

HOOFDSTUK II.

DE LOCALE RASSEN VAN PHOMA APIICOLA EN DE VORMEN DAARVAN IN REINCULTUUR.

1. *Groei op verschillende voedingsbodems.*

BENNETT (1921) kweekte zijn *Phoma* op verschillende voedingsbodems en beschreef den habitus en de kleur van het mycelium en de vorming van pycniden. Voor dien tijd was er geen medium bekend, waarop de zwam pycniden vormde; hij vond dat dit gemakkelijk plaats heeft op gesteriliseerde knolselderij, en op COONS' synthetische voedingsbodem.

Hij kwam verder tot de conclusie, dat in 't algemeen op alle door middel van agar bereide vaste media en op gesteriliseerde plantendeelen, gesteriliseerde knolselderij uitgezonderd, een geringe pycniden-vorming plaats heeft: dit was ook reeds door WESTERDIJK en VAN LUYK (1920) geconstateerd. Dat agarplaten ongunstig zijn voor de vorming der pycniden kwam in mijn onderzoek in een bepaald geval duidelijk naar voren. De macro-vorm gaat gemakkelijk tot pycnide-vorming over op filtreerpapier, gedrenkt in COONS' voedingsoplossing. Wordt echter aan deze oplossing $1\frac{1}{2}$ % agar toegevoegd, zoodat men een vaste voedingsbodem krijgt en ent men daarop den macro-vorm, dan ontstaan de pycniden in veel geringer aantal en na langeren tijd. Deze minder gunstige ontwikkeling meen ik voor een groot deel te moeten toeschrijven aan gebrek aan vochtigheid. Ik kweekte de twee zwam-vormen, die ik na cultuur op gesteriliseerden selderijknol verkreeg en ook de zwam, zooals die van de plant geïsoleerd was, op verschillende voedingsbodems, waar op ook BENNETT zijn *Phoma*-ras kweekte en op nog eenige andere substraten; ik liette behalve op de groeiwijze weer speciaal op de vorming van pycniden. Daar de Venlosche vormen niet groeien op COONS' oplossing en de macro-vorm op gesteriliseerde knolselderij voortdurend den micro-vorm afsplitst, moest er gezocht worden naar een medium, waarop ook de Venlosche macro-vorm pycniden maakt, zonder dat de micro-vorm afgesplitst wordt.

De resultaten van de kweekproeven, die hiervoor noodig waren, zijn vermeld in de hieronder volgende tabel I.

TABEL I. MYCELIIUM-GROEI EN PYCNIDE-VORMING OP VERSCHILLENDE VOEDINGSBODEMS.

MYCELIAL GROWTH AND FORMATION OF PYCNIDIA ON DIFFERENT MEDIA.

1	2	3	4	5	6	7	8
Voedings- bodem.	Gegevens van Bennett.	Phoma apicola geïsoleerd van een Maas- trichtschen sel- derijknoel.	Phoma apicola geïsoleerd van een Venloschen selderijknoel.	Maastrichtsche macro-vorm.	Venlosche macro-vorm.	Maastrichtsche micro-vorm.	Venlosche micro-vorm.
Medium.	Bennett's data.	Ph. a. isolated from Maastricht turnip-rooted celery plant.	Ph. a. isolated from Ven o turnip- rooted celery plant.	Maastricht macro-form.	Venlo macro-form.	Maastricht micro-form.	Venlo micro-form.
Selderij-agar.	„Growth good, considerable submerged mycelium; aerial myce- lium slightly tinged with blue. Pycnidia scarce.”	Veel luchtmycelium; aanvankelijk wit, later grijsgroen van kleur. Na eenigen tijd ontstaan hier en daar enkele pycniden. Abundant aerial mycelium. Colour in the beginning white, later grey-green. Pycnidial formation scarce.					
Kers-agar.	—	Zeer veel luchtmycelium; aanvankelijk wit, later blauw-groen van kleur. Geen pycniden. Abundant aerial mycelium. Colour at first white, later becoming bluish-green No pycnidia.					
Cherry-agar.	—	Zeer veel luchtmycelium. Geen pycniden. Abundant aerial mycelium. No pycnidia.					
Havermout- agar.	—	„Growth abundant. Color of rice changed from white to oran- ge; mycelium varying from light blue to black. Pycni- dia in old cultures.”					
Oatmalt-agar.	—	„Growth abundant. Color of rice changed from white to oran- ge; mycelium varying from light blue to black. Pycni- dia in old cultures.”					
Rijst.	—	„Growth abundant. Color of rice changed from white to oran- ge; mycelium varying from light blue to black. Pycni- dia in old cultures.”					
Rice	—	„Growth abundant. Color of rice changed from white to oran- ge; mycelium varying from light blue to black. Pycni- dia in old cultures.”					

Celery-petioles.	Rather abundant aerial mycelium; colour. withe, later turning grey-green. Pycnidia are formed within 14 days.				Mycelial growth scarce. Abundant pycnidia.	
Extract van afgestorven bladeren.	—	Betrekkelijk weinig lucht-mycelium; wit, later grijsgroen van kleur. Weinig pycniden. Aerial mycelium at first white, later greyish-green. A few pycnidia.	—	Groei en pycniden vorming, zooals aangegeven in kolom 3.	—	—
Extract of dead leaves.				Growth and pycnidia formation as described in column 3.		
Coons' voedingsoplossing op filtreerpapier. Coons' synthetic solution on filter paper.	„Mycelial growth scarce; at first white. Later turning dark. Pycnidia very abundant.”	Tamelijk veel luchtmycelium, aanvankelijk wit, later donker van kleur, zeer veel pycniden		Geen groei.	Weinig mycelium. Zeer veel pycniden. Very scarce aerial mycelium. Pycnidia very abundant.	Geen groei.
Richards' voedingsoplossing op filtreerpapier.	„At first submerged coming to the surface very dense masses formed; color varying from white to black. No pycnidia observed.”	Aerial mycelium rather abundant. Colour at first white later black. Pycnidia abundant.		No growth.		No growth.
Richards' synthetic solution on filter paper.		Veel mycelium, wit, later donker van kleur. Het filtreerpapier wordt in de omgeving van het mycelium wijnrood van kleur. Geen pycniden.		Geen groei.	Zeer weinig lucht-mycelium. Zeer veel pycniden. Mycelium development scarce. Pycnidia very abundant.	Geen groei.
		Much mycelium at first white, later dark. Paper turns winered in neighbourhood of mycelium. No pycnidia.		No growth.		No growth.
Havermeel-agar.	„Mycelium abundant, black masses of mycelium formed at the edges of cultures. Pycnidia have been found in old cultures.”			—	—	—
Oatmeal-agar.						

Hetgeen in deze tabel vermeld is, heeft betrekking op cultures, die slechts korten tijd als reincultuur op kunstmatige voedingsbodems gegroeit zijn.

What is said in this table holds good only for cultures grown for a short time on artificial media.

Voor een goed inzicht dient men onderscheid te maken tusschen *Phoma apiicola* KLEBAHN, zooals zij geïsoleerd wordt van de zieke plant en de twee vormen, die uit deze zwam te voorschijn komen, nadat zij pycniden gevormd heeft op gesteriliseerden selderij-knol. Wanneer men afgaat op KLEBAHN's diagnose van *Phoma apiicola* zouden de beide macro-vormen (de Venlosche en de Maastrichtsche) zoowel wat morphologische als wat physiologische eigenschappen betreft, daarmede identiek moeten zijn. De Venlosche macro-vorm, die ontstaat uit pycniden gevormd op gesteriliseerde knolselderij, wijkt echter af van de oorspronkelijke Venlosche *Phoma apiicola* doordat hij het vermogen om op COONS' en RICHARDS' oplossing te groeien verloren heeft.

Uit de tabel blijkt, dat gesteriliseerde selderijbladstelen een zeer goeden voedingsbodem vormen in zooverre als daarop spoedig pycniden in groot aantal ontstaan zoowel van den Maastrichtschen als van den Venloschen macro-vorm. Ook op aftreksel van afgestorven bladeren maken alle vormen pycniden, evenwel in veel mindere mate dan op de bladstelen.

§ 2. *Vergelijking van de locale rassen en de vormen daarvan op eenzelfden voedingsbodem.*

COONS (1917) en BENNETT (1921) vergeleken het *Phoma* ras, dat zij in reincultuur uit Nederland ontvangen hadden met een ras, dat zij in Michigan isoleerden. Aanvankelijk werd geconstateerd, dat het Europeesche ras lichter van kleur was, dan het Amerikaansche; later bleek echter, dat het laatste ras de donkere kleur door lang voortgezette cultuur op kunstmatige voedingsbodems verloor, zoodat de beide schimmels in dit opzicht niet meer van elkaar te onderscheiden waren. Evenmin konden morphologische of physiologische verschillen gevonden worden, zoodat het Europeesche ras voor identiek gehouden werd met het Amerikaansche.

Met het oog op de mogelijkheid van het bestaan van physiologische rassen ging ik bij mijn onderzoek uit van zieke knollen gegroeid op kleigrond (Maastricht) en op humusrijken zandgrond (Venlo).

Uit het voorgaande hoofdstuk is gebleken, dat er direct na de isolatie geen verschil merkbaar is tusschen de beide zwammen. Nadat echter de vorming van pycniden op gesteriliseerden selderij-knol heeft plaats gehad, onderschieden zij zich door een in 't oog vallend kenmerk, nl. door hun gedrag op COONS' en RICHARDS' oplossing. De Maastrichtsche zwamvormen groeien ook daarna nog uitstekend op deze voedingsoplossing, de Venlosche daarentegen in 't geheel niet. Dit werd het eerst gecon-

stateerd in een cultuur, die als mycelium uit zieke knollen was geïsoleerd en nadien op gesteriliseerde knolselderij pycniden had gevormd. Van deze pycniden werd een groot aantal sporen geënt telkens in achttien cultuurbuizen met COONS' en met RICHARDS' oplossing. Het verschil tusschen de Venlosche en de Maastrichtsche cultures kwam in iedere partij van achttien buizen, zoowel in die met COONS' als in die met RICHARDS' oplossing zeer duidelijk te voorschijn. De cultures, die ik nu gedurende twee jaren op verschillende voedingsbodems en onder verschillende omstandigheden gekweekt heb en waarmee ik herhaalde malen planten infecteerde, vertoonen nog steeds het verschillend gedrag ten opzichte van de twee synthetische media. Toch is het mogelijk, dat dit verschil tusschen de beide plaatselijke rassen onder bepaalde omstandigheden weer verloren zal gaan. Ik heb dat ééns kunnen constateeren toen bij een proefneming 80 cultuurbuizen met COONS' oplossing geënt werden met sporen van den Venloschen micro-vorm. Na een bepaalden tijd, die voor ieder der buizen verschillend was, trad er in 7 buizen myceliumontwikkeling op. Blijkbaar waren er in deze buizen sporen aanwezig geweest, waarvan de kiemhyphen zich na korter of langer tijd hadden aangepast aan dezen voedingsbodem. In de andere 73 buizen trad niet de minste groei op. Aan een verontreiniging kan dit niet worden toegeschreven. Hiermede is niet gezegd, dat er een overgang plaats heeft gevonden van het Venlosche in het Maastrichtsche ras.

Wij hebben hier te maken met twee rassen het Venlosche en het Maastrichtsche, die zich aanvankelijk in dit opzicht niet van elkaar onderscheiden, maar die, na op een bepaalden voedingsbodem pycniden gevormd te hebben, niet precies meer dezelfde eischen aan hun substraat stellen. Dit verschillend gedrag is voldoende om de Venlosche en Maastrichtsche cultures als physiologisch verschillende rassen op te vatten, temeer waar er bovendien, zooals aanstonds zal blijken, ook morphologische verschillen aanwezig zijn.

Dit is echter niet de eenige verandering, die *Phoma apiicola* KLEBAHN ondergaat door een groei op gesteriliseerden selderijknol. Door pycnide-vorming op dezen voedingsbodem splitst zoowel de Venlosche als de Maastrichtsche cultuur een zwamvorm af, die zich duidelijk en in een belangrijke eigenschap van de oorspronkelijke zwam onderscheidt. Er ontstaat hier namelijk de micro-vorm.

Door de pycnide-vorming op gesteriliseerden selderijknol vallen dus de twee cultures, die zich oorspronkelijk in niets van elkaar onderscheidten uiteen in 4 verschillende typen, die ten opzichte

van een bepaalde eigenschap twee aan twee gelijk zijn. Dit moge blijken uit het volgend overzicht.

	Vormen niet gemakkelijk pycniden op kunstmatige voedingsbodems	Vormen gemakkelijk pycniden op kunstmatige voedingsbodems
Groeien goed op COONS' en RICHARDS' opl.	Maastrichtsche „macro-vorm”	Maastrichtsche „micro-vorm”
Groeien niet goed op COONS' en RICHARDS' opl.	Venlosche „macro-vorm”	Venlosche „micro-vorm”

Dat de verschillen tusschen de twee locale rassen niet alleen van physiologischen maar ook van morphologischen aard zijn, komt duidelijk tot uitdrukking door de twee vormen van elk dezer rassen te kweken op COONS' oplossing, die door toevoeging van $1\frac{1}{2}$ % agar tot een vasten voedingsbodem gemaakt is. Hierdoor zijn blijkbaar de omstandigheden voor de Venlosche vormen in zooverre gunstiger geworden, dat er eenige groei kan optreden.

De hier volgende beschrijvingen worden door photo's verduidelijkt. (Pl. XVIII fig. 6 en 7).

De Maastrichtsche macro-vorm vertoont een dik, wollig aaneengesloten mycelium, lichtgrijs van kleur; de afmeting der kolonie 14 dagen na enting is: 30×25 cm; ongeveer 4 weken na enting zijn enkele pycniden in het luchtmycelium aanwezig, dit is vrij van vochtdruppels.

De Venlosche macro-vorm maakt een minder dik, wollig mycelium; de dikte hiervan is niet op alle plaatsen dezelfde, doch er zijn inzinkingen, zoodat de kolonie een sponsachtig uiterlijk heeft. De kleur is bruinachtig, terwijl hier en daar vochtdruppeltjes in het mycelium ontstaan. De afmeting der kolonie is: 20×20 cm. Er ontstaan geen pycniden. Er dient opgemerkt te worden, dat deze macro-vorm afkomstig is van een cultuur, die een maand geleden opnieuw geïsoleerd was uit een kunstmatig geïnfecteerde plant, zoodat de minder goede groei niet toe te schrijven is aan verblif op minder gunstige voedingsbodems.

De Maastrichtsche micro-vorm groeit gelijkmatig en vormt weinig luchtmycelium, terwijl over de geheele kolonie pycniden ontstaan. De habitus is eenigszins geveerd. De afmeting van de kolonie 14 dagen na enting is: 38×20 cm. De kleur van de kolonie is grauwgrijs.

De Venlosche micro-vorm groeit niet zoo gelijkmatig over den voedingsbodem; van de entplaats groeien bepaalde takken uit; daar komen weer kleinere zijtakken uit voort. De kolonie krijgt daardoor een geveerd uiterlijk. Pycniden ontstaan alleen in het alleroudste mycelium, vooral rondom de entplaats, overigens zijn ze zeldzaam. De kleur van de kolonie is geel.

De beide micro-vormen bleken onder de meeste omstandigheden constant te blijven, ook door infectie en her-isolatie van de bovenaardsche deelen van selderijplanten had er geen overgang in den macro-vorm plaats. Slechts in de zeer bijzondere gevallen, die in § 2 van het vorige hoofdstuk beschreven werden, heb ik dien overgang kunnen constateeren.