

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. W. K. J. ROEPKE

Vier en dertigste Jaargang - 1e en 2e Aflevering - Jan. en Febr. 1928

PHYSIOLOGISCH ONDERZOEK MET BETREKKING TOT HET VIRUS DER BLADROLZIEKTE VAN DE AARDAPPELPLANT, SOLANUM TUBEROSUM L.

DOOR

T. H. THUNG.

INLEIDING.

De steeds groeiende belangstelling in de phytopathologische wereld voor de virusziekten doet HEALD (34) de voorspelling uitspreken, dat de tegenwoordige tijd zal gekarakteriseerd worden met den naam „mosaic age”, in tegenstelling met de voorafgaande periode, die de „mycologische” zal worden genoemd.

De kenmerkende verschijnselen van genoemde groep van ziekten, waarin het mozaiektype domineert, zijn duidelijk te omschrijven, zooals onder meer door BUTLER (10) en ELZE (29) is gedaan. Het verloop dezer ziekten is zoo typeerend, dat QUANJER (58) een vergelijking heeft kunnen maken tusschen de betreffende verschijnselen bij de plant en die van de ziekten bij mensch en dier, welke door de bloedbanen worden verspreid.

De besmettelijkheid en de bestrijding hebben bij het onderzoek der virusziekten zoo zeer de aandacht in beslag genomen, dat de meeste onderzoekers volstaan met de bestudeering dezer punten. De studie van het wezen van de smetstof zelf is na de eerste onderzoekers [BEIJERINCK (8), IWANOWSKI (38), MAYER (47) e.a.] op den achtergrond gekomen; eerst in de laatste jaren hebben onder meer ALLARD (1, 2, 3), GOLDSTEIN (33) MCKINNEY (44, 45), MULVANIA (49), het onderzoek physiologisch en anatomisch opgevat, evenwel zonder tot beslissende resultaten te komen. Verschillende opvattingen blijven nog

gangbaar, door HEALD (34) in vier groepen ingedeeld, n.l. de „Bacterial”, de „Enzyme”, de „Filterable Virus” en de „Protozoan Theory”.

De bij de genoemde studies opgeworpen gedachten en werkmethoden vinden slechts weinig ingang bij de Deutsche onderzoekers, die de besmettelijkheid der besproken ziekten meest ontkennen. De Deutsche school deelt ze in bij de groote groep der z.g. „physiologische” ziekten, waarmede bedoeld worden die, welke veroorzaakt worden door uitwendige omstandigheden zooals bodemgesteldheid en klimatologische factoren.

Voor al is dit geval met de bladrolziekte der aardappelplant. Reeds in de vorige eeuw werd een belangrijk gedeelte der Deutsche plantenziektenkundige litteratuur in beslag genomen door deze ziekte wegens de door haar veroorzaakte onrustbarende verliezen, zoodat APPEL en SCHLUMBERGER (4) in 1911 in hun studie over de „Blattrollkrankheit und unsere Kartoffelernten” een litteratuuroverzicht gaven van niet minder dan een 160-tal geschriften en artikelen voornamelijk verschenen in de voorafgaande zes jaren, bijna alle van Deutsche hand.

QUANJER bewees reeds in 1916 (55), dat de ziekte over te brengen is met stengel- en knolentingen, terwijl in 1920 OORTWIJN BOTJES (53) de verspreiding door bladluizen vaststelde.

Doch van Deutsche zijde wordt de besmettelijkheid tot heden niet aanvaard en tracht men het ontstaan der ziekten te verklaren als een gevolg van uitwendige omstandigheden, welke boven zijn genoemd. Ten deele is dit meeningsverschil te verklaren door het feit, dat het verschijnsel der bladrolling op zich zelf kan worden veroorzaakt door elke storing in de afvoerbanen. Van aardappelplanten, waarvan de stengel aangetast is b.v. door *Hypochnus solani*, of die aan den voet mechanisch zijn beschadigd bij het grondbewerken, kennen wij rolling der bladen, met meer of mindere zetmeelophooping, evenals van aardappelplanten, die geleden hebben van buitengewone hitte of die staan in met water gedrenkten bodem, of die buitengewoon groote hoeveelheden meststoffen, speciaal chloorzouten, hebben gehad [QUANJER (55)].

Bepalen wij ons evenwel tot de bladrolziekte, waarbij al naar de soort aardappel de productie der knollen meer of minder sterk achteruitgaat en welke werkelijk een „degeneratie”-ziekte mag heeten, dan hebben wij bewijzen te over, dat de besmettelijkheid één der kenmerken is [ELZE (29)].

Aan de stofwisseling van deze zieke planten heeft men zeer veel aandacht geschonken in de hoop hierdoor een verklaring

te vinden van de oorzaak. Sinds SORAUER [1908 (65)] heeft de gedachte aan: „Störung des enzymatischen Gleichgewichts”, die SPIECKERMANN „SORAUER's unbestrittenes Verdienst” (66, p. 9) noemde, op vele onderzoekers grooten invloed uitgeoefend. SPIECKERMANN zelf vond een grooter percentage stikstof in de bovenaardsche deelen, in de latere ontwikkelingsstadia, bij de zieke dan bij de gezonde planten, hetgeen hij trachtte te verklaren met de opmerking: „Es wird dies zum Teil darin begründet sein, dasz die kranken Pflanzen keine oder nur wenige Knollen bilden und daher den Stickstoff aus den oberirdischen Teilen nicht ableiten können, zum Teil wohl aber auch darin, dasz auch die Erzeugung oberirdischer Teile stark gehemmt ist, während die Stickstoffaufnahme normal funktioniert” (p. 177).

Hij vond voor knollen van de zieke planten „der pilzlosen Form der Blattrollkrankheit” (p. 9) gemiddeld 22,55 % drooggewicht, terwijl de gezonde knollen 24,6 % drooggewicht opleverden, beide voor het uitpoten. Dit verschil in drooggewicht wordt bevestigd door DOBY (27) en door McLEAN (46); bij dezen laatsten onderzoeker is elke twijfel, dat hij met infectieuze bladrolziekte te doen had opgeheven, terwijl bij SPIECKERMANN en DOBY dit ook het geval moet zijn, voor zoover het uit de beschrijving is op te maken. De laatste (27) vond een sterkere oxydase-werking in de zieke knollen en concludeerde hieruit een grotere ademhaling te mogen aannemen. Hierdoor trachtte hij nu weer het lagere gehalte aan zetmeel te verklaren, welk gehalte hij meende te mogen afleiden uit lager drooggewicht.

Bijna tegelijkertijd toonden verschillende onderzoekers (ESMARCH, NEGER, QUANJER) onafhankelijk van elkaar, ophooping van zetmeel in de bladeren der bladrolzieke aardappelplanten aan; dit verschijnsel is aanleiding geworden tot vele discussies.

Om bij enkele meeningen over de verklaring van de zetmeelophooping te blijven, releveeren wij het volgende:

In 1913 beschreef QUANJER (54) de necrose van het phloeem die, naar zijn meening den afvoer verhindert en zodoende de ophooping van het zetmeel veroorzaakt, wat SCHANDER en v. TRESSENHAUSEN (60) in 1914 bestreden met de conclusie: „dasz die Nekrose des Phloems eine sekundäre Erscheinung ist, die, soweit bis jetzt Untersuchungen vorliegen, als Folge von Funktionsstörungen eintritt, die vorwiegend in den Phylomen stattfinden”.

In 1915 meenden DOBY en BODNAR (28) met hun biochemisch werk bewezen te hebben, dat nieuwe feiten de hypothese van SORAUER „von den enzymatischen Störungen” versterkten,

voor zoover deze betrekking heeft op de enzymen in de knollen van gezonde en bladrolzieke planten.

In 1919 concludeerde ESMARCH (30): „daz die Stärkeableitung bei rollkranken Pflanzen gehemmt oder vollständig unterbunden ist (p. 17), waarbij hij onder „Stärkeableitung” verstond het vervoer in den vorm van suikers. Over de oorzaken „der gehemmten Stärkeableitung” deelde hij mede: „Am nächstsen liegt die Vermutung, daz in kranken Blättern zu wenig oder nicht genügend wirksame Diastase vorhanden ist” (p. 20).

In 1919 sprak NÉGER (52) zoowel van „mangelhafte Ableitung der Spaltungsprodukte (p. 45) als van „eine schwere Störung der enzymatischen Vorgänge” (p. 46), terwijl voor hem geen twijfel daarover bestaan kan, dat „die rollkranken Blättern um ein vielfaches reicher sind an Diastase als die Gesunden”. In zijn werk vond hij „eine erfreuliche Bestätigung der von SORAUER (1913) vertretenen Ansicht, „daz das quantitative Verhältnis der Enzyme in Knollen kranker Pflanzen ein anderes sei, als in denen der gesunden”, sowie auch der Angabe von DOBY und BODNAR (1915), daz die Aktivität der Amylase gesunder Knollen viel grösser sei als derjenigen kranker, d.h. mit anderen Worten, der hohe Diastase-gehalt kranker Pflanzen nützt nichts, wenn das Enzym aus irgend einem Grunde seine Wirksamkeit verloren hat” (p. 46).

In 1920 achtte OORTWIJN BOTJES (53) het eveneens waarschijnlijk de oorzaak te moeten zoeken in de enzymwerkingen en beschouwde QUANJER's verklaring, dat de phloeemnecrose de oorzaak zou zijn, als onjuist, aangezien hij vaak ophooping constateerde, voordat necrose was waar te nemen.

MURPHY (50) achtte in 1923 het bij vergevorderde gevallen van bladrol mogelijk, dat de koolhydraten weggevoerd worden voor zoover ze transportabel zijn; terwijl de „remaining starch, principally in the palisade cells, is apparently not readily mobile, the reason for which is at present unknown” (p. 173). Hij achtte het probleem „a complicated one”, en meende, dat de oorzaak van de ophooping gezeteld zou zijn in de blaadjes zelf. In andere gevallen en bij andere variëteiten zou het mogelijk zijn, dat de zetmeelophooping is „due to an obstruction in the phloeem a little further down”. Evenwel meende hij eveneens de phloeemnecrose als oorzaak te moeten verwerpen, om dezelfde reden als OORTWIJN BOTJES.

In 1925 onderschreef TOLLENAAR (69) het standpunt: „dat de zetmeelophooping of langzame omzetting van zetmeel in bladrolzieke aardappels niets te maken kan hebben met afvoer-kwesties, maar aan een eenzijdige verschuiving van de

enzymen onder invloed van het virus is toe te schrijven, hetwelk wellicht ook de necrose der zeefvaten veroorzaakt" (p. 100). Hij komt tot deze conclusie, omdat: 1°. voor hem vaststaat, dat „het verdwijnen van zetmeel o.a. uit bladen van *Nicotiana tabacum* L. en *Solanum tuberosum* L. onder gunstige groei-voorwaarden in het donker hoofdzakelijk veroorzaakt wordt door de verademing en niet door afvoer van dit zetmeel in den vorm van zijn afbrekingsprodukten" (volgens stelling I).

2°. „is het *plaatselijk* zich ophoopen van zetmeel in de zieke lichtere plekken van mozaiekzieke tabaksbladeren nooit te verklaren door storingen in den afvoer. Dan zou het heele blad immers min of meer gelijkmatig de gevolgen hiervan moeten ondervinden. Zoekt men het echter in een verschuiving van het enzymatische systeem zetmeel $\rightleftharpoons$ suiker onder invloed van de ziekteoorzaak (het virus) dan is hiertegen tenminste a priori geen enkel bezwaar" (p. 100).

Met betrekking tot het hier aangevoerde verwante probleem van zetmeelophooping bij mozaiekzieke tabaksbladeren heeft Woods (73) in 1902 de meening verkondigd, dat „in plants grown under glass in winter the tardiness in the translocation of starch in the diseased areas is to be explained by the abnormal activity of the oxidizing enzymes of these cells, and that the mode of this action is by retarding or weakening the activity of the diastase" (p. 12). De oxydaserwerking vond Woods in de lichte plekjes meer dan tweemaal zoo sterk als in de groene, en deze oxydeerende enzymen zouden de splitsende werking van de diastase verminderen, waartegen evenwel HUNGER (36) in 1903 opkwam op grond van de waarneming, dat er in de zieke bladeren minder reduceerende stoffen waren dan in de gezonde, zoodat naar zijn meening: „Blatt-extrakt von gesundem Tabak, in welchem quantitativ mehr reduzierende Stoffe vorhanden sind, d.h. wo die Reaktion auf oxydierende Enzyme viel stärker beeinträchtigt wird, von selbst den Schein erweckt, dass solche Enzyme in mosaikkrankem Blatt entweder wirksamer oder in grösserer Quantität erzeugt werden" (p. 2).

HUNGER zelf beschouwde de mozaiekziekte van de tabak „als eine Stoffwechselkrankheit", waarbij hij verder opmerkt: „Das Virus der Mosaikkrankheit betrachte ich als ein Toxin, welches in der Tabakspflanze stets beim Stoffwechsel in den Zellen ausgeschieden wird, aber in normalen Fällen keine Wirkung ausübt, während es sich bei zu stark gesteigertem Stoffwechsel anhäuft und dann Störungen verursacht, wie bei der mosaikkranken Buntblättrigkeit (37, p. 39 en 40).

In betrekking tot andere planten kunnen wij onder meer opmerken, dat SHIBATA (63) in tegenstelling met SUZUKI (68) tot de conclusie kwam, dat de oxydasen in dwergzieke moerbeiboomen de werkzaamheid van de diastase niet belemmeren.

In 1917 vond COLEMAN (11) bij de „spike disease of Sandal” dat „The chemical composition of the leaves is markedly altered by the disease and their diastatic activity is seriously diminished.”

Overeenkomende met QUANJER's beschouwing van de zeefvatenziekte (57) is STAHEL's opvatting (67) eener ziekte van de Liberiakoffie, waarbij eveneens phloeemnecrose optreedt. Ook STAHEL schrijft hieraan storingen in het transport der voedingsstoffen toe.

Keeren wij terug tot de bladrolziekte der aardappelplanten en overzien wij hier de meeningen, dan kunnen wij ze rangschikken in 2 groepen:

1°. de abnormale stofwisseling wordt veroorzaakt door storing in de enzymatische processen,

2°. ze is te wijten aan een storing van den afvoer zelf.

In de volgende bijdrage wordt systematisch nagegaan welk standpunt juist is; tot heden is experimenteel onderzoek in deze richting nog slechts sporadisch ter hand genomen.

Waar bij het hier te beschrijven onderzoek gewerkt is over zetmeelophooping in bladrolzieke planten, welke besmet waren geweest met het betreffend virus, kunnen wij de vraagstelling ook formuleeren als volgt: Veroorzaakt het virus het onwerkzaam worden van de afvoerbanen of beheerscht de smetstof de werkzaamheden van de stofwisselingsenzymen in de bladeren?

Aangezien wij de middelen niet of nog niet bezitten om de smetstof te kweken buiten de plant, haar zichtbaar te maken en haar aan eigen gestalte te bestudeeren, moeten wij de gelegenheid aangrijpen om althans haar werkzaamheden na te gaan en zodoende langs indirecten weg haar eigenschappen bloot te leggen. Naast bovengenoemd doel leek het niet van belang ontbloom een studie in te zetten over de *pathologische physiologie* der aardappelplant. Dit gebied verdient meerdere belangstelling in de phytopathologie en kan daarbij wellicht conclusies opleveren voor de normale physiologie der in studie genomen plant.

HOOFDSTUK 1.

SCHEMA VAN HET ONDERZOEK.

De enzymatische processen en de afvoer.

Bij het hier volgend onderzoek staat het zetmeel in het middelpunt van de aandacht, hoewel de waarschijnlijkheid groot is, dat naast zetmeel ook andere produkten in de bladrolzieke planten opgehoopt blijven, wat onder meer uit SPIECKER-MANN's bepalingen van stikstof (66) afgeleid kan worden. Dat bij vele onderzoekers vooral op het zetmeel de aandacht gevestigd is geweest, is wel te danken aan de eenvoudigheid van de jodiumproef van SACHS.

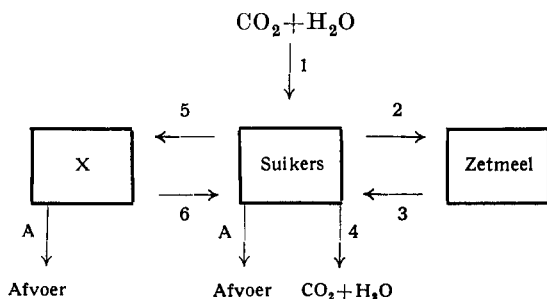
Het nagaan der enzymatische processen bij de koolhydraten, in het bijzonder het ontleden van zetmeel, wordt in belangrijke mate vergemakkelijkt door de omstandigheid, dat de omzettingen der koolhydraten beter bekend zijn dan die der andere stoffen.

Voor zoover genoemde processen door reeds vermelde onderzoekers bij de studie der bladrolziekte ter hand zijn genomen, werden de enzymen afgescheiden en de werkzaamheid in vitro nagegaan. Evenwel eischt het groote voorzichtigheid om uit waarnemingen aan extracten conclusies te trekken omtrent de processen in de levende plant, terwijl daarbij nog het gevaar bestaat van niet voldoende gezuiverde enzymen te hanteeren. HUNGER (36) wees hierop in zijn critiek op WOODS' oxydasentheorie, wat betreft de zetmeelophooping bij mozaiekzieke tabaksbladeren. De door WOODS gevonden grootere werkzaamheid van de oxydasen bij de zieke plekken is dan ook volgens HUNGER (zie p. 5) slechts schijnbaar.

Nu zijn deze bezwaren te ondervangen, wanneer wij de enzymatische processen bestudeeren aan de plant zelf.

Dit is te verduidelijken aan de hand van onderstaand schema, dat de plaats aangeeft, die het zetmeel inneemt ten opzichte van de andere directe en indirecte produkten der fotosynthese en ten opzichte van de afvoer en de ademhaling. De enzymwerkingen zijn hier genummerd in de logische volgorde van het

ontstaan en het op verschillende wijze verwerken der suikers. In het midden wordt gelaten in hoeverre een bepaald enzym reactie en tegenreactie tegelijk katalytisch kan beïnvloeden.



Het proces van de zetmeelvorming wordt beïnvloed door waterverlies, terwijl de tegenovergestelde functie in de bladeren, waarbij zetmeel ontleed wordt tot suikers, afhankelijk is van de aanwezigheid van zuurstof, [Zie o.a. NEGER (51), SCHROEDER en HORN (62), TOLLENAAR (69)]. De afvoer geschiedt waarschijnlijk behalve als koolhydraten ook in den vorm van andere stoffen. Dat suikers in de plant omgezet kunnen worden tot andere stoffen dan zetmeel is bekend; evenzoo, dat uit zulke stoffen suikers kunnen ontstaan. Deze langs indirecten weg gevormde produkten der photosynthese bestaan uit een groote groep van stoffen, die ten deele als vervoerstof en ten deele als reservestof dienst doen [CZAPECK (13), BENECKE-JOST (7)] en waarbij onder meer looistoffen zijn genoemd.

Voor deze groep, die als X aangeduid wordt, is voor de aardappelplant zeer zeker de op zeer nauwkeurige kwantitatieve bepalingen gebaseerde uitspraak van DAVIS en SAWYER (21) interessant: „It appears, however, that in the later stages of growth (September and October) certain gummy substances, which were not studied in any detail, are formed as a reserve in the leaf tissue and appear to be broken down to sugars at night, thus playing a similar part to the starch in most foliage leaves”.

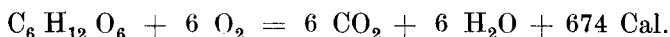
DAVIS, DAISH en SAWYER (19) achten het waarschijnlijk, dat hexosen omgezet kunnen worden tot pentosen en deze weer tot pentosanen. — Deze complicaties worden evenwel weer vereenvoudigd door het feit, dat zoowel de pentosen als de pentosanen een m.i. practisch constante hoeveelheid vormen. De uitgebreide analyses der aardappelbladeren, waarbij bovengenoemde onderzoekers de hoeveelheden dezer stoffen gedurende een volledig etmaal nagingen, toonden slechts schommelingen binnen 0,35 % tot 0,52 % voor pentosen en binnen 5,30 %

tot 5,74 % voor pentosanen, omgerekend op het drooggewicht van deze normaal aan de planten functioneerende bladeren (21).

Dat de bladeren van de aardappelplant looistoffen bevatten, kon ik aantoonen door positieve reacties van alcoholische extracten met coffeïne, antipyrine, chinine, eiwit, gelatine, kaliumbichromaat en ijzerchloride [DEKKER (23)].

Overigens zal het in het volgend onderzoek slechts bij ruwe benadering mogelijk zijn conclusies te trekken omtrent deze groep onbekende stoffen door ze in verband te brengen met de op blz. 53 vermelde stoffen (kolommen II, III en V).

Het ademhalingsproces kunnen wij uitdrukken met de volgende woorden van KOSTYTSCHEW (40), neergelegd in zijn onlangs verschenen monographie: „Gegenwärtig ist festgestellt, dass namentlich Zuckerarten das normale Atmungsmaterial bilden; der gesamte Atmungsvorgang kann also durch folgende Gleichung dargestellt werden:



Somit ist die Sauerstoffatmung ein dem photosynthetischen Aufbau der Kohlenhydrate antagonistischer Vorgang” (p. 2).

In bovenstaand schema is de werkzaamheid der ademhalingsenzymen aangeduid door 4, terwijl die der andere enzymen of enzymgroepen gemerkt wordt door de cijfers 1, 2, 3, 5 en 6. Genoemd is reeds de vorming van zetmeel, welke door de enzymgroep 2 plaats grijpt; de tegenovergestelde functie van zetmeelontleding is aangegeven door de enzymgroep 3. De verhouding van suikers tot de boven vermelde stoffen X wordt beheerscht door de enzymgroepen 5 en 6, terwijl de assimilatie door de enzymen 1 geschiedt. Ten opzichte van dit stelsel is de afvoer A van suikers en van andere stoffen niet als een enzymwerking te beschouwen.

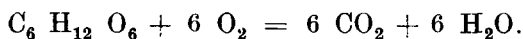
Het wezen der enzymen in het algemeen is veelal onopgehelderd, maar haar werkzaamheid in de planten kunnen wij nagaan aan de ontstane of aan de ontlede produkten.

Het eenvoudigste is de werkzaamheid der ademhalingsenzymen na te gaan en wel aan de afgescheiden hoeveelheden CO_2 .

Bepalen wij van afgesneden bladeren de ademhalingssterkte in het donker, dan hebben wij te maken met de enzymgroepen 2, 3, 4, 5 en 6, terwijl de afvoer en de assimilatie uitgeschakeld zijn.

Worden voor en na de ademhalingsproeven quantitatief de hoeveelheden suikers en zetmeel bepaald, dan wordt het resultaat gevonden van de werkzaamheden der enzymgroepen 2 en 3. Uit de vermindering van het zetmeel is af te leiden in welke

mate de ontledende enzymen 3 in werkzaamheid die der opbouwende 2 overtreffen. Deze twee processen zijn niet van elkaar te scheiden, maar voor onze proeven is slechts de resultante van beide elkaar tegenwerkende factoren van belang. Het geldt voor ons te weten te komen of in de zieke bladeren het zetmeel in vergelijking met dat in de gezonde in totaal meer of minder ontleed wordt. De hoeveelheden suikers, die gedurende een bepaalden tijd verademd worden, zijn te berekenen uit de hoeveelheden opgevangen CO_2 , immers



Wij hebben bepaald de verdwenen hoeveelheden suikers en zetmeel, en mochten er meer suikers verademd zijn dan uit deze hoeveelheden konden zijn ontstaan, dan kunnen wij hieruit concluderen, dat de rest dezer suikers uit andere stoffen is gevormd, wanneer wij mogen blijven vasthouden aan de opvatting, dat het direkte ademhalingsmateriaal is $\text{C}_6 \text{H}_{12} \text{O}_6$ [KOSTYTSCHEW (40)]. De door DAVIS en SAWYER genoemde „gummy substances” en andere tot suikers af te breken stoffen komen hiervoor in aanmerking. Onze planten bevonden zich in hetzelfde stadium als de door deze onderzoekers beschrevene.

Hiermee komen wij dus tot de enzymgroepen 5 en 6, die het vormen en ontleden van bedoelde stoffen, die wij X noemden, beheerschen. Ons interesseert thans het resultaat dezer beide functies, dat uitgedrukt wordt door het vermogen het tekort aan suikers voor de ademhaling aan te vullen.

Gaan wij nu van bladeren, welke aan de plant gedurende een bepaalden tijd in het donker verblijven, met de bladhelftenmethode de totale gewichtsvermindering na, dan hebben wij de assimilatie en dus enzymgroep 1 uitgeschakeld. Wordt van deze gewichtsvermindering het gewicht der verademde stoffen afgetrokken, dan moet de rest van het gewichtsverlies slechts aan den afvoer toe te schrijven zijn. Een andere mogelijkheid van verdwijnen van stoffen uit het blad bestaat er niet. Wij bepalen dit gewichtsverlies ten opzichte van het drooggewicht, zoodat eventueel waterverlies door verdamping buiten rekening blijft. Hier kunnen wij dus vinden hoe groot of hoe klein de afvoer is bij bladrolzieke planten.

Gaan wij de assimilatie na, dan vinden wij hiervoor een bepaalde waarde door aan de totale gewichtstoename van in het licht aan de plant verblijvende bladeren, gedurende een bepaalden tijd de waarden toe te voegen voor de ademhaling en den afvoer.

De resultaten der werkzaamheid van de enzymgroepen 2 en 3 zijn ook vast te stellen door na te gaan hoeveel zetmeel gedurende een bepaalden tijd gevormd wordt door assimilatie van afgesneden bladeren, welke met de stelen in water staan en waarbij afvoer uitgesloten is, (zie blz. 42). Hier is dan in tegenstelling met de betreffende resultante van blz. 10 de werkzaamheid van de enzymen 2 overwegend.

Op dezelfde wijze is ook eenigermate een inzicht te verkrijgen in de resultante van de werkzaamheden van de enzymgroepen 5 en 6; de vermeerdering der in aether, alcohol en water oplosbare stoffen in verband met de totale vermeerdering der droge stof en met die van de suikers en het zetmeel geeft bij benadering de hoeveelheid van de vermeerdering der stoffen X weer. Hierbij is dan de werkzaamheid van enzymgroep 5 overwegend.

Daar evenwel het voor deze laatste twee bepalingen bestemd materiaal verloren is gegaan, zal in dit onderzoek langs een anderen wegeveneens getracht worden het noodige inzicht in de werkzaamheid der twee enzymgroepen 2 en 5 te verkrijgen.

Door gelijktijdig de grootte der hoeveelheden zetmeel naast die der suikers na te gaan en zulks na verschillende tijden kunnen wij zien hoe de verhouding dezer hoeveelheden bij de gezonde en bladrolzieke planten is. Wanneer naast grootere kwantiteiten zetmeel bij bladrolzieke planten ook grootere hoeveelheden suikers zijn te vinden, vergeleken met die der gezonde planten, dan kunnen wij in elk geval concludeeren, dat het vermogen tot vorming van zetmeel bij de zieke niet versterkt is. Anders zouden er immers minder suikers zijn naast meer zetmeel; zulks mits de zetmeelontledende functie niet vertraagd is. Dezelfde redeneering is toe te passen voor de enzymgroep 5, wanneer wij de verhoudingen nagaan van de hoeveelheden stoffen vermeld in de kolommen II, III, V van blz. 53 ten opzichte van de hoeveelheden suikers en zetmeel. Zoodoende komen wij tot de navolgende indeeling van de te behandelen stof, waarbij niet de logische volgorde in acht genomen kan worden van de in het schema van blz. 8 genoemde enzymwerkingen, daar toch b.v. de resultaten der ademhalingsproeven eerst bekend moeten zijn, voordat de andere proeven ter sprake kunnen komen:

- 1°. de ademhaling,
- 2°. de zetmeelontleding,
- 3°. de afvoer,
- 4°. de assimilatie,
- 5°. de zetmeelvorming,
- 6°. de vorming van andere reservestoffen dan zetmeel en van andere afvoerstoffen dan suikers,

7°. opmerkingen over de banen van transport in verband met de verspreiding en het gedrag van het virus in de plant.

In bovenstaand schema zijn de groepen 1 en 4 niet naast elkaar gebracht, wat wel het geval is met 2 en 3 en met 5 en 6, omdat het mogelijk is de ademhaling gescheiden van de assimilatie te beschouwen, welke scheiding bij de andere groepen ondoenlijk is.

HOOFDSTUK II.

PROEFPLANTEN EN METHODEN.

Aangezien voor de verkregen resultaten materiaal en methoden van groot belang zijn, dienen deze allereerst behandeld te worden, alvorens het eigenlijk onderzoek wordt medegedeeld.

Proefplanten.

De aardappelsoort, die mij het meest geschikt leek voor mijn proeven is de Paul Kruger. Deze heeft regelmatig gevormde, vrij groote blaadjes, terwijl zij de symptomen van bladrolziekte duidelijk toont. Daarbij is deze variëteit vaker het voorwerp van onderzoek geweest, waartoe wij slechts behoeven te memoreeren het werk van QUANJER *et al.* (54 t.m. 58), ARTSCHWAGER (5) en OORTWIJN BOTJES (53). De knollen pootte ik uit in potten in infectievrije kassen; in elken pot liet ik slechts één stengel staan, zoodat de bladeren zich onbelemmerd konden ontwikkelen. Er werd zorg gedragen, dat alle potten denzelfden grond kregen: een mengsel van klei en zand. De gezonde knollen werden betrokken van Dr. OORTWIJN BOTJES, die ze ziektevrij kweekt, terwijl de bladrolzieke op het terrein te Wageningen geoogst werden van planten, die zelf voortgesproten waren uit bladrolzieke knollen. Dr. ELZE was zoo welwillend mij een groot aantal dezer knollen ter beschikking te stellen; hij bracht de besmetting over met bladluizen in het jaar 1924 op de toen gezonde Paul Kruger-planten. Mijn zieke proefplanten waren dus beslist afkomstig van knollen met infectieuze bladrolziekte en van het secundaire stadium, dat door QUANJER (55) is beschreven. Het primaire stadium verkreeg ik door besmetting met *Myzus persicae* SULZ. Noodig is het om de planten in kassen te doen groeien; allereerst om infectie van de gezonde planten uit te sluiten, doch ook om de belichting diffuus te houden. Het glas werd heel dun en gelijkmatig met kalk bestreken. Zoodoende werden slagschaduwen vermeden, zoodat geen groote verschillen in belichting tusschen de bladeren op verschillende hoogten aan den stam konden heerschen. Zonder nadere vermelding werden

slechts geheel ontwikkelde bladeren van planten, die 2 tot 3 maanden oud waren, voor de verschillende proeven gebruikt. Op dezen leeftijd waren de planten bezig met knolvorming. Wanneer een enkele plant bloemknoppen ging vormen, werden deze afgeplukt nog voor ze in bloei kwamen, om verschillen met de andere planten te vermijden. Hoewel van deze handeling de invloed op de bladeren niet bekend is, meende ik aldus te moeten handelen, aangezien bloei en vruchtzetting zeker vergaanden invloed zouden uitoefenen. Het bleek, dat de bladeren der zieke planten onder deze omstandigheden gegroeid duidelijk de zetmeelophooping vertoonden o.a. nog na 3 etmalen in het donker geplaatst te zijn met de stelen in het water bij 28° en eveneens nog na 8 etmalen aan de plant in het donker te hebben vertoefd bij 15°.

De bladhelftenmethode.

Er werd gebruik gemaakt van de bladhelftenmethode van SACHS, waarbij van het bovenste blaadje de twee helften gelijk worden gesteld en van het daarop komend paar blaadjes het eene blaadje links gelijk wordt gesteld aan het andere rechts. Gewerkt werd slechts met deze bovenste drie blaadjes, aangezien deze van de 7 blaadjes van een secundair ziek Paul Kruger blad het best zetmeelophooping vertoonden. Eerst bij zeer oude bladeren van uitgegroeide planten leden ook de andere blaadjes aan zetmeelophooping (zie fig. 2b). Ik heb evenwel steeds gewerkt met volledig uitgegroeide, maar nog niet verouderende bladeren, in welk stadium de onderste blaadjes nog geen zetmeelophooping toonden (zie fig. 2a). Dat bij dit samengesteld blad de bladhelftenmethode opgaat, niet alleen bij de gezonde, maar ook bij de secundair zieke, blijkt wel uit onderstaande cijfers. Het feit, dat bij de zieke planten de bladhelften praktisch gelijk aan elkaar bleken te zijn, wat betreft verschen drooggewicht, is voor het inzicht van het ziektebeeld zeer opmerkenswaard; hierop komen wij terug in hoofdstuk XI.

GEZONDE BLADEREN.

			partij eene helften.	partij andere helften.
11 Sept. '26	versch gewicht in grammen..		24,800	24,950
	droog-gewicht „ „ ..		2,690	2,686
21 Oct. '26	versch gewicht „ „ ..		39,050	38,950
	droog-gewicht „ „ ..		3,784	3,767
12 Juli '27	versch gewicht „ „ ..		48,970	47,920
	droog-gewicht „ „ ..		4,695	4,665

BLADROLZIEKE BLADEREN.

			partij eene helften.	partij andere helften.
11 Sept. '26	versch gewicht in grammen . .		21,420	21,850
	droog-gewicht „ „ . .		2,829	2,819
21 Oct. '26	versch gewicht „ „ . .		20,250	20,350
	droog-gewicht „ „ . .		2,342	2,349
12 Juli '27	versch gewicht „ „ . .		14,900	14,800
	droog-gewicht „ „ . .		2,205	2,203

Methode van de kwantitatieve bepalingen van suikers en zetmeel.

De gegevens omtrent het bepalen van koolhydraten in blad-extracten ontleende ik aan de studies van BROWN en MORRIS (9), DELEANO (25), DAVIS, DAISH en SAWYER (14 t.m. 22), GAST (32), KLUYVER (39), SCHROEDER en HORN (62) en TOLLENAAR (69). Deze onderzoekers hebben meer of minder uitvoerig een bespreking gegeven van hun eigen methoden en van die van hun voorgangers. Zoo mag ik hierover korthedshalve verwijzen o.a. naar KLUYVER's uiteenzetting omtrent verschillende onderzoekingen en volsta ik met den door mij gevolgden weg aan te geven:

- 1°. Bepaling versch gewicht.
- 2°. Plaatsing in aetherdamp boven aether in een afgesloten glazen doos, gedurende $\pm$ 4 uur.
- 3°. Droging bij $\pm$ 100° tot constantgewicht, malen tot poeder, bewaring boven P_2O_5 in vacuo. Bepaling droog-gewicht: A gram.
- 4°. Toevoeging van $CaCO_3$ tot een bedrag van 5 % van A.
- 5°. Extractie in aether ter verwijdering van vetten chlorophyl, en andere in aether oplosbare stoffen.
- 6°. Extractie met 80 % alcohol eerst in Erlenmeijers en daarna in Soxhlet-apparaten.
- 7°. Bepaling droog-gewicht van het poeder na extractie: B gram.
- 8°. Totaal in aether en 80 % alcohol opgeloste stoffen (105 % A—B) gram.
- 9°. Alkolisch suiker-extract verdampen in platte schalen op een waterbad, suikers opnemen in ruime hoeveelheid warm water, daarna in vacuo indampen aanvullen tot precies 10 cc., even steriliseeren.
- 10°. Suikerbepaling.

I	II	III	IV
3 cc. vergist in 3 Kluijver-apparaten; ter bepaling v. hexosen, saccharose en maltose.	1 cc. gebracht in 10 cc. steriel water, geënt met persgist ter bepaling van pentosen en J-bindende stoffen, 4 weken vergisting bij 32° C. geklaard met aluminiumhydroxyde en basisch loodacetaat en uitgewassen tot bijna 50 cc., overmaat lood neergeslagen met Na ₂ CO ₃ en aangevuld tot precies 50 cc. 30 cc. volgens SCHOORL (jodometrische methode) (61) de reductie bepaald.	3 cc. gebracht tot $\pm$ 40 cc. ter bepaling van suikers; na klaring met basisch loodacetaat gefiltreerd en uitgewassen tot bijna 100 cc., toevoeging van Na ₂ CO ₃ om overmaat lood neer te slaan. In maatkolf gebracht, aangevuld tot 100 cc., geschud en loodcarbonaat gedurende eenigen tijd laten bezinken. a. 20 cc. op 30 cc. gebracht en directe reductie volgens de jodometrische methode nagegaan. b. 20 cc. voor inversie van saccharose. Hierbij zoo veel HCl toegevoegd dat een concentratie van 2,44 % HCl ontstaat; in 3 min. verwarmd tot 68—70°, op temp. gehouden gedurende 5 min., afgekoeld, Na ₂ CO ₃ toegevoegd tot neutraal t.o. van methylrood, op 30 cc. gebracht en reductie bepaald. c. 20 cc. voor omzetting van maltose. Hierbij zoo veel HCl toegevoegd dat een concentratie van 2,44 % ontstaat; op 70° verwarmd gedurende 24 uur, afgekoeld, Na ₂ CO ₃ toegevoegd tot neutraal t.o. van methylrood, op 30 cc. gebracht en reductie bepaald.	$\pm$ 3 cc. als reserve

11°. Zetmeel-bepaling.

Het geëxtraheerde en gedroogde poeder met 250 cc. water verhit in kokend waterbad gedurende $\frac{1}{2}$ uur om het meel te verstijfselen, afgekoeld tot 38° C.

100 mgr. Takadiastase toegevoegd.

24 uur bij 38° C. met toevoeging van Toluol als desinfectans.

Verhit in waterbad temp. 100° om de diastase onwerkzaam te maken.

Afgefiltreerd en uitgewassen tot $\pm$ 500 cc.

In vacuo ingedampt, aangevuld tot 20 cc. en even gesteriliseerd.

Suikerbepaling.

I	II	III	IV
2 cc. in Kluijvers apparaten	3 cc. ter verdamping tot constant gewicht in porcelainen kroesje ter bepaling van de totaal in water oplosbare stoffen	3 cc. tot ± 40 cc. gebracht ter bepaling van suikers, klaring met basisch loodacetaat; afgefiltreerd en uitgewaschen; toevoegen van Na_2CO_3 ; aanvullen tot 100 cc.; loodcarbonaat eenigen tijd laten bezinken. Bij 40 cc. zooveel HCl toegevoegd, dat een concentratie van 2,44% HCl ontstaat; gedurende 2 uur in kokend waterbad met terugvloekoeler verhit; afgekoeld, tot 50 cc. gebracht; 10 cc. hiervan geneutraliseerd met Na_2CO_3 , tot 30 cc. gebracht, reductie nagegaan.	± 2 cc. als reserve

De graad van nauwkeurigheid der bepalingen.

Er dient voorop gesteld te worden, dat het bij dit onderzoek gaat om een vergelijking van bladrolzieke en gezonde planten. Vandaar, dat bij elke proef telkens met twee groepen bladeren n.l. van beide soorten planten gewerkt werd en dat alle handelingen ter verkrijging van vergelijkingscijfers tegelijkertijd en op dezelfde wijze geschieden, zoodat eventueele fouten zich gelijkelijk moesten doen gelden.

De voor suikers en zetmeel volgens de twee methodes verkregen getallen komen vrij goed met elkaar overeen, wat uit onderstaande cijfers blijkt, welke het totaal der suikers aangeven omgerekend als $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$:

		volgens Kluijver's methode.	volgens chemische methode.	
		I m.gr.	II m.gr.	% van I
materiaal van	30 Juni '26	58,6	56,8	96,1
"	" 27 Juni '26	65,4	65,3	99,8
"	" 30 Juni '26	75,2	99,0	131,6
"	" 12 Aug. '26	207,5	241,3	116,3
"	" 10 Aug. '26	278,8	302,3	108,5
"	" 12 Juli '27	138,7	131,5	94,8
"	" 10 Juli '26	410,0	406,3	99,1
		127,1	142,5	112,1

De afwijkingen zijn in het algemeen slechts klein.

De hoogere waarden gevonden langs chemischen weg zouden

kunnen worden toegeschreven aan het reduceerend vermogen van pentosen en misschien ook aan jodiumbindende stoffen, terwijl de lagere o.a. veroorzaakt zouden kunnen zijn door aantasting door basisch loodacetaat.

Pentosen en jodium-bindende stoffen.

DAVIS en SAWYER (17) zijn tot de overtuiging gekomen, dat het waarschijnlijk is, dat vrije pentosen in het alcoholische extract van bladeren voorkomen. „Their amount can be estimated with a fair degree of accuracy by the ordinary distillation process or by the reducing power of the purified liquor after other sugars have been fermented away.” De door hen bij een groot aantal analyses van bladeren van verschillende planten gevonden waarden variëren van 0,3 tot 1 % van het drooggewicht. Bij mijn onderzoek werden na 4 weken vergisting en na klaring in bladextracten van in kassen gegroeide planten de volgende cijfers gevonden, waarbij de reductie gelijkgesteld werd met die van glucose, overeenkomstig DAISH's waarneming (16), dat „the reducing powers of arabinose and xylose differ only very slightly from that of dextrose.”

GEZOND			BLADROL		
Drooggewicht	Pentosen en eventuele J.-bindende stoffen		Drooggewicht	Pentosen en eventuele J.-bindende stoffen	
gr.	m.gr.	% van het drooggewicht	gr.	m.gr.	% van het drooggewicht
4,664	23,8	0,51 %	4,810	8,8	0,18 %
4,051	17,6	0,43 %	5,119	17,6	0,34 %
3,685	10,7	0,29 %	5,575	26,9	0,48 %
5,309	28,5	0,54 %	4,469	11,2	0,25 %
			2,203	7,5	0,34 %
			2,205	10,4	0,47 %

Waar deze cijfers verkregen zijn met de jodometrische methode, komen hier ook tot uitdrukking de eventueel aanwezige jodiumbindende stoffen, althans voor zoover ze niet evenals de vergistbare suikers door de persgist aangetast werden.

Bij aardappelknollen kwam DE WOLFF (72) tot de conclusie, dat de hoeveelheid daar aanwezige jodiumbindende stoffen te verwaarloozen klein is.

Voor mijn onderzoek acht ik het naar aanleiding der boven genoemde cijfers gerechtvaardigd de reductie der pentosen en den invloed van jodium-bindende stoffen buiten rekening te laten, vooral waar het gaat om vergelijkingen, waardoor hetzelfde bedrag telkens terugkomt.

Vermeld zij hier, dat in de volgende hoofdstukken de hoeveelheden suikers en zetmeel omgerekend zijn tot $C_6 H_{12} O_6$, tenzij anders vermeld, terwijl de gewichten der andere stoffen uitgedrukt worden in m.gr. drooggewicht.

Fructose en zetmeel.

Eventueel aanwezige fructose werd mede bepaald volgens de glucose tabel. Zij zal de grootste bron van fouten veroorzaken bij verschillende behandelingen met HCl, wat uit DAVIS en DAISH's bepalingen (14) kan blijken. Deze onderzoekers vonden nochtans bij 0,884 % oplossingen 94,5 % fructose terug na verhitting op 70° C. in 2,44 % HCl gedurende 24 uur, terwijl zij op deze wijze maltose voor 93,9 % omgezet vonden; glucose werd nagenoeg niet aangetast en werd na 36 uur voor 99,6 % terugbepaald. Voor maltose cryst. Merck werden door mij de navolgende waarden teruggevonden:

92,3 %; 96,3 %; 100,0 %; 100,2 %; 100,4 % voor oplossingen variërende van 1 %—2,5 % bij verhitting op 67° in 2,78 % HCl. De 3 hooge cijfers werden vermoedelijk veroorzaakt door verontreinigingen als dextrine. Voor laevulose puriss. cryst. Merck werden op deze wijze de volgende cijfers gevonden: 91,6 %; 95,5 %; 95,6 %.

Deze en volgende cijfers werden verkregen volgens de jodometrische methode met de voor de betreffende suikers bestemde tabellen van SCHOORL (61).

Voor mijn doel zijn ook de bepalingen van zetmeel nauwkeurig genoeg. Met gezuiverd zetmeel (watergehalte 13,4 %, aschgehalte 0,3 %) kreeg ik volgens de methode van GAST (32) met speeksel en koken met $\pm 1,80$ % HCl gedurende $2\frac{1}{2}$ uur waarden schommellende om 95 %, volgens die van TOLLENAAR (69) met Takadiastase en koken met 3,75 % HCl gedurende 3 uur ± 96 %, terwijl waarden van ± 97 % werden verkregen bij gebruik van Takadiastase en koken met 2,44 % HCl gedurende 2 uur. DAVIS en DAISH vonden volgens hun nauwkeurige methode met Takadiastase en polarimetrische bepalingen waarden van $\pm 99,3$ %, terwijl GAST waarden vermeldt schommellende om 97,1 %. De verschillende wijzen van koken met HCl verklaren de verschillen, die ik met de 3 methoden vond. DAVIS en DAISH (14) vonden o.a. de volgende waarden terug.

$\pm 0,7$ % maltose	3	uur	koken	4,15	% HCl geeft	95,70	%
$\pm 0,7$ % ..	4	„	„	4,15	% „ „	94,06	%
± 1 % ..	2	„	„	2,35	% „ „	97,88	%
± 4 % glucose	4	„	„	4,15	% „ „	93,6	%
± 1 % ..	2	„	„	2,35	% „ „	99,0	%

Veilig kan aangenomen worden, dat de door mij bepaalde hoeveelheden zetmeel binnen 95 % nauwkeurig zijn.

Vereenvoudiging der bepalingen.

In verband met de kleine hoeveelheden suikers, die de meeste partijen bladeren bevatten, moest voor de meeste proeven volstaan worden met de bepaling der suikers na hydrolyse met 2,44 % HCl bij 70° gedurende 24 uur, waarbij dan de 3 soorten suikers direct bepaald werden als $C_6H_{12}O_6$ volgens SCHOORL's glucose-tabel (Kolom III c pag. 16). Eveneens werd de waarde voor het zetmeel direct uitgedrukt gevonden als $C_6H_{12}O_6$.

Omrekening.

Waar het noodig was de hexosen, saccharose en maltose van elkaar te scheiden geschiedde de berekening uit de navolgende gegevens:

Kolom

IIIa (p. 16) drukt uit 60% maltose zond. sacch. + hexosen in mgr. $C_6H_{12}O_6$

IIIb " " 60% " + 105% " + " " " "

IIIc " " 105% " + 105% " + " " " "

Immers het directe reductievermogen van maltose komt ongeveer overeen met $\pm 60\%$ van dat van glucose (zie SCHOORL's tabellen), terwijl inversie van saccharose en omzetting van maltose 105% van de respectievelijke gewichten geeft als $C_6H_{12}O_6$.

Opmerking.

Volgens DAVIS en SAWYER (21) geschiedt de ontleding van het zetmeel in de plant direct tot glucose. Maltose hebben deze onderzoekers voor verschillende planten bij hun analyses niet kunnen aantreffen, noch in de bladeren, noch in de stelen. Waar dit bij andere onderzoekers wel het geval was [BROWN en MORRIS (9), KLUYVER (39) e.a.] achtten zij de wijze van het drogen der bladeren of het onwerkzaam maken der enzymen foutief, in zooverre de gevoelige maltase eerder onwerkzaam zou worden gemaakt dan de diastatische enzymen, die voort zouden blijven werken bij hogere temperaturen (tot $\pm 80^\circ$), zoodat de dan gevormde maltose onontleed zou blijven. Ook in mijn onderzoek werd maltose gevonden, zoowel langs de biochemische als langs de chemische methode, zoodat de mogelijkheid niet uitgesloten is, dat de dooding der bladeren in aetherdamp gedurende 4 uur niet alle enzymen tegelijk buiten werking heeft gesteld.

Aangezien het in mijn onderzoek niet van essentieel belang

is in welken vorm de door mij bepaalde suikers zich bevinden, is dit punt niet nader onderzocht. Afgezien werd dan ook van de bepaling van den aard der suikers, welke tijdens de proeven werden verademd. hoewel de indruk werd verkregen, dat het vooral hexosen zijn. zooals het hier met een enkel geval zij geïllustreerd.

	Proef C bladrol	(Chemisch bepaald)
	vóór ademhaling.	na ademhaling.
hexosen	138.1 mgr.	44,6 mgr.
maltose als $C_6H_{12}O_6$	75,8 ..	68,6 ..
saccharose als $C_6H_{12}O_6$	19,4 ..	17,0 ..

Waar het gewicht der suikers afgetrokken moet worden van dat der totale in aether en 80% alc. opgeloste stoffen geschiedde dit met het gewicht als $C_6H_{12}O_6$. De hierdoor iets te hooge cijfers voor de eventueel aanwezige hoeveelheden maltose en saccharose ($C_{12}H_{22}O_{11} : 2C_6H_{12}O_6 = 95 : 100$) konden niet van invloed zijn op de beschouwingen betreffende de ademhaling: 1°. omdat $\pm 5\%$ der hoeveelheden $C_{12}H_{22}O_{11}$ berekend per gram versch of droog-gewicht slechts een kleine waarde vertegenwoordigt; 2°. omdat bij vergelijking van de hoeveelheden vóór en na ademhaling nagenoeg dezelfde fouten worden gemaakt, aangezien de hoeveelheden dezer suikers vermoedelijk vrijwel constant blijven.

Anders was dit met zetmeel, waarbij het gaat om grootere waarden en om veel sterker dalende hoeveelheden. In de gevallen, dat het gewicht van het zetmeel afgetrokken moest worden van het gewicht der in water oplosbare stoffen geschiedde dit met de waarde berekend als $(C_6H_{10}O_5)_n$.

HOOFDSTUK III.

VERSCHILLEN TUSSCHEN GEZONDE EN ZIEKE BLADEREN.

Hier volgen eenige verschillen, die van invloed kunnen zijn op de physiologie der beide soorten bladeren. Het watergehalte der gezonde bladeren is grooter dan dat van de zieke, wat uit de volgende cijfers van tegelijkertijd geplukte partijen blijkt. Zieke bladeren, die assimilaten-ophooping vertoonen, zijn dikker, zoodat de oppervlakte bij hetzelfde gewicht kleiner is. De gegeven cijfers werden gevonden met behulp van afgeteekende en uitgeknipte papierstukken, uitgedrukt in cM.² voor 1 bladkant.

	Versch- gewicht	Droog- gewicht	Bladoppervlakte Leaf-surface	
	Fresh-weight in gr.	Dry-weight in gr.	per gr. versch gew. per gr. fresh weight in cM. ²	per gr. droog- gew. per gram dry weight in cM. ²
GEZONDE BLADEREN (HEALTHY LEAVES)				
23 Juni '26.....	55,0	5,551	78,87	776,30
27 Juni '26.....	39,5	4,810	54,45	447,18
8 Juli '26.....	41,5	4,889	53,65	455,36
20 Juli '26.....	46,0	5,405		
10 Aug. '26.....	38,9	3,952	58,67	577,50
	220,9	24,607		
per	100,0	11,139		
ZIEKE BLADEREN (DISEASED LEAVES)				
23 Juni '26.....	40,0	4,998	67,13	397,38
27 Juni '26.....	38,0	4,706	51,92	435,81
8 Juli '26.....	44,0	5,715	50,82	391,23
20 Juli '26.....	42,5	4,833		
10 Aug. '26.....	33,0	5,575	52,22	308,09
	197,5	25,827		
per	100,0	13,077		

Reeds NEGER (52) wees op het verschil van den toestand der huidmondjes, die bij de zieke bladeren minder open zijn dan bij de gezonde, wat ook voor de bij dit onderzoek gebezigde bladeren geldt. Verder is opgemerkt, dat de dagperiodiciteit [LUNDEGARDH (43)] het meest geprononceerd is bij de gezonde bladeren.

Volgens de door NEGER (52) gebruikte infiltratiemethode van MOLISCH, waarbij niet indringen van benzine op 0 wordt gesteld, terwijl

indringing van benzine op 1 wordt gesteld,

die „ petroleum op 2 „ „

„ „ paraffine „ 3 „ „

werden de volgende cijfers gevonden:

	GEZOND		ZIEK	
	Onderkant	Bovenkant	Onderkant	Bovenkant
22 April '27 om 9.30 's morgens, temp. 23°, vochtigheid $\pm$ 80 %, oud blad	2—3	1	1	0—1
middelmatig oud blad	2—3	1—2	1—2	0—1
jong blad	3		2	
om 3 uur 's namiddags, temp. 22°, vochtigheid 70 %, oud blad	1—2; 2	0—1	0—1	0
middelmatig oud blad	1—2; 2		1—2	
jong blad	2; 2—3		2	

Uit deze gegevens blijkt, dat de zieke bladeren vergeleken bij de gezonde in het nadeel zijn wat betreft de gascirculatie; zij zijn dit ook wat de belichtingsoppervlakte aangaat. De ademhaling en de assimilatie verkeerden dus in minder gunstige conditie.

HOOFDSTUK IV.

DE ADEMHALING.

Voorzorgsmaatregelen.

Er werd zorg gedragen, dat de bladeren tijdens de proeven niet uitdroogden, waardoor onder meer een abnormaal sterk afbreken van het zetmeel zou plaats grijpen. Het dientengevolge hooger wordend percentage aan suikers zou de ademhaling kunnen beïnvloeden.

Daartegenover moet men er op letten, dat de bladeren niet vochtig worden, want wanneer gedeelten van het oppervlak met waterlagen bedekt zijn, wordt de gasuitwisseling belemmerd. Bovendien zou bij zuurstofafsluiting de normale omzetting van zetmeel tot suikers verhinderd worden [TOLLENAAR (69)]. Van afgesneden bladeren en van bladeren, die aan de planten bleven zitten, werd de ademhaling gemeten; dit laatste diende slechts om na te gaan hoever de invloed van het afsnijden op de intensiteit reikte [DELEANO (25)].

De toestellen.

In hoofdzaak kwam de inrichting ervan overeen met die van DELEANO (24). De bladeren stonden met de stelen in het water of drevén met de laminae daarop. Ter betere vergelijking van het gedrag van gezonde en bladrolzieke bladeren werd telkens de ademhaling van een groep gezonde en gelijktijdig die van een op hetzelfde tijdstip geplukte groep zieke bladeren gemeten. De stolpen, waarin de partijen zich bevonden, werden in denzelfden thermostaat geplaatst. In beide werd lucht ingezogen, bevrijd van CO_2 en op temperatuur gebracht door haar te leiden door lange glazen spiralen in den thermostaat, terwijl de door de bladeren afgescheiden hoeveelheden CO_2 opgevangen werden in $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -oplossingen van bekenden titer.

De volgens het principe van PETTENKOFER uitgevoerde ademhalingsbepalingen geschieden voor gezonde en zieke bladeren met even sterke luchtstroomén (± 6 L. per uur) verkregen door 2 waterstraalluchtpompen of met dezelfde

luchtstroom door de 2 rijen toestellen in serie te koppelen. De uit het eene stel van apparaten tredende CO_2 -vrije lucht werd weer in den thermostaat teruggeleid en door het andere toestel gezogen met behulp van één waterstraalpomp. Dus over beide partijen streek praktisch dezelfde hoeveelheid lucht in denzelfden tijd. Bovendien wisselden bij de opéénvolgende proeven de partijen gezonde en bladrolzieke bladeren van stolp. Op deze wijze werd verzekerd, dat de voorbehandeling van het blad-materiaal en de wijze van proefneming onder volkomen gelijke omstandigheden geschieden. De uit de stolpen CO_2 meevoerende luchtstroomen passeerden sterk zwavelzuur om bevrijd te worden van waterdamp, die anders door condensatie in de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -oplossing den titer zou verlagen; van de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -oplossingen toch werd een aliquot deel getitreerd. De door de thans droge lucht uit de oplossingen onttrokken waterdamp werd verwaarloosd. Vóór en na de zwavelzuurflesch werd een veiligheidsflesch geplaatst om te voorkomen, dat eenig zuur in de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -oplossingen of bij de bladeren zou komen. De $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -oplossingen bevonden zich telkens in 3 achter elkaar geplaatste 10-kogelbuizen volgens MEIJER.

Stukjes bevochtigd filtreerpapier tegen de wanden van de stolpen gaven de gewenschte vochtigheid.

Wanneer van geheele planten de ademhaling werd nagegaan dan werd de stengel geleid door een opening van een in twee helften gesneden glazen plaat. De helften werden tegen elkaar gekit en de stengel bevond zich onbeschadigd in een juist passende opening, die met een mengsel van parafine en vaseline werd dichtgemaakt. Over de eerste plaat kwam een tweede eveneens in twee helften gesneden plaat, waarvan de aanhechtingsplaats der helften niet samenviel met die der voorgaande. Het geheel werd dichtgesmeerd en de stolp werd over de plant gebracht. Ter contrôle, dat geen lucht door lekken binnen gezogen zou kunnen worden, werd een laagje water op de glazen platen gebracht. Wanneer geen belletjes verschenen tijdens het doorzuigen van de luchtstroomen was de bodem volkomen dicht. Na de proef werd voorzichtig nagegaan of de stengels op de plaats der aanraking met de platen niet beschadigd waren. — De luchtvochtigheid was ook in dit geval bij gebruik eener grootere hoeveelheid water niet storend, aangezien de bladeren na de proef frisch waren, maar niet met druppels waren bezet.

De titratie van de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -oplossingen geschiedde met 0,0449 N oxaalzuur met phenolphthaleïne als indicator; 0,5 cc. CO_2 (0° en 76 cM.) komt overeen met 1 cc oxaalzuur.

Over de gevonden waarden.

Over de wijze van omrekening valt op te merken, dat die, welke zich op het gewicht versch bladmateriaal of op het bladoppervlak grondt, het voordeel heeft, dat men zoowel aan het begin als aan het eind van de proef met dezelfde grootheden te maken heeft, terwijl men met de omrekening naar het drooggewicht weer het begin- of eindgewicht heeft vast te stellen. Maar deze hoeveelheden geven geen verband tusschen ademhalingsmateriaal en ademhalingsprodukt. Ook tegen andere omrekeningseenheden [b.v. PALLADIN's protoplasmaceenheid; KOSTYTSCHEW (40, pag. 4)] blijven bezwaren aan te voeren.

In de tabellen op de bladzijden 27 tot en met 34 worden de waarden vermeld omgerekend per gram versch gewicht per uur.

Conclusies.

Allereerst valt bij alle proeven het volgende op te merken:

1°. Er is een geprononceerde periodiciteit in de gemiddelden der dag- en nachturen.

2°. Waarschijnlijk bereikt de ademhaling de grootste intensiteit in het midden van den dag, immers ademhaling E vertoont als laatste daggemiddelde voor beide soorten bladeren een grootere waarde dan dat van den voorgaanden dag, hetgeen vermoedelijk te danken is aan het feit, dat de waarneming liep van 9—2 uur, terwijl de daarna komende uren van 2—6 buiten beschouwing bleven. Dit geldt slechts wanneer men de in Hoofdstuk V vermelde regelmatig opkomende plotselinge stijgingen buiten beschouwing laat.

3°. De traumatische invloed komt bij de afgesneden bladeren sterk naar voren doordat de ademhaling sterker is in de eerste tijden en dan langzamerhand daalt. Dit is niet het geval met de aan den stengel verblijvende bladeren, wat blijkt uit vergelijking van proef H met proef G.

Betreffende deze kort aangegeven verschijnselen, waarover hier voor uitvoeriger studie verwezen wordt naar DELEANO's waarnemingen (24 t.m. 26), blijken de bladrolzieke bladeren op dezelfde wijze te reageeren als de gezonde.

Evenwel illustreeren de verkregen waarden van het opvangen CO_2 , dat, omgerekend per gram versch gewicht per uur, de bladrolzieke bladeren meer ademhalingsintensiteit bezitten dan de gezonde. Dit is voor de 3 gebezigde temperaturen 28° , 24° en 20° waar, evenals voor de verschillende partijen bladeren, die of al dan niet gehalveerd met stelen in water stonden of met de laminae op water dreven of aan de stengels bleven. De cijfers verkregen bij de verschillende overeenkomende proeven

ADEMHALINGSPROEF A (RESPIRATION-EXPERIMENT A).

TEMP. 28°. 23—26 Juni 1926.

Volgroeide bladeren, helften met stelen in water. (Full-grown leaves, halves with petioles in water).
Opgevangen CO₂ in c.c. omgerek. voor 0° en 760 m.m. (Obtained CO₂ in c.c., calculated for 0° and 760 m.m.).

Tijdsduur (Duration)	14 n. u. night hours	9 d. u. day hours	15 n. u. night hours	9 d. u. day hours	15 n. u. night hours	Totaal in c.c. Total in c.c.	In m.gr.	Komt overeen met m. gr. C ₆ H ₁₂ O ₆ Corresponding quantity C ₆ H ₁₂ O ₆ in m. gr.

GEZOND (Healthy)

Totaal (Total)	174,4	104,4	138,4	77,4	118,4	613,0	1213,7	825,3
Per gram versich gewicht per uur ..	0,2264		0,2109		0,1563		0,1435	
Per gram fresh weight per hour								

Gemidd. per gr. begin droog-gewicht per uur..... } 1213,7
Average per gr. original dry weight per hour..... } 5,551 × 62 = 3,527 m.gr.

ZIEK (Diseased)

Totaal (Total)	210,4	114,6	124,8	122,0	97,6	619,4	1226,4	834,0
Per gram versich gewicht per uur ..	0,3757		0,3183		0,2000		0,1626	
Per gram fresh weight per hour ..								

Gemidd. per gr. begin droog-gewicht per uur..... } 1226,41
Average per gram original dry weight per hour..... } 4,998 × 62 = 3,958 m.gr.

ANALYSE (Analysis) Versch gewicht (Fresh weight) gezond (healthy) 55,0 gr.; ziek (diseased) 40,0 gr.

	Voor de ademhaling, in m.gr. Before the respiration, in m.gr.				Na de ademhaling, in m.gr. After the respiration, in m.gr.			
	GEZOND (HEALTHY)		ZIEK (DISEASED)		GEZOND		ZIEK	
	Per gram versch gew. Per gram fresh weight	Totaal Total	Per gram versch gew. Per gram fresh weight	Totaal Total	Per gram versch gew. Per gram fresh weight	Totaal Total	Per gram versch gew. Per gram fresh weight	Totaal Total
Droog-gewicht (Dry weight)	551,0	4998,0						
Suikers als C ₆ H ₁₂ O ₆	166,4	171,4	4,285	119,1	2,165	208,3	5,208	
Zetmeel als C ₆ H ₁₂ O ₆	459,3	8,353	28,042	91,3	1,691	591,3	14,783	

ADEMHALINGSPROEF B (RESPIRATION-EXPERIMENT B).

TEMP. 28°. 27—30 Juni 1926.

Volgroeide bladeren, helften met stelen in water. (Full-grown leaves, halves with their petioles in water).
Opgevangen CO₂ in c.c. omgerek. voor 0° en 760 m.m. (Obtained CO₂ in c.c., calculated for 0° and 760 m.m.).

Tijdsduur (Duration)	15 n. u. night hours	9 d. u. day hours	15 n. u. night hours	9 d. u. day hours	15 n. u. night hours	Totaal in c.c. Total in c.c.	In m.gr.	Komt overeen met m.gr. C ₆ H ₁₂ O ₆ Corresponding quantity C ₆ H ₁₂ O ₆ in m.gr.
GEZOND (Healthy)								
Totaal (Total)	122,0	67,5	102,0	78,0	116,0	485,5	961,29	653,7
Per gram versch gewicht per uur ..	}	}	}	}	}	}	}	}
Per gram fresh weight per hour								
	0,2059	0,1899	0,1726	0,2194	0,1958			
Gemidd. per gr. begin droog-gewicht per uur.....	}				}	}	}	}
Average per gr. original dry weight per hour.....	}							
					$\frac{961,29}{4,810 \times 63}$		$\frac{961,29}{4,810 \times 63}$	
ZIEK (Diseased)								
Totaal (Total)	244,0	121,5	136,0	78,0	106,0	685,5	1357,29	923,0
Per gram versch gewicht per uur ..	}	}	}	}	}	}	}	}
Per gram fresh weight per hour ..								
	0,4281	0,3553	0,2386	0,2281	0,1859			
Gemidd. per gr. begin droog gewicht per uur.....	}				}	}	}	}
Average per gram original dry weight per hour.....	}							
					$\frac{923,0}{4,706 \times 63}$		$\frac{923,0}{4,706 \times 63}$	

ANALYSE (Analysis) Versch gewicht (Fresh weight) gezond (healthy) 39,5 gr.; ziek (diseased) 38,0 gr.

	Vóór de ademhaling, in m.gr. Before the respiration, in m.gr.				Na de ademhaling, in m.gr. After the respiration, in m.gr.			
	GEZOND (HEALTHY)		ZIEK (DISEASED)		GEZOND		ZIEK	
	Total	Per gram versch gew. Per gram fresh weight	Total	Per gram versch gew. Per gram fresh weight	Total	Per gram versch gew. Per gram fresh weight	Total	Per gram versch gew. Per gram fresh weight
Droog-gewicht (Dry weight).....	4810,0		4706,0					
Suikers als (Sugars as) C ₆ H ₁₂ O ₆	65,3	1,652	75,5	1,987	56,8	1,438	99,0	2,605
Zetmeel als (Starch as) C ₆ H ₁₂ O ₆	39,0	0,987	675,9	17,787	21,1	0,534	238,0	6,263

ADEMHALINGSPROEF C. (RESPIRATION-EXPERIMENT C).

TEMP. 24°. 8—10 Juli 1926.

Volgroeide bladeren, helften drijvend op water. (Full-grown leaves, halves floating on water).
Opgevangen CO₂ in c.c. omgerek. voor 0° en 760 m.m. (Obtained CO₂ in c.c. calculated for 0° and 760 m.m.).

Tijdsduur (Duration)	15 n. u. night hours	9 d. u. day hours	15 n. u. night hours	Totaal in c.c. Total in c.c.	In m.gr. Corresponding quantity C ₆ H ₁₂ O ₆ in m.gr.	Komt overeen met m.gr. C ₆ H ₁₂ O ₆ Corresponding quantity C ₆ H ₁₂ O ₆ in m.gr.
GEZOND (Healthy)						
Totaal (Total)	103,0	61,5	84,0	248,5	492,0	334,6
Per gram verschoot gewicht per uur	0,1654	0,1646	0,1349			
Per gram fresh weight per hour						
(Gemidd. per gr. begin droog-gewicht per uur						
Average per gr. original dry weight per hour				$\frac{492,0}{4,889 \times 39} =$	2,580 m.gr.	
ZIEK (Diseased)						
Totaal (Total)	144,0	94,5	122,0	360,5	713,7	485,3
Per gram verschoot gewicht per uur	0,2182	0,2386	0,1848			
Per gram fresh weight per hour						
(Gemidd. per gram begin droog-gewicht per uur						
Average per gram original dry weight per hour				$\frac{713,7}{5,715 \times 39} =$	3,202 m.gr.	

ANALYSE (Analysis) Versch gewicht (Fresh weight) gezond (healthy) 41,5 gr.; ziek (diseased) 44,0 gr.

	Voor de ademhaling, in m.gr. Before the respiration, in m.gr.				Na de ademhaling, in m.gr. After the respiration, in m.gr.			
	GEZOND (HEALTHY)		ZIEK (DISEASED)		GEZOND		ZIEK	
	Per gram versch gew.	Totaal	Per gram versch gew.	Totaal	Per gram versch gew.	Totaal	Per gram versch gew.	Totaal
	Per gram fresh weight	Total	Per gram fresh weight	Total	Per gram fresh weight	Total	Per gram fresh weight	Total
Droog-gewicht (Dry weight)	4889,0	5715,0						
Suikers als (Sugars as) C ₆ H ₁₂ O ₆	113,2	2,728	238,1	5,411	83,2	2,005	134,6	3,059
Zetmeel als (Starch as) C ₆ H ₁₂ O ₆	125,4	3,022	422,2	9,595	72,5	1,747	329,3	7,482

ADEMHALINGSPROEF D (RESPIRATION-EXPERIMENT D).

TEMP. 24°. 10—12 Aug. 1926.

Volgroeide bladeren, helften met stelen in water. (Full-grown leaves, halves with petioles in water).
Opgevangen CO₂ in c.c. omgerek. voor 0° en 760 m.m. (Obtained CO₂ in c.c., calculated for 0° and 760 m.m.).

Tijdsuur (Duration)	15 n. u. night hours	9 d. u. day hours	15 n. u. night hours	Totaal in c.c. Total in c.c.	In m.gr.	Komt overeen met m.gr. C ₆ H ₁₂ O ₆ Corresponding quantity C ₆ H ₁₂ O ₆ in m.gr.
GEZOND (Healthy)						
Totaal (Total)	112,0	63,0	98,0	273,0	540,5	367,5
Per gram verscho gewicht per uur	0,1919	0,1799	0,1679			
Per gram fresh weight per hour						

Gemidd. per gr. begin droog-gewicht per uur } $\frac{540,5}{3,952 \times 39} = 3,507$ m.gr.
Average per gr. original dry weight per hour }

ZIEK (Diseased)

Totaal (Total)	168,0	85,5	112,0	365,5	723,7	492,1
Per gram verscho gewicht per uur	0,3394	0,2879	0,2262			
Per gram fresh weight per hour						

Gemidd. per gr. begin droog-gewicht per uur } $\frac{723,7}{5,575 \times 39} = 3,329$ m.gr.
Average original dry weight per hour }

ANALYSE (Analysis) Versch gewicht (fresh weight) gezond (healthy) 38,9 gr.; ziek (diseased) 33,0 gr.

	Voór de ademhaling, in m.gr. Before the respiration, in m.gr.				Na de ademhaling, in m.gr. After the respiration, in m.gr.			
	GEZOND (HEALTHY)		ZIEK (DISEASED)		GEZOND		ZIEK	
	Totaal	Per gram versch gew. fresh weight	Totaal	Per gram versch gew. fresh weight	Totaal	Per gram versch gew. fresh weight	Totaal	Per gram versch gew. fresh weight
Droog gewicht (Dry weight)	3952,0		5575,0					
Suikers als (Sugars as) C ₆ H ₁₂ O ₆	150,0	3,856	302,3	9,169	127,0	3,265	241,3	7,312
Zetmeel als (Starch as) C ₆ H ₁₀ O ₅	242,7	6,239	575,3	17,433	34,9	0,897	513,0	15,569

ADEMHALINGSPROEF E (RESPIRATION-EXPERIMENT E).

TEMP. 24° C. 20—22 Juli 1926.

Volgroeide bladeren, helften drijvend op water. (Full-grown leaves, halves floating on water).
 Opgevangen CO₂ in c.c. omgerek. voor 0° en 760 m.m. (Obtained CO₂ in c.c., calculated for 0° and 760 m.m.).

Tijdsduur (Duration)	15 n. u. night hours	9 d. u. day hours	15 n. u. night hours	5 d. u. day hours	Totaal in c.c. Total in c.c.
GEZOND (Healthy)					
Totaal (Total)	98,0	54,0	86,0	34,5	272,5
Per gr. versch gewicht per uur					
Per gram fresh weight per hour	0,1421	0,1305	0,1247	0,1500	
Gem. per gr. begin droog-gewicht per uur Average per gr. original dry weight per hour					
			$\left. \begin{array}{l} 272,5 \times 1,98 \\ 5,405 \times 44 \end{array} \right\} = 2,265 \text{ m.gr.}$		
ZIEK (Diseased)					
Totaal (Total)	160,0	69,0	86,0	40,5	355,5
Per gram versch gewicht per uur					
Per gram fresh weight per hour	0,2510	0,1804	0,1349	0,1906	
Gemidd. per gr. begin droog-gewicht per uur Average per gram original dry weight per hour					
			$\left. \begin{array}{l} 355,5 \times 1,98 \\ 4,833 \times 44 \end{array} \right\} = 3,310 \text{ m.gr.}$		

Vóór de ademhaling (before the respiration):

Versch gewicht (fresh weight)	GEZOND (HEALTHY)	ZIEK (DISEASED)
	46,0 gr.	42,5 gr.
Droog-gewicht (dry weight)	5405,0 m.gr.	4833,0 m.gr.

ADEMHALINGSPROEF F (RESPIRATION-EXPERIMENT F).

TEMP. 24° C. 4—7 Aug. 1926.

Geheele volgroeide bladeren, stelen in water. (Entire full-grown leaves, petioles in water).

Opgevangen CO₂ in c.c. omgerek. voor 0° en 760 m.m. (Obtained CO₂ in c.c., calculated for 0° and 760 m.m.).

Tijdsduur (Duration)	Gezond } 15 Healthy } n. u. (night hours)	9 d. u. day hours	15 n. u. night hours	9 d. u. day hours	15 n. u. night hours
	Ziek } 15,5 Diseased } n. u. (night hours)				
GEZOND (Healthy)					
Totaal (Total)	158,0	91,5	144,0	111,0	176,0
Per gram versch gewicht per uur	0,1789	0,1726	0,1630	0,2094	0,1992
Per gram fresh weight per hour					
ZIEK (Diseased)					
Totaal (Total)	150,0	78,0	108,0	73,5	108,0
Per gram versch gewicht per uur	0,2329	0,2086	0,1733	0,1966	0,1733
Per gram fresh weight per hour					

Na ademhaling (after respiration):	GEZOND (HEALTHY)	ZIEK (DISEASED)
Versch gewicht (fresh weight).....	58,9 gr.	41,55 gr.
Eind droog-gewicht (final dry weight)....	5430,0 m.Gr.	4707,0 m.Gr.

TEMP. 20°. 9—11 Sept. 1926.

Geheele, jonge bladeren; de bladrolzieke met beginnende zetmeelophooping; met stelen in water.

(Entire young leaves; starch-accumulation in the diseased leaves just starting; petioles in water.)

Opgevangen CO_2 in c.c. omgerek. voor 0° en 760 m.m. (Obtained CO_2 in c.c. calculated for 0° and 760 m.m.).

Tijdsduur (Duration)	4 d. u. day hours	15 n. u. night hours	8,5 d. u. day hours	15,5 n. u. night hours	8,0 d. u. day hours	Totaal in c.c. Total in c.c.
GEZOND (Healthy)						
Per gr. versch gewicht per uur.....	0,4841	0,2261	0,1305	0,1347	0,1957	233,0
Per gram fresh weight per hour						
Gemidd. per gr. eind droog-gewicht per uur	$\left. \begin{array}{l} \text{Gemidd. per gr. eind droog-gewicht per uur} \dots\dots\dots \\ \text{Average per gr. final dry weight per hour} \dots\dots\dots \end{array} \right\} \frac{233,0 \times 1,98}{2,049 \times 51} = 4,415 \text{ m.gr.}$					
Average per gr. final dry weight per hour						
ZIEK (Diseased)						
Per gram versch gewicht per uur.....	0,6033	0,3394	0,2006	0,1525	0,2216	296,0
Per gram fresh weight per hour						
Gemidd. per gr. eind droog-gewicht per uur	$\left. \begin{array}{l} \text{Gemidd. per gr. eind droog-gewicht per uur} \dots\dots\dots \\ \text{Average per gr. final dry weight per hour} \dots\dots\dots \end{array} \right\} \frac{296,0 \times 1,98}{2,138 \times 51} = 5,375 \text{ m.gr.}$					
Average per gr. final dry weight per hour						

ADEMHALINGSPROEF H (RESPIRATION-EXPERIMENT H).

TEMP. 20°. 26—29 Oct. 1926.

Aan de plant verblijvende, zeer jonge bladeren. (Leaves very young and attached to the plant.)
 Opgevangen CO₂ in c.c. omgerek. voor 0° en 760 m.m. (Obtained CO₂ in c.c., calculated for 0° and 760 m.m.).

Tijdsduur (Duration)	18 n. u. night hours	8 d. u. day hours	17 n. u. night hours	8 d. u. day hours	16 n. m. night hours
GEZOND (Healthy)					
Per gr. versch gewicht per uur	0,6006	0,4814	0,3179	0,4054	0,4729
Per gram fresh weight per hour }					
ZIEK (Diseased)					
Per gr. versch gewicht per uur	0,5507	0,5974	0,4061	0,4646	0,3429
Per gram fresh weight per hour }					

ADEMHALINGSPROEF I (RESPIRATION-EXPERIMENT I).

TEMP. 20°. 29 Oct.—1 Nov. 1926.

Jonge bladrolzieke bladeren, ademh. van toppen en bases, drijvend op water.
 (Young diseased leaves, respiration of tops and bases, floating on water).

Opgevangen CO₂ in c.c. omger. voor 0° en 760 m.m. (Obtained CO₂ in c.c., calculated for 0° and 760 m.m.).

Tijdsduur (Duration)	17 n. u. night hours	7 d. u. day hours	16,5 n. u. night hours	7,5 d. u. day hours	16,5 n. u. night hours
TOPPEN (Tops)					
Per gr. versch gewicht per uur	0,4939	0,2304	0,1564	0,2258	0,2053
Per gram fresh weight per hour }					
BASES					
Per gr. versch gewicht per uur	0,3997	0,2532	0,1612	0,2364	0,1746
Per gram fresh weight per hour }					

kloppen zeer goed met elkaar zoowel voor de gezonde als voor de zieke bladeren. Echter was de meerdere uitscheiding van CO_2 door deze laatste te verwachten, omdat hierbij immers per gram versch gewicht in vergelijking meer droog gewicht gevonden werd.

Door omrekening per gram droog-gewicht per uur van het totaal, zonder op de 3 genoemde factoren te letten, vindt men de volgende waarden:

OPGEVANGEN CO_2 PER GRAM BEGIN DROOG-GEWICHT PER UUR.
(OBTAINED CO_2 PER GRAM ORIGINAL DRY WEIGHT PER HOUR.)

	GEZOND Healthy m.gr. CO_2	Uitgegroeide bladeren; ge- middeld van: Full-grown leaves; average of:	ZIEK Diseased m.gr. CO_2	
A 28°	3,527	62 uren (hours)	3,958	
B 28°	3,172	63 „	3,113	
C 24°	2,580	39 „	3,202	
D 24°	3,507	39 „	3,329	
E 24°	2,265	44 „	3,310	
28° gem.	3,380		3,536	104,6% v.d. gezonde.
24° „	2,784		3,280	117,8% v.d. gezonde.

	GEZOND Healthy	jonge bladeren; gem. van: young leaves; average of:	ZIEK Diseased	
G 20°	4,415	51 uren (hours)	5,375	

Het is niet mogelijk alle factoren, die het ademhalingsproces in het algemeen bepalen, na te gaan, evenmin de hypothetische mogelijkheid, dat de ademhaling van de smetstof zelf aandeel zou hebben in het hoogere bedrag van de ademhaling der zieke bladeren. De ademhaling hangt in laatste instantie van den toestand van het protoplasma af. Hierin is eenig verschil te verwachten bij de gezonde en bij de zieke bladeren. Het grootere gehalte aan koolhydraten bij de laatste groep van bladeren doet een meer intensieve ademhaling verwachten, terwijl de minder gemakkelijke gasuitwisseling en de kleinere oppervlakte het tegendeel doen veronderstellen. Deze zoo verschillende factoren

maken verschil van de opgevangen hoeveelheden CO_2 bij beide soorten bladeren aannemelijk. Bij globale bepalingen aan volgroeide bladeren kan de verhouding voor de ademhaling van gezonde tot die van bladrolzieke bladeren gelijkgesteld worden met 100 : 120 voor de gemiddelde dagtemperaturen. Omgerekend per gram droog-gewicht per uur is er een koolzuurproductie van respectievelijk 2,5 m.gr. en 3,0 m.gr.

De hogere waarden bij de zieke bladeren zijn voornamelijk waar te nemen in de eerste uren, wat in overeenstemming is met MEIJER en DELEANO's conclusie: „Das Ansteigen der Kohlensäureproduktion ist um so stärker in der Reizperiode, je kohlenhydratreicher ein Blatt ist" [(48) p. 237].

Aan het einde der ademhalingsproeven bevonden zich de huidmondjes van de beide partijen bladeren nagenoeg in den zelfden toestand n.l. 0—1,1; de gezonde bladeren begonnen gelijkmatig hun groene kleur te verliezen, terwijl de zieke dit verschijnsel toonden op de plaatsen waar geen zetmeelophooping meer was.

HOOFDSTUK V.

BESCHOUWINGEN OVER DE ONTLEDING VAN ZETMEEL EN ANDERE RESERVESTOFFEN IN VERBAND MET DE ADEMHALING.

Bij het nagaan der cijfers der tabellen van blz. 27—34 valt het op, dat het beloop der ademhaling bij de zieke bladeren in het algemeen gekenmerkt wordt door een regelmatige daling met regelmatige dag- en nachtschommelingen, terwijl het bij de gezonde na een periode van daling een plotselinge stijging vertoont, die zelfs de ademhaling der eerste uren kan overtreffen. Dit is bijv. het geval in proef B bij de ademhaling op den tweeden dag vergeleken met die op den eersten, in proef F bij die op den tweeden dag en den derden nacht vergeleken met die op den eersten dag en den tweeden nacht, in proef G bij die op den derden dag vergeleken met die op den tweeden en in proef H bij die op den derden nacht vergeleken met die op den tweeden nacht. Dat wij evenwel ook hier weer niet met een principieel verschil te doen hebben blijkt uit proef G, waar ook de zieke bladeren een stijging vertoonen en wel gedurende den derden dag vergeleken bij den tweeden, zij het in veel zwakkere mate. Ook proef I vertoont voor beide partijen, gedeelten van zieke bladeren, het genoemd verschijnsel. Deze plotselinge stijging wordt niet opgemerkt bij de gezonde bladeren van proef A, waar de bladeren opvallen door hun hoog gehalte aan zetmeel, terwijl ze evenmin te constateeren is bij de proeven C en D, die te kort duurden. Vermoedelijk zou de bedoelde stijging zich bij de zieke bladeren eveneens meer toonen als de proeven zich over langere tijden hadden uitgestrekt. Ook aan MEYER en DELEANO (48) is een dergelijk verschijnsel opgevallen.

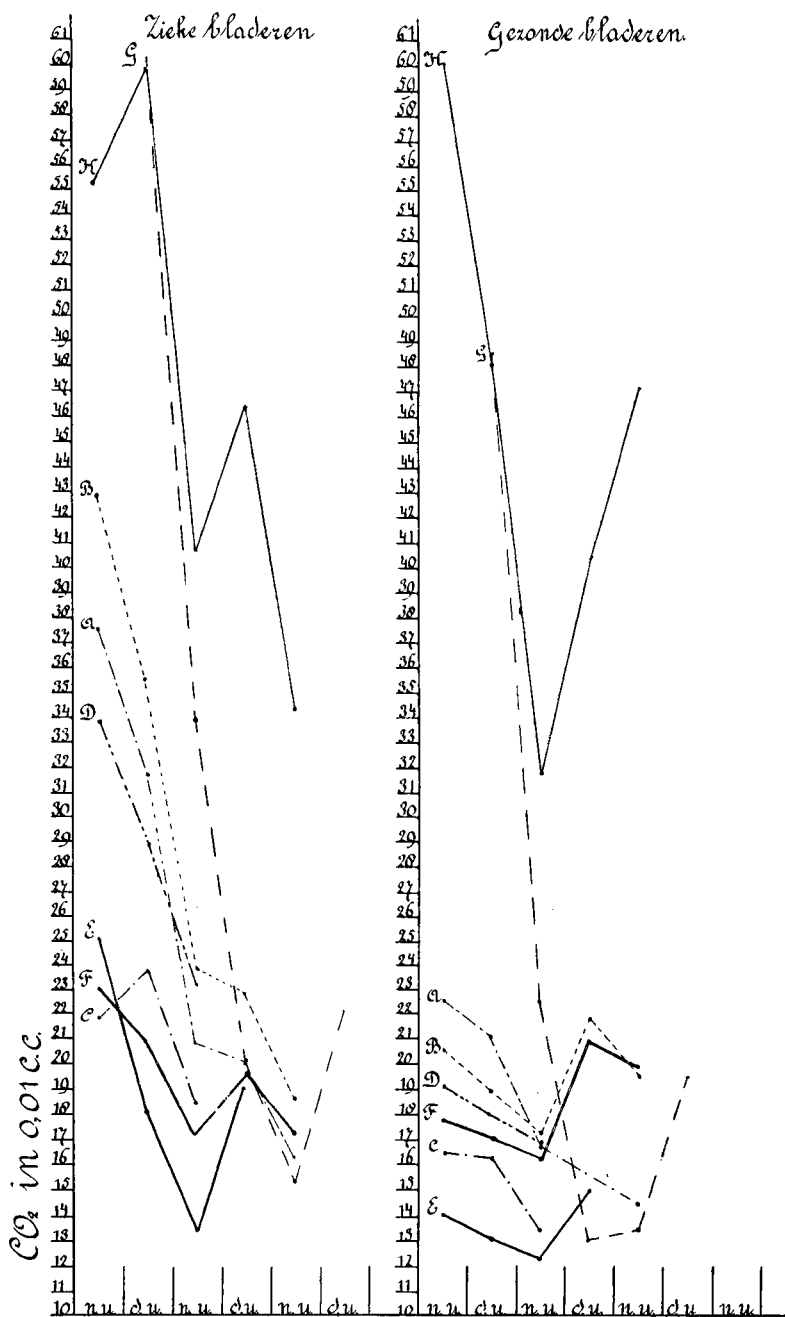
De curven op blz. 38 geven het beschreven beloop weer.

Frappeerend is het, dat genoemd verschijnsel zich bij de zieke bladeren gedurende onze waarnemingstijden slechts drie keeren en in veel mindere mate toonde en dat het zich in proef A ook niet bij de gezonde liet waarnemen, terwijl in dit geval de gezonde bladeren zoo'n groote hoeveelheid zetmeel bevatten. De indruk wordt gewekt, dat het verschijnsel in verband staat

DE ADEMHALING DER ZIEKE EN DER GEZONDE BLADEREN.

(THE RESPIRATION OF THE DISEASED AND OF THE HEALTHY LEAVES.)

Waarden p. gr. versch gew. p. uur. (Values p. gr. fresh weight p. hr.)



A en B afgesneden volgroeide bladeren, helften met stelen in water, temp. 28°.
 C en E volgroeide bladeren, helften drijvend op water, temp. 24°.
 D afgesneden volgroeide bladeren, helften met stelen in water, temp. 24°.
 F geheele volgroeide bladeren, stelen in water, temp. 24°.
 G geheele jonge bladeren, stelen in water, temp. 20°.
 H aan de plant verblijvende zeer jonge bladeren, temp. 20°.

A and B cut full-grown leaves, halves with their petioles in water, temp. 28°.
 C and E full-grown leaves, halves floating on water, temp. 24°.
 D cut full-grown leaves, halves with their petioles in water, temp. 24°.
 F entire full-grown leaves, petioles in water, temp. 24°.
 G entire young leaves, petioles in water, temp. 20°.
 H leaves very young and attached to the plant, temp. 20°.

met de zetmeelhoeveelheid. Bij de zieke bladeren, die de stijging toonen (G en I), kunnen wij een laag gehalte aan zetmeel aannemen, daar zij laat in het jaar geplukt zijn.

De ademhaling wordt onderhouden door uit zetmeel en ook uit andere stoffen ontstane suikers. Uitgaande van een bepaalde beginhoeveelheid zetmeel zullen in de achtereenvolgende uren in hetzelfde tijdvak steeds kleinere kwantiteiten zetmeel ontleed worden. Het hangt van de orde van reactie af hoe sterk de snelheid van de zetmeelontleding met den tijd achteruitgaat (Wet van GULDBERG en WAAGE). Mogen wij nu de zetmeelontleding voorstellen door de vergelijking: $(C_6H_{10}O_5)_n + nH_2O \rightarrow nC_6H_{12}O_6$, dan is bij de groote overmaat van water de hoeveelheid ervan als constant te beschouwen en kunnen wij de reactie als een monomoleculaire opvatten. De snelheid van ontleding is in dit geval aldus afhankelijk van de begin-hoeveelheid a , dat na een bepaald tijdsverloop (t) $\frac{dx}{dt} = v = k(a-x)$, waarin k een

constante is en x de verdwenen hoeveelheid zetmeel, die overeenkomt met de verademde suikers. Naarmate a grooter is, naar die mate is de snelheid in de eerste tijden meer constant, daar dan immers de invloed der verdwenen hoeveelheden minder sterk zal zijn. Bij deze beschouwing moet dan afgezien worden van de invloeden van het snijden en van de dag- en nacht-uren. Bij de zieke bladeren van proef A met een begin-hoeveelheid zetmeel van 28,042 m.gr. per gram versch gewicht zal a licht veel grooter zijn dan b.v. bij de gezonde bladeren van proef B met een begin-hoeveelheid van 0,987 m.gr. per gram versch gewicht. Welke waarden die grootheden a hebben is niet uit te maken, aangezien wij o.a. niet weten hoeveel het zetmeel zich in de cellen in opgelosten toestand bevindt. Wanneer geen zetmeel meer aanwezig is in bepaalde gedeelten of bepaalde cellen van het blad, worden andere stoffen aangesproken. Dit zal met de door DAVIS en SAWYER (21) genoemde „gummy substances” bij de aardappelbladeren reeds het geval kunnen zijn bij de aanwezigheid van zetmeel, omdat zij geheel dezelfde rol vervullen. Mogen wij dus aannemen, dat naast het ontleden van zetmeel in dezelfde cellen of in cellen waar geen zetmeel meer aanwezig is, ook het ontleden plaats grijpt van andere, nog onbekende stoffen, dan zijn hier twee processen werkzaam, die elkaar aanvullen. Het minder stabiel beloop van de ontleding van het zetmeel bij kleine begin-hoeveelheden kan invloed hebben op het beloop van de ontleding der andere stoffen. De dan uit deze stoffen ontstane suikers kunnen de ademhaling in latere stadia beïnvloeden en zoodoende verhoogingen veroorzaken.

HOOFDSTUK VI.

DE ONTLEDING VAN HET ZETMEEL.

Na de theoretische overwegingen in voorgaand hoofdstuk komen wij tot de experimenteele bepaling van de werkzaamheden der enzymgroepen 2 en 3. Hierbij zal speciaal de aandacht gericht zijn op de laatste groep nl. 3. De in het hoofdstuk IV vermelde cijfers (proeven A, B, C en D) vertoonen in het algemeen een daling voor de suikers en een nog grootere voor het zetmeel. De zetmeelontledende enzymen leveren dus een belangrijk deel van de verademde stoffen op. De zetmeelverdwijning wordt geïllustreerd door de volgende cijfers, verkregen uit chemische analyse. Hierbij is de reductiewaarde voor de Takadiastase na de HCl-behandeling in rekening gebracht.

KOOLHYDRATEN VOOR EN NA ADEMHALING. (CARBOHYDRATES BEFORE AND AFTER RESPIRATION).

GEZOND (HEALTHY)					ZIEK (DISEASED)			
	Suikers als m.gr. $C_6H_{12}O_6$ Sugars as m.gr. $C_6H_{12}O_6$	Zetmeel als m.gr. $C_6H_{12}O_6$ Starch as m.gr. $C_6H_{12}O_6$			Suikers als m.gr. $C_6H_{12}O_6$ Sugars as m.gr. $C_6H_{12}O_6$	Zetmeel als m.gr. $C_6H_{12}O_6$ Starch as m.gr. $C_6H_{12}O_6$		
	Vòòr ademhaling Before the respiration	Na ademhaling After the respiration	Vòòr ademh. Before the resp.	Na ademh. After the resp.	Vòòr ademh. Before the resp.	Na ademh. After the resp.	Vòòr ademh. Before the resp.	Na ademh. After the resp.
A 28°	166,4	119,1	459,3	91,3	171,4	208,3	1121,7	591,3
B 28°	65,3	56,8	39,0	21,1	75,5	99,0	675,9	238,0
C 24°	113,2	83,2	125,4	72,5	238,1	134,6	422,2	329,3
D 24°	150,0	127,0	242,7	34,9	302,3	241,3	575,3	513,0

De omzetting per gram begin droog-gewicht per uur wordt gevonden door het verschil vòòr en na ademhaling te deelen door het product van het aantal uren en de grammen droog-gewicht. De aldus gevonden waarden bedragen:

VERDWENEN HOEVEELHEDEN ZETMEEL PER GRAM BEGIN
DROOG-GEWICHT PER UUR.

(QUANTITY OF DISAPPEARED STARCH PER GRAM ORIGINAL DRY WEIGHT
PER HOUR.)

	GEZOND (HEALTHY)		ZIEK (DISEASED)
A 28°	$\frac{459,3 - 91,3}{62 \times 5,551} = 1,069 \text{ m.gr.} \dots$		$\frac{1121,7 - 591,3}{62 \times 4,998} = 1,712 \text{ m.gr.}$
B 28°	$\frac{39,0 - 21,1}{63 \times 4,810} = 0,591 \text{ „ „}$		$\frac{675,9 - 238,0}{63 \times 4,706} = 1,477 \text{ „}$
C 24°	$\frac{125,4 - 72,5}{39 \times 4,889} = 0,277 \text{ „ „}$		$\frac{422,2 - 329,3}{39 \times 5,715} = 0,417 \text{ „}$
D 24°	$\frac{242,7 - 34,9}{39 \times 3,952} = 1,348 \text{ „ „}$		$\frac{575,3 - 513,0}{39 \times 5,575} = 0,289 \text{ „}$

Hierbij is dus uitsluitend het verdwenen zetmeel van de gezonde bladeren met dat van de overeenkomstige bladrol-zieke te vergelijken. waaruit blijkt, dat bij 3 gevallen de zieke meer zetmeel hebben verloren dan de gezonde, terwijl bij één geval het omgekeerde te constateeren valt.

Dat verder de cijfers onderling zeer uiteenloopen is te verwachten, daar zij immers o.a. afhankelijk zijn van de beginhoeveelheden zetmeel.

Nu is het verdwijnen van het zetmeel als de resultante te beschouwen van twee tegengestelde processen, waarbij dat van den opbouw overtroffen wordt door dat van de ontleding. In hoofdstuk X wordt door de gegeven cijfers waarschijnlijk gemaakt, dat de zetmeelvormende functie zich bij de zieke niet anders gedraagt dan bij de gezonde planten, waaruit dan volgt, dat de diastatische werkzaamheden bij beide soorten nagenoeg om gelijke waarden schommelen. Dat de meeste waarden der zetmeelontleding grooter zijn bij de zieke bladeren, is met alle waarschijnlijkheid toe te schrijven aan de grootere beginhoeveelheden zetmeel. Dat de ontleding daarentegen hierbij niet in nog grootere mate plaats grijpt is wellicht toe te schrijven aan het langzaam onttrekken van de ontstane suikers door de ademhaling.

Wat voor het onderzoek van belang is staat experimenteel vast n.l. dat het zetmeel bij de bladrol-zieke bladeren niet in mindere mate wordt omgezet dan bij de gezonde. Op grond hiervan bestaat alle reden om te concluderen, dat de diastatische enzymen niet beïnvloed worden door de smetstof.

Opmerking.

Het verdwijnen van de suikers of andere oplosbare stoffen naar de steel tijdens de ademhalingsproeven is te verwaarloozen, immers dezelfde resultaten werden verkregen met bladhelften aan stelen, die in water stonden en met laminae, die op water dreven. Proef C geeft geen verschil met de andere proeven. Het is van belang hierop te wijzen, aangezien de stelen niet geanalyseerd werden. Gebleken is, dat in het water waarin de stelen stonden of waarop de laminae dreven, praktisch geen stoffen zijn gediffundeerd. Noch vóór, noch na behandeling van het water met HCl is reductie van FEHLING-oplossing waar te nemen.

HOOFDSTUK VII.

DE ONTLEDING VAN ANDERE STOFFEN DAN ZETMEEL.

Het ademhalingsmateriaal.

Het staat vast, dat de normale ademhaling de aanwezige suikers verbruikt [KOSTYTSCHÉW (40), BENECKE-JOST (7)], zonder dat bekend is welke suikers het zijn. BROWN en MORRIS (9) meenden te mogen concludeeren, dat glucose het eerst wordt verademd; evenwel heeft DAVIS (20) dit op grond van meer nauwkeurige analyses in twijfel moeten trekken.

KOSTYTSCHÉW (40) neemt aan, dat het de vergistbare suikers zijn, die verbrand worden, zulks in verband met zijn opvatting van het genetisch verband tusschen intramoleculaire en normale ademhaling.

Houden wij vast aan de opvatting, dat de ademhaling uitgedrukt wordt door de formule: $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + 674 \text{ Cal.}$, waarbij dus een volledige verbranding der suikers wordt verondersteld, dan wordt voor 264 m.gr. gevormd CO_2 180 m.gr. $C_6H_{12}O_6$ verbruikt. Rekenen wij voor elke m.gr. opgevangen CO_2 als overeenkomstige hoeveelheid 0,68 m.gr. $C_6H_{12}O_6$, dan zijn bij de verschillende ademhalingsproeven de volgende hoeveelheden $C_6H_{12}O_6$ verbruikt, terwijl aan suikers en zetmeel geringere hoeveelheden als $C_6H_{12}O_6$ verdwenen zijn.

VERADEMDE STOFFEN. (DISAPPEARED BY RESPIRATION.)

GEZOND (HEALTHY)			
	Verbruikt uit gevormd CO_2 berekend. Consumed, calculated from CO_2 formed.	Verdwenen hoeveelheden suikers + zetmeel. Disappeared quantities of sugars + starch.	Verschild (ander ademhalingsmateriaal). Difference (other materials).
A 28°	825,3 m.gr.	415,3 m.gr.	410,0 m.gr. als $C_6H_{12}O_6$.
B 28°	653,7 „	26,4 „	627,3 „ „ „
C 24°	334,6 „	82,9 „	251,7 „ „ „
D 24°	367,5 „	230,8 „	136,7 „ „ „

ZIEK (DISEASED)			
	Verbruikt uit gevormd CO ₂ berekend.	Verdwenen hoeveelheden suikers + zetmeel.	Verskil (ander ademhalingsmateriaal).
	Consumed, calculated from CO ₂ formed.	Disappeared quantities of sugars + starch.	Difference (other materials).
A 28°	834,0 m.gr.	493,5 m.gr.	340,5 m.gr. als C ₆ H ₁₂ O ₆ .
B 28°	923,0 „	414,4 „	508,6 „ „ „
C 24°	485,3 „	196,4 „	288,9 „ „ „
D 24°	492,1 „	123,3 „	368,8 „ „ „

Uit bovenstaande cijfers mogen wij concluderen, dat groote hoeveelheden andere stoffen dan zetmeel aanvullend moeten werken. Zij worden dan in ons schema door de enzymgroep 6 afgebroken tot suikers en wel omgerekend per gram droog-gewicht per uur als volgt:

VERADEMDE ANDERE STOFFEN DAN ZETMEEL EN SUIKER
PER GRAM BEGIN DROOG-GEWICHT PER UUR.

(MATTERS DISAPPEARED BY RESPIRATION, OTHER THAN STARCH AND
SUGAR, PER GRAM ORIGINAL DRY WEIGHT PER HOUR.)

GEZOND (HEALTHY)		ZIEK (DISEASED)	
	m.gr. als C ₆ H ₁₂ O ₆		m.gr. als C ₆ H ₁₂ O ₆
A 28°	$\frac{825,3 - 415,3}{62 \times 5,551} = 1,191$	$\frac{834,0 - 493,5}{62 \times 4,998} = 1,099$	
B 28°	$\frac{653,7 - 26,4}{63 \times 4,810} = 2,070$	$\frac{923,0 - 414,4}{63 \times 4,706} = 1,715$	
C 24°	$\frac{334,6 - 82,9}{39 \times 4,889} = 1,320$	$\frac{485,3 - 196,4}{39 \times 5,715} = 1,296$	
D 24°	$\frac{367,5 - 230,8}{39 \times 3,952} = 0,887$	$\frac{492,1 - 123,3}{39 \times 5,575} = 1,695$	

Hierbij is weer, evenals in het vorig hoofdstuk, de verdwenen hoeveelheid van de gezonde bladeren met die van de overeenkomstige zieke te vergelijken. Dezelfde redeneering kan hier toegepast worden als bij de ontleding van het zetmeel. Waar de ontleding van deze onbekende stoffen aanvullend gedacht wordt naast die van het zetmeel, werkt de invloed van de begin-hoeveelheden zetmeel hier juist in tegengestelde richting vergeleken bij de zetmeelontleding. Evenwel is het opmerkelijk,

dat hier de cijfers niet zulke groote schommelingen vertoonen als die bij de zetmeelontleding. Nu blijkt uit blz. 53 dat de hoeveelheden der stoffen, die oplosbaar zijn in aether en 80 % alc. en in water na aftrek der hoeveelheden suikers en zetmeel, en die der onoplosbare stoffen n.l. II, III, V niet zoo sterk uiteenloopen als de hoeveelheden zetmeel. Nu staan deze stoffen in verband met groep X. Waarschijnlijk wordt het, dat ook deze stoffen X minder sterke variaties in de begin-hoeveelheden vertoonen en zodoende meer regelmatige cijfers voor de ontleding geven, vergeleken met die voor zetmeelontleding. Ook hier zijn de verdwenen kwantiteiten het eindresultaat van twee tegen-gestelde reacties, maar waar ook hier volgens de cijfers van hoofdstuk X de opbouwende functie bij de zieke bladeren zeer waarschijnlijk niet anders is dan bij gezonde, hebben wij ook hier alle reden op te merken, dat de enzymen, die andere stoffen dan zetmeel tot suikers afbreken niet beïnvloed worden door de smetstof.

Opmerking.

Uit het bovenstaande blijkt, dat de verademde stoffen gedurende de verschillende tijden niet uitsluitend zetmeel zijn geweest. DELEANO (25) vond dit bij zijn proeven over de ademhaling van druivenbladeren, die buiten in het vrije zonlicht waren gegroeid, eveneens, als de bladeren langer dan 66 uur in het donker bij $\pm 18-23^{\circ}$ C. bleven. Bij mijn proeven zal dit reeds eerder het geval zijn omdat ze op vrij hooge temperaturen werden uitgevoerd met in getemperd licht opgegroeide kasplanten. In het algemeen ademen verschillende bladgedeelten verschillend, wat bewezen wordt door proef I, waarbij de ademhaling van de toppen en de bases van jonge bladrolzieke bladeren afzonderlijk werd bepaald. Dus mogelijk is het, dat reeds spoedig in bepaalde gedeelten van laminae bij eenig gebrek aan zetmeel andere stoffen voor de ademhaling worden verbruikt.

HOOFDSTUK VIII.

DE AFVOER.

Het blad verliest de producten der photosynthese en door ademhaling en door afvoer. Wordt de gewichtsvermindering nagegaan van bladeren, die gedurende een bepaalden tijd aan de plant in het donker verblijven, dan is de grootte van den afvoer bekend, wanneer de hoeveelheid verademde stoffen bekend is. Wordt dit ten opzichte van de droog-gewichten nagegaan dan blijft de verdamping buiten beschouwing. In welken vorm de afvoer geschiedt behoeft in dit onderzoek niet besproken te worden.

De verdonkering geschiedde door de planten in donkere kamers met nagenoeg constante temperaturen te plaatsen of door de proef in de kassen gedurende de nachturen te nemen. Van te voren werden van de gezonde en de zieke planten tegelijkertijd bladhelften geoogst, met aether gedood en gedroogd bij 100° tot constant gewicht, terwijl hetzelfde met de andere helften werd gedaan na afloop der proeven.

GEWICHTSVERMINDERING PER GRAM DROGE STOF PER UUR. OMGEREKEND UIT HOEVEELHEDEN VARIEERENDE VAN 5-7 GR.

(DECREASE IN WEIGHT PER GRAM DRY MATTER PER HOUR. CALCULATED FROM QUANTITIES VARYING FROM 5-7 GR.).

	Ouderdom der planten. Age of the plants.	GEZOND (HEALTHY)	Na aftrek v. 2,5 m.Gr. verademde stoffen. After demi- nishing with 2,5 m.gr. mat. disappeared t. respiration.	ZIEK (DISEASED)	Na aftrek v. 3,0 m.Gr. verademde stoffen. After demi- nishing with 3 m.gr. mat. disappeared t. respiration..
3-4 Sept. '26 temp. $\pm 17^{\circ}$	6 weken	4,7 m.gr.	2,2 m.gr.	3,6 m.gr.	0,6 m.gr.
23-24 Sept. '26 temp. $\pm 13^{\circ}$	9 „	6,3 „	3,8 „	3,4 „	0,4 „
15 Maart '27 temp. $\pm 20^{\circ}$	7 „	15,0 „	12,5 „	3,0 „	0,0 „
3-4 Mei '27 temp. $\pm 14,5^{\circ}$	10 „	7,9 „	5,4 „	2,0 „	— „

Voor zoover de door ons vastgestelde waarden van het gewicht der verademde stoffen juist zijn, vinden wij de hoeveelheid afgevoerde stoffen zooals boven vermeld. Evenwel zal het bovenbedoeld gewicht voor de lagere temperaturen lager moeten zijn, waardoor het verklaarbaar is, dat wel eens een lagere waarde voor de vermindering bij de bladrolzieke planten bij deze temperaturen werd gevonden.

Veilig kunnen wij dus aannemen, dat de afvoer van bladrolzieke bladeren in tegenstelling met die der gezonde in veel mindere mate, of in het geheel niet plaats grijpt.

MURPHY (50) meende, dat er afvoer plaats vindt voor zoover er in water oplosbare stoffen zijn, maar dat het zetmeel niet getransporteerd kan worden omdat het niet omgezet kan worden. De navolgende proef werd door mij genomen om na te gaan in hoeverre het gebrek aan afvoer werkelijk te wijten zou zijn aan de afwezigheid van in water oplosbare stoffen.

Van gezonde en bladrolzieke planten werden gave uitgegroeide bladeren geoogst en geanalyseerd vòòr en na verdonkering bij een nagenoeg constante temperatuur van 20° C. gedurende 64 uur.

AANWEZIGE STOFFEN
VOOR EN NA VERDONKERING, PER GRAM DROGE STOF.
(MATERIAL PRESENT BEFORE AND AFTER DARKENING, CALCULATED PER
GRAM DRY MATTER.)

Bladeren verdonkerd a. d. plant; 1 Oct. '26 5 uur 's av. — —4 Oct. '26 9 uur 's morg.	Suikers Sugars	In aether en in 80 % alcohol oplosbare stoffen, minus suikers. Matters soluble in ether and in 80 % alcohol, minus sugars.	Zetmeel Starch
---	-----------------------	---	-----------------------

GEZOND (HEALTHY)

Vòòr verdonkering (Before darkening)	19,4 m.gr.	270,8 m.gr.	31,8 m.gr.
Na verdonkering (After darkening)	10,3 „	± 250,0 „	6,1 „

ZIEK (DISEASED)

Vòòr verdonkering Before darkening)	18,7 m.gr.	285,3 m.gr.	92,4 m.gr.
Na verdonkering (After darkening)	23,1 „	270,3 „	61,2 „

Gedurende dezen tijd begonnen de gezonde bladeren een weinig geel te worden, terwijl de zieke nog groen waren.

Ten duidelijkste blijkt thans de aanwezigheid in de bladrolzieke planten van groote hoeveelheden suikers, die evenwel, volgens de eerder in dit hoofdstuk genoemde conclusie, niet of nagenoeg niet vervoerd worden; terwijl behalve de suikers vermoedelijk ook gedeelten van de in aether en 80 % alcohol oplosbare stoffen eveneens in water oplosbaar zullen zijn.

MURPHY's meening in dezen is dus onjuist.

Het kan echter ook niet juist zijn, dat de phloeemnecrose der bladrolzieke planten, althans in de nerven, het gevolg zou zijn van gebrek aan toevoerstoffen, waardoor de zeefvaten hun tangentiaal en radialen druk zouden verliezen [OORTWIJN BOTJES (53)].

Nog afgescheiden van de problemen van de zeefvaten kunnen wij thans concludeeren, dat de zetmeelophooping toe te schrijven is aan een storing in de functie van den afvoer zelf.

Opmerking.

Dat de grootte van den afvoer bij verschillende gezonde planten varieert, is te verwachten, immers deze is onder meer afhankelijk van den leeftijd der planten en der bladeren en van de vorming van knollen en spruiten.

HOOFDSTUK IX.

DE ASSIMILATIE.

Vermeerdering van assimilaten.

Tegenover de ademhaling en den afvoer als de wegen van verlies aan plastische stoffen staat de assimilatie, die de bron vormt van de vermeerdering aan genoemde stoffen. Deze werkzaamheid van de chloroplasten is evenwel gevoelig voor verschillende invloeden. BENECKE en JOST (7) noemen een groote groep stoffen, die een vermindering van de assimilatie veroorzaken, zonder dat daarbij beschadiging der chloroplasten plaats grijpt, immers bij opheffing der remmende omstandigheden verloopt de assimilatie weer normaal.

Zij vermelden eveneens, dat bij afgesneden bladeren op den duur de assimilatie achteruitgaat, daar door belemmering van afvoer de assimilaten opgehoopt blijven en als remmende factoren optreden.

Hetzelfde verschijnsel is bij bladrolzieke bladeren te verwachten. De jonge, groene bladeren assimileeren normaal, maar langzamerhand beginnen de ontstane stoffen als suikers en zetmeel zich op te hoopen en zij doen de assimilatie steeds zwakker worden. De cijfers op pag. 50 illustreeren dit feit. Wederom is hier gewerkt met de bladhelften-methode. De planten groeiden in het getemperd licht der kassen, waarvan de wanden geregeld bevochtigd werden, zoodat de vochtigheid van de lucht hoog bleef ($\pm 80\%$). Het slap worden der bladeren werd op deze wijze steeds vermeden, terwijl voor voldoende luchtcirculatie zorg werd gedragen.

Waar de afvoer bij de zieke bladeren zeer weinig of nagenoeg niets bedraagt, kunnen wij bij de krachtig assimileerende jonge bladeren der zieke planten een grootere totale gewichtsvermeerdering vinden dan bij dergelijke bladeren van gezonde planten. Waar evenwel bij de volgroeide bladeren der zieke planten de ophooping reeds ver is voortgeschreden treedt de belemmering der assimilatie zoo sterk op, dat de gevonden gewichtsver-

GEVONDEN GEWICHTSVERMEERDERING PER GRAM DROGE STOF PER UUR.

(ACTUAL INCREASE IN WEIGHT PER GRAM DRY MATTER PER HOUR.)

Datum en temperatuur Date and temperature	Toestand der bladeren en planten Condition of the leaves and plants	GEZOND Healthy	ZIEK Diseased
14 Sept. '26, $\pm 20^{\circ}$	volgroeide bladeren, planten oud 7 weken full-grown leaves, plants 7 w. old	17,1 m.gr.	10,4 m.gr.
22 Oct. '26, „ 15°	jonge bladeren, planten oud 12 weken young leaves, plants 12 weeks old	18,6 „	28,2 „
15 Mrt. '27, „ 20°	volgroeide bladeren, planten oud 7 weken full-grown leaves, plants 7 w. old	31,7 „	24,6 „
16 Mrt. '27, „ 19°	volgroeide bladeren, planten oud 7 weken full-grown leaves, plants 7 w. old	29,5 „	22,1 „
7 Mei '27, „ 23°	volgroeide bladeren, planten oud 5 weken full-grown leaves, plants 5 w. old	10,9 „	11,4 „
22 Juni '27, „ 22°	jonge bladeren, planten oud 11 weken young leaves, plants 11 weeks old	12,0 „	27,4 „
22 Juni '27, „ 22°	volgroeide bladeren, planten oud 11 weken full-grown leaves, plants 11 w. old	22,5 „	20,3 „

meerdering, niettegenstaande er geen afvoerplaats vindt, beneden die van de gezonde blijft.

Voor de ademhaling zijn voor de gezonde en de zieke bladeren respectievelijk 2, 5 en 3,0 m.gr. bij bovenvermelde getallen toe te voegen, terwijl bij die der gezonde een groote waarde voor den afvoer is op te tellen.

Conclusie.

Zoolang niet ophooping van assimilaten een remmenden faktor vormt, is de assimilatie normaal. Beginnen evenwel door gebrek aan afvoer de hoeveelheden aanwezige stoffen, waaronder suikers en zetmeel, te groot te worden dan treedt de te verwachten daling der assimilatie in. De smetstof heeft ook op deze functie van het blad geen directen invloed; de betreffende enzymen of enzymgroepen functioneeren, binnen de te verwachten door assimilatenophooping gestelde grenzen, normaal.

Opmerking.

Het bezwaar, dat de proeven niet genomen konden worden in ruimten met constante temperatuur, vochtigheid en belichting wordt voor het gestelde doel, waarbij vergelijkingen tusschen gezonde en zieke planten werden gemaakt, volledig ondervangen, doordat de beide soorten planten zoowel gedurende de groei als gedurende de proeven naast elkaar stonden in dezelfde ruimte, zoodat alle uitwendige invloeden voor beide practisch gelijk waren.

HOOFDSTUK X.

DE VORMING VAN ZETMEEL EN ANDERE STOFFEN.

De verhouding van suikers ten opzichte van zetmeel en andere stoffen.

Als behoorende tot deze laatste noemden wij reeds de door DAVIS en SAWYER (21) genoemde „gummy substances”, die 's nachts tot suikers schijnen te worden afgebroken. De bovengenoemde vorming geschiedt door de enzymgroepen 2 en 5.

Bij de studie der ademhaling werd gevonden, dat het resultaat der twee tegenovergestelde functies van zetmeelontleding en zetmeelvorming bij gezonde en zieke bladeren geen principiele verschillen geeft.

Wanneer wij mogen aannemen, dat de zetmeelontleding bij beide soorten bladeren, binnen de in Hoofdstuk V besproken grenzen, even krachtig is, dan is hetzelfde te concludeeren voor de zetmeelopbouwende functie, althans voor zoover deze in verdonkerde bladeren werkzaam mocht zijn. Betreffende den opbouw van de „gummy substances” etc., die bij dit onderzoek kortheidshalve de groep X werden genoemd, is het geval geheel analoog. Immers ook hiervan is in Hoofdstuk VII aangetoond, dat de voor de ademhaling ter beschikking komende gedeelten, berekend als $C_6 H_{12} O_6$, bij de gezonde van dezelfde grootteorde zijn als die bij de zieke. Zijn de afbrekende enzymen 6 hierbij even actief, dan geldt hetzelfde voor de opbouwende 5.

Bij verschillende analyses van aan stengels zittende bladeren werden de volgende waarden gevonden voor: I. suikers, II. in aether en in 80% alcohol oplosbare stoffen minus suikers, III. in water oplosbare stoffen minus zetmeel en toegevoegde diastase, IV. zetmeel en V. onoplosbare stoffen, telkens bij gezonde en bladrolzieke bladeren, die tegelijkertijd werden geoogst (Zie pag. 53).

Naast de gevallen van veel grootere hoeveelheden zetmeel bij de zieke bladeren zijn er hier ook gevallen te constateeren, waarbij de overmaat zetmeel samenvalt met overmaat suikers, zooals No. 7, en in mindere mate No. 3, 4 en 6.

BIJ VERSCHILLENDE
ANALYSES GEVONDEN HOEVEELHEDEN STOFFEN, OMGE-
REKEND PER GRAM DROOG-GEWICHT.

(QUANTITIES OF SUBSTANCES CALCULATED PER GRAM DRY WEIGHT).

		I	II	III	IV	V
		Suikers Sugars	in aether + 80% alc. opl. stoffen minus suikers. soluble in ether + 80% alcohol, minus sugars.	in water oplosb. stoffen minus zetmeel* en diastase. soluble in water minus starch*& diastase.	Zetmeel als $C_6H_{10}O_5$ Starch as $C_6H_{10}O_5$	Onop- losbare stoffen. unso- luble matters.
1. 23 Juni '26, 4.30 uur	gezond	30,0	219,3	133,4	74,4	542,9
	healthy bladrol diseased	34,3	191,0	—**	202,0	—
2. 27 Juni '26, 4 uur	gezond	13,6	276,7	115,4	7,3	587,0
	healthy bladrol diseased	16,0	219,8	107,1	129,2	527,9
3. 8 Juli '26, 4 uur	gezond	23,2	278,1	—	23,0	—
	healthy bladrol diseased	41,7	242,7	126,0	66,5	523,1
4. 10 Aug. '26, 4 uur	gezond	38,0	262,9	94,7	55,3	549,1
	healthy bladrol diseased	54,2	215,6	104,2	93,0	533,0
5. 1 Oct. '26, 5 uur	gezond	19,4	270,8	83,6	28,6	597,6
	healthy bladrol diseased	18,7	285,3	—	83,2	—
6. 21 Oct. '26, 3 uur	gezond	51,4	—	101,0	41,7	—
	healthy bladrol diseased	58,9	274,1	118,4	86,5	462,1
7. 16 Mrt. '27, 11.30 uur	gezond	38,1	237,1	—	25,1	—
	healthy bladrol diseased	67,8	294,9	—	44,9	—

* Zetmeel als $C_6H_{10}O_5$. (Starch as $C_6H_{10}O_5$).

** = niet bepaald; deze analyses waren voor een ander doel verricht (zie blz. 11).

Overzien wij deze cijfers, dan is hier, in verband met het-
geen op blz. 11 betoogd werd, een bewijs te vinden voor de
onjuistheid der veronderstelling, dat de zetmeelopbouwende
functie krachtiger zou zijn bij de zieke bladeren, aangezien de

hoeveelheden suikers bij de zieke bladeren meestal grooter zijn dan die bij de gezonde. De waarden in de kolommen II, III en V vertoonen bij de zieke en gezonde bladeren geen principieele verschillen. Hiertoe behoort de door ons genoemde groep X. Afgaande op deze cijfers is het waarschijnlijk, dat de functies $X \rightleftharpoons$ suikers $\rightleftharpoons$ zetmeel zoowel bij gezonde als bij zieke bladeren nagenoeg dezelfde werkzaamheid bezitten. Men kan gemakkelijk inzien, dat er meer neiging is om de suikers vast te leggen in den vorm van zetmeel dan in dien van andere stoffen. Immers wij weten, dat suikers vastgelegd, verademd of vervoerd worden. Nu heeft er bij de zieke planten nagenoeg geen vervoer plaats, zoodat suikers slechts kunnen verdwijnen door ademhaling. Bij beschouwing van het systeem $X \rightleftharpoons$ suikers $\rightleftharpoons$ zetmeel valt het nu onmiddellijk in het oog, dat willen bij een assimilatie, die ten opzichte van de verademing overweegt, de hoeveelheden suikers en X-stoffen niet tot groote ophoopingingen leiden, de reactie in hoofdzaak zal moeten plaats hebben in de richting van zetmeelvorming, omdat het zetmeel ten gevolge van zijn afzetting als actieve massa aan het reactiesysteem grootendeels wordt onttrokken. Hierdoor wordt het begrijpelijk waarom zetmeel bij de zieke bladeren in overmaat wordt gevormd.

Eindconclusie.

De hierboven met de 4 pijlen aangeduide enzymwerkingen — in ons schema 2, 3, 5 en 6 genoemd — geven dus bij de gezonde en bij de zieke bladeren in de eindresultaten, n.l. in de ontlede hoeveelheden zetmeel en andere stoffen en in de ontstane hoeveelheden dezer stoffen slechts verschillen, die geheel verklaarbaar zijn door de storing van den afvoer.

Hieruit wordt geconcludeerd, dat deze processen geen essentieele verschillen bij de zieke en de gezonde bladeren vertoonen.

De door verschillende onderzoekers gevonden grootere hoeveelheid der uit de bladeren geëxtraheerde enzymen is thans vermoedelijk te verklaren in verband met de hypothese o.a. door SMIRNOW (64) nog onlangs aangehaald, dat een „Zusammenhang zwischen dem Substrat und dem auf dasselbe wirkenden Ferment” zou bestaan. „Ein erhöhter Substratgehalt ist sehr oft mit einer Steigerung der auf das Substrat einwirkenden Fermentmenge verbunden.” De zetmeelophooping in de zieke bladeren kan grootere hoeveelheden diastatische enzymen hebben doen ontstaan.

HOOFDSTUK XI.

BANEN VAN VERVOER.

Localisatie der storing.

De afwijkingen in de physiologie der bladrolzieke planten zijn na het voorgaande verklaarbaar door de zetmeelophooping. Deze ophooping zelf is toe te schrijven aan een belemmering van den afvoer. Zonder voorloopig in te gaan op de onopgeloste problemen betreffende af- en aanvoerbanen kunnen wij thans constateeren, dat de storing gelocaliseerd moet zijn in de banen van afvoer.

QUANJER's onderzoek heeft het samengaan aangetoond van bladrolziekte met phloemnecrose. Dit bleek zoo overtuigend te zijn, dat ook anderen, zooals ARTSCHWAGER (6), de necrose als herkenningsmiddel erkenden. FOEX (31) bevestigde dit en het wordt thans zelfs van Duitsche zijde [SCHANDER en BIELERT (59)] toegegeven. Dat evenwel het afsterven van het phloem de oorzaak van de zetmeelophooping zou zijn, werd — zooals reeds is vermeld — door verschillende onderzoekers verworpen. Of het phloem de banen van afvoer vormt, is een punt van discussie. De meeste onderzoekers blijven er evenwel aan vasthouden, evenals ook de leerboeken van BENECKE-JOST (7) en WENT (71), hoewel voorop wordt gesteld, dat het hypothetisch is. Het als secundair beschreven stadium der ziekte d. w. z. van planten voortgesproten uit bladrolzieke knollen, kenmerkt zich door zetmeelophooping, welke zich het eerst toont bij het bovenste (top)blaadje en daarna bij de daaronder geplaatste blaadjes en wel in de apicale deelen (fig. 2a en 2b), terwijl het primaire stadium, in dit onderzoek verkregen door besmetting met *Myzus persicae* SULZ., het verschijnsel vertoont aan de basis der blaadjes, beginnend juist bij de onderste en wel bij die der jonge groeiende bladeren (fig. 1a, 1b).

Experimenteel werd hetzelfde verschijnsel als volgt verkregen: Werd een blad in de gemeenschappelijke bladsteel van een in-

keeping voorzien en zoo eenigen tijd aan de plant gelaten doch verdonkerd, dan vertoonde het blaadje, dat zich aan de zijde van de inkeeping onmiddellijk daarboven bevond, zetmeelophooping. Werd de inkeeping aangebracht onder een der onderste blaadjes, dan ondervond dit en eenigermate ook het daarboven komend blaadje de storing, maar de nog hooger gelegen blaadjes waren in de gelegenheid de koolhydraten langs andere banen af te voeren, dan die welke afgesneden waren, vermoedelijk door anastomoseerende vaten. De door de inkeepingen ontstane ophoopingingen waren het sterkst aan de bases der betreffende blaadjes, wat hier bijv. het duidelijkst te zien is bij het topblaadje op fig. 3c. Deze verschijnselen geleken volkomen op die der primair zieke bladeren. In dit stadium der ziekte zou de storing dus beginnen bij de bladsteel onder de onderste blaadjes en zich allereerst bij deze doen gelden om vervolgens naar boven voort te schrijden.

Werden er sneden aangebracht door de nerven van het aan de plant zittend blad dan werd zetmeelophooping geconstateerd in de gedeelten der laminae, welke zich bevonden boven de doorgesneden plaatsen (zie fig. 4). Zulk een ophooping vertoonde zich niet, wanneer de genoemde gedeelten der laminae door andere nerven werden beheerscht. Ook had geen ophooping van zetmeel plaats in de gedeelten welke zich bevonden boven sneden door het parenchymatisch weefsel, wanneer de grootere nerven intact gelaten werden. De conclusie, die hieruit mag worden getrokken is deze, dat de storing ook bij dit stadium ligt in de nerven en niet in de parenchymatische cellen der laminae.

Bezien wij thans het gedrag van niet-verwonde gezonde bladeren. Bekend is, dat de laminae ook van deze bladeren niet gelijkmatig zetmeelvrij worden [zie DE VRIES (70)]. Bij mijn onderzoek is een groot aantal hierop onderzocht; het zijn juist de apicale deelen der blaadjes, die bij verdonkering het langst zetmeel blijven behouden. In sterke mate ziet men dit aan het topblaadje en het dan volgend paar blaadjes. Fig. 3a geeft dit weer bij het topblaadje na een verblijf van 12 uur in het donker bij 20° C. De invloed van de inkeeping reikt niet tot dit blaadje.

Vergelijken wij thans hiermede het beeld van de zetmeelverdwijning in secundair zieke bladeren, zooals weergegeven door fig. 2a, dan zien we dat beide overeenstemmen. Alleen de tijd, die noodig is, om dezelfde mate van verdwijning te verkrijgen is bij de zieke langer. Naarmate het zieke blad en de zieke plant ouder zijn, naar die mate gaat de verdwijning langzamer. Ten slotte, bij verdere stadia, worden de bladeren

slechts voor een zeer klein gedeelte zetmeelvrij (zie fig. 2b).

Evenals bij het gezonde blad zien wij ook bij het zieke de basale gedeelten het eerst vrij van zetmeel worden en de apicale deelen het laatst.

Interpretatie der verschijnselen.

De spruiten, die zich uit de zieke knollen ontwikkelen, dragen de smetstof in alle deelen en zijn van den aanvang af ziek, waardoor de afvoerfunctie van den beginne af aan verzwakt is. In het oudere blad, waarbij wij mogen aannemen, dat de aantasting der afvoerbanen in nog sterkere mate plaats heeft gehad, zien wij slechts het centrale deel van het blad — als wij ons de blaadjes tot één blad samen denken — in de onmiddellijke omgeving der grootste nerven geledigd, terwijl de top en de peripherie nog ophooping vertoonen. Het verschil tusschen gezonde en secundair zieke bladeren ligt uitsluitend in de vertraging van den totalen afvoer.

Bezien wij thans het primair zieke blad. Wij hebben hier te doen met een aanvankelijk gezonde plant en de zich ontwikkelende loten zijn hier dus niet door en door in hun afvoerkanalen met smetstof doortrokken. Wordt bij een gezonde plant een blad geïnfecteerd door een luis, waardoor het virus direct of indirect in de afvoerbanen van dit blad terecht komt, dan wordt het met plastische stoffen vervoerd, om te geraken op de plaatsen waar deze stoffen verbruikt of als reservestof bewaard worden. De jonge bladeren der uitlopende scheuten betrekken stoffen uit de oudere bladeren. Wat deze langs afvoerbanen afgeven, bereikt langs hiermee corresponderende banen de jonge groeiende bladeren. Waar bekend is, dat de phloeemdeelen der aardappelplant met elkaar anastomoseeren [ARTSCHWAGER (5)] mag verondersteld worden, dat het ook langs deze banen is, dat plastische stoffen en te gelijk hiermee de smetstof uit het oudere blad in de groeiende top geraken. Ten opzichte van het jonge blad is hier dus het phloeem als aanvoerbaan te beschouwen. Tast het virus dit deel van de vaatbundels aan, dan is de afvoer, die straks hierdoor moet gaan, geheel of gedeeltelijk belemmerd. De schijfjes van het jonge blad assimileeren geheel normaal en het zetmeel wordt in den vorm van zijn afbrekingsprodukten afgevoerd, doch stuit in de bladsteel op een belemmering. Tengevolge daarvan komt in het basale gedeelte van de blaadjes — of het centrale gedeelte van het blad als geheel beschouwd — een ophooping van assimilaten tot stand, waarvan het surplus als zetmeel wordt vastgelegd.

Ter staving dezer opvatting diene het volgende:

Wij kunnen aannemen, dat het phloem als afvoerbaan dienst doet, hetzij alleen, hetzij in samenwerking met andere weefsels, terwijl het waarschijnlijk is, dat de aanvoer naar het jonge blad er ten deele door plaats vindt, n.l. voorzoover het materiaal uit oudere bladeren afkomstig is. Dit zal nader gemotiveerd worden. Niet noodzakelijk voor onze verklaringshypothese is het om aan te nemen, dat het phloem de eenige afvoerbaan vormt. Ook indien slechts een gedeelte van het transport hierdoor gaat, kan een buiten werking stellen van dit element opvoering veroorzaken.

De jonge bladeren stoffen betrekken uit volgroeide oudere wordt onder meer zeer waarschijnlijk door het volgende:

Wordt een gezonde plant in het donker geplaatst gedurende langeren tijd, dan beginnen allereerst de onderste bladeren te verkleuren en af te sterven. De topbladeren kunnen zich nog eenigermate verder ontplooien en kunnen veel langer leven dan de oudste. Omgekeerd is het bij bladrolzieke planten: De oudere bladeren, die het sterkst zetmeelophooping vertoonen, blijven hier het langst leven. De jongere bladeren sterven veel eerder af en ook eerder dan de overeenkomstige bladeren der gezonde plant. Fig. 6 toont potplanten, die gedurende 6 etmalen in het donker bij 15° hadden gestaan. De bladrolzieke bladeren bleven nog 3 etmalen daarna groen en krachtig en vielen eerst na totaal 12 etmalen in het donker te zijn geweest af. Ze waren toen nagenoeg vrij van zetmeel. Bij herhaling en bij andere temperaturen kwam steeds een dergelijk verschil tusschen gezonde en zieke planten te voorschijn.

De verklaring is m.i. deze, dat bij de gezonde planten de jongere bladeren stoffen onttrekken aan de oudere en ten koste hiervan in leven blijven. Daartegenover houden de bladrolzieke oudere bladeren de opgehoopte stoffen vast, die haar in staat stellen om buitengewoon lang in het donker te blijven voortleven. *)

Dit wordt eveneens door het volgende geïllustreerd: Op 28 Augustus 1927 werden van gezonde kasplanten, die opgegroeid waren onder de in Hoofdstuk II beschreven omstandigheden, vier gelijke stengels, ieder met 8 bladeren op gelijke hoogte afgesneden. Twee er van werden in hun geheel met het onder-eind in water in het donker bij 20° geplaatst, terwijl de twee

*) De op de plaat zichtbare verdraaiing der bladstelen en de oprolling van de laminae der jongste bladeren, zoowel bij de gezonde als bij de zieke plant, zijn nevenverschijnselen, waarvan de oorzaak te zoeken is òf in het opheffen der belichting gedurende langeren tijd òf in de groote vochtigheid der donkere kamer, terwijl de betreffende bladeren nog voortgroeiden. Dit is niet nader onderzocht.

andere ieder in twee stukken gesneden werden. Op deze wijze werden van deze laatste vier stengelstukken verkregen, waarvan twee met de vier oudste bladeren en twee met de vier jongste bladeren. Ook deze vier stukken kwamen in het donker bij 20°.

De jongste bladeren der in hun geheel in het water staande stengels bleven het langst groen en vertoonden eerst na 7 etmalen necrotische plekken, terwijl de daarbij behoorende oudste bladeren dit reeds na 4 etmalen deden. Bij de oudere bladeren der stengels zonder jongere bladeren bleven de doode plekken langer achterwege n.l. 6 etmalen, terwijl de jongere bladeren der daarvan afgesneden stengeltoppen reeds na 4 etmalen begonnen af te sterven.

Reeds vroeger is aangetoond, dat de ophooping in secundair zieke bladeren een dusdanige regelmatigheid vertoonen, dat de bladhelften nagenoeg gelijk zijn zoowel wat betreft versch als droog gewicht. Dit vloeit voort uit het gelijkmatig onwerkzaam zijn der afvoerbanen. Daartegenover is deze regelmatigheid niet te vinden bij de primair zieke bladeren, wat ook door de photo's (fig. 1a en 1b) geïllustreerd wordt. Dit betekent dan dat de storing hier onregelmatig is. Dit verschil in destructie der afvoerbanen wordt verklaard, wanneer wij bedenken, dat de nerven in groot aantal regelmatig verspreid liggen in de schijven van de blaadjes. Om slechts bij het topblaadje te blijven, blijkt uit een aantal tellingen, dat uit de hoofdnerf ongeveer 20 zijnerfven ontspringen, van waaruit weer een groot aantal tertiaire nerven loopen, die globaal geteld 150 à 200 in getal zijn. Om niet nog verder te gaan tot de dan komende fijnere nerven, kunnen wij al reeds concluderen, dat de in deze regelmatig verspreide nerven aanwezige zeefvaten bij de bladeren der secundair zieke planten groote kans hebben een regelmatig beeld van storing te toonen. Vooral als wij bedenken, dat deze vaten van den beginne af aan met smetstof in aanraking zijn geweest.

In den steel van het jonge blad daarentegen bevinden zich slechts 3 groepen van vaatbundels te samen bevattende ongeveer 12 moeilijk van elkaar te onderscheiden bundels. Hier dringt de smetstof binnen en brengt dan pas storing teweeg; te begrijpen is dan het onregelmatig beeld, dat de ophooping hier zal vertoonen in de basale gedeelten der blaadjes.

De voorgaande beschouwing is in hoofdzaak in overeenstemming met het beeld, dat QUANJER (55 en 56) heeft ontworpen van de stofwisseling der primair en secundair zieke planten op grond van de waarnemingen betreffende het voortschrijden van het necrose-proces.

HOOFDSTUK XII.

ANDERE MOGELIJKE CONCLUSIES.

A. Met betrekking tot andere virusziekten.

In hoeverre ook bij andere virusziekten, waar zetmeelophooping is te constateeren, de oorzaak daarvan in de afvoerbanen gelegen is, dient thans nagegaan te worden.

TOLLENAAR (69, p. 97) constateert bij het tabaksblad:

„Bij het mozaiekzieke blad is de opbouw van zetmeel (onder invloed van het virus) dusdanig bevorderd, dat van de door assimilatie gevormde monosen overwegend zetmeel wordt vastgelegd en slechts weinig als tannine en organische zuren ontstaat (HUNGER). Het gevolg hiervan moet wezen, dat slechts weinig verbindingen voor transport worden gevormd en de groei en ontwikkeling worden geremd.”

Maar HUNGER's opmerking in 1902 (35), dat in mozaiekzieke tabaksbladeren minder suiker, looistof en vrije organische zuren zijn te constateeren dan in gezonde, is met meer waarschijnlijkheid te verklaren door het feit, dat de zieke gedeelten der bladeren minder assimileeren, terwijl de ophooping van zetmeel — die zeer zwak is — in de zieke plekken te verklaren zal zijn door plaatselijke belemmering van den afvoer. Met deze verklaring strookt het feit, dat niet het geheele blad de ophooping gelijkmatig vertoont. Dat deze zieke plekken weinig assimileeren wordt ook aangenomen door COOK (12) in zijn publicatie, die mij in handen kwam na het neerschrijven van het grootste deel van dit werk. Zoowel voor de tabak als voor het suikerriet geldt volgens hem de waarneming, dat in geval van mozaiekziekte „the photo-synthetic activities are greatly reduced.” Dat in de betreffende plekken bij de laatste plant eenig zetmeel wordt gevonden in den namiddag en niet in den vroege morgen deed hem concludeeren: „It was very evident that the starch-forming power of the mosaic cane was reduced in proportion to the amount of infection while the power of translocation was practically unimpaired. This is the reverse to the findings of the writer in the case of the „peach yellows”

and „little peach” in which the cells of the diseased leaves are filled with starch but in which the translocation is greatly reduced or completely inhibited.”

Dat bij het suikerriet naar zijn meening de afvoer onverzwakt zou zijn, volgt niet uit het feit, dat het weinige zetmeel in den morgen verdwenen is. Immers de ademhaling verbruikt ook 's nachts zetmeel. Er behoeft hierbij op het punt van afvoer geen principieel onderscheid te worden gemaakt met de andere gevallen, waarbij wel storing van afvoer wordt aangenomen en waartoe hij behalve de twee genoemde ziekten van de perzik ook de bladrolziekte van de aardappelplant rekent.

B. Met betrekking tot de smetstof.

Dit onderzoek levert een argument meer ten gunste van de opvatting, dat de smetstof een organisme is. Alle verschijnselen der bladrolziekte toch laten zich ongedwongen verklaren door de hypothese, dat in de teere banen van de jonge plant een parasiet zijn storende werkzaamheid uitoefent. Had het onderzoek een ander resultaat opgeleverd n.l. dat de enzymwerkingen door de smetstof beïnvloed zouden worden zonder dat er verder destructie teweeg gebracht werd, dan zou men zich moeilijk kunnen voorstellen, dat dit van de werkzaamheid van een mikrobe het gevolg zou kunnen zijn. Want hoe zou een microbe de enzymen kunnen veranderen zonder dat daarbij verdere sporen van parasitisme te voorschijn kwamen?

In samenhang met deze gedachte is ook het volgende begrijpelijk te maken.

De veronderstelling ligt voor de hand, dat een knol van een in geringe mate zieke plant slechts een geringe hoeveelheid virus bevat. In de hieruit ontwikkelde plant duurt het dan een geruimen tijd voor het virus zich in zoodanige mate heeft vermeerderd, dat de transportwegen er ernstig door beschadigd worden en dientengevolge bereikt deze plant een mate van ontwikkeling, die blijkens het gewicht der bovenaardsche deelen en wortels nog slechts weinig achterstaat bij die van gezonde planten.

In het voorjaar van 1927 werd nu een honderdtal gezonde Paul Kruger knollen op het veld uitgepoot en eveneens een gelijk aantal zieke, van dezelfde soort, die nagenoeg even groot als de gezonde waren en die van matig primair zieke planten kwamen. In Juli werden tegelijkertijd van de uit beide partijen knollen ontstane planten 22 struiken bij den grond afgesneden en gewogen, waarbij de volgende waarden werden verkregen.

	GEZOND (HEALTHY)	ZIEK (DISEASED)
Versch gewicht	4,950 K.G.	4,490 K.G.
Droog-gewicht	780 gr.	800 gr.

De wortels van deze secundair zieke planten bleven niet in groei achter bij die der normale planten.

Van 10 gezonde en 10 zieke planten, welke in potten waren gegroeid, bedroegen de droog-gewichten der schoongespoelde wortels respectievelijk 39,5 gr. en 40,4 gram.

In deze secundair zieke planten vermeerdert zich echter het virus en de zeer kleine knollen, die wij er van oogsten, zijn er in zeer sterke mate mee besmet. De zich hieruit ontwikkelende planten zijn van den aanvang af in veel sterkere mate met grootere hoeveelheden virus besmet. De transportbanen zijn dan zeer ziek en de planten worden dienovereenkomstig sterk belemmerd in hun ontwikkeling. Dit is de verklaring der zoo bekende door bladrolziekte teweeggebrachte „degeneratie.” Met betrekking tot het virus mogen wij hieruit concluderen, dat het in het inwendige van de plant zich betrekkelijk langzaam vermeerdert.

C. Met betrekking tot de physiologie van de normale plant.

DE VRIES schreef (70, p. 375): „Merkwürdig und in physiologischer Hinsicht noch unerklärt ist die Thatsache, dass Kartoffelstauden, welche durch irgend einen Zufall, z.B. durch Hagel, einen grossen Theil ihres Laubes verloren haben, oder von denen das Laub völlig abgeschnitten ist, aus ihren unterirdischen Theilen neue Laubspresse hervorschiessen lassen.” Mij is na deze publicatie geen nieuwere bekend, die een poging tot verklaring van dit verschijnsel heeft gegeven.

Bij mijn onderzoek werd geconstateerd, dat het wegnemen der bladeren het ontstaan van zijscheuten bevorderde; en tevens ook, dat bij bebladerde bladrolzieke planten het uitloopen der scheuten in veel sterkere mate plaats greep dan bij gezonde eveneens bebladerde planten.

Op 14 Juli werden bij negen bladrolzieke planten, welke 2 maanden oud waren, 56 uitgegroeide scheuten gevonden met lengten varierende van 10 tot 50 c.M., terwijl van evenveel gezonde planten, gegroeid onder dezelfde conditie, de aanwezigheid van slechts 30 veel kleinere scheuten werd geconstateerd; deze laatste varieerden van 2—20 c.M.

Deze feiten wijzen mijns inziens er op, dat in de zieke planten de normale correlatieverhoudingen gestoord zijn. Men kan ze in verband brengen met de waarnemingen van LOEB (41, 42) bij *Bryophyllum calycinum*. Hierbij bleek, dat het wegnemen van een

blad het uitloopen van lager geplaatste knoppen ten gevolge had en LOEB verklaart dit door aan te nemen, dat het blad groei-belemmerende stoffen afscheidt, die zich omlaag bewegen. Zonder LOEB's verklaring over te willen nemen meen ik, dat wij hier met analoge verschijnselen te doen hebben. Het is duidelijk, dat ook voor de studie van dit deel der normale physiologie, n.l. dat der correlaties, het onderzoek der pathologische stofwisseling van belang is. Terwijl in LOEB's proeven het blad volkomen verwijderd wordt, behoeft dit bij de bladrolzieke planten niet te gebeuren. De correlatieve functie wordt door de ziekte zelve opgeheven en men kan gevoegelijk veronderstellen dat het transport in nederwaartsche richting bij de correlatie een hoofdrol speelt.

Een ander opvallend verschil, dat leerzaam kan zijn voor de physiologie, doet zich voor bij het plaatsnemen der gezonde en bladrolzieke planten in het donker. Fig. 5 toont dezelfde potplanten, die op blz. 15 werden vermeld, evenwel alvorens de bladeren eenig verschijnsel van afsterven toonden. Zij waren hier gefotografeerd na 48 uur in het donker bij 15° C. geweest te zijn.

De zieke bladeren, waarin zetmeel was opgehoopt, behielden hun vorm, maar de overeenkomstige gezonde toonden de eigenaardige naar beneden gerichte krommingen. Ze waren volkomen frisch en in 't geheel niet verwelkt. Ongetwijfeld hebben wij hier te maken met een hoogst ingewikkeld verschijnsel, daar het licht een diepgaanden invloed op vele levensfuncties uitoefent.

Intusschen is het denkbaar, dat het door gebrek aan turgorstoffen was, dat bij de gezonde bladeren de spanning van het parenchymatische weefsel verminderd was. Mogen wij aannemen, dat de turgescence toestand van het geheele blad ontstaat door de spanning van het parenchymatische weefsel eenerzijds en de mechanische spanning in de nervatuur anderzijds, dan laat zich de naar beneden gerichte kromming bij verdonkerde gezonde bladeren verklaren, daar deze immers turgorstoffen door afvoer verloren. De zieke bleven, zooals zij waren, omdat zij voldoende stoffen bleven behouden.

Als slot deze opmerking:

Dat de physiologie als basis van de studie werd genomen in het boven beschreven onderzoek — waarbij het probleem van het virus hier verlegd kon worden naar dat van de plant — moge gerechtvaardigd worden door den raad, eens door HUGO DE VRIES (70, p. 247) gegeven:

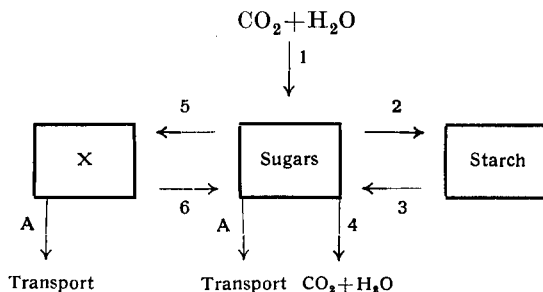
„Die spezielle Physiologie der Kartoffelpflanze sollte eigentlich die Grundlage für die Behandlung aller weiteren wissenschaftlichen und praktischen Frage über sie bilden”.

SUMMARY.

PHYSIOLOGICAL INVESTIGATIONS IN RELATION TO THE VIRUS OF POTATO LEAFROLL DISEASE.

Starch-accumulation is an important characteristic of a large group of virus diseases to which the potato leafroll disease belongs. There are different conceptions about the cause of this phenomenon. COLEMAN (11), SUZUKI (68), OORTWIJN BOTJES (53), WOODS (73) a.o. ascribe it to disturbed enzymatic processes; QUANJER (54) on the other hand, explains it by assuming a disturbed transport.

The investigations of the present writer were started in order to study which of the two above viewpoints is the correct one for potato leafroll. The enzymatic processes have been studied in living plants, since studies on extracted enzymes are not conclusive for the processes in living plants. The next scheme represents the position of the starch with regard to the other products of photosynthesis.



The figures 1, 2, 3, 4, 5 and 6 indicate the activities of the enzyme-groups. Former investigators isolated and studied the diastatic enzymes especially. Most of them arrived at the result that diseased plants contain larger quantities of the enzymes in question than the healthy plants. The group X contains other indirect products of the photosynthesis than starch.

The work was done with plants of the variety Paul Kruger (probably identical with President), grown in a green-house. Secundarily infected plants were obtained by planting diseased tubers, primarily infected plants by inoculation of healthy plants with *Myzus persicae* SULZ.

EXPERIMENTS ON SECONDARILY INFECTED LEAVES.

The respiration.

The activities of the enzymes 4 were studied by determining the quantities of CO_2 , produced by the respiration of darkened leaves,

placed with their petioles in water or floating with their laminae on water. The results are put together in the tables on p. 27—34 and in the curves on p. 38.

The respiration of the diseased leaves appears to be higher per gram fresh weight as well as per gram dry weight per hour. The respiration values of full-grown diseased and of full-grown healthy leaves were roughly calculated as 2,5 m.gr. resp. 3,0 m.gr. CO_2 per gram dry weight p. hr. at a temperature of about 20°C .

The disappearance of starch.

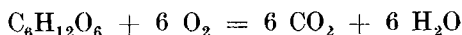
The values, mentioned on p. 40, are the results of chemical analyses before and after the respiration according to the method of leaf-halves. They show that the following quantities of starch — calculated per gram original dry weight per hour and expressed as m.gr. $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ — disappeared:

	Healthy	Diseased
A 28°	1,069	1,712
B 28°	0,591	1,477
C 24°	0,277	0,417
D 24°	1,348	0,289

From these figures we may conclude that the disappearance of the starch does not take place in a lesser degree in diseased than in healthy leaves. Differences in the original quantities of starch and sugars cause an irregular course in the figures.

The disappearance of other matters than starch.

During the rather long respiration-experiments larger quantities disappeared than of starch and sugars alone. If we assume that the respiration can be expressed as



it is possible to calculate how much $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ corresponds to a certain quantity of CO_2 . The quantities of $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, disappeared by respiration, and the quantities of disappeared sugars and starch determined chemically, are mentioned on p. 43 and 44. The deficit consisted of other material, belonging to the group indicated as X. Calculated per gram original dry weight per hour and expressed as m.gr. $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, the following quantities of these unknown matters disappeared.

	Healthy	Diseased
A 28°	1,191	1,099
B 28°	2,070	1,715.
C 24°	1,320	1,296
D 24°	0,887	1,695

Consequently there are no material differences. There is not such a great variation in the above figures as in those indicating the quantities of disappeared starch, which is probably due to the fact that the original quantities of the unknown matters did not differ much.

The disappeared quantities both of starch and of other material

result from two antagonistic processes, namely dissimilation and assimilation. In these cases the dissimilation-processes preponderate.

The transport.

In darkened plants the decrease in dry weight — determined according to the method of leaf-halves — is caused by respiration and by transport. It follows from the table on p. 46 that in the diseased leaves the loss in dry weight did not appreciably exceed the quantity disappeared by respiration. Contradictory to what happens in healthy leaves there is no transport in diseased ones.

MURPHY's hypothesis (50) that transport does not take place, because the plastic materials are not present in a water-soluble condition, is incorrect, as large quantities of sugars were present in darkened plants, both before and after a period of 64 hours (cp. p. 47). Other materials were dissolved in ether and in alcohol 80 % and probably a part of these materials are soluble in water also.

The hypothesis that a deficiency of transportable materials in the phloem would cause necrosis [OORTWIJN BOTJES (53)] cannot be correct for the veins in the laminae.

The photosynthesis.

This was found to be normal in young leaves of diseased plants, but to decrease as soon as starch-accumulation appears. The older the leaves and plants are getting and the more the starch-accumulation increases, the more the increase in weight by assimilation decreases. The table on p. 50 indicates the increase for healthy and diseased leaves per gram original dry weight per hour. For the respiration 2,5 m.gr., resp. 3,0 m.gr., should be added to these figures and, besides, a large quantity for the transport in healthy leaves.

The formation of starch and other reserve-material.

The activity of the assimilating groups of enzymes 2 and 5 is studied from the proportion of the quantities of sugars, starch and other materials, present in the leaves. The behaviour of group X can only be approximately determined, namely by studying the behaviour of the materials soluble in ether and in 80 % alcohol and in water and of those insoluble in these three liquids.

The values obtained from analyzing healthy and diseased leaves, gathered at the same time, are put together in the table on p. 53. The values of the diseased leaves are always higher for starch, but in many cases also for sugars. If the starch-building function would be higher in diseased leaves than in healthy ones, larger quantities of sugars could not be present, since these would be transformed into starch immediately. Just as little can we expect a higher activity of the formation of the other materials (columns II, III & V). Most of the excess of sugars is therefore fixed as starch.

So it has been proved that there is no difference among the results of the antagonistic functions of the enzyme-groups 2, 3, 5 and 6 in diseased and in healthy leaves. Neither is there any difference in the activity of enzyme-group 1. Probably the increased respiration — group 4 — must be ascribed to the larger quantities of carbohydrates in the diseased leaves.

Conclusions and interpretations.

From the foregoing we may conclude that the enzymatic processes are not influenced by the virus, but that the transport is disturbed.

Former investigators [NEGER (52) a.o.] found larger quantities of diastatic enzymes in diseased leaves. This is conceivable since larger quantities of enzymes may be formed in increased quantities of the substratum in case of starch. The accumulation of starch was ascribed to phloem necrosis by QUANJER (54), to enzymatic disturbances by most of the other investigators [ESMARCH (30), NEGER (52), OORTWIJN BOTJES (53) a.o.]. The German writers do not recognize the character of virus-diseases. From their descriptions, however, we may conclude that they really worked on virus-leaf-roll. Consequently QUANJER's hypothesis that the accumulation is caused by a disturbance of the transport, may be considered to be proved. The phloem-necrosis on the other hand, must be considered as a symptom of the disease in a far proceeded stage. The transport has already been disturbed, before a visible destruction is present.

In the secondarily infected leaves starch-accumulation is found in the apical parts of the leaflets, starting in the top-leaflet. Fig. 2a and 2b show that the farther the disease proceeds, the farther the accumulation goes downwards. In the primarily infected leaves, however, the starch-accumulation starts in the basal parts of the lowest pair of leaflets and proceeds upwards (fig. 1a and 1b).

Experimentally the same differences in accumulation could be obtained by disturbing the transport in different ways. Carves in the stem cause accumulation in the basal parts of the leaflets, starting in the one just above the carve (fig. 3a, 3b, 3c).

When the veins of the leaves are cut through, accumulation arises in those parts of the laminae which lie just above the wound. The accumulation arises only when relatively large veins are cut through.

From these observations we may conclude that the disturbance in the transport in primarily infected leaves is localized in the lower part of the petiole. This is not the case with the secondarily infected leaves.

It is a well known fact that healthy leaflets don't get rid of their starch simultaneously. In this case too, the apical parts keep their starch longer than the other ones, especially in the top-leaflet. The difference in the disappearance of the starch between secondarily infected and healthy leaves is a difference in time; the former take considerably more time to reach the same stage than the latter (cp. fig. 2a with fig. 3a top-leaflet).

These phenomena can be explained by the hypothesis that a disturbance in the function of the phloem causes accumulation. It is not necessary in this case to assume that the transport takes place only through the phloem. Consideration of the following facts makes the hypothesis evident that the phloem in the primarily diseased leaves undergoes its first disturbance in the lower part of the petiole. The virus is transmitted to the leaves by aphids; the young developing shoots get primarily infected by taking food-material from the older ones. Since anastomoses are formed in the phloem [ARTSCHWAGER (5)] the transport to the young leaf probably takes place along the phloem. Together with the food-material the virus enters into the young leaf. Consequently the lower portion of the petioles is reached first by the virus and here the disturbing action of the virus starts. Gradually however, it proceeds upwards.

In the secondarily diseased plants the ways of transport are very heavily and uniformly diseased; the transport takes place in the same way as in healthy leaves, but considerably slower.

The results of the investigations are in favour of the idea that the virus is a living organism.

Stress is laid on the importance which is offered to normal physiology by investigations on pathological physiology.

LITERATUUR.

1. ALLARD, H. A., 1915. Effect of dilution upon the infectivity of the virus of the mosaic disease of tobacco. *Journ. Agr. Res.* **3**, p. 295.
2. ———, 1916. Some properties of the virus of the mosaic disease of tobacco. *Journ. Agr. Res.* **6**, p. 649.
3. ———, 1918. Effects of various salts, acids, germicides etc. upon the infectivity of the virus causing the mosaic disease of tobacco. *Journ. Agr. Res.* **13**, p. 619.
4. APPEL, O. und SCHLUMBERGER, O., 1911. Die Blattrollkrankheit und unsere Kartoffelernten. *Arb. d. D. Landw. Ges.* Heft 190.
5. ARTSCHWAGER, E. F., 1918. Anatomy of the potato plant, with special reference to the ontogeny of the vascular system. *Journ. Agr. Res.* **14**, p. 221.
6. ———, 1918. Histological studies on potato leafroll. *Journ. Agr. Res.* **15**, p. 559.
7. BENECKE, W. & JOST, L., 1923. *Pflanzenphysiologie*, 2 dln. (Fischer, Jena).
8. BEIJERINCK, M. W., 1898. Ueber ein Contagium vivum fluidum als Ursache der Fleckenkrankheit der Tabaksblätter. *Verhand. Kon. Akad. v. Wetensch. A'dam*, 2e Sectie, dl. **6**, No. 5.
9. BROWN, H. T. and MORRIS, G. H., 1893. A contribution to the chemistry and physiology of foliage leaves. *Journ. of the Chem. Soc.* **63**, p. 604.
10. BUTLER, E. J., 1923. Some characteristics of the virus diseases of plants. *Science Progress.* **67**, p. 416.
11. COLEMAN, L. C., 1917. Spike disease of Sandal. *Dep. of Agr. Mysore State. Mycol. series. Bull. No. 3*.
12. COOK, M. T., 1926. The effect of mosaic on the content of the plant cell & Photo-synthesis of the sugar cane mosaic plant. *The Journ. of the Dept. of Agr. of Porto Rico* **10**, p. 229 & p. 239 (issued September 1927).
13. CZAPEK, F., 1913—1921. *Biochemie der Pflanzen*, 3 dln. (Fischer, Jena).
14. DAVIS, W. A. and DAISH, A. J., 1913. A study of the methods of estimation of carbohydrates, especially in plant extracts. A new method for the estimation of maltose in presence of other sugars. *Journ. Agr. Sci.* **5** p., 437.
15. ———, 1914. Methods of estimating carbohydrates. II. The estimation of starch in plant material. The use of Taka-dia-stase. *Journ. Agr. Sci.* **6**, p. 152.
16. DAISH, A. J., 1914. Methods of estimation of carbohydrates. III. The cupric reducing power of the pentoses — xylose and arabinose. *Journ. Agr. Sci.* **6**, p. 255.
17. DAVIS, W. A. and SAWYER, G. C., 1914. The estimation of carbo-

- hydrates. IV. The precence of free pentoses in plant extracts and the influence of other sugars on their estimation. Journ. Agr. Sci. 6, p. 406.
18. DAVIS, W. A., 1914. The hydrolysis of maltose by hydrochloric acid and Herzfeld conditions of inversion. A reply to A. J. KLUIJVER. Journ. Agr. Sci. 6, p. 413.
 19. DAVIS, W. A., DAISH, A. J. and SAWYER, G. C., 1916. Studies of the formation and translocation of carbohydrates in plants. I. The carbohydrates of the mangold leaf. Journ. Agr. Sci. 7, p. 255.
 20. DAVIS, W. A., 1916. Studies of the formation and translocation of carbohydrates in plants. II. The dextrose-laevulose ratio in the mangold. Journ. Agr. Sci. 7, p. 327.
 21. DAVIS, W. A. and SAWYER, G. C., 1916. Studies of the formation and translocation of carbohydrates in plants. III. The carbohydrates of the leaf and leaf stalks of the potato. The mechanism of the degradation of starch in the leaf. Journ. Agr. Sci. 7, p. 352.
 22. DAVIS, W. A., 1916. The estimation of carbohydrates. V. The supposed precipitation of reducing sugars by basic lead acetate. Journ. Agr. Sci. 8, p. 7.
 23. DEKKER, J., 1913. Die Gerbstoffe (Borntraeger, Berlin).
 24. DELEANO, N. T. (A. MEYER und N. T. DELEANO), 1911. Die periodischen Tag- und Nachtschwankungen der Atmungsgrösse im Dunkeln befindlicher Laubblätter und deren vermutliche Beziehung zur Kohlensäureassimilation. Zeitschr. f. Bot. 3, p. 657.
 25. ———, 1912. Studien über den Atmungsstoffwechsel abgeschnittener Laubblätter. Jahrb. f. wiss. Bot. 51, p. 451.
 26. ———, 1913. Zie 48.
 27. DOBY, G. 1911 en 1912. Biochemische Untersuchungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffeln. Zeitschr. f. Pfl. Krankh. 21, p. 10 en p. 321 en 22, p. 204.
 28. ——— und BODNAR, J., 1915. Biochemische Untersuchungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. Die Amylase blattrollkranker Knollen. Zeitschr. f. Pfl. krankh. 25, p. 4.
 29. ELZE, D. L., 1927. De verspreiding van virusziekten van de aardappel (*Solanum tuberosum* L.) door insekten. Diss. Wageningen. Med. Landbouwhoogeschool, Wageningen, dl. 31, verh. 2.
 30. ESMARCH, 1919. Zur Kenntnis des Stoffwechsels in blattrollkranken Kartoffeln. Zeitschr. f. Pfl. Krankh. 29, p. 1.
 31. FOEX, E., 1921. La nécrose du liber de la tige de pomme de terre atteinte de la maladie dite „de l'enroulement". Rev. de Pathologie végétale et d'Entomologie agricole 8, p. 25.
 32. GAST, W., 1917. Quantitative Untersuchungen über den Kohlenhydratstoffwechsel im Laubblatt. Hoppe-Seylers Zeitschr. f. Physiol. Chemie 99, p. 1.
 33. GOLDSTEIN, BESSIE, 1924. Cytological studies of living cells of tobacco plants affected with mosaic disease. Bull. Torrey Bot. Club. 51, p. 261.
 34. HEALD, F. D., 1926. Manual of plant diseases (Mc. Graw-Hill, New-York).
 35. HUNGER, F. W. T., 1902. De mozaiekziekte bij Deli-tabak, Deel I. Med. uit 's lands Plantentuin 63.
 36. ———, 1903. Bemerkung zur Wood'schen Theorie über die Mosaikkrankheit des Tabaks. Bull. de l'Institut Bot. de Buitenzorg 17.

37. ———, 1905. Untersuchungen und Betrachtungen über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze, *Zeitschr. f. Pfl. Krankh.* **15**, p. 257.
38. IWANOWSKI, J., 1903. Ueber die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze, *Zeitschr. f. Pfl. krankh.* **13**, p. 1.
39. KLUYVER, A. J., 1913. Biochemische suikerbepalingen. Diss. Delft (Brill, Leiden).
40. KOSTYTSCHEW, S., 1924. Pflanzenatmung. Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen und der Tiere **8** (Springer, Berlin).
41. LOEB, J., 1919. The physiological basis of morphological polarity in regeneration I & II. *The Journ. of gen. physiol.* **1**, p. 337 en p. 687.
42. ———, 1924. Regeneration from a physico-chemical viewpoint. (Mc. Graw-Hill, New-York).
43. LUNDEGARDH, H., 1925. Klima und Boden in ihrer Wirkung auf das Pflanzenleben (Fischer, Jena).
44. MC. KINNEY, H. H., 1927. Factors affecting certain properties of a mosaic virus. *Journ. Agr. Res.* **35**, p. 1.
45. ———, 1927. Quantitative and purification methods in virus studies. *Journ. Agr. Res.* **35**, p. 13.
46. MC. LEAN, W., 1926. Effect of leafroll disease in potatoes on the composition of the tuber and „mother tuber”. *Journ. Agr. Sci.* **16**, p. 318.
47. MAIJER, ADOLF, 1886. Ueber die Mosaikkrankheit des Tabaks. *Landw. Versuchstationen* **32**, p. 451.
48. MEYER, A. und DELEANO, N. T., 1913. Die periodischen Tag- und Nachtschwankungen der Atmungsgrösse im Dunkeln befindlicher Laubblätter und deren vermutliche Beziehung zur Kohlensäure-assimilation. II. Teil. *Zeitschr. f. Bot.* **5**, p. 209.
49. MULVANIA, M., 1926. Studies on the nature of the virus of tobacco mosaic. *Phytopathology* **16**, p. 853.
50. MURPHY, P. A., 1923. On the cause of rolling in potato foliage and on some further insect carriers of the leaf-roll disease. *The Scient. Proc. Roy. Dubl. Soc.* **17**, p. 163.
51. NEGER, F. W., 1915. Die Stärke-ökonomie der grünen Pflanze. *Naturwiss. Zeitschr. f. Forst- und Landwirtschaft* **13**, p. 370.
52. ———, 1919., Die Blattrollkrankheit der Kartoffel. *Zeitschr. f. Pfl. Krankh.* **29**, p. 27.
53. OORTWIJN BOTJES, J. G., 1920. De bladrolziekte van de aardappelplant. Diss. Wageningen (Veenman, Wageningen).
54. QUANJER, H. M., 1913. Die Nekrose des phloems der Kartoffelpflanze, die Ursache der Blattrollkrankheit. *Med. R. H. Land-, Tuin- en Boschbouwschool* **6**, p. 41.
55. ———, v. D. LEK, H. A. A. en OORTWIJN BOTJES, J. G., 1916. Aard.verspreidingswijze en bestrijding van phloeemnekrose (bladrol) en verwante verschijnselen o.a. sereh. *Med. R. H. Land-, Tuin- en Boschbouwschool* **10**, p. 1.
56. ———, 1919. Sur la fonction du tissu criblé. *Med. Landbouwhoogeschool* **16**, p. 95.
57. ———, DORST, J. C., DIJT, M. D. en v. D. HAAR, A. W., 1920. De mozaiekziekte van de Solanaceeën, hare verwantschap met de phloeemnekrose en hare beteekenis voor de aardappelcultuur. *Med. Landbouwhoogeschool, Wageningen* **17**, p. 1.

58. ———, 1923. Un nouveau chapitre de la pathologie végétale reliant cette science à la pathologie animale. *Revue de Pathologie végétale et d'Entomologie agricole* **10**, p. 1.
59. SCHANDER, R. (en BIELERT), 1927. Bericht über die Tätigkeit des Instituts für Pflanzenkrankheiten und der Hauptstelle für Pflanzenschutz für die Provinz Grenzmark und Brandenburg rechts der Oder. (Blattrollkrankheit und andere Staudenkrankheiten). Jahresbericht der landw. V. u. F. Landsberg a. W. 1926—'27, p. 55.
60. SCHANDER, R. und v. TIESENHAUSEN, M., 1914. Kann mann die Phloemnekrose als Ursache oder Sypmtom der Blattrollkrankheit der Kartoffel ansehen? *Mitt. d. Kais. Wilh. Inst. f. Landwirtsch. Bromberg* **6**, p. 115.
61. SCHOORL, N., 1912. Het reduceerend vermogen der suikers. *Chem. Weekbl.* **9**, p. 679. en Tabellen. *Chem. jaarboekje*, 1913—'14.
62. SCHROEDER, H. und HORN, T., 1922. Das gegenseitige Mengenverhältniss der Kohlenhydrate im Laubblatt in seiner Anhängigkeit vom Wassergehalt. *Bioch. Zeitschr.* **130**, p. 197.
63. SHIBATA, K., 1903. Die Enzymbildung in schrumpfkranke Maulbeerbäumen [Vorläufige Mitteilung.] (*The Botanical Magazine* **17**, p. 157). *Ref. Bot. Centralblatt*. 1905, **98**, p. 17.
64. SMIRNOW, A. I., 1926. Atmungsintensität und Peroxydasemenge in Blättern von *Acer negundo*. *Ber. d. deutschen Bot. Ges.* **44**, p. 99.
65. SORAUER, P., 1908. Die angebliche Kartoffelepidemie, genannt die „Blattrollkrankheit“. *Int. Phytopath. Dienst* **1**, p. 33.
66. SPIECKERMANN, A. 1910., Beiträge zur Kenntnis der Bakterienring- und Blattrollkrankheiten der Kartoffelpflanze. Jahresber. d. Ver. f. ang. Botanik **8**, p. 1 en p. 173.
67. STAHEL, G., 1920. De zeefvatenziekte (phloemnekrose) van de Liberiakoffie in Suriname. *Dep. v. d. Landb. in Suriname. Bull.* No. 40.
68. SUZUKI, U., 1902. Chemische und physiologische Studien über die Schrumpfkkrankheit des Maulbeerbaums, eine in Japan sehr weit verbreitete Krankheit. *Zeitschr. f. Pfl. krankh.* **12**, p. 203 en p. 258.
69. TOLLENAAR, D., 1925. Omzettingen van koolhydraten in het blad van *Nicotiana tabacum* L. *Diss. Wageningen* (Veenman, Wageningen).
70. DE VRIES, HUGO, 1878. Beitræge zur speciellen Physiologie landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, V. Wachstumsgeschichte der Kartoffelpflanze. *Landw. Jahrb.* **7**, p. 591. *gec. uit Opera e periodicis collata*, III, p. 247.
71. WENT, F. A. F. C., 1923. *Leerboek der algemeene plantkunde* (Wolters, Groningen, Den Haag).
72. DE WOLFF, C. J., 1926. De saccharosevorming in aardappelen tijdens het drogen. *Diss. Delft* (Paris, Amsterdam).
73. WOODS, A. F., 1902. Observations on the mosaic disease of tobacco. U. S. Dept. of Agriculture, Bureau of Plant-industry, *Bull.* **18**.

VERKLARING DER FIGUREN.

EXPLANATION OF FIGURES.

Fig. 1a. jong blad, primair ziek; na 12 uur in het donker aan de plant bij 20° C.

young leaf, primarily infected; after 12 hours on a darkened plant at 20° C.

fig. 1b. ouder blad, verder stadium van primaire ziekte; verdonkering als bij 1a.

older leaf, further proceeded stage of primary infection, darkening as 1a.

fig. 2a. volgroeid blad, secundair ziek, met beginnende zetmeelophooping; na 48 uur in het donker aan de plant bij 20° C.

full-grown leaf, secondarily infected, starch-accumulation starting; after 48 hours on a darkened plant at 20° C.

fig. 2b. ouder blad verder stadium van secundaire ziekte; verdonkering als bij 2a.

older leaf, further proceeded stage of secondary infection; darkening as 2a.

fig. 3. gezonde bladeren met zetmeelophooping verkrege door inkepingen in de stelen; na 12 uur in het donker aan de plant bij 20° C.; zie ← richting.

3a. met inkeping geheel onderaan.

3b. „ „ onder het eerste paar blaadjes van boven gerekend.

3c. „ „ onder het topblaadje.

Het topblaadje van 3a vertoont ook nog zetmeel in het apicale deel als gevolg van het ongelijktijdig zetmeelvrij worden.

healthy leaves with starch accumulations, obtained by carving the petioles, after 12 hours on darkened plants at 20° C.; notice ← direction.

3a. carve at the lowest portion of the petiole.

3b. carve below the first pair of leaflets from the top.

3c. carve below the top-leaflet.

There is some starch in the top-leaflet of 3a, because the disappearance of the starch is not simultaneously.

fig. 4. gezonde bladeren met zetmeelophooping en verkregen door sneden door de nerven; na 20 uur in het donker aan de plant bij 20 ° C. Geen ophooping, wanneer de grootere nerven niet doorgesneden werden.

healthy leaves with starch-accumulations, obtained by carves through the veins; after 20 hours on darkened plants at 20° C. There is no accumulation, if not larger veins are cut through.

fig. 5. potplanten na 48 uur bij 15° C. in het donker.

5a. bladrolzieke plant, sterkere zetmeelophooping bij het oudste blad dan bij het daaropvolgend tegenoverstaand blad. De jongere bladeren nog geen zetmeelophooping.
5b. gezonde plant.

pot-plants after 48 hours at 15° C. in the dark.

5a. diseased plant, most pronounced starch-accumulation is found in the oldest leaf, next in the following opposite leaf. In the young leaves there is not yet any accumulation.
5b. healthy plant.

fig. 6. dezelfde plant als in fig. 5 na 6 dagen bij 15° C. in het donker.

Same plants as in fig. 5, after 6 days at 15° C. in the dark.

INHOUD.

	Blz.
Inleiding	1
I. Schema van het onderzoek	7
II. Proefplanten en methoden	13
III. Verschillen tusschen gezonde en zieke bladeren ...	22
IV. De ademhaling	24
V. Beschouwing over de ontleding van zetmeel en andere reservestoffen in verband met de ademhaling	37
VI. De ontleding van het zetmeel	40
VII. De ontleding van andere stoffen dan zetmeel	43
VIII. De afvoer	46
IX. De assimilatie	49
X. De vorming van zetmeel en andere stoffen.....	52
XI. Banen van vervoer	55
XII. Andere mogelijke conclusies.....	60
Engelsche samenvatting	64
Literatuurlijst	69
Verklaring der figuren	73

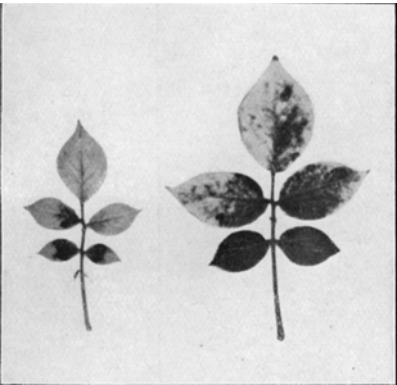


Fig. 1a

Fig. 1b

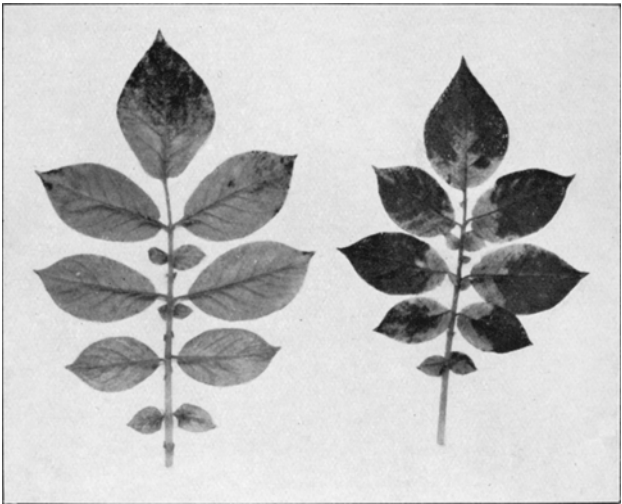


Fig. 2a

Fig. 2b

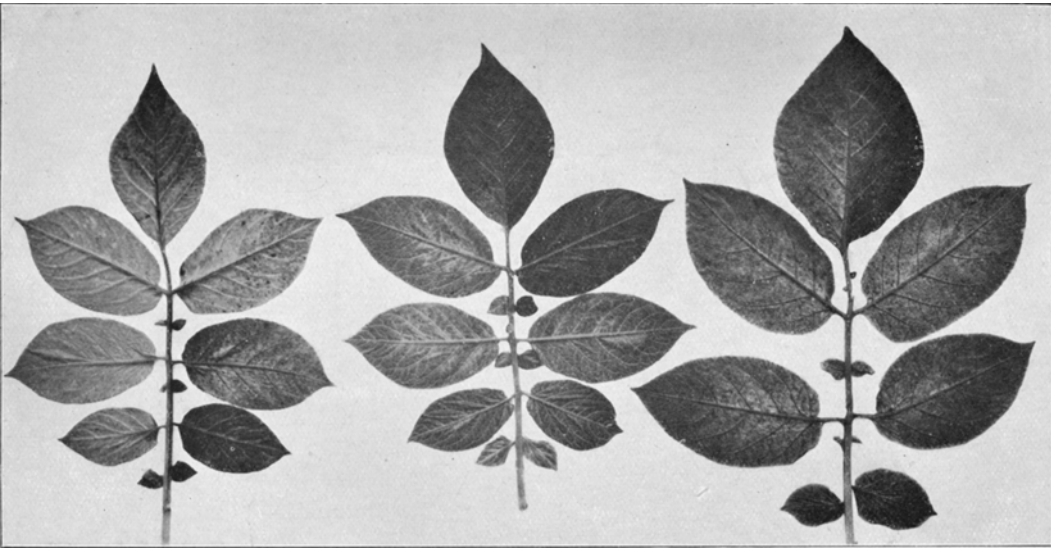


Fig. 3a

Fig. 3b

Fig. 3c



Fig. 4a

Fig. 4b



Fig. 5a

Fig. 5b



Fig. 6a

Fig 6b