960.
Wageningen 1961.
Wageningen 1962.
Wageningen 1963.
Wageningen 1964.
Wageningen 1965.
Wageningen 1966.
Wageningen 1967.
Wageningen 1968.
Wageningen 1969.
Wageningen 1970.
Wageningen 1971.
Wageningen 1972.

LITERATUUR

- BEIJER, J. J. (1966). Dr. J. H. WAKKER. *Neth. J. Pl. Path.* **72**: 38-45.
- BLAAUW, A. H. (1920). Over de periodiciteit van *Hyacinthus orientalis*. *Meded. Landb. Hogesch. Wageningen* **18**: 1-82.
- BLAAUW, A. H. (1923). De periodieke diktetoe name van den bol der hyacinten. *Meded. Landb. Hogesch. Wageningen* **27**: 1-103.
- BRUIJN OUBOTER, M. P. de, J. J. BEIJER en E. VAN SLOGTEREN (1951). Diagnosis of plant diseases by electron microscopy. *Antoni van Leeuwenhoek* **17**: 189-208.
- DOLK, H. E. und E. VAN SLOGTEREN (1930). Über die Atmung und die Absterbeerscheinungen bei höheren Temperaturen im Zusammenhang mit der Bekämpfung der Gelbkrankheit. *Gartenbauwissenschaft* **4**: 113-158.
- DOWSON, W. J. (1939). On the systematic position and generic names of the Gram negative bacterial plant pathogens. *Zentbl. Bakt. Parasitkde, Abt. II*, **100**: 177-193.
- OBATA, T. (1968). Studies on the hyacinth yellows and the use of antiserum as an aid to its diagnosis in the fields. *Res. Bull. Pl. Prot. Serv. Japan No.* **5**: 7-16.
- PLANTENZIEKTENKUNDIGE DIENST (1942). Aretan-behandeling van hyacinten met betrekking tot de kans op verspreiding van het geelziek. *Versl. Werkzaamh. Plziektenk. Dienst Wageningen 1941*: 59-60.
- RITZEMA BOS, J. (1912). De ziekten en vijanden der bolgewassen. Iib: 'Geelziek' of 'nieuw ziek'. *Onze tuinen* **7**: 158-159.
- SAALTINK, G. J. (1966a). *Jversl. Lab. BloembollOnderz. Lisse*, 1965: 46.
- SAALTINK, G. J. (1966b). Hydathoden als mogelijke invalspoort voor *Xanthomonas hyacinthi*. *Meded. Rijksfac. LandbWet. Gent* **31**: 941-949.
- SAALTINK, G. J. en W. KAMERMAN (1971). De geelziekte van hyacint. *Praktijkmeded. Lab. BloembollOnderz. Lisse*, No. 34.
- SLOGTEREN, D. H. M. VAN (1972). Serological identification of bacteria in bulbs. In: *Proceedings of the third international conference on plant pathogenic bacteria*, Wageningen, 14-21 April 1971: pp. 153-156, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen 1972.
- SLOGTEREN, E. VAN (1925). Een en ander over het geelziek der hyacinten (*Pseudomonas hyacinthi*) en zijn bestrijding. *Weekbl. BloembollCult.* **36**: 118, 127, 135.
- SLOGTEREN, E. VAN (1926). Bestrijding te velde van het geelziek der hyacinten. *Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur, Haarlem*. 7 blz.
- SLOGTEREN, E. VAN (1927a). De bestrijding van het geelziek der hyacinten. *Weekbl. BloembollCult.* **37**: 60-63.
- SLOGTEREN, E. VAN (1927b). Geelziek der hyacinten. *Weekbl. BloembollCult.* **38**: 639-641.
- SLOGTEREN, E. VAN (1929). Proefnemingen ter bestrijding van het geelziek in het seizoen 1928/29. *Weekbl. BloembollCult.* **39**: 140-141.
- SMITH, E. F. (1901). Wakker's hyacinth germ, *Pseudomonas hyacinthi* (WAKKER). *Bull. Div. Veg. Physiol. Path. U.S. Dep. Agric.* No. **26**: 1-45.
- SMITH, E. F. (1911). Bacteria in relation to plant diseases. II: 335-353. Washington.
- STAPP, C. (1933). Die Gelbfäule (Gelbkrankheit) der Hyacinten. *Arb. biol. BundAnst. Land- u. Forstw.* **20**: 309-324.
- WAKKER, J. H. (1883). Vorläufige Mitteilungen über Hyazinthenkrankheiten. *Biol. Zbl.* **14**: 315-317.
- WAKKER, J. H. Het geel- of nieuwziek der hyacinten. In: *Onderzoek der ziekten van hyacinten en andere bol- en knolgewassen. Algemeene Vereeniging Bloembollencultuur, Haarlem. Verslag over het jaar 1883: 4-13; 1884: 1-9; 1885: 1-5 en 27-37.*
- WAKKER, J. H. (1889). La maladie du jaune, ou maladie nouvelle des jacinthes, causée par le *Bacterium Hyacinthi*. *Contributions à la Pathologie végétale. Arch. néerl. Sci.* **23**: 1-25.

