

CERATOSTOMELLA ULMI, DE GESLACHTELIJKE
VORM VAN *GRAPHIUM ULMI* SCHWARZ

DOOR

CHRISTINE BUISMAN

Van *Graphium ulmi* Schwarz, de zwam, die de iepenziekte veroorzaakt, was tot nu toe geen geslachtelijke vorm bekend. Dit was niet zoo vreemd, daar wij van een groote groep schimmels, de „*fungi imperfecti*”, de hoogere vruchtvorm niet kennen.

Verschillende soorten van het geslacht *Graphium* bezitten evenwel een ascus-vorm, behoorende tot het geslacht *Ceratostomella*. De samenhang tusschen deze beide geslachten werd het eerst ontdekt door MÜNCH (5), die bewees, dat *Ceratostomella piceae* en *Graphium penicilloides* verschillende stadia zijn van één en dezelfde zwam. MAC CALLUM (4) en LAGERBERG, LUNDBERG en MELIN (3) bevestigden het onderzoek van MÜNCH. Tusschen *Ceratostomella cana* en een *Graphium*-vorm vond MÜNCH eenzelfde samenhang. GEORGEVITCH (1, 2) beschreef een *Ceratostomella*, *C. quercus*, die eveneens een *Graphium*-vruchtvorm bezit.

Het nieuwste onderzoek, dat op deze zaak betrekking heeft, is dat van RUMBOLD (6). Zij vermeldt de samenhang tusschen een in Amerika voorkomende *Ceratostomella* en een *Graphium*. Waarschijnlijk ging het ook hier om *C. piceae*. Zij maakte 23 cultures van één ascospore van deze schimmel. In al deze cultures verkreeg zij de *Graphium*-vorm, maar slechts in 4 van de 23 ontstonden peritheciën. Combineerde zij echter verschillende van de 19 andere cultures, dan werden soms wel peritheciën gevormd. Hier hebben we dus een feit, dat wijst op het bestaan van zgn. + en — rassen bij deze *Ceratostomella*-soort. Dergelijke + en — rassen zijn van vele schimmelsoorten bekend. Het zijn als het ware de twee geslachten van één soort, die samen de geslachtelijke vruchtvorm voortbrengen.

Gaan we deze voorbeelden na van het verband, dat er tusscher eenige *Graphium*-soorten en soorten van het geslacht *Ceratostomella* bestaat, dan is begrijpelijk, dat WOLLENWEBER (7) het vermoeden uitsprak, dat bij *Graphium ulmi* als hoogere vruchtvorm een *Ceratostomella* zou behooren. Tot nu toe was het echter nog niet gelukt, deze aan te toonen.

Daar ik vermoedde, dat we ook bij *Graphium ulmi* te doen konden hebben met + en — rassen, die bij combinatie een ascusvorm zouden kunnen opleveren, had ik reeds eenigen tijd geleden verschillende rein-cultures van *Graphium ulmi* gecombineerd, door telkens twee stammen in een buisje met kersagar te enten. Deze proef had geenerlei resultaat, daar geen peritheciën optraden.

Op 6 Mei van dit jaar infecteerde ik echter eenige takken van verschillende iepen met *Graphium ulmi*, waarbij ik als infectiemateriaal sporen, behorende tot twee verschillende isolaties, gebruikte. Op 13 Mei sneed ik een paar van deze takken af en trachtte de zwam terug te isoleeren op eenigen afstand van de infectieplaats (de proeven hadden namelijk o.a. ten doel eenige gegevens over de groeisnelheid van *Graphium ulmi* te verkrijgen). Voor het maken van deze isolaties werden gesteriliseerde stukjes van geïnfecteerde takken uitgelegd in schalen met kersagar. Enkele van deze schalen, waarin zich *Graphium ulmi* ontwikkelde, werden een tijdlang bewaard. Toen ik een er van op 30 Juli wilde opruimen, zag ik op het takstukje (*niet* op de agar) zeer kleine, zwarte puntjes. Bij microscopisch onderzoek bleek, dat deze zwarte puntjes peritheciën waren, die klaarblijkelijk tot het geslacht *Ceratostomella* behoorden. Natuurlijk was dit nog geenszins een bewijs, dat deze *Ceratostomella* en *Graphium ulmi* verschillende stadiën waren van één en dezelfde schimmel, maar het gaf toch een aanwijzing, in welke richting misschien een hoogere vruchtvorm van *Graphium ulmi* gezocht moest worden.

Van takken van twee andere boomen, die eveneens op 6 Mei met sporen van *Graphium ulmi*, behorende tot twee verschillende stammen, waren ingespoten, werden daarop ook terug-isolaties gemaakt, evenals van een tweede tak van de boom, die bij de juist besproken terug-isolatie naast *Graphium ulmi* *Ceratostomella* had opgeleverd. 30 Juli werden deze takstukjes uitgelegd en op 25 Augustus, 29 Augustus en 15 September werden *Ceratostomella*-peritheciën geconstateerd op een takstukje, resp. van ieder van de drie boomen afkomstig. Daar niet aan te nemen was, dat in alle drie boomen *Ceratostomella* secundair zou zijn ingedrongen, en daar bij geen van de zeer vele isolaties, die ik in de loop van het iepenziekte-onderzoek heb gemaakt, ooit peritheciën waren opgetreden, moest wel worden aangenomen, dat door het infec-

teeren met twee stammen van *Graphium ulmi* deze peritheciën waren ontstaan.

Daarop begon ik mijn *Graphium*-reincultures in verschillende combinaties te kweken op gesteriliseerde iepentakken. Het bleek het beste, tot dit doel sporensuspensies van telkens twee stammen bij elkaar te voegen, door te schudden en van deze suspensie een druppel op gesteriliseerde iepentak te brengen. *Op deze manier was het mogelijk, in verschillende gevallen na eenige weken peritheciën te verkrijgen. Er zij met nadruk op gewezen, dat de gebruikte reincultures afzonderlijk nooit peritheciën maken.*

Tot nu toe is het niet voorgekomen dat wanneer stam A peritheciën vormt in combinatie met stam B en met stam C, dat B en C tezamen ook peritheciën kunnen vormen. We kunnen dus twee groepen onderscheiden, die op de in de mycologie gebruikelijke wijze + en — worden genoemd.

Er is nog geen aanwijzing voor, dat deze op het oog zouden kunnen worden onderscheiden.

Nog kan worden opgemerkt, dat de door WOLLENWEBER beschreven en ook door mij opgemerkte sclerotiën van *Graphium ulmi* (fig. 1) mogelijk niet tot ontwikkeling gekomen peritheciën zijn.

Het blijkt, dat in de cultures, waarin peritheciën voorkomen, deze niet altijd even talrijk zijn. In sommige cultures zijn ze in grooten getale aanwezig, in andere vindt men er slechts weinig. MÜNCH, MAC CALLUM en LAGERBERG geven ook op, dat in sommige cultures van *Ceratostomella piceae* geen peritheciën optreden. Dit komt ook bij de *coremium* (= *Graphium*)-vorm voor. MÜNCH stelde reeds vast, dat verschillende éénspore-cultures van *Ceratostomella piceae* een zeer verschillende aanleg tot het maken van coremiën bezitten.

Vergelijken we onze *Ceratostomella* met de vroeger beschrevene, dan blijkt, dat hij door de grootte van het perithecium en de lengte van de hals van al de andere soorten afwijkt. Slechts *Ceratostomella pini* MÜNCH heeft een perithecium van ongeveer gelijke grootte, maar deze soort heeft een zeer korte hals. We kunnen daarom onze *Ceratostomella* als een nog onbeschreven soort opvatten.

Hieronder volgt een beschrijving van de *Ceratostomella*, die door combinatie van reincultures van *Graphium ulmi* kan worden verkregen:

Peritheciën zwart, rond, doorsnede normaal $105-135\mu$ (gemiddeld 123μ), zelden geheel kaal, meestal van enkele haren voorzien. Hals dikwijls iets gekromd, lang $265-380\mu$, dikte van onderen $24-38\mu$, van boven $10-16\mu$. Aan de top van de hals een krans van ciliën, ± 24 in

aantal en van zeer verschillende lengte (gewoonlijk 25-60 μ). Ciliën gesepteerd en dikwijls aan de top opgezwollen. De asci zijn ingesloten in een slijmmassa. De rijpe asci vallen dadelijk uit elkaar. Daardoor is het niet mogelijk, de grootte van de asci op te geven. Ook het aantal sporen per ascus kon niet met zekerheid worden vastgesteld; waarschijnlijk bedraagt dit 8. Ascosporen licht gekromd, vorm als die van de partjes van een sinaasappel, grootte 4,5-6 $\times$ 1,5 μ .

De vraag rijst, of deze *Ceratostomella* een rol kan spelen in practisch opzicht, waar het gaat om de bestrijding van de iepenziekte. Nadrukkelijk zij er nogmaals op gewezen, dat de peritheciën nog niet in de natuur zijn gevonden, maar uitsluitend door combinatie van verschillende reïncultures van *Graphium ulmi* zijn ontstaan. Het eerste wat we dus te weten moeten komen, is of de peritheciën ook in de natuur te vinden zijn. Hiertoe is het noodig een overzicht te krijgen van het voorkomen van de + en — rassen, want het is duidelijk dat we in een streek, waar slechts één van beide voorkomt, geen kans hebben om peritheciën te vinden. Een onderzoek naar deze kwestie is reeds in gang. Eerst nadat de peritheciën in de natuur gevonden zijn, kan worden uitgemaakt, of de ascosporen van belang zijn voor het besmetten van gezonde boomen.

Het is misschien mogelijk een beter inzicht te krijgen in de verspreiding van de iepenziekte met behulp van de + en — rassen. Zoo is het van belang na te gaan of b.v. in Engeland, waar men aanneemt dat de ziekte eerst $\pm$ 1926 werd ingevoerd, misschien slechts één van de twee groepen voorkomt.

Uit Amerika had ik slechts *Graphium* materiaal meegebracht, dat afkomstig was uit één zieke iep. (Deze stam maakte peritheciën nadat hij met een uit Baarn afkomstige stam was gecombineerd). We weten dus nog niet, of daar beide groepen te vinden zijn.

Over de meerdere of mindere pathogeniteit van beide groepen kan nog geen oordeel worden geveld. Toevallig behoorden de verschillende stammen, waarmee in hoofdzaak dit jaar infectieproeven werden verricht, tot dezelfde groep.

Phytopathologisch Laboratorium
„Willie Commelin Scholten”, Baarn.

SAMENVATTING

Van *Graphium ulmi* SCHWARZ blijken twee geslachten te bestaan (zgn. + en — rassen). Door kweken van beide geslachten tezamen op gesteriliseerde iepentakken is het mogelijk, peritheciën te verkrijgen, die tot het geslacht *Ceratostomella* behooren, en die hierbij als *Ceratostomella ulmi* worden beschreven.

LITERATUUR-LIJST

1. P. Georgevitch. *Ceratostomella quercus* n. sp. Comptes Rendus Acad. des Sciences, vol. 183, 18, pp. 759-761, 1926. Ref. in Review of Appl. Mycology vol. 6, p. 198, 1927.
2. P. Georgevitch. *Ceratostomella quercus* n. sp. Ein Parasit der Slawonischen Eichen. Biologia Generalis vol. 3,3, pp. 245-252, 1927. Ref. in Review of Appl. Mycology vol. 7, p. 206, 1928.
3. F. Lagerberg, G. Lundberg and E. Melin. Biological and Practical Researches into Blueing in Pine and Spruce. Svenska Skogsvårdsföreningens Tidskrift vol. 2, pp. 145-272, 561-739, 1927.
4. B. D. Mac Callum. Some Wood Staining Fungi. The British Mycological Society Transactions vol. 7, pp. 231-236, 1922.
5. E. Münch. Die Blaufäule des Nadelholzes. Naturwissenschaftl. Zeitschr. für Land- und Forstwirtschaft vol. 5, pp. 531-573, 1907 en vol. 6, pp. 32-47, 297-323, 1908.
6. Caroline T. Rumbold. The Relationship between the Bluestaining Fungi *Ceratostomella* and *Graphium*. Mycologia vol. 22, pp. 175-179, 1930.
7. H. W. Wollenweber und C. Stapp. Untersuchungen über die als Ulmensterben bekannte Baumkrankheit. Arb. aus der Biol. Reichsanst. vol. 16, 1929, pp. 283-324.
8. F. Zach. Zur Kenntnis von *Ceratostomella pini* Münch. Zeitschrift für Pflanzenkrankh. und Pflanzenschutz vol. 37, pp. 257-260, 1927.
9. F. Zach, Ueber *Ceratostomella cana* E. Münch als Varietät von *Ceratostomella piceae* E. Münch. Zeitschrift für Pflanzenkrankh. und Pflanzenschutz vol. 39 pp. 29-35, 1929.

SUMMARY

The species *Graphium ulmi* SCHWARZ consists of two sexually different groups (+ and - strains). By growing both sexes together on sterilized elm twigs perithecia can be produced that belong to the genus *Ceratostomella*. A description of this *Ceratostomella* (*Ceratostomella ulmi* follows.)

Perithecia black, round, normally 105-135 μ (mean 123 μ) in diameter, rarely bare, mostly provided with a few scattered hairs. Necks often slightly curved, 265-380 μ long, breadth at the base 24-38 μ , at the top 10-16 μ . The hyphae the neck consists of diverge at the top and form a crown of cilia. Cilia about 24 in number, septate, sometimes swollen at the top, very variable in length, usually 25-60 μ long. Asci imbedded in a slimy mass. Ripe asci disintegrate in water, which prevents taking their exact size and determining the number of spores per ascus with certainty. Probably an ascus contains 8 spores. Ascospores slightly curved, shaped like the parts of an orange, measuring 4,5-6 $\times$ 1,5 μ .

Perithecia not yet found in nature. They can be produced by combining + en - strains of *Graphium ulmi* SCHWARZ.

PLAAT I

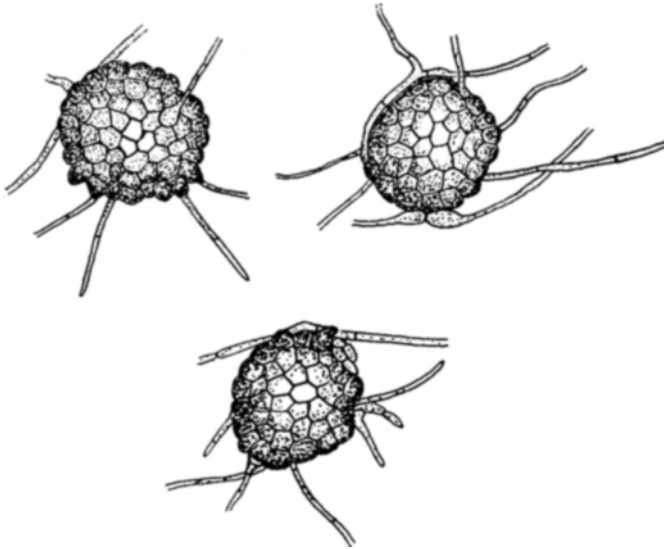


Fig. 1. *Graphium ulmi* Schwarz. Sclerotia ($\times 575$)

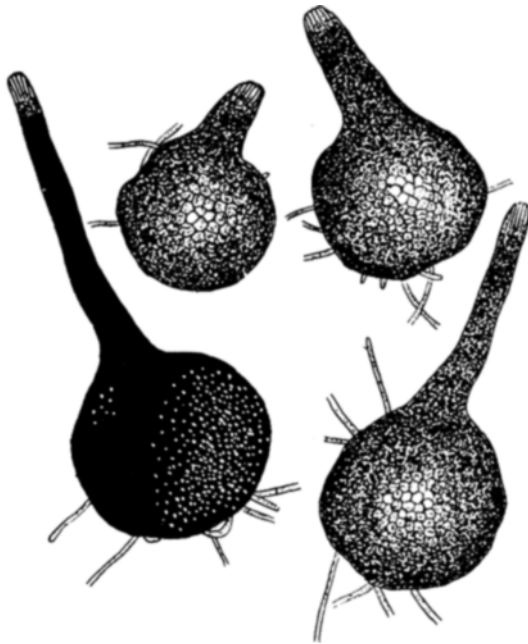


Fig. 2. *Ceratotosmea ulmi* Schwarz (Buisman) Jonge perithecia ($\times 245$)

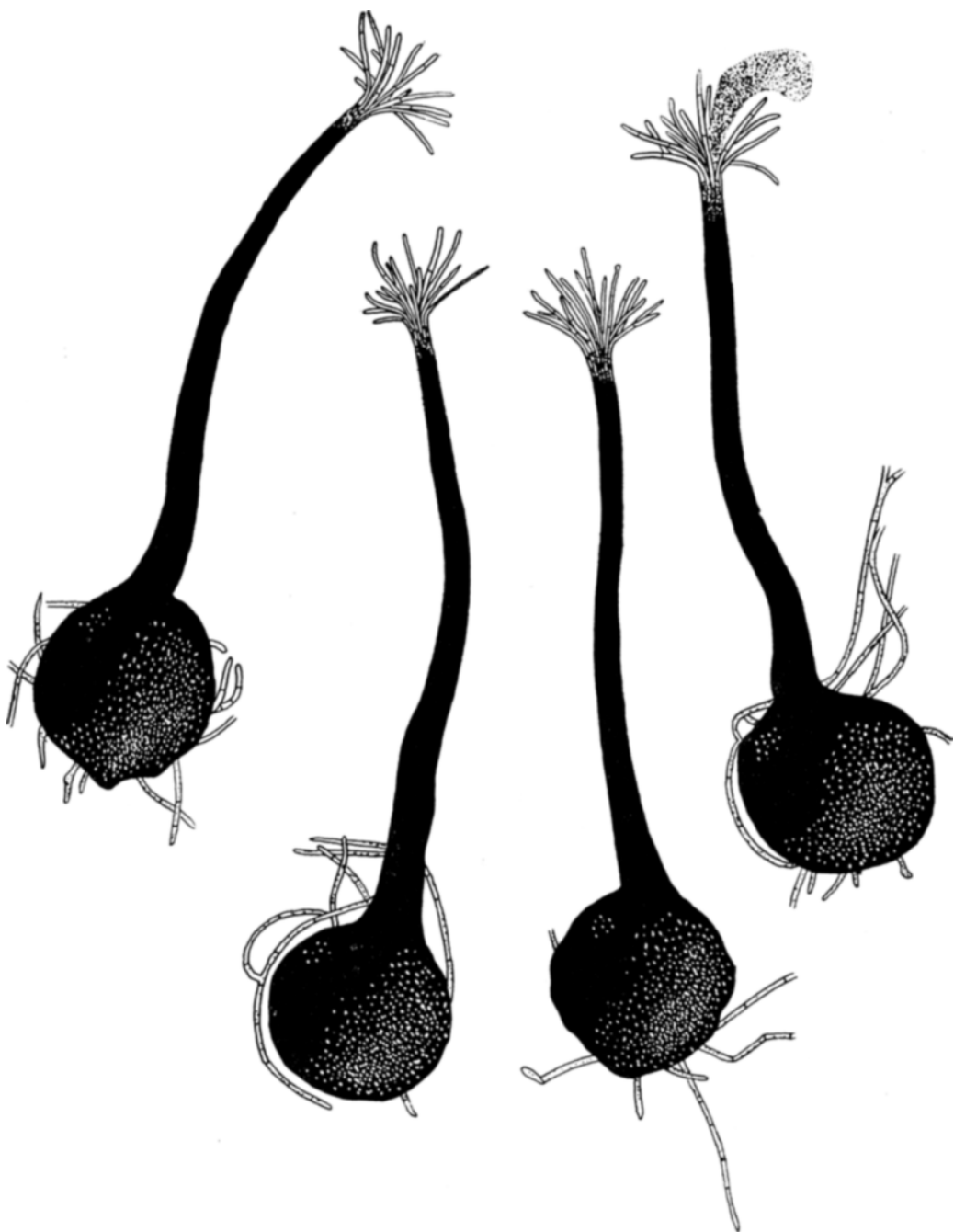


Fig. 3. *Ceratostomella ulmi* (Schwarz) Buisman Perithecia ($\times 245$)

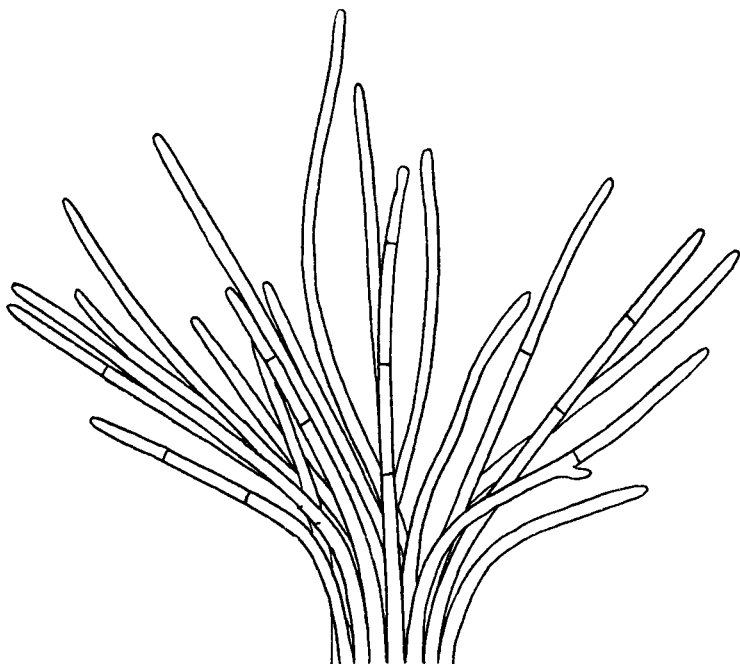


Fig. 4. *Ceratostomella ulmi*
(Schwarz) Buisman
Krans van ciliën aan de top
van de hals van het
perithecium ($\times 1180$)

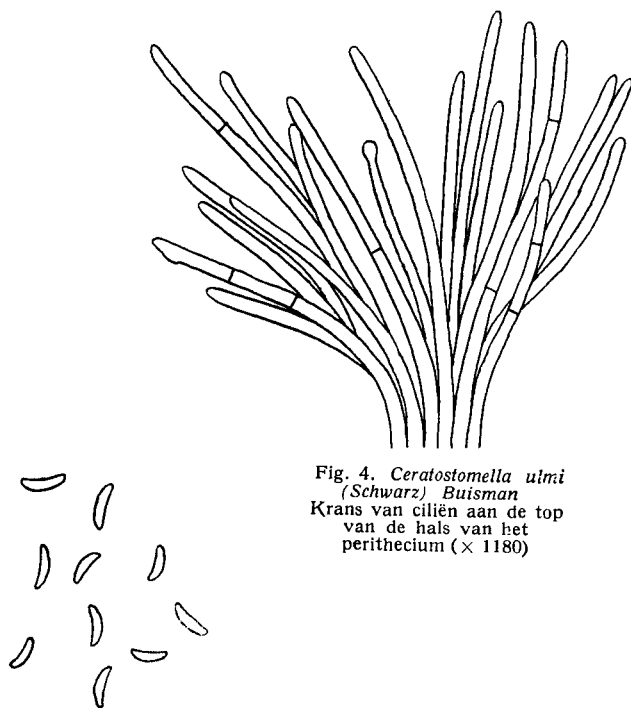


Fig. 5. *Ceratostomella ulmi*
(Schwarz) Buisman
Ascosporen ($\times 1180$)