

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

42e Jaargang

6e aflevering

Juni 1936

WAT VEROORZAAKT KWADE HARTEN IN ERWTEN?

DÓOR

Dr MARIE P. LÖHNIS

Het onderzoek van Mej. DE BRUIJN, waarvan de resultaten in 1933 in dit Tijdschrift (2) zijn verschenen, heeft duidelijk gemaakt, dat het verschijnsel van „Kwade Harten” van erwten niet veroorzaakt wordt door een parasitaire aantasting, welke conclusie door een gelijktijdig onderzoek van LACEY (5) bevestigd is. Verder heeft zij kunnen vaststellen, dat de ziektefrequentie het grootst is onder de zwaarste erwten en dat ook in de dikste peulen de meeste aangetaste erwten te vinden zijn. Zij roert de vraag aan of hier van een gebrekziekte sprake zou kunnen zijn en merkt hierbij op: „Van alle gebrekziekten, van welk element dan ook, vindt men trouwens opgaven, dat de plant door het gebrek schade lijdt. Wanneer men hiermee vergelijkt het niet te onderschatten feit, dat kwade harten juist bij de zwaarste zaden voorkomen en dat ook de planten zelf, waaraan deze zaden zitten, zeer goed ontwikkeld kunnen zijn, dan ligt het niet voor de hand aan een gebrekziekte te denken. Van slechte ontwikkeling is geen sprake, integendeel juist groeibevorderende factoren schijnen in hooge mate aan het tot stand komen van de ziekte mede te werken. Dat het gebrek zich alleen zou doen gelden op het allerlaatste moment van rijping is mogelijk, doch niet waarschijnlijk.”

Mij komt het echter voor, dat de door Mej. DE BRUIJN vastgestelde feiten toch niet uitsluiten, dat gebrek aan een of ander element het ziekteverschijnsel zou kunnen veroorzaken. Hier zou natuurlijk geen sprake zijn van een absoluut ontbreken van een bepaalde stof, maar van een geval, waar door een grote productie van organische stof een van de onmisbare bouwstoffen in het minimum komt. Dit zou men dan juist bij de planten

met de grootste stofproductie kunnen verwachten. Is deze veronderstelling juist dan zou een analyse op bepaalde stoffen van zieke en gezonde erwten uit eenzelfde monster aanwijzing kunnen geven welke stof in het minimum was.

Het was mij nl. gebleken, dat het boriumgehalte in de droge stof van bladeren van biet, welke duidelijk hartrotverschijnselen vertoonden, meer dan 10 maal lager was dan dat van bladeren geoogst aan planten, die tengevolge van een boraxgift vrij waren van de ziekte (6). Bij vergelijking van het kaliumgehalte van luzernebladeren, welke de witte randvlekjes algemeen toegeschreven aan kaliumgebrek, vertoonden, bleken de zieke bladeren slechts 60% van het gehalte der gezonde te bereiken. Dit wijst er dus op, dat gebrekverschijnselen dikwijls samengaan met een laag gehalte aan de stof in het minimum in de aangetaste delen.

Ik heb dus getracht langs de weg van de chemische analyse het vraagstuk der Kwade Harten te benaderen.

In de winter van 1934-1935 had ik door de medewerking van Dr DOYER, Proefstation voor Zaadcontrole, de beschikking over een partij Schokkers die 50% kwade harten bevatte. De partij was afkomstig van een buitenpolder met zeer zware klei in Noord-Beveland en in 1931 geoogst. In 1935-1936 had ik daarnaast een monster Mansholt Plukerwt met 12% Kwade Harten afkomstig van den Heer B. DE VOS, Scheurpolder bij Hoek van Holland, door bemiddeling van den Hoofdcontroleur G. A. V. D. WAAL mij in het voorjaar van 1935 toegestuurd. Dr DOYER deelde mij mede, dat in de monsters van de oogst van 1935 zeer weinig Kwade harten voorkwam, zoodat ik mijn onderzoek niet over meer partijen kon uitstrekken.

De voorzorg werd genomen de erwten van eenzelfde partij eerst naar grootte te verdelen. Was dit achterwege gelaten, dan zou men bij het scheiden der zieke erwten van de gezonde, tevens grote van kleine erwten gescheiden hebben en zou de mogelijkheid openblijven, dat hierdoor een verschil in gehalte veroorzaakt was.

De Schokkers werden naar gewicht verdeeld in erwten van meer dan 400 mg en 300-400 mg. Zij werden een nacht in water te zwellen gezet, waarop de erwten gespleten werden en zieke van gezonde gescheiden. Het bleek duidelijk, dat in de zware erwten meer zieke voorkwamen; in cijfers heb ik dat echter niet vastgelegd. De 4 zo verkregen partijtjes werden gedroogd en meelfijn gemalen.

Met de Plukerwt in 1936 ging ik op gelijke wijze te werk. De eerste verdeling was in erwten van meer en van minder dan 300 mg. Daarnaast verdeelde ik nog een partij op het oog in

groot, middel en klein. In Tabel 1 is de grootte der partijtjes en de percentages zieke erwten in de verschillende gewichtsgroepen opgenomen. Het blijkt dus weer, dat bij de grootste erwten de hoogste percentages Kwade Harten voorkomen.

TABEL 1

VERDELING VAN DE AANGETASTE ERWTEN OVER ERWTEN
VAN VERSCHILLENDE GROOTTE BIJ MANSHOLT PLUKERWT

DISTRIBUTION OF AFFECTED SEEDS IN THE WEIGHT AND
SIZE GROUPS OF MANSHOLT PLUKERWT

Gewicht per erwt Weight of individual seeds	Gewicht per 100 erwten. Weight of 100 seeds	Totaal gewicht Total weight	% aangetaste zaden. % affected seeds
Meer (above) 300 mg	31,2 g	277 g	15,5
Minder (below)300 mg ...	26,7 g	162 g	9,5
Groot (large size)	31,7 g	349 g	14,8
Middel (medium size)	27,0 g	657 g	10,2
Klein (small size).....	26,8 g	136 g	9,3

Het eerste element, dat ik in mijn onderzoek betrok was het borium. Toen Mej. DE BRUIJN haar onderzoek publiceerde, stonden erwten nog als ongevoelig voor boriumgebrek te boek, voor zo ver dit uit het gedrag in een B vrije voedingsoplossing af te leiden was (WARINGTON 14, s' JACOB 4). In 1933 verscheen echter een artikel van WARINGTON (15), waarin zij deze zienswijze herriep en aangaf, dat bij een erwt (Sutton 's Harbinger) B gebrekverschijnselen in watercultuur op te wekken waren. Het was mijzelf ook reeds gelukt zeer duidelijk gebrekverschijnselen bij totale afwezigheid van borium in de voedingsoplossing bij 8 verschillende erwtenrassen op te wekken. Wel hadden deze gebrekverschijnselen geen overeenkomst met de Kwade Harten: zij traden veel vroeger in de ontwikkeling op en nog vóór de bloei verdorden de groeipunten. Daar bij alle onderzochte planten het steeds de jonge weefsels zijn, die gevoelig zijn voor boriumgebrek, deed het feit, dat de verschijnselen van Kwade Harten zich in pluimpje en in zaadlobben, dus in jonge weefsels, voordoen, mij aan een laat optredend boriumgebrek denken.

Voor de boriumbepalingen volgde ik de micromethode van BERTRAND en AGULHON (1). De bepalingen werden steeds in 3 g droge stof uitgevoerd en de uitkomsten zijn opgenomen in Tabel 2. Nooit werd een hoger gehalte bij gezonde erwten dan bij zieke

waargenomen, zoodat de uitkomsten de veronderstelling, dat borium in het minimum zou zijn, allerminst steunen.

TABEL 2

BORIUM GEHALTE IN 3 G DROOG GEWICHT
BORON CONTENT IN 3 G DRY WEIGHT

<i>Schokkers, 1931</i>			
Gewicht per erwt Weight of indiv. seeds	Gezondh. toestand State of health	B, in mg. B, in mg.	Gemidd. mean value
Boven (above) 400 mg:	gezond (sound)	0,01	0,01
		0,01	
	ziek (affected)	0,01	0,02
		0,03	
Onder (below) 400 mg:	gezond (sound)	0,01	0,01
		0,01	
	ziek (affected)	0,01	0,01
		0,01	
<i>Mansholt Plukerwt, 1934</i>			
Gewicht per erwt Weight of indiv. seeds	Gezondh. toestand State of health	B, in mg. B, in mg.	Gemidd. mean value
Boven (above) 300 mg:	gezond (sound)	0,01	0,01
		0,01	
	ziek (affected)	0,01	0,01
		0 01	
Onder (below) 300 mg:	gezond (sound)	0,007	0,007
		0,007	
	ziek (affected)	0,007	0,007
		0,007	

In 1935 verscheen het statistisch onderzoek van Ir Ovinge (8), waaruit blijkt, dat het verschijnsel van Kwade Harten zich voornamelijk in jonge zeepolders voordoet. Daar zeewater betrekkelijk rijk is aan borium (GOLDSCHMIDT 3) zullen deze gronden wel nergens arm aan borium zijn, zoodat ook deze gegevens een boriumgebrek zeer onwaarschijnlijk maken.

Het genoemde stuk van Ir Ovinge gaf echter aanwijzing tot het zoeken in andere richting. Hij vermeldt nl., dat in een kalktoestandsproefveld op sterk ontkalkte grond het percentage Kwade Harten stijgt bij toenemende pH. De gedachten worden dan in de richting van mangaangebrek getrokken. Het is toch bekend, dat de ziekteverschijnselen door mangaansulfaat te

genezen en door zeer velen als symptomen van mangaangebreek in de plant beschouwd bij alkalische reactie optreden. Door PIPER (11), STEENBJERG (12), en OLSEN (9) is aangetoond, dat de hoeveelheid opneembaar mangaan zeer sterk afneemt bij stijgende pH van de gronden. Door deze en door vroegere onderzoekers is de afhankelijkheid aangetoond van het mangaangehalte in de plant van de hoeveelheid opneembaar mangaan in de bodem en het samengaan van het optreden van ziekteverschijnselen met zeer lage gehalten in de aangetaste planten.

Er was dus aanleiding de gehalten aan mangaan van zieke en gezonde erwten te vergelijken. Ik maakte hiertoe gebruik van de micromethode van MARSHALL (7) en de nadere aanwijzingen van STEENBJERG (12)¹⁾. Deze colorimetrische methode is gevoelig voor onderscheiden van 0,005 mg. De bepalingen werden op 2 g droge stof uitgevoerd en de uitkomsten opgenomen in Tabel 3.

TABEL 3

MANGAAN GEHALTE IN 2 G DROOG GEWICHT
MANGANESE CONTENT IN 2 G DRY WEIGHT

<i>Schokker, 1931</i>			
Gewicht per erwt Weight of indiv. seeds	Gezondh. toestand State of health	Mn in mg. Mn in mg.	gemidd. mean value
Boven (above) 400 mg:	gezond (sound)	0,01	0 ,01
	ziek (affected)	0,01	
		0,0075	0,0075
Onder (below) 400 mg:	gezond (sound)	0,01	0,01
	ziek (affected)	0,01	
		—	—

¹⁾ Een monster van 2 g droog gewicht wordt in een Kjeldahl kolf gebracht, 7 cc. overchlorzuur (25%) en 8 cc. H_2SO_4 toegevoegd en de kolf eerst zwak, later sterker verhit. Na 4 uur wordt weer 3 cc. overchlorzuur toegevoegd en verhit tot vloeistof kleurloos is. Na toevoeging van 15 cc. ged. water wordt de oplossing geneutraliseerd met 16n. NaOH en daarna 1,25 cc. H_2SO_4 in overmaat toegevoegd. De oplossing wordt gefiltreerd, waarbij het filter met warm water gewassen wordt, in een 100 cc. maatkolf opgevangen en 1 cc. 6n HNO_3 en 2 cc. 0,1n AgNO_3 toegevoegd. Na toevoeging van enig ammoniumpersulfaat wordt de oplossing voorzichtig verhit (niet koken), totdat rose kleur optreedt. Na afkoeling wordt de maatkolf tot streep aangevuld en de inhoud in een colorimeterglas overgebracht. De plaats in de colorimeterschaal wordt gezocht.

Voor de colorimeterschaal worden 0 – 0,5 – 1,5 – – – 6 cc. kaliumpermanganaatoplossing, welke 10 mg. mangaan per l bevat, in maatkolven van 100 cc. gebracht en na aanvulling wordt de inhoud in colorimeterglazen overgebracht.

Mansholt Plukerwt, 1934

Gewicht per erwt Weight of indiv. seeds	Gezondh. toestand State of health	Mn in mg. Mn in mg.	gemidd. mean value
Boven (above) 300 mg:	gezond (sound)	0,01 0,015	0,0125
	ziek (affected)	0,0075 0,0075	0,0075
Onder (below) 300 mg:	gezond (sound)	0,01 0,015	0,0125
	ziek (affected)	0,0075 0,0075	0,0075
Groot (large):	gezond (sound)	0,0075 0,01 0,015	0,0108
	ziek (affected)	0,0075 0,0075	0,0075
Middel (medium):	gezond (sound)	0,01 0,0125	0,0112
	ziek (affected)	0,0075 0,0075	0,0075
Klein (small):	gezond (sound)	0,01 0,015	0,0125
	ziek (affected)	0,01 0,01	0,01

Wanneer men deze cijfers bezie, vindt men voor alle gezonde monsters een hoger gemiddelde dan voor zieke. Het monster zieke Schokkers meer dan 400 g is in het ongerede geraakt.

Terwijl dus voor borium geen verschil in gehalten te bespeuren was, treedt bij mangaan steeds een verschil in gelijke richting op, nl. een hoger gehalte bij gezonde dan bij zieke erwten.

Ik beschouw het resultaat van dit chemisch onderzoek als een aanwijzing om in de richting van mangaangebrek te blijven zoeken — echter nog geenszins als bewijzend daarvoor. Voor een werkelijk bewijs zou een groter aantal monsters onderzocht moeten worden, liefst ook in grotere doses en daarnaast zouden daarmee overeenstemmende resultaten van veldproeven en van cultuurproeven niet gemist kunnen worden.

Na afsluiting van dit onderzoek kreeg ik inzage van een toen nog ongepubliceerd artikel van Dr PETHYBRIDGE (10). Deze heeft op terrein, waar Kwade Harten zéér frequent is, op kleine schaal een proef genomen met toediening van mangaansulfaat.

Hoewel de behandeling nergens Kwade Harten geheel heeft kunnen voorkomen, was het percentage aangetaste erwten op alle behandelde percelen aanzienlijk minder dan op de onbehandelde. Hij beschouwt zijn resultaten niet als bewijzend, maar wel als een aanwijzing om de gedachten gericht te houden op mangaangebrek als mogelijke oorzaak van de ziekte.

Ik dank Professor Ir J. HUDIG voor de mij geboden gelegenheid de chemische bepalingen in het Laboratorium voor Landbouwscheikunde uit te voeren.

Wageningen, Maart 1936.

SUMMARY

WHAT IS THE CAUSE OF MARSH SPOT OF PEAS?

The investigations of DE BRUIJN (2) and LACEY (5) have furnished proof that Marsh Spot of pea seeds is not caused by a pathogenic organism. The actual cause of the disease, however, is still unknown. Miss DE BRUIJN has noted that the greatest number of diseased peas was to be found among the heaviest seeds, and among the seeds from the largest pods. She mentions that the defective seeds are produced by fully developed healthy plants.

These latter facts would appear to suggest that some deficiency occurring in the affected seeds might be the cause of Marsh Spot. It can be conceived that, as a result of the building up of a large amount of organic matter, some element might be present in the plant in only minimum amount, and thus deficiency symptoms might appear. By comparing the amounts of some indispensable element present in sound and diseased seeds from one and the same lot, taking the difference in size of the peas into account, the deficient element might be detected.

In the winter of 1934-1935 one lot of Schokkers containing 50% of affected seeds was available for this purpose. The seeds were graded into two lots, viz. (a) those weighing less and (b) those weighing more than 400 mg each, soaked in water and split. Healthy seeds were separated from affected ones and those in each category dried and ground separately. In 1935-1936 one further lot (Mansholt Plukerwt, harvested in 1934, and containing 12% of affected seeds) was available. The seeds of one portion of it were separated by weight into two lots, the individual seeds of which weighed above and below 300 mg respectively. Those of another portion of it were graded by eye into lots of large, medium and small seeds. The distribution of affected seeds in the weight and size groups thus obtained is given in Table 1.

Since, from information supplied by Dr DOYER of the Official Seed Testing Station, hardly any Marsh Spot had been detected in samples of peas harvested in 1935 no further lots for investigation were available.

In view of the fact that Marsh Spot lesions occur in young tissue (the cotyledons and the plumule), and as it is well known that symptoms of boron deficiency in all plants studied up to the present occur in meristematic tissue, boron was the element to which attention was first devoted.

The micro-method of BERTRAND and AGULHON (1) for the estimation

of boron was employed, and the dry weight of each sample analysed was 3 g.

The results are shown in Table 2. In no case is the boron content of affected peas lower than that of sound ones. Thus, the figures do not in the least support the idea that boron might be the deficient element.

While this investigation was going on OVIÑE (8) published a paper on the occurrence of Marsh Spot in the islands of the southern part of Holland. From statistical data he concludes that the disease is more prevalent in polders more recently reclaimed from the sea than in older ones. As sea-water has a relatively high boron content (GOLDSCHMIDT, 3) boron deficiency on these soils is hardly to be expected.

Whilst this result supports my findings as far as boron is considered, it points, however, to another element which might be deficient. OVIÑE noted in a field experiment carried out on heavy acid soil, where the plots had been dressed with varying amounts of lime, that defective seeds were more numerous on the more alkaline plots. As the availability of manganese decreases with increasing pH (PIPER 11 STEENBJERG 12, OLSEN 9) this might point to a deficiency of manganese in the soil as being responsible for Marsh Spot.

The manganese content was estimated in samples from the same lots of seed as those from which the samples for the estimation of boron had been taken. MARSHALL's (7) methode amended by STEENBJERG (12) was followed which is sensitive for differences of the order of 0,005 mg. Samples of 2 g dry weight were analysed and the results are given in Table 3.

The mean values obtained for all samples show a higher manganese-content in sound peas than in affected ones.

This is considered to be evidence in favour of the supposition that manganese deficiency is the cause of Marsh Spot, although it is regarded as by no means definite proof of it. Determination of the manganese content of further lots is needed, and the results of chemical analysis need to be substantiated by evidence derived from field trials and „water cultures”.

After this investigation had been brought to a close I had the opportunity of reading an as then unpublished paper of Dr. PETHYBRIDGE. The results of a field trial where manganese of sulphate had been applied on various plots substantiate the supposition that Marsh Spot is caused by a manganese deficiency.

I am indebted to Dr PETHYBRIDGE for the kindness of correcting the English summary.

LITERATUUR

1. BERTRAND, G. en AGULHON, H. 1914. Sur une méthode permettant le dosage de quantités extrêmement petites de bore dans les matières organiques. Bull. Soc. Chim., 15.
2. DE BRUIJN, H. L. G. 1933. Kwade harten van de erwten. Tijdschr. over Plantenziekten, 39.
3. GOLDSCHMIDT, T. M. en PETERS, CL. 1932. Zur Geochemie des Bors. Nachr. Ges. Wiss., Göttingen, Math. Phys. Kl., 1932.
4. s' JACOB, J. C. 1927. Anorganische beschadigingen bij *Pisum sativum* L. en *Phaseolis vulgaris* L., Diss. Utrecht.

5. LACEY, M. S. 1934. Studies in bacteriosis. An investigation of marsh spot of peas. *Ann. Applied Biology*, 21.
6. LÖHNIS, M. P. 1936. Boriumbehoefte en boriumgehalte van Cultuurplanten. *Chem. Weekblad*, 33.
7. MARSHALL, H. 1901. The detection and estimation of minute quantities of manganese. *Chem. News*, 83. *Abstr. Journ. Chem. Soc.*, 79.
8. OVINGE, A. 1935. Het optreden van Kwade Harten in Schokkers in Zeeland. *Landbouwk. Tijdschrift*, 47.
9. OLSEN, G. 1934. Über die Manganaufnahme der Pflanzen. *Bioch. Zeitschr.*, 269.
10. PETHYBRIDGE, G. H. 1936. Marsh Spot in pea seeds: Is it a deficiency disease? *Journ. Min. Agric. and Fisheries*, 43.
11. PIPER, C. S. 1931. The availability of manganese in the soil. *Journ. of Agric. Science*, 21.
12. STEENBJERG, F. 1934. Undersøgelser over manganindholdet i dansk Jord I. Det ombyttelige Mangan. *Tidskr. for Planteavl.*, 39.
13. ———. 1935. II. Det ombyttelige Mangan og dets Afhaengighed of Gødskning og Jordbehandling. *Tidskr. for Planteavl.*, 40.
14. WARINGTON, K. 1926. The change induced in the anatomical structure of *Vicia faba* by the absence of boron from the nutrient solution. *Ann. of Botany*, 40.
15. ———. 1933. The influence of the length of day on the response of plants to boron. *Ann. of Botany*, 47.

RESULTAAT VAN EEN PROEF INZAKE KWADE HARTEN BIJ ERWTEN IN ENGELAND

DOOR

N. VAN POETEREN

In verband met bovenstaande mededeelingen is het wel van belang te wijzen op een zoo juist verschenen korte publicatie van Dr G. H. PETHYBRIDGE, Harpenden in het *Journal of the Ministry of Agriculture*, April 1936, getiteld: Marsh spot in pea seeds is it a deficiency disease, waarin hij het resultaat mededeelt van een zeer eenvoudige proefneming, dat ook een vrij duidelijke aanwijzing bevat, dat toediening van mangaan het optreden van kwade harten (= marsh spot) in erwten vermindert.

De proef werd genomen op een perceel, dat niet dicht bij de zee gelegen was en niet tot polderland gerekend kon worden. Het lag op een helling en aan de andere zijde van het pad, waarlangs de erwten groeiden, stond haver, die blijkbaar aan mangaangebrek leed (Veenkoloniale haverziekte). Daar de erwten zich niet gunstig ontwikkelden, werd de mogelijkheid verondersteld, dat zij ook aan mangaangebrek leden en daarom werden twee groepen van rijen erwtenplanten, elk 40 yards lang, op twee verschillende plaatsen voor een proef bestemd.