

HOOFDSTUK V.

PHOMA APIICOLA KLEBAHN EN PHYLLOSTICTA APII HALSTED.

1. *Het voorkomen van Phoma apiicola Klebahn op de bovengrondsche deelen der plant.*

a. op het blad.

BENNETT (1922, pag. 9) zegt omtrent het voorkomen der zwam op de bladeren en het zaad: „Under Michigan conditions natural infection of the leaves has not been noted, and if it does take place it is probably of rare occurrence. Wherever the disease has appeared in America it seems to have been restricted to underground parts.” Even later vermeldt hij: „In Holland, Klebahn found the disease on celeriac leaves and on the flowering parts, and also discovered pycnidia of the pathogen on the seeds.”

Men zou daaruit kunnen opmaken, dat, volgens KLEBAHN's onderzoek, de zwam op het blad en op het zaad in Holland eenigszins regelmatig zou voorkomen. Afgezien van het feit, dat KLEBAHN zijn waarnemingen niet in Holland doch in Deutschland verrichtte, laat zijn onderzoek een dergelijke conclusie niet toe. Wel zegt KLEBAHN op pag. 24 van zijn publicatie: „Sodann fand ich Pycniden von völlig demselben Aussehen vereinzelt auf den Früchten. Endlich kommen sie gelegentlich auch auf dem Laub vor,” hij laat daar echter op volgen „doch scheint mir ihr Auftreten hier immer ein Ausnahmsweise zu sein.” Zijn meening, dat de zwam een enkele maal op het blad voorkomt, steunt daarenboven op zijn infectieproeven onder glasklokken, vermeld op pag. 35. „Wiederholt habe ich versucht den Pilz auf die Blätter zu übertragen. In Wasser verteilte Konidien wurden über die Blätter verstäubt und die Pflanzen dann unter Glocken gehalten. Der Erfolg war das Auftreten ziemlich zahlreicher brauner Flecken auf den Blättern, doch wurde nur ein einziges Mal eine Pycnide auf einen solchen Flecken gefunden.”

BENNETT vond, dat voor het ontkiemen der sporen een groote vochtigheid vereischt wordt. BENNETT beschouwt dit als de reden waarom de bladeren in de open lucht niet aangetast worden. Wanneer dit zoo is, kunnen infecties onder glasklokken niet als bewijs dienen voor aantastbaarheid in de open lucht, waar de vochtigheid minder groot is dan onder glas-

klokken en waar de planten door den wind spoedig opdrogen. De infectieproeven, die door mij uitgevoerd werden zonder glasklokken, gelukten dan ook niet, niettegenstaande de bladeren herhaaldelijk met water waren begoten en de planten in een kas stonden. Zelfs gelukten deze infecties niet met den micro-vorm, die de planten onder de glasklokken geheel deed afsterven. Des te minder zal de macro-vorm de bladeren in de open lucht aantasten, daar hij zelfs onder de glasklokken dit in zeer geringe mate doet. (Plaat XVIII fig. 8). De meening van KLEBAHN „dasz die Blätter kein geeignetes Substrat für den Pilz sind” (althans voor den macro-vorm) wordt hierdoor bevestigd.

In den herfst van 1926 onderzocht ik verschillende knolselderijvelden en ging ik na in welke mate *Phoma apiicola* KLEBAHN onder de hier heerschende weersomstandigheden op de bladeren voorkomt. Het genoemde jaar was blijkbaar gunstig voor het parasitisch optreden der zwam; de ziekte was toen zeer algemeen; zoo waren de aan de veiling te Venlo aangevoerde knollen voor een zeer groot percentage schurftziek. Onder dergelijke omstandigheden zou men ook aantasting van het loof kunnen verwachten. Het zoeken naar de door *Phoma* veroorzaakte bladvlekken werd mij vergemakkelijkt, doordat mij het beeld van de aantasting uit de resultaten mijner kunstmatige infecties onder glasklokken bekend was.

Bijna alle bladeren der velden, die ik bezocht, waren meer of minder ernstig aangetast door *Septoria apii*; de daardoor veroorzaakte bladvlekkenziekte werd meestal als zoodanig op 't oog herkend. In gevallen waar twijfel bestond, werden de bladeren mee naar het laboratorium genomen en de aanwezige vruchtlichamen microscopisch onderzocht. *Phoma*-pycniden werden niet gevonden.

Rekening houdend met de omstandigheid, dat deze zwam het best gedijt in een vochtige omgeving, stelde ik in den herfst van 1926 op een proefveld in den Eng te Wageningen een nader onderzoek in en lette daarbij speciaal op de bladeren, die geknakt waren of om een of andere reden met hun bladschijf op den grond waren terecht gekomen. Op dit proefveld waren verschillende variëteiten knolselderij aanwezig, die zich in groeiwijze van elkaar onderscheidden; sommige spreidden hun bladeren eenigszins vlak over den grond uit; andere lieten ze meer in de hoogte groeien. Alle variëteiten waren door de schurftzwam aangetast, de meeste ernstig. Zooals hiervoor in hoofdstuk I, § 3, is vermeld, vallen door deze aantasting de oudste bladeren om en komen dientengevolge op den grond terecht.

Het gelukte mij nu op de bladschijf dezer bladeren verscheidene typische sectoraalsgewijze gele verkleuringen te vinden, die mij deden denken aan de vlekken, die ik verkreeg door de kunstmatige infectie met den macro-vorm van *Phoma apiicola*. Op de meeste dezer vlekken waren echter met behulp van het binoculair-microscop, geen pycniden te vinden. Na eenig zoeken gelukte het mij toch een blad te vinden, waarop tien tot vijftien *Phoma*-pycniden aanwezig waren; later vond ik nog een tweede blad met acht dergelijke pycniden. Enkele daarvan werden afgezonderd en een pycnosporen-suspensie werd uitgezaaid op selderij-agar. De kolonies, die hieruit ontstonden, leken in vele opzichten op die van den macro-vorm. Planten, die met mycelium geïnfecteerd werden, vertoonden dergelijke ziekteverschijnselen als veroorzaakt worden door *Phoma apiicola*. Deze op het blad gevonden zwam vormde met een der micro-vormen „conjunct-pycniden” (zie voor de beteekenis hiervan Deel II Hoofdstuk III). Ofschoon men op dergelijke, slechts gedurende één jaar verkregen uitkomsten, niet met volle zekerheid kan beslissen, geloof ik toch wel, mede naar aanleiding van hetgeen hiervoor reeds gezegd is over de eigenschappen der zwam en de verrichte infectieproeven, te kunnen aannemen, dat *Phoma apiicola* KLEBAHN onder de hier heerschende weersomstandigheden niet als bladparasiet optreedt. In het hierboven aangehaalde geval, waarin enkele pycniden gevonden werden op bladeren, die op den grond terecht gekomen zijn, kan men moeilijk het bewijs vinden, dat deze *Phoma* als bladparasiet te beschouwen is: deze bladeren toch zijn bijna afgestorven en vallen reeds aan saprophyten ten prooi.

b. op het zaad.

Wat betreft het voorkomen van deze parasitaire zwam op het zaad, komen niet alle onderzoekers tot dezelfde uitkomsten. KLEBAHN, (1910), die de ziekte het eerst nauwkeurig onderzocht, deelt mee, dat hij *Phoma*-achtige pycniden op het zaad heeft aangetroffen; het gelukte hem echter niet de sporen tot ontkieming te brengen. Hij zaaide verder in gesteriliseerden grond *niet* ontsmet zaad, dat afkomstig was van een veld, waar de ziekte in sterke mate was opgetreden. In een der twee zaaibakken vond hij nadien op één blaadje één *Phoma*-achtige pycnide. Deze pycnide had hetzelfde uiterlijk als die van *Phoma-apiicola*. KLEBAHN besluit, mede naar aanleiding van enkele aanwijzingen uit de praktijk, dat deze ziekte waarschijnlijk met het zaad overgaat.

Dat het echter vaak moeilijk is om uit dergelijke aanwijzingen een juiste conclusie te trekken, bleek mij uit waarnemingen

op een proefveld in den Eng te Wageningen. Van een twintigtal knolselderij-variëteiten, waarvan het zaad ontsmet was en de jonge plantjes gegroeid waren in gestoomden grond, werden telkens 25 planten uitgepoot op een drietal veldjes van bovengenoemd proefveld. De oorspronkelijke bedoeling was den invloed van een bepaalde bemesting op de opbrengst der planten en tevens de groeiwijze der verschillende variëteiten na te gaan. Ofschoon de bemestingsproef niet tot resultaten leidde, was deze aanplanting toch van belang toen in den zomer alle variëteiten op de drie veldjes vrij ernstig schurftziek bleken te zijn, zoodat mij nu een welkome gelegenheid geboden werd om de resultaten der proeven over vatbaarheid door middel van kunstmatige infectie op het vrije veld aan volwassen planten te controleren. Het eigenaardige was echter, dat planten aangetast werden door een parasiet, dien men geenszins in dezen grond zou verwachten. De voorvruchten in de twee voorafgaande jaren waren granen en aardappelen geweest, terwijl het jaar voordien het stuk grond braak gelegen had. Selderij is overigens een gewas, dat in deze omgeving niet verbouwd wordt, peen slechts zeer zelden. Waar men hier dus geenszins kon vermoeden, dat de infectie van den grond was uitgegaan, zou men in een dergelijk geval al zeer sterk geneigd zijn de herkomst der ziekte te zoeken in het zaad. Dat dit geen bron van infectie was, blijkt afdoende uit het feit, dat het zaad ontsmet was en dat de planten, die als contrôle dienden bij andere proeven en van hetzelfde zaaisel afkomstig waren, alle gezond bleven. Er blijft daarom niets anders over dan aan te nemen, dat de aantasting van den bodem is uitgegaan. Vermoedelijk spelen bepaalde gewassen of onkruiden een rol bij het in stand houden van den parasiet op den akker.

QUANJER en SLAGTER (1914) onderzochten verschillende zaadmonsters zonder dat het hun gelukte *Phoma apicola* op het zaad te vinden.

BENNETT (1922) onderzocht vele buitenlandsche zaadmonsters afkomstig uit Engeland, Frankrijk en Holland, ook hij kon den ziekte-verwekker niet op het zaad aantreffen.

In een tabel vermeldt DOROGIN (1923) de voornaamste parasitaire schimmels, die op onderzochte zaadmonsters zijn gevonden. *Phoma apicola* staat niet vermeld bij de schimmels, die op selderijzaad werden aangetroffen.

Volgens welwillende mededeeling van mej. Dr. L. C. DOYER, mycologe aan het proefstation voor Zaadcontrôle te Wageningen, worden nu en dan op enkele selderij-zaadmonsters *Phoma*-achtige pycniden gevonden, die veel lijken op de pycniden van *Phoma*

apicola KLEBAHN. Door hare bemiddeling werden mij eenige dergelijke zaadmonsters verstrekt.¹⁾

De Phoma-achtige pycniden, die ik op verschillende dezer zaden zag, waren geel van kleur en hadden een donkeren mond, de diameter dezer pycniden varieerde van 90 tot 200 μ (15 metingen), zoodat deze inderdaad geheel geleken op de pycniden, welke men aantreft op schurftzieke selderijplanten. Deze pycniden zag ik het meest op het zaad nadat het 10—15 dagen op vochtig filtreer papier gelegen had bij een temperatuur van ongeveer 15° C.

Sporen-suspensies, van verschillende zaadmonsters afkomstig, werden uitgezaaid in selderij-agar. In de meeste gevallen ontkiemden de sporen en ontstond daaruit een aanvankelijk witte schimmel, die na eenigen tijd zwart werd. Uit microscopisch onderzoek bleek, dat deze zwam vele zwarte chlamydosporen gevormd had, die bij de andere door mij onderzochte Phoma-rassen nooit zijn aangetroffen. Vrij spoedig ontstonden in de reïncultures pycniden, die overeen kwamen met die, welke op het zaad aanwezig waren. Jonge selderijplanten, die met deze zwam geïnfecteerd werden, bleven volkomen gezond.

Was het hierdoor reeds bewezen, dat de van het zaad geïsoleerde zwam niet dezelfde was als *Phoma apicola*, ten overvloede bleek dit uit de meting der pycnosporen, die direct van het zaad geïsoleerd waren. De sporen zijn gemeten in een 10 % gelatine-oplossing en na kleuring met Gentiaan violet. De lengte der sporen varieert van 3,99—5,72 μ (100 metingen); zij zijn dus aanmerkelijk grooter dan die van *Phoma apicola* KLEBAHN. De in reïncultuur ontstane pycnosporen der van het zaad geïsoleerde zwam hadden dezelfde variatiebreedte nl. 3,64—5,72 μ (25 metingen). Hiermede is bewezen, dat op het selderij-zaad een Phoma voorkomt, waarvan de pycniden zeer veel gelijken op die van *Phoma apicola* maar die daarmee niet identiek zijn; deze twee zwammen verschillen in grootte der conidiën, verder daarin, dat de eerste wel en de tweede niet chlamydosporen vormt, en ten slotte daarin, dat de eerste wel en de tweede niet pathogeen is voor selderijplanten.

Door een voortgezet onderzoek gelukte het mij ten slotte van een zaadje een pycnide te isoleren uit welker sporen bij uitzaaiing een witte (later grijsgroene) zwam ontstond, die geen donkere

¹⁾ Het hier volgende deel van dit onderzoek werd uitgevoerd in het Proefstation voor Zaadcontrôle te Wageningen. Ik betuig gaarne mijn oprechten dank aan den Directeur DR. W. J. FRANCK, dat hij mij daartoe in de gelegenheid stelde, en aan DR. L. C. DOYER voor de mij verstrekte aanwijzingen.

chlamydosporen vormde doch waarvan het uiterlijk mij deed denken aan de vroeger door mij geïsoleerde *Phoma apiicola*. Overgeënt op steriele selderij-stelen vormde de zwam pycniden, waarvan het uiterlijk en de grootte overeenkwamen met die van *Phoma apiicola*. Ook de afmetingen der gevormde sporen waren dezelfde als gevonden waren voor die der schurftzwam. Planten, die met deze pycnosporen geïnfecteerd werden, vertoonden spoedig aan den voet der bladstelen de ziekteverschijnselen, die ook *Phoma apiicola* teweegbrengt. Het staat dan ook buiten twijfel vast, dat deze van het zaad geïsoleerde zwam identiek is met *Phoma apiicola* KLEBAHN.

KLEBAHN heeft eenmaal een *Phoma*-achtige pycnide op het zaad gevonden, doch daar het mij bleek, dat op het zaad meermalen pycniden te vinden zijn, die zeer veel op die der schurftzwam gelijken, doch er niet identiek mee zijn, is het zeer de vraag of dat werkelijk *Phoma apiicola* geweest is.

Uit het onderzoek van het zaad kan de eindconclusie getrokken worden, dat het slechts bij zeer hooge uitzondering een rol bij de verbreiding der ziekte kan spelen.

2. De kwestie der identiteit van *Phoma apiicola* KLEBAHN en *Phyllosticta apii* HALSTED.

In de systematiek der *Fungi Imperfecti* is men gewoon onderscheid te maken tusschen het geslacht *Phoma*, dat op aardse plantendeelen en stengels leeft, en het geslacht *Phyllosticta*, dat op bladeren voorkomt, zonder dat daarbij typische morphologische verschillen tusschen deze beide geslachten worden aangegeven. Uit nadere onderzoekingen is gebleken, dat een dergelijke indeeling willekeurig en daardoor niet vol te houden is. Zoo vond HEDGCOCK (1904), dat de op biet voorkomende *Phyllosticta betae* en *Phoma betae* identiek zijn, hetgeen later door KALISVAART in het laboratorium voor Mycologie en Aardappel-onderzoek te Wageningen bevestigd werd (niet gepubliceerd). Zooals in het voorgaande gebleken is, zal *Phoma apiicola* KLEBAHN onder de hier heersche omstandigheden als regel niet op het blad voorkomen. Er is mij dan ook in de Europeesche literatuur geen enkele opgave bekend geworden, waarin sprake is van een selderij-bladziekte, die veroorzaakt wordt door een *Phoma* of *Phyllosticta*. In Amerika heeft HALSTED gewag gemaakt van een *Phyllosticta*, die op het blad sectoriale gele vlekken teweegbrengt; op den rand waarvan pycniden ontstaan. In reincultuur vormt deze zwam op gesteriliseerde selderij-bladstelen en in de vloeistof beneden in de cultuurbuizen reeds na 5 dagen pycniden. Deze

zwam wordt aangeduid met den naam *Phyllosticta apii*, HALSTED. Omtrent aard en grootte der pycniden en sporen is niets bekend. In het Bureau of Plant Industry te Washington worden geen reincultures of herbarium materiaal dezer ziekte bewaard. Prof. Dr. H. H. WHETZEL (Cornell University Ithaca, N. Y.) deelde mij welwillend mee, dat deze *Phyllosticta* ziekte in den Staat New York niet bekend is, niettegenstaande in het veld-laboratorium te Williamson onderzoekingen over selderijziekten verricht zijn. Ook in de literatuur is er niets meer over gepubliceerd. Het was mij daardoor onmogelijk de door mij geïsoleerde Phoma-vormen te vergelijken met de Amerikaansche *Phyllosticta apii*.

In zijn onderzoek ging KLEBAHN na of de door hem als oorzaak der „Schorfkrankheit” gevonden zwam dezelfde was, als de door HALSTED gevonden *Phyllosticta apii*. Bij zijn infectieproeven vond KLEBAHN, dat de zwam der schurftziekte zelfs onder gunstige omstandigheden op bladeren moeilijk gedijt, terwijl zij in reincultures in het algemeen, voor zoover KLEBAHN bekend was, slechts zeer langzaam pycniden vormt.

Ofschoon er niet veel gegevens bekend zijn omtrent *Phyllosticta apii*, meent KLEBAHN toch met voldoende zekerheid te kunnen aannemen, dat de door hem gevonden zwam niet dezelfde is als de door HALSTED bedoelde, die in tegenstelling met de zwam der schurftziekte een bladparasiet is.

KLEBAHN beschouwt de door hem gevonden Phoma als een nieuwe soort, die hij *apiicola* noemt.

Vergelijken wij in dit verband de beide door mij geïsoleerde zwamvormen, dan blijkt uit de infectieproeven, dat de macro-vorm niet als een bladparasiet te beschouwen is en dat hij slechts op bepaalde voedingsbodems pycniden maakt. Wel bracht deze vorm het op gesteriliseerde selderij-bladstelen in 14 dagen tijds tot pycnide-vorming, zoodat in dit opzicht 't verschil tusschen den macro-vorm en de *Phyllosticta* geringer wordt. Toch meen ik uit het feit, dat *Phyllosticta* een bladparasiet is en de macro-vorm niet, te kunnen afleiden, dat deze twee zwammen niet identiek zijn, al behoeven ze daarom niet tot verschillende geslachten gerekend te worden.

De vergelijking tusschen den micro-vorm en *Phyllosticta apii* is nog moeilijker door te voeren. Blijkbaar verschillen ze zeer weinig van elkaar. Beide vormen ze in enkele dagen tijds op gesteriliseerde selderij-bladstelen vele pycniden, terwijl ook de micro-vorm, althans in een vochtige atmosfeer, als bladparasiet kan optreden. Met eenige waarschijnlijkheid zou men daaruit kunnen besluiten, dat de micro-vorm dezelfde is als *Phyllosticta apii* HALSTED. In dat geval zou deze zwam niets anders zijn dan

een vorm, die zich uit *Phoma apicola* KLEBAHN heeft afgesplitst. Men kan zich voorstellen, dat, onder bepaalde omstandigheden, b.v. ten gevolge van passage door een plant, dezelfde omzetting plaats heeft van den macro- in den micro-vorm, die ik in het laboratorium bij de cultuur op gesteriliseerde knolselderij heb leeren kennen; op deze kwestie kom ik evenwel in het mycologisch deel terug.