

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

Onder redactie van Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr J. A. A. M. H. GOOSSENS;
Ir P. HUS; Prof. Dr A. J. P. OORT en Dr H. J. DE FLUITER (Secretaris)

Redactie-adres: p/a Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek,
Binnenhaven 4a, Wageningen

Drukkers-Uitgevers: H. Veenman & Zonen - Wageningen

57e JAARGANG (1951)

3e AFLEVERING

MEI-JUNI

BACTERIEVLEKKENZIEKTE IN BLOEMKOOL EN ANDERE KOOLSOORTEN, VEROORZAAKT DOOR *PSEUDOMONAS MACULICOLA* (McCULLOCH) STEVENS¹⁾

*With a summary: Bacterial spot of cauliflower and other Brassica species, caused
by Pseudomonas maculicola* (McCULLOCH) STEVENS

DOOR

IR MARTHA BAKKER

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

Op verzoek van de Plantenziektenkundige Dienst onderzocht ik een blad-
vlekkenziekte van bloemkool, waarvan bij de Dienst in de zomer van 1950 enkele
inzendingen waren binnengekomen uit Heemskerk (N.H.) en Wijchel (Fr.) en
waarvan vermoed werd dat het een bacterieziekte zou zijn. Inderdaad bleek dit
een in het buitenland reeds beschreven ziekte te zijn, veroorzaakt door *Pseudomo-
nas maculicola* (McCULLOCH) STEVENS.

ZIEKTEBEELD

Op de bladeren vindt men aanvankelijk kleine, waterige, ronde vlekjes, die
spoedig donkerbruin worden met een doorschijnende rand, die te zien is bij door-
vallend licht (fig. 4). Doorsnede zonder halo ± 1 mm. Later worden de vlekjes
groter (1-3 mm in doorsnede). Aan de bovenkant van de bladeren zijn ze dan licht-
grijs met een donkerbruin randje en doorschijnende halo, aan de onderzijde van
de bladeren zijn de vlekjes donkerder, grijs-bruin, met een donkerbruine rand
(fig. 1). De vlekjes worden hoekig, dikwijls vloeien ze samen, en worden bij uit-
breiding begrensd door de nerven, waarlangs een zwart randje ontstaat, dat vooral
aan de bovenzijde van het blad duidelijk te zien is (fig. 2). De vlekjes zijn iets
ingezonken. In doorsneden van bladeren met vlekjes, gekleurd met methyleen-
blauw, zijn de bacteriën duidelijk zichtbaar (met olie-emersielens). Bij ernstige
aantasting treedt bladmisvorming op. De vaatbundels in de bladnerven zijn soms
zwart gekleurd. Aangetaste bladeren worden spoedig geel en sterven daarna af.
De afgestorven delen zijn lichtbruin en bros, met donkere nerven. De bladeren
vallen na korte tijd af. De onderste bladeren zijn altijd het ergst aangetast, door-

¹⁾ Ontvangen voor publicatie 9-2-1951

dat de bacterie uit de grond met regendruppels op de bladeren spat. Tengevolge van zeer sterke aantasting kan groeiremming optreden. De assimilatie wordt gehinderd en de planten geven dan geen of weinig opbrengst. De plant kan in alle ontwikkelingsstadia aangetast worden. Eén van de inzenders van ziek materiaal aan de P.D. deelde mede, dat de aantasting een kwaliteitsvermindering van de kool tengevolge kan hebben, doordat er zwarte strepen op de bloeiwijze, door de praktijk „kool” genaamd, zouden ontstaan, die later tot een totale rotting aanleiding kunnen geven. Of deze verschijnselen inderdaad zijn toe te schrijven aan *Ps. maculicola* zou nader onderzocht moeten worden. De genoemde totale rotting zal in elk geval secundair zijn. Ook enkele andere onderzoekers (1, 2, 7, 15, 16, 22) vermelden aantasting van de „kool”, nl. talrijke kleine zwartbruine vlekjes, die bij groter worden ineen vloeien tot één plek over een groot deel van de oppervlakte. Deze aantasting blijft meestal beperkt tot epidermis en aangrenzende parenchymatische lagen. Door secundaire infectie treedt dikwijls een rotting op, die met stank gepaard gaat en die tot diepere lagen doordringt. Het is wel begrijpelijk, dat ook de „kool” ziekteverschijnselen kan vertonen. Dikwijls toch wordt de „kool” met blad bedekt en kan dan door het blad geïnfecteerd worden. Ook opspatten van bacteriën met regen is mogelijk, hoewel dit nooit zo erg kan zijn als op de zich dicht bij de grond bevindende bladeren. Ook wordt overbrenging van de bacterie door insecten vermeld (GOLDSWORTHY, 7). Zelf vond ik in de omgeving van Venlo bij bloemkool met zeer talrijke bacterievlekken op de bladeren, ook een aantasting van de „kool”. Deze was oppervlakkig verkleurd, eerst lichtbruin, later donkerder, tenslotte zeer donkerbruin tengevolge van de aantasting door secundaire organismen, die de „kool” verder deden rotten. Tengevolge van de sterke secundaire aantasting gelukte het niet *Ps. maculicola* hieruit te isoleren.

De bacterie kan ook vlekken veroorzaken op de bloemstengels (ATANASOFF, e.a., 2 en McCULLOCH, 13) en het zaad besmetten, dat daardoor zwart wordt (ZHAVORONKOVO, 22).

Als Nederlandse naam voor deze aantasting zou ik willen voorstellen bacterievlekkenziekte.

VERSPREIDING VAN DE ZIEKTE

De bacterievlekkenziekte komt in zeer veel streken voor, maar is meestal van geringe betekenis. Ernstig aangetaste bladeren vallen spoedig af en als de plant niet telkens opnieuw geïnfecteerd wordt is de ziekte snel overgroeid. De ziekte verspreidt zich niet via de vaten door de plant. De meer of minder ernstige aantasting hangt nauw samen met het weer. In koele, natte zomers kan de ziekte ernstig zijn en van economische betekenis worden. In de natte zomer van 1950 was de ziekte in Nederland vrijwel overal te vinden waar kool geteeld werd. Ernstige aantasting, waarbij soms groeiremming optrad, zag ik in de omgeving van St Pancras en Anna Paulowna (N.H.) en bij Venlo. Mijn indruk was dat de ziekte het ergst optrad op laaggelegen, vochtige terreinen. Door andere oorzaken verzwakte planten, b.v. hartloze planten, werden het meest aangetast. Droog en warm weer remt de infectie. De bacterie is gevoelig voor hogere temperaturen. Volgens McCULLOCH (13) mislukten infecties bij temperaturen hoger dan 25 °C.

Ongetwijfeld is de ziekte in Nederland ook in vroegere jaren voorgekomen, anders zou ze niet zo in alle delen van het land verspreid zijn. De oorzaak van de ziekte is hier echter nooit eerder met zekerheid vermeld. KERLING (11) beschrijft



Fig. 1. Bloemkoolblad (onderzijde) met ernstige aantasting door *Ps. maculicola*. Op de bladeren donkere vlekjes, soms een lichtgrijs-bruin centrum met een donkere rand.

Leaf of cauliflower (lower side) severely attacked by Ps. maculicola. On the leaves dark spots, sometimes with a dark border round a light greyish brown centre.

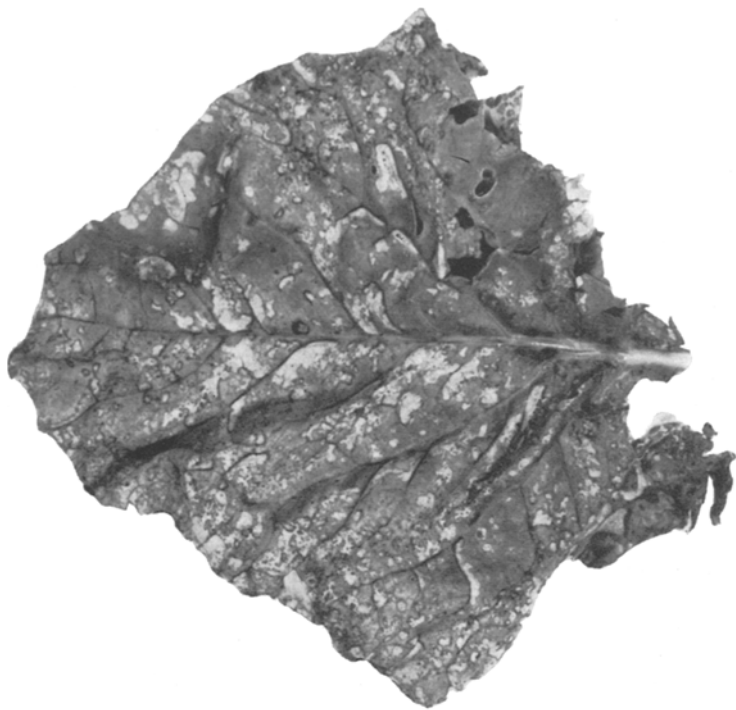


Fig. 2. Bloemkoolblad, bovenzijde. Een ouder stadium dan in fig. 1. Het lichtbruine centrum van de vlekken wordt groter, de vlekken grillig van vorm, in elkaar overvloeiend. Aan de onderzijde van het blad donkerder dan aan de bovenzijde.

Cauliflower leaf, upper side. An older stage of the disease than in fig. 1. The light brown centre of the spots is extending, the spots are irregularly angled, coalescent. On the lower side of the leaf they are darker than on the upper side.



Fig. 4 →

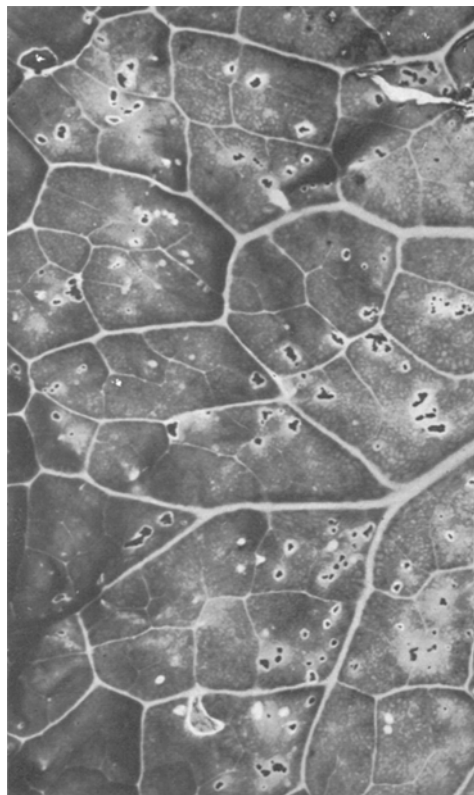


Fig. 5 →



0 0,1 0,2 mm

Fig. 4. Groene savoye kool. Foto met doorvallend licht, waardoor de lichte rand om de vlekjes zichtbaar wordt.

Green savoy cabbage. Photo in transmitted light, the light halo round the spots is visible.

Fig. 5. Microfoto van dwarse doorsnede door een bloemkoolblad, aangetast door *Ps. maculicola*. Coupe 10 μ dik, gekleurd met carbofuchsin.

*Microphoto of a transverse section of a cauliflower leaf, attacked by *Ps. maculicola*. Section 10 μ in thickness, stained with carbofuchsin.*

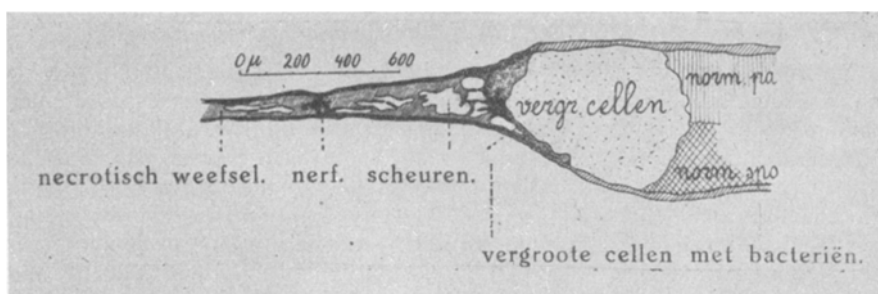


Fig. 6. Topografische tekening van een dwarse doorsnede door een bloemkoolblad, aangetast door *Ps. maculicola*, gekleurd met methyleenblauw. Volgens Kerling (11), blz. 37.

Topographical drawing of a transverse section of a cauliflower leaf, attacked by Ps. maculicola, stained with methylene blue. After Kerling (11), p. 37.

in haar proefschrift bladvlekken van kool en zegt (p. 87), dat *Ps. maculicola* zeer waarschijnlijk de veroorzaker is van de beschreven vlekken. Uit de overeenkomst tussen de door haar gemaakte topografische tekening van een doorsnede van een bladvlek (fig. 6) en onze preparaten (fig. 5), kan met zekerheid geconcludeerd worden dat zij hier inderdaad te maken had met een aantasting door *Ps. maculicola*. SPIERENBURG (17) verkreeg vlekken op koolbladeren door inoculatie met bacteriën, geïsoleerd uit stippekool. De bacteriën, waarmee zij werkte, zijn echter niet gedetermineerd en uit de beschrijving van de verschijnselen is niet op te maken of zij met de bacterievlekkenziekte, veroorzaakt door *Ps. maculicola*, heeft gewerkt. Ook in verslagen over de werkzaamheden van de PLANTENZIEKTENKUNDIGE DIENST (19 en 20) wordt een paar maal gesproken over bladziekten bij kool, die misschien door bacteriën zouden zijn veroorzaakt, waarbij betreffende het gevonden ziektebeeld wordt opgemerkt (19): „in de Amerikaanse literatuur is een bacterieziekte bij bloemkoolbladeren – bedoeld wordt de ziekte, veroorzaakt door *Ps. maculicola* – beschreven, die met het hier aangegeven beeld in hoofdzaak, maar niet in alle opzichten overeenkomt”. Te oordelen naar de beschrijving van het ziektebeeld meen ik dat men hier met het, vermoedelijk door virus veroorzaakte, stip te maken had.

Het veelvuldig voorkomen van allerlei vlekjes in het blad van kool, met dikwijls onbekende oorzaak, is waarschijnlijk de reden dat deze bacterieziekte hier te lande steeds over het hoofd is gezien.

Volgens één der inzenders van het zieke materiaal zou de ziekte ook het voorgaande jaar zijn opgetreden, doch niet zo ernstig als in 1950 het geval was.

Deze bacterieziekte is het eerst beschreven door McCULLOCH (13) in 1911. Zij vond de ziekte in Virginia. Later kwam de ziekte veel voor in Virginia, Californië, Florida en Long Island, doch ook in andere streken van de U.S.A. is zij waargenomen. In Europa werd de ziekte het eerst gevonden in Denemarken in 1922 (6). Later ook in Noorwegen (10), Finland (12), Bulgarije (2), Italië (1) en Rusland (22). Verder is de ziekte nog vermeld in Australië (4, 15, 16), Formosa (14), Algerië (5). Het is dus een ziekte met een wijd verspreidingsgebied, die zeer waarschijnlijk nog wel in meer landen zal voorkomen dan uit de literatuur bekend is.

WAARDPLANTEN

De ziekte komt vooral voor op bloemkool, die er de meeste schade van kan ondervinden. In meer beperkte mate vond ik de ziekte ook op spruitkool en groene savoye kool. Een zeer geringe aantasting kwam voor op witte kool (figuren 1-4). Volgens de literatuur komt deze ziekte in alle koolsoorten voor en ook in koolrabi, koolraap, raap, radijs, ramanas (6, 9, 14). Het voorkomen op wilde *Cruciferae* wordt alleen vermeld door OKABE (14). Volgens CLAYTON (3) werd deze bacterie gevonden in maagdelijke gronden, volgens GOLDSWORTHY (7) in boomgaarden, waar geen Cruciferengewas had gestaan, hetgeen ook wijst op voorkomen van de ziekte op de wilde *Cruciferae*.

ISOLATIE- EN INOCULATIEPROEVEN

De bacterie is gemakkelijk te isoleren uit bladvlekjes. Het blad werd even gedompeld in alcohol 70 %, daarna afgespoeld met steriel water. Kleine stukjes van het zieke blad werden daarna gedurende zes uur in een buisje met steriel water gezet om de bacteriën de gelegenheid te geven zich in het water te verspreiden. Een druppel van deze bacteriesuspensie werd uitgestreken op bouillonagar. Dit gaf vrijwel een reïncultuur van de ziekteverwekker. Eén kolonie hiervan werd geïsoleerd. De isolatie kreeg het nummer 110. Met deze isolatie werden jonge bloemkoolplantjes (Lecerf) geïnoculeerd. De planten waren 11 Mei gezaaid en 7 Juni werden de bladeren bespoten met een suspensie van de bacterie in water. De infectie geschiedt door de huidmondjes, aan beide zijden van het blad. Na de inoculatie werden de plantjes enkele dagen in een glazen kooi gezet, in een zeer vochtige atmosfeer, bij een temperatuur van 16-19 °C. Na drie dagen waren op de bladeren „vetvlekjes” te zien, ± 1 mm in doorsnede. Na enkele dagen werden de vlekjes in het midden necrotisch met een doorschijnende rand. Negen dagen na de inoculatie was het ziektebeeld gelijk aan dat van de zieke planten, die buiten gevonden waren. Soms zijn er ook vlekjes langs de randen van de bladeren, de infectie heeft dan plaats gevonden via de waterporiën. Bij hevige infectie trad bladmisvorming op. Na 2 à 3 weken werden delen van de zieke bladeren geel en gingen daarna afsterven. De bladeren vielen spoedig af. Uit de zieke bladeren werd weer een bacterie geïsoleerd, die dezelfde eigenschappen had als isolatie 110.

Ook Deense witte kool werd geïnoculeerd. Op de bladeren ontstonden enkele necrotische vlekjes, al of niet met een lichte rand.

Wij hadden slechts enkele volgroeide bloemkoolplanten tot onze beschikking om de „kool” te infecteren. Het gelukte ons niet om bij deze volgroeide kolen door bespuiting met een bacteriesuspensie, zonder verwonding, in het veld ziekteverschijnselen teweeg te brengen. Ook McCULLOCH (13) vermeldt dergelijke negatieve resultaten. Volgens AGUSTONI (1) zou infectie alleen door wonden kunnen geschieden. SMITH (16) vermeldt, dat infectie van de „kool” na enige mislukkingen in de kas slaagde, doch dat de infectie, vermoedelijk tengevolge van de minder goede functionering van de huidmondjes, minder gemakkelijk gaat dan bij de bladeren.

Het zou wel gewenst zijn in de zomer van 1951 alsnog te onderzoeken of de bacterie inderdaad de „kool” kan aantasten op het veld, daar beschadiging van de „kool” economisch belangrijker is dan beschadiging van de bladeren.

BESCHRIJVING VAN DE BACTERIE

Isolatie 110 had de volgende eigenschappen: korte staafjes met ronde uiteinden, afmetingen $1,5-2,5 \times 0,5-0,7 \mu$, beweeglijk met polaire flagellen, geen sporen, Gramnegatief, aeroob.

Kolonies op agar wit, rond, glad, glinsterend, later vuilwit en met gegolfde rand.

Groei in bouillon: troebel, wit neerslag, geen vlies. Optimale groei bij 24°C .

Gelatine: na één dag geringe vervloeijing te zien aan de oppervlakte, de vervloeijing gaat langzaam, kratervormig langs de steek.

Indolreactie: na lange tijd zwak positief (volgens OKABE (14) negatief). Nitraten niet gereduceerd.

H_2S niet gevormd (volgens ELLIOTT (5) en SMITH (16) zwakke H_2S vorming).

In lakmoesmelk NH_3 -vorming (lakmoes wordt blauw), later reductie en peptonisatie, geen stremming.

In voedingsoplossingen met de suikers glucose, galactose, maltose, lactose en saccharose geen gas- of zuurvorming (GOLDSWORTHY (7) vermeldt zwakke zuurvorming in glucose). Met galactose als enig koolhydraatbron geen groei. Zetmeel wordt niet gesplitst.

De gevonden eigenschappen komen overeen met die van *Pseudomonas maculicola*.

BESTRIJDING

Zolang de ziekte hier slechts onder zeer bepaalde omstandigheden ernstig voorkomt is het in het algemeen niet nodig maatregelen ter bestrijding te nemen. Waar de ziekte optreedt te men geen zaad van zieke planten, daar de ziekte met het zaad over kan gaan (WALKER, 21). Zaadontsmetting in warm water (30°C minuten 50°C) werkt gunstig (CLAYTON, 3, ELLIOTT, 5), maar de ziekte is zelden ernstig genoeg om dit noodzakelijk te doen zijn. Volgens ZHAVORONKOVA (22) werden ook gunstige resultaten verkregen bij zaadontsmetting met sublimaat (1 %, 10 minuten).

In ernstige gevallen is vruchtwisseling aan te bevelen. De bacterie kan in de grond lange tijd in leven blijven. GOLDSWORTHY (7) kon de bacterie nog aantonen in droge grond, die een jaar in flessen bewaard was. Goede onkruidbestrijding is dan ook van belang, om te voorkomen dat de ziekte zich in stand kan houden op wilde *Cruciferae*. Ook ziek plantenmateriaal dient opgeruimd te worden, daar de bacterie hierin lang in leven kan blijven. FERDINANDSEN (16) isoleerde de bacterie nog uit bloemkoolblad, dat $9\frac{1}{2}$ maand bewaard was in een herbarium.

Vooral voor het zaaibed kieze men onbesmette grond, dus grond waar enkele jaren geen Cruciferengewas heeft gestaan.

Om uitbreiding van de ziekte tegen te gaan wordt wel bespuiting met Bordeauxse pap aangeraden, doch dit zou volgens CLAYTON (3) niet effectief zijn.

SUMMARY

During the rainy summer of 1950 bacterial spot caused by *Pseudomonas maculicola* was found in the Netherlands on cauliflower and other *Brassica* species. Only cauliflower was seriously attacked.

The disease is characterized by an abundant stomatal blotching of the leaves.

The spots are at first water-soaked, the centre becomes necrotic, dark brown and after a few days brownish gray with a dark border, 1–3 mm in diameter. In transmitted light they show a light halo. The spots are circular when quite small but soon become more or less irregularly angular and coalescent (figs. 1–4). Sometimes distortion of the leaves occurs. Badly infected leaves turn yellow and drop after a few weeks. A discoloration of the heads of cauliflower was observed only occasionally. It is, however, not sure that it was caused by *Ps. maculicola*.

Undoubtedly the disease occurred also to some degree in former years in the Netherlands though the occurrence of this bacterial spot has never been reported with certainty. The more serious attack in 1950 is due to the abnormal rainy weather.

The disease is first described in 1911 by McCULLOCH (13). It occurs in several states of the U.S.A. and in Europe (1, 2, 6, 10, 12, 22). The disease has also been reported in Australia (4, 15, 16), Formosa (14) and Algeria (5), which means that the disease is spread widely and is likely to occur in more countries than is known from literature.

The bacterium attacks especially cauliflower, but I also found the disease on cabbage and Brussel sprouts. According to literature (6, 9, 14) other *Cruciferae* are also attacked.

The bacterium was easily isolated from spotted leaves. Inoculations of healthy leaves with the isolated bacterium gave a positive result. Inoculation on a small scale of the heads of cauliflower in the field had a negative result. This experiment will be repeated.

The morphological and physiological properties of the isolated bacterium are described. They agree with those of *Ps. maculicola* (McCULLOCH) STEVENS known from literature.

If the disease does not occur in a more serious way as up to the present it is not necessary to take measures of control against it. Where the disease is noticed it is recommended not to grow seed from diseased plants and croptation is advised.

LITERATUUR

1. AGUSTONI, E.; Osservazioni e ricerche sul „nerume” del Cavolfiore Riv. Pat. veg., 15: 305–315, 1935 (Rev. Appl. Myc. 15: 70, 1936.).
2. ATANASOFF, D., DODOFF, D. M., KOVAČEVSKI, I. C., MARTINOFF, S. I., TRIFONOVA, MME V. and CHRISTOFF, A.; Parasitic fungi new to Bulgaria. Yearb. Univ. Sofia, Fac. Agr., 10: 341–366, 1932 (Rev. Appl. Myc. 11: 745, 1932).
3. CLAYTON, E. E.: Investigations of Cauliflower diseases on Long Island. N.Y. State Agr. Exp. Sta., Geneva N.Y., Bull. 506: 8, 1924.
4. DOWSON, W. J.: Notes on some bacterial plant diseases in Tasmania. J. Pom. & Hort. Sci. 10: 301–305, 1932.
5. ELLIOTT, C.: Manual of Bacterial Plant Pathogens, p. 152–153, 1930.
6. FERDINANDSEN, C.; Bacterium maculicolum McCulloch paa europaeisk Grund. Beretning om Jordbrugsforskeres Kongres, Göteborg, Juni 1923, Nordisk Jordbrugsforskn. 5–8 Hefte.
7. GOLDSWORTHY, M. C.; Studies on the spot disease of Cauliflower; a use of serum diagnosis. Phytopath. 16: 877–884, 1926.
8. GRAM, E.; Maanedlige Oversigter over Sygdomme hos Kulturplanter fra Statens plantepatologiske Forsog, Juni 1925.