

NEDERLANDSE
PLANTENZIEKTENKUNDIGE (PHYTOPATHOLOGISCHE) VERENIGING
TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

Onder redactie van Prof. Dr W. K. J. ROEPKE; Mej. H. L. G. DE BRUYN;
Dr J. A. A. M. H. GOOSSENS; Ir P. HUS en Dr A. J. P. OORT

Redactie-adres: Lab. voor Mycologie en Aardappelonderzoek, Wageningen
Drukkers-Uitgevers: H. Veenman en Zonen - Wageningen

53e JAARGANG (1947)

5e AFLEVERING

SEPTEMBER-OCTOBER

ONDERZOEK

NAAR DE AFSTERVINGSTEMPERATUREN VAN ENKELE VOOR DE
PLANTENGROEI SCHADELIJKE BODEM-ORGANISMEN ¹⁾

*With a summary: Investigations of the death-temperatures of some soil organisms
injurious to plant growth*

DOOR

IR IJ. VAN KOOT en DRs G. WIERTZ

Proeftuin Z.H. Glasdistrict, Naaldwijk

INLEIDING

Het is bekend, dat vele, zowel plantaardige als dierlijke, organismen, die ziekten of beschadigingen bij onze gewassen veroorzaken, in de grond kunnen overblijven en de plant van daaruit kunnen aantasten. In de tuinbouw wordt bij de zeer intensieve cultuur onder glas vaak getracht de grond te ontsmetten door deze te stomen. Het doel van ons onderzoek was, vast te stellen, tot welke temperatuur de grond daarbij verhit moet worden om er zeker van te zijn, dat alle schadelijke organismen gedood worden. Er is dus niet naar gestreefd nauwkeurig de afstervingscurve van elk dezer organismen te bepalen. Het was voor ons voldoende om te weten te komen, bij welke temperatuur een bepaalde parasiet beslist voor 100% gedood wordt. Deze temperatuur is slechts op grove wijze bepaald (hoogstens tot op 2,5° C nauwkeurig).

Er werd daarentegen veel aandacht besteed aan de invloed, welke de duur van verhitting uitoefent op de afstervings temperatuur. De verwarming van de grond tengevolge van het stomen is nl. vaak zeer ongelijkmatig, in het bijzonder wanneer de grond tijdens het stomen in een slechte structuurtoestand verkeert, of wanneer enkele gaatjes in de buizen van het stoomrek verstopt zijn. De grond moet daarom steeds gedurende enige tijd na het stomen goed afgedekt blijven (b.v. met planken, stro of turfmolm). Op deze wijze blijft de grond langer op temperatuur en krijgt de warmte gelegenheid zich gelijkmatig door de grond te verspreiden. In dit verband interesseerde het ons, in hoeverre door een langdurige verhitting de verschillende schadelijke organismen gemakkelijker tot afsterving gebracht kunnen worden. Dit zou dan een reden te meer zijn om de grond na het stomen enige tijd afgedekt te houden.

Uit de literatuur zijn reeds vrij veel gegevens bekend over de afstervingsstempe-

¹⁾ Ontvangen voor publicatie Juli '47.

raturen van de voornaamste in de grond overblijvende plantenparasieten. Een uitvoerig overzicht hiervan treft men aan bij NEWHALL (7). Betreffende het verband tussen de letale temperatuur en de duur van verhitting zijn de gegevens echter slechts schaars. Alleen bij het wortelaaltje van de tomaat, *Heterodera marioni* (CORNU) GOODEY, is dit verband reeds nauwkeurig voor elk ontwikkelingsstadium afzonderlijk vastgesteld (o.a. door HOSHINO en GODFREY (3)).

Betreffende de afstervings temperatuur van *Fusarium*, *Verticillium* en *Sclerotinia* was onze kennis tot nu toe slechts fragmentarisch en had bovendien vaak betrekking op soorten of stammen, die voor de tuinbouw in het Westland van weinig of geen betekenis zijn (NEWHALL, 7). Over de afstervings temperatuur van de koperworm (larven van *Agriotes* sp.) was feitelijk nog in het geheel niets bekend.

BEPALING VAN DE AFSTERVINGSTEMPERATUUR VAN *FUSARIUM*

Onderzocht werden de *Fusaria*, die in staat zijn verwelking te veroorzaken bij komkommer en meloen. Dit zijn de volgende *Fusaria*:

Fusarium angustum SHERB.,

Fusarium solani (MART.) APP. et WR. var. *Martii* (APP. et WR.) WR.,

Fusarium orthoceras APP. et WR. en

Fusarium orthoceras APP. et WR. var. *longius* WR.

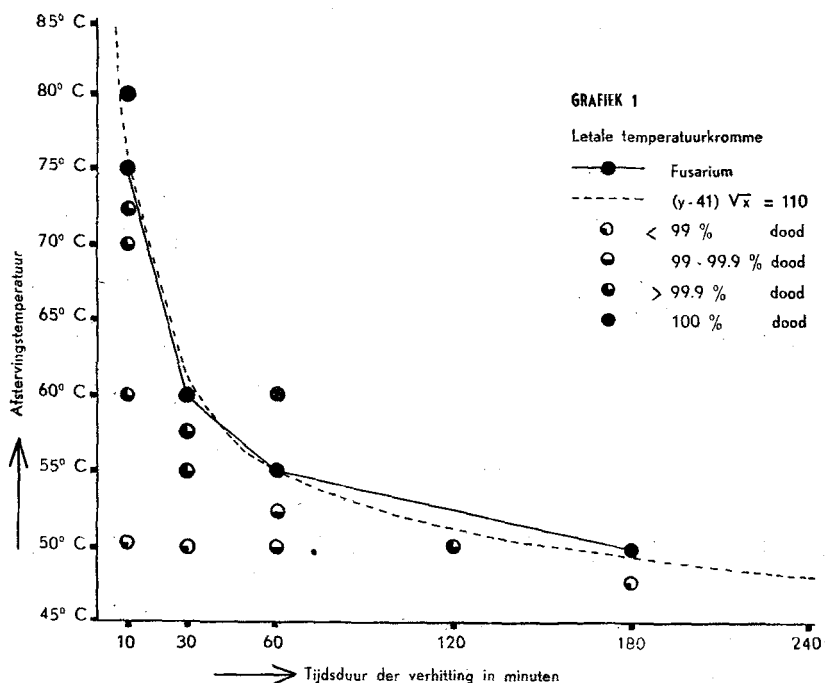
Daar onze interesse in hoofdzaak uitging naar de temperatuur, waarbij alle *Fusarium*kiemen gedood worden, werden van deze schimmels geen afzonderlijke afstervings temperaturen bepaald, doch werd telkens een mengsel van alle bovengenoemde *Fusaria* beproefd.

De *Fusaria* werden voortgekweekt op buizen met gestoomde rijst. Bij elke proefneming werd met steriel gedestilleerd water van alle stammen een sporensuspensie gemaakt (voor elke stam van 1 buis) en deze sporensuspensies samengevoegd en goed gemengd. Hiervan werden gelijke hoeveelheden in een serie reageerbuisen gebracht, die vervolgens gedurende verschillende tijden tot temperaturen van 47,5-75° C verhit werden. Steeds bleef 1 contrôlebuis onverhit om de aanvangsconcentratie van de *Fusarium*kiemen vast te kunnen stellen.

De buizen werden gedurende de verhitting afgesloten met een wattenprop. De verhitting had plaats in een waterbad, waarvan de temperatuur geregeld kon worden. Tijdens de verhitting werden de buizen zover ondergedompeld, dat de gehele inhoud zich beneden het waterniveau van het waterbad bevond. Er werd verhit gedurende 10, 30, 60, 180 en een enkele maal ook 120 minuten. Daar de inhoud van de buis niet onmiddellijk de temperatuur van het waterbad aanneemt, werd bij de verhitting gedurende 10 minuten de buis 1 minuut langer ondergedompeld. Nadat de tijdsduur van verhitting verstreken was, werden de buizen steeds onmiddellijk overgebracht in een bak met koud water en aldus snel afgekoeld.

Om het aantal levensvatbare *Fusarium*kiemen na de verhitting vast te stellen, werden van de sporensuspensie de verdunningen 1 : 100 en 1 : 10.000 bereid. Zowel van deze beide verdunningen, als van de onverdunde sporensuspensie werd telkens 1 cc in een aantal schalen met kersenagar overgebracht (meestal 3 voor elke verdunning). Na 2 dagen werd het aantal *Fusarium*koloniën geteld, dat zich op de platen ontwikkeld had. Door vergelijking met het aantal koloniën op de contrôleschalen kon berekend worden, welk percentage van de *Fusarium*kiemen de verhitting had overleefd.

Aanvankelijk werden proeven genomen bij temperatuursintervallen van 10° C. Nadat aldus ongeveer het afstervingsverloop van *Fusarium* bepaald was, werden bij de kritische temperaturen eerst de tussenliggende intervallen van 5° C en vervolgens van 2,5° C onderzocht. Daarmede was de afstervingscurve voor ons doel met ruim voldoende nauwkeurigheid vastgesteld.



In grafiek 1 is de afstervingstemperatuur uitgezet tegenover de tijdsduur van verhitting. De curve, die het verband tussen deze beide grootheden weergeeft, staat hierop aangegeven. Bovendien zijn alle resultaten van de verhittingsproeven op overzichtelijke wijze op deze grafiek aangetekend.

Nu op deze wijze de afstervingstemperatuur van *Fusarium* in waterig milieu vastgesteld was, deed zich de vraag voor of deze resultaten eveneens geldig zouden zijn bij verhitting van de grond door deze te stomen. Bij het stomen zal natuurlijk een betrekkelijk vochtig milieu verkregen worden. Om meer zekerheid over dit punt te verkrijgen, werden nog een aantal verhittingen uitgevoerd, waarbij de sporensuspensie gebracht was in grond, die voor 75 % met water verzadigd was. Van deze grond werd 5 gram per reageerbuis gebruikt. Alvorens de sporensuspensie werd toegevoegd, werd de grond goed gesteriliseerd. Daar deze proefopzet veel bewerkelijker is, werd alleen verhit tot die temperaturen, waarbij in waterig milieu juist een volledige afstervings plaats heeft. In al deze gevallen bleek ook in vochtige grond de afstervings volkomen te zijn.

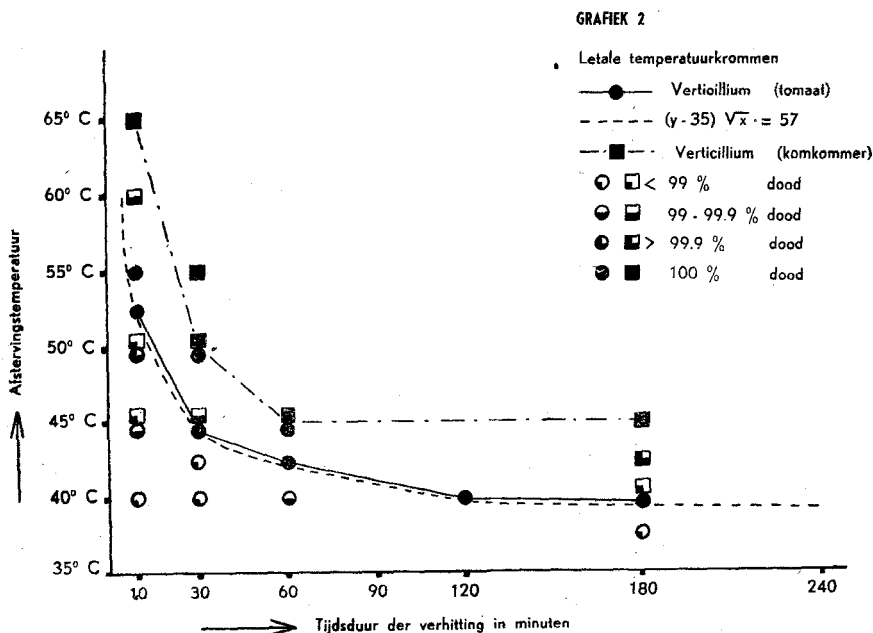
Dergelijke proeven zijn ook genomen in extreem zure grond (pH 4,2) en in extreem alcalische grond (pH 8,4). Hieruit bleek dat de *Fusarium* in een dergelijk milieu reeds bij een enkele graden lagere temperatuur afsterft dan in zuiver water. Dit was in het bijzonder het geval in de zure grond.

Uit grafiek 1 blijkt, dat de afstervingstemperatuur van *Fusarium* in sterke mate afhankelijk is van de duur van verhitting. Bij langdurige verhitting wordt bij een veel lagere temperatuur een algehele doding verkregen. Een verhitting langer dan 3 uur heeft echter weinig effect meer op de letale temperatuur. De letale temperatuur-kromme gaat dan vrijwel evenwijdig van de x-as lopen. Uit dit oogpunt bezien heeft een afdekking van de grond langer dan 3 uur na het stomen weinig zin. Zoals uit het volgende zal blijken, geldt dit evenzeer voor de andere in de grond overblijvende plantenparasieten.

BEPALING VAN DE AFSTERVINGSTEMPERatuur VAN VERTICILLIUM

Onderzocht werd *Verticillium Dahliae* KLEB., een schimmel, die de slaapziekte bij de tomaat veroorzaakt. Deze werd voortgekweekt op aardappelagar in buizen. Bij elke proefneming werd op een dergelijke wijze als bij *Fusarium* een sporensuspensie bereid.

Het onderzoek geschiedde behoudens de hierna genoemde punten, op volkomen dezelfde wijze als bij *Fusarium*. De proeven hadden echter in 't algemeen bij een lagere temperatuur plaats (variërend van 37,5–60° C). De concentratie van het aantal in leven gebleven kiemen werd bepaald in schalen met aardappelagar i.p.v. kersenagar. De *Verticillium* ontwikkelt zich hierop beter. De controle had plaats na 3 in plaats van 2 dagen in verband met de langzamer groei van *Verticillium*.



In grafiek 2 is de afstervingstemperatuur uitgezet tegenover de duur van verhitting. De curve, die het verband tussen deze beide grootheden weergeeft, staat hierop aangegeven. Bovendien zijn alle resultaten van de verhittingsproeven op deze grafiek aangetekend.

De hier beproefde *Verticillium* werd meermalen geïsoleerd uit slaapzieke tomatenplanten. Ook uit zieke komkommerplanten werden verscheidene isolaties gemaakt. Daarbij werd echter steeds een *Verticillium* aangetroffen, die morfologisch vrij sterk afweek van de uit de tomatenplanten geïsoleerde stam. Zo vormt laatstgenoemde micro-sclerotia, hetgeen de *Verticillium* van de komkommer niet doet. Deze vormt daarentegen veel meer sporen en op bepaalde voedingsbodems (havermout- en aardappelagar) een geelgroene kleurstof. Dit is ook vastgesteld op het Centraal Bureau voor Schimmelcultures in Baarn, waar beide typen gedetermineerd werden als verschillende stammen van *Verticillium Dahliae*.

Het is nu gebleken, dat er tevens een aanzienlijk verschil in afstervingstemperatuur tussen beide *Verticillium*-stammen bestaat. Merkwaardig is, dat de komkommerstam aanmerkelijk hogere temperaturen kan verdragen, dan de tomatenstam. Dit stemt goed overeen met de temperatuureisen, die deze beide gewassen stellen: de komkommer wordt in 't algemeen bij hogere temperatuur gekweekt dan de tomaat. Uit de Engelse literatuur (WILLIAMS, 12) is bekend, dat alleen op de tomaat al verschillende *Verticillium*-stammen voor kunnen komen, die niet alle dezelfde temperatuursbehoefte bezitten. Afstervingscurven zijn daar echter niet bepaald.

De afstervingstemperatuur van de komkommerstam is niet zo volledig onderzocht als bij de tomatenstam. Ook deze cijfers zijn uitgezet in grafiek 2, evenals de hieruit afgeleide letale temperatuur kromme.

De zeer lage afstervingstemperatuur van de tomatenstam opent de mogelijkheid tot zaadontsmetting door middel van warmwaterbehandeling. Weliswaar wordt de overgang van de *Verticillium*-schimmel met het zaad vaak betwijfeld, doch deze overgang is reeds door KADOW (4) in 1934 bij tomaat en aubergine aangetoond en later door OSMUN (8) bij aubergine. Ook uit in Naaldwijk genomen proeven bleek, dat *Verticillium* bij aubergine met het zaad kan overgaan. Anderzijds moet men er wel rekening mee houden, dat in de praktijk veelal de grond de belangrijkste besmettingsbron is, waarbij de ziekte vooral op gronden met slechte structuur sterk tot uiting komt.

Bovengenoemde personen wezen reeds op de mogelijkheid tot zaad-ontsmetting door een warmwaterbehandeling gedurende 20-30 minuten bij 49-52° C. Er zijn daarom enkele kiemkrachtbepalingen gedaan bij tomaten- en auberginezaad, dat op verschillende wijze in water verhit werd. De resultaten waren als volgt:

	tomaat		aubergine	
	kiemenergie	kiemkracht	kiemenergie	kiemkracht
contrôle	89 %	96 %	0 %	34 %
20 minuten 48° C	82 %	89 %	0 %	44 %
20 minuten 50° C	78 %	89 %	0 %	36 %
20 minuten 52° C	91 %	99 %	0 %	26 %
1 uur 45° C	76 %	93 %	0 %	28 %
1 uur 48° C	90 %	92 %	0 %	26 %

Bij een andere proef, waarbij enkel tomatenzaad betrokken was, waren de resultaten als volgt:

	kiemenergie	kiemkracht
contrôle	60 %	95 %
30 minuten 50° C	75 %	99 %
30 minuten 52° C	75 %	99 %
1 uur 48° C	49 %	87 %
1 uur 50° C	45 %	92 %

Uit deze cijfers blijkt, dat door de verhitting de kieming eerder gestimuleerd dan benadeeld wordt. De kortstondige verhitting (niet langer dan een half uur) geeft in dit opzicht echter de beste resultaten. Bij verhitting gedurende 1 uur daalt de kiemenergie enigszins. Een verhitting gedurende 20 à 30 minuten tot 52° C, geeft bij tomaat de hoogste cijfers voor kiemenergie en kiemkracht te zien. Bij de aubergine werden de hoogste kiemkrachtcijfers bij wat lagere temperatuur verkregen (48 à 50° C). Dit zaad had echter een zeer slechte kiemkracht en was dus van zeer slechte kwaliteit. Wellicht was het daardoor ook wat minder goed bestand tegen verhitting. Waar de schimmel reeds gedood wordt door een verhitting gedurende 30 minuten bij 45° C bestaat er dus een zeer grote marge tussen de afstervings temperatuur van de *Verticillium*schimmel van de tomaat en de temperatuur, waarbij kiembeschadiging optreedt bij tomaten- en auberginezaad. Een warmwaterbehandeling kan dus zonder enig risico toegepast worden.

BEPALING VAN DE AFSTERVINGSTEMPERATUUR VAN *SCLEROTINIA*

Onderzocht werd *Sclerotinia Libertiana* Fuck., die het wortelrot bij witlof veroorzaakt. In hoeverre deze schimmel identiek is met de *Sclerotinia*-schimmels, waardoor tal van andere tuinbouwgewassen, zoals komkommer, meloen, tomaat, bonen en sla aangetast worden, is nog niet met volkomen zekerheid bekend. Aangenomen werd, dat de op deze gewassen gevormde sclerotieën de meest warmtebestendige uitingvorm van deze schimmel zijn. In elk geval is het de belangrijkste vorm, waarin de schimmel in de grond overwintert. Alleen de sclerotieën werden dan ook aan de verhittingsproeven onderworpen. Waar op alle bovengenoemde tuinbouwgewassen overeenkomstige sclerotieën gevormd worden, is de kans niet groot, dat er belangrijke verschillen in temperatuur-gevoeligheid bestaan tussen deze *Sclerotinia*-schimmels. Er werd gewerkt met witlof-sclerotieën, omdat op de witlofwortels zulke bijzonder grote sclerotieën gevormd worden. Vermoed werd, dat deze eventueel de grootste warmteresistentie zouden bezitten.

Het bleek echter niet mogelijk deze proeven met in de natuur verzamelde sclerotieën uit te voeren. Tengevolge van de verhitting werd de uitgroeiing van de sclerotieën nl. vaak vertraagd. Zij werden dan overwoekerd door bacteriën en andere schimmels. Een goede controle was alleen mogelijk wanneer met steriele sclerotieën gewerkt werd. Ontsmetting van op de plant gegroeide sclerotieën bleek niet goed mogelijk. Dit gelukte wel met sclerotieën, die op een agar-voedingsbodem gegroeid waren. De hierop gevormde sclerotieën hadden echter een minder grote afmeting.

De sclerotieën werden gekweekt op schalen met kersenagar (later met veenbessenagar). Bij elke proefneming werden 15 of 20 van de grootste sclerotieën verhit in 3 of 4 reageerbuizen met water. De sclerotieën uit elke buis (5 stuks)

werden tezamen overgebracht op een schaal met kersenagar (later met veenbessenagar).

Het was niet mogelijk om betrouwbare percentage-cijfers van de mortaliteit te verkrijgen. Tengevolge van de verhitting werd het uitgroeien van de sclerotiën meer of minder vertraagd. Het ene sclerotium groeide daarbij veel sneller uit dan het andere, zodat zij elkaar soms overgroeiden, waardoor niet altijd met zekerheid vastgesteld kon worden, hoeveel sclerotiën op een schaal nog levenskrachtig waren. De meer of mindere beschadiging kwam echter duidelijk tot uiting in de vertraging van de uitgroeiing. De schalen werden daarom gedurende enige weken bewaard, daar soms na geruime tijd nog uitgroeiing plaats had. De resultaten waren als volgt:

Temp. in °C	Duur van de verhitting in min.	Uitgroeiing	Temp. in °C	Duur van de verhitting in min.	Uitgroeiing
40	30	normaal	50	10	vertraagd
40	60	normaal	50	30	vertraagd
40	180	normaal	50	60	geen
42,5	180	vertraagd	52,5	30	geen
45	10	normaal	55	10	vertraagd
45	60	vertraagd	55	30	geen
45	180	geen	57,5	10	vertraagd
47,5	60	vertraagd	60	10	geen

Met het doel de uitgroeiing van de sclerotiën te versnellen zijn nog verschillende proeven genomen, waarbij uit de verhitte sclerotiën zo steriel mogelijk een coupe werd gesneden, die uitgelegd werd op veenbessenagar. Aldus is het ons één maal gelukt om een sclerotium, dat gedurende 10 minuten tot 60°C verhit was, te doen uitgroeien. Het is overigens twijfelachtig, of in het binnenste van grote sclerotiën bij een dergelijke kortstondige verhitting wel dezelfde temperatuur geheerst heeft als in de meer aan de buitenzijde gelegen delen.

In grafiek 3 is de afstervings temperatuur uitgezet tegenover de duur van verhitting. De curve, die het verband tussen beide grootheden weergeeft, is eveneens getekend. Bovendien is aangegeven, bij welke temperaturen beschadiging van de sclerotiën (groeiremming) opgetreden is.

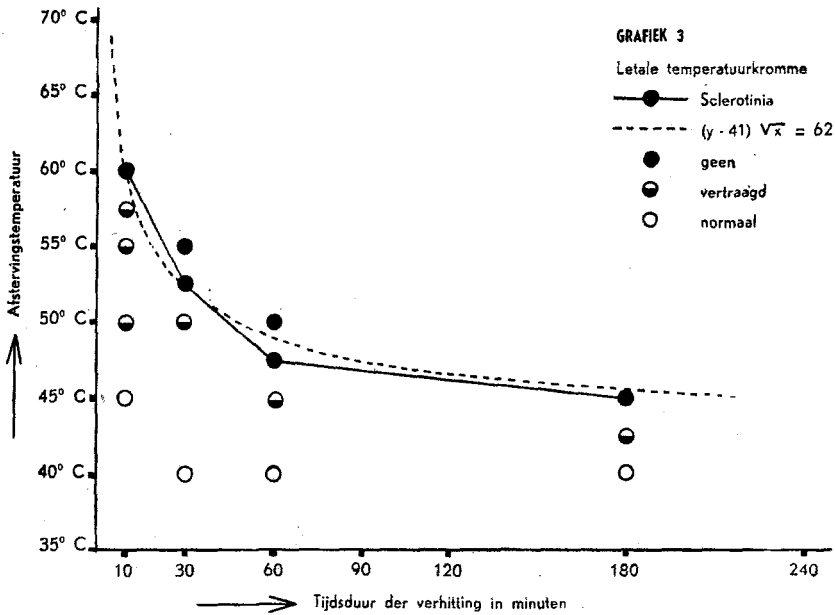
BEPALING VAN DE AFSTERVINGSTEMPERatuur VAN RITNAALDEN OF KOPERWORMEN

Voor deze proef werden koperwormen gebruikt van verschillende vindplaatsen, die reeds enige maanden voortgekweekt waren in een mengsel van aarde en turfmoel, met als voedsel schijfjes aardappel, kiemende tarwe en een wortelende slaplant.

Bij determinatie aan de hand van een tabel van KORSCHESKY bleken ze zonder uitzondering tot het geslacht *Agriotes* te behoren.

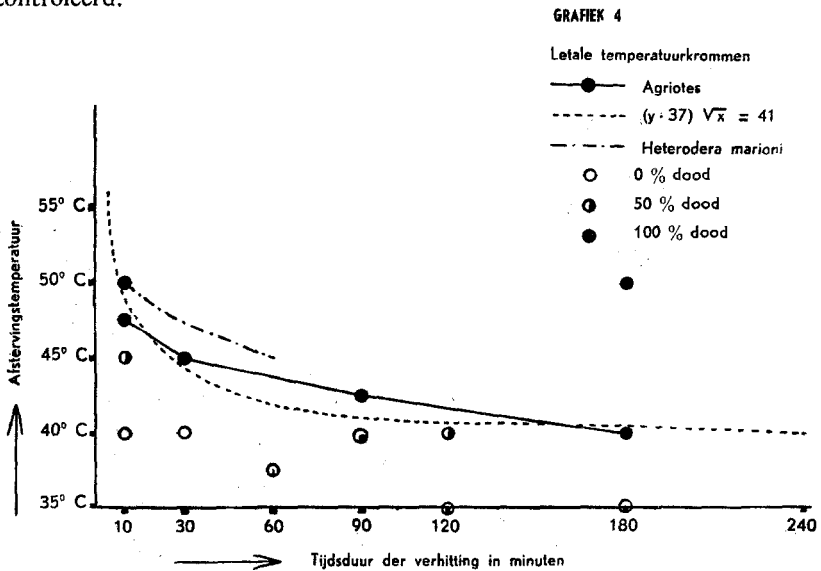
De individuen varieerden sterk in lengte. Hiermede werd rekening gehouden bij het samenstellen van de in de proef gebruikte groepen van telkens 20 exemplaren, opdat gelijksoortige en vergelijkbare eenheden ontstonden.

De verwarming werd uitgevoerd in reageerbuizen, voor de helft gevuld met een mengsel van aarde en turfmoel, dat met water verzadigd was. De buizen werden afgesloten met een wattenprop en bij de verwarming werden ze zover in



het waterbad ondergedompeld, dat de gehele inhoud zich beneden het water-niveau bevond.

Na de verwarming werd de buis direct leeggeschud. De koperwormen werden overgebracht in een petrischaal met een vers grondmengsel. Een schijfje aardappel diende daarin als voedsel. Gedurende enkele dagen werden de schalen dagelijks gecontroleerd.



In grafiek 4 is de afstervings temperatuur uitgezet tegen de duur van verhitting. De curve, die het verband tussen deze beide grootheden weergeeft, staat

hierop aangegeven. Bovendien zijn alle resultaten der verhittingsproeven op deze grafiek aangetekend.¹⁾

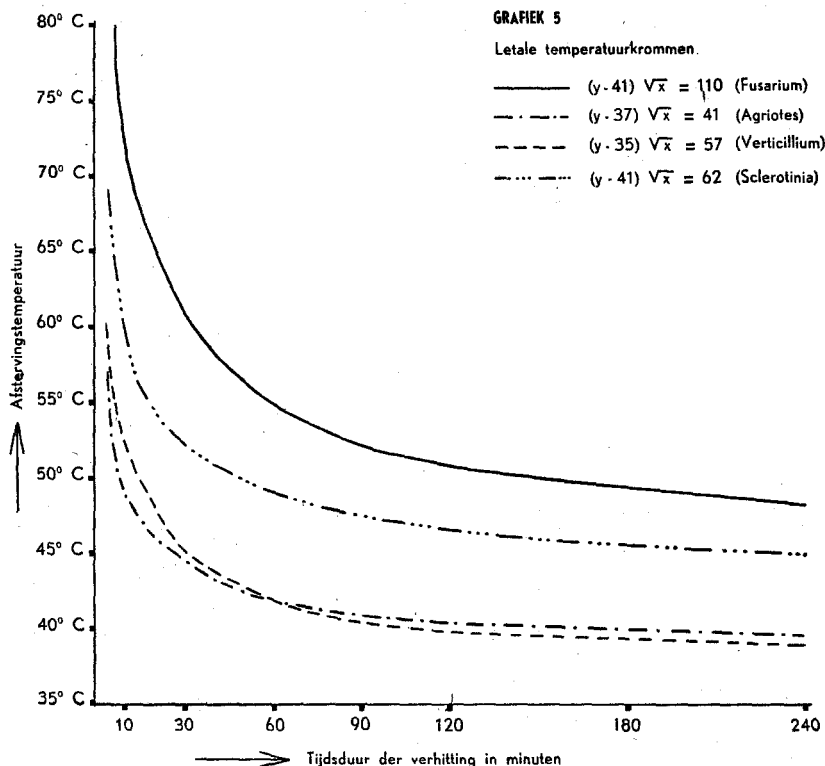
BEPALING VAN DE AFSTERVINGSTEMPERATUUR VAN HETERODERA MARIONI

Dit onderzoek is slechts zeer summier geweest. De temperatuurgevoeligheid van de verschillende ontwikkelingsstadia is niet afzonderlijk bepaald. Vastgesteld werd slechts bij welke temperaturen alle ontwikkelingsvormen van het aaltje gedood werden. De resultaten (afgebeeld in grafiek 4) zijn goed in overeenstemming met de gegevens, die uit de literatuur bekend zijn. Er zal daarom hierop niet verder worden ingegaan.

De cijfers in grafiek 4 hebben betrekking op verhitting in waterig milieu. Bij verhitting van cysten in grond werden hogere afstervingstemperaturen gevonden (in zure grond waren na 10 minuten verhitting tot 55° C nog lang niet alle aaltjes gedood).

DISCUSSIE

Alle gevonden letale temperatuurcurven zijn tezamen afgebeeld in grafiek 5.



Hierin valt onmiddellijk de grote gelijkheid op, die er tussen de verschillende lijnen bestaat. We hebben geprobeerd om het verloop van deze curven in een algemene formule weer te geven. Het blijkt dat de lijn, beantwoordend aan de vergelijking

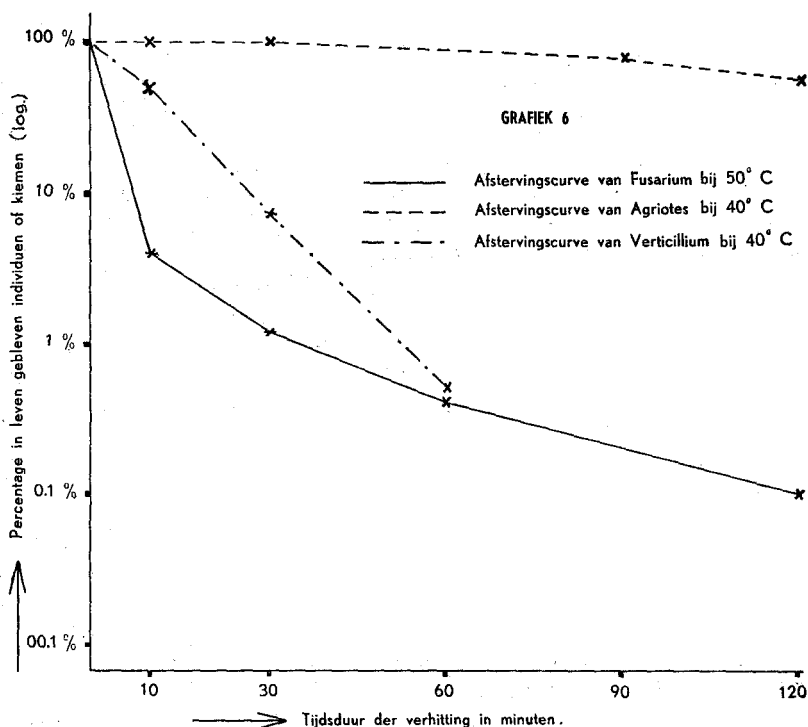
¹⁾ Daarbij zijn alleen de gegevens vermeld van de eerste controle, 24 uur na de proef, teneinde zoveel mogelijk andere invloeden op het afsterven buiten te sluiten.

$(y - a) \sqrt{x} = b$, goed overeenstemt met de gevonden waarden. Zo sluit de letale temperatuurcurve van *Fusarium* zeer nauw aan bij de lijn $(y - 41) \sqrt{x} = 110$; de afwijkingen bedragen niet meer dan 1°C (zie grafiek 1). Deze liggen dus volkomen binnen de foutengrenzen, daar de afstervingsstemperaturen slechts op $2,5^\circ \text{C}$ nauwkeurig werden bepaald. De letale temperatuurcurve van de *Verticillium* van de tomaat sluit zo mogelijk nog beter aan bij de lijn $(y - 35) \sqrt{x} = 57$. De afwijkingen bedragen in dit geval maximaal $0,7^\circ \text{C}$ (zie grafiek 2). De afstervingsstemperaturen van de *Verticillium* van de komkommer zijn niet in een formule uitgedrukt in verband met de schaarse gegevens. Het verband tussen afstervingsstemperatuur en duur van verhitting wordt bij *Sclerotinia Libertiana* zeer goed weergegeven door de formule $(y - 41) \sqrt{x} = 62$. De grootste afwijking bedraagt slechts 1°C . De curve voor de afstervingsstemperaturen bij koperwormen sluit aan bij de lijn $(y - 37) \sqrt{x} = 41$. De grootste afwijking, $-2,4^\circ \text{C}$, ligt nog juist binnen de foutengrens (zie grafiek 4).

Bovengenoemde curven hebben dus de gedaante van een ongelijkzijdige hyperbool. De opstijgende tak nadert asymptotisch tot de y-as, terwijl de horizontale tak een lijn evenwijdig aan de x-as, op een afstand a daarboven gelegen, asymptotisch nadert. Deze waarde a kunnen we opvatten als de maximumtemperatuur voor het organisme, dus de hoogste temperatuur waarbij het nog juist in leven kan blijven. Deze maximumtemperatuur is voor hogere organismen laag, terwijl ze voor lagere organismen sterk kan variëren. Bij *Verticillium* ligt ze ongeveer even laag als voor de hogere organismen, bij *Fusarium* daarentegen ligt ze aanmerkelijk hoger.

De waarde b vormt een maatstaf voor de resistentie van het organisme tegen verwarming boven de maximumtemperatuur. Des te hoger deze waarde is, des te moeilijker is het organisme door verhitting tot boven de maximumtemperatuur tot afsterving te brengen.

De opstijgende tak van de curve nadert veel sneller de y-as dan de horizontale tak de lijn nadert, die de maximumtemperatuur van het organisme weergeeft. Het blijkt dat het kwadraat van het verschil tussen afstervings- en maximumtemperatuur ongeveer omgekeerd evenredig is met de duur van verhitting. Bij *Sclerotinia* en bij *Agriotes* zien we dat de opstijgende tak van de letale temperatuurkromme nog iets sneller tot de y-as nadert dan overeenkomt met de besproken formule. Waarschijnlijk zal dit toegeschreven moeten worden aan het geringe aantal individuen (kiemen) waarmee in deze gevallen gewerkt werd. Hierdoor worden te lage afstervingsstemperaturen gevonden. Bij de kortstondige verhitting zijn deze afwijkingen het grootst, daar de temperatuurgrenzen, waar binnen partiële afsterving plaats heeft, wijder uiteenlopen, naarmate korter verhit wordt (zie o.a. grafiek 1). Ook het enigszins verschillend verloop van de letale temperatuurkrommen van de beide *Verticillium*-stammen moet waarschijnlijk aan het grote verschil in sporenvormend vermogen toegeschreven worden (bij komkommerstam veel meer sporen). De afstervingsstemperaturen van *Sclerotinia* geven een betere aansluiting bij de theoretische curve te zien dan die van *Agriotes*. Het is wellicht niet juist een sclerotium als een enkel, homogeen individu te beschouwen. Waarschijnlijk kan bij de grenstemperaturen een belangrijk deel van het mycelium-weefsel afsterven; enkele zeer resistente gedeelten van het mycelium blijven dan nog in leven en kunnen, zij het met grote vertraging, uitgroeien. De meer of minder vertraagde uitgroeïng zou dan wellicht kunnen corresponderen met een hoger of lager percentage afgestorven myceliumweefsel in het sclerotium.



Op grafiek 6 is het verloop van de afsterving voor koperwormen en *Verticillium* (de tomatenstam) bij 40° C en voor *Fusarium* bij 50° C weergegeven. Daartoe is in horizontale richting de duur van de verhitting uitgezet en in verticale richting de logarithme van het percentage in leven gebleven individuen (resp. kiemen). Het is reeds lang bekend (MADSEN en NYMAN, 6; EYKMAN, 2 en RAHN, 9, 10 en 11), dat bij lagere organismen dit verloop rechtlijnig is. Dit betekent, dat de afsterving bij lagere organismen verloopt als een mono-moleculaire chemische reactie. Bij hogere organismen heeft de afsterving hetzelfde verloop als een meer- (b.v. 6- of 10-) moleculaire chemische reactie. Dit wordt weergegeven door een gebogen lijn met haar krommingsmiddelpunt aan de zijde van de oorsprong van het coördinaten-stelsel. Dit betekent, dat bij toenemende verhittingsduur de afstervingsnelheid groter wordt. Een dergelijk verloop werd bij de afstervingscurve van de koperworm ook inderdaad gevonden. Bij *Fusarium* treffen we een curve van afwijkende vorm aan, waarbij de lijn naar de oorsprong toegebogen is. Volgens CHICK (1), RAHN (9) en KLUYVER (5) wijst een curve van een dergelijke gedaante op een heterogeniteit van het verhitte materiaal. Bij onze proeven is eveneens met heterogeen materiaal gewerkt, daar de *Fusarium*kiemen voor het belangrijkste deel uit conidiën bestonden, die waarschijnlijk aanzienlijk gevoeliger voor verhitting zijn dan de dikwandige chlamydosporen, waarvan tevens een gering aantal in het onderzochte materiaal aanwezig was (zie grafiek 6). Een andere mogelijke verklaring kan gelegen zijn in de omstandigheid, dat in het onderzoek naar de afstervingstemperatuur van *Fusarium* een mengsel van vier verschillende, voor de komkommer pathogene, *Fusarium*-rassen gebruikt is. Ver-

moedelijk zouden we bij *Fusarium* een rechtlijnig verloop van de afstervingscurve gevonden hebben wanneer we met homogeen materiaal gewerkt hadden. Bij *Verticillium* (de tomatenstam) is dit blijkbaar wel het geval geweest. Daar werd althans een rechtlijnig verloop aangetroffen. Hier werd ook inderdaad met slechts een stam gewerkt, terwijl bij microscopisch onderzoek nimmer de aanwezigheid van chlamydosporen vastgesteld kon worden.

Opmerkelijk is, dat de verschillende in de grond overblijvende plantenparasieten reeds door betrekkelijk lage temperaturen tot afsterving gebracht kunnen worden. Bij het stomen zal de grond gewoonlijk tot een veel hogere temperatuur verhit worden. Toch wordt meer dan eens geklaagd over een onvoldoende resultaat van het stomen. In vele gevallen zal men dit niet mogen wijten aan een onvoldoende grondontsmetting. In bepaalde gevallen is het wel is waar mogelijk, dat de grond niet tot op voldoende diepte ontsmet is. Dit komt nog al eens voor bij een te hoge grondwaterstand. De warmte dringt dan niet tot op voldoende diepte in de grond door. Ook bij grondontsmetting van platglasrijen tegen *Fusarium* komt het vaak voor, dat de grond niet tot op voldoende diepte verhit wordt, waardoor bij het klaarmaken van de rijen niet ontsmette grond boven gebracht wordt.

In vele gevallen zal een slecht resultaat echter geweten moeten worden aan een hernieuwde besmetting, die het gevolg kan zijn van het gebruik van niet ontsmet gereedschap en houtwerk, en het niet ziektevrij opkweken van het plantmateriaal. Een hernieuwde besmetting met *Fusarium*, *Verticillium* of *Sclerotinia* geeft vaak aanleiding tot een zeer sterke aantasting. Deze schimmels kunnen zich blijkbaar in gestoomde grond extra krachtig ontwikkelen. Hiervan zijn ons talrijke voorbeelden bekend. Het is dus van het grootste belang steeds een goede hygiëne in acht te nemen, daar anders de toch nog al dure grondontsmetting niet de best mogelijke resultaten af zal werpen.

SAMENVATTING

Van een aantal voor de plantengroei schadelijke bodemorganismen werd het verloop van de afsterving bij verschillende temperaturen nagegaan (zie grafieken 1-5).

Het verband tussen de duur van verhitte (x) en de afstervings temperatuur (y) wordt goed weergegeven door een curve van de algemene gedaante $(y - a) \sqrt{x} = b$.

Bij een grondontsmetting door stomen is het gewenst de grond ook na de behandeling ongeveer 3 uur afgedekt te houden.

Bij de volgende temperaturen wordt een afdoende doding verkregen: *Fusarium* 70° C; *Sclerotinia* en *Verticillium* (komkommerstam) 60° C; *Heterodera marioni* 55° C; *Verticillium* (tomatenstam) en *Agriotes* (ritnaalden) 50° C.

Tomatenzaad kan ontsmet worden tegen *Verticillium* door het een half uur onder te dompelen in water van 45°-50° C. De kiemkracht van het zaad wordt hierdoor niet in het minst geschaad.

SUMMARY

For a number of soil-organisms, injurious to plant-growth, the process of dying-off was examined at different temperatures (see curves 1-5).

The relation between the period of heating (x) and the death-temperature (y) is expressed reasonably well in a curve of the general form: $(y - a) \sqrt{x} = b$.

In sterilizing the soil by steaming it is desirable to keep the ground covered, also after the treatment, for about three hours.

At the following temperatures a thorough killing-off is obtained:

Fusarium 70° C; *Sclerotinia* and *Verticillium* (from cucumber) 60° C; *Heterodera* 55° C; *Verticillium* (from tomato) and *Agriotes* (wireworms) 50° C.

Tomatoseed may be rendered sterile against *Verticillium* by submerging it in water of 45°–50° C for half an hour. By this treatment the germinative power is not harmed in the least.

LITERATUUR

1. CHICK, H., J. Hyg. 8, 1908 en 10, 1910.
2. EYKMAN, C., Folia Microbiologica I, 359, 1912.
3. HOSHINO, H. M. en G. H. GODFREY, Phytopathology 23, 260, 1933.
4. KADOW, K. J., Phytopathology 24, 1265, 1934.
5. KLUYVER, A. J., Versl. XIXe conf. over voedingsmiddelenscheikunde op 13 Dec. 1940 te Amsterdam.
6. MADSEN en NYMAN, Z. Hyg. u. Inf. Krkh. 57, 1907.
7. NEWHALL, S. G., Cornell Univ. Agric. Exp. St. Bull. 731, 1940.
8. OSMUN, A. V., (Dep. of Bot.) Rep. Mass. Agric. Exp. St. Bull. 339, 25, 1937.
9. RAHN, O., J. Gen. Physiol. 13, 395, 1930.
10. RAHN, O., Gold Spring Harbour Symposia on Quantitative Biology 2, 70, 1934.
11. RAHN, O. en M. N. BARNES, J. Gen. Physiol. 16, 579, 1933.
12. WILLIAMS, P. H., Cheshunt Exp. and Res. St. Ann. Rep., 29, 1943.

OVER HET ZUIVEREN VAN PLANTENVIREN¹⁾

With a summary: On the purification of plant viruses

DOOR

Dr L. ALGERA, Dr Ir T. H. THUNG en Ir J. P. H. VAN DER WANT
(Lab. v. Bloembollenonderzoek, Lisse; Instituut voor Plantenziekten, Buitenzorg;
Lab. v. Mycologie en Aardappelonderzoek, Wageningen)

INLEIDING

De viruszuivering is een onderwerp, waarvoor onder phytopathologen grote belangstelling bestaat. Uit talrijke onderzoekingen is duidelijk geworden van welke betekenis de zuivering voor het onderzoek der plantenviren is. Zo is het voor inoculatieproeven soms beter met gezuiverd virushoudend sap te werken dan met ongezuiverd sap. Ook kan men bij het serologisch onderzoek van plantenviren dikwijls met meer succes het proefdier, ter winning van antiserum, inspuiten met een gezuiverde virusoplossing dan met ongezuiverd sap. De electronenmicroscopie, het nieuwste hulpmiddel in het virusonderzoek, vereist tenslotte doorgaans eveneens gezuiverde viruspreparaten.

In de praktijk is de wens geuit met eenvoudige methoden kennis te maken, ten-

¹⁾ Ontvangen voor publicatie Sept. 1947.