

EEN SCHIMMEL ALS PARASIET VAN DE CYSTE-INHOUD
VAN HET AARDAPPELCYSTENAALTJE
(*HETERODERA ROSTOCHIENSIS* WOLLENW.)¹⁾

With a summary: A fungal parasite of the cyst contents of the potato root eelworm

DOOR

Dr P. A. VAN DER LAAN

Laboratorium voor Phytopathologie, Wageningen,
gedetacheerd door de „Werkgroep Onderzoek Bestrijding Aardappelcystenaaltje T.N.O.”

Aaltjes hebben veel natuurlijke vijanden. Vaak tasten deze parasieten slechts de vrijlevende soorten of stadia aan, zoals b.v. de schimmels *Arthrobotrys*, *Dactylella* spp., e.a., die aaltjes in lussen of aan kleverige knoppen vangen (OORT, 1949). Ook de amoebe *Theratomyxa weberi* ZWILLENBERG tast voornamelijk vrijlevende vormen der aaltjes aan (WEBER, ZWILLENBERG & VAN DER LAAN, 1952).

Uit een oogpunt van bestrijding der cystenaaltjes zijn organismen, die de cysten binnendringen, vermoedelijk belangrijker, daar de vrijlevende larven meestal slechts gedurende korte tijd in de grond aanwezig zijn. Enkele schimmels zijn beschreven, die de inhoud van de cysten van *Heterodera schachtii* SCHMIDT, het bietencystenaaltje aantasten (ROZSYPAL, 1934). De belangrijkste parasiet, de zwam *Phialophora heteroderae* (JACZ.) VAN BEYMA (VAN BEYMA THOE KINGMA, 1937)²⁾, bleek in onze proeven in het laboratorium de cysten van het aardappelcystenaaltje eveneens aan te tasten.

Tijdens ons onderzoek naar de mogelijkheden van biologische bestrijding van *Heterodera rostochiensis* troffen wij telkens cysten aan, die duidelijk zwarte vlekken van verschillende grootte (20 tot 300 μ) vertoonden. De vlekken zijn vaak waar te nemen bij de kop van de cyste. Als we dergelijke cysten opensnijden, blijken zich aan de binnenkant van de wand ronde donkere lichaampjes te bevinden, die als vlekken door de wand heen zichtbaar zijn. Dit blijken de vruchtlichamen (pynciden) te zijn van een schimmel. Deze pynciden werden tevens los tussen de eieren aangetroffen, terwijl ze soms ook buiten op de cysten voorkwamen. Op de plaats waar een pyncide zich bevindt, vertoont de cystewand een gaatje. De pynciden zijn niet ingezonken in de cystewand. Zij bevatten talloze kleine sporen (gemiddeld $3,8 \times 2,1 \mu$).

De schimmel kon niet op naam gebracht worden en is waarschijnlijk niet beschreven. *Phoma* en *Pyrenochaeta* zijn de geslachten, waar de nieuwe soort het dichtst bij staat. Doch de pynciden van onze schimmel hebben lange, hypheachtige aanhangsels, die gelijkmatig verspreid zijn; bij *Phoma* zijn de pynciden glad, bij *Pyrenochaeta* hebben ze stijve borstels rondom de top.

De schimmel groeit en sporuleert gemakkelijk op diverse kunstmatige voedingsbodems, zoals kers-, haverhout- of moutagar. Een beschrijving van de schimmel zal elders gepubliceerd worden.

Het parasitaire karakter kon als volgt aangetoond worden. Een groot aantal cysten met zwarte vlekken werd uitgezocht. De vitaliteit ervan werd vergeleken met normale cysten uit dezelfde partij. Het aantal uitkomende larven in aardappelwortelsecreet werd geteld (Tabel 1).

¹⁾ Ontvangen voor publicatie Mei 1953.

²⁾ Door ROZSYPAL beschreven onder de naam *Trichosporium populneum* L. ET F.

TABEL 1. Wekproeven
Table 1. Hatching tests

Data 1953 Dates		Aantal cysten per serie Number of cysts per plot	Aantal larven uitgekomen per cyste Number of larvae hatched per cyst	
Begin	Einde		Met vlekken With spots	Zonder vlekken Without spots
2/2	6/3	75	98	265
20/2	6/3	75	84	131
17/3	17/4	122	55	159

Het aantal larven, dat uit de cysten met zwarte vlekken komt, is duidelijk minder dan het aantal uit de gezonde cysten. Nu waren de cysten uit deze proef niet alle even oud en de mogelijkheid bestaat dus, dat de gevlekte cysten ouder zouden zijn en daarom minder vitaal.

Het onderzoek werd om die reden vervolgd met cysten, die in de herfst van 1951 van de wortels van potplanten geoogst en sindsdien droog bewaard waren. Deze cysten zijn dus alle even oud. Een aantal van deze cysten werd in agar-cultures van de schimmel gebracht. Na 3 tot 4 weken werden de cysten uit de voedingsbodems gehaald en onderzocht. De meeste cysten bleken inwendig sterk verschimmeld te zijn. De inhoud klonterde samen en hyphen van de schimmel omstrengelden de eieren. De hyphen dringen de eieren blijkbaar niet binnen, maar zuigen ze leeg. Vele eieren zagen er verdroogd en verschrompeld uit. In een aantal cysten werden voorts jonge, vaak nog niet gekleurde pycniden aangetroffen. Zes van deze cysten werden, na uitwendig ontsmet te zijn gedurende 1 tot 2 minuten in alcohol 75 %, wederom op steriele cultuurbuizen met kersagar gezet. Na enige dagen groeide de schimmel weer uit de cysten, zodat de herisolatie dus geslaagd was.

Vervolgens werden 20 van deze verschimmelde cysten geopend, de inhoud werd er zorgvuldig uitgehaald en goed gemengd; de lege cystewanden werden verwijderd. De inhoud der cysten werd gekleurd gedurende 1 uur in een oplossing van de vitaal-kleurstof Acridine-Orange (concentratie 1 : 3000). Deze oplossing fluoresceert sterk in ultraviolet licht. Als een mengsel van levende en dode aaltjes gekleurd wordt, nemen de levende weinig kleurstof op en fluoresceren zwak groen, de dode nemen veel op en kleuren onder UV-licht rood (HOMEYER, 1953). Deze methode, waarover wij een apart onderzoek entameerden, is hoogstwaarschijnlijk bruikbaar voor de bepaling van de vitaliteit van de cyste-inhoud. Van onze verschimmelde cysten was de inhoud er uitstekend mee te beoordelen (Tabel 2).

TABEL 2. Vitaliteitsbepaling met Acridin-Orange; de cysten waren geplaatst in schimmel-cultures

Table 2. Vitality test with Acridin Orange. Cysts were placed in fungus cultures

Tijdsduur der infectie Duration of the infection	Aantal getelde eieren Number of eggs counted		
	levend living	dood dead	% dood percent dead
0 dagen - days	1044	227	18
21 dagen - days	794	392	33
32 dagen - days	1115	810	42

Uit de waarnemingen en proeven mogen wij concluderen dat deze schimmel een parasiet is van de cysten van *Heterodera rostochiensis*. Tot nu toe werden de zwartgeklepte cysten geregeld aangetroffen in materiaal, afkomstig van percelen op zandgrond. Het is van belang nadere gegevens te verzamelen over het voorkomen van deze parasiet in ons land. Waar de parasiet veelvuldig optreedt, zal zij wellicht de afsterving der cysten bespoedigen.

SUMMARY

A fungal parasite of the cyst contents of *Heterodera rostochiensis* was frequently found in Holland on sandy soil. The attacked cysts show black spots which consist of the pycnidia of the fungus. The pycnidia mainly occur inside the cysts against the wall. They have oblong, hyphal appendages. The genus is unknown but it seems to be placed close by either *Phoma* or *Pyrenochaeta*. A description of the fungus will appear elsewhere.

Hatching tests with both black-spot and spotless cysts showed that fewer larvae hatch from the spotted cysts (Table 1). Infection of cysts with the fungus succeeded easily in agar tubes. The fungus was seen inside the cysts, entwining and mummifying the eggs. It could be re-isolated from the formerly infected cysts. The vitality of the cysts was investigated also by using HOMEYER's Acridin Orange test. Details of this method will be published later on.

LITERATUUR

- BEYMA THOE KINGMA, F. H. VAN – 1937. Beschreibung einiger neuen Pilzarten IV. Zbl. Bakteriologie, II, 96: 427–430.
- HOMEYER, B., – 1953. Unterscheidung lebender und toter Stockälchen (*Ditylenchus dipsaci* Kuehn) durch Fluorochromierung mit Acridinorange. Nachr. Dtsch. Pfl. schutzd. (Braunschweig) 5 (1): 8–11.
- OORT, A. J. P. – 1949. Schimmels, die aaltjes vangen. De Levende Natuur 52: 221–226.
- ROZSYPAL, J. – 1934. Pilze in Cysten von *Heterodera schachtii* Schmidt aus mährischen Rübenböden. Bull. Acad. Tchécoslovaque Agric. 10: 413–422 (Tjechisch, met Duitse samenvatting).
- WEBER, A. PH., L. O. ZWILLENBERG & P. A. VAN DER LAAN – 1952. A Predacious Amoeboid Organism destroying Larvae of the Potato Root Eelworm and other Nematodes. Nature 169: 834.

ACTUALITEITEN EN VOORLOPIGE MEDEDELINGEN

P. A. VAN DER LAAN – De oorsprong van het aardappelcystenaaltje (*Heterodera rostochiensis* Wollenw.).

Deze veroorzaker van de aardappelmoeheid werd in 1913 het eerst schadelijk aangetroffen bij Rostock in Oost-Duitsland en in 1917 werden zieke velden in Engeland gevonden. Het eerste schadelijke optreden in Nederland werd in 1941 geconstateerd. Hoewel de aardappelmoeheid pas vele jaren na de besmetting van de grond tot uiting komt, neemt men toch aan, dat de plaag in Europa geïmporteerd is.

Uit een recente publicatie van WILLE & BAZÀN DE SEGURA (1952¹⁾ blijkt, dat in Peru in het Andes-gebergte op tientallen plaatsen *Heterodera rostochiensis* op aardappels (*Andigenum*-variëteiten) gevonden is. De ziekte kwam voor in een gebied van 1800 km lang. Op 62 plaatsen werd de aardappelmoeheid geconstateerd, op 52 vaak lager gelegen plaatsen werd geen aantasting gevonden. Daar de aaltjes zich in het bergland van de Andes zeker niet snel verspreid zullen hebben, mag men aannemen, dat de soort er reeds zeer lang voorkwam. Het is dus waarschijnlijk, dat de oorsprong van onze aardappelmoeheid in Peru, of althans in Zuid-Amerika gelegen is.

¹⁾ J. E. Wille & C. Bazàn de Segura : Min. Agric. Peru Boletín No 48 (1952).