

3. Ofschoon het Tijdschrift een oplaag heeft van 750 exemplaren, waarvan er ongeveer 250 naar het buitenland verzonden worden, is het wenselijk dit aantal te vergroten. Mocht U in eigen omgeving of in het buitenland personen of instellingen weten, die in aanmerking komen voor lidmaatschap of abonnement, dan zullen wij graag hun naam en adres van U vernemen. Wij hopen op Uw medewerking te mogen rekenen.

BESTUUR VAN DE
NEDERLANDSE PLANTENZIEKTENKUNDIGE
VERENIGING
EN REDACTIE-COMMISSIE VAN HET
TIJDSCHR. OVER PLANTENZ.

DE PHOMOPSISZIEKTE VAN ZAADWORTELEN¹⁾
With a summary: The Phomopsis-disease of carrots grown for seed

DOOR

Dr J. A. VON ARX
Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten”, Baarn

INLEIDING

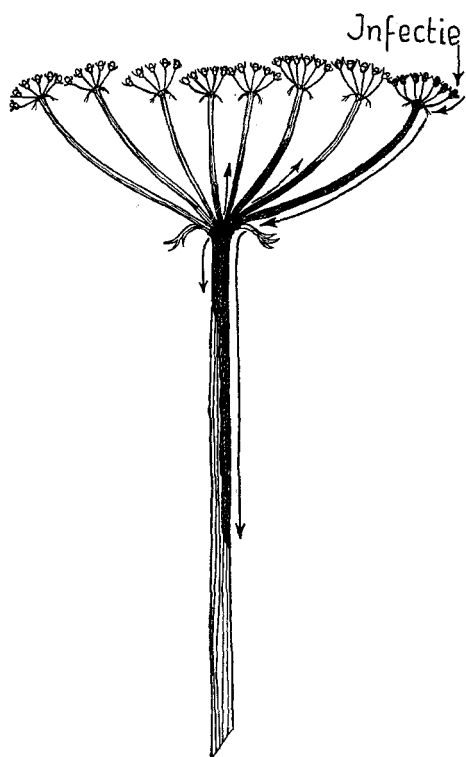
In het voorjaar van 1949 kreeg ik van Prof. WESTERDIJK de opdracht, een ziekte van wortelen (peen, *Daucus carota*), veroorzaakt door een *Phomopsis*-soort, te onderzoeken. Het lag vooral in de bedoeling de ontwikkeling en de wijze van infectie van deze schimmel te bestuderen en te zoeken naar een eventueel erbij behorende ascusvorm. De Heer A. F. G. SLOOTWEG had de schimmel reeds uit afgestorven stengels geïsoleerd. Hij stelde mij de cultures ter beschikking, waarvan ik een dankbaar gebruik maakte. Bovendien kreeg ik van hem een *Phomopsis*-soort, die hij van een bij ons wild groeiend *Daucus carota* ras geïsoleerd had.

ZIEKTEBEELD

Bijna alle in ons klimaat bekende *Phomopsis*-soorten resp. hun *Diaporthe*-ascus-vormen, leven op plantenstengels of op twijgen en takken van bomen en struiken. Zo ook deze vorm, die van de *Daucus*-planten slechts de stengels en de schermen aantast. De ziekte is dientengevolge slechts van betekenis bij de zaadteelt; de schimmel kan bij de in het voorjaar uitgezaaide, voor de consumptie bestemde planten, niet tot ontwikkeling komen, daar deze gewoonlijk voor het rooien geen bloeistengels vormen.

De infectie vindt in het tweede jaar, kort voor of meestal gedurende de bloei plaats. In 95 van de 100 gevallen komt de schimmel door de bloemknoppen of de reeds geopende bloemen naar binnen. Slechts in weinig gevallen konden nieuwe infecties direct aan de stengels waargenomen worden. Deze hadden dan steeds plaats in de nabijheid van de bladbasis, en wel op de plaats, waar de bladsteel als een schede de stengel omvat. Dit waren waarschijnlijk uitsluitend wondinfecties. De wonden waren door bladluizen of oorwormen veroorzaakt, die zich

¹⁾ Ontvangen voor publicatie 19 Dec. 1950.



Afb. 1. Schematische voorstelling van het infectie-verloop, veroorzaakt door *Phomopsis* in een bloemschermpje van *Daucus Carota*.
Diagrammatic figure of the spread of the infection caused by Phomopsis in an inflorescence of Daucus carota.

bij voorkeur op de stengeldelen ophielden, die door de gevleugelde bladstelen beschermd werden.

In de bloemen is het weefsel bijzonder teer, en er hebben ook vaak vloeistofuitscheidingen uit de stempel plaats. Hier vinden de sporen van de schimmel goede voorwaarden voor kieming en infectie. De incubatietijd bedraagt bij deze bloeminfecties slechts 4 tot 6 dagen. Daarna verkleuren de bloemblaadjes, worden bruin en gaan slap hangen. De schimmel breidt zich in de waardplant tamelijk snel uit. Hij groeit in de bloemsteeltjes naar beneden en tast dan het hele schermpje aan. Het sterft af en wordt donkerbruin tot zwart. De schimmel groeit door de steel van het schermpje verder naar beneden. Heeft hij de voet van de steel bereikt, dan groeit hij enerzijds naar boven in de andere steeltjes van de bijschermen, anderzijds in de bloemstengel naar beneden (zie afb. 1). Daarbij behoeft hij in het begin niet de stengel in zijn gehele omvang te doorwoekeren. Hij bevindt zich meestal alleen aan die zijde van de stengel, waar het primair aangetaste bijschermpje op deze staat ingeplant. Zo-

doende is bij het voortwoekeren van de schimmel vaak slechts een streepvormig stengeldeel verkleurd.

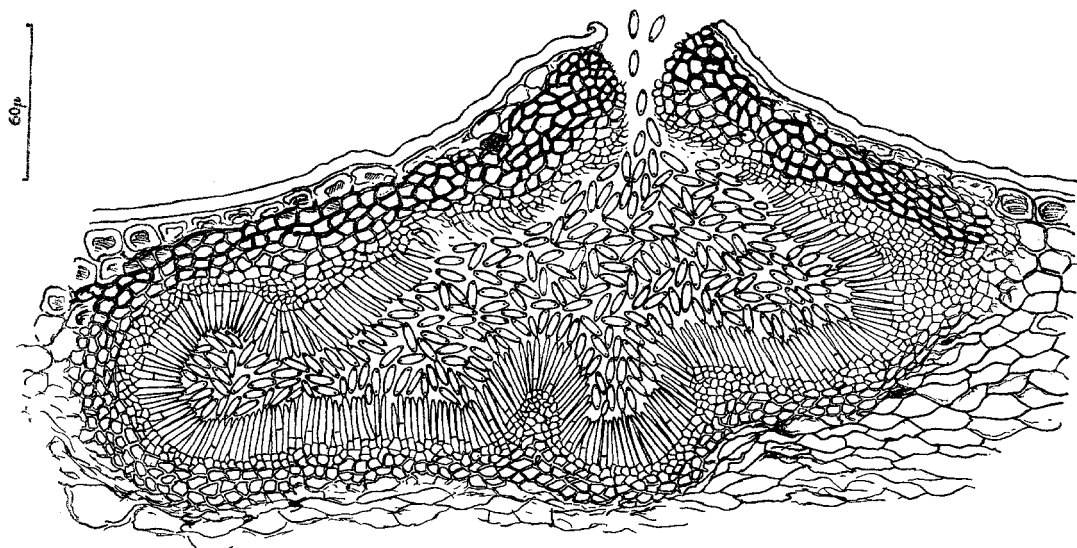
De hier te bespreken schimmel is een perthophyt; hij vormt toxine, die het weefsel van de gastheer doet afsterven. Daarna is hij pas in staat in het weefsel te groeien. De toxinen verspreiden zich nu door de vaatbundels veel sneller, zodat eenmaal aangetaste vaten en direct in de nabijheid gelegen stengeldelen snel over een grote lengte gedood worden, terwijl de tegenovergelegen delen van dezelfde stengel nog lang in leven blijven (zie afb. 1). Door de vaatbundels groeit de schimmel dagelijks 6–10 mm verder. De afgestorven stengeldelen worden eerst donker roodbruin en later grijs of bruinachtig; vaak tamelijk licht van kleur. Hierop verschijnen gewoonlijk reeds na 3–4 weken de vruchtlichaampjes, die als zwarte punten regelmatig verspreid grote stengelstukken, zelfs gehele stengels en ook de stelen van de bijschermen bedekken. De bladeren van de aangetaste scheuten sterven af, verdrogen en worden donkerbruin. Dit is een gevolg van de onderbroken transpiratie. Bereikt de schimmel bij zijn groei van boven naar beneden stengelvertakkingen, dan breidt hij zich weer naar boven in de nog

gezonde zijstengel uit. Hij komt echter niet ver, daar deze delen eveneens ten gevolge van de onderbroken sapstroom spoedig verwelken. Deze delen doorgroeit de schimmel niet meer, waarschijnlijk omdat zijn toxine zich hier niet meer verspreiden kan en bovendien saprophytische schimmels zoals *Pleospora herbarum* RABENH. hem voor zijn *Macrosporium commune* RABENH., de conidiënvorm van deze laatste, werd vooral bij vochtig weer heel vaak gevonden.

VORMING VAN VRUCHTLICHAMEN

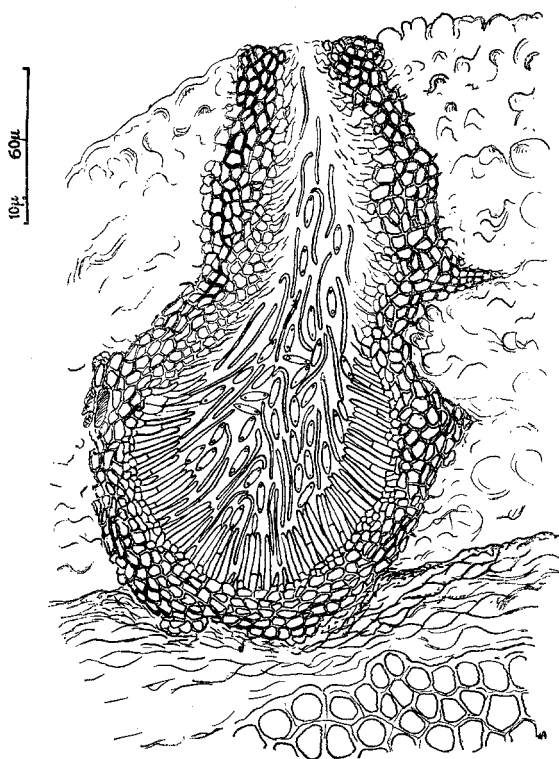
De vruchtlichaampjes zijn regelmatig verspreid en groeien in een groot aantal over grotere delen van de stengel, vaak slechts op één zijde. Tussen de stengelribben komen zij dikwijls in regelmatige rijen voor. Zij ontstaan hier in of direct onder de epidermis. Ontwikkelen zij zich onder de stengelribben, dan zijn zij dieper in het substraat ingezonken en breken dan met een dikke, snavelvormige monding naar buiten. Vaak staan de vruchtlichaampjes tamelijk dicht bij elkaar, ze schijnen echter niet met elkaar te vergroeien.

De *Phomopsis* vruchtlichaampjes (pycnidiën) zijn eigenlijk kleine stromata, die stevig met het weefsel van de waardplant vergroeid zijn. De in of onder de epidermis groeiende zijn vlak, eenvormig samengedrukt, van boven gezien enigszins rond of iets in de lengterichting van de stengel gestrekt, en vaak tamelijk onregelmatig. Zij hebben een doorsnede van 200–360 μ en bereiken een hoogte van 90–150 μ . Hun wand is zeer verschillend van dikte en bestaat bovenaan uit 4–6 rijen van tamelijk dikwandige, bruin gekleurde, veelhoekige 4–8 μ grote cellen; aan de zijkanten en beneden wordt de wand dunner, zij bestaat uit heldere, bijna hyaline cellen. Naar binnen toe volgen nog enige lagen dunwandige, hyaline,



Afb. 2. Dwarsdoorsnede door een subepidermaal pycnidium met uitsluitend α -sporen van *Phomopsis dauci*.

*Cross-section through a subepidermal pycnidium with only α -spores of *Phomopsis dauci*.*



Afb. 3. Dwarsdoorsnede door een dieper liggend pycnidium met α en β -sporen.

Cross-section through a deeply sunken pycnidium with α and β spores.

linderachtige of enigszins kegelvormige dragers draadvormige sporen afgesnoerd, die hyalien en $18-28 \times 0,6-1,4 \mu$ groot zijn. Zelden zijn ze recht, meestal min of meer gebogen, vaak sikkels- of S-vormig of aan één einde knievormig.

Deze conidiën worden in de literatuur (DIEDICKE 1911, GROVE 1917) als β -sporen opgegeven en bij talrijke *Phomopsis*-soorten genoemd. Vaak worden ze ook onder de naam *Phlyctaena* DESM. als een apart Sphaeropsideëngeslacht beschreven (b.v. VON HÖHNEL 1920, PETRAK 1924). In mijn proeven kiemden ze niet. BREFELD (1891) en ARCHER (1926) hebben wel bij enkele soorten kieming van β -conidiën gekregen, maar ook hier ging het slecht en deze kiemende sporen zijn niet tot cultures uitgegroeid.

De meer kiemkrachtige α -sporen zijn spilvormig of bijna cilindrisch, naar de uiteinden toe smaller wordend en afgerond, hyaline, eencellig en $7-12 \times 2-4 \mu$ groot. Zij bevatten meestal twee oliedruppels, die zich aan de uiteinden bevinden. Deze α -conidiën ontstaan op cilindervormige of naar boven toe iets smaller wordende, pallisaden-vormige, dicht naast elkaar staande dragers van $12-18 \mu$ lengte en $1,5-2 \mu$ dikte.

Soms bevatten de vruchtlichamen uitsluitend β -conidiën, soms uitsluitend

veelhoekige, $3-5 \mu$ grote cellen, waarop de conidiëndragers staan ingeplant.

De diepe, in het substraat zittende pycnidien, zijn nagenoeg bol- of flesvormig en beneden iets verbreed. De rijpe vruchtlichaampjes laten de sporen door een min of meer ronde, $15-25 \mu$ brede opening, die zich boven op het enigszins papil of halsvormig uitgetrokken gedeelte van de wand bevindt, naar buiten treden. Slechts zelden werden vruchtlichaampjes met 2 of 3 openingen waargenomen. Bij deze was dan de ruimte binnenin, waar de conidiën gevormd worden, door plooiën in de wand min of meer onderverdeeld (zie afb. 2, 3).

Deze *Phomopsis*-soort bezit twee verschillende sporenvormen. Vaak, vooral wanneer de schimmel zich onder slechte uitwendige omstandigheden, b.v. droogte, niet goed ontwikkeld heeft, worden in de vruchtlichaampjes op smalle, cy-

α -conidiën; vaker echter zijn pycnidiën te vinden, die beide soorten sporen in alle mogelijke verhoudingen bevatten.

In het eerste stadium van stengel-aantasting is het schimmelmycelium alleen in het xyleem aan te tonen. Hierin lopen 2–4 μ dikke, hyaline, weinig vertakte, hier en daar gesepteerde myceliumdraden, die een korrelig plasma bevatten. In latere stadia doorwoekert de schimmel het totale waardweefsel, vooral de buitenste stengeldelen. Hier wordt het mycelium bruin, en vormt sclerotiënachtige stromalagen, die naderhand de vruchtlichaampjes vormen.

HET KWEKEN VAN DE SCHIMMEL

De schimmel werd door het uitleggen van uitwendig gesteriliseerde weefselstukjes van zieke wortelen op agar in cultuur gebracht. Dezelfde cultures werden later ook uit kiemende α -sporen verkregen. Het mycelium is aanvankelijk wit en pluizig, wordt daarna echter spoedig dichter en krijgt een min of meer donkere kleur; vaak neigt hij tot zwarte sclerotiënvorming. De schimmel groeit tamelijk snel; in Petrischalen zowel op kersen- als aardappel-agar bedraagt de dagelijkse groei bij 18 °C. 7–11 mm. Oudere cultures vormen vaak (vooral op aardappel-agar) een groen pigment. Dit diffundeert in de agar en geeft het een mooie, groene kleur. Het al dan niet rijkelijk aanwezige luchtmycelium blijft wit of wordt geelgroen, of oranje tot grijsbruin. In het algemeen hebben verschillende stammen een sterk uiteenlopend voorkomen. Afzonderlijke stammen variëren ook sterk in kleur, in vorming van luchtmycelium etc. naar gelang van het gebruik van voedingsbodem.

Terwijl de draden van het luchtmycelium ongeveer 1–3 μ dik zijn, hebben de hyphen, die in de agar groeien, een doorsnede van 6–9 μ . Deze zijn groenachtig en later min of meer donkerbruin gekleurd. Pas na 3 tot 5 maanden treedt in cultures de vorming van vruchtlichamen op. De in de agar groeiende hyphen vormen onregelmatige kluiten, die dicht in elkaar groeien en zo pseudoparenchymatische, sclerotiënachtige lichaampjes vormen. Deze zijn inwendig hyaline en snoeren in onregelmatige holten op korte dragers β -conidiën af. Deze komen met de op de stengel gevonden β -conidiën geheel overeen. De vorming van α -conidiën kon slechts hier en daar en dan nog zelden waargenomen worden.

INFECTIEPROEVEN MET SCHIMMELCULTURES

Uit 3–4 weken oude cultures werden stukjes agar met de er op voorkomende schimmel geponst. Deze werden op snijwonden gebracht, die gemaakt waren in stengels, die kort tevoren in bloei gekomen waren. Om uitdroging te voorkomen, werden de infectie-plaatsen op de gebruikelijke wijze met cellophaan-papier omwonden. Dergelijke infecties werden op 5 en 17 Juli en op 5 Augustus uitgevoerd. Vermeldenswaard is, dat de op 5 Juli gemaakte infecties een positief resultaat hadden, waarbij meer dan 80 % was aangeslagen, namelijk 17 van de 20 infecties. Echter verliepen slechts twee van de 25 infecties van 17 Juli positief, terwijl die van 5 Augustus een geheel negatief resultaat opleverden. Daarbij dient te worden opgemerkt, dat alle infecties aan bloemstengels uitgevoerd werden, die ongeveer even ver ontwikkeld waren, wat dank zij de langdurige bloeiperiode mogelijk was. Het is mogelijk, dat deze resultaten met de toenmalige weersomstandigheden samenhangen. Het is echter opmerkelijk, dat de hieronder

te bespreken natuurlijke infectieproeven, die een jaar later uitgevoerd werden, overeenkomstige resultaten gaven.

De verschijnselen van de kunstmatige infectieproeven kwamen geheel overeen met die van de natuurlijke infecties, met dien verstande, dat het verschil van de plaats van infectie in aanmerking genomen moet worden. Ook hierbij werden, zoals boven beschreven, pycnidiën met α en β -conidiën gevormd.

DE NATUURLIJKE INFECTIE

Om na te gaan waar, en in welke vorm, de schimmel overwintert en in de volgende zomer nieuwe infecties veroorzaakt, werden door *Phomopsis* aangetaste *Daucus carota* stengels buiten op verschillende plaatsen bewaard en in het volgende voorjaar microscopisch onderzocht. Daarbij kwam naar voren, dat de zieke planten, die in de herfst gewoon op het veld achtergebleven waren, nu dicht met pycnidiën van *Phomopsis* bezet waren. Deze bevatten, naast weinig talrijke α -sporen vele kiemkrachtige β -sporen.

Op een plantbed van ca 7×7 m werd *Daucus carota* uitgeplant in 5 dubbele rijen. Deze waren in de herfst onder glas uitgezaaid, zoals dit bij de zaadteelt gebruikelijk is. Bij deze proef waren de volgende vijf soorten betrokken:

1. zomerwortel Nantes,
2. zomerwortel Amsterdamse, volle grond,
3. zomerwortel Amsterdamse, bak,
4. winterwortel Berlicummer,
5. Flakkeese winterwortel.

Aan één einde van deze 5 dubbele rijen werden de overwinterde stengels, die met talrijke schimmelpycnidiën bezet waren, geplaatst (half Mei 1950).

Op 16 Juni 1950 werden, nog voordat de planten bloeiden, enige infecties waargenomen. Deze waren waarschijnlijk door kleine wondjes aan de stengels ontstaan. Later (26/6), toen de eerste bloeiwijzen ontwikkeld waren, vonden talrijke infecties plaats door de jonge bloempjes, zoals boven beschreven werd.

Tot ongeveer 20 Juli vonden talrijke infecties plaats, zodat bijna alle stengels aan de kant, waar de aangetaste plantenresten van het voorjaar lagen, ziek waren en de planten volkomen of grotendeels afstierven. Verder van de infectiebron verwijderd was de aantasting minder sterk. Er traden echter over het gehele veld verspreid talrijke aangetaste bloemschermen op. Na 20 Juli werden bijna geen nieuwe infecties meer waargenomen, terwijl zich enerzijds nog talrijke bloemschermen ontwikkelden en anderzijds de schimmel reeds op vele van de aangetaste stengels pycnidiën met kiemkrachtige sporen gevormd had.

De 5 onderzochte wortelrassen waren alle in gelijke mate aangetast. Ze schijnen alle even vatbaar voor *Phomopsis* te zijn.

DISCUSSIE

SLOOTWEG had reeds uit stengels van in het wild groeiende *Daucus carota* een *Phomopsis*-soort geïsoleerd, die van de uit wortelen geïsoleerde stammen slechts weinig afwijkt en wel door een enigszins snellere groei en door een zeer spaarzaam luchtmycelium. In de nazomer van 1950 heb ik op wilde wortelen zowel bij Overveen als in de nabijheid van Castricum een parasitaire *Phomopsis*-soort

verzameld, die zowel macroscopisch in zijn groei als in zijn microscopische bouw met de boven van de cultuurplanten beschreven vorm overeenstemt. Hij wordt in cultuur gebracht. De verscheidene stammen hadden ook hier een vaak afwijkende groeiwijze. Ten opzichte van de schimmel, geïsoleerd uit cultuurplanten konden op de verschillende voedingsbodems eveneens geen typische verschillen gevonden worden. Het is zodoende waarschijnlijk, dat wij hier met een en dezelfde schimmel te doen hebben; dit wil zeggen, dat de *Phomopsis*-ziekte bij wortelen door een parasiet veroorzaakt wordt, die oorspronkelijk op de wilde vorm van deze plant voorkwam, en nog voorkomt. Deze veronderstelling kon echter door infectieproeven (nog) niet bevestigd worden. Deze werden wel met stammen, geïsoleerd van wilde wortelen op de gekweekte vorm uitgevoerd, maar gaven een negatief resultaat. Dit wil echter niets zeggen, daar de controle-proef die uitgevoerd werd met de schimmel, geïsoleerd van de cultuurvorm, eveneens een negatief resultaat gaf. Waarschijnlijk waren de proefplanten te oud. De wilde vorm van *Daucus carota* stond voor injectieproeven niet ter beschikking.

Over een wortelziekte, veroorzaakt door een *Phomopsis*-soort kon ik in de literatuur geen opgave vinden. Daarentegen is onder de naam *Phomopsis asteriscus* (BERK.) GROVE (syn. *Phoma foeniculata* SACC.) een schimmel bekend, die op dode stengels van talrijke umbelliferen, o.a. ook op de wilde vorm van *Daucus carota*, gevonden is. Volgens de korte diagnose bij GROVE (1917, 1934), kan deze schimmel met de onderhavige overeenstemmen, ofschoon er niets over β -conidiën vermeld wordt. Hij is echter de conidiënvorm van de Ascomyceet *Diaporthopsis angelicae* (BERK.) WEHM. (vergel. WEHMEYER 1933). Daar ik echter de hier besproken schimmel op verschillende wijze kweekte en hem gedurende meer dan een jaar op de aangetaste stengels onderzocht, kon ik nooit een hoofdvruchtvorm vinden, ook niet de geringste aanwijzing hiervoor. Ik vind alleen de conidiënvorm. Deze is daarom voorlopig te beschouwen als afwijkend van *Phomopsis asteriscus*. Ze is een tot nu toe onbekende soort en moet nieuw beschreven worden. Ik noem ze *Phomopsis dauci* en geef een Latijnse diagnose:

Phomopsis dauci spec. nov.

Pycnidia late et dense dispersa vel seriatim disposita, solitaria, raro bina complurave aggregata, subepidermalia vel innata, depresso-ellipsoidea vel raro globosa, saepe plus minusve irregularia, ostiolo crassiusculo, plano vel conico vel cylindraceo-conico, poro lato aperto punctiformiter erumpentia, 200–360 μ diam., 90–140 μ alto. Pariete crassiusculo, membranaceo, e cellulis 4–8 μ diam. meticutibus, pellucide olivaceis vel atrobrunneis, intus paulatim pallidioribus composito.

α -conidia oblongo-fusoidea, utrinque attenuata et obtusa, recta vel parum curvula, continua, hyalina 7–12 $\times$ 2–4 μ . β -conidia filiformia, plus minusve curvula vel in una parte genua flexuosa, hyalina, 18–28 $\times$ 0,6–1 μ . Conidiophora bacillari-subulata, antice plus minusve attenuata, simplicia, 12–18 μ longa, prope basim 1,5–2,5 μ lata (α -conidia) vel anguste cylindracea, bacillaria, 4–10 μ longa (β -conidia).

parasit. ad ram. et caul. *Dauci carotae* L.

Ofschoon door mij geen onderzoekingen gedaan zijn over de mogelijkheden van bestrijding van deze ziekte, wil ik tot slot hierop nog even ingaan.¹⁾

Daar de nieuwe infecties practisch uitsluitend via de bloemen plaats vinden, kan een preventieve bespuiting met fungiciden niet geheel afdoende zijn. Of deze

¹⁾ Bespuitingsproeven met koperhoudende middelen enz. worden o.l.v. Mej. Ir M. Bakker i.i. (I.P.O.) uitgevoerd.

zou gedurende de bloeitijd zeer vaak herhaald moeten worden, om alle zich openende bloempjes te kunnen beschermen. Dit zal echter de bloemen en zo-doende ook de zaadvorming zeer nadelig kunnen beïnvloeden (vgl. ook Tuinbouw-gids 1950, p. 388).

Zoals wij echter gezien hebben, kan de schimmel slechts op de aangetaste plantendelen overwinteren. Het is daarom aan te raden, de oude plantenstengels in de herfst op de velden goed en volledig op te ruimen. De plantenresten mogen ook niet gecomposteerd worden, maar moeten verbrand of diep ondergegraven worden. In de herfst van 1949 werd door mij op een wortelveld voor de zaadteelt in de nabijheid van Enkhuizen de sterkste schimmelaantasting waargenomen direct bij een composthoop. Ook is diep omploegen en vruchtwisseling aan te raden.

SUMMARY

Daucus carota plants being grown for seed may be attacked by *Phomopsis dauci* spec. nov., resulting in the death of the inflorescence and often of the whole plant. Infection takes place almost exclusively by way of the flower: from this point the hyphae penetrate the remainder of the inflorescence and the stems, which have previously been killed by the toxins produced by the fungus (fig. 1). The rate of growth of the hyphae in the vessels may reach 10 mm per day. Pycnidia, producing α and β spores, develop below the epidermis of the killed tissues (fig. 2 and 3).

The fungus over-winters on the dead stems, and new infections take place by means of the α spores in the following summer. For control of the disease, therefore, the thorough removal and destruction of the plants after harvesting is recommended.

The disease occurs on wild *Daucus carota*; five cultivated varieties proved equally susceptible when tested.

On agar media, the fungus forms a light-coloured mycelium, growing rather rapidly and producing a green pigment and, later, dark, irregular fruiting-bodies containing β -spores. No ascospore stage has yet been discovered.

LITERATUUR

- ARCHER, W. A.: Morphological characters of some Sphaeropsidales in culture. Ann. Myc. 24: 1-84 (17-23), 1926.
- BREFELD, O.: Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie, 9, (Ascomyceten): 37, 1891.
- DIEDICKE, H.: Die Gattung *Phomopsis*. Ann. Myc. 9: 8-34, 1911.
- GROVE, W. B.: The British species of *Phomopsis*. Kew Bull. Misc. Inf.: 49-73, 1917.
- : British stem- and leaf-fungi, Vol. I: 233, 1935.
- V. HÖHNEL, F.: Ueber die Gattung *Phlyctaena*. Ber. dtsch. Bot. Ges. 37: 102-110, 1920.
- PETRAK, F.: Ueber die Gattung *Phlyctaena* Desm. Ann. Myc. 22: 172-176, 1924.
- WEHMEYER, L. E.: The genus *Diaporthe* Nitschke and its segregates. Univ. Mich. Studies, sci. ser. vol. 9, 1935.