

HOOFDSTUK III.

INFECTIE-PROEVEN.

Infectieproeven werden genomen zoowel met mycelium als met sporen van de beide vormen der Venlosche en Maastrichtsche culturen. Was een dergelijk onderzoek reeds noodzakelijk voor de beide macro-vormen, die in algemeene habitus en eigenschappen overeenkomen met *Phoma apicola* KLEBAHN, nog meer was dat 't geval voor de beide micro-vormen, die in een zeer belangrijke eigenschap, nl. die der pycniden-vorming, afwijken van het door KLEBAHN beschreven type.

1. *Met mycelium.*

Wijze van uitvoering. De infecties werden verricht in 4 afzonderlijke, geheel afgesloten infectiecellen van de kassen van het laboratorium voor Mycologie en Aardappelonderzoek der Landbouwhoogeschool te Wageningen.

Deze cellen werden eerst grondig gereinigd, daarna werd alles met warm sodawater afgewasschen. Een ongewenschte infectie was daardoor zoo goed als uitgesloten. In iedere cel werden vervolgens geplaatst 4 uitgekookte zaaipannen, gevuld met gekookten grond (een mengsel van kleigrond, turfmoles en zand). In elk der zaaipannen werden telkens 12 jonge selderijplantjes gepoot, die drie loofblaadjes hadden. Deze plantjes waren gezaaid en eenmaal verplant in zaaipannen met grond, die beide door koken kiemvrij gemaakt waren. Het gebruikte zaad was ontsmet met een 0,25 % formaldehyde oplossing gedurende dertig minuten, hetgeen volgens H. R. A. MULLER (1925) voldoende is om op het zaad aanwezige *Septoria apii* te doden.

In de zeer vele partijtjes contrôle-planten, die ik gedurende dit onderzoek noodig had, zijn inderdaad geen parasitaire ziekten opgetreden, hoewel ik meermalen heb geconstateerd, dat op het gebruikte zaad *Septoria*-pycniden aanwezig waren. Deze zwam is dus zeer waarschijnlijk door de behandeling met formaline gedood.

De in de cellen gepoote plantjes heb ik, alvorens tot infectie over te gaan, weer zoover aan den groei laten komen, dat circa 5 blaadjes aanwezig waren. Daarna werden in elk der 4 cellen 2×12 planten (2 zaaipannen) geïnfecteerd met één der rein-cultures; de twee andere zaaipannen met planten dienden voor contrôle. Deze contrôle-pannen stonden op eenigen afstand van

de geïnfecteerde, zoodat ongewenschte besmetting niet gemakkelijk plaats kon hebben. De vier reïncultures waren gegroeid op steriele, gekookte rijst in Erlenmeyerkolven.

De infectie werd aldus uitgevoerd. Rondom den voet van de te infecteeren plant werden wat rijstkorrels gelegd, waarop de zwam aanwezig was. Uit vroegere proefnemingen was gebleken, dat een dergelijke infectie zeer goed slaagde. Deze infectie had met alle vier de cultures op dezelfde manier plaats.

Uitwendige omstandigheden. Er werden geen bijzondere maatregelen getroffen om de infectie gemakkelijk te doen plaats hebben. Er werd slechts zooveel water gegeven als noodig was voor een goeden groei der planten. De temperatuur varieerde van 16° tot 22° C.

Resultaten. Na ongeveer 14 dagen waren bij de met den Venloschen macro-vorm geïnfecteerde planten verschijnselen van aantasting te zien; de stelen der buitenste bladeren vertoonden bij de grondoppervlakte donkere, later inrottende vlekken; spoedig daarna vielen deze bladeren om en zij begonnen te verwelken. Een week tot 10 dagen later waren dezelfde verschijnselen waar te nemen bij de Venlosche en Maastrichtsche micro-vormen. De Maastrichtsche macro-vorm (de cultuur aangeduid met Ms.1) had nog steeds geen ziekteverschijnselen teweeg kunnen brengen.

Daar bij de infectieproeven met de Maastrichtsche en Venlosche zwam-rassen, nu eens dit dan weer dat ras meer virulent bleek, geloof ik dat dit verschil in pathogeen karakter niet te beschouwen is als een essentieel verschil tusschen deze twee rassen, doch dat het is toe te schrijven aan het verlies van infectievermogen als gevolg van groei op voor de zwam ongeschikte voedingsbodems of aan andere voor de zwam ongunstige omstandigheden.

De cultuur van den Maastrichtschen macro-vorm (Ms.1) was, alvorens ze overgeënt werd op rijst, langen tijd gegroeid op selderij-agar. Ik schrijf het hieraan toe, dat deze cultuur aan infectievermogen meer ingeboet heeft dan de Venlosche macro-vorm, die gedurende dien tijd steeds gegroeid was op gesteriliseerde rijst, een zeer lang vochtig blijvend en meer voedingsstoffen bevattend medium.

Toen de planten nog steeds niet door den Maastrichtschen macro-vorm (Ms.1) waren aangetast, werden zij nog eens geïnfecteerd door een cultuur, die enkele malen opnieuw uit een later te beschrijven „conjunctpynide” was afgezonderd, nl. de cultuur Ms.1 (11). (Zie voor de beteekenis dezer aanduiding het Mycologisch deel, Hoofdstuk IV § 2). Na korten tijd (± 7 dagen) werden thans ook deze planten ziek onder dezelfde verschijnselen als

reeds in drie der bovengenoemde infectiecellen waren opgemerkt.

Toen de vier partijen geïnfecteerde planten kleine knolletjes gevormd hadden, werden enkele ervan uit iedere cel verwijderd en op 't laboratorium nader onderzocht. Het bleek, dat in alle vier de groepen typische schurftziekte was opgetreden. Op de knollen waren zeer veel spleten te zien, waaruit hier en daar een korrelige gele massa te voorschijn kwam. Op de knolletjes werden pycniden aangetroffen.

In de infectiecellen stierven later sommige planten doordat de knolletjes en wortels in rotting overgingen; andere planten hadden niet in die mate van de ziekte te lijden. In de contrôle-pannen waren daarentegen alle planten gezond gebleven en wel in elk der 4 infectiecellen.

Her-isolatie der vier zwamvormen. Van elk der vier partijen zieke planten, die met mycelium van één der vier verschillende zwamvormen geïnfecteerd waren, werden pycniden geïsoleerd. Verdunde pycnosporensuspensies werden uitgezaaid in petrischalen met selderij-agar. Van elk der vier uitzaaisels werden 50 afzonderlijk liggende kolonies in andere petrischalen overgeënt; zoo kon de groeiwijze der verschillende vormen goed beoordeeld worden. Spoedig bleek, dat van elke partij planten de zwamvorm, waarmee zij geïnfecteerd was, teruggewonnen kon worden.

Niet alleen was 't nu duidelijk, dat de beide micro- en macrovormen onveranderd waren gebleven, doch door overenting op COONS' voedingsoplossing bleek eveneens, dat het verschil tussen de Venlosche en Maastrichtsche vormen nog aanwezig was.

Uit deze infecties en her-isolaties blijkt overtuigend, dat zoowel de beide micro- als de beide macrovormen, ieder voor zich, de knolselderij schurftziek kunnen maken.

2. Met pycnosporen.

Behalve de infectieproeven met mycelium bij den voet der planten, werden ook proeven genomen met pycnosporen van elk dezer vier zwamvormen.

Wijze van uitvoering. In ieder der hierboven besproken infectiecellen waren tegelijkertijd twee groote gedesinfecteerde bloempotten met gekookten grond aanwezig. In ieder dezer potten waren telkens vier gezonde selderijplantjes gepoot, afkomstig van dezelfde partij, die voor de vorige proef gebruikt was. Nadat deze circa vijf blaadjes gekregen hadden, werden in iedere cel

de plantjes van één bloempot bespoten met een sporensuspensie van één der vier zwamvormen. De tweede aanwezige bloempot met planten, in iedere cel, bleef ter contrôle onbespoten.

Uitwendige omstandigheden. Om de infectie gemakkelijker te doen plaats hebben, werden over deze bloempotten glazen klokken geplaatst. Hieronder kon men door een eenigszins ruime begieting de vochtigheid zeer hoog houden, zoodat de blaadjes steeds vochtig bleven. Door middel van een ingebrachten psychrometer werd de relatieve vochtigheid bepaald; deze wisselde gedurende de proef van 95—100 %. De temperatuur was, evenals bij de vorige infectieproef, 16°—22° C.

Resultaten. Ongeveer een 10-tal dagen na de bespuiting met de sporensuspensie traden zoowel bij de planten, die bespoten waren met den Venloschen-, als bij de planten, die bespoten waren met den Maastrichtschen micro-vorm, de eerste verschijnselen der ziekte op: de blaadjes gingen eenigszins slap hangen, terwijl later doffe, geel wordende vlekken over de geheele bladschijf zichtbaar werden. Het best ontwikkelden zich deze vlekken aan den top van het blad. Tenslotte kwamen zeer veel kleine pycniden te voorschijn, die zich niet alleen tot de bladschijf beperkten, doch ook in groot aantal op de bladstelen te vinden waren. Van de planten bleef tenslotte niet veel meer over dan doode bladstelen, bezet met pycniden.

De Venlosche macro-vorm kon de ziekteverschijnselen niet zoo spoedig teweeg brengen, het duurde eenige dagen langer, terwijl bij den Maastrichtschen macro-vorm de ziekteverschijnselen eerst na achttien dagen zichtbaar werden. Pycniden werden slechts in zeer enkele gevallen op deze vlekken aangetroffen. De vlekken traden ook lang niet zoo algemeen op als dat bij den micro-vorm het geval was, slechts hier en daar ontwikkelden zij zich en dit was dan meestal bij den bladtop. Ik schrijf dit toe aan de omstandigheid, dat aan den eenigszins naar beneden gebogen bladtop water blijft hangen, zoodat daar ter plaatse de ontwikkeling der zwam begunstigd wordt. Deze planten brachten het er veel beter af dan die, welke met de sporen van de micro-vormen bespoten waren. De bladeren, met den macro-vorm bespoten, hadden niet veel van deze aantasting, die spoedig tot staan kwam, te lijden. Er konden zich nieuwe, jonge blaadjes ontwikkelen, zoodat de planten er weer gezond gingen uitzien. Door de bespuiting met pycnosporen was natuurlijk ook de grond geïnfecteerd, zoodat het niet te verwonderen was, dat ook de knol en de wortels ziekteverschijnselen gingen vertoonen, waaraan tenslotte vele planten te gronde gingen.

De resultaten van deze infectieproeven met sporen van den ma-

cro-vorm komen geheel overeen met de resultaten van KLEBAHN en ik kan, voor zoover de macro-vormen betreft, zijn conclusie bevestigen, dat het blad zelfs in vochtige omgeving geen gunstig substraat is voor *Phoma apiicola*. Anders is het gesteld met de micro-vormen; uit mijn infectieproeven blijkt duidelijk, dat deze, althans in vochtige omgeving, als ernstige bladparasieten kunnen optreden.

Her-isolatie der vier vormen. Van de bladeren van elk der vier geïsoleerde groepen planten werden pycniden afgezonderd en in petrischalen uitgezaaid; alle vier de zwamvormen werden op deze wijze opnieuw geïsoleerd.

3. De aantasting van planten in verschillende groeistadia in besmetten grond.

In verband met de wijze van bestrijding is het van belang na te gaan of een infectie van besmetten grond uit mogelijk is en of de planten in verschillende groeistadia vatbaar zijn. In de praktijk zijn er aanwijzingen voor te vinden, dat jonge plantjes reeds op 't zaadbed aangetast worden; daarmede zouden de ziektekiemen overgebracht kunnen worden naar velden, die tot dusverre vrij van de ziekte geweest zijn.

Zooals reeds gezegd werd, is PETHYBRIDGE van meening, dat *Phoma apiicola* KLEBAHN in Engeland op kiemplantjes, die van „damping off” te lijden hadden, is aangetroffen. Dit moge waarschijnlijk zijn, zekerheid of het inderdaad de bedoelde zwam geweest is, heeft men niet.

KLEBAHN infecteerde kiemplantjes en grootere planten met „konidienhaltiges Wasser”, dat hij verkregen had door stukjes van de oppervlakte van zieke knollen in water te laten liggen of door zulke stukjes in water fijn te wrijven en de vloeistof door een zeef te filtreeren. Een reincultuur krijgt men op deze wijze niet en men zou dan ook uit deze proef omtrent de oorzaak der ziekte niets geleerd hebben, ware het niet, dat hij er in geslaagd is ook door middel van een reincultuur enkele planten schurftziek te maken. Toch is ook deze laatste proef van KLEBAHN niet geheel bewijzend, omdat uit zijn verhandeling niet blijkt of de voor de proef gebezigde planten ziektevrij waren gekweekt.

In het hier volgende onderzoek werd nagegaan in welke mate planten van verschillende ontwikkeling aangetast worden in grond, die met *Phoma apiicola* KLEBAHN *macro-forma* besmet is. Ook werd nagegaan of kiemplantjes ziek worden in grond, die

besmet is met den micro-vorm. De hiervoor benoodigde rein-cultures waren gegroeid op gesteriliseerde rijst, een zeer goede voedingsbodem, die zich gemakkelijk door den grond laat mengen.

a. Infectie van kiemende zaden. Er werden vier potten gevuld met grond, die door koken gedeeltelijk gesteriliseerd was. Hierdoor worden wel niet alle micro-organismen gedood, maar pathogene organismen zijn, voor zoover bekend, tegen deze temperatuur niet bestand. Een van deze potten werd geïnfecteerd met een reïncultuur van den Venloschen macro-vorm, de andere met een reïncultuur van den Venloschen micro-vorm, de derde met deze beide cultures te samen, terwijl de vierde pot niet geïnfecteerd werd en als contrôle dienst deed. Drie weken nadat de grond besmet was, werd er met formaline ontsmet knolselderijzaad in gezaaid. Over elk der vier potten werd een glazen klok geplaatst, zoodat hieronder een vochtige atmosfeer heerschte. De grondtemperatuur werd gedurende dit onderzoek op 17° gehouden.

Vrij spoedig kwamen de witte worteltjes uit het zaad te voorschijn om zich vervolgens naar den grond te richten en daarin door te dringen. Een groot deel der ontkiemde zaadjes bracht het echter niet zoover: zij werden blijkbaar direkt, wanneer ze uit het zaad te voorschijn kwamen, door de schimmel aangetast. Er trad althans een bruine verkleuring op en het kiemworteltje rotte geheel weg, zoodat van deze zaadjes niets terecht kwam.

Andere kiemworteltjes konden tot een zekere diepte in den grond doordringen, doch stierven dan af. In sommige gevallen lag een deel van den kiemwortel boven den grond. Dikwijls bleef dat deel gezond en dan werden hieruit nieuwe zijwortels gevormd, doch zoodra deze den grond bereikten, werden ook zij aangetast, en het plantje ging te gronde.

Tenslotte waren er ook kiemplantjes, die minder hinder van de zwam schenen te hebben, ze konden het althans zoover brengen, dat de kiemlobben zich ontplooiden. Na korteren of langeren tijd zag men echter aan het stengeltje bij de grond-oppervlakte een rotting optreden, waardoor het plantje omviel of bij de geringste aanraking afbrak. Dit verschijnsel komt geheel overeen met het ziektebeeld, dat bij bietenplantjes door *Phoma betae* FRANK veroorzaakt wordt. In alle drie de geïnfecteerde potten trad precies hetzelfde ziekteverschijnsel op, terwijl de plantjes in den contrôlepot gezond bleven.

Door enkele der zieke plantjes uit te leggen op een agar-voedingsbodem werden de gebruikte zwamvormen teruggeïsoleerd. Hiermede is bewezen, dat *Phoma apicola* KLEBAHN als

macro-vorm en micro-vorm in de kiembedden schadelijk kan optreden; de ziekteverschijnselen komen overeen met hetgeen men in de praktijk „t smeul” noemt.

Hiermede is niet gezegd, dat niet ook andere zwammen 't smeul kunnen veroorzaken. Wel zal m.i. de zwam in de praktijk niet zoo schadelijk optreden als in de beschreven proeven; de schimmel toch had in den opzettelijk besmetten grond vrijwel de alleenheerschappij, terwijl in natuurlijke grond meer organismen aanwezig zijn, die een vrije ontwikkeling der *Phoma* zullen stuiten.

b. Infectie van verder ontwikkelde jonge planten. De gezonde jonge plantjes in den contrôlepot werden nu wat uitgedund, daardoor kregen de overblijvende meer ruimte voor verdere ontwikkeling. Nadat deze een twee- of drietal loofblaadjes gekregen hadden, werden tien van deze plantjes overgebracht in den pot, die geïnfecteerd was met den Venloschen macro-vorm. Over deze planten werd thans geen glazen klok geplaatst. De grondtemperatuur werd op 17° C. gehouden. De groei was gedurende de volgende weken in dezen pot en den bijbehorenden niet-geïnfecteerden contrôlepot oogenschijnlijk voorspoedig; er was geen verschil te zien tusschen de planten in den geïnfecteerden pot en die in den contrôlepot. Na drie weken hadden deze planten een vier- of vijftal blaadjes ontwikkeld, die er gezond uitzagen. Zeer voorzichtig werden toen de planten uit den grond genomen en de wortels in water afgespoeld. Nu trad de ziekte duidelijk aan 't licht. De wortels van alle planten uit de geïnfecteerde potten waren aangetast en bij nauwkeurig toezien bleek, dat ook sommige bladstelen aan den voet wat bruin gekleurd waren; enkele lieten op deze plaats gemakkelijk van de plant los. Alle bijwortels, die rondom het jonge knolletje ontstaan waren, vertoonden bij de inplantingsplaats een gele vlek; ze lieten daar gemakkelijk los. Enkele dezer wortels waren geheel bruin. Ook zeer vele zijtakken der lagere wortels hadden bij de inplantingsplaats een gele vlek. Het viel mij op, dat die gele vlekken in hoofdzaak optraden bij de inplantingsplaats van een bijwortel aan den knol of van een zijwortel aan den hoofdwortel. Op die plaats tast de schimmel de wortels het eerst aan, terwijl de rest van den wortel langer weerstand biedt. Dat ook de bladstelen aan de inplantingsplaats het eerst aangetast worden is te verklaren door de omstandigheid, dat meestal alleen dit deel van het blad met besmetten grond in aanraking komt. Dat bij- en zijwortels bij hun aanhechtingsplaats het meest vatbaar zijn komt bij aantasting van planten door andere parasieten ook voor, zoo b.v. bij infectie van tabak door *Thielavia basicola* ZOPF.. Of de door CONANT (1927)

hiervan op grond van histologisch onderzoek gegeven verklaring ook voor de selderijziekte geldt, is niet nader onderzocht.

De meening van sommige kweekers „dat een roodbruine verklaring der ‚haarwortels‘ het eerste kenmerk der ziekte is” (QUANJER en SLAGTER, 1914, pag. 17) blijkt dus juist te zijn.

c. Infectie van halfvolwassen planten. Tenslotte werd nagegaan of planten in een nog verder gevorderd ontwikkelingsstadium voor de aantasting vatbaar zijn. Daartoe werden in de maand Juli buiten in een bak met natuurlijke (niet gestoomden) grond, waarin een mengsel van den Venloschen micro-vorm en macro-vorm aanwezig was, planten met half volwassen knollen gepoot, die tot dien tijd in gestoomden grond opgegroeid waren. Eveneens werden 12 planten met half volwassen knollen gepoot in grond, waarin een mengsel van den Maastrichtschen micro- en macro-vorm aanwezig was. In een kleineren, niet geïnfecteerden bak, die als contrôle diende, werden nog 6 dezer planten met half volwassen knollen gepoot. De bakken werden niet met een glasruit overdekt, zoodat deze planten onder geheel natuurlijke omstandigheden groeiden.

Gedurende den loop der volgende maanden kon reeds geconstateerd worden, dat er aantasting plaats vond aan den voet van de bladstelen der in besmetten grond groeiende planten. Na verloop van twee maanden lagen vele der oudste bladeren ten gevolge van de ziekte op den grond. In de maand November werden alle knollen gerooid, de planten hadden zich, ofschoon ze niet vrij van ziekte waren, goed ontwikkeld; afgezien van de oudste, waren de bladeren geheel gezond; ook de knollen hadden zich flink ontwikkeld. Aan den hals van den knol was echter de aantasting zeer goed waarneembaar. De oppervlakte was daar typisch „schurftig”. De wortels waren goed ontwikkeld en in mindere mate aangetast dan men dat zou verwachten; wel traden talrijke gele vlekken op, maar het wortelsysteem als geheel was nog in een goede conditie. Deze verschijnselen waren in beide geïnfecteerde bakken precies gelijk; de knollen in den contrôle-bak waren geheel gezond gebleven.

Op de zieke knolgedeelten en op den voet der bladstelen werden pycniden aangetroffen. Door uitzaaiing der pycnosporen werden de macro- en de micro-vorm zoowel van de Maastrichtsche als van de Venlosche zwam weer terug geïsoleerd.

Uit de voorgaande proeven blijkt duidelijk, dat de zwam van den grond uit de planten kan aantasten.

Kiemplantjes hebben er het meest van te lijden; bij uitzaaien op sterk besmetten grond moet de praktijk den indruk krijgen, dat het zaad weinig kiemkrachtig is.

Iets oudere plantjes worden eveneens zeer sterk beschadigd; het ziekteproces ontwikkelt zich alleen wat langzamer. Het is niet aan twijfel onderhevig, dat de ziekte met aangetaste „zetplanten” kan worden overgebracht naar het vrije veld. Wanneer de omstandigheden voor de zwam gunstig zijn, zullen dergelijke vroegtijdig aangetaste planten bij den oogst knollen leveren, die de ziekte in de ergste mate vertoonen. Met eenige zorg kunnen de telers vermijden, dat hun aantal te groot wordt.

Half volwassen planten kunnen op het veld aangetast worden, ofschoon zij in dat geval veel minder van de ziekte te lijden hebben. De aantasting zal bij deze planten beperkt blijven tot den hals van den knol en tot de hoogere wortels. De mate van aantasting zal echter in al deze gevallen afhankelijk zijn van de weersomstandigheden gedurende het groeiseizoen. Zooals wij in 't voorgaande reeds meermalen de gelegenheid hadden te zien, is groote vochtigheid bevorderlijk voor de ontwikkeling der ziekte.