

NEDERLANDSCHE PLANTENZIEKTENKUNDIGE (PHYTOPATHOLOGISCHE)
VEREENIGING

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

ONDER REDACTIE VAN

IR N. VAN POETEREN, PROF. DR W. K. J. ROEPKE
EN PROF. DR JOHA WESTERDIJK

49e Jaargang

4e aflevering

Juli-Augustus 1943

NATROT BIJ TABAK (NICOTIANA TABACUM)

(*Voorlopige mededeling over een nog niet eerder beschreven bacterieziekte der Tabak*)

DOOR

Ir. J. TEMME

In de loop van Juli 1942 ontving de Plantenziektenkundige Dienst te Wageningen uit de praktijk enige tabaksbladeren met rotte, bruine vochtige gedeelten van hoofd- en zijnerf (Pl. X, fig. 1). Daar het beeld deed denken aan een bacterie-aantasting, terwijl in de desbetreffende literatuur (1) een er op gelijkende aantasting niet beschreven is, werd door den Heer T. A. C. SCHOEVERS aan ons Laboratorium het verzoek gericht, het zieke materiaal eens op plantenpathogene bacteriën te onderzoeken.

Hiertoe werden van de aangetaste nerfgedeelten kleine hoeveelheden op de gebruikelijke wijze (oppervlakkige alcoholsterilisatie gevolgd door $2 \times$ afspoelen in steriel water) uitgestreken op gistwater-glucose-agar-platen. Na enkele mislukkingen viel de aandacht op kleine, platte, grijswitte kolonies met gekartelde rand, aanvankelijk helder doorzichtig en blauw opaliserend bij doervallend licht, later witter en ondoorzichtiger wordend; de habitus van deze kolonies herinnert sterk aan die van de kolonies van de plantenpathogenen *Erwinia phytophthora* (zwartbenigheid van de aardappel) en *Erwinia carotovora* (natrot van *Daucus carota* e.a.).

Van deze kolonies (de bacterie wordt verder „*stam I*” genoemd) werd een rein-cultuur gemaakt; met deze en nog enkele andere „verdachte” stammen werden in de eerste week van Augustus '42 kunstmatige infecties verricht bij gezonde tabaksplanten op de terreinen van den Plantenziektenkundigen Dienst. De inoculaties werden uitgevoerd bij vochtige, warme weersgesteldheid.

De uitgezochte bacteriestammen werden hiertoe, elk afzonderlijk, gesuspenderd in steriel water, waarna de suspensies met een capillair uitgetrokken glazen buisje gebracht werden: 1. in den hoofdstengel; 2. in de hoofdnerf van het blad.

Verder werden de bacteriesuspensies nog gebracht op het bladmoes, met en zonder beschadiging van het weefsel.

Na 3 dagen gaf alleen de inoculatie in de hoofdnerf van het blad een positief resultaat en wel in de gevallen, waarin „*stam I*” gebezigd werd (zie Pl. XI, fig. 2).

Uit de rotte plek van de hoofdnerf van een kunstmatig met „*stam I*” geïnfecteerd blad bleek de ziekteverwekkende bacterie, na uitzaaïng, weer te voorschijn

te komen. Door verschillende opnieuw uitgevoerde inoculaties met stam I (nu op planten in de Laboratoriumkas), die steeds een positief resultaat hadden, werd duidelijk aangetoond, dat de bacterie „stam I” voor het ziektebeeld in het uitgangsmateriaal verantwoordelijk gesteld moet worden. Tevens bleek, dat de aantasting, bij bewaring van het geïnfecteerde blad op vochtig filtreerpapier, verder voortschrijdt langs hoofd- en zijnerfven, terwijl uiteindelijk het gehele blad te gronde gaat (zie Pl. XI, fig. 1). Aan de plant uit de aantasting zich natuurlijk anders, doordat het blad ter plaatse van het verrotte nerfgedeelte omknakt; het gevolg is dat het blad verdroogt.

Determinatie „stam I”

De plantenpathogene bacteriën worden volgens Bergey's Manual (2) ingedeeld in 2 geslachten, nl.:

- I. *Phytomonas*, staafbacteriën. onbeweeglijk of zich voortbewegend met 1 of meer *polaire* ciliën.
- II. *Erwinia*, staafbacteriën, zich voortbewegend met verscheidene *peritriche* ciliën.

Uit de cilienkleuring bleek dat „stam I” behoort tot het geslacht *Erwinia* (Pl. XI, fig. 3). De verdere determinatiekenmerken waren:

1. *vorm bacterie*: lengte $1-4\frac{1}{2}\mu$, breedte $\frac{1}{2}-1\mu$; bacterie na 24-30 uur kweken op gistagarglucose staaf, spoel- tot torpedovormig, dikwijls met gepunte uiteinden (Pl. XI, fig. 4).
2. *bewegelijkheid*: eigen beweging door middel van peritriche ciliën,
3. *Gramkleuring*: negatief.
4. *steekcultuur*: gelatine wordt vervloeid.
5. *groei op glucose-gist-agar*: vrij droge, vlakke kolonies met gekartelden rand, aanvankelijk doorzichtig met moirée-structuur en blauwig opaliserend bij doorvallend licht, later wit-geel en ondoorzichtig wordend. Nog later rand der kolonie vuilgeel gekleurd.
6. *peptonwater*: geen indolvorming.
7. *cellulose-aantasting*: niet.
8. *zetmeelaantasting*: niet.
9. *pectine-aantasting*: zeer sterk.
10. *ondermelk*: na 14 dagen nog geen verandering in melk opgetreden.
11. *lakmoesmelk*: langzaam roodgekleurd, na 14 dagen geen caseïnestremming, langzame reductie van de lakmoes.
12. *cultuurvloeistof vlg. Voges-Proskauer*: methylroodproef: zwak positief; geen acetyl-methyl-carbinol gevormd.
13. *nitraatreductie*: NO_2 gevormd, geen gasontwikkeling.
14. *groei op rauwe aardappel*: glanzend, vuil geelwit beslag, aardappel wordt geheel papperig (oplossing pectine der middenlamellen).
15. *aantasting verschillende suikers e.a. C-bronnen (in peptonwater)*:

TABEL 1.

C-bron	zuurvorming	gasvorming
glucose	ja	niet
laevulose	ja	niet
galactose	ja	niet
saccharose	ja	niet
maltose	ja	niet
lactose	ja	niet
raffinose	niet	niet
arabinose	ja	niet
xylose	ja	niet
manniet	ja	niet
glycerol	niet	niet

De bacterie „stam I” behoort dus tot die *Erwinia*e, die uit suikers geen gas vormen. Dit in tegenstelling met de *Erw. phytophthora* en *Erw. carotovora* (2: blz. 404).

Gebruik makend van het gevondene komen we na determinatie terecht bij: „bacteriën, die zuur zonder gas vormen uit glucose en saccharose, beweegelijk zijn met peritriche ciliën, geen kleurstoffen afscheiden in den agar-voedingsbodem: *Erwinia aroideae*”.

Wanneer we echter de beschrijving van *E. aroideae* (zie 2: blz. 412) vergelijken met die van *E. „stam I”* (zie voren), dan vallen enkele verschillen op, nl.:

TABEL 2.

	<i>E. aroideae</i>	<i>E. „stam I”</i>
<i>vorm staafjes lakmoesmelk</i>	afgeronde uiteinden <i>gecoaguleerd</i> ; lakmoes gereduceerd	opvallend gepunte uiteinden <i>geen coagulatie</i> ; lakmoes zeer langzaam gereduceerd
<i>reactie in suiker-oplossing</i>	zuurvorming uit <i>manniet</i> en <i>glycerol</i>	geen zuurvorming uit <i>manniet</i> en <i>glycerol</i>

Nu lijkt de door *E. aroideae* veroorzaakte rotting in bol, stengel en bladstelen van *Zantedeschia aethiopica* (Calla) veel op die, veroorzaakt door *E. „stam I”* bij tabak, terwijl de bacterie zich eveneens ophoudt in de intercellulairen en daar de pectine uit de middenlamellen afbreekt, waardoor de cellen hun verband verliezen. Met het oog op de morphologische en physiologische verschillen der beide bacteriën meen ik te moeten besluiten, dat het bij *E. „stam I”* om een nieuwe *Erwinia* species gaat, die alhoewel *waarschijnlijk nauw verwant met E. aroideae*, toch een afzonderlijke plaats in de reeks der pectinase-bezittende *Erwinia*e inneemt. Aangezien het in de gebezigde systematiek gebruikelijk is, de *Erwinia*e te benoemen naar de hospesplant, waarop zij het eerst gevonden worden, stel ik voor „stam I” te noemen: *Erwinia nicotianae* n. sp.

Het door deze bacterie veroorzaakte ziektebeeld kan dan genoemd worden: „natrot van de tabak”.

Bij WOLF (3) is sprake van een andere bacterie-ziekte in de tabak, genaamd „hollow stalk and black leg”; hierbij gaat de geheele plant te gronde door een natte rotting, die veroorzaakt wordt door *Erw. aroideae*. De beschrijving van de ziekteverwekkende bacterie is niet voldoende om er een duidelijk beeld van te krijgen. Het is bijv. vreemd, dat de caseïne van melk gepeptoniseerd zou worden onder gasontwikkeling, terwijl in pepton-lactose zuur zonder gas wordt gevormd. Het ziektebeeld is door WOLF wel duidelijk beschreven en lijkt veel op dat van een „verwelkingsziekte”, die in Leeuwen (Land van Maas en Waal) gevonden werd in een aanplant van *Nicotiana rustica* (Pl. X, fig. 2). De zieke planten hadden grote, grijsbruine vlekken op de stengel en op de bladstelen, welke op die plekken omknakten. De stengel was van binnen in een slijmige, onaangenaam riekende massa overgegaan. Tenslotte gingen de planten, nadat de bladeren eerst geel geworden en daarna verdord waren, geheel te gronde. Of deze verwelkingsziekte dezelfde is als de door WOLF beschreven „hollow stalk and black leg” en of het natrot der tabak (*Erw. nicotianae*) met deze ziekte en met de te Leeuwen waargenomen aantasting samenhangt, hopen we het komend seizoen uit te maken.

Bij onderlinge vergelijking van verschillende *Erwinia* species bevredigde ons de indeeling volgens BERGEY niet. De verschillende *Erwiniae* blijken morphologisch en fysiologisch zeer nauw verwant te zijn, terwijl enkele eigenschappen (reactie in lakmoesmelk, gasvorming uit suikers e.d.) labiel en variabel zijn, vooral nadat de bacteriën gedurende eenigen tijd op vaste voedingsbodems bewaard waren. In hoeverre de indeeling echter vereenvoudigd kan worden moet blijken uit een uitgebreid vergelijkend fysiologisch onderzoek der verschillende species. Hierop hopen we nader terug te komen.

SAMENVATTING

Beschreven worden een, in ons land bij tabaksbladeren voor 't eerst waargenomen, ziektebeeld en de onderzoekingen die leidden tot de determinatie van de onbekende bacterieele verwekker ervan. Deze blijkt verwant te zijn met *Erwinia aroideae*, die een natrot veroorzaakt in bol, stengel en bladstelen van *Zantedeschia aethiopica* (Calla), e.a. Er zijn echter voldoende termen aanwezig om de nieuwe bacterie als een afzonderlijke species te beschouwen. De naam *Erwinia nicotianae* wordt gegeven. Het door deze bacterie veroorzaakte ziektebeeld wordt „natrot der tabak” genoemd. Of gehele planten door de werking van *Erw. nicotianae* te gronde kunnen gaan, kon nog niet met zekerheid worden uitgemaakt. In een volgende mededeling zal hierover misschien iets naders gezegd kunnen worden.

LITERATUUR

1. ELLIOTT, CH., Manual of bacterial plant pathogens, 1930.
2. BERGEY's Manual of determinative bacteriology, 5th ed. 1939.
3. WOLF, FR., Tobacco diseases and decays, 1935.

Laboratorium voor Microbiologie, Wageningen.



Fig. 1. Tabaksblad met door *Erwinia nicotianae* aangetaste nervatuur.

Fig. 2. Plant van *Nicotiana rustica* uit Leeuwen; ziektebeeld gelijkend op dat, beschreven door Wolf voor „hollow stalk and black leg”.

PLAAT XI



Fig. 1.

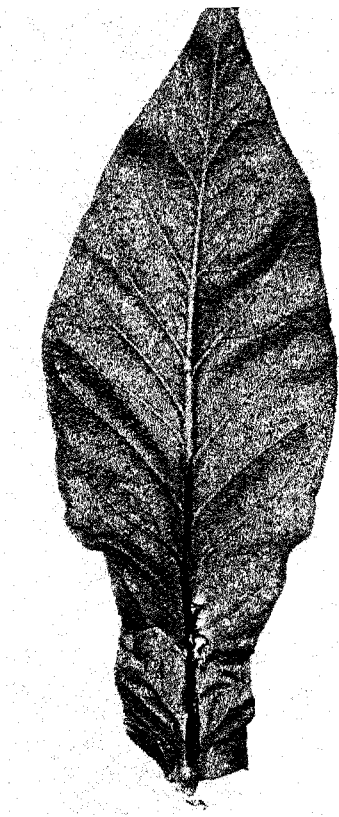


Fig. 2. Tabaksblad; hoofdnerf geïn-
culeerd met *Erwinia nicotianae*.

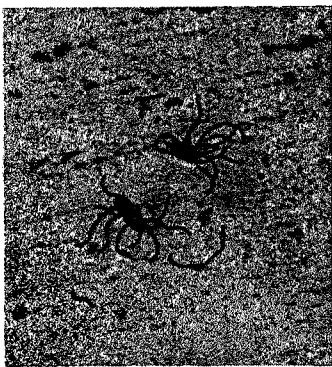


Fig. 3. Ciliën kleuring *Erwinia*
nicotianae meth. Conn. en Wolf
vergr. 1500 $\times$

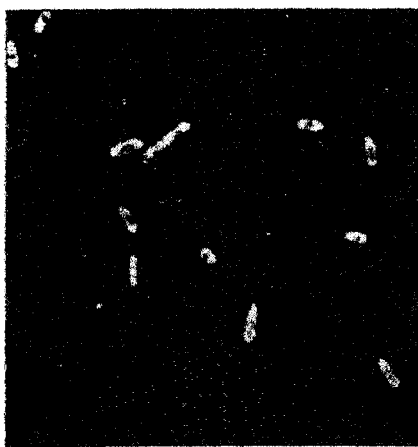


Fig. 4. Oost-indische inktpreparaat van
Erwinia nicotianae (let op de gepunte
uiteinden der cellen vergr. 1500 $\times$)