

NEDERLANDSCHE PLANTENZIEKTENKUNDIGE (PHYTOPATHOLOGISCHE) VEREENIGING

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

ONDER REDACTIE VAN

IR N. VAN POETEREN, PROF. DR W. K. J. ROEPKE EN
PROF. DR JOH^A WESTERDIJK

41e Jaargang

1e aflevering

Januari 1935

UITWENDIGE EN INWENDIGE SYMPTOMEN
VAN BORIUMGEBREK BIJ TOMAAT

(WITH A SUMMARY: EXTERNAL AND INTERNAL SYMPTOMS
OF BORON DEFICIENCY IN TOMATO)

DOOR

IR D. A. VAN SCHREVEN

I. INLEIDING

Boriumgebrek-symptomen bij de tomaat zijn beschreven door JOHNSTON en DORE (1928, 1929). Zij werkten met waterculturen en vonden een normale groei van de plant bij een concentratie van 0,5 p.p.m.¹⁾, of 0,055 p.p.m. boorzuur per liter oplossing. Bij weglaten van borium hield de groei na 3 à 4 weken op, terwijl reeds na 9 dagen beschadiging optrad. Zij schrijven over boriumgebrek bij tomaat (1928):

„One of the early visible symptoms is the blackened appearance at the growing point of the stem. New leaves and branches often start growing just below this dead portion and give to the plant a short bushy appearance. Often the leaves grow in length, but not in width... The leaves of the boron deficient plants at college Park developed, after 13 days, a distinct purple color, probably anthocyan which is frequently associated with an excess of sugar accumulation. An other very striking characteristic of the boron deficient plants is the extreme brittleness of the leaf petioles.”

Zij onderzochten de planten chemisch en vonden, dat de bladeren en wortels bij boriumgebrek *méér*, de stengels daarentegen *minder* suikers bevatten dan overeenkomstige deelen van gezonde planten. In alle deelen van de zieke planten werd meer zetmeel gevonden. Gezonde planten bevatten meer chlorophyl en vetten en iets meer cellulose. Noch microscopisch, noch chemisch kon verschil in pectinegehalte worden aangetoond. Het slechte trans-

¹⁾ Parts pro million.

port der suikers brachten zij in verband met degeneratieverschijnselen in het phloëem.

JOHNSTON en FISHER (1930) kweekten tomatenplanten tot de bloeitijd in een oplossing waaraan B was toegevoegd, vervolgens werd een deel der planten overgebracht in een oplossing zonder B. Deze laatste vertoonden een slechte groei in het topgedeelte, bladsterfte en minder (tevens aangetaste) vruchten. Uit deze proeven blijkt, dat de plant voor een normale ontwikkeling gedurende de geheele vegetatieperiode B moet kunnen betrekken uit het groeimedium.

BRANDENBURG (1932) wijst er op, dat de door hem (in zuur milieu) verkregen verschijnselen van B-gebrek bij tomaat overeenkomen met de symptomen, die KRÜGER en WIMMER (1927) toeschreven aan een schadelijke invloed der alkaliteit.

Naast uitgebreide proeven over boriumgebrek bij de aardappel (waarover ik later verslag zal uitbrengen), werden ter vergelijking enkele proeven over boriumgebrek bij de tomaat (var. AILSA CRAIG) door mij genomen, die hoofdzakelijk in dezelfde richting wijzen. De planten werden zoowel in water- als in glaszandcultuur gekweekt en macroscopisch en microscopisch onderzocht.

2. TECHNIEK

Voor de techniek van de water- en glaszandculturen kan verwezen worden naar een voorgaand artikel, waarin de uitwendige en inwendige verschijnselen van boriumgebrek bij tabak beschreven zijn (1934). Dezelfde soort jampotten en oplossingen zijn gebruikt voor de watercultuur, eveneens dezelfde soort potten voor de glaszandcultuur, terwijl dezelfde bemestingen werden gegeven als bij de tabak. Enkele potten waren gevuld met glaszand, dat behandeld was met geconcentreerd HCl, andere met onbehandeld glaszand. Het zand werd vochtig gehouden met gedestilleerd water.

3. MACROSCOPISCH ONDERZOEK

A. Watercultuur.

Proef 1. Hiervoor werden plantjes gebruikt, die voorgekiemd waren in glaszand, waaraan de noodige zuivere voedingszouten waren toegevoegd. Op 27 April werden 10 plantjes overgebracht in de voedingsoplossing zonder borium en 5 plantjes in een oplossing, die 0,0005 g H_3BO_3 per liter bevatte. De gemiddelde lengte der plantjes bedroeg 5 cm, gemeten vanaf het uiteinde van de hoofdwortel, tot aan het vegetatiepunt van de stengel. De afstand van de bovenkant van de kurk tot het vegetatiepunt was op deze datum gemiddeld 0,36 cm en werd elke week gemeten.

De gegevens voor de plantjes, die gekweekt werden zonder borium, zijn vermeld in onderstaande tabel.

LENGTE DER PLANTJES, GEKWEKT IN WATERCULTUUR ZONDER BORIUM
(VAN DE BOVENKANT VAN DE KURK TOT HET VEGETATIEPUNT) IN CM

[Length of plants, grown in water culture without boron (from the upper side of the cork till the growing point) in cm]

Potnummer (No of pots)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Gemiddeld (average)
Lengte op 27 April (Length on 27th April)	0,2	0,5	0,5	0,4	0,2	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3	0,36
Na één week (After one week)	0,3	0,5	0,7	0,5	0,3	†	†	0,6	0,5	0,4	0,47
Na twee weken (After two weeks)	†	0,6	†	0,5	0,3	†	†	†	†	†	0,47

Na één week waren twee plantjes dood en na twee weken was dit het geval met zeven plantjes. De plantjes werden gemiddeld niet langer dan 0,47 cm, gemeten van de bovenkant van de kurk tot het vegetatiepunt en namen dus gemiddeld slechts 0,11 cm in lengte toe.

De eerste gebreksymptomen waren reeds na 8 dagen te zien aan het wortelstelsel, dat in ontwikkeling achterbleef bij dat der contrôle-planten. De groeipunten der wortels stierven af, werden bruin tot zwart van kleur, terwijl talrijke secundaire worteltjes uitliepen. Deze worteltjes bleven zeer kort en waren dik, vele stierven ook vrij spoedig af. (Bij materiaal dat een poos in alcohol was bewaard, was *macroscopisch* reeds waar te nemen, dat vele toppen van secundaire worteltjes het oppervlak van de epidermis niet bereikt hadden).

Enkele dagen later begon het vegetatiepunt van de stengel af te sterven, waarna geen verdere groei plaats had.

In oplossingen, waaraan boorzuur was toegevoegd, was het uiterlijk der planten volkomen normaal. Na twee weken was de gemiddelde lengte van deze plantjes 4,04 cm en na 7 weken 33,10 cm, gemeten van de bovenkant van de kurk tot het vegetatiepunt.

Proef 2.

Op 19 Mei werd een plantje, dat gedurende 23 dagen gekweekt was in een oplossing met 0,0005 gr H_3BO_3 per liter geplaatst in een oplossing zonder borium. De beginlengte van deze plant, gemeten van de bovenkant van de kurk tot het vegetatiepunt bedroeg 10,2 cm. Na 21 dagen had deze plant duidelijke gebreksymptomen. In de eerste week na het overbrengen in de borium-vrije oplossing was de lengte van de plant toegenomen tot 12,2

cm, in de tweede week tot 12,8 cm, waarna verdere lengtegroei uitbleef. Het wortelstelsel was bruin gekleurd; de oudste wortels waren bedekt met een slijmachtige laag. Talrijke secundaire wortels waren uitgelopen; vele hadden een afgestorven vegetatiepunt. Ook het vegetatiepunt van de hoofdwortel was afgestorven.

De drie bovenste samengestelde bladeren waren sterk omlaag gekromd, de afzonderlijke blaadjes eveneens. Bij deze blaadjes was het bladmoes tusschen de nerven vrij sterk naar boven gewelfd. Bij de blaadjes op de halve hoogte van de plant waren de bladranden soms iets naar boven gekruld. De omlaaggebogen topblaadjes staken lichtgroen af tegen de overige bladen. Aan de basis waren ze het lichtst gekleurd. Later werd de heele plant chlorotisch (Plaat 1, fig. 1).

Na het ophouden der lengtegroei liepen de okselknoppen uit, beginnend bij de laagstgeplaatste. Spoedig hield de groei der zijspruiten op, daar de vegetatiepunten afstierven.

Op 13 *Juni* werd deze plant in het donker geplaatst. Tot 17 *Juni* kon in de bladeren zetmeel worden aangetoond (volgens de jood-proef van SACHS), waarna de plant werd gefixeerd.

Proef 3

Op 19 *Mei* werd een plantje, dat gedurende 23 dagen gekweekt was in een oplossing zonder borium en dat duidelijke gebrekssymptomen vertoonde, geplaatst in een oplossing met 0,0005 gr H_3BO_3 per liter. Op 10 *Juni* waren talrijke nieuwe, gezonde worteltjes gevormd en was een zijspruit van 2 cm uitgelopen (Plaat 2, fig. 3), die zich verder ontwikkelde tot een geheel normale plant.

Proef 4

Op 20 *Mei* werden 8 plantjes, welke waren voorgekiemd in *rijke tuinaarde* geplaatst in een oplossing zonder borium en 2 in een oplossing, waaraan 0,0005 gr H_3BO_3 per liter was toegevoegd. De lengte der plantjes bedroeg gem. 8,5 cm van het uiteinde van de hoofdwortel tot het vegetatiepunt van de stengel. De gemiddelde afstand van de bovenkant van de kurk tot het vegetatiepunt bedroeg 2,5 cm. Vier plantjes, die zonder borium werden gekweekt, werden van de cotyledonen ontdaan, om eventueel invloed van reserve-borium zooveel mogelijk uit te sluiten. Deze vier planten bereikten gemiddeld een maximumlengte, gemeten van de bovenkant van de kurk tot het vegetatiepunt, van 2,625 cm, terwijl deze afstand bij de overige vier plantjes gemiddeld 2,725 cm bedroeg. In het eerste geval was de lengtetoe-

name 0,125 cm, in het laatste geval 0,225 cm. Het verschil was dus gering.

Reeds na twee weken hadden de plantjes, die zonder borium werden gekweekt, hun maximumhoogte bereikt. *Het boriumtekort deed zich dus vrijwel onmiddellijk gevoelen, hoewel de plantjes waren voorgekiemd in rijke tuinaarde!* Ook is er vrijwel geen verschil in lengtetoenamen te constateeren, wanneer we de plantjes van Proef 1, die waren voorgekiemd in zuiver glaszand, zonder toevoeging van borium, vergelijken met die van Proef 4. *Wanneer men boriumgebrek-verschijnselen teweeg wil brengen bij planten, die even gevoelig zijn voor boriumtekort als tomaat, zijn voorzorgsmaatregelen van het kiemen der proefplantjes in een boriumvrij milieu dus overbodig!*

De beide contrôle-planten, die gekweekt werden in een oplossing waaraan borium was toegevoegd, hadden na twee weken een gemiddelde lengte van 3,1 cm en na zeven weken van 31,6 cm, gemeten van de bovenkant van de kurk tot het vegetatiepunt. Zij hadden een volkomen normaal uiterlijk.

B. Glaszandcultuur.

De plantjes, die voor de glaszandcultuur werden gebruikt, waren voorgekiemd in rijke tuinaarde en hadden op het tijdstip van het overplanten een gemiddelde lengte van 8,5 cm, gemeten van het uiteinde van de hoofdwortel tot het vegetatiepunt.

a. Drie planten werden overgebracht in glaszand, dat behandeld was met geconcentreerd zoutzuur en ontvingen geen borium.

b. Twee andere planten werden gekweekt in onbehandeld glaszand, eveneens zonder dat borium werd toegevoegd.

c. Twee planten werden als b. behandeld, maar op het tijdstip van overplanten werd 0,0005 gr H_3BO_3 toegediend.

Op 24 Mei werd in elke pot, (waarin zich 7 kg glaszand bevond) één plantje geplaatst.

Ad a. Na 25 dagen waren de eerste drie planten, vergeleken bij de overige, duidelijk achtergebleven in groei. De vegetatiepunten begonnen af te sterven, terwijl verschillende zijknoppen waren uitgelopen. De samengestelde bladeren hadden een naar beneden gebogen uiteinde. Bij vele blaadjes was de bladrand, die tengevolge van anthocyaanvorming wijnrood gekleurd was, iets naar boven gekruld. Deze kleuring bleek het sterkst te zijn op die plaatsen, waar de grootste zetmeelophooping werd geconstateerd, nadat de planten gedurende 12 uren of langer in het donker hadden gestaan. Op Plaat 2, fig. 4 ziet men een blad van een plant met symptomen van boriumgebrek, die gedurende 16 uren

in een donkere kamer was geplaatst bij $\pm 25^{\circ}$ C, behandeld volgens de jood-proef van SACHS. Vrijwel in het geheele blad is nog zetmeel aanwezig. Wanneer niet alle afvoer der koolhydraten is stopgezet, wordt eerst het zetmeel in het basale en centrale gedeelte van het blad, in de buurt der nerven omgezet en afgevoerd. Het zetmeel, dat zich bevindt aan de randen van het blad komt het laatst aan de beurt.

Aan de bovenkant van het blad was de anthocyaanvorming meestal slechts bij de bladranden te zien, terwijl de onderkant van het blad over een grooter gedeelte gekleurd was. Tusschen de nerven ontstonden chlorotische gebieden, vooral in de topbladen, beginnend bij de basis der blaadjes.

Op 10 Juli waren de planten zeer duidelijk gemarmerd. Zij voelden bros aan. De bladranden waren sterker naar boven gekruld en bij verscheidene bladeren afgestorven, meestal beginnend bij de bladpunt en bij de oudste bladeren. Het bladmoes was tusschen de nerven vaak naar boven gewelfd (Plaat 1, fig. 2).

Bij de oogst bleken de wortels kort en dik te zijn, tevens licht tot donkerbruin gekleurd. Verschillende worteltoppen waren afgestorven.

Ad b. De planten, die stonden in de potten met het onbehandelde glasand, vertoonden de symptomen in verzwakte mate en op latere leeftijd, hetgeen pleit voor de aanwezigheid van sporen borium in het glasand. Bij de beide planten stierf het vegetatiepunt niet af. Wel bleven de planten in grootte achter bij de planten, die boorzuur ontvingen. Beide brachten het tot bloemvorming en één van de beide planten vormde zelfs enkele vruchten. Bij deze laatste plant waren de verschijnselen van chlorose ook minder geprononceerd, vergeleken bij de vorige, die sterk chlorotisch tot geelgroen werd, terwijl de bladranden ook sterker naar boven waren gekruld. De anthocyaanvorming was zwakker dan bij de planten van serie *a*.

Ad c. Volkomen normale planten werden gekweekt in de beide potten met onbehandeld glasand, waaraan boorzuur was toegevoegd. De planten produceerden talrijke vruchten.

4. MICROSCOPISCH ONDERZOEK

Gezond en ziek materiaal, zoowel van water- als van glasandcultuur werd met elkaar vergeleken. Een gedeelte werd gefixeerd bij 90° in een oplossing van 6 gr sublimaat in 6 cc ijsazijn en 200 cc 70% alcohol en met een microtoom gesneden. Coupes van 10–12 μ dikte werden hiermee gemaakt. Een ander gedeelte werd onmiddellijk in 70% alcohol gebracht en met de hand gesneden.

a. Jonge wortel.

De eerste degeneratieverschijnselen treden op in de initialen en in het *pro-cambialegedeelte* van het meristeemgebied van het worteleinde. Afzonderlijke cellen en celcomplexen sterven af, waarbij allereerst een bruinkleuring van de wand optreedt. Deze symptomen breiden zich eveneens uit over de hoger gelegen *cambiumcellen* van de wortel.

De *cellen van het meristematische weefsel*, die zich ontwikkelen uit de zieke initialen en 't *pro-cambium*, zijn van de aanvang af ziek, en vertoonen eveneens degeneratiesymptomen: bruinkleuring van de celwanden en vervolgens van de celinhoud. Afzonderlijke zieke en afgestorven cellen of celcomplexen kunnen liggen tusschen gebieden met een normaal uiterlijk. Zoo zijn in één coupe vaak alle overgangen van oogenschijnlijk gezonde tot sterk zieke cellen waar te nemen.

Spoedig gaan de cellen van het *vaatbundelsysteem*, die zich bevinden in het zieke worteleinde, eveneens te gronde. Zoowel *phloëm-* als *xyleemcellen* krijgen dan een bruingekeurde wand. Vooral bij de houtvaten kan men deze bruine verkleuring vaak over een groote afstand volgen.

Ook de *pericambium-*, *endodermis-*, *schorsparenchymcellen*, *epidermis-* en *exodermis-cellen* kunnen worden aangetast, steeds beginnend met een bruine verkleuring van de wand en gevolgd door een afsterven van de celinhoud. In dergelijke afgestorven cellen is de kern vaak nog aanwezig. Eveneens werden in de afgestorven parenchymcellen dikwijls zetmeelkorrels aangetroffen. Vooral bij de schorsparenchymcellen is te zien, dat de aantasting vaak begint op de plaats, waar vier cellen bij elkaar komen, zoodat dan slechts een gedeelte van de wand bruingekeurd is. Meermalen is van een cel slechts één wand en soms ook de wand die hier dwars op staat, bruin gekleurd, terwijl de overige wanden en de celinhoud nog een normaal uiterlijk vertoonen. De wanden van de zieke cellen zijn vaak samengedrukt of uitgerektd, blijkbaar als gevolg van bepaalde spanningen, die in het zieke weefsel optreden.

Het geheele worteleinde kan zoodoende afsterven, hetgeen dan macroscopisch is waar te nemen. Als gevolg van het afsterven van het cambiale gedeelte in de toppen der wortels, worden secundaire wortels gestimuleerd tot uitloopen. Na verloop van zekere tijd treedt hetzelfde ziektebeeld ook in deze worteltjes op (Plaat 2, fig. 5). De uiteinden van vele secundaire wortels bereiken het oppervlak van de primaire wortel niet, daar initialen en procambium reeds vóór het naar buiten treden aangetast kunnen zijn [Plaat 2, fig. 5, (in) en (pca)].

b. Oudere wortel.

Bij de oudere wortel treden dezelfde degeneratieverschijnselen in het uiteinde op als bij de jonge. Vooral in de omgeving van de secundaire worteltjes treft men zieke cellen aan in de oudere wortel, misschien doordat deze cellen het meeste borium afstaan aan de groeiende worteltjes, of misschien ook wel als gevolg van een abnormaal verloop van de stofwisseling.

Zoowel in de jonge als in de oudere aangetaste wortels worden vaak vele cellen met kristalgruis van calcium-oxalaat aangetroffen, een bewijs voor het ontstaan van abnormaal veel oxaalzuur.

Evenals bij tabak, die aan boriumgebrek lijdt, kan het gedeelte tusschen xyleem en pericambium sterk zijn uitgerekt. Bij planten, die van de aanvang af geen borium krijgen, is het xyleem zwak ontwikkeld. Het aantal xyleemelementen is kleiner, terwijl ook de wanden dun blijven. In het *xyleem* treedt eveneens bruinkleuring der celwanden op. Uitrekking en samendrukking der houtelementen wordt slechts een enkele maal waargenomen en dan meestal in het zeer jonge weefsel.

Het *phloëm* kan sterk in radiaire richting verbreed zijn, als gevolg van talrijke deelingen, die in dit weefsel kunnen plaats vinden. De afzonderlijke cellen zijn vaak niet meer, of zeer lastig te herkennen, doordat de zieke celwanden dikwijls zijn samengedrukt of uitgerekt, meestal in radiaire richting.

c. Stengel.

Vrij spoedig na het optreden der symptomen in het wortelstelsel begint het vegetatiepunt van de stengel af te sterven. De *procambium-* en *cambiumcellen* in het uiteinde van de stengel gaan eerst gedeeltelijk en vervolgens geheel te gronde, beginnend met een bruinkleuring der wanden. De weefsels, die zich uit het zieke procambium en cambium ontwikkelen, zijn van de aanvang af ziek. Alle stadia van ziekte zijn vaak in een enkele coupe te zien. Plaat 2, fig. 6 stelt een handcoupe voor van het vegetatiepunt van de plant van Proef 2 (watercultuur). Afgestorven cellen zijn hier te vinden in het *cambium* (ca), *phloëm* (ph), *xyleem* (xy), *mergparenchym* (mp), *schorsparenchym* (sp) en *epidermis* (ep). Talrijke cellen, gevuld met calcium-oxalaat-kristallen, zijn aanwezig (ox). De sterkste ziekteverschijnselen zijn hier op korte afstand onder de top van de vegetatiekegel waar te nemen, zoodat deze top a.h.w. wordt ingesnoerd. Bij het afsterven der cellen kleuren de wanden zich bruin en worden, vooral bij de cellen die van parenchymatische natuur zijn, vaak samengedrukt of uitgerekt, waar heele celcomplexen tegelijk bij betrokken kunnen worden. De afzonderlijke cellen zijn dan dikwijls moeilijk, of in

het geheel niet meer te herkennen.

Van het vegetatiepunt schrijdt het ziekteproces voort naar beneden. Als gevolg van het afsterven van het groeipunt lopen de zijspruiten uit, de onderste het eerst, en groeien net zoo lang als de plaatselijke boriumvoorraad dit toelaat. De groeipunten van de zijspruiten sterven vervolgens af, evenals de eindknop van de stengel. De ziekteverschijnselen schrijden in de zijspruiten van het vegetatiepunt naar beneden voort, doch vaak zijn, nog vòòrdat de geheele spruit is aangetast, zieke cellen waar te nemen in de stengelknoop, aan de voet van de spruit en in de basis van de bladsteel, die hier in uitkomt. In de knoop vindt men dan ook de sterkste degeneratieverschijnselen in het vaatbundelgedeelte, dat gelegen is aan de kant van een okselknop. De knopen, die zich in het bovenste gedeelte van de stengel bevinden, komen op deze wijze het eerst aan de beurt, vervolgens het weefsel tusschen de nodiën. Op het oogenblik, dat de eerste verschijnselen optreden in de nodiën — na het afsterven van het vaatbundelgedeelte in de zijspruiten — is het ziekteproces in de stengel (beginnend bij het vegetatiepunt) reeds over zekere afstand voortgeschreden.

In de stengel kan een bepaald weefsel zeer plaatselijk ziek zijn, b.v. slechts een klein gedeelte van het *xyleem*, of van het *phloëm* (Plaat 2, fig. 8), of een klein gedeelte van het *schorsparenchym*, *pericambium* en de *sub-epidermis* (Plaat 3, fig. 9), terwijl de rest van de coupe een normaal uiterlijk vertoont. De aantasting kan soms zéér eenzijdig in de stengel optreden, waardoor deze scheef kan groeien (Plaat 1, fig. 2).

Het is op later ziektestadium niet noodzakelijk, dat in een bepaald deel van de stengel eerst het cambium ziek wordt, voordat andere weefsels te gronde gaan. In sommige coupes werden b.v. wel gedegenereerde parenchym-cellen, of xyleem-elementen aangetroffen (op dwarse doorsnede), terwijl het cambium en het phloëm op dezelfde stengelhoogte een volkomen normaal uiterlijk had (Plaat 3, fig. 9).

Het *extra-xylaire phloëm* gaat meestal eerder te gronde dan het *intraxylaire* [Plaat 2, fig. 7 resp. (eph) en (i ph)].

Het gedeelte tusschen xyleem en endodermis kan sterk verbreed zijn door talrijke deelingen, die in de cambiale zône en vooral in het phloëmgedeelte optreden. De phloëm-cellen kunnen sterk in radiaire richting gerekt zijn en zijn vaak zóó vervormd, dat de individueele cellen niet meer te herkennen zijn. Groepen van cellen kunnen geheel afsterven en als een zwart-bruine massa aaneengekit zijn [Plaat 2, fig. 7 (eph)]. Door de verbredening van het phloëm kunnen de cellen van het pericambium samengedrukt worden tegen de endodermis.

Het *xyleem* is op de sterk aangetaste plaatsen in de stengel meestal slecht ontwikkeld. Er worden minder elementen aangetroffen, terwijl de gemiddelde diameter der vaten kleiner is, dan die van gezond, evenoud materiaal. De xyleem-cellen hebben tevens een dunnere wand. Bruinkleuring der wanden heeft eveneens plaats [Plaat 2, fig. 7, (xy) en Plaat 3, fig. 9, (xy)]. *Houtparenchymcellen* hebben soms een bruinzwarte celinhoud. Wanneer zeer jonge houtvaten in het degeneratieproces worden betrokken, komt het wel voor, dat deze eveneens als een zwartbruine massa samengekit worden [Plaat 2, fig. 8, (xy)]. De cellen van het aangrenzende parenchym worden dan vaak uiteengerekte in de richting van het afgestorven gebied, terwijl talrijke deelingen in dit parenchym kunnen ontstaan.

Het te gronde gaan der *parenchym-cellen* geschiedt op dezelfde wijze als beschreven is voor de wortel. Opvallend zijn vaak de talrijke cellen, die gevuld zijn met kristalgruis van calciumoxalaat [Plaat 2, fig. 6 en 8 (ox)].

d. Bloemsteel.

Wanneer er op het oogenblik van het optreden der boriumgebrekverschijnselen reeds één of meer bloemstelen zijn aangelegd, dan ontstaan ook hierin typische symptomen, die in alle opzichten identiek zijn aan die, welke optreden in de stengel.

Plaat 3, fig. 10 stelt een dwarse doorsnede van een bloemsteel voor van een plant, die gekweekt werd zonder borium in glaszand, dat behandeld werd met geconcentreerd zoutzuur. Vooral het *vaatbundelgedeelte* is sterk aangetast in de geheele bloemsteel, zoodat het geen verwondering wekt, dat de bloemen aan een dergelijke stengel reeds als knop kunnen afsterven. Het feit, dat tengevolge van boriumgebrek het meristematische weefsel te gronde gaat en dat de bloemaanleg oorspronkelijk ook van meristematische natuur is, zou trouwens reeds op zich zelf voldoende zijn, om te kunnen verklaren, dat bloem- en vruchtvorming vrijwel steeds uitblijven.

Zoo stelt Plaat 3, fig. 11 een handcoupe voor van een vruchtbeginzel en de top van een bloemsteel, afkomstig van dezelfde plant als die van fig. 10. Gedegenereerde cellen zijn, behalve in het *phloëm* (ph) en *xyleem* (xy) en in de overige deelen van de stengeltop, ook te zien in het parenchymatische weefsel van het vruchtbeginzel, b.v. bij (p 2), dat eveneens bruingekleurd is. Het aangetaste vaatbundelweefsel en parenchym is te vinden tot vlak onder de zaadknoppen.

e. Bladsteel en bladspil.

In de bladsteel en de bladspil worden de weefsels op dezelfde wijze aangetast als in de stengel. Vooral het *vaatbundelgedeelte* heeft sterk te lijden, zoodat dit voor het grootste deel, of geheel, te gronde kan gaan.

Zoodra het ziekteproces in de zijspruiten voortgeschreden is tot in de knoop van de stengel, kan men degeneratieverschijnselen aantoonen in de basis van de bladsteel (Plaat 3, fig. 12), waarbij vooral cellen afsterven in het vaatbundelgedeelte. Als gevolg hiervan wordt het vervoer der koolhydraten en eiwitten naar de stengel belemmerd. Het is echter zeer waarschijnlijk, dat ophooping in de bladeren reeds plaats heeft op het oogenblik van het optreden der eerste gebreksymptomen in het vegetatiepunt van de stengel, nog vóór het optreden van inwendige veranderingen in de bladsteel, daar de groei van de plant dan reeds belangrijk geremd wordt, zoodat de assimilaten niet in voldoende mate verwerkt kunnen worden. Het is denkbaar, dat door de veranderde stofwisseling giftige producten ontstaan, die het voortschrijden van het ziekteproces in de plant zullen verhaasten.

In de bladsteel vindt men de ernstigste aantasting aan de voet, en in de bladspil op die plaatsen, waar de bladsteeltjes in de spil uitkomen (Plaat 3, fig. 14).

Plaat 3, fig. 13 geeft een dwarse doorsnede van een bladsteel weer van een plant zonder borium gekweekt, die beschreven is in Proef 2 van de watercultuur. Het *cambium* (ca) is voor het grootste deel ziek. Vooral het *phloëm*, dat gelegen is aan de onderzijde van de bladsteel, vertoont sterke ziekteverschijnselen, hetgeen een verklaring geeft voor het naar beneden buigen van de bladstelen. Vele cellen van dit weefsel zijn aaneengekit tot een zwartbruine, doode massa (ph). Men ziet ook *xyleem-elementen* met een bruine wand in de coupe (xy). In de *endodermis* is een enkele cel te vinden met het begin van aantasting (en). Een gedeelte van de wand is hier bruin gekleurd.

f. Bladnerf.

In de bladnerven is hetzelfde ziektebeeld te vervolgen tot in de fijnste vertakkingen. De sterkste aantasting is te vinden op de plaatsen waar twee nerven bij elkaar komen (waar vooral in het vaatbundelgedeelte vele afgestorven cellen kunnen worden aangetroffen) en in de uiteinden der nerven. Het necrotische, bruin gekleurde phloëm valt onmiddellijk op. In het algemeen is de aantasting van dit weefsel vooral aan de onderzijde van de nerf zeer sterk. Het *phloëm* kan hier aanmerkelijk verbreed zijn door de talrijke deelingen, die hierin hebben plaats gevonden. Het

weefsel heeft zich echter niet voldoende in lengterichting ontwikkeld. Dit verklaart ook weer de neiging van de sterk aangetaste blaadjes om met de bladpunt en bladrand omlaag te buigen, hetgeen vooral bij waterculturen goed werd waargenomen. Ook is het mogelijk, dat het phloëm zeer spoedig afsterft en verdere deelingen in dit weefsel uitblijven.

g. Bladmoes.

Bij planten met boriumgebrek kan het bladmoes aanmerkelijk in dikte toenemen door een vergrooting der afzonderlijke cellen. Bij een normaal bemeste plant, gekweekt in de kas, is de gemiddelde dikte van het bladmoes op $\frac{2}{3}$ van de hoogte van de plant, op korte afstand van de hoofdnerf, 100–130 μ . Op plaatsen waar kleine nerven aanwezig zijn, is het bladmoesgedeelte wel dikker, doch deze gedeelten laten we hier buiten beschouwing voor een vergelijking met bladeren van planten, die aan boriumgebrek lijden. Bij planten, die gekweekt werden in met zoutzuur behandeld glaszand, zonder borium, bleek de dikte van het bladmoes op overeenkomstige hoogte van de plant 220–455 μ te zijn en bij planten in watercultuur 250–325 μ . De *epidermis* van normaal bemeste planten was gemiddeld 13 μ dik en van planten met boriumgebrek, gekweekt in water- en glaszand-cultuur, 19–52 μ . De *pallissadeparenchym-cellen* hadden bij normaal bemeste planten een lengte van 39–52 μ en een breedte van 5–15 μ . Bij planten met boriumgebrek kon de lengte der cellen toenemen tot 156 μ en de breedte tot 26 μ . Bij normaal bemeste planten is de dikte van het *sponsparenchymweefsel* 40–65 μ , bij planten met boriumgebrek 90–156 μ .

Tusschen de nerven, die vrijwel op hun plaats blijven, zien we dus een sterke uitzetting van het bladmoesweefsel, zoodat het duidelijk wordt, waarom dit weefsel tusschen de nerven zoo sterk opbolt. Dit opbollen zal naar boven geschieden en niet naar beneden, daar het bladmoes van gezonde bladeren van nature reeds iets naar boven gewelfd is tusschen de nerven. Bovendien bleek de pallisade-laag in verhouding iets sterker gezwollen te zijn, dan de sponsparenchymlaag, vermoedelijk doordat het laatste weefsel beter samendrukbaar is dan het eerste door de aanwezigheid der groote intercellulaire ruimten.

Zoowel epidermis- als pallisade- en schorsparenchymcellen kunnen onafhankelijk van elkaar afsterven, beginnend met een bruine verkleuring van de celwand en vervolgens van de celinhoud. Groepen van cellen kunnen hierbij worden betrokken. De celwanden kunnen uiteengerekt of samengedrukt worden. Deze afsterving geschiedt in de jonge topblaadjes en in de blaad-

jes van de aangetaste zijspuiten, echter niet, voordat eerst het inwendige gedeelte van de stengel- of spruittop afgestorven is. Bij de oudere bladeren heeft de afsterving het eerst plaats aan de periferie, op de plaatsen waar de zetmeelophooping het sterkst is.

De *chlorophyllkorrels* zijn in de planten met boriumgebrek over het algemeen gedegenereerd, terwijl het aantal niet vermindert is. De chlorotische verschijnselen kunnen verklaard worden, door de afname in grootte der chlorophyllkorrels en tevens door de toename van de celinhoud.

De gemiddelde diameter van de celkern is in de zieke planten toegenomen: in gezonde planten bedraagt deze gemiddeld 5μ , in zieke planten 8μ in de sterk chlorotische deelen.

5. BESCHOUWING DER RESULTATEN

De resultaten komen vrijwel in alle opzichten overeen met die, welke gevonden zijn bij tabak. De wijze van aantasting van de verschillende weefsels en het voortschrijden van het ziekteproces in de plant zijn in beide gevallen vrijwel analoog. In tegenstelling met de tabak werd bij de tomaat gevonden, dat de randen der bladeren zich naar boven kunnen krullen bij planten, die gekweekt werden in glaszand (dat behandeld was met geconcentreerd zoutzuur) zonder borium, hetgeen niet het geval was, of slechts in zwakke mate bij de planten, die zonder borium gekweekt werden in watercultuur.

De vraag naar de oorzaak van dit verschil heeft geleid tot de volgende waarnemingen en overwegingen:

De pH der voedingsoplossingen zonder borium bleek te schommelen tusschen 5,5 en 6,9 terwijl de pH van de glaszand-suspensie (gemeten volgens de chinhydron-methode) in de potten, die geen borium ontvingen ± 7 was op het oogenblik van het optreden der ziekteverschijnselen. Bovendien bleek ook de glaszand-suspensie van de potten waaraan boorzuur was toegevoegd (in welke potten normale planten werden gekweekt) toen een pH te hebben van ± 7 . Een verschil in zuurgraad kon dus niet de oorzaak geweest zijn, daar de pH der voedingsoplossingen, zonder borium, zeer weinig verschilde van die der glaszandculturen.

Eveneens is te weerleggen, dat een verschil in bufferend vermogen van water- en glaszandculturen het verschil der ziekteverschijnselen kan verklaren, daar in beide gevallen dezelfde bemesting gebruikt werd, terwijl noch in het eene, noch in het andere geval een sorptiecomplex aanwezig was (de diameter der korrels v. h. glaszand varieerde $\pm$ tusschen 100 en 550μ).

Er zijn ziekten bekend, waarbij een belemmering van het transport der assimilaten in de bladeren gepaard gaat met een zich naar boven krullen der bladranden, nl. de bladrolziekte (ESMARCH, 1919; NEGER, 1919; QUANJER, 1919) en de Rhizoctoniaziekte van de aardappel (QUANJER, 1919). T.a.v. de bladrolziekte kan nog worden opgemerkt, dat reeds verhinderend van zetmeeltransport geconstateerd kan worden in bladeren, waarvan de randen nog niet zijn omgekruld: „*Der Chemismus ist schon gestört, während das äussere Kennzeichen der Störung noch fehlt*” (ESMARCH). Ook wegnemen van de schors aan de stengelbasis of wegnemen van de groeiende knollen bij de aardappel heeft een dergelijk effect (VÖCHTING, 1887).

Toch kan de belemmering van het vervoer der assimilaten in het hier beschreven geval, het naar boven omkrullen der bladranden bij de tomaat in glaszandcultuur niet geheel ophelderen, daar ook bij de planten van de watercultuur zetmeelophooping werd geconstateerd, wanneer deze zonder borium werden gekweekt.

Een mogelijkheid is, dat eenige belemmering van de watertoevoer naar de bladeren van de planten in de potten met glaszand ook een rol heeft gespeeld, want het wortelstelsel was verzwakt en het xyleem gedeeltelijk aangetast. Ook bij de planten, die zonder borium werden gekweekt in watercultuur, was het wortelstelsel verzwakt, maar dit bevond zich steeds in de voedingsoplossing, zoodat het niet te lijden had van schommelingen in het vochtgehalte. Schommelingen in het vochtgehalte hadden daarentegen wel plaats in de potten, waarin zich glaszand bevond, zoodat de concentratie der zouten v. h. water in deze potten sterker wisselde.

T.a.v. de anthocyaanvorming bij de tomaat, kan worden opgemerkt, dat anthocyaanvorming een vrij algemeen voorkomend verschijnsel is, wanneer het gehalte aan koolhydraten in een plant gedurende eenige tijd boven het normale stijgt.

Volgens BONNIER (1902), (zie SORAUER) wordt anthocyaanvorming bevorderd door een sterkere belichting. Hij geeft voorbeelden van bloemen, die in de vlakte wit zijn, terwijl zij in de Alpen blaadjes hebben, die aan de onderkant door anthocyaan violet gekleurd zijn. De bladeren van *Sedum acre*, *S. album* en *S. hexangulare* worden in de Alpen purperrood. M.i. is het zeer waarschijnlijk, dat bij deze sterkere belichting meer koolhydraten gevormd zullen worden dan bij de planten in de vlakte. Bovendien zullen de koolhydraten door het koelere klimaat minder snel worden omgezet en vervoerd: CZAPEK (1901) toonde aan, dat

het evenwicht suiker $\rightleftharpoons$ zetmeel bij lage temperatuur verschoven is naar de kant van de suiker, m.a.w. het aanwezige zetmeel wordt in suiker omgezet en er zal geen zetmeel gevormd worden.

NOACK(1922) vond een verband tusschen het assimileerend vermogen en het anthocyaangehalte van de cel. Hij toonde aan, dat in cellen, die anthocyaan vormen, ook flavonen voorkomen, die hiermee verwant zijn. Anthocyaan kan in flavon worden omgezet door oxidatie, en door reductie zou uit flavon anthocyaan ontstaan. In cellen, die sterk assimileeren, is het evenwicht flavon $\rightleftharpoons$ anthocyaan naar de flavonzijde verschoven, terwijl *verzwakking van het assimileerend vermogen gepaard gaat met vorming van anthocyaan.*

Jonge blaadjes, die nog niet, of oude, die niet meer assimileeren, zijn vaak rijk aan anthocyaan. *Wanneer suikers worden opgehoopt, wordt de assimilatie geremd en dit kan anthocyaanvorming ten gevolge hebben.*

Zoowel de chemische analyse (JOHNSTON and DORE, 1928) als het anatomische onderzoek hebben uitgewezen, dat het chlorophylgehalte bij planten die lijden aan boriumgebrek achteruitgaat, waarmee logischer wijze een vermindering van de assimilatie zou moeten samengaan, vooral waar bovendien in de bladeren der zieke planten meer suikers aanwezig zijn.

Anthocyaanvorming treft men eveneens aan bij bladrolzieke aardappelplanten (QUANJER, 1916), welke zooals THUNG (1928) heeft aangetoond meer suikers bevatten dan gezonde, terwijl deze planten meer CO₂ afscheiden (WHITEHEAD, 1934).

De reactie van het celsap in de planten met boriumgebrek moet *zuur* zijn, daar de kleur van het anthocyaan rood is (BENECKE-JOST, 1924 en STRASBURGER, etc., 1928).

De tomaat, var. Ailsa Craig bleek gevoeliger te zijn voor het weglaten van B. dan Rhenensche tabak, hetgeen vooral tot uiting kwam bij de waterculturen. Bij gebruik van zeer jong materiaal waren reeds na twee weken de meeste tomatenplantjes afgestorven, terwijl tabaksplantjes vijf maanden konden blijven leven in dezelfde soort oplossing zonder B.

De gemiddelde lengtetoeename bij 18 *jonge* plantjes bedroeg aan het einde van de vegetatieperiode bij de tomaat 0.14 cm en bij tabak 5.5 cm, wanneer deze planten gekweekt werden zonder borium, in watercultuur.

De symptomen van boriumgebrek kwamen bij de tomaat in het algemeen ook eerder tot uiting dan bij de tabak.

Uit de beschrijving van de aantasting van de bloemsteel blijkt, dat de degeneratieverschijnselen zeer hevig kunnen zijn, zoodat het begrijpelijk is, dat dergelijke bloemstelen geen bloemen

en vruchten kunnen produceeren.

WARINGTON(1933) merkte op, dat de verschijnselen van boriumgebrek in de zomer eerder optreden dan in de herfst en in het voorjaar en tevens, dat normaal bemeste planten in de zomer eerder bloeien dan in de herfst en in het voorjaar. Een verband tusschen het latere bloeien in herfst en voorjaar en het later optreden der boriumgebrekverschijnselen in deze jaargetijden kon zij echter niet vinden. Ofschoon de invloed van gereduceerd daglicht en die van het weglaten van borium in zekere opzichten dezelfde schenen te zijn, b.v. in die gevallen waarbij bloemvorming geheel uitbleef, was de oorzaak in wezen iets anders. De eene factor kon de invloed van de andere factor wijzigen, daar bij afwezigheid van borium de invloed van een tekort aan licht minder sterk bleek te zijn, dan wanneer borium aanwezig was. Eveneens waren de verschijnselen van boriumgebrek minder duidelijk wanneer het daglicht gereduceerd werd.

M.i. kunnen het uitgesteld worden van de bloei in de herfst en in het voorjaar en het later optreden der boriumgebrekverschijnselen in deze jaargetijden eenvoudig verklaard worden door de langzamere groei van de planten in deze perioden van het jaar, vergeleken bij die in de lichtere en warmere zomermaanden.

Wanneer de groeifactoren voor de plant zoo gunstig mogelijk zijn, zullen gebrekverschijnselen in het algemeen eerder optreden dan bij minder gunstige factoren. In de zich snel deelende en snel groeiende cellen zal ook een boriumtekort zich spoedig openbaren. Dit zal b.v. het geval zijn bij een extra stikstof- of fosphaatbemesting en in cultuuroplossingen, waarin aeratie wordt toegepast (Mc MURTREY, 1929).

Als gevolg van het boriumtekort zal de groei van de plant vertraagd worden, zoodat het tijdstip van bloemaanleg verplaatst wordt naar een latere datum. Het wegblijven en afvallen van bloemknoppen en bloemen bij planten, die lijden aan boriumgebrek kunnen m.i. voldoende verklaard worden door de inwendige degeneratieverschijnselen in de groeipunten der stengels.

Ook moet gedacht worden aan de mogelijkheid, dat er veranderingen plaats vinden in de celkern, tengevolge waarvan de reductiedeeling niet normaal verloopt. Dat inderdaad de kernen worden aangetast, bleek uit het feit, dat de gemiddelde diameter ervan in de bladparenchymcellen is toegenomen bij planten, die lijden aan boriumgebrek.

6. SAMENVATTING

Tomatenplanten van de variëteit Ailsa Craig werden gekweekt in water- en glaszandculturen, resp. met en zonder toevoeging van borium in de vorm van boorzuur.

Het is gelukt verschijnselen van boriumgebrek teweeg te brengen bij planten, die in watercultuur werden gekweekt zonder borium en bij planten, die waren gekiemd in onbehandeld glaszand (of in rijke tuinaarde), of die eerst gedurende enkele weken in watercultuur waren gekweekt met 0.0005 g H_3B_3O per liter en vervolgens overgebracht in een oplossing zonder borium.

Het was mogelijk planten met duidelijke ziekteverschijnselen te genezen door toevoeging van boorzuur.

In de glaszandcultuur traden de gebreksymptomen eerder op, en zij waren van ernstige aard, wanneer het zand van te voren behandeld was met geconcentreerd zoutzuur.

De gebrekverschijnselen openbaren zich door een afsterven der groeipunten van de wortels en stengels, waardoor secundaire wortels en okselknoppen tot uitloopen worden gestimuleerd.

Deze groeien net zoolang, tot de plaatselijke boriumvoorraad uitgeput is, waarna degeneratieverschijnselen optreden in de vegetatiepunten. Tegen de tijd, dat de okselknoppen en zijspruiten afgestorven zijn, is reeds een gedeelte van het stengeluiteinde dood. De bladstelen, bladspillen en nerven buigen zich naar beneden, hetgeen vooral tot uiting komt bij de nog niet volgroeide bladeren. Het bladmoes tusschen de nerven welft zich naar boven en neemt in dikte toe, terwijl chlorotische gebieden ontstaan, meestal beginnend bij de bladbasis en aan de basis der blaadjes.

De bladeren voelen tenslotte bros aan. Er wordt anthocyaan gevormd in de bladeren, vooral in de bladranden, welke kunnen afsterven, meestal beginnend bij de bladpunt.

In tegenstelling met de planten, die in watercultuur werden gekweekt, hadden die van zandcultuur, wanneer geen borium werd toegediend, vaak bladeren, waarvan de rand naar boven was gekruld.

De oorzaak is niet gelegen in een verschil in reactie of bufferend vermogen van het groeimedium van de planten, die gekweekt werden in water- en zandcultuur, daar dit verschil niet noemenswaard was. Mogelijk is de oorzaak gelegen in een minder regelmatige toevoer van water naar de bladeren in het laatste geval, ten eerste: doordat de vochtigheid van het glaszand varieerde, terwijl ten tweede: het wortelstelsel van deze planten zeer verzwakt was en ten derde: het gedegenerende xyleem niet meer normaal functioneerde.

Het is denkbaar, dat de ophooping der koolhydraten in de bladeren bevorderlijk was voor dit omkrullen der bladranden; een verklaring wordt hierdoor niet *geheel* gegeven, daar ook bij planten, die in watercultuur werden gekweekt zonder borium (waarbij het omkrullen der bladranden naar boven zwak, of in het geheel niet werd waargenomen) een belemmering van het transport der koolhydraten werd geconstateerd.

De eerste inwendige ziekteverschijnselen zijn te vinden in initialen en procambium van de worteltoppen en kort daarop in het procambium van de groeipunten van de stengels. Deze breiden zich geleidelijk uit tot in het *cambium* van wortel en stengel. Allereerst heeft het *vaatbundelgedeelte* hier sterk van te lijden.

Uit het gedegenereerde cambium ontstaan zieke *phloëm-* en *xyleemcellen*. Het zwakke *meristematische weefsel* krijgt niet voldoende eiwitten en koolhydraten toegevoerd voor een normale ontwikkeling en sterft af. Afgestorven cellen worden ten slotte in alle weefsels aangetroffen. De bruinkleuring der wortels is hoofdzakelijk een gevolg van de bruingekeurde *exodermis-* en *schorsparenchymcellen*.

De aantasting der cellen begint in het algemeen met een bruinkleuring van de wand, waarna de celinhoud te gronde gaat. De cellen met zwakke wand, vooral die van het *cambium*, *phloëm* en *parenchym* zijn vaak uiteengerekt of samengedrukt. Groepen van cellen kunnen op deze wijze afsterven en aaneengekit worden tot een zwart-bruine massa, waarin de afzonderlijke cellen niet meer, of zeer lastig, te herkennen zijn.

In het *phloëm* treden talrijke deelingen op, zoodat dit weefsel sterk verbreed kan zijn, terwijl het *xyleem* meestal zwak ontwikkeld is.

De inwendige afbraakverschijnselen treden eveneens op in de bloemsteel, wanneer deze nog wordt aangelegd, en zijn tot in de bloemknoppen en bloemen waarneembaar, zoodat het geen verwondering wekt, dat deze zich niet normaal kunnen ontwikkelen en vroegtijdig afsterven.

Het ombuigen der bladstelen, bladspillen en nerven naar beneden wordt verklaard, doordat vooral het *phloëm*, dat zich aan de onderzijde hiervan bevindt, sterk wordt aangetast, waardoor de cellen van dit weefsel op deze plaats in lengtegroei achterblijven bij die van het weefsel, dat aan de bovenkant gelegen is.

De verdikking van het bladmoes is een gevolg van een vergroting der afzonderlijke cellen. Aangezien de nerven vrijwel op hun plaats blijven, moet het weefsel daartusschen, dat van nature zwak naar boven is gewelfd, zich nog meer naar boven uitzetten.

De *chlorophylkorrels* zijn gedegenereerd in het chlorotisch geworden weefsel, ofschoon het aantal korrels in de cellen niet achteruit gegaan is.

De verschijnselen van chlorose worden verklaard door:

a de achteruitgang in grootte der plastiden,

b door de toename van de celinhoud.

Hierdoor is het percentage chlorophyl afgenomen.

In het sterk chlorotische bladweefsel blijkt de gemiddelde diameter der *celkernen* te zijn toegenomen.

Wat betreft het voortschrijden der verschijnselen van celdegeneratie in de stengel kan worden opgemerkt, dat na het afsterven van het topgedeelte de okselknoppen en zijspruiten inwendig te gronde gaan. Daarna wordt het weefsel in de nodiën aangetast en vervolgens het weefsel, dat tusschen de nodiën gelegen is.

De sterkste verschijnselen van necrose worden in een sterk zieke plant aangetroffen:

1e in de vegetatiepunten van wortels, stengels en zijspruiten,

2e op de plaatsen waar secundaire wortels uit de hoofdwortel ontspruiten,

3e op de plaatsen waar de okselknoppen uit de nodiën ontspruiten, vooral in het topgedeelte van de plant,

4e aan de voet van de bladsteel en van de steeltjes,

5e op de plaatsen waar twee nerven bij elkaar komen,

6e op de plaatsen waar de bladranden afsterven.

Laboratorium voor Mycologie en Aard-appelonderzoek, Wageningen, 1934.

7. VERKLARING DER PLATEN

PLAAT I

Fig. 1. Tomaat (var. AILSA CRAIG), (eerst gekweekt in een oplossing met 0,0005 g H_3BO_3 per liter, vanaf 27/4 tot 19/5 en vervolgens in een oplossing zonder B. tot 10/6) met duidelijke symptomen van boriumgebrek. De nieuw-aangelegde wortels zijn kort en dik en vele hebben een afgestorven uiteinde (a). Het vegetatiepunt van de stengel is afgestorven (b); eveneens is dit het geval met de bovenste okselknoppen (c). Het naar beneden ombuigen van de bladpunten en bladranden der bladeren en blaadjes is vooral bij de bladeren die hoog geplaatst zijn, goed te zien (d). De chlorose is het sterkst aan de basis der bladeren en blaadjes. In deze gevallen is het naar boven welven van het bladmoes tusschen de nerven ook het duidelijkst waar te nemen (e) (2,4 × verkleind).

Fig. 2. Tomaat, gekweekt in glaszand, dat behandeld werd met geconcentreerd zoutzuur, zonder toevoeging van B., van 24 Mei tot 10 Juli. De vegetatiepunten van de stengel (b) en die der



Fig. 1

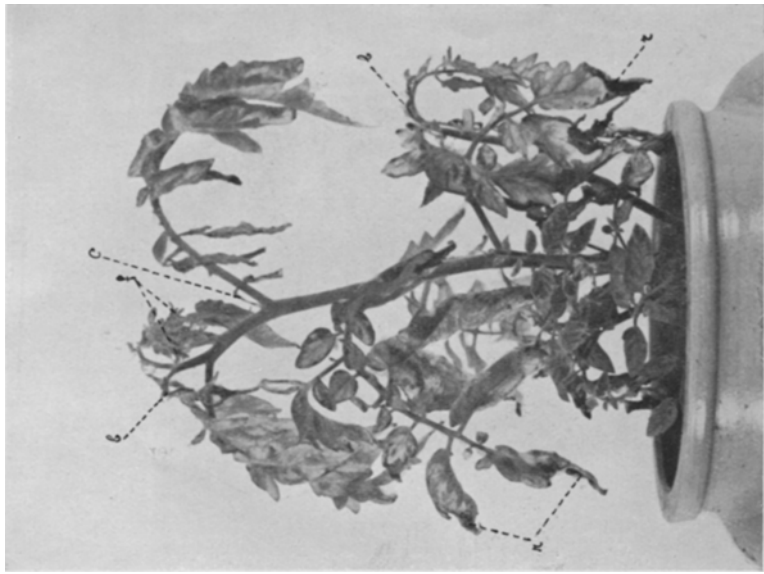


Fig. 2

Foto's : J. v. d. Peppel

bovenste zijspruiten (c) zijn, evenals de bloemen (f), afgestorven. De plant is duidelijk gemarmerd. De bladranden zijn sterk naar boven gekruld en bij verscheidene bladeren afgestorven, vaak beginnend bij de bladpunt (r). De stengel is omgebogen door eenzijdige groei ($3,6 \times$ verkleind).

PLAAT II

- Fig. 3. Een plantje, dat eerst gekweekt werd in watercultuur zonder B., vanaf 27/4 tot 19/5 en vervolgens met $0,0005 \text{ g H}_3\text{BO}_3$ per liter tot 10/6, met gevolg, dat zich een gezonde, normale spruit (b) heeft ontwikkeld. De oude spruit (a) was nog niet geheel afgestorven. Eveneens hebben zich talrijke gezonde wortels ontwikkeld. ($2 \times$ verkleind).
- Fig. 4. Belemmering van zetmeeltransport in een blad, afkomstig van een plant, die in watercultuur werd gekweekt, zonder B., vanaf 19/5 tot 12/6, na plaatsing in het donker bij $\pm 25^\circ \text{ C.}$ gedurende 16 uur. Behandeld volgens de Jood-proef van SACHS.
- Fig. 5. Overlangsche doorsnede van een vrij jonge wortel met drie secundaire worteltjes in aanleg (twee rechts en een links), afkomstig van een plant, die zonder B. werd gekweekt vanaf 19/5 tot 17/6 in watercultuur. In de coupe zijn aangetaste cellen te zien in de endodermis(en), in het schorsparenchym(sp), in de resten van de epidermis (ep_1), en in de exodermis (ex). In het secundaire worteltje, rechts boven, zijn cellen met een bruingekleurde celwand te vinden in en rondom de initialen (in), in het procambium (pca) en in de epidermis (ep). (microtoomcoupe $10\mu 25 \times$).
- Fig. 6. Overlangsche doorsnede van het stengeluiteinde van een tomaat, die vanaf 20/5 tot 7/7 gekweekt werd in een oplossing zonder B. Aangetaste cellen treft men aan in het cambium (ca), in het hout (xy), in het zeefgedeelte (ph), in het mergparenchym (mp), in het schorsparenchym (sp) en in de epidermis (ep). Vele cellen zijn opgevuld met kristalgruis van Ca-oxalaat (ox). (handcoupe $25 \times$).
- Fig. 7. Dwarse doorsnede van een stengel (3e internodium vanaf de top) van een plant, die gekweekt werd zonder B. in watercultuur van 19/5 tot 17/7. Het cambium (ca) is sterk gedegenereerd, evenals het extraxylaire phloëm, dat sterk verbreed is en necrotische gebieden heeft (eph). Talrijke houtvaten met donkerbruin gekleurde wand zijn waar te nemen (xy). Het intraxylaire phloëm (iph) is hier vrij van ziektesymptomen. Een enkele cel, gevuld met kristalgruis, is aanwezig (ox) (handcoupe $200 \times$).
- Fig. 8. Dwarse doorsnede van een stengel (2e internodium vanaf de top), van een plant, die zonder B. werd gekweekt in watercultuur vanaf 19/5 tot 17/6. Een sterke plaatselijke aantasting is te zien in het xyleem (xy). Talrijke cellen zijn aaneengekit tot een zwartbruine massa, waardoor in het aangrenzende parenchym spanningen optreden en vele cellen uiteengerekt zijn in de richting van het afgestorven gebied. Talrijke deelingen zijn tevens ontstaan in dit aangrenzende parenchym. Necrotische gedeelten zijn eveneens te vinden in het extraxylaire phloëm (eph). Talrijke cellen (ox) met kristalgruis van calciumoxalaat zijn in de coupe te zien (handcoupe $25 \times$).

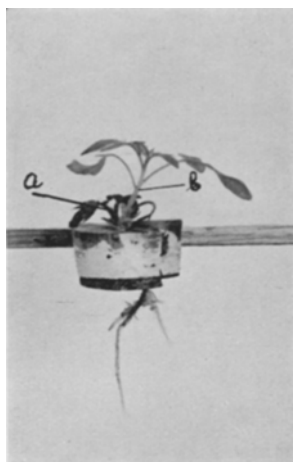


Fig. 3

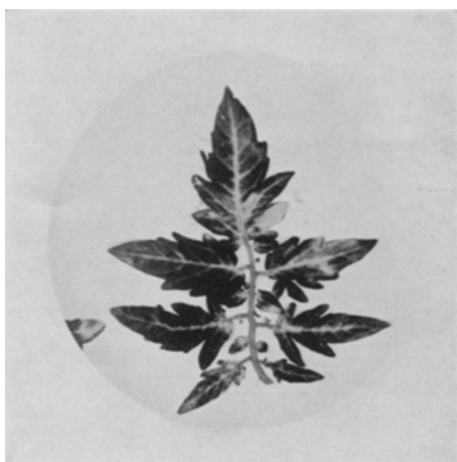


Fig 4.

Foto's: J. v. d. Peppel

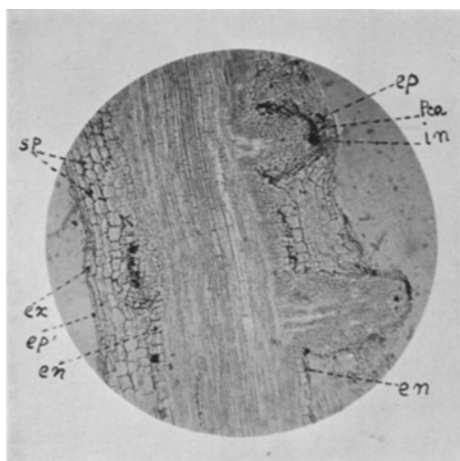


Fig. 5

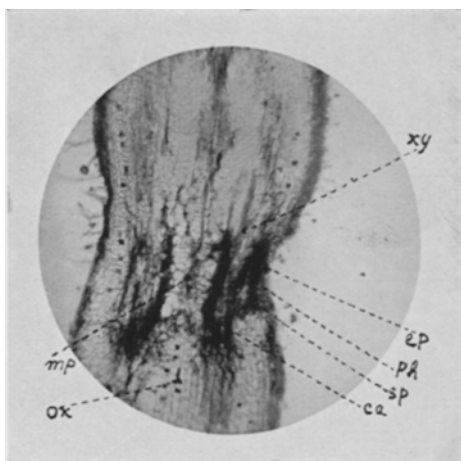


Fig. 6

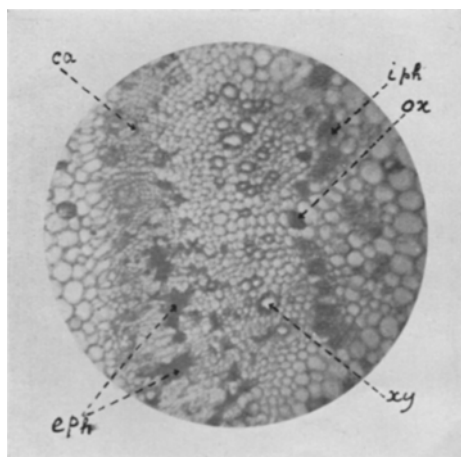


Fig. 7

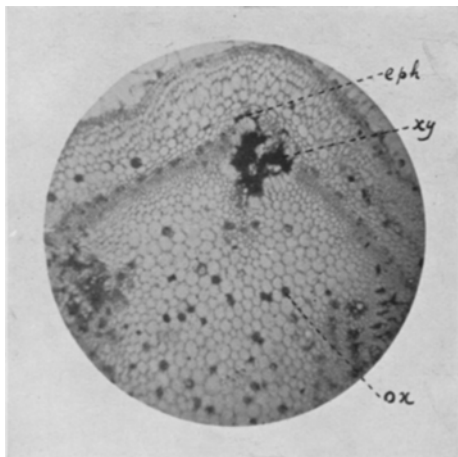


Fig. 8

Foto's: J. Boekhorst

PLAAT III

- Fig. 9. Dwarse doorsnede van een stengel (5e internodium vanaf de top), van een plant, die vanaf 19/5 tot 17/6 in watercultuur werd gekweekt zonder B. Ofschoon het cambium en het phloëem een normaal uiterlijk vertoonen (ook in het overige gedeelte van de stengel op deze hoogte), zijn afgestorven gedeelten te vinden in het schorsparenchym (sp), in de endodermis (en), in het xyleem (xy), in de subepidermis (sep) en in de epidermis (ep). Parenchymcellen gevuld met Ca-oxalaatkristallen zijn aanwezig (ox) (handcoupe 25 ×).
- Fig. 10. Dwarse doorsnede van een bloemsteel, afkomstig van een plant uit glaszandcultuur, waarvan het zand behandeld was met geconcentreerd HCl. Tengevolge van het boriumgebrek is het vaatbundelgedeelte sterk gedegenereerd. Groepen van cellen zijn aaneengekit, waardoor de cellen hieromheen sterk uitgerekt zijn in de richting van het afgestorven gebied. De wanden, die het meest zijn uitgerekt, staan straalsgewijs op de necrotische gedeelten. Vooral in het cambium (ca), in het extraxylaire phloëem (eph) en in het xyleem (xy) is de aantasting hevig. Eveneens zijn afgestorven gedeelten te vinden in het intraxylaire phloëem (iph), in de epidermis (ep), in de subepidermis (sep) en in het collenchym (col) (handcoupe 25 ×).
- Fig. 11. Overlangsche doorsnede door een vruchtbeginsel en de top van dezelfde bloemsteel als die van fig. 10. Zoowel in de top van de bloemsteel als in het vruchtbeginsel zijn het phloëem (ph) en het xyleem (xy) ten gevolge van boriumgebrek sterk aangetast. Afgestorven cellen vindt men zoowel in het parenchymatische weefsel van de bloemsteel (p_1), als in dat van het vruchtbeginsel (p_2) (handcoupe 25 ×).
- Fig. 12. Overlangsche doorsnede van een bladsteel aan de basis, afkomstig van het 4e blad vanaf de top van een plant, die van 19/5 tot 17/6 gekweekt werd in een boriumvrije oplossing. Het vaatbundelgedeelte is hier zeer sterk aangetast. Gedegenereerd phloëem treft men aan bij (ph) en bruingekeurd houtgedeelte bij (xy). In het pericambium zijn eveneens talrijke afgestorven cellen te vinden; (pe) is een pericambiumcel met bruingekeurde wand. Een groep aaneengekitte, necrotische cellen vindt men bij (e) (handcoupe 25 ×).
- Fig. 13. Dwarse doorsnede van dezelfde bladsteel als die van fig. 12. Necrotisch weefsel vindt men in het cambium (ca), in het phloëem (ph), en in het xyleem (xy). Bij (en) is een beginaantasting van een endodermiscel waar te nemen: een gedeelte van de wand is bruingekeurd; (ox) is een parenchymcel opgevuld met kristalgruis van Ca-oxalaat (handcoupe 25 ×).
- Fig. 14. Dwarse doorsnede van een bladspil, op de plaats waar een bladsteeltje uitkomt, afkomstig van een plant, die gekweekt werd in watercultuur van 19/5 tot 17/6. Aangetaste cellen vindt men in het cambium (ca), in het phloëem (ph) en in het xyleem (xy). Opvallend is, dat het vaatbundelgedeelte aan de voet van het steeltje, bij (d), veel sterker gedegenereerd is dan dat van de bladspil (handcoupe 25 ×).

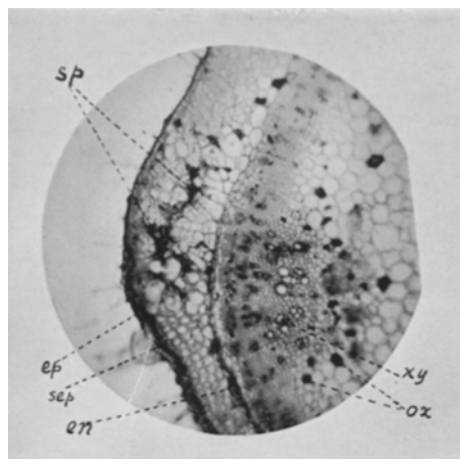


Fig. 9

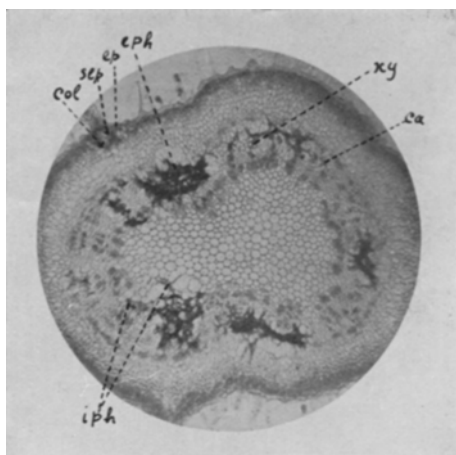


Fig. 10

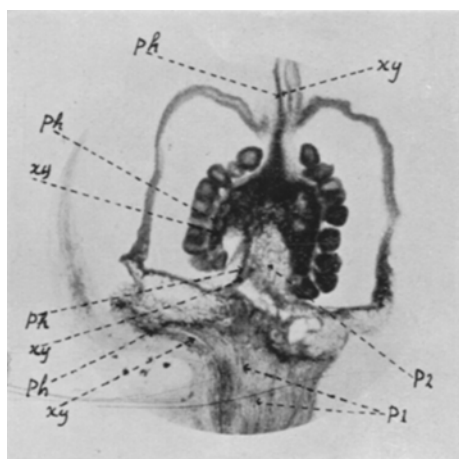


Fig. 11

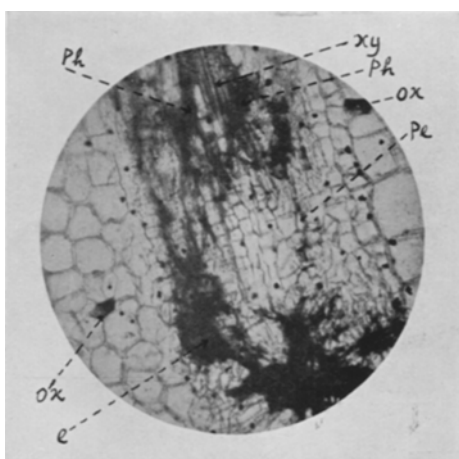


Fig. 12

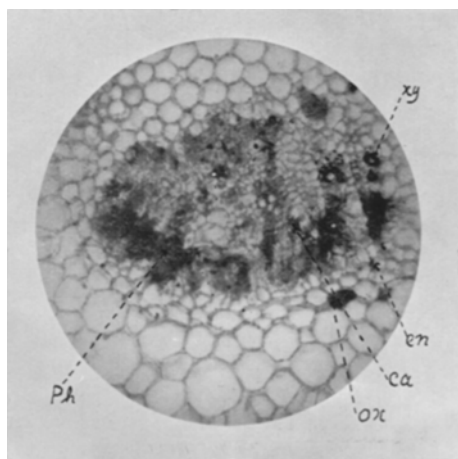


Fig. 13

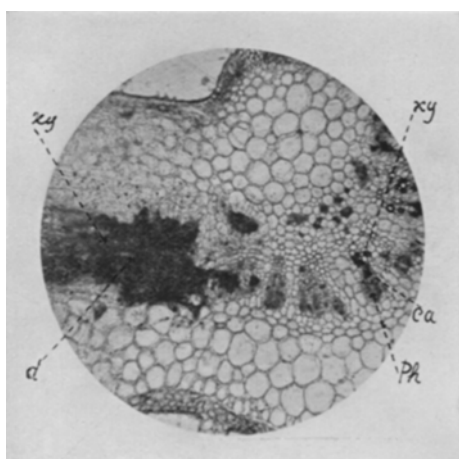


Fig. 14

8. SUMMARY

Symptoms of boron deficiency were displayed in tomato plants (var. AILSA CRAIG) grown in water culture and in glasssand culture. The technique was described in a previous paper, and in it the external and internal symptoms of boron deficiency in tobacco were dealt with (1934). The same kind of jam jars and solutions were used for the water cultures and the same kind of pots and manure were used for the sand cultures as was done previously with tobacco. Some pots were filled with sand treated with concentrated HCl, others with untreated sand. The sand came from the glass-factory „Leerdam”, Holland and was kept moist with distilled water. The pure salts used were obtained from the firm „Schering-Kahlbaum, A. G., Berlin”.

The same external symptoms of boron deficiency as those described by JOHNSTON and DORE (1928, 1929) were observed in plants grown in water culture.

It was possible to induce these symptoms of boron deficiency in plants that had been grown as seedlings in untreated glass-sand and even in rich leaf-mould. It was also possible to induce the symptoms in plants that had first grown for a considerable time in water culture with the addition of boric acid, and that were afterwards transferred to a solution without boron. Plants with distinct symptoms of boron deficiency became cured after the addition of boric acid.

In those cultures in which the sand was treated with concentrated HCl, the symptoms developed earlier and more severely than in those where untreated sand was used.

The plants showing boron deficiency in sand culture had upward-curved leaf margins, while those in water culture had, for the most part, leaves with margins curved downwards.

Possibly the cause of this phenomenon is a less regular distribution of water to the leaves of the plants in sand culture. The water content of the pots was not always constant, and the root systems of the plants were rather feeble; at the same time the xylem suffers from disintegration processes.

It may be that the accumulation of carbohydrates in the leaves had stimulated the curling upwards of the leaf margins. This, however, cannot afford a complete explanation, for in the plants grown in water culture also, translocation of carbohydrates was impeded.

The curling cannot be due to a disparity in the pH values of the different culture media, determined by the quinhydrone method, as this was rather small.

Healthy and diseased material was investigated microscopically. The internal symptoms and the course of the disintegrating process are described. This can be summarised as follows:

The first symptoms generally appear in the apical cells and in the procambium of the growing points of the roots, and afterwards in the procambium of the stems, the result being that the growing points are killed. As a result of the cessation of growth in these regions, secondary roots and axillary buds become stimulated to develop. This they do until the boron supply is locally exhausted and then degeneration symptoms also appear in them. Many of the young rootlets do not emerge through the cortex, or if they do, they remain very short.

With regard to the development of the symptoms of cell degeneration in the stem it may be stated that after the death of the growing point of

the stem, the axillary buds and the internal parts of the lateral shoots become diseased. Afterwards the tissue of the nodes is attacked (that of the highest first) and then that of the internodes.

The stelar structure, in particular, may be affected severely, although diseased and necrosed cells are also found in the other tissues.

The process generally begins with a brown discoloration of the cell wall, after which the cell contents die. The thin-walled cells, e.g. those of the cambium, phloem and ground parenchyma, are often deformed by extension and compression. Groups of cells may be involved and may become broken down to a dark brown mass. Numerous divisions may take place in the phloem, and this tissue may therefore be very much enlarged. The xylem, on the contrary, is usually poorly developed.

The internal degeneration symptoms also appear in the flower-stalk, if, indeed, one is formed, and they are to be found up to the flower buds and flowers. It is therefore clear that such buds and flowers cannot develop normally, and they die prematurely. In the leaf veins and petioles it is chiefly the phloem on the underside that is affected by the lack of boron. The cells of this tissue cannot elongate as fully as those of the upper side of the veins, and this explains the curving downwards of the veins and petioles.

The leaf tissue of the diseased plants may be thickened considerably, owing to the enlargement of the individual cells. Since the veins are practically constant in their position, the interveinal tissue, which in normal plants protrudes slightly upwards, has to curve still more in an upward direction.

The plastids in the chlorotic tissue have degenerated, but their number does not decrease. The symptoms of chlorosis may be explained by:

- a.* a decrease in size of the plastids, or;
- b.* by an increase of the cell contents.

As result of *a* and *b* the relative proportion of chlorophyll is diminished.

9. EXPLANATION OF PLATES

PLATE I

- Fig. 1. Tomato (var. AILSA CRAIG), grown first (from 27/4 to 19/5) in a solution containing 0,0005 g H_3BO_3 per litre and afterwards (till 10/6) in a solution without Boron, showing distinct symptoms of Boron deficiency. The new roots are short and thick, and many of them have dead tips (*a*). The growing point of the stem (*b*) is dead, as are also the upper axillary buds (*c*).

The downward curvature of the tips and margins of the leaves and leaflets is distinctly to be seen, especially in the uppermost leaves (*d*). Chlorosis is most marked in the lower parts of the leaves, and in those of the lowest leaflets of the leaf. In these regions the bulging upwards of the leaf-tissue between the veins is most distinct (*e*). (Reduced to 1/2,4).

- Fig. 2. A tomato plant, grown in glass-sand treated with concentrated HCl, without Boron, from May 24th till Juni 10th. The growing point of the main stem (*a*) and that of the upper lateral shoots (*b*) are dead; so also are the flowers (*f*). The plant is distinctly chlorotic. The leaf margins are curled upwards strongly, and in many cases have died, often starting from the leaf tip (*r*). The stem is bent, due to one-sided growth. (Reduced to 1/3,6).

PLATE II

- Fig. 3. A tomato plant, grown first (from 27/4 to 19/5) in water culture without Boron, and afterwards with 0.0005 g H_3BO_3 per litre, till 10/6, with the result that a healthy normal shoot (b) has developed. The old shoot (a) was not entirely dead. Numerous healthy roots have also developed. (Reduced to 1/2).
- Fig. 4. Inhibition of starch translocation in a leaf from a plant grown in water culture without Boron from 19/5 to 12/6, after placing in a dark room at 25° C., for 16 hours. Treated according to SACHS' method.
- Fig. 5. Longitudinal section of a fairly young root, with three young secondary rootlets (two on the right and one on the left), from a plant grown in water culture without Boron from 19/5 to 19/6. Affected cells are to be seen in the endodermis (en), in the cortex (sp), in the remains of the epidermis (ep_1) and in the exodermis (ex). In the upper secondary rootlet on the right, disintegrated cells are to be seen in the apical cells (in), in the procambium (pca) and in the epidermis (ep). (Microtome section, 10 μ , $\times$ 25.)
- Fig. 6. Longitudinal section of the stem-end of a tomato plant grown from 20/5 to 7/7 in a solution without Boron. Affected cells are to be found in the cambium (ca), in the wood (xy), in the phloem (ph), in the pith parenchyma (mp), in the cortical parenchyma (sp) and in the epidermis (ep). Many cells are filled with crystals of calcium oxalate (ox). (Hand section, $\times$ 25.)
- Fig. 7. Transverse section of the stem (third internode from the top) of a tomato plant grown in water culture, without Boron, from 19/5 to 19/6. The cambium (ca) has markedly degenerated and so has the external phloem, which is much enlarged and has necrotic regions (eph). Many wood-vessels with dark brown walls are to be seen (xy). The internal phloem (iph) is free from disease symptoms. A single cell with crystals is present (ox). (Hand section, $\times$ 200.)
- Fig. 8. Transverse section of the stem (second internode from the top) of a tomato plant grown in water culture without Boron, from 19/5 to 17/6. The xylem is severely affected locally (xy). Numerous cells have broken down and contracted into a dark brown mass, owing to which tensions have occurred in the adjacent parenchyma, many of the cells being stretched in the direction of the necrotic region. Many divisions have occurred at the same time in the neighbouring parenchyma. Necrotic parts are also to be seen in the external phloem (eph). Numerous cells (ox) with crystals of calcium oxalate are to be observed in the section. (Hand section, $\times$ 25.)

PLATE III

- Fig. 9. Transverse section of the stem (fifth internode from the top) of a tomato plant, grown in water culture, without Boron, from 19/5 to 17/6. Although the cambium and the phloem have a normal appearance in this and also in the other part of the stem at this level, dead parts are to be found in the cortical parenchyma (sp), in the endodermis (en), in the xylem (xy), in the subepidermis (sep) and in the epidermis (ep). Parenchyma cells filled with

- Ca-oxalate crystals are present (ox). (Hand section, $\times 25$.)
- Fig. 10. Transverse section of a flower stalk of a tomato plant, from a culture in glass-sand that was treated with concentrated HCl. As result of Boron deficiency the vascular tissue has markedly degenerated. Groups of cells have broken down, with the result that the neighbouring cells are much stretched in the direction of the necrotic region. The walls that are stretched most are situated radially on the necrotic parts. Especially in the cambium (ca), in the external phloem (eph) and in the xylem (xy) necrosis is severe. Dead parts are also to be found in the internal phloem (iph), in the epidermis (ep), in the sub-epidermis (sep), and in the collenchyma (col). (Hand section, $\times 25$.)
- Fig. 11. Longitudinal section of an ovary and the top of a flower stalk (the same as that of Plate 3, fig. 10). Both in the top of the flower-stalk, as well as in the ovary, the phloem (ph) and the xylem (xy) are severely necrosed as a result of Boron deficiency. Dead cells are also to be found in the parenchymatic tissue of the flower-stalk (p_1), as well as in that of the ovary (p_2). (Hand section, $\times 25$.)
- Fig. 12. Longitudinal section of the base of a petiole (the fourth leaf from the top) of a tomato plant grown in Boron-free solution, from 19/5 to 17/6. The vascular tissue is here very severely necrosed. Degenerated phloem is present at (ph) and brown, discoloured, xylem at (xy). In the pericycle numerous dead cells are also to be found; (pe) is a pericycle cell with a brown wall. A group of necrotic cells in the pericycle is to be seen at (e). (Hand section, $\times 25$.)
- Fig. 13. Transverse section of the same petiole as that in Plate 3, fig. 12. Necrotic tissue is to be seen in the cambium at (ca), in the phloem at (ph) and in the xylem at (xy). At (en) the beginning of degeneration in an endodermis cell is to be observed, part of the wall being coloured brown. A parenchyma cell filled with crystals of Ca-oxalate is seen at (ox). (Hand section, $\times 38$.)
- Fig. 14. Transverse section of a leaf-rachis at its junction with the petiole of a leaflet of a tomato plant grown in water culture from 19/5 to 17/6. Attacked cells are to be seen in the cambium (ca), in the phloem (ph), and in the xylem (xy). The vascular bundle at the base of the petiole at (d) has degenerated much more markedly than that of the rachis. (Hand section, $\times 25$.)

10. LITERATUUR

- CZAPEK, F. (1901), Der Kohlenhydratstoffwechsel der Laubblätter im Winter. Ber. d. Deutschen Botan. Ges., 19, p. 120-127.
- BENECKE, W. en L. JOST (1924), Pflanzenphysiologie, Bnd. 1.
- BRANDENBURG, E. (1932), Physiologische ziekten der bieten II. Hartroetoorzaak en bestrijding. Med. v. h. Inst. voor Suikerbietenteelt. Afl. 2, p. 43-75.
- ESMARCH, F. (1919), Zur Kenntnis des Stoffwechsels in Blattrollkranken Kartoffeln. Zeitsch. f. Pfl. Krankh. 29, p. 1-20.
- JOHNSTON, E. S. and DORE, W. H. (1928), The relation of Boron to the growth of the Tomato Plant. Science n.s. Vol. LXVII, p. 324.
- JOHNSTON, E. S. and DORE, W. H. (1929), The Influence of Boron on the Chemical Composition and Growth of the Tomato Plant. Plant Phys., Vol. 4, p. 31.
- JOHNSTON, E. S. and FISHER, P. L. (1930), The essential Nature of Boron to the Growth and Fruiting of the Tomato. Plant Physiol., Vol. V, 3, p. 387-392.
- KRÜGER, W. und WIMMER, G. (1927), Ernährungsverhältnisse, Anbau, Düngung und Krankheiten der Zuckerrübe. Mitteilungen der Anhaltischen Versuchsstation Bernburg.
- MC MURTREY, J. E. (1929), The effect of Boron Deficiency on the Growth of Tobacco Plants in aerated and unaerated Solutions. Journ. Agr. Res., Vol. 38, p. 371.
- NEGER, F. W. (1919), Die Blattrollkrankheit der Kartoffel. Zeitschr. f. Pfl. Krank. 29, p. 27-48.
- NOACK, K. (1922), Zeitschr. f. Bot. 14, p. 1.
- QUANJER, H. M. (1916), Aard, verspreidingswijze en bestrijding van Phloeemnecrose (bladrol) en verwante ziekten, o.a. Sereh. Med. v. d. Rijks Hoogere Land-, Tuin- en Boschbouwschool, Deel X, p. 1-162.
- QUANJER, H. M. (1919), Sur la fonction du tissu criblé. Med. Landbouwhoogeschool, Wageningen, 16, p. 95.
- SCHREVEN, D. A. VAN (1934), Uitwendige en inwendige symptomen van boriumgebrek bij Tabak (With a summary: External and Internal Symptoms of Boron Deficiency in Tobacco). Tijdschrift over Plantenz. Vol. XL, p. 98-128.
- SORAUER, P. (1921), Handb. d. Pflanzen Krankh., 4e Aufl., Bnd. 1.
- STRASZBURGER, NOLL, SCHENK, SCHIMPER's Lehrbuch der Botanik, Jena (1928).
- THUNG, T. H. (1928), Physiologisch onderzoek met betrekking tot het virus der bladrolziekte van de aardappelplant, Solanum Tuberosum L., Proefschr., Wageningen.
- VÖCHTING, H. (1887), Ueber die Bildung der Knollen. Bibliotheca Botanica, Cassel.
- WARINGTON, K. (1933), The influence of Length of Day on the Response of Plants to Boron. Ann. Bot., Vol. XLVII, No CLXXXVII, p. 430.
- WHITEHEAD, T. (1934), The physiology of Potato leaf-roll. I On the respiration of healthy and leaf-roll infected potatoes. The Ann. of Appl. Biol., Vol. XXI, No I, p. 48-73.