

UIT DE LITERATUUR

ONDERZOEK OVER GRONDBACTERIËN EN WORTELROT VAN AARDBEIEIN IN CANADA

Wegens het grote belang voor de teelt van aardbeien, wordt hier een kort referaat gegeven van recente Canadese onderzoekingen op microbiologisch en phytopathologisch gebied, die met deze cultuur verband houden. Dit werk getuigt bovendien van de grote betekenis van „teamwork”.

LOCKHEAD, A. G. and TAYLOR, C. B. Qualitative studies of soil microorganisms I, General Introduction. Can. J. Res. C., 16: 152-161, 1938.

TAYLOR, C. B. and LOCKHEAD, A. G. Qualitative studies of soil microorganisms II. A survey of the bacterial flora in soils differing in fertility. Can. J. Res. C., 16: 162-173, 1938.

LOCKHEAD, A. G., Qualitative studies of soil microorganisms III, Influence of plant growth on the character of the bacterial flora. Can. J. Res. C., 18: 42-53, 1940.

WEST, P. M. and LOCKHEAD, A. G. Qualitative studies of soil microorganisms IV. The rhizosphere in relation to the nutritive requirements of soil bacteria. Can. J. Res. C., 18: 129-135, 1940.

LOCKHEAD, A. G. and CHASE, F. E. Qualitative studies of soil microorganisms V. Nutritional requirements of the predominant bacterial flora. Soil Science, Vol. 55: 185-195, 1943.

WEST, P. M. and LOCKHEAD, A. G. The nutritional requirements of soil bacteria. - A basis for determining the bacterial equilibrium of soils. Soil Science, Vol. 50, 409-420, 1940.

KATZNELSON, U. and CHASE, F. E. Qualitative studies of soil microorganisms VI. Influence of season and treatment on incidence of nutritional groups of bacteria. Soil Science, Vol. 58: 473-479, 1944.

Bovengenoemde schrijvers trachtten verband te leggen tussen de microflora van de grond en *a*: de gewassen, *b*: de verschillen in vruchtbaarheid van de grond en *c*: bepaalde ziekten.

In de grond van een bepaald type bestaat evenwicht tussen de verschillende groepen van autochthone bodembacteriën. Elke verandering in de grond tengevolge van jaargetijde, plantengroei, bemesting, kan dit evenwicht verschuiven. In hoeverre het nieuwe evenwicht kan blijven bestaan, hangt af van de kwantitatieve en kwalitatieve intensiteit van de verandering in de uitwendige omstandigheden en de duur van de inwerking, want het is duidelijk, dat de bodemeigenschappen, die het resultaat zijn van eeuwenlange adaptatie, niet aanmerkelijk gewijzigd zullen worden door een oppervlakkige uitwendige invloed, die gedurende korten tijd inwerkt.

Bemesting bleek het evenwicht tussen de verschillende bacteriegroepen in de grond slechts weinig te beïnvloeden, doch wel het totale aantal bacteriën.

Dit betrekkelijk stabiele evenwicht vindt men zowel bij de indeling van de bacteriën volgens hun morfologie, als bij indeling volgens biochemische activiteit of volgens hun voedselisen.

De groeiende plant kan het evenwicht tussen de verschillende groepen van bodembacteriën echter sterk beïnvloeden. Niet alleen de morfologische en fysiologische typen worden hierdoor beïnvloed, meer nog de groepen met verschillende voedselisen.

De voedselseisen van de uit de grond geïsoleerde bacteriën werden uitvoerig bestudeerd. Hiertoe werd o.a. gekweekt op:

1. Basismedium met minerale zouten en glucose.
2. Hetzelfde basismedium en enkele aminozuren.
3. Het basismedium en cysteine en groeistoffen.

Op grond van deze studie werd door WEST en LOCKHEAD de volgende indeling gemaakt:

- A. Bacteriën, die in het basismedium groeien.
 - groep 1. Grampositieve en Gramvariabele bacteriën.
 - groep 2. Gramnegatieve, fluorescerende bacteriën.
 - groep 3. Andere Gramnegatieve bacteriën.
- B. Bacteriën, die cysteine nodig hebben.
 - groep 4. Enige groei in het basismedium.
 - groep 5. Geen groei in het basismedium.
- C. Bacteriën, die een mengsel van aminozuren nodig hebben.
 - groep 6. Enige groei in het basismedium.
 - groep 7. Geen groei in het basismedium.
- D. Bacteriën, die groeistoffen nodig hebben.
 - groep 8. Enige groei in het basismedium.
 - groep 9. Geen groei in het basismedium.
- E. groep 10. Een heterogene groep van bacteriën, die niet in één van de drie genoemde voedingsmedia groeien, doch grond- of gistextract nodig hebben voor hun groei.

Deze verschillende groepen zijn met elkaar in evenwicht. Het hangt van de beschikbare voedingsbestanddelen af welke groep het meeste op de voorgrond treedt.

LOCKHEAD trachtte verschillen te vinden tussen de microflora van de rhizosfeer (d.i. de zone beïnvloed door wortel-excreties) en die van de overige grond. Er bleek in de rhizosfeer van alle onderzochte gewassen (rode klaver, mangelwortel, haver, maïs, tabak en vlas) een duidelijke selectieve werking te bestaan ten opzichte van sommige bacterietypen. Steeds nam in de rhizosfeer het relatieve aantal Gramnegatieve staafjes toe, terwijl Grampositieve en coccus-achtige staafjes en sporenvormende bacteriën relatief minder talrijk waren. Wat betreft de andere groepen was geen rhizosfeereffect te bemerken.

Bacteriën uit de rhizosfeer van vlas en tabak bleken meer complexe eisen aan de voeding te stellen, dan die uit de rest van de grond. De meeste organismen, voorkomend in de rhizosfeer, hebben aminozuren en/of groeistoffen nodig, terwijl de meerderheid van de organismen uit de overige grond onafhankelijk van deze stoffen is.

De bacterieflora in de rhizosfeer bleek fysiologisch actiever te zijn dan die in de grond buiten de invloedssfeer van de plant.

Bij vergelijking van voor wortelschimmels gevoelige en resistente rassen van vlas en tabak bleken de vatbare planten een groter rhizosfeereffect uit te oefenen dan de resistente. Dit doet vermoeden, dat de mogelijkheid bestaat, dat resistentie tegen bepaalde ziekten verband houdt met een selectieve actie van de wortel-excreties op de bodemflora.

Het is mogelijk om voor bepaalde wortelrot-gronden een verband te vinden tussen de ernst van de ziekte en het evenwicht tussen de verschillende bacteriegroepen; ook houden de graad van wortelaantasting en het evenwicht van de bacteriegroepen in de rhizosfeer van de plant verband met elkaar.

De groepen 1, 2, 4, 6, 8 en 10 bleken onafhankelijk te zijn van de toestand van de grond. Groep 3 bleek meer voor te komen in gronden met wortelrot (van aardbeien), de groepen 5, 7 en 9 meer in gronden, waarop de gewassen gezond blijven.

Het microbiologisch evenwicht in de grond kan aangegeven worden met de „bacterial balance index”. Deze wordt als volgt berekend: Het percentage, dat groep 3 uitmaakt van het totaal, wordt negatief gerekend. De percentages van de groepen 5, 7 en 9 worden positief gerekend. Dus behoort bij voorbeeld 10 % van de voorkomende bacteriën tot groep 3 en resp. 13, 10 en 23 % tot de groepen 5, 7 en 9, dan is het indexcijfer: $-10 + 13 + 10 + 23 = 36$.

Vele factoren kunnen dit indexcijfer beïnvloeden, o.a. jaargetijden en plantengroei. Het indexcijfer is in de rhizosfeer meestal veel hoger dan daarbuiten.

Door toevoeging van koolhydraten wordt de index verhoogd, aardbei- en plantenweefsel verlaagt de index (KATZNELSON and CHASE).

Bij het voortdurend beplanten met eenzelfde gewas zou men kunnen verwachten dat de microbiologische balans van de grond gestabiliseerd zou worden en resulteren in een microflora, die karakteristiek is voor dat gewas.

Vruchtwisseling geeft hoogstens een tijdelijke verschuiving van het evenwicht. Evenzo stimuleren gemakkelijk verteerbare materialen (glucose) een tijdelijke verschuiving van het evenwicht, dat terug gaat tot de oorspronkelijke toestand als resultaat van het grote bufferende vermogen van de grond. Langzamer verteerbare substanties (cellulose) roepen een verschuiving van het evenwicht te voorschijn, die niet alleen groter is, doch ook blijvender.

Deze beschouwingen zijn vooral van belang als het gewenst is de bodemflora te wijzigen voor een speciaal doel, zoals de eliminatie van ziektenverwekkers of de stimulatie van een microflora, gunstig voor een bepaald gewas.

HILDEBRAND, A. A. and WEST, P. M. Strawberry root rot in relation to microbiological changes in root rot soil by the incorporation of certain cover crops. Can. J. Res. C. 19, 1941, 183-198.

WEST, P. M. and HILDEBRAND, A. A. The microbiological balance of strawberry root rot soil as related to the rhizosphere and the composition effects of certain cover crops. Can. J. Res. C. 19, 1941, 199-210.

De hierboven genoemde methoden van onderzoek werden door HILDEBRAND en WEST toegepast op een ernstig geval van zwart wortelrot op een zandige leemgrond.

Gedurende drie jaar werden timotheegras, mais, soyabonen, rode klaver en enkele andere gewassen geteeld in potten met deze wortelrotgrond. De proeven werden in kassen genomen; zodra de planten hun maximale groei bereikt hadden, werden ze fijn verdeeld in de grond gewerkt; de gewassen werden daarna opnieuw ingezaaid. Zo kreeg men 2-4 „oogsten” per jaar. Tevens gebruikten HILDEBRAND en WEST *a*: potten met dezelfde wortelrotgrond en oude mest, *b*: met wortelrot grond, die eens per jaar met stoom gesteriliseerd werd en *c*: onbehandelde controles.

In Augustus werden de potten naar buiten gebracht; men liet in ieder vier uitlopers van gezonde aardbeiplanten wortelen. Begin October gingen ze terug in de kas en in November werden de aardbeien uit de potten gehaald en onderzocht. Daarna werden de verschillende behandelingen hervat. In het derde en laatste jaar van de proef werd tevens bacteriologisch onderzoek verricht.

De wortels van de aardbeiplanten vertoonden macroscopisch zeer grote verschillen. In gesteriliseerde grond was het wortelstelsel groot en volkomen blank en gezond. Daarop volgden de wortels van de „soyabonenserie”, zowel wat het drooggewicht als de gezondheidstoestand betrof. In de „stalmest-serie” was het drooggewicht maar weinig lager dan dat van de „soyabonen-serie”, maar het gehele wortelstelsel was bruinachtig verkleurd en vele zijworteltjes waren duidelijk ziek. In de „maïs-serie” was het drooggewicht veel lager en de aantasting door wortelrot sterker. De aardbeiplanten van de „rode klaver-serie” werden zeer ziek, met slechts weinige en sterk necrotische wortels. De planten van de „timothee-serie” groeiden soms nog slechter dan de contrôles in de onbehandelde wortelrot-grond.

Het drooggewicht van de wortels van de contrôles was minder dan de helft van dat van de „soyabonen-serie” en ongeveer $\frac{1}{4}$ van dat van de planten in gestoomde grond. De wortels van de „groenbemesters” bleven in het algemeen gezond; ze werden in het derde jaar van de proef microscopisch onderzocht volgens de methode van TRUSCOTT, HILDEBRAND en KOCH (Can. J. Bot. 11, 1934, 1-17 en 18-30; 13, 1935, 174-186). Van ieder gewas werd minstens 1000 mm wortels onderzocht; de graad van aantasting door de fungi werd bij iedere instelling van het microscoop in cijfers uitgedrukt; bij summatie verkreeg men zo de zgn. „infectie-waarde”.

Bij iedere groenbemester overtrof de infectiewaarde van één speciale fungus die van alle andere tezamen, zoals *Pythium spec.* bij maïs, *Thielaviopsis basicola* bij soyabonen en de mycorrhiza-schimmel, (die reeds meermalen bij aardbeien gevonden is) bij timotheegras en rode klaver. De Nematoden werden geteld; meestal waren er alleen saprophytische soorten, doch bij timotheegras en rode klaver vonden HILDEBRAND en WEST vrijwel uitsluitend het parasitaire weideaaltje (*Pratylenchus pratensis* (DE MAN)).

De infectiewaarden van fungi in de wortels van de aardbeiplanten varieerden sterk: in gesteriliseerde grond: 0; soyabonen-serie 240; in stalmest 828; contrôle 1358; maïs-serie 1629; timotheegras-serie 2070.

Voor de soyabonen-serie vertoonde duidelijke verschillen: de infectiewaarde van de mycorrhiza-fungus daalde sterk (216 tegenover 1341 in onbehandelde grond). De infectiewaarde van deze schimmel ligt in alle onderzochte series zo dicht bij de totale waarde, dat men geneigd is, deze fungus alléén aansprakelijk te stellen voor de ziekteverschijnselen; dit is echter zeer speculatief, omdat de fungus niet in vitro gekweekt kan worden en de pathologische eigenschappen dus zeer moeilijk te onderzoeken zijn; en er werd geen duidelijk verband tussen het voorkomen van de mycorrhiza en het necrotische wortelweefsel gevonden. Wel was er een correlatie tussen de infectie-waarden van de fungi en het drooggewicht van de wortels.

Pratylenchus pratensis kwam alleen in belangrijke mate voor in aardbeien, die volgden op timotheegras. Het wortelgewicht in deze serie (met de hoogste infectiewaarde, nl. 2070) bleek echter hoger te zijn dan dat van de contrôle (infectiewaarde 1358). Dit zou erop wijzen, dat er in wortelrotgrond buiten fungi en Nematoden nog één of meer factoren werkzaam zijn, die de groei van aardbeiwortels vrijwel verhinderen en reeds aanwezige wortels doden.

Zelden of nooit werden bacteriën gevonden bij beginnende infecties. Herhaaldelijk echter werd geen enkel organisme in verkleurd en necrotisch weefsel aangetroffen; dit wijst erop, dat veel wortels niet door het binnendringen van fungi

beschadigd worden, maar door een agens uit de grond, waarschijnlijk van biotische aard, afgescheiden door organismen in de omgevende wortelrotgrond.

Daarom werd de verschillend behandelde wortelrotgrond onderzocht volgens de methoden van LOCKHEAD c.s.; HILDEBRAND en WEST vonden in de rhizosfeer van wortelrotplanten veel meer bacteriën dan bij gezonde planten. De hoeveelheid bacteriën in de wortelrotgrond buiten de rhizosfeer varieerde veel minder, uitgezonderd na stoomsterilisatie: enige tijd na de behandeling waren hier veel meer bacteriën dan elders. De bacteriën werden volgens de 10 groepen van WEST en LOCKHEAD gedifferentieerd. In gestoomde grond en in de soyabonenserie bleek bijna de helft van de rhizosfeerorganismen te behoren tot de groepen $5 + 7 + 9$; in de rhizosfeer van zieke aardbeien behoorde ruim 50 % tot groep 3. Bij toenemende gezondheid van de wortels neemt groep 3 af en de groepen $5 + 7 + 9$ nemen toe. De overige bacteriegroepen kwamen veel minder voor en waren blijkbaar niet gecorreleerd met de gezondheidstoestand van de aardbeiwortels. De correlatie kwam duidelijk tot uiting in de „bacterial balance index” van de rhizosfeergrond, die varieert tussen -46 (ziek) en $+44$ (gezond). De uitersten buiten de rhizosfeer waren resp. $+10$ en $+35$. De waarden voor soyabonen volgden direct op die voor gestoomde grond ($+30$ en $+32$); rode klaver bracht slechts weinig verbetering (-2 en $+13$).

Gezonde, in gesteriliseerd water afgespoelde, stukjes aardbeiwortels in petrischalen, waaraan een vloeibare cultuur van rhizosfeer-organismen van gezonde planten toegevoegd werd, waren na twee dagen nog even gezond als wortels in leidingwater; terwijl wortelstukjes met een cultuur van rhizosfeer-organismen van zieke wortels donkerbruin waren en geheel verrot.

WEST en HILDEBRAND onderzochten het effect van de groenbemesters nader met soyabonen en rode klaver. Het indexcijfer bleek niet te veranderen door de verschillende groenbemesters enige tijd in wortelrotgrond te kweken. De oorzaak van de verschillende werkingen van rode klaver en soyabonen was gelegen in verschillen in afbraak van het weefsel in de grond; soyaplanten ondergingen een koolhydraatfermentatie, rode klaver een eiwitrotting. Dit verschil werd ook verkregen wanneer bladeren en stengels van de beide gewassen in water gebracht werden, geënt met wortelrotgrond. De indexcijfers waren dan resp. $+42$ en $+7$.

Na de drie jaren van de potproef was bij rode klaver het indexcijfer van de wortelrotgrond slechts weinig veranderd ($+10$ tot $+13$) omdat zowel de groepen $5 + 7 + 9$ als groep 3 numeriek iets toegenomen waren; bij soyabonen waren de groepen $5 + 7 + 9$ zeer toegenomen en groep 3 sterk verminderd, waardoor de bacterial balance index opliep van $+10$ tot $+35$.

Een soortgelijk effect werd verkregen door zuivere koolhydraten aan de wortelrotgrond toe te voegen. Na 30 dagen waren de wortels van aardbeiplanten in de contrôlepotten reeds zeer ziek, doch de planten in de potten, waaraan glucose of azijnzuur (tot pH 4,5) was toegevoegd, waren sterk gegroeid en hadden volkomen gezonde wortels. In de wortels van de contrôles werd *Cylindrocarpon*, *Fusarium* en een *Rhizoctonia* gevonden; in de behandelde gronden ontbraken *Cylindrocarpon* en *Rhizoctonia*, terwijl er veel minder *Fusarium* voorkwam; verschillende onschadelijke fungi waren toegenomen.

De toename van de bacteriegroepen $5 + 7 + 9$ ging dus samen met een vermindering van de schadelijke fungi. De soyabonenplanten, die in de grond gebracht worden, werken in dit geval dus gunstig, door de afbraak van koolhydraten. Maar hierdoor wordt niet bij alle gewassen wortelrot tegengegaan; bruin

wortelrot van tabak wordt hierdoor juist verergerd.

Het is te betreuren, dat deze onderzoekingen over zwart wortelrot van aardbeien in de oorlog gestaakt moesten worden.

Langs deze weg zal misschien een methode gevonden kunnen worden om dit moeilijk te bestrijden complex van wortelziekten te elimineren.

Ir MARTHA BAKKER

Dr CAROLINE H. KLINKENBERG

Naar aanleiding van de critiek van Ir DOEKSEN op ons artikel over afstervings-temperaturen zouden wij gaarne het volgende willen opmerken:

1. Het is geenszins onze bedoeling geweest te suggereren, dat het door ons gevonden verband tussen de hoogte van de afstervings-temperatuur van verschillende organismen en de duur van de verhitting met absolute geldigheid door de formule $(y - a) \sqrt{x} = b$ wordt weergegeven. De waarde van een natuurwet is ons inziens niet zo zeer gelegen in de verkondiging van een absolute waarheid dan wel in het zo eenvoudig mogelijk weergeven van het verband, dat tussen bepaalde grootheden bestaat. Ook de wetten van de natuurkunde bezitten in het algemeen geen absolute geldigheid. Men denke slechts aan de bekende wet van Boyle: Druk $\times$ Volume is bij een gas constant. Bij sterke samenpersing treden echter afwijkingen op, die weergegeven worden door de uitbreiding, die VAN DER WAALS aan de formulering van deze wet gegeven heeft. Zo gaan de bekende wetten van de mechanica voor grote snelheden niet meer op, zo als door EINSTEIN aangetoond is.

2. Er zullen zeer zekere andere formules gevonden kunnen worden, die het verband tussen afstervings-temperatuur en verhittingsduur nog nauwkeuriger weergeven dan bovengenoemde formule. Deze formules zullen echter een ingewikkelder gedaante bezitten en daarom minder bruikbaar zijn voor de practijk. Ook de wet van Boyle en de wetten der mechanica zijn niet in onbruik geraakt door de daarop gevonden verfijningen.

3. Het verwijt, dat wij ons zouden hebben schuldig gemaakt aan extrapolatie, moeten wij met klem terugwijzen. Elke experimenteel gevonden natuurwet mag in principe slechts toegepast worden in het gebied, waarin de waarnemingen gedaan zijn, waaruit het door de wet weergegeven verband tussen bepaalde grootheden is afgeleid. Nergens in ons artikel hebben wij een toepassing buiten dit gebied aanbevolen. Het zou ook ons in het geheel niet verwonderen, wanneer bij extreem kortstondige verhitting aanzienlijke afwijkingen van de door ons gevonden formulering zouden optreden. Met de hulpmiddelen waarover wij op dit ogenblik beschikken, is het ons echter niet goed mogelijk dit vast te stellen, daar een zeer kortstondige verhitting tot een bepaalde hoge temperatuur steeds gepaard gaat met een blootstelling gedurende kortere of langere tijd aan een traject van wat minder hoge, maar toch reeds schadelijke temperaturen.

4. Verschillen in temperatuursgevoeligheid tussen de diverse individuen zullen zeker bestaan. Uit biologisch oogpunt zouden wij er dan ook de voorkeur aan gegeven hebben om onze formulering af te lijden uit de punten, waarbij 50 % van de individuen afgestorven is. Voor de practijk is het echter belangrijker te weten bij welke temperatuur *alle* individuen afgestorven zijn en daarom hebben wij dit laatste criterium gekozen.

Y. VAN KOOT en G. WIERTZ

Discussie gesloten. — RED.