

OVER DE SEROLOGISCHE VERSCHILLEN TUSSEN *POLYSPORA LINI* EN *PULLULARIA PULLULANS*¹

*With a summary: On serological differences between Polyspora lini
and Pullularia pullulans*

DOOR

A. TEMPEL

Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse,
gedetacheerd door het Laboratorium voor Phytopathologie, Wageningen

INLEIDING

De schimmels *Polyspora lini* LAFF. en *Pullularia pullulans* (DE BARY) BERKH. zijn gistachtige organismen, die beide gerekend worden tot de *Fungi imperfecti*. Ze zijn morfologisch nauw verwant. *Polyspora lini* is de veroorzaker van het zogenaamde verbruinen van vlas. *Pullularia pullulans* is een pectine-splitsende saprofyt, die schade kan veroorzaken in opgeslagen hout en bij de papierbereiding en de voornaamste rol speelt bij de afbraak van bladafval (SMIT & WIERINGA, 1953). Beide schimmels zijn in een aantal typen te splitsen op grond van kleur en vorm (NICKL-NAVRDIL, 1951; SMIT & WIERINGA, 1953).

WHITE (1945) vergeleek twee isolaties van *Pullularia pullulans* afkomstig uit Canberra en Tasmanië met vier isolaties van *Polyspora lini* afkomstig uit Victoria, Nieuw Zeeland en Ierland. Hij kwam tot de conclusie, dat de twee schimmels noch in morfologisch, noch in fysiologisch opzicht voldoende van elkaar verschillen om ze in verschillende geslachten onder te brengen. Hij onderzocht de schimmels ook serologisch, maar ook in dit opzicht bleken de zes isolaties niet te verschillen. Hij stelde dan ook voor, de naam *Polyspora lini* te laten vervallen en deze schimmel voortaan *Pullularia pullulans* var. *lini* te noemen.

Hoewel de serologie ons niet het definitieve criterium kan leveren of twee schimmels al dan niet tot hetzelfde geslacht behoren, werd in het hier volgend onderzoek toch voor enkele isolaties nagegaan of de serologische identiteit ook voor Nederlandse isolaties van *Pullularia* en *Polyspora* opgaat.

BEREIDING VAN ANTISERA

Van één isolatie van *Polyspora lini* en van twee van *Pullularia pullulans*, geïsoleerd van vlas en van *Forsythia*² werden schudcultures in Czapek voedingsbodems bereid. Na enkele weken groei werd de schimmel afgecentrifugeerd, gewassen met, en vervolgens geresuspendeerd in een fysiologische zoutoplossing. Met deze suspensies werden volwassen konijnen intraveneus ingespoten, waarbij het volgende spuit-schema werd gevolgd: drie dagen spuiten, twee dagen rust, één dag spuiten, twee dagen rust, vijf dagen spuiten, vijf dagen rust, verbloeden. De hoeveelheden werden langzaam opgevoerd van drie tot vijf ml per konijn.

¹ Aangenomen voor publikatie 8 augustus 1958.

² Voor het verstrekken van de schimmels ben ik dank verschuldigd aan Dr. J. K. T. WIERINGA van het Laboratorium voor Microbiologie te Wageningen en aan Ir. J. VAN DER SPEK van het Laboratorium voor Phytopathologie te Wageningen.



FIG. 1. Specifieke reactie in agargel van serum tegen een van vlas geïsoleerde stam van *Pullularia pullulans* (= Pv) met de cultuurfiltraten van *Pullularia pullulans*, geïsoleerd van *Forsythia* (= pf), *Pullularia pullulans*, geïsoleerd van vlas (= pv) en *Polyspora lini* (= pol).

Specific gel diffusion reaction of serum against Pullularia pullulans isolated from flax (= Pv), and the culture liquids of Pullularia pullulans isolated from Forsythia (= pf), Pullularia pullulans isolated from flax (= pv), and Polyspora lini (= pol).

AGGLUTINATIE-REACTIE

De schimmels agglutineren spontaan in een fysiologische zoutoplossing, zodat de agglutinatie-reactie niet toegepast kan worden.

PRECIPITATIE-REACTIE

Precipitatie-reacties werden uitgevoerd volgens de micromethode van VAN SLOGTEREN (1955). Als toetsantigenen werden de in bevroren toestand bewaarde cultuurfiltraten gebruikt. Deze gaven met normaal serum geen precipitatievlokken, met de verkregen antisera daarentegen wel. Antiserum tegen een stam van *Pullularia* reageerde zowel met het cultuurfiltraat van *Pullularia* als met dat van *Polyspora* en omgekeerd. Bij reacties met verdunningsreeksen van de sera bleken geringe kwantitatieve verschillen te bestaan tussen de stammen van *Pullularia* enerzijds, en die van *Polyspora* anderzijds.

GELDIFFUSIE-REACTIE

Om na te gaan of de gevonden kwantitatieve verschillen veroorzaakt werden door kwalitatief verschillende antigenen, werd de geldiffusie-methode toegepast (OUCHTERLONY, 1949; VAN SLOGTEREN, 1955). De reactie werd uitgevoerd in kleine agarplaatjes (16 mm diam.), waarin drie putjes (4 mm diam.) werden geponst. Het onderste putje werd gevuld met serum, de twee bovenste met twee verschillende antigenen. Ook in de agar reageerden de sera met de cultuurfiltraten van beide schimmels en gaven één of meer in elkaar vervloeiende, diffuse lijnen. Serum tegen *Pullularia* gaf echter met de filtraten van *Pullularia* nog een extra lijn, die het niet met het filtraat van *Polyspora* gaf (fig. 1). Evenzo gaf het serum tegen *Polyspora lini* een specifiek lijntje met het filtraat van *Polyspora lini*. De specifieke lijnen bleven zichtbaar als de agar werd verzadigd met het heterologe antigeen (specifieke remmingsreactie volgens BJÖRKLUND, 1952), wat bewijst, dat de verschillen van kwalitatieve aard zijn.

SAMENVATTING EN CONCLUSIES

Langs serologische weg kon worden aangetoond, dat de hier onderzochte stam van *Polyspora lini* LAFF. een kwalitatief verschil vertoont met twee stammen van *Pullularia pullulans* (DE BARY) BERKH., die onderling identiek zijn. De omvang van het onderzochte materiaal is te gering om algemeen geldende conclusies te kunnen trekken. De mogelijkheid is bijvoorbeeld niet uitgesloten, dat bij onderzoek van een groot aantal isolaties van *Pullularia pullulans* soortgelijke verschillen als hier beschreven, binnen de groep zelve naar voren komen.

SUMMARY

A culture of *Polyspora lini* LAFF., which causes browning of flax, was compared serologically with two cultures of *Pullularia pullulans* (DE BARY) BERKH. isolated in Holland from flax and from *Forsythia*. Although there is a serological relationship between the two fungi, they differ in one factor. This could be demonstrated by the gel diffusion method (OUCHTERLONY, 1949; VAN SLOGTEREN, 1955) (fig. 1). The results do not agree with those of WHITE (1945), who

found that two cultures of *Pullularia pullulans* from Canberra and Tasmania and four of *Polyspora lini* from two places in Victoria and one each in New Zealand and Ireland were serologically identical.

LITERATUUR

- BJÖRKLUND, B., – 1952. Specific inhibition of precipitation as an aid in antigen analysis with gel diffusion method. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 79: 319–327.
- NICKL-NAVRDTIL, H., – 1951. Beobachtungen und Untersuchungen über den Erreger der Flachsbräune (*Polyspora lini* Lafferty). Faserforsch. u. Textiltechn. 2: 453–455.
- OUCHTERLONY, O., – 1949. Antigen-antibody reactions in gels. Ark. Kemi. Miner. Geol. 26B: 1–9.
- SLOGTEREN, D. H. M. VAN, – 1955. Serological micro-reactions with plant viruses under paraffin oil. Proc. 2nd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen, 1954: 51–54.
- SLOGTEREN, D. H. M. VAN, – 1955. Serological analysis of some plant viruses with the gel-diffusion method. Proc. 2nd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen, 1954: 45–50.
- SMIT, J. & K. T. WIERINGA, – 1953. Microbiological decomposition of litter. Nature 171: 794–795.
- WHITE, N. H., – 1945. The relation of *Polyspora lini* Lafferty and *Pullularia pullulans* (De Bary) Berk. to flax browning. J. Counc. sci. industr. Res. Austr. 18: 141–149.