

HOOFDSTUK IV.

DEGENERATIE EN REGENERATIE.

1. Literatuuroverzicht.

Verschillende onderzoekers, die zwammen op steriele voedingsbodems kweekten, ondervonden, dat na korteren of langeren tijd bepaalde eigenschappen veranderden of geheel of gedeeltelijk verloren gingen.

PETHYBRIDGE (1916) zegt, dat *Verticillium alboatrum* REINKE et BERTHOLD, die pas geïsoleerd is, op een gesteriliseerden voedingsbodem na eenigen tijd donker van kleur wordt, hetgeen niet het gevolg is van het ontstaan van donkere chlamydosporen maar alleen van het donker worden van het mycelium. Na langdurige cultuur op een kunstmatigen voedingsbodem gaat de eigenschap om deze donkere kleur af te scheiden verloren. Volgens mondelinge mededeeling van Dr. J. H. H. VAN DER MEER heeft zij deze eigenschap bij *Verticillium alboatrum* niet zien verloren gaan gedurende de jaren 1919 tot 1925, waarin zij zich met het onderzoek van deze zwam bezig hield; wel waren in 't eind van 1926 de cultures, die zij in buizen op voedingsagar bewaard had, kleurloos geworden. Gedurende het onderzoek waren de cultures dikwijls overgeënt, terwijl dit na afloop van het onderzoek niet meer gedaan werd. VANDENDRIES (1923) vond, dat bij Basidiomyceten tusschen individuen van tegengesteld geslacht, die langeren tijd op de gebruikelijke steriele voedingsbodems gegroeid waren, geen geslachtelijk proces meer optrad.

Zeer interessant is hetgeen SCHNEGG (1915) meedeelt omtrent de vorming van pycniden van *Phoma conidiogena* SCHNEGG in verband met de degeneratie dezer zwam op verschillende voedingsbodems. Deze *Phoma* wordt zeer dikwijls aangetroffen in de wortleidingen der bierbrouwerijen. De wort schijnt een zeer geschikte voedingsbodem voor deze zwam te zijn. Op andere voedingsbodems is aanvankelijk de groei niet slecht; er worden daarop ook pycniden gevormd wanneer als uitgangsmateriaal conidiën gebruikt worden, die van een wortcultuur afkomstig zijn.

Wanneer de zwam echter een tijdlang op een anderen voedingsbodem gekweekt wordt, dan treden in de elkaar opvolgende gene-

raties meer en meer degeneratie-verschijnselen op en wel des te vlugger naarmate de voedingsbodem voor de zwam ongunstiger geweest is. Deze degeneratie kenmerkt zich door een tragere ontkieming der sporen, een minder krachtige mycelium-ontwikkeling en het verloren gaan van het vermogen om pycniden te vormen. SCHNEGG vermeldt, dat van alle onderzochte voedingsbodems alleen wort degene is, waarop zoowel een goede mycelium-als een pycnide-ontwikkeling gewaarborgd is.

APPEL en WOLLENWEBER (1913) meenen, dat een verandering in de morphologische en physiologische eigenschappen van sommige *Fusarium*soorten optreedt, nadat zij gedurende langen tijd op een kunstmatigen voedingsbodem gegroeid zijn. Zij onderscheiden bij de cultures der *Fusarium*soorten drie stadiën, die zij aanduiden met de namen: Ankultur, Normkultur en Abkultur.

Bij het opnieuw meten van sporen van *Fusarium*soorten, die hij van de oorspronkelijke onderzoekers ontvangen had, vond BURKHOLDER (1925), dat de sporen dezer subcultures niet meer dezelfde afmetingen toonden als de eerste onderzoekers gevonden hadden. Hij meende dit te moeten toeschrijven aan het feit, dat deze species langeren tijd als reïncultuur onder laboratorium-omstandigheden voortgekweekt waren, waardoor zij veranderingen ondergaan hadden. Om dit te onderzoeken vergeleek hij de soort *Fusarium martii phaseoli* BURK, die zes jaar in reïncultuur was bewaard, met dezelfde soort, nadat hij haar na kunstmatige infectie, opnieuw van een boon geïsoleerd had en ook nadat hij haar tweemaal achter elkaar op een plant geënt en weer in reïncultuur gebracht had. Hij komt dan tot de conclusie, dat deze *Fusarium* door groei op een sterielen voedingsbodem zoowel morphologisch als physiologisch verandert. Wanneer de zwam pas van een plant geïsoleerd is, is de kleur der kolonie op de meeste voedingsbodems blauwgroen, welke kleur verloren gaat bij een langdurige cultuur op de gebruikelijke voedingsbodems; passage door een plant doet haar terugkomen. Bij microscopisch onderzoek kwamen nog meer veranderingen aan 't licht: de als reïncultuur bewaarde zwam was arm aan macro-conidiën terwijl zij in de twee maal opnieuw geïsoleerde kolonies in groote hoeveelheid aanwezig waren. Daarentegen vond men in de bewaarde cultuur zeer veel micro-conidiën, die in de opgefrischte cultures zeldzaam waren. Verder bleek, dat de bewaarde cultuur zeer veel aan infectievermogen ingeboet had; de cultuur, die eenmaal door een plant gepasseerd was, had dit infectievermogen ten deele teruggekregen, terwijl de cultuur, die tweemaal door een plant gepasseerd was, haar oorspronkelijke virulentie geheel herwonnen had.

BENNETT (1921) merkte op, dat *Phoma apiicola* KLEBAHN, die pas van een plant geïsoleerd is, een donkerder kleur heeft dan de zwam, die een tijdlang op steriele voedingsbodems is voortgekweekt.

WESTERDIJK en VAN LUIJK (1920) vermelden, dat verschillende pycnide-vormende zwammen, die in het Centraal Bureau voor Schimmelculturen gekweekt worden, het vermogen om deze vruchtlichamen te vormen op den duur verliezen. *Phoma Richardiae* MERCER groeide vijf jaren, *Phoma fictiles* DEL. vier jaren op gesteriliseerde voedingsbodems zonder dat deze eigenschap verloren ging; ook *Phoma conidiogena* SCHNEGG bleef pycniden vormen. Deze drie soorten zijn saprophyten. Parasitische soorten als *Phoma betae* FRANK, *Phoma oleracea* SACC. *Phoma apiicola* KLEBAHN en andere verloren spoedig het vermogen tot pycnide-vorming. Zij trachtten na te gaan welke eischen elk van deze schimmels aan den voedingsbodem stelt. *Phoma betae* werd gekweekt op kers-agar, haverhout-agar, gesteriliseerden aardappel, peen en suikerbiet. Op al deze voedingsbodems ging de eigenschap der pycnide-vorming verloren. Ten slotte werden proeven genomen met zoogenaamde „rolcultures” gekenmerkt door een zeer dunne laag van een vast medium, die den binnenkant van een cultuurbuis bekleedt. In deze culturen vormt *Phoma betae* FRANK binnen drie weken pycniden en zij blijft deze eigenschap doorlopend behouden, mits de overenting geschiedt met sporen en niet met mycelium. Als substraat vonden zij verschillende agarhoudende aftreksels geschikt, het beste voldeed volgens hen agarhoudend boonenextract. Het viel hun op, dat de pycniden bijna steeds ontstonden op de grenslijn der mycelium-takken, die van twee zijden van de entplaats in de cultuurbuis naar elkaar toe groeiden. Daar zij niet met ééns pore-cultures werkten, wisten ze niet of de pycniden uit de vereeniging van myceliumdraden van verschillende sporen afkomstig waren, dan wel of andere omstandigheden een rol speelden. Met *Phoma oleracea* SACC. en *Phoma apiicola* KLEBAHN werden niet zulke omvangrijke proeven genomen als met *Phoma betae* FRANK; het is echter gelukt van gedegenerende („zurückgegangene”) cultures het vermogen tot pycniden-vorming terug te winnen door ze te kweken in „rolcultures”. Alleen met *Phoma apiicola* KLEBAHN gelukte dat niet. Zij vonden, dat *Phoma betae* ook nog op een andere manier de verloren eigenschap kon herwinnen. Een suikerbiet werd geïnfecteerd met gedegenerend mycelium; in de biet zelf ontstonden geen pycniden, de groei der zwam was zeer matig. Na overenting van het uit de biet geïsoleerde mycelium op een voedingsbodem, werden nu spoedig daarop zeer veel pycniden gevormd. Uit deze

onderzoekingen van WESTERDIJK en VAN LUIJK volgt, dat de parasitaire *Phoma*-soorten (behalve *Ph. apiicola*) de eigenschap om pycniden te vormen behouden en ook terugkrijgen in rolcultures, terwijl deze eigenschap in de gewone plaatcultures spoedig verloren gaat. *Phoma betae* kan dit vermogen ook weer herwinnen door groei in de waardplant.

BURKHOLDER vraagt zich af of in het verloren gaan van infectievermogen tengevolge van het ontberen der waardplant een verklaring te vinden is voor het dikwijls waargenomen feit, dat bepaalde ziekten door vruchtwisseling tegengegaan worden, terwijl deze zelfde ziekten in hevigheid toenemen, wanneer voortdurend hetzelfde gewas verbouwd wordt. Over het algemeen neemt men thans aan, dat de vruchtwisseling bepaalde ziektekiemen zal doen uitsterven bij gebrek aan geschikte waardplanten. Men heeft echter geconstateerd, dat vele zwammen saprophytisch op grond kunnen leven gedurende een reeks van jaren, zoodat het zeer de vraag is of afwezigheid der waardplant den parasiet wel zal doen afsterven.

Het is meer dan eens gebleken, dat parasitische zwammen door groei op bepaalde voedingsbodems meer het karakter van saprophyten aannemen, terwijl, omgekeerd, zwammen met een meer saprophytisch karakter door herhaalde enting in planten sterkere parasitische neigingen verkregen. KILLIAN (1926) noemt hiervan enkele voorbeelden en wel de volgende:

KISSLING (1889) vond, dat de virulentie van *Botrytis cinerea* PERS. toeneemt wanneer de zwam gedurende eenige generaties in planten geënt wordt.

BEAUVERIE (1900) heeft verschillende rassen van *Botrytis cinerea* geïsoleerd, die meer of minder parasitair waren. Het gelukte hem de meer tot saprophytisme neigende rassen tot een krachtiger parasitisme te brengen door ze te kweken in een vochtige atmosfeer bij een temperatuur van 30 ° tot 37 ° C.; terwijl het infectievermogen toeneemt, vermindert de conidiën-vorming.

SMITH (1901) werkte ook met parasitische en saprophytische rassen van *Botrytis cinerea*. Hij vond echter in tegenstelling met BEAUVERIE, dat deze constant waren.

Botrytis parasitica CAVARA tast tulpen aan, door cultuur op kunstmatige voedingsbodem, doch kan, volgens een onderzoek van KLEBAHN een meer geprononceerd saprophytisch karakter krijgen.

LA RUE (1925) tracht een verklaring te vinden voor het verschijnsel van de veranderlijkheid der virulentie van sommige parasieten, die saprophytisch moeten leven. Het meest waarschijnlijk lijkt hem, dat de parasitische schimmels onder die omstandigheden saprophytische „mutanten” afsplitsen, die den parasiet overwoe-

keren en ten slotte alleen overblijven. Een dergelijke tot saprofiet geworden zwam zou haar infectievermogen terug kunnen krijgen, wanneer zij met haar waardplant in aanraking komt; dan zou een eventueel ontstane parasitiesche „mutant” weer de gelegenheid hebben den saprophytischen vorm te overwoekeren. LA RUE heeft zijn veronderstelling niet aan experimenten getoetst.

2. Onderzoek betreffende de degeneratie van den macro-vorm van *Phoma apicola*.

Gedurende het eerste jaar, waarin ik mijn onderzoekingen over *Phoma apicola* verrichtte, bemerkte ik, dat de kolonie van den macro-vorm, wanneer hij pas van de plant geïsoleerd en op een voedingsbodem overgebracht is, een grijsgroene kleur heeft en als een dikke vlok op 't substraat ligt. Kweekt men echter de zwam gedurende eenige maanden door myceliumoverenting voort op steriele voedingsbodems, dan gaat de kleur langzamerhand tot wit over. Naast het verlies van kleur treden ook nog andere verschijnselen op, die niet altijd hetzelfde zijn; meestal wordt de kolonie minder dik, doch zij breidt zich over een grootere oppervlakte van den agar uit. In een dergelijken gedegeneerden toestand reageert de macro-vorm niet meer met den micro-vorm. De groei wordt thans gestuit in de zone waar de ontmoeting plaats moest hebben; de twee kolonies, die vroeger met elkaar samenwerkten, stooten thans elkaar af.

Dit bracht mij ertoe bij *Phoma apicola* KLEBAHN een onderzoek in te stellen naar den invloed eener saprophytische levenswijze op de pycnide-vorming. Ik vergeleek tot dit doel een Venloschen macro-vorm, die acht maanden door myceliumoverenting op agar-voedingsbodems voortgekweekt was, met een kolonie afkomstig van dezelfde ééns pore-cultuur doch die twee maanden geleden opnieuw uit sporen geïsoleerd was van een plant, welke met deze zwam kunstmatig was geïnfecteerd. De cultures entte ik ieder in een zevental buizen, waarin een rolletje filtreerpapier stond, gedrenkt in aftreksel van afgestorven selderijbladeren. Na een veertiental dagen was er tusschen die twee cultures een in het oog loopend verschil te zien. De in het laboratorium bewaarde zwam had een grijsachtig wit mycelium gevormd. Dit was niet vlokkig, doch samengevallen op het substraat. De cultuur, die kort geleden in een plant geïsoleerd had, had zich flink ontwikkeld tot een dikke, wollige kolonie, de kleur was grijsgroen. Na een maand trad een nog duidelijker verschil aan 't licht. De van de plant opnieuw geïsoleerde cultuur

was toen in alle buizen rijk aan pycniden, terwijl de bewaarde cultuur in geen der buizen pycniden gevormd had, zelfs niet na twee maanden.

Uit deze proef blijkt, dat de macro-vorm de eigenschap van pycnide-vorming door een langdurigen groei op minder gunstige voedingsbodems kan verliezen en dat deze eigenschap door verblijf in de waardplant weer teruggewonnen kan worden.

Het was mij opgevallen, dat kolonies van den macro-vorm, die ontstaan waren uit sporen der conjunctpycniden een dikker en meer wollig uiterlijk hebben dan de kolonies, die door myceliumoverenting langen tijd voortgekweekt waren. Ik kwam daardoor op de gedachte te onderzoeken of de vorming dezer pycniden wellicht een dergelijken gunstigen invloed zou hebben op den macro-vorm als passage door de waardplant.

Om dit na te gaan vergeleek ik twee cultures van den Maastrichtschen macro-vorm, die beide van eenzelfde éénspre culture afkomstig waren; de eene cultuur (aangeduid met Ms. 1) was gedurende 10 maanden alleen door overenting van mycelium vermeerderd; de andere was 2 à 3 maanden geleden op nieuw geïsoleerd uit een pycnospre eener conjunctpycnide, ontstaan uit de bovengenoemde Ms. 1 cultuur en een kolonie van den Maastrichtschen micro-vorm. De nieuwe cultuur is aangeduid met Ms. 1 (7—8). Deze twee cultures werden ieder geënt in zeven cultuurbuizen op filtreerpapier, gedrenkt in bladaftreksel; daarnaast ook ieder in 7 buizen met gesteriliseerde selderijbladstelen. Beide partijen werden in 't donker geplaatst. Na eenigen tijd bleek, dat er tusschen den groei der twee cultures op bladaftreksel geen verschil te zien was, de kleur van het mycelium van beide partijen was wit en in geen der beide partijen trad pycnide-vorming op.

In de buizen met selderijbladstelen was er echter wel degelijk een groot verschil te zien; de oorspronkelijke cultuur der Ms. 1 had daarop geen pycniden gevormd, de Ms. 1 (7—8) echter betrekkelijk veel. Uit dit laatste blijkt, dat ook tengevolge van de vorming eener conjunctpycnide regeneratie optreedt. Voor het feit, dat dit in de cultures op bladaftreksel niet tot uiting komt, zijn twee verklaringen mogelijk; of conjunctpycnide-vorming heeft een minder sterk regenererend vermogen dan passage door de waardplant, of wel de regeneratie is weer gedeeltelijk verloren gegaan door den groei als mycelium op voedingsagar gedurende 2 à 3 maanden.

Om deze waarnemingen nog eens nader te controleeren en uit te breiden, werd een proef op een eenigszins grootere schaal genomen.

In het voorgaande zijn vier voedingsbodems genoemd, waarop de macro-vorm pycniden doet ontstaan, doch zij zijn niet alle even bevorderlijk voor dit proces. Een macro-vorm, die eenigen tijd op een agarvoedingsbodem gegroeid is, kan b.v. op Coons' oplossing nog pycniden vormen, terwijl hij dat niet meer doet op bladaftreksel. Verder maakte ik gebruik van de omstandigheid, dat in mijn bezit waren drie subcultures der Ms. 1, die op verschillende na elkaar gelegen tijden met den Maastrichtschen micro-vorm conjunctpycniden gevormd hadden. Dit was op de volgende wijze gebeurd.

De Ms. 1, die ik bij het begin van dit onderzoek als macro-vorm geïsoleerd had, was gedurende 7 of 8 maanden uitsluitend door myceliumoverenting op agarvoedingsbodems voortgekweekt. Deze cultuur vormde toen met den Maastrichtschen micro-vorm een conjunctpycnide. Uit de pycnosporen werd de macro-vorm opnieuw geïsoleerd en aangeduid met Ms. 1 (7—8); 2 of 3 maanden daarna vormde deze cultuur opnieuw conjunctpycniden, waaruit de cultuur Ms. 1 (10) werd geïsoleerd. Twee maanden later werd op dezelfde manier de Ms. 1 (12) geïsoleerd. Deze 4 cultures werden nu uitgezet in een aantal petrischalen met selderij-agar. Om zooveel mogelijk gelijkwaardig mycelium te hebben, gebruikte ik voor de hieronder te beschrijven proef myceliumstukjes, die even ver van de entplaats verwijderd waren, dus van den omtrek van de ronde kolonies. Om voldoende entmateriaal te hebben, moest ik de kolonies vrij groot laten worden, waarvoor zij ongeveer een maand op dezen voedingsbodem moesten groeien. De groei had plaats bij 20° C.

Na die maand was er een duidelijk verschil in habitus te zien. De Ms. 1 vertoonde een uitgestrekte vlakke kolonie, die de geheele oppervlakte der petrischaal bedekte; er was niet veel vlokkig luchtmycelium aanwezig; de kleur der kolonie was vuilwit; er waren geen pycniden gevormd. De kolonie der Ms. 1 (12) was kleiner dan de vorige, de groei was meer compact en er was veel wollig luchtmycelium aanwezig; de kleur was grijs; er waren ook hier geen pycniden gevormd. De kolonies der twee overige cultures vertoonden min of meer duidelijke overgangen tusschen deze twee uitersten.

Deze vier cultures werden geënt op vier verschillende voedingsbodems: Coons' oplossing, selderij-bladsteel, bladaftreksel en knolselderij. Van iederen voedingsbodem waren telkens zes cultuurbuizen aanwezig. Het aantal der op deze voedingsbodems gevormde pycniden werd op bepaalde tijden geschat. Het cijfer 6 werd gegeven, wanneer er zeer veel pycniden aanwezig waren, het cijfer 1, wanneer er maar enkele aanwezig waren; de daartus-

schen liggende cijfers dienden voor de verschillende overgangen. De cultuurbuizen werden afzonderlijk beoordeeld. In tabel II beteekent dus 2×6 , 3×5 , 1×0 , dat er in twee buizen zeer veel, in drie veel en in één geen pycniden aanwezig waren.

Deze geheele partij cultuurbuizen werd onder zooveel mogelijk gelijke omstandigheden gehouden bij een temperatuur, die wisselde van 17° tot 20° C. De belichting zal misschien niet voor alle buizen precies dezelfde geweest zijn, het is mogelijk dat de eene iets minder in het licht gestaan heeft dan de andere.

Door nevenstaande tabel werd de uitslag der vroegere proef bevestigd. Er blijkt duidelijk uit, dat de macro-vorm door een langdurigen groei op voedingsagar de eigenschap verliest om op een bepaald medium pycniden te vormen. Deze degeneratie komt spoediger tot uiting op den eenen dan op den anderen voedingsbodem. Tevens volgt er uit, dat de verloren gegane eigenschap weer teruggewonnen kan worden door den macro-vorm opnieuw te isoleeren uit een spore van een conjunctpycnide. Dit is echter niet altijd door te voeren, daar al te ver gedegenerieerd mycelium geen conjunctpycniden meer vormt met zijn partner.

Beschouwt men in de tabel de cijfers van cultuur Ms. 1 (12) op Coons' oplossing, dan valt het op, dat in drie der buizen langzamer pycniden gevormd werden, dan eigenlijk het geval zou moeten zijn. Dit kan niet liggen aan een niet juiste samenstelling van den voedingsbodem of aan ongunstige omstandigheden; op dit laatste lette ik na de eerste 14 dagen nauwkeurig. Wat er de oorzaak van geweest is, heb ik niet kunnen ontdekken.

Uit dit onderzoek kan het volgende worden geconcludeerd: Degeneratie van den macro-vorm, welke zich uit in abnormale myceliumgroei en in het verlies van het vermogen tot pycnidevorming, kon worden voorkomen door de zwam voort te kweken uit pycnosporen, hetzij dat deze zich hebben gevormd op de levende plant, hetzij dat zij op doode substraten in conjunctpycniden zijn ontstaan. Dat degeneratie zich ook kan uiten in verlies van pathogene eigenschappen werd reeds bij de beschrijving der infectieproeven in het eerste deel vermeld.

TABEL II. PYCNIDE-VORMING DER CULTUUR MS 1 EN DRIE HARER SUBCULTURES, DIE NIET, ZOALS DE MS. 1, ALLEEN DOOR MYCELIUMOVERENTING DOCH OP DRIE VERSCHILLENDE NA ELKAAR GELEGEN TIJDSTIPPEN ALS SPOREN UIT EEN CONJUNCTPYCNIDE GEÏSOLEERD WAREN.

Aantal dagen na enting:														Aantal dagen na enting:													
Ms 1							Ms 1 (7-8)							Ms 1 (10)							Ms 1 (12)						
14	21	28	35	56	77	14	21	28	35	56	77	14	21	28	35	56	77	14	21	28	35	56	77				
Voedingsbodems																											
Coons' oplossing	6×0	2×2	3×2	3×2	3×3	5×1	1×1	2×4	2×4	1×5	1×5	3×5	6×6	6×6	6×6	6×6	6×6	3×6	3×6	3×6	3×6	3×6	4×6	4×6			
	4×0	3×0	3×0	2×1	2×4	5×0	3×2	3×2	2×4	3×4	3×4							3×0	3×0	3×0	1×3	2×0	2×5				
				1×0	1×0		1×0	1×0	3×2	2×3												2×0					
Selderij-stengel	6×0	6×0	2×1	2×1	2×2	1×4	1×1	1×6	1×5	2×5	2×5	3×5	3×1	2×5	5×5	5×5	2×6	3×5	3×6	5×6	5×6	5×6	5×6				
	4×0	4×0	1×1	1×3	5×0	1×4	2×4	2×4	1×4	1×4	1×4	3×0	3×3	1×0	1×0	1×0	3×5	2×1	2×5	1×2	1×2	1×2	1×2				
				3×0	1×2		4×0	3×0	3×0	3×0	3×0		1×0				1×0	1×0	1×0								
					3×0																						
Selderij-bladafreksel	6×0	6×0	6×0	6×0	6×0	6×0	6×0	3×1	3×2	3×2	3×3	4×3	6×0	3×1	3×2	3×2	3×4	6×0	6×1	6×2	6×2	6×4	6×4				
Selderij-knol	6×0	6×0	6×0	6×0	1×1	1×4	6×0	6×0	6×0	1×1	1×3	2×4	6×0	6×0	6×0	1×1	2×2	1×3	6×0	2×1	2×1	2×1	5×3	1×4			
					5×0	1×3				5×0	1×2	1×3				5×0	4×0	3×2	4×0	4×0	4×0	1×0	4×3				
					4×1						4×0	3×1					2×0						1×0				
Voedingsbodems	14	21	28	35	56	77	14	21	28	35	56	77	14	21	28	35	56	77	14	21	28	35	56	77			
Coons' oplossing		4	6	6	11	23	1	14	14	19	23	27	36	36	36	36	36	18	18	18	21	24	34				
Selderij-stengel			2	2	4	9	1	10	13	14	14	14	3	19	25	25	27	17	28	32	32	32	32				
Selderij-bladafreksel									3	6	9	14		3	6	6	14		6	12	12	24	24				
Selderij-knol					1	11					1	5	14			1	4	9	2	2	2	15	16				

SUMMARY

INVESTIGATIONS ON THE „ROOT-ROT” OF TURNIP-ROOTED CELERY (CELERIAC) CAUSED BY PHOMA APIICOLA KLEBAHN, AND ON LOCAL STRAINS AND SYNERGETIC FORMS OF THIS FUNGUS.

1. *Phoma apiicola* KLEBAHN causes much injury to turnip-rooted celery (celeriac) plants in Holland.
2. A second species of *Phoma* was isolated from celeriac seed. It resembles *Phoma apiicola* KLEBAHN, except in the size of its spores and in its non-pathogenicity. The spores of this as yet undetermined species are larger and it does not cause infection of the plant.
3. Many samples of seed were examined, but once only on a seed a pycnidium of *Phoma apiicola* KLEBAHN was found. It is expected that, though extremely rare, the pathogene may be present on seed.
4. Two strains of *Phoma apiicola* were obtained; one from celeriac roots and the basal parts of the petioles of plants growing on sandy soil, rich in organic substances, near Venlo; the other from roots and the basal parts of petioles of plants growing on clay soil near Maastricht.
5. Both strains, when cultivated directly from the plants, grew well on filterpaper in COONS' nutritive solution.
6. Mycelial cultures from both these strains produced pycnidia on sterilized celeriac roots and sterilized crushed petioles of celeriac plants.
7. When pycnospores of these two strains were transferred from sterilized celeriac roots to COONS' liquid medium, the Maastricht strain grew well, whereas the Venlo strain did not show any development.
8. When spores from the pycnidia formed on sterilized celeriac roots were sown on agar media two types of individuals were obtained: one resembling the original form with much mycelial growth, the other producing abundant pycnidia.
9. The pycnidia of the new form were smaller in size, and the name *Phoma apiicola* KLEBAHN *micro-forma* is applied to it to distinguish it from the usual form which is now called *Phoma apiicola* KLEBAHN *macro-forma*.
10. Both of the strains, from Venlo and Maastricht respectively, produced the two different forms. The micro- and the macro-form of the Venlo strain did not grow on filter paper in the liquid medium of COONS; the two Maastricht forms grew well on it.
11. On COONS' solution solidified by agar the two forms of both strains grew fairly well. On this medium a difference in cultural habit and colour, between the macro-form of Venlo and that of Maastricht was observed, and also between the micro-form of Venlo and that of Maastricht (Plate XVIII, fig. 6 a. 7).
12. When the micro-form is transferred at room-temperature to sterilized

petioles pycnidia are formed soon; when pycnospores obtained from them were grown on agar media the micro-form was reproduced only, thus proving it to be constant under these circumstances. On keeping the cultures between 0—5° C., however, pycnidial formation was slow. Spores from the pycnidia formed between these temperatures, when transferred to agar media produced individuals of both forms; hence the micro-form under these conditions had reverted partially to the macro-form.

13. The micro- and macro-form when grown together produce abundant pycnidia at the line of contact of their mycelia. These pycnidia are twice as large as those of the micro-form, though they do not differ much in size from those of the macro-form. They are here called „conjunctpycnidia”. (Plate XVII, fig. 4 a. 5.)
14. Conjunctpycnidia contain spores of both the micro- and macro-form; but the spores of the latter are more numerous than those of the former.
15. Both of the local strains and the micro- and macro-forms of them are able to attack the roots and the basal parts of the petioles of celeriac.
16. The Venlo micro- and macro-forms formed conjunctpycnidia with the Maastricht macro- and micro-forms. On sowing spores from such conjunctpycnidia, the respective forms used, were segregated retaining their cultural characteristics. No possibility of sexuality was seen in the formation of these conjunctpycnidia and the term „heterothallic” forms was therefore avoided. These forms are called „synergetic” and the conjunctpycnidia are considered to be chimeras.
17. Under ordinary conditions both of the strains and their two forms do not attack the laminae of the leaves; but under humid conditions the micro-forms attack them severely, whilst the macro-forms scarcely attack them at all. (Plate XVIII, fig. 8.)
18. Of the twenty varieties of celeriac tested two showed greater resistance under greenhouse conditions, and also under field conditions. The two varieties are larger and grow rapidly.
19. The macro-form loses its virulence and power of pycnidial formation if continuously grown from mycelium on agar media; also the mode of growth and the colour of the mycelium is altered.
20. If, however it is cultivated occasionally on the living plant or with the micro-form and recultivated from the spores of the resulting conjunctpycnidia, it does not degenerate.