

iets over wortelknobbels en andere kankerachtige uitwassen bij planten.¹⁾

De hier bedoelde abnormale verschijnselen bij planten zijn bij ons te lande vooral bekend in den onderaardschen vorm van meer of minder dikke knobbels aan de wortels, soms ook aan den wortelhals van jonge vruchtboomen, vooral appelboomen; vele practici kennen ze ook onder den Engelschen naam van „crown-gall.” Zij komen bij tal van planten voor, meestal zonder dat men iets van eenige schadelijke uitwerking er van bespeuren kan. Niettemin verdienen zij de volle aandacht vooral van die kweekers, die handel drijven op Amerika, daar men in dat land alle planten, die aan „crown-gall” lijden, al is het in nog zoo geringe mate, onherroepelijk afkeurt. Echter niet alleen personen, wier direct belang er mede gemoeid is, doch allen, die zich interesseeren voor plantenziekten, zullen ongetwijfeld gaarne iets naders hooren over deze vrij algemeen bekende ziekte en over de belangrijke resultaten, die de volhardende onderzoekingen van den Amerikaan ERWIN F. SMITH met zijn medewerkers hebben opgeleverd. Ten slotte n.l. zijn deze Amerikanen er in geslaagd, met besliste zekerheid vast te stellen, dat zoowel de harde wortelknobbels als de zachtere gallen op kruidachtige planten en ook de pruikvormige wortels, het z.g. „hairy root”, in hunne verschillende vormen, veroorzaakt worden door een bakteriesoort.

De zoo in het oog vallende knobbelige uitwassen of gallen hebben natuurlijk reeds geruimen tijd de aandacht getrokken; in de literatuur van meer dan 50 jaar terug wordt er reeds melding van gemaakt. Gewoonlijk schreef men ze toe aan vorst of mechanische beschadigingen; met name

¹⁾ Dit artikel is bewerkt naar een voordracht, in December 1916 door schrijver te Wageningen gehouden voor den wintercursus voor de Controleurs bij den Phytopathologischen Dienst.

de bekende, in Januari 1916 overleden Duitsche phytopatholoog SORAUER, was van meening, dat de wortelknobbels zouden ontstaan op plaatsen, waar de wortels bij het planten beschadigd werden. Naar aanleiding daarvan zijn door Prof. RITZEMA BOS en A. C. IDE proeven genomen, waarbij de wortels van jonge appelboompjes op allerlei manieren be- of liever mishandeld werden; van eenigen invloed op het optreden van knobbels bleek echter geen sprake te zijn.¹⁾

De eerste, die de meening uitsprak, dat bakteriën de oorzaak van gallen bij planten zouden zijn, was de Italiaan CORVO in 1885; deze hield staande, dat de gallen, die de druifluis veroorzaakt aan wijnstok, tuberculeuze gezwollen waren, te wijten aan bakteriën, welke door de luizen werden overgebracht. Nu haperde er echter nog al wat aan de wijze van uitvoering van Corvo's proeven; hij steriliseerde de oppervlakte van zijn gallen niet, evenmin zijn uit wijnstoksap en water bestaande voedingsbodems, waarin bij bruin slijm, geperst uit, en stukjes weefsel van de gezwollen bracht. Natuurlijk trad in dat papje een weelderige bakteriëngroei op; dan zette hij daarin wederom ongestiliseerde gespleten wijnstokscheutjes, in het weefsel waarvan dan bruinkleuring optrad, hetgeen volgens hem een typisch kenmerk zou zijn. Dat in dat bruingekleurde gedeelte bakteriën gevonden werden, spreekt wel vanzelf, zoodat een en ander zelfs niet als een schijn van bewijs kan gelden, dat Corvo's theorie juist was. Op hooger trap staat het werk van zijn landgenoot CAVARA, die in 1897 de „rognà", zooals de Italiaansche benaming luidt, van den wijnstok beschreef; hij kweekte uit knobbels op jonge wijnstokscheuten een bakterie, waarmede hij infectieproeven nam op wijnstokscheuten, die eerst behoorlijk gesteriliseerd waren; op deze ontwikkelden zich weer knobbels, maar dit geschiedde niet op twijgen, die ter controle eenvoudig verwond waren, zonder dat de bakterie in de wonden was

¹⁾ Landbouwkundig Tijdschrift, 1901, blz. 123.

gebracht. Uit de knobbels isoleerde CAVARA weder dezelfde bakteriesoort. Zeer waarschijnlijk heeft hij dus reeds het organisme afgezonderd, dat later, in 1906, door SMITH c.s. eveneens is gevonden en nauwkeurig bestudeerd en beschreven.

Behalve de genoemde, hebben nog verscheidene andere onderzoekers in Europa en Amerika aan het vraagstuk gewerkt; herhaaldelijk werd de besmettelijkheid met name bij de perzik bewezen door het planten van gezonde jonge boompjes nabij zieke, door enting, en door stukgesneden gallen in den grond te stoppen bij gezonde boomen. De oorzaak werd echter niet gevonden, ook niet door T o u m e y in Arizona, die de besmettelijkheid van gallen op amandel-boomen bewees; hij meende dat een slijmzwam, die hij *Dendrophagus globosus* noemde, de opzwellingen in het leven riep. Zijn infectiemateriaal bestond uit sap van gallen, waarin dus stellig ook de eigenlijke galveroorzakende bacterie aanwezig was; bij zijn proeven bracht hij dus ook deze bacterie in de proefplanten, want hij werkte niet met rein-culturen van zijn slijmzwam, wat ook onmogelijk was, aangezien deze slijmzwam waarschijnlijk slechts uit vervormde celinhoud bestond. Ik vermeld dit, omdat in ietwat verouderde handboeken nog wel eens op grond van T o u m e y's onderzoekingen het niet bestaande organisme *Dendrophagus globosus* als oorzaak van „crown-gall” wordt genoemd. Veel werk over dit onderwerp is verder verricht door den Amerikaan H e d g c o c k, die meerdere publicaties, voorzien van uitstekende afbeeldingen, er over in het licht heeft gegeven; tot definitieve conclusies over de oorzaak is hij echter niet gekomen. Waar de ziekte overal in Europa en Noord-Amerika voorkomt, en verder geconstateerd is in Zuid-Afrika, Chili en Peru, is het niet te verwonderen, dat behalve de genoemde nog tal van publicaties erover verschenen zijn, die ik echter alle met stilzwijgen voorbij ga, om meer aandacht te kunnen schenken aan het werk van

Smith en zijn medewerkers en werksters ¹⁾. In 1892 en 1893 had de eerste reeds verscheidene maanden besteed aan het onderzoek van perzigallen, en daarbij vooral naar zwammen gezocht, om tot het negatieve resultaat te komen, dat slijmzwammen noch draadzwammen er de oorzaak van waren.

Aanleiding tot het weder opnieuw beginnen van het onderzoek was een inzending van een groot kweker van margrietten in de staat New-Jersey aan het „Bureau of Plant-Industry” te Washington van een aantal gele en witte margrietten (*Chrysanthemum frutescens*), die op verschillende plaatsen op stengels en bladeren galachtige uitwassen vertoonden. De gallen traden des zomers buiten en des winters in de kas op, zij varieerden in grootte van 1 c.M. tot verscheidene centimeters in doorsnede; de kleinere, jongere waren groen en vrij glad, zacht en sponsachtig, de oudere grooter en meer bruin van kleur; de oppervlakte was ruw kurkachtig en de geheele gal was hard en stevig geworden. Allerlei overgangen kwamen voor, zoodat het waarschijnlijk was, dat de verschillende gallen toch van denzelfden oorsprong waren. Zwammen waren inwendig in de gallen niet te vinden, en op de oppervlakte slechts een *Macrosporium*, die ongetwijfeld een saprophyt was. Smith ontdekte eindelijk in mikroskopische praeparaten uit het inwendige van verse gallen enkele zeer kleine klompjes bacteriën; of die bacteriën werkelijk tot de soort behoorden, die later bleek de gallen te veroorzaken, is niet zeker en zelfs niet waarschijnlijk, doch in elk geval was deze waarneming de aanleiding, die er toe deed besluiten de ziekte nauwkeurig in studie te nemen. Daartoe werd uitgegaan van kleine, verse, zachte gallen zoowel als van grootere harde. De oppervlakte werd met een steriel mes afgeschraapt, daarna achtereenvolgens afgewasschen met $\frac{1}{10}$ ‰ sublimaat oplossing en met steriel water. Met een steriel mes werden

¹⁾ Zie literatuurlijstje aan het slot.

zij dan in kleine stukjes gesneden en deze stukjes, telkens die van één gal bijéén, in buisjes gedaan waarin peptonbouillon. In die buisjes werden dan de stukjes met een ge steriliseerde glasstaaf zoo goed mogelijk fijn gemaakt. Van deze praeparaten werden nu geregeld met tusschenruimten van 2 tot 4 weken agar platen gegoten. Op die platen, die onder temperaturen verschillend van 20° tot 30° C. werden gehouden, kwamen nu witte en gele koloniën van bakteriën van verschillende vorm en kleur op, en soms schenen die bakteriën in reincultuur aanwezig te zijn, maar er waren er geen bij, die geregeld op alle platen en in alle gallen voorkwamen. Met dit werk werd gedurende *twee jaren* geregeld voortgegaan, en verscheidene honderden van dergelijke plaatculturen werden gemaakt. Aan volharding ontbrak het dus niet! Voor verscheidene van de verkregen bakteriesoorten werden weer nieuwe culturen aangelegd, en deze werden dan gebezigd voor infectieproeven op gezonde margrieten. Een enkele keer verscheen er wel eens een gal, maar zoo zelden en zoo onregelmatig, dat er geen beteeckenis aan gehecht kan worden. Hierdoor kwam men er toe, de bakteriën-theorie voor een oogenblik te laten varen, en nu werd geprobeerd, de gallen door verwonding in het leven te roepen. Op allerlei wijzen en plaatsen werden nu aan oude en jonge planten verwondingen aangebracht, echter met geen betere resultaten. Soms kwam wel eens een abnormale woekering voor, maar zeer ongeregeld en onzeker, en maar hoogst zelden op de verwonde plek. En als op die plaats zulk een abnormale groei van het weefsel optrad, dan was het meer gewoon callus-weefsel, dat geen overeenkomst had met de oorspronkelijke margriet-gallen.

De zaak leek dus vrij hopeloos, en menigeen zou het hebben opgegeven; er was reeds van Februari 1904 tot Mei 1906 aan gewerkt. In die maand werd echter bij mikroskopische praeparaten opgemerkt, dat de gebruikte

kleurstof door die deelen van de gal, welke het dichtst bij het gezonde weefsel lagen, sterker werd opgenomen dan door de rest; ofschoon men de bakteriën zelven niet te zien kon krijgen, wettigde dit de veronderstelling, dat die bakteriën, *als* zij aanwezig waren, in dat aan het gezonde weefsel grenzende deel van de gal zouden voorkomen; daarom werd besloten een nieuwe serie platen te gieten met materiaal van die plekken. Men is geneigd zich af te vragen, waarom men daar niet eerder mede begonnen was, immers indien men uit zieke planten het pathogene organisme wil opkweken, neemt men bij voorkeur zijn materiaal dicht bij de nog gezonde deelen. Ook de onderzoekers zelven zullen zich dit wel eens afgevraagd hebben, want reeds de eerste serie cultures gaf thans positieve resultaten. Zes gallen verschillend in grootte van 2 m.M. tot 2 c.M. werden met een klein schilfertje van den stengel er nog aan afgesneden, op de gewone wijze (zie boven) zoo nauwkeurig en steriel mogelijk behandeld, en daarna elk in een buisje met 10 c.M.³ steriele bouillon gedaan. In dat buisje werden zij met een ontsmet mes en dito glasstaaf stukgesneden en verbrijzeld; uit elk buisje werden nu drie agar-platen gegoten, behalve uit no. 1, waaruit men er 4 verkreeg, in totaal 19. Na 48 uur was in elk buisje al een duidelijke troebeling te zien, en in 4 van de zes groepen vormden zich gele kolonies; op den 5den dag waren in 5 van de 6 groepen bovendien nog enkele kleine, witte, ronde kolonies verschen. Van elk dezer soorten bakteriën werden nu dochtercultures gemaakt, waarbij bleek dat de gele kolonies van drie verschillende soorten afkomstig waren, doch de witte in alle platen van dezelfde soort. Op 1 Juni werden nu met elk van die 4 soorten bakteriën infectieproeven genomen; de top, het midden- en het onder-eind van gezonde margrietplanten werd eerst met sublimaat 1 op 1000 en daarna met steriel water afgewasschen, daarna de bakteriën met een steriele platina naald er op gesmeerd

en door prikken met een eveneens ontsmette naaïnaald in het weefsel gebracht. Op 8 Juni werd een tweede proef op geheel dezelfde manier ten uitvoer gebracht. Op de planten van de eerste groep waren na 17 dagen, op die van de tweede na 15 dagen opzwellingen als een duidelijk begin van galvorming aanwezig op *alle* plaatsen, waar de witte bacterie, en op *geen enkele* van de plekken waar een der gele bacteriën was ingebracht, noch op controle-planten, die met steriele naalden waren geprikt. Deze opzwellingen ontwikkelde zich later tot flinke gallen, waarmede dus duidelijk was aangetoond, dat ten slotte de oorzaak van de margrietgallen, de witte bacterie, die later door SMITH en TOWNSEND *Bacterium tumefaciens* is gedoopt, gevonden was.¹⁾

Natuurlijk liet men het niet bij dit ééne experiment, doch nam nog een gansche reeks van andere proeven; zoowel met de bacterie uit de margrietgallen als met daarmede overeenkomende en, naar vrijwel absoluut zeker is, identieke soorten uit gallen van andere planten. Hiermede

¹⁾ Het zal meerdere lezers bekend zijn, dat men de bacteriën naar hun vorm in verschillende groepen gesplitst heeft. Zoo onderscheidt men Coccen, die min of meer bolvormig, Spirillaceën, die spiraalvormig zijn en Bacteriaceën, die den vorm van een korter of langer, cilindrisch staafje hebben. Deze laatste groep wordt weer onderverdeeld in verschillende geslachten, als Bacillus, hetwelk trilharen of zweepdraden, welke tot voorbeweging dienen, over het geheele oppervlak verdeeld, bezit, Pseudomonas, met zulke trilharen slechts aan een of beide einden, en Bakterium, zonder trilharen.

Nu heeft ERWIN SMITH echter een wijziging in deze nomenclatuur bepleit, hij noemt het geslacht Pseudomonas thans Bakterium, en heeft voor Bakterium den naam Aplanobacter bedacht. De hier besproken bacterie nu bezit een, soms 2 of 3 zweepdraden aan een der polen; volgens de oude indeeling zou zij dus den naam *Pseudomonas tumefaciens* moeten hebben. Inderdaad heeft TOWNSEND in 1906 dezen naam gebruikt, vandaar dat men in sommige boeken, b.v. dat van DUGGAR, (Fungous diseases of plants,³⁵) dezen naam aantreft; in de latere publicaties wordt steeds gesproken van *Bacterium tumefaciens*.

werden over en weer tal van infectieproeven uitgevoerd, niet zelden met 100 % succes, zooals b.v. bij het brengen van de margriet-bakterie in tomaat, tabak, aardappel, anjer perzik, roos, kool, hop, suikerbiet, Jap. chrysanthemum, oleander, wijnstok (Europeesche), Shasta daisy, Pyrethrumklaver, Perzische walnoot. Natuurlijk ontstonden niet altijd, gallen op alle infectieplaatsen, b.v. op Amerikaanschen wijnstok gelukten 12 % der infecties, op Europeeschen wijnstok (andere series dan de bovenbedoelde) 33 % en 75 %, op perzik 73 %, op witte populier 20 %, op dubbele made-liefjes (*Bellis perennis*) 63 %.

Ook gelukte het gallen te doen ontstaan door de uit wijnstokgallen geïsoleerde bakteriën te enten op margriet, suikerbiet, amandel, uit perzik op roos, margriet, appel, framboos, geranium, hop, uit hop op margriet, tomaat, druif, suikerbiet, enz. enz. Daarentegen gelukte de besmetting niet met de margriet-bakterie op ui, olijf, schorseneer, vijg en op nog een aantal planten, waarop bij andere proeven de gallen wel verschenen waren. Dit moest dan echter toegeschreven worden aan slechten groei of afsterven van de proefplanten of aan te oude cultures, soms ook aan eene vergissing, wanneer nl. een verkeerde cultuur was gebruikt. In de gevallen van de olijf en de vijg was hiervan echter geen sprake: proeven met dezelfde cultuur op perzik, druif en margriet gaven wel flinke gallen, zoodat olijf en vijg misschien niet vatbaar zijn.

De bovengenoemde HEDGCOCK maakte in zijn publicaties een scherp onderscheid tusschen harde en zachte gallen, en tusschen verschillende vormen van „hairy-root”; het gelukte SMITH c.s. door kruisinfecties aan te toonen, dat van al deze woekeringen de door hen geïsoleerde bakterie de oorzaak was. Uit een buitengewoon harde gal werd b.v. een stam van *B. tumefaciens* geweekt, die op margrieten zachte gallen deed ontstaan. Evenzoo werden kolonies verkregen uit de breede, platte verdikking, die aanwezig is op de

plaats, waar de bundel haarachtige wortels uit den hoofd wortel ontspringt; hiermede werden 8 appelboomen geïnfecteerd; na 5 maanden vertoonden 5 daarvan duidelijk „hairy-root” en een aantal kleine harde gallen; op de twee andere waren de infecties niet geslaagd. Uit de kleine harde gallen werd nu opnieuw de bakterie geïsoleerd, en met deze cultuur weder een appelboom besmet, waarop zich nu weder „hairy-root” ontwikkelde:

Al dadelijk vraagt men zich nu af, waarom dezelfde bakterie aanleiding geeft tot het ontstaan soms van harde, langzaam groeiende, vaste gezwellen, een andermaal van zachte, snel groeiende sponsachtige gezwellen, dan weer van „hairy-root” in zijn verschillende vormen.

Zooals in den loop der onderzoekingen kon worden vastgesteld, is dit een gevolg van den aard van het weefsel, dat het eerst besmet wordt. Voor het ontstaan van de woekering is het noodig, dat de bakteriën worden gebracht in weefsels, die nog in groei zijn, dus waarin nog deeling der cellen plaats heeft. Worden nu b.v. cellen geïnfecteerd, die mergstralen zouden opleveren, dan ontstaat een spoedig rottende, zachte gal; zijn het daarentegen cellen, bestemd om vaten en houtvezels te gaan vormen, dan ontstaat een harde gal.

Na een prik met een besmette naald tot in het kurkcambium van een margriet, $\pm \frac{1}{2}$ m.M. diep, vormde zich kleine, spoedig stervende gallen; als men dieper prikte, ± 1 m.M. diep, ontstonden veel grootere, langer levende tumoren met veel vaatbundels er in. De reactie is bij kruidachtige planten al na 4 of 5 dagen als een lichte opzwellingswaarneembaar; enkele dagen later zijn reeds duidelijke, kleine, vleezige galletjes te zien. De tumoren onderscheiden zich van gewoon wondweefsel, doordat zij doorgaan met groeien, omdat de plant om zoo te zeggen de controle er over verloren heeft. De zachte gallen bestaan uit een overmaat van parenchymweefsel, waartegenover een verzwakking van

de vaatbundels staat; ook komen allerlei onrijpe vormen, zooals onvolkomen afgewerkte vaatbundels voor. Het zijn dikwijls snelgroeiende nesten van parenchymachtig weefsel met ronde of spoelvormige cellen, waartusschen verhoude en verdraaide vaatbundels met abnormaal dunne wanden; er bestaat tusschen het parenchym en de vaten een groote wanverhouding ten nadeele van de laatsten. De vaten doorsnijden het gezwel in verschillende richtingen; bij het maken van doorsneden ziet men er slechts fragmenten van, maar zorgvuldige snijding toont, dat zij van de basis uitgaan. De cellen zijn kleiner dan de normale; de opwelling is dan ook niet een gevolg van de vergrooting van een aantal cellen zelve, zooals dat b.v. het geval is bij de knolvoet der crucifeeren, veroorzaakt door de slijmzwam *Plasmodiophora brassicae*. Onder den invloed van de bakteriën heeft reeds celdeeling plaats, voordat voldoende tijd om uit te groeien sedert de vorige deeling verlopen is. Bij deze overproductie van parenchym en reductie van vaten kan niet genoeg water en voedende stoffen worden toegevoerd; het gevolg is, dat op zeker tijdstip van den groei de abnormale weefsels worden afgeworpen, zoodat na eenige maanden van voortdurend grooter worden afsterving van een deel van de gal volgt. Zelden gaat de geheele gal dood; gewoonlijk blijft de rand in leven, en vandaar uit begint het volgende jaar de vorming van een nieuwe gal. Bij de harde houtige gallen, die hoofdzakelijk uit gedraaide, verhoude en verwrongen vaatbundels en houtige vezels met naar verhouding zeer weinig parenchym bestaan, heeft dit afsterven in het geheel niet of eerst veel later plaats. Een hoogst enkele maal verdwijnt de gal geheel zonder dat een nieuwe terugkomt.

(Wordt vervolgd).

T. A. C. SCHOEVERS.