

NEDERLANDSCHE PHYTOPATHOLOGISCHE (PLANTENZIEKTEN-
KUNDIGE) VEREENIGING.

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

ONDER REDACTIE VAN

PROF. DR. J. RITZEMA BOS, M. DE KONING,
IR. N. VAN POETEREN EN PROF. DR. H. M. QUANJER.

Twee en Dertigste Jaargang — 8e Aflevering — AUGUSTUS 1926

RHIZOCTONIA- EN OLPIDIUM-AANTASTING VAN BLOEMKOOLPLANTEN.

DOOR

JIJKE H. H. VAN DER MEER

INLEIDING.

In Mei 1925 stelde de heer Ir. J. LEENDERTZ CZN., Rijkstuinbouwconsulent te Utrecht, het Instituut voor Phytopathologie in kennis met een eigenaardig ziektegeval bij bloemkoolplanten, dat zich in een tuinderij nabij de stad Utrecht vertoonde. De planten van de variëteit „Haagsche vroege”, gezaaid in September 1924 in bakken met baggeraarde en mest, groeiden volgens den kweeker tot krachtige „weeuwen” op. In Maart 1925 werden ze verplant op een sterk bemest terrein, gelegen aan den Krommen Rijn, hetwelk een jaar tevoren met een laag bagger bedekt was. Te velde bleven een aantal planten in den groei steken. Bij het bezichtigen in Mei zag men duidelijk op twee perceelen pleksgewijs tusschen de forsche planten klein gebleven, overigens groene exemplaren. Het wortelstelsel der „achterblijvers” was, vergeleken bij dat der grootere planten, zeer slecht ontwikkeld. Enkele bijzonder kleine stengels, slechts een paar bladeren dragend, konden zonder moeite uit den grond worden getrokken.

Bij een tweede bezoek in Juni bleken de meeste bloemkoolplanten door de ziekte heengegroeid, ofschoon hier en daar nog wel kleine exemplaren zonder of met kooltjes voorkwamen.

Aanvankelijk vreesde de kweeker slechts een geringen prijs voor de koolen te zullen krijgen, doordat zij vrij laat in den tijd voor verkoop geschikt zouden zijn. Echter het verlies is ten slotte zeer meegevallen. We hadden hier dus te doen met een ziekte, die zich in het voorjaar ernstig liet aanzien, maar die per slot van rekening geen groote schade veroorzaakte.

De slapplanten, die op hetzelfde perceel tusschen de koolplanten groeiden, vertoonden 't „achterblijven" niet, evenmin spinazie en Savoyekool op andere perceelen van hetzelfde terrein.

§ 1. MACROSCOPISCH EN MICROSCOPISCH ONDERZOEK DER „ACHTERBLIJVENDE" BLOEMKOOLPLANTEN.

De uitwendige verschijnselen deden vermoeden, dat de oorzaak in een ziekte der wortels gezocht moest worden.

Een nauwkeurig onderzoek van het in Mei verzamelde materiaal leerde, dat behalve lange, witte, gezonde zijwortels een aantal kleine, geel tot bruin gekleurde voorkwam, voornamelijk optredend aan de basis van den hoofdwortel. Soms waren hoogerop aan den stengel nieuwe wortels ontsproten.

De bruine worteldeeltjes bleken bij microscopisch onderzoek zoösporangien en rustsporen van *Olpidium* te bevatten.

Ook tusschen het sterk ontwikkelde wortelstelsel der niet-achterblijvende, zgn. gezonde planten, bevonden zich vlak tegen den hoofdwortel aangedrukt dergelijke bruine worteltjes, die eveneens door *Olpidium* waren aangetast.

Deze voorstudie gaf den indruk, dat 't wortelstelsel *na* het verplanten in sterke mate van *Olpidium* had geleden, dat zich echter successievelijk nieuwe wortels hadden gevormd, waardoor 't mogelijk was, dat de planten min of meer door de ziekte eengroeiden.

Echter nog een tweede parasiet werd aangetroffen: vele worteltjes waren omsponnen door *Rhizoctonia*-draden en één der planten vertoonde aan de stengelbasis sclerotien van genoemde schimmel.

Van het materiaal, dat in Mei en Juni was verzameld, werden totaal 13 planten onderzocht. Bij 11 er van kwam *Olpidium*, bij 5 *Rhizoctonia* voor. In een paar koolen van het veld werd *Plasmidiophora brassicae* WOR. aangetroffen, maar voor het verschijnsel van „achterblijven" kan deze parasiet geheel buiten beschouwing blijven.

§ 2. INFECTIEPROEVEN.

1. Infectie met „zieken" grond uit Utrecht afkomstig.

In de eerste plaats werd bloemkool in de kas gekweekt in potten met „zieken" grond. De heer TH. DE BRUYN uit Utrecht was zoo vriendelijk een hoeveelheid aarde van het terrein met „achterblijvende" bloemkoolplanten naar Wageningen op te

zenden. De grond werd verdeeld over 15 kleine en 7 grootere potten, waarvan 5 der eerste en 3 der laatste in de autoclaaf werden gesteriliseerd.

29 Juni 1925 werden in elk der kleine potten drie steriel opgegroeide bloemkoolkiemplantjes, die een paar dagen oud waren, en in elk der grootere potten één kiemplant van ongeveer vier weken gebracht. De temperatuur in de kas schommelde van 10—25° C.

Bij deze en alle volgende proeven is steeds gewerkt met de bloemkoolvariëteit „Haagsche vroege”.

De ziektesymptomen waren 't best op te merken aan de planten in de grootere potten. De drie contrôleplanten, groeiend dus in gesteriliseerde aarde, ontwikkelden zich krachtiger dan de vier andere, in „zieken” grond wortelend. Twee van deze planten bleven klein, hadden een dun stengeltje, vertoonden geen groei.

Het resultaat van 't onderzoek der planten in de kleine potten op 11 Augustus viel aldus uit:

Contrôle-planten: geen *Olpidium* en geen *Rhizoctonia*.

Van de 26 onderzochte planten in „zieke” aarde:

26 met *Olpidium* (zoösporangien en rustsporen),

2 met *Rhizoctonia*,

1 met *Plasmodiophora brassicae*.

Den 1sten September vertoonden de drie contrôleplanten in de grootere potten gezonde wortels, terwijl bij alle vier zieke planten *Olpidium* en bij drie er van duidelijk *Rhizoctonia* voorkwam.

De potproeven met „zieken” grond wezen dus eveneens op een algemeen optreden van *Olpidium*, terwijl *Rhizoctonia* *Olpidium* in tal van gevallen vergezelde.

Het was dus gewenscht, de werking van *Rhizoctonia* en *Olpidium* op bloemkool afzonderlijk na te gaan.

GRATZ (4) beschreef een koolziekte, de zgn. „wirestem of cabbage” voor Amerika, welke gelijksoortige verschijnselen vertoonde als de kool in Utrecht en die bij toeschreef aan *Corticium vagum* B. en C.

WORONIN (12) noemde *Chytridium Brassicae* WOR. de oorzaak van het omvallen van jonge koolplanten.

Volgens TOMSA (8) was de „Fallkrankheit” van Cruciferenkiemplantjes o.a. te wijten aan *Olpidium brassicae* WORON.

MATHILDE BENSAUDE (1) vermeldde het voorkomen van *Olpidium* in de wortels van koolkiemplantjes, welke geheel normaal opgroeiden. Morphologisch leek de schimmel volgens MATHILDE BENSAUDE zeer veel op de zwam, die WORONIN beschreef.

2. Infectie met *Rhizoctonia*.

Het isoleren van *Rhizoctonia* geschiedde van twee verschillende bloemkoolplanten, verzameld in Juni 1925. Stam K 9 werd gekweekt uit een worteltje en stam K 12 groeide op uit een sclerotium, dat aan den voet van een stengel voorkwam. Als voedingsbodem in de reinculturen diende peen.

Aangezien de bloemkoolplanten zoowel op het zaaibed als op het veld aan infectie konden zijn blootgesteld geweest, werden de volgende drie groepen van proeven ingezet:

- a. Infectie met *Rhizoctonia* van den grond in den zaaibak en opnieuw infectie bij het verplanten.
- b. Infectie in den zaaibak en bij 't verplanten geen infectie.
- c. Geen infectie in den zaaibak, wel infectie bij het verplanten.

De grond van zaaibakken en potten werd in de autoclaaf gesteriliseerd, het bloemkoolzaad onderging een desinfectie met sublimaat 2 ‰ gedurende 20 minuten.

Voor de groepen a en b werd de grond van een zaaibak op 9 plaatsen met een hoeveelheid reincultuur van *Rhizoctonia* besmet. Boven die plekken kwamen de zaden te liggen. De controle-bakken ondergingen dezelfde behandeling met steriele peen, terwijl voor proef c gezaaid kon worden zonder meer.

Het resultaat dezer zaaibakbesmetting is samengevat in Tabel I, 1e helft. Het blijkt, dat na 1 week van de 36 zaden in de geïnfecteerde bakken slechts 17 ‰ is opgekomen, terwijl de opkomst in de niet-besmette pannen totaal 83 ‰ bedraagt.

Het wegblijven der kiemplantjes in de geïnfecteerde aarde was toe te schrijven aan een snelle en sterke aantasting van worteltje en zaadlobben, zoodra deze uit 't zaad te voorschijn kwamen. De opgegraven plantjes bestonden uit een weeke, blauw-zwart gekleurde weefselmassa. Zoowel stam K 9 als K 12 werd gereïsoleerd. Ook de kiemplantjes, die aan 't daglicht waren getreden, stierven achtereenvolgens af. Drie weken na het zaaien kon tegenover een aantal van 32 in de vier niet-besmette bakken slechts 1 koolplantje in de vier infectie-zaaipannen vermeld worden.

Nadat de geïnfecteerde aarde in drie der bakken flink omgewerkt was, zoodat de *Rhizoctonia*-schimmel er meer verspreid in voorkwam, had een herhaling der proef plaats. Daarbij werden twee nieuwe controle-bakken aangelegd. De temperatuur in de kas bedroeg $\pm 20^{\circ}\text{C}$.

Volgens Tabel I, 2e helft was de opkomst van het zaad in de controle-bakken 95 ‰ en in de infectie-pannen 44 ‰. De meeste der ontwikkelde plantjes in besmetten grond vielen om door *Rhizoctonia*-aantasting. Drie weken na 't zaaien waren nog vier exemplaren in leven, waarvan één zeer klein.

TABEL I. ONTWIKKELING VAN BLOEMKOOL IN KUNSTMATIG MET RHIZOCTONIA (KOOL) BESMETTEN GROND.

TABLE I. DEVELOPMENT OF CAULIFLOWER IN SOIL ARTIFICIALLY CONTAMINATED WITH RHIZOCTONIA (CAULIFLOWER).

	Rhizo- cto- nia- stam	Ge- zaaid 12Aug.	Opge- komen 19 Aug.	Aangetast en niet aan de opper- vlakte gekomen.	Over- ge- bleven 2 Sept.	Ge- zaaid 19Aug.	Opge- komen 2 Sept.	Over- ge- bleven 9 Sept.
	Rhizo- ctonia- strain	Sown Aug. 12	Developed Aug. 19	Attacked and not reached the surface of the soil	Re- mained Sept. 2	Sown Aug. 19	Develo- ped Sept. 2	Re- mained Sept. 9
a	K 9	9	0	6	0	12	8	3
	K 12	9	1	8	0	11	5	0
b	K 9	9	4	4	1			
	K 12	9	1	7	0	11	2	1
con- trôle		9	9		8	9	9	
controls		9	8		9	12	11	
c		9	4		6			
		9	9		9			

Uit Tabel I is op te maken, dat stam K 12 iets krachtiger werkte dan stam K 9.

Dus in sterk met Rhizoctonia besmette aarde levert bloemkoolzaad weinig of geen planten.

Thans diende infectie bij het verplanten te worden toegepast.

Voor proef *a* en *b* kwamen in aanmerking de drie overgebleven planten uit het bakje, geïnfecteerd met stam K 9. Het geringe aantal was oorzaak, dat alleen proef *b* werd uitgevoerd. Eind September ondergingen de drie exemplaren een overbrengen in potten met gesteriliseerden grond. Ter vergelijking geschiedde 't verplanten tevens met drie even oude contrôle-planten. Ongeveer drie weken later hadden de laatst genoemde zich goed ontwikkeld, doch twee der planten uit het geïnfecteerde zaaibed afkomstig waren niets gegroeid, vertoonden een bruin, zacht weefsel onderaan den stengel, terwijl haar bladeren slap hingen. De derde plant maakte nog een gezonden indruk. Evenwel na zes dagen tijds was deze duidelijk minder fors dan de contrôle, ze had kleiner bladeren, dunnere bladstelen en korter en dunner hypocotyl; het microscoop toonde het voorkomen van Rhizoctonia op de wortels aan.

In de tweede plaats werd eind September proef *c* ingezet door 12 der $\pm$ 6 weken oude koolplantjes tegelijk met 12 gelijk ontwikkelde en even oude contrôle-planten van de zaaibakken in potten over te brengen. 6 planten ondergingen een infectie met stam K 9 en 6 met stam K 12. Tijdens 't verplanten werd een stuk peen overgroeid door de schimmel *Rhizoctonia* tusschen 't wortelstelsel verdeeld. De temperatuur in de kas schommelde van 10—20° C.

Ongeveer drie weken na de infectie bevonden zich de 12 contrôles in beste conditie, doch de 12 geïnfecteerde planten waren niet gegroeid en vertoonden de volgende ziekteverschijnselen: de bladeren waren meest slap, bij 7 planten bestond de stengelvoet uit een bruin, week weefsel, bij 4 had de stengelbasis een bruin, droog, ingesnoerd uiterlijk en bij 1 was de stengel nog niet aangetast. De planten met dunnen stengelvoet en wortel waren gemakkelijk uit den grond te trekken, er had zich bijna geen wortelstelsel ontwikkeld. Zij vertoonden een gelijksoortig beeld als de sterkst „achtergebleven” koolplanten op de tuinderij te Utrecht.

Beide stammen *Rhizoctonia* werden uit zieke planten opnieuw gekweekt.

Nadat op 19 October geïnfecteerde en contrôle-planten op acht na verwijderd waren en de besmette grond dooreengemengd was, had een herhaling der proef plaats met twee aan twee gelijk ontwikkelde, gezonde, twee maanden oude koolplanten. Reeds na een week was er verschil tusschen de beide reeksen te bespeuren, doordat de bladeren der geïnfecteerde partij na 't verplanten in erger mate slap hingen dan die der contrôles. Bovendien kenmerkten zich enkele der buitenste bladeren door 't bezit van een zachte, bruine plek aan de basis van hun steel. Vier dagen later hadden 3 der planten een weeken en 5 een dunnen, drogen stengelvoet (Pl. VI, fig. 1).

Alle geïnfecteerde planten, ook de vier, welke 19 October niet verwijderd waren, zagen er eind November alles behalve florissant uit: de buitenste bladeren waren verdord, de binnenste nog turgescens, de stengelbasis had een bruine plek. Een sterk contrast hiermee vormden de gezonde, frissche, flink gegroeide contrôle-planten.

De genomen infectieproeven leiden tot de conclusie, dat het „achterblijven” der bloemkoolplanten te Utrecht, wat de meest extreme gevallen betreft, op rekening gesteld kan worden van *Rhizoctonia*. De hoofdbron van infectie is waarschijnlijk in het veld te zoeken.

De vraag deed zich voor, of *Rhizoctonia* van de bloemkool

identiek is met *Hypochnus solani* P. en D. van de aardappelplant.

Ten einde deze vraag te kunnen beantwoorden, werden bloemkoolkiemplantjes onderworpen aan infectie met de *Rhizoctonia*-stammen van kool (K 9 en K 12) en met een *Rhizoctonia*-stam, geïsoleerd uit aardappel in 1925 door WELLENSIEK (9: zie blz. 236).

Uit gedesinfecteerd bloemkoolzaad ontwikkelden zich in den gesteriliseerden grond van 6 zaaibakken gezonde kiemplantjes ten getale van 16 per bak. Dertien dagen na het zaaien ving het infecteeren aan. Aan den voet van elk kiemplantje werd even onder het oppervlak der aarde een stukje reincultuur van *Rhizoctonia* gebracht of wel in 't geval der contrôles een klompje steriele peen. De temperatuur in de kas schommelde van 10 tot 20° C.

TABEL II. INFECTIE VAN BLOEMKOOLKIEMPLANTEN MET RHIZOCTONIA-STAMMEN UIT KOOL EN AARDAPPEL AFKOMSTIG.

TABLE II. INOCULATIONS OF CAULIFLOWER SEEDLINGS WITH RHIZOCTONIA-STRAINS ISOLATED FROM CAULIFLOWER AND FROM POTATO.

Rhizoctonia-stam	Ge-zaaid 14Nov.	Geïn-fec-teerd 27Nov.	Omge-vallen 30Nov.	Omge-vallen 2 Dec.	Omge-vallen 5 Dec.	Ge-zaaid 14 Dec.	Geïn-fec-teerd 28 Dec.	Omge-vallen 4 en 7 Jan.
Rhizoctonia-strain	Sown Nov. 14	Inocu-lated Nov. 27	Showing "dam-ping off" Nov. 30	Showing "dam-ping off" Dec. 2	Showing "dam-ping off" Dec. 5	Sown Dec. 14	Inocu-lated Dec. 28	Showing "dam-ping off" Jan. 4 and 7
K 9	16	15	0	6	14	16	15	12
K 12	16	14	1	14	14	16	13	13
Aardappel (potato)	16	16	0	0	0	16	11	0
Aardappel (potato)	16	14	0	0	0	16	15	0
Contrôle .. (controls)	16	16	0	0	0	16	14	0
Contrôle .. (controls)	16	15	0	0	0	16	14	0

Het resultaat van deze proef is aangegeven in Tabel II, 1e helft. Acht dagen na de infectie had stam K 12 100 % en stam K 9 93 % van de plantjes aan de basis aangetast. De bakken met de aardappel-*Rhizoctonia*-infectie telden evenmin als de contrôle-pannen eenig slachtoffer. Pl. VI, fig. 2 geeft den toestand weer,

zooals die vijf dagen na de infectie was. Het aantal omgevallen plantjes is op de afbeelding iets kleiner dan in de tabel staat vermeld, omdat een paar exemplaren voor nader onderzoek waren verwijderd. Het zachte weefsel aan den voet van het hypocotyl bleek grootendeels doorwoekerd met mycelium van *Rhizoctonia*. Reisolatie van stam K 9 zoowel als K 12 had plaats.

Bovengenoemde proef werd herhaald met een frisch geïsoleerden *Rhizoctonia*-stam van aardappel, gekweekt uit de sclerotiën op knollen. Het resultaat was hetzelfde. De tweede helft van Tabel II leert, dat stam K 12 100 %, stam K 9 80 % en *Rhizoctonia* van aardappel 0 % van de koolplanten aantastte. De beide kool-*Rhizoctonia*'s werden uit ziek materiaal opnieuw geïsoleerd.

Uit Tabel II valt af te leiden, dat stam K 12 krachtiger werkzaam was dan stam K 9, hetgeen reeds naar aanleiding van Tabel I is opgemerkt.

Ook oudere koolplanten gedroegen zich ten opzichte van de *Rhizoctonia*-stammen, uit kool en aardappel afkomstig, zeer verschillend.

Den 31en December werden 38 ongeveer 6 weken oude kiemplanten verspeend, telkens 1 per pot. Twaalf dagen later had infectie plaats bij 14 planten met aardappel-*Rhizoctonia*, bij 7 met stam K 9 en bij 7 met stam K 12, terwijl 10 als contrôle fungeerden. De temperatuur in de kas schommelde ongeveer van 10—20° C. Na 6 dagen had stam K 9 alle planten, stam K 12 6 van de 7 aangetast. De overige koolplanten waren eind Januari nog volkomen gezond. Beide stammen van kool-*Rhizoctonia* werden opnieuw geïsoleerd.

Ten slotte dient nog besproken de uitwerking van de kool-*Rhizoctonia* op de aardappelplant.

De infectie geschiedde 20 Juli '25 door 't plaatsen van een stuk peen, met *Rhizoctonia* overwoekerd, tusschen de spruiten van Eigenheimer-knollen, die elk in een pot met gekookte aarde gepoot werden. Zes ondergingen de behandeling met stam K 9, zes met stam K 12 en zes met den stam, geïsoleerd uit aardappel (9), terwijl een zestal als contrôle opgroeide. Aanvankelijk ontwikkelden de planten zich in de kas, naderhand werden de potten op het veld ingegraven. Nergens trad een *Hypochnus*-vorm op. Den 6den November werden de knollen van elke plant afzonderlijk gerooid en op de aanwezigheid van sclerotiën en mycelium van *Rhizoctonia* onderzocht. De uitslag was als volgt:

Contrôle: totaal 96 knollen: 0 % met scler. of myc.

Infectie met stam K 9: totaal 125 knollen: 46 % met scler., 36 % met myc., 18 % gezond.

Infectie met stam K 12: totaal 107 knollen: 64 % met scler., 20 % met myc., 16 % gezond.

Infectie met aardappel: totaal 158 knollen: 85 % met scler., 11 % met myc., 4 % gezond.

De aardappel-Rhizoctonia had dus de sterkste vorming van sclerotiën veroorzaakt, echter ook de beide koolstammen ontwikkelden kleine sclerotiën op de knollen.

Nogmaals werd een proef ingezet, om de aantasting van den stengel der aardappelplant na te gaan. Het poten van 35 Eigenheimer-knollen met spruiten in 35 potten met gesteriliseerde aarde had 29 Januari 1926 in de kas plaats. Elf dagen later nam het infecteeren een aanvang. Aan de basis der jonge, juist boven den grond verschenen stengels werd een hoeveelheid reincultuur gebracht. Acht planten ondergingen de infectie met stam K 9, acht met stam K 12 en elf met de aardappel-Rhizoctonia. Ter vergelijking dienden 8 contrôle-knollen.

Toen de planten 23 Maart aan een onderzoek werden onderworpen, bleken de 8 contrôles en de 16 kool-Rhizoctonia-infecties geen ziek materiaal op te leveren. Slechts aan 1 stengel, besmet met stam K 9, was een klein, bruin vlekje te bespeuren. De aardappel-Rhizoctonia gaf echter een ander resultaat. Acht van de elf geïnfecteerde planten vertoonden bruine, ingezonken plekken aan de ondergrondsche stengeldeelen. De aangetaste spruiten waren vaak klein gebleven of soms half afgestorven.

De proeven leeren dus, dat de kool-Rhizoctonia in physiologisch opzicht verschilt van *Hypochnus solani* P. & D. van de aardappelplant.

GRATZ (4) verkreeg dezelfde resultaten. Ook in zijn experimenten toonde de *Corticium vagum*-stam van kool zich physiologisch verschillend van dien van aardappel. Echter de Hollandsche kool-Rhizoctonia vormde duidelijke, kleine sclerotiën op de aardappelknollen van geïnfecteerde planten, terwijl de Amerikaanse stam daartoe niet in staat bleek.

3. Infectie met *Olpidium*.

Daar *Olpidium* in zijn voeding uitsluitend op levende plantendeelen is aangewezen, stuitte het maken van een reincultuur op grootter moeilijkheden dan dit bij *Rhizoctonia* het geval was. Twee wegen werden ingeslagen: ten eerste werd *Olpidium* gekweekt op steriele kiemplantjes van kool in buizen en ten tweede op koolplantjes in gesteriliseerde aarde. Andere schimmels konden geheel worden buitengesloten. Daar de tweede methode de grootste hoeveelheid besmettingsmateriaal leverde, vond zij bij het nemen der infectieproeven toepassing.

Zoodra zich uit gedesinfecteerde bloemkoolzaden in een petrischaal met Knop's oplossing-agar kiemplantjes hadden ontwikkeld, werden een paar afgespoelde wortels van een zieke koolplant uit Utrecht in een kleine hoeveelheid water gelegd. Reeds na 5 à 10 minuten kwamen de zoösporen van *Olpidium* vrij. Het water werd door een lapje batist gefiltreerd en een druppel van 't filtraat onder het microscoop gebracht. Door weinig licht te laten doorvallen, zag men reeds bij zwakke vergrooting de zwerm-sporen sprongsgewijze zich voortbewegen. Was een voldoende aantal zoösporen aanwezig, dan ontving elk worteltje der steriele kiemplantjes in de petrischaal een druppel van het filtraat. Enkele der plantjes werden na een paar dagen onderzocht. Het bleek, dat de worteltjes vele zoösporangïën bevatten, terwijl van andere schimmels geen spoor was te ontdekken. Twee of drie van dergelijke geïnfecteerde plantjes ontwikkelden zich verder in een potje met gesteriliseerden grond, waarin nog wat gedesinfecteerd koolzaad werd gestrooid, om over een flinke quantiteit culture te kunnen beschikken. Als grondsoort kwam in aanmerking de reeds genoemde Utrechtsche aarde en verder de Aalsmeersche bagger. De keuze viel op die beide sterk vochthoudende bodems, omdat vermoed werd, dat de aanwezigheid van water gunstig op de *Olpidium*-infectie zou inwerken. Een overvloedige begieting vond dan ook toepassing. De vrijkomende zoösporen moesten steeds weer de gezonde worteldeelen besmetten.

Wanneer voor de proeven infectiemateriaal noodig was, werden de planten uit de potjes geschud, afgewassen en de zoösporen in een hoeveelheid water opgevangen. Besmetting had plaats, door met 't gefiltreerde vocht de planten te begieten. Van tijd tot tijd werd de voorraad *Olpidium*-zieke koolplantjes aangevuld.

De eerste infectieproef met *Olpidium* was evenals die met *Rhizoctonia* in drie groepen verdeeld:

- a. Infectie in den zaaibak en opnieuw bij 't verplanten.
- b. Infectie in den zaaibak en bij het verplanten geen infectie.
- c. Geen infectie in den zaaibak, wel infectie bij het verplanten.

De zaaipannen en potten met aarde waren vooraf in de autoclaaf gesteriliseerd.

Voor proef *a* en *b* geschiedde de eerste infectie als volgt:

Steriele kiemplantjes van kool, ontwikkeld in een petrischaal met Knop's oplossing-agar, werden elk afzonderlijk in een druppel steriel water op een steriel voorwerpglas gebracht gelijk met een klein stukje afgewassen wortel van een koolplantje, opgegroeid in een potje met „zieken” grond. Vier aldus behan-

delde objectglazen kwamen in een petrisschaal, waarvan het deksel met nat filtreerpapier was bekleed, in een vochtige atmosfeer te liggen. Wanneer na een minuut of vijf uit microscopisch onderzoek viel op te maken, dat een voldoende hoeveelheid zoösporen rondkrioelde en geen schimmeldraden den druppel verontreinigden, werd het zieke wortelstukje verwijderd, het plantje een paar keer in 't vocht heen en weer bewogen en daarna het voorwerpglas in de schaal teruggebracht. Den volgenden dag waren de zwerm-sporen reeds gedeeltelijk binnengedrongen. Voorzichtig werden toen de plantjes in de zaaibakken geplant.

De contrôle-kiemplantjes ondergingen dezelfde behandeling met steriel water.

Aldus waren 18 Augustus '25 voor proef *a* en *b* in orde gemaakt:

4 zaaibakken elk met 9 contrôle-plantjes en

4 zaaibakken elk met 9 geïnfecteerde plantjes.

Twee contrôle- en twee infectie-bakken werden normaal, de andere extra sterk begoten. In hoofdzaak moesten telkens de vrijkomende zoösporen voor nieuwe infectie zorg dragen, soms ontvingen de planten een hoeveelheid zoösporen-bevattend water (zie blz. 218).

Wat proef *c* betreft, deze bestond uit 4 bakken, in elk waarvan op 12 Augustus 9 gedesinfecteerde zaden waren gebracht.

Het resultaat van proef *a* en *b* was den 2den September als volgt:

De sterk begoten partij had zich beter dan de andere ontwikkeld. De onderlinge vergelijking leerde, dat in 't algemeen de geïnfecteerde planten iets kleiner waren dan de contrôles, groot was 't verschil echter niet. Van één der besmette exemplaren werd het wortelstelsel onderzocht: alle wortels zaten vol zoösporangïën, ook waren vele rustsporen aanwezig.

Verplanten had plaats den 17den September, waarbij het wortelstelsel vooraf een kunstmatige inkorting onderging. Er werd namelijk verondersteld, dat *Olpidium* de grootste schade zou teweegbrengen aan koolplanten, die door 't verspenen aanmerkelijk waren verzwakt. Bij 't etiquetteren verkregen telkens een ongeveer gelijk ontwikkelde contrôle- en besmette plant hetzelfde nummer. Elk exemplaar werd afzonderlijk in een pot gezet.

Er waren drie groepen van planten:

a. 14 planten, die opnieuw werden geïnfecteerd, met 14 contr.

b. 12 „ „ niet meer „ „ „ 12 „

c. 14 „ „ nu pas „ „ „ 14 „

Ook nu was de eene helft aan een normale, de andere aan een overvloedige begieting onderworpen. Infectie geschiedde van

tijd tot tijd door het toevoegen van een bepaalde hoeveelheid water met zoösporen.

6 October werden de planten nader onderzocht:

a.	2	van de 7	normaal begoten	planten	} waren iets minder ontwikkeld dan de contrôleplanten.
4	„	„	7 sterk	„ „	
b.	1	„	„	6 normaal	
1	„	„	„	6 sterk	
c.	3	„	„	7 normaal	
2	„	„	„	6 sterk	

Uit de proeven viel dus te concluderen, dat een geringe vertraging in den groei van bloemkoolplanten te velde veroorzaakt kan worden door een aantasting van *Olpidium* na het verplanten, al of niet voorafgegaan door een infectie op het zaaibed. Het microscopisch onderzoek der wortels leerde, dat in het algemeen *Olpidium* rijker vertegenwoordigd was in de extra vochtig gehouden dan in de normaal besproeide koolplanten.

Dat een groot watergehalte van den bodem de infectie met *Olpidium* zeer in de hand werkt, bleek voorts uit de volgende proef:

Kool werd gezaaid in twee kleine potten met „zieken” Utrechtschen grond. Gedurende 26 dagen ontving de eene totaal 440 c.M.³, de andere 130 c.M.³ water. In de vochtige aarde ontwikkelden de planten zich verreweg 't best. Van elke partij werden 10 willekeurig gekozen worteltjes onderzocht: bij de weinig begoten exemplaren was *Olpidium* in 2, bij de sterk besproeide in alle 10 worteltjes aanwezig.

Een groot aantal regendagen en een weinig doorlaatbare bodem zijn dus factoren, die de *Olpidium*-ziekte sterk zullen bevorderen. Nu telden de maanden Maart, April en Mei van het jaar 1925 vele dagen met neerslag. De waarnemingen te De Bilt waren als volgt:

	Neerslag 0.1 m.M. of meer	Hoeveelheid
Maart	17 dagen	40 m.M.
Maart (gem. over 1881—1905)	13 „	49 „
April	15 „	48 „
April (gem. over 1881—1905)	12 „	43 „
Mei	17 „	76 „
Mei (gem. over 1881—1905)	12 „	52 „

Tevens was de aarde van het „zieke” terrein slecht doorlaatbaar. Beide factoren werkten dus in de hand, dat de zoösporen volop gelegenheid hadden te ontsnappen en andere wortels op te zoeken en binnen te dringen.

Daar tot dusver de kunstmatige infectie met *Olpidium* slechts tot een gering achterblijven in groei van bloemkoolplanten had geleid, werd getracht kool aan een intensievere besmetting te onderwerpen.

In twee potjes met gesteriliseerde Utrechtsche aarde werd een gelijke hoeveelheid bloemkoolzaad gebracht. Beide partijen ontvingen veel, doch precies dezelfde quantiteit vocht. De temperatuur in de kas schommelde van 10—20° C. Vanaf het tijdstip, dat de plantjes te voorschijn kwamen, verkreeg één der potjes iederen dag eenig water, dat zwerm-sporen van *Olpidium* bevatte. Het was na twee weken goed zichtbaar, dat de geïnfecteerde plantjes iets minder hard gegroeid waren dan de contrôles. Er had zich behalve de zaadlobben één stengelblaadje ontwikkeld. De grootte van 't stengelblad was een maatstaf tot rangschikking der plantjes in drie groepen: met klein, middelgroot en groot blad.

	1e groep	2e groep	3e groep
Verdeeling der 26 contrôle-planten	10 pl.	8 pl.	8 pl.
„ „ 26 geïnfect. „	9 pl.	13 pl.	4 pl.

Meting van het hypocotyl leidde tot de volgende verschillen:

Lengte van het hypocotyl	Aantal contrôle-planten	Aantal geïnfecteerde planten
1½—2 cM.	1	6
2½—3 cM.	9	12
3½—4 cM.	13	8
4½—5 cM.	3	0

Het wortelstelsel der geïnfecteerde planten was over het geheel geler van tint dan dat der contrôles. Het microscopisch beeld der zieke wortels toonde een groote hoeveelheid zoösporangien.

Het bleek, dat ook een voortdurende toevoeging van zoösporen tot een geringe groeivertraging der koolplanten aanleiding gaf.

Vervolgens werd onder oogen gezien, of een sterke aantasting door *Olpidium* de koolplanten mogelijk minder bestand deed zijn tegen droogte.

In vier zaaipannen met gesteriliseerde aarde groeiden per bak ongeveer honderd koolplantjes op. De bakken werden alle gelijkmatig begoten. Spoedig, nadat de zaadlobben zich hadden ontplooid, begon de infectie met zoösporen-bevattend water in twee der zaaipannen. Van 24 April '26 tot 5 Mei had de besmetting achtmaal plaats. Daarna brak de droge periode aan. Tot 10 Mei werd slechts 30 cM³ water aan elken bak toegevoegd. Van vlugger verwelken der geïnfecteerde plantjes was echter geen sprake. Den 11den Mei begon het gieten en besmetten opnieuw. Van dit tijdstip af werd een andere methode toegepast.

Een paar flink ontwikkelde koolplanten, elk groeiend in een pot met gesteriliseerden grond, waren kunstmatig met *Olpidium* besmet. De diverse wortels fungeerden als zoösporen-reservoir, dat van tijd tot tijd geledigd kon worden. Daartoe werd één der potten van buiten schoon gewassen, op een steriele petrischaal geplaatst en sterk begoten. Nadat het vocht een tijdlang was doorgesijpeld, bleek uit microscopisch onderzoek, dat in het lekwater een groot aantal zoösporen van *Olpidium* rondkrioelde. Op die wijze verkreeg men een groote hoeveelheid infectie-vloeistof. Na een dag of wat hadden zich genoeg nieuwe sporangiën gevormd, zoodat opnieuw tot aftappen kon worden overgegaan.

Op 17 Mei had overplanten van telkens vier kiemplanten in potten met gesteriliseerden grond plaats. Acht der potten waren gevuld met Utrechtsche aarde, de andere met een mengsel van klei, turfmoel, zand en mest. De geïnfecteerde en contrôle-planten stonden naar de grootte gerangschikt in dezelfde volgorde aan weerszijden van de kas. Besmetting geschiedde van 18—22 Mei driemaal, van 28 Mei—4 Juni vijfmaal en van 10—14 Juni driemaal. De tusschenliggende data waren droogte-perioden, tijdens de laatste bevonden de planten zich buiten in de zon.

Den 15den Juni kwamen de planten voor onderzoek in aanmerking. Te beginnen met de oorspronkelijk grootste werden 5 infectie- en 5 contrôle-partijtjes gevormd en tot bosjes gebonden.

Er was zorg gedragen, dat de twee aan twee bij elkaar behoorende bossen een gelijke dikte hadden. Het verschil in grootte was goed zichtbaar (vergel. Pl. VI, fig. 3).

In de Utrechtsche aarde (1e bos) waren de planten niet zoo sterk gegroeid als in het grondmengsel der overige potten.

Ook in gewicht onderscheidden de partijen zich aanmerkelijk.

Contrôle-bos 1, 12 planten, woog	73 Gr.
(Control-bunch)	(weighed)
Infectie -bos 1, 12 „ „	55 Gr.
(Inoculated-bunch)	
Contrôle-bos 2, 16 „ „	150 Gr.
Infectie -bos 2, 16 „ „	98 Gr.
Contrôle-bos 3, 31 „ „	213 Gr.
Infectie -bos 3, 31 „ „	150 Gr.
Contrôle-bos 4, 32 „ „	185 Gr.
Infectie -bos 4, 32 „ „	180 Gr.
Contrôle-bos 5, 39 „ „	210 Gr.
Infectie -bos 5, 39 „ „	155 Gr.

Voorts werden de 59 planten der eerste drie partijen onderling vergeleken, door verschillende metingen uit te voeren. Het resultaat er van is weergegeven in Tabel III.

Al leidde het uitdrogen der aarde dan ook niet tot snellere verwelking der geïnfecteerde koolplanten, uit Tabel III is duidelijk op te maken, dat *Olpidium* een achterblijven in groei veroorzaakte. Het is dus zeer waarschijnlijk, dat *Olpidium* bij de groeivertraging der bloemkool in Utrecht een rol heeft gespeeld.

In geen der infectieproeven was ooit sprake van eenige rotting van het parenchymatisch weefsel onderaan het hypocotyl der koolkiemplantjes, zooals WORONIN (12) aangaf voor *Chytridium Brassicae*.

Veelmeer kwam het bestudeerde ziektegeval overeen met de beschrijving eener *Olpidium*-aantasting van kool door MATHILDE BENS AUDE (1). Terwijl zij in Wisconsin werkte aan een wortelziekte van tomaat en tabak, merkte zij *Olpidium* in de wortels op. Het zaaien van kool in den besmetten grond leidde tot volkomen normale plantjes, ofschoon uit nader onderzoek bleek, dat de wortels sterk geïnfecteerd waren.

De fungus *Olpidium* gevonden door MATHILDE BENS AUDE in Amerika en door schrijfster in Holland geleek morphologisch veel op de schimmel beschreven door WORONIN. Deze auteur echter vond *Olpidium* ook in het hypocotyl en de *Olpidium*-soort, waarvan in dit stuk sprake is, kwam in het hypocotyl niet voor. WORONIN sprak slechts over ronde zoösporangïën, die ieder van één hals waren voorzien. MATHILDE BENS AUDE en schrijfster daarentegen namen behalve bolvormige ook langwerpige zoösporangïën waar. De zeer langgerekte sporangïën droegen twee tot zes halzen.

DE WILDEMAN (10 en 11) beschrijft als aparte soort *Olpidium Borzii*, in 1896 genoemd *Olpidium radicolium*, welke langwerpige zoösporangïën met één tot vele halzen vormt. Deze fungus werd

TABEL III. GEMIDDELDE MATEN VAN HYPOCOTYL, STENGEL EN BLADEREN, UITGEDRUKT IN C.M. VAN 59 AL- EN NIET MET OLPIDIUM GEÏNFECTEERDE BLOEMKOOLPLANTEN.

TABLE III. RESULTS OF MEASURING HYPOCOTYLS, STEMS AND LEAVES OF 59 CAULIFLOWER SEEDLINGS ARTIFICIALLY INOCULATED WITH OLPIDIUM AND OF 59 CONTROLS.

	Lengte hypocotyl Length of hypocotyl	Lengte stengel Length of stem	Dikte stengel Thickness of stem
Contrôle-planten Control plants	5,06	8,04	0,53
Geïnfecteerde planten Inoculated plants	4,83	6,73	0,45

	Lengte steel Length of petiole	Lengte bladschijf Length of lamina	Breedte bladschijf Breadth of lamina
1e blad. 1st leaf			
Contrôle planten....	5,51	4,68	2,91
Geïnfecteerde planten	5,80	4,70	2,76
2e blad.			
Contrôle planten....	6,85	6,65	3,94
Geïnfecteerde planten	6,22	5,82	3,40
3e blad.			
Contrôle planten....	9,39	8,09	4,65
Geïnfecteerde planten	8,47	7,14	4,10
4e blad.			
Contrôle planten....	10,17	10,51	5,96
Geïnfecteerde planten	9,27	9,32	5,32
5e blad.			
Contrôle planten....	9,14	9,04	5,62
Geïnfecteerde planten	8,12	7,91	5,00
6e blad.			
Contrôle planten....	5,34	6,02	3,94
Geïnfecteerde planten	4,09	4,79	3,11
7e blad.			
Contrôle planten....	1,67	2,78	1,71
Geïnfecteerde planten	1,00	1,82	1,10

gevonden in de wortels van *Brassica oleracea* en *Capsella bursa-pastoris*.

Voordat met zekerheid de soort *Olpidium* van kool kan beschreven worden, zal het noodig zijn van één enkele zoöspore uit te gaan, om te bestudeeren, of ronde en langwerpige zoösporangïën beide bij één en dezelfde soort voorkomen.

Daar WORONIN geen enkele infectieproef heeft genomen, is het de vraag, of de door hem microscopisch waargenomen *Olpidium Brassicae* werkelijk de oorzaak van het omvallen der koolkiemplantjes was. De ziekte trad op in het voorjaar, wanneer de plantjes zich nog in de mestbedden bevonden. Kan *Rhizoctonia* of *Pythium de Baryanum* HESSE daarbij geen rol gespeeld hebben?

§ 3. HET VOORKOMEN VAN OLPIDIUM IN KOOL EN ANDERE PLANTEN.

Olpidium schijnt vrij algemeen in koolplanten op te treden. De zwam werd waargenomen in achterblijvende bloemkool, afkomstig uit een tuinderij in de buurt van Amsterdam en bij overigens gezond uitzijende koolplanten van Koedijk.

De eigenaar van het reeds besproken terrein te Utrecht, de heer TH. DE BRUYN, was zoo vriendelijk aan onze wenschen tegemoet te komen, en op drie plekken buiten de zieke bloemkoolvelden een partijtje „Haagsche vroege” te zaaien. Oogen-schijnlijk groeiden de planten volkomen gezond op. Van twintig exemplaren uit elke groep werd successievelijk één stukje wortel microscopisch bekeken. Het percentage, dat *Olpidium* bevatte, bedroeg achtereenvolgens 100, 95 en 95. De bodem van het geheele terrein bleek dus met *Olpidium* besmet te zijn. Midden September waren in een perceel groene kool eenige slechte groeiers op te merken. Het microscopisch onderzoek der wortels wees op een sterke infectie met *Olpidium*.

Ten einde na te gaan, of *Olpidium* ook in een of meer onkruiden voorkwam, werden in Juni 1925 op het „zieke” koolveld te Utrecht eenige exemplaren verzameld van: *Urtica urens* L., *Solanum nigrum* L., *Euphorbia* spec., *Stellaria media* CYRILLO, *Lamium purpureum* L., *Polygonum Persicaria* L. en *Chenopodium album* L. De microscopische studie der wortels gaf in alle gevallen behalve voor *Chenopodium album* een negatief resultaat.

Volgens SORAUER (7) vond K. PREISSECKER *Olpidium nictianae*, waarschijnlijk een variëteit van *Olpidium brassicae*, welke geelzucht der tabaksplantjes veroorzaakte, ook in de wortels van *Chenopodium album*, *Portulaca oleracea* en koolkiemplantjes.

Grenzend aan het koolveld te Utrecht lag een perceel met bietplantjes. Merkwaardigerwijs werden in de wortels hiervan zoösporangïën en een rustspore van *Olpidium* aangetroffen.

MATHILDE BENSAUDE (1) vermeldde het optreden van *Olpidium* in de wortels van tabak en kool, welke planten zich normaal ontwikkelden.

PETERS en SCHWARTZ (6) schreven evenals PREISSECKER de zgn. geelzucht van tabakskiemplantjes, waarbij de aangetaste exemplaren aan de basis rotten en omvielen, aan *Olpidium Brassicae* (Wor.) toe. Deze ziekte trad herhaaldelijk in Dalmatië en Oostenrijks-Galicië in de zaaibedden op, waar de tabak door ongunstige uitwendige factoren te lijden had.

Den 10den September 1925 werd in een potje met „zieken” Utrechtschen grond kool en tabak beide gezaaid. De plantjes ontwikkelden zich zonder bepaalde ziekteverschijnselen te vertoonen. Den 21sten December leerde het microscopisch onderzoek der wortels van 5 tabaks- en 5 koolplanten, dat de eerstgenoemde geen, de laatste 100 % *Olpidium* herbergden.

Hetzelfde resultaat gaf de zoösporen-besmettingsproef van kool en tabak, groeiend in een pot gesteriliseerde aarde. *Olpidium* bleek aanwezig te zijn in alle zestien koolplanten en in geen der twintig tabaksplantjes.

Olpidium van kool was dus niet in staat tabak te infecteeren. Van de andere acht verschillende plantensoorten kwam *Olpidium* in geringe mate bij twee *Chenopodiaceeën* voor, n.l. biet en *Chenopodium album*. *Olpidium* van kool schijnt dus vrij sterk gespecialiseerd te zijn.

§ 4. HET BINNENDRINGEN VAN OLPIDIUM IN DE BLOEMKOOLPLANT.

Olpidium vormt in de epidermis der koolwortels bolvormige of langwerpige zoösporangïën. Hieraan ontwikkelen zich bij rijpheid buisvormige verlengsels, de z.g. „halzen”, waaruit de zoösporen te voorschijn treden.

Aangezien MARCHAL (5) voor *Asterocystis radialis* D. WILD. een zwakke oplossing van joodjoodkali als kleurmiddel gebruikte, werd betreffende *Olpidium* een proef genomen met chloorzinkjodiumoplossing, die toevallig direct bij de hand was. Het plasma der nog niet gerijpte sporangïën kleurde zich roodbruin, de zoösporen-inhoud geelbruin. Liet men bij een preparaat met rondzwemmende zoösporen een weinig chloorzinkjood aan den rand van het dekglas toevloeien, dan werd duidelijk één

trilhaar aan elke zwerm-spore waargenomen. Het bolvormig lichaam der zoöspore is $3\ \mu$ in diameter, het flagel heeft een lengte van 14 à 15 μ .

De eerste waarneming omtrent het binnendringen van *Olpidium* geschiedde begin Juni 1925. Den 28sten Mei werd in sublimaat $2\ \text{‰}$ ontsmet bloemkoolzaad in petrischalen met wateragar te kiemen gelegd. Infectie had 2 Juni plaats, door in een druppel leidingwater rondom de jonge worteltjes een stukje wortel van zieke kool uit Utrecht te brengen. Vooraf was microscopisch vastgesteld, dat het toegevoegde materiaal zoösporangïën van *Olpidium* bevatte. De schalen werden geplaatst in een vertrek, waar een temperatuur van $8\text{--}10^\circ\text{C}$. heerschte. Den volgenden dag bleek uit microscopisch onderzoek van één der plantjes, dat de zoösporen bezig waren in de wortelharen naar binnen te dringen (Pl. VII, fig. 1 en 2). Dwars door den wand van een wortelhaar heen ledigden de zwerm-sporen hun inhoud, welke als afgerond of langwerpig klompje in het inwendige van het wortelhaar zichtbaar was. Aan den buitenkant kleefden de resteerende dunne, ronde huidjes der zoösporen. Verdere bijzonderheden werden niet waargenomen, want al spoedig trad plasmolyse in de wortelharen op. Van 4 tot 10 Juni groeide het plantje op in een potje met gekookten grond, waarna het voor microscopisch onderzoek in aanmerking kwam. Er waren zoösporangïën aanwezig en nadat het preparaat gedurende een dag bij kamertemperatuur bewaard was, hadden zich de typische „halzen” ontwikkeld. Er had dus blijkbaar hier en daar volkomen infectie plaats gevonden.

Deze voorloopige waarneming bevestigde het vermoeden van CHUPP (2): „The organism (*Olpidium*) evidently enters by way of the root hairs.” CHUPP kreeg *Olpidium* toevallig onder oogen tijdens zijn studie over *Plasmodiophora brassicae* WOR. Hij beschreef 2—12 vreemde kernen van $3\text{--}4\ \mu$ diameter in wortelharen en epidermiscellen, die kleiner waren dan de kernen der hospescellen en deelde daaromtrent mede: „They appear to be entire swarmspores containing no visible cytoplasm.”

Voordat tot een nauwkeuriger studie omtrent het binnendringen van *Olpidium* werd overgegaan, was het van belang den invloed van de temperatuur op de infectie te bepalen, opdat onder optimale omstandigheden gewerkt kon worden.

Daartoe werd gedesinfecteerd bloemkoolzaad in zes petrischalen met Knop's oplossing-agar te kiemen gelegd. Zes dagen later ontvingen tien jonge worteltjes in elk der schalen een druppel water, dat zoösporen van *Olpidium* bevatte. Onmiddellijk daarna werden de schalen geplaatst in thermostaten

van verschillende temperatuur: 5°, 10°, 15°, 20°, 25°, en 30° C. Na een verblijf van vier dagen in genoemde ruimten geschiedde het microscopisch onderzoek van één plantje uit elke schaal direct, van de rest, bewaard in 70 % alcohol, later door kleuring met chloorzinkjood. De proef leerde, dat de worteltjes bij 5° C. absoluut niet, bij 30° C. weinig, bij 25° C. iets meer waren geïnfecteerd. De sterkste besmetting trad op bij 20°, 15° en 10° C. In het laatste geval waren de zoösporangïën alle in onrijpen toestand. In de plantjes, blootgesteld aan een temperatuur van 15° C., bevatten de sporangïën zoösporen en hadden halzen gevormd. Ten slotte bleken de worteltjes uit de thermostaat van 20° C. zeer sterk besmet te zijn en behalve rijpe ook leeg sporenzakjes te herbergen, tevens werden bij deze exemplaren een paar rustsporen waargenomen.

Uit deze proef viel dus te concludeeren, dat het optimum voor infectie met *Olpidium* tusschen 15° en 20° C. te zoeken is.

Bij het bestudeeren van het binnendringen van *Olpidium* kwam het niet zoo zeer op de quantiteit als wel op de qualiteit van het infectiemateriaal aan. Ten einde een zoo zuiver mogelijke cultuur van de schimmel te verkrijgen, werd *Olpidium* gekweekt in steriele koolplantjes, groeiend ten getale van $\pm$ zes in buizen, welke voor een derde met puimsteen en Knop's oplossing gevuld waren. 15 October 1925 geschiedde de eerste infectie in 6 buizen door bijvoegen van steriel water, waarin de zoösporen van *Olpidium* uit zieke koolworteltjes waren opgevangen. Vijf dagen later werden twee plantjes uit één der buizen in steriel water afgespoeld en daarna gedompeld in een kleine hoeveelheid steriel water op den bodem van een buis. Het microscoop toonde aan, dat het vocht na eenigen tijd wemelde van de zoösporen en slechts weinig bacteriën telde, terwijl zich in de twee worteltjes leeg en onrijpe zoösporangïën van *Olpidium* bevonden. De zoösporensuspensie zorgde voor infectie van steriele koolplantjes, inmiddels in andere buizen tot ontwikkeling gekomen. De pas behandelde buizen vertoefden een paar dagen in de thermostaat van 20° C., de optimale temperatuur voor infectie, en werden daarna in het licht gezet. Deze eerste overentingen leverden weer zoösporen voor een tweede serie buizen met steriele planten, deze voor een derde, enz. Steeds vonden dezelfde manipulaties toepassing. Tot 1 Februari 1926 werd aldus twaalf maal overgeënt.

De studie van 't binnendringen der zoösporen begon 17 Dec. 1925. Drie plantjes van cultuur no. 6, welke tien dagen tevoren was ingezet, werden in steriel water afgewassen en de worteltjes gedeponneerd in een druppel steriel water op drie afzonder-

lijke steriele voorwerpglazen. In het eene geval zag men na een paar, in het andere na tien minuten de eerste zoösporen rond-zwemmen. Enkele dagen tevoren, 14 December, was gedesinfecteerd bloemkoolzaad in een steriele petriskaal met vochtig filtreerpapier te kiemen gelegd. In elken druppel zoösporen-vloeistof werd nu een steriel koolplantje gebracht en ieder object-glas geplaatst in een steriele petriskaal, waarvan de deksel van vochtig filtreerpapier was voorzien. Voormiddags 9.50, 10.10 en 10.20 uur kregen de schalen achtereenvolgens een plaats in de thermostaat van 20° C.

Na een uur zwommen nog eenige zoösporen rond. Half twaalf werd uit preparaat 1 het zieke wortelstukje verwijderd en een dekglas over 't worteltje van het steriele plantje gelegd. Uit 't microscopisch onderzoek was op te maken, dat de zoösporen tot rust waren gekomen, veelal lagen ze tegen de wortelharen aan. Om uitdrogen van het object te voorkomen, werd voorzichtig aan den rand van het dekglas steriel water toegevoegd. Aldus bleef het preparaat tot 1.50 uur n.m. onder het microscop liggen. Toen was het tijdstip van binnendringen der zoösporen aangebroken. In het gezichtsveld lag een wortelhaar, met een zevental bolvormige lichaampjes van 3μ , de tot rust gekomen zoösporen, tegen den wand gedrukt. Ongeveer om twee uur werd van twee der zoösporen de inhoud binnen en het omhulsel buiten het wortelhaar waargenomen. Klaarblijkelijk hadden de zoösporen dus een wandje gevormd, nadat zij tot stilstand waren gekomen. Een half uur later was het inwendige klompje eenigszins gerekt van vorm, om kwart voor drie schoot plotseling een rond lichaampje van $\pm 3\mu$ diameter met vrij snelle beweging in de richting van de basis van het wortelhaar. Het bolletje keerde echter op zijn weg terug, lag soms stil, veranderde nogmaals van koers, totdat eindelijk na eenige malen heen en weer trekken het regelrecht basaalwaarts bewoog en in de epidermiscel verdween. 't Was ongeveer drie uur, toen het hier aanlandde.

Dus in een uur tijds was de inhoud der zoöspore in het wortelhaar doorgedrongen en had de plaats zijner bestemming, de epidermiscel, bereikt. Eigen actieve beweging vertoonde het bolletje niet, hoogstwaarschijnlijk diende het stroomende protoplasma van het wortelhaar als vervoermiddel. In navolging van Miss CURTIS (3), die in haar publicatie over *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) PERC. den term prosorus invoerde, stel ik voor in 't geval van *Olpidium* den naam prozoösporangium of kortweg prosperangium te geven aan de stadiën gelegen tusschen afgeronden zoösporenhoud, zoodra deze door 't protoplasma

van 't wortelhaar wordt meegevoerd, en het begin van zoösporenvorming in het sporangium.

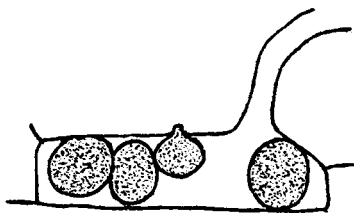
Ondertusschen was het om 3.03 uur een tweede zoöspore gelukt binnen te dringen en iets later een derde. Op een gegeven moment passeerden de twee prosperangiën elkaar binnen 't wortelhaar, het was moeilijk ze beide te volgen. Vijf minuten voor half vier verdween één ervan in de epidermiscel, iets later de andere.

Een prosperangium, dat 4.13 n.m. in beweging geraakte, dreef



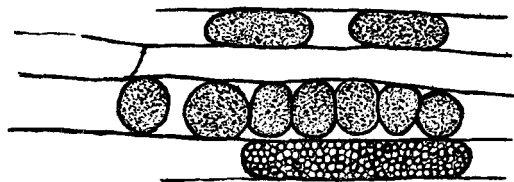
× 350.

Fig. 1.



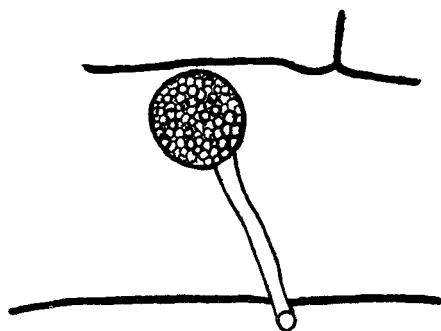
× 350.

Fig. 2.



× 350.

Fig. 3.



× 750.

Fig. 4.

vrijwel regelrecht naar beneden en bereikte reeds na zeven minuten de epidermiscel.

Het wortelhaar vertoonde duidelijke litteekens, waar infectie had plaats gegrepen, en waar de resteerende zoösporenhuidjes nog aan de oppervlakte zaten. Er trad geen storende plasmolyse op.

's Middags om vijf uur werd het preparaat weer in de petri-schaal teruggebracht en deze in de thermostaat van 20° C. gezet.

De prosperangiën van *Olpidium* werden reeds door CHUPP (2) waargenomen als de 2—12 vreemde kernen van 3—4 μ diameter in wortelharen en epidermiscellen.

Den volgende morgen leerde het microscopisch onderzoek, dat de in de epidermiscellen gearriveerde prozoösporangiën

van $3\ \mu$ zich ontwikkeld hadden tot lichaampjes van $8\text{--}13\ \mu$ diameter, terwijl ongeveer 24 uur later de grootte $13\text{--}17\ \mu$ bedroeg.

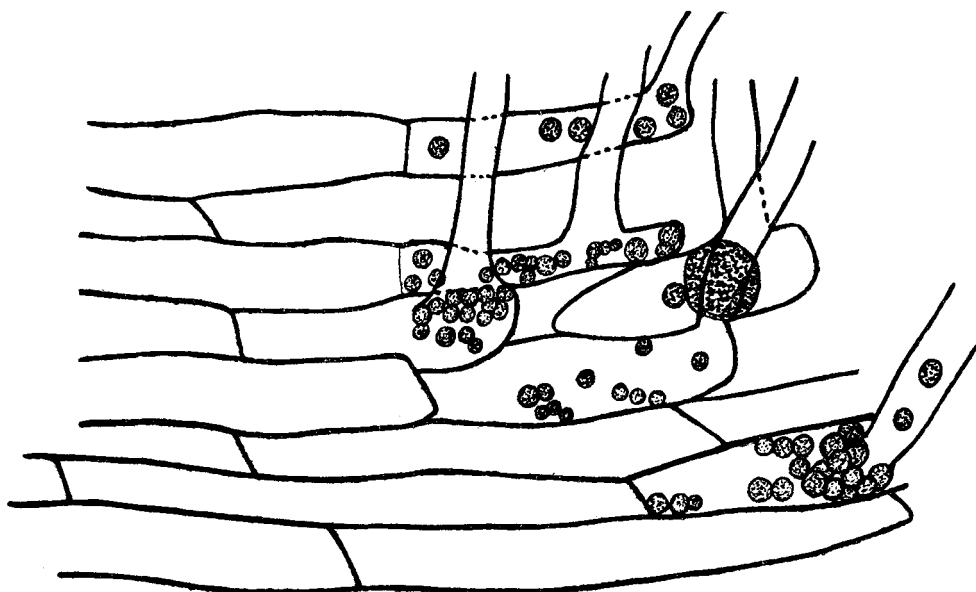
Het kunstmatig geïnfecteerde plantje in schaal 2 was van 17 December 10.10 v.m. ongehinderd in de thermostaat gebleven tot 19 December. Het worteltje werd toen iets plat gedrukt onder het dekglas en daarna met sterke vergrooiting bekeken. Naar den top van den wortel toe bevonden zich prosperangiën van $\pm 17\ \mu$ diameter, bestaande uit grofkorrelig plasma. In één der epidermiscellen lagen twee dergelijke bolletjes tegen elkaar gedrukt, samen vormden ze een langwerpige protoplasma-massa (Fig. 1). Zouden mogelijk op deze wijze de langgerekte zoösporangien gevormd worden, die veelvuldig naast de bolvormige optreden? Meer basaalwaarts hadden zich in den wortel reeds volwassen sporangien, groot $20\text{--}27\ \mu$, gevormd, gevuld met hyalien plasma en voorzien van halzen (Fig. 2). De langwerpige sporangien, die ongeveer hun geheele hospescel innamen, bevatten al zoösporen (Fig. 3).

Ten slotte werden den 22sten December alle drie preparaten aan een onderzoek opgeofferd, door de worteltjes geheel plat te drukken. Het volgende beeld was te zien: rijpe (Fig. 4) en geleedigde zoösporangien, de laatste met geplooid, samengeschrompelde wanden, en tal van zoösporen, die het veld doorkruisten. Rustsporen werden niet waargenomen.

Nadat het infectieproces van *Olpidium* uit reïncultuur bestudeerd was, werd op dezelfde wijze gewerkt met zoösporen uit potkoolplanten opgevangen. Deze gedroegen zich geheel overeenkomstig hun soortgenooten van de cultuur. Het gelukte, het binnendringen van één enkele zoöspore meer in details te vervolgen.

Den 29sten December 1925 werden steriele koolplantjes, opgegroeid in schalen met nat filtreerpapier, volgens bovengenoemde methode in aanraking gebracht met zoösporen, verkregen uit een zieke koolplant. 's Middags kwam het worteltje onder dekglas te liggen en ving het microscopisch uitzoeken van een geschikt wortelhaar aan. Weldra viel 't oog op één, die door tal van zoösporen was omgeven. Het beeld hiervan werd om half drie geteekend (Pl. VII, fig. 3a). Om 2.43 vertoonde het protoplasma van 't wortelhaar onder één der zoösporen (de tweede van links op de tekening) een uitpuiling. Van den wortelhaarwand af scheen er een fijn kanaaltje door heen te loopen. Langzamerhand ledigde de zoöspore haar inhoud in het wortelhaar. De helft van het zoöspore-plasma was om 2.44 dwars door de protoplasma-opzwellings van 't wortelhaar heen gevloeid en vormde aan 't

einde van 't nauwe kanaaltje een heel klein bolletje. Terwijl 2.47 uur de zoöspore voor een derde geledigd was, had de gansche inhoud zich om 2.53 uitgestort. Vijf minuten later had zich het prozoösporangium duidelijker afgerond en zich meer van 't protoplasma van het wortelhaar afgescheiden. Om drie uur was het iets zijwaarts verschoven, 3.02 liet het geheel los en werd door den stroom van het protoplasma in het wortelhaar voortgedreven (Pl. VII, fig. 3*b*—3*g*). Er verliepen dus 19 minuten tusschen de eerste aanwijzing van binnendringen der zoöspore en het in beweging zetten van het prozoösporangium. Dit veranderde



× 350.

Fig. 5.

zoo nu en dan van richting en kwam ten slotte in de epidermiscel terecht.

Het preparaat werd in de thermostaat teruggebracht en den volgenden dag bekeken. 's Morgens 9.30 waren de prosporangien $10\ \mu$, 's middags 3.40 dezelfde $17\ \mu$ groot (Pl. VII, fig. 4).

Den daaropvolgenden dag 10 uur voormiddag kon men spreken van zoösporangien: de lichaampjes waren 20 — $23\ \mu$ in diameter, droegen halzen en waren gevuld met zoösporen. Deze zwermden spoedig uit en drongen de nieuw gevormde wortelharen binnen. In de korte spanne tijds van 44 uur had zich dus een tweede generatie ontwikkeld.

De vraag deed zich thans voor, of de epidermiscellen ook direct geïnfecteerd kunnen worden.

Om hieromtrent nadere gegevens te verkrijgen, werden 11 Januari 1926 steriele koolplantjes uit een petrischaal met vochtig filtreerpapier geheel gedompeld in druppels van een zoösporen-suspensie op den bodem van een steriele petrischaal. De zoösporen waren uit potkoolplantjes afkomstig. De schaal, waarvan het deksel bekleed was met nat filtreerpapier, werd in de thermostaat van 20° C. gezet. Den 14den Januari bleek aan de stukjes afgetrokken opperhuid van het grensgedeelte tusschen wortel en hypocotyl, dat de cellen met wortelharen vol sporangïën zaten, de naburige cellen zonder wortelharen geen infectie vertoonden (Fig. 5).

Door koolplantjes in buizen met puimsteen en Knop's oplossing zoodanig met een zoösporen-suspensie te besmetten, dat het hypocotyl gedeeltelijk onder water stond, werd hetzelfde resultaat verkregen als in de vorige proef.

Olpidium gebruikt dus als ingangspoort de wortelharen der bloemkoolplant.

SAMENVATTING.

1. Bij de „achterblijvende" bloemkoolplanten op het veld te Utrecht werden twee parasieten aan het wortelstelsel opgemerkt: Olpidium en Rhizoctonia.

Zoowel het onderzoek van het verzamelde materiaal op het terrein zelve als de potproeven met „zieken" grond leerden, dat Olpidium zeer algemeen optrad en in tal van gevallen door Rhizoctonia werd vergezeld.

2. Verschillende infectieproeven met twee Rhizoctonia-stammen, uit bloemkool geïsoleerd, leidden tot de conclusie, dat het achterblijven der bloemkoolplanten te Utrecht, wat de meest extreme gevallen betreft, op rekening was te stellen van Rhizoctonia.

Proefondervindelijk werd aangetoond, dat de kool-Rhizoctonia niet op aardappel en de aardappel-Rhizoctonia niet op kool parasiteert.

De studie van GRATZ (4) over een dergelijke koolziekte in Amerika, de „wire stem of cabbage", voerde tot dezelfde resultaten, behalve dat de Amerikaansche kool-Rhizoctonia geen, de Hollandsche wel sclerotiën vormde op aardappelknollen van geïnfecteerde planten.

3. Tal van kunstmatige infecties met Olpidium, op verschillende wijze uitgevoerd, veroorzaakten een geringe groeivertraging der bloemkoolplanten. Het bleek duidelijk, dat groote

vochtigheid van den bodem de *Olpidium*-aantasting zeer in de hand werkte.

Olpidium zal bij de minst ernstige gevallen van het „achterblijven” der bloemkoolplanten op het terrein te Utrecht een rol hebben gespeeld.

In geen der infectieproeven met *Olpidium* werd rotting van het parenchymatisch weefsel onderaan het hypocotyl der koolkiemplantjes waargenomen, zooals WORONIN (12) aangaf voor *Chytridium Brassicae*.

4. De fungus *Olpidium* van kool tastte tabak niet aan. Van de acht verschillende plantensoorten, verzameld op het „zieke” terrein te Utrecht, kwam *Olpidium* slechts bij twee sporadisch voor, namelijk in de wortels van biet en *Chenopodium album* L. *Olpidium* van kool schijnt dus vrij sterk gespecialiseerd te zijn.

5. De optimale temperatuur voor infectie der bloemkoolplant met *Olpidium* ligt tusschen 15 en 20° C.

De microscopische studie betreffende het binnendringen van *Olpidium* in de bloemkoolplant, uitgevoerd met zoösporen uit een reincultuur afkomstig als ook met zoösporen uit potplanten verkregen, leidde tot de volgende waarnemingen:

Na ruim een uur rondzwemmen kwamen de zoösporen tot rust, vaak tegen den wand van een wortelhaar liggend. Een paar uur later nam het infectieproces een aanvang. De eerste verandering was een kleine uitpuiling van het wandstandig protoplasma van het wortelhaar vlak onder een zoöspore. Door een nauw kanaaltje in genoemde plasmaopzwellings vloeiende de inhoud der zoöspore in tien minuten tijds naar binnen, het omhulsel aan den buitenwand van het wortelhaar achterlatend. De ingedrongen massa rondde zich af tot een bolletje van ongeveer $3\frac{1}{2}\mu$ diameter, het z.g. prosperangium, dat weldra door het stroomende protoplasma van het wortelhaar werd voortgedreven. Na een her- en derwaarts bewegen gedurende 7—15 minuten bereikte 't prosperangium ten slotte de epidermiscel. Den volgende dag bedroeg de diameter der prosperangiën 10—17 μ ; vierentwintig uur later hadden zij zich tot rijpe zoösporangïën van 20—23 μ met zgn. halzen ontwikkeld, waaruit de zoösporen naar buiten traden en nieuwe infectie veroorzaakten.

Op de grens van hypocotyl en wortel vond infectie uitsluitend in de cellen met wortelharen plaats.

Wageningen, Aug. 1926.

Instituut voor Phytopathologie,
Laboratorium voor Mycologie
en Aardappelonderzoek.