

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

58e JAARGANG (1952)

2e AFLEVERING

MRT.-APRIL

BESCHADIGING EN SCHIMMELAANTASTING BIJ ERWTEN ALS GEVOLGEN VAN NACHTVORST

*With a summary: Damage and attack by fungi as consequences
of late frosts on peas*

DOOR

Dr L. C. P. KERLING

Laboratorium voor Phytopathologie, Wageningen

INLEIDING

Door het werk van GOOSSENS (1948) en van SCHREUDER (1949) is het thans mogelijk bij erwtenziekten onderscheid te maken tussen voetziekten, veroorzaakt door *Ascochyta pinodella* en andere schimmels, waarbij slechts een schorsverkleuring optreedt en vaatziekten, waarbij de centrale cylinder rood verkleurd is. In het laatste geval spelen *Botrytis cinerea* en verschillende *Fusaria* een rol. Toch kan men tussen beide groepen geen scherpe scheiding maken, want uit één donkerverkleurd stengel- of worteldeel worden vaak verschillende schimmels geïsoleerd. De plant kan zowel voet- als vaatziek zijn. Nu zijn vele van deze fungi niet specifiek voor de erwt, zoals o.a. *Botrytis cinerea* en *Fusarium avenaceum*, want zij kunnen ook in andere gewassen binnendringen, wanneer de weefsels zich in een minder gunstige conditie bevinden of bezig zijn af te sterven. Wanneer een plant door verschillende niet specifieke parasieten tegelijk wordt aangetast, kan men aannemen, dat niet de virulentie van deze parasieten als belangrijkste factor bij het ziek worden moet worden beschouwd. Immers, dergelijke algemeen in de bodem of in de lucht voorkomende schimmels kan men ook in gunstige jaren alom verwachten. Zij dringen dan niet in de plant binnen of doen althans weinig schade. De aanleiding tot het ziek worden moet men eerder zoeken in de ongunstige toestand, waarin de plant door bepaalde omstandigheden gebracht is. Het is bekend, dat ongunstige milieufactoren gecombineerd met de invloed van parasieten een plant meer schade kunnen toebrengen dan elk van deze factoren afzonderlijk. De schimmels, die hier een rol spelen worden door JONES c.s. (1926) aangeduid als parasieten van lager orde, die „debility-diseases” veroorzaken. Hij wijst er op, hoe ziekelijke toestanden het resultaat kunnen zijn van „the interaction of a plastic host and a plastic parasite under the play of variable environment.”

De vraag is nu, welke milieufactoren de erwt zo ongunstig kunnen beïnv-

vloeden, dat ziekten kunnen optreden. In de literatuur zijn vele tegenstrijdige verklaringen te vinden voor het hevig optreden van voetziekten in de jaren 1938, 1943 en 1948. Zij komen meest neer op slechte ontwikkeling van het gewas door slechte bodemstructuur, te wijten aan een voorafgegane periode met veel regen, of aan dichtslaan van de grond door hevige regens tijdens de groeiperiode. Ook nachtvorsten worden vaak aansprakelijk gesteld voor het optreden van ziekten in Juni. Mogelijk beïnvloeden meer factoren tezamen de plant zodanig, dat het bodemschimmels mogelijk wordt de weefsels binnen te dringen. Van de praedispositie van de plant, van de besmettingsgraad van de bodem zowel als van de virulentie van de aanwezige microörganismen zal het afhangen of het samenspel dezer factoren zal leiden tot een epidemie. Van de voorwaarden, waaronder dit gebeurt, weet men nog weinig.

Uit dit ingewikkeld geheel is hier de invloed onderzocht van nachtvorst en van het gedrag van verschillende parasieten ten opzichte van de door vorst verzwakte planten.

LITERATUUR

A. Invloed van lage temperatuur

Hoewel nachtvorsten aan het erwtengegewas in de regel weinig schade toebrengen, staat het toch wel vast, dat lage temperaturen in de periode tussen half April en eind Mei op jonge planten invloed uitoefenen. Een goede beschrijving van de na vorst optredende symptomen geeft WALKER (1939): de groei kan door beschadiging van het groeipunt stagneren en zelfs kan de hoofdstengel afsterven. Lagere zijknoppen lopen uit, waardoor de plant een gedrongen uiterlijk krijgt. De bladschijf is vervormd en verkleurd. Als de beschadigde stengel doorgroeit kunnen spleten en scheuren, soms zelfs omwallingen optreden. Volgens WALKER komen deze verschijnselen veel voor, maar zij worden moeilijk herkend, daar men bij het vinden van de misvormingen in begin Juni niet meer denkt aan een nachtvorst, die 3 of meer weken geleden optrad.

GOOSSENS (1938) geeft niet alleen een goed beeld van dergelijke misvormde planten in ons land, maar hij beschrijft bovendien hoe *Botrytis cinerea* de schors van stengelvoet en wortelhals van beschadigde planten kan doden, waardoor de voet bruin en draaddun wordt, terwijl de hogere stengeldelen nog frisse groene bladeren dragen. Tenslotte valt de plant om. Conidiën komen vaak te voorschijn.

Welke veranderingen er plaats grijpen in de weefsels tijdens het bevriezen en weer ontdooien is moeilijk waar te nemen. Op grond van een kritische beschouwing van een uitgebreide literatuur komt LEVITT (1945) tot de volgende conclusie:

Wanneer de temperatuur van de weefsels geleidelijk onder het vriespunt van het celvocht daalt, treedt onderkoeling op. Waterdamp in de intercellulairen gaat over in ijs en ook worden ijskristallen gevormd op kosten van water uit de celwand. De dampspanning in de intercellulairen daalt hierdoor onder die van het celvocht, met het gevolg, dat water door de semipermeabele protoplasma membraam diffundeert en via de capillairen van de celwand in de intercellulairen komt. Hier bevriest het en doet de reeds aanwezige kristallen aangroeien. Door deze exosmose trekt de cel zich samen, maar het totale volume van de samengetrokken cellen en de ijskristallen is groter dan het oorspronkelijke

volume. Door deze uitzetting wordt de lucht geleidelijk uit de intercellulairen verdreven, geholpen door de druk van de door lage temperatuur inkrimpende epidermis. De bevroren plantendelen krijgen een glazig doorschijnend uiterlijk. Langs deze weg ontstaat geen ijs in de cellen. Bij ontdooien kunnen de cellen bij het deplasmolyseren in leven blijven (ILJIN, 1933). Bij snelle temperatuurdaling kan exosmose echter niet snel genoeg plaats vinden en er ontstaan intracellulaire ijskristallen. Nu is herstel niet meer mogelijk. In de natuur schijnt echter alleen het geleidelijk bevroren voor te komen. Het is de vraag of snel ontdooien van bevroren planten meer beschadiging geeft dan een langzaam oplopen van de temperatuur. Men zou kunnen verwachten, dat vorstschade aanzienlijk is na Meidagen met heldere hemel, wanneer de temperatuur van -3° of -4° C in de nacht op kan lopen tot 20° C en hoger. LEVITT acht de nadelige invloed van snel ontdooien echter slechts in enkele gevallen bewezen, zoals die alleen in het laboratorium kunnen voorkomen. Zeer waarschijnlijk wordt op het veld de schade in de weefsels tijdens het bevroren aangericht. Dat door vorst beschadigde weefsels makkelijker voor schimmels toegankelijk zijn, is voor enkele gevallen bekend.

Dasyscypha Willkommii, de veroorzaker van de Larixkanker, wordt door LANGNER (1936) aangeduid als een tryptophyt, die zich in het voorjaar uitbreidt in weefsel, dat gedurende de winter van vorst te lijden had. Latere onderzoekers bevestigden, dat vorst en de schimmel samen kanker veroorzaken. Onder de schimmels, die bomen aantasten zijn meer dergelijke voorbeelden te vinden.

Nauwkeurig is het veranderde gedrag van *Rhabdocline pseudotsugae* na een vorstperiode nagegaan door VAN VLOTEN (1932). Het mycelium, dat aanvankelijk tussen celwand en tonoplast leeft in de naalden van de Douglas spar, gaat plotseling over in de intercellulairen, waar de apotheciën onder de epidermis aangelegd worden. Door kunstmatig bevroren van takken met geïnfecteerde naalden kon VAN VLOTEN necrose en bruinkleuring van de geïnfecteerde cellen te voorschijn roepen, waarna ook de intercellulaire ontwikkeling van de zwam begon op te treden. Geparasiteerde cellen zijn minder goed tegen temperaturen van -5° tot -10° C bestand dan gezonde.

B. De eigenschappen van de schimmels, waarmee gewerkt werd

Slechts enkele punten uit de uitgebreide literatuur worden hier besproken.

a. *Botrytis cinerea* PERS. Het is bekend, dat sporen in een waterige oplossing op gezonde, goed groeiende plantendelen gebracht, geen infectie te weeg kunnen brengen. BROOKS (1908) vond dit bij slabladeren, BUESGEN (1918) bij mosplanten, terwijl BROWN en HARVEY (1927) dit bevestigden voor een gezond *Eucharis*-blad. De hyphen kruipen over de oppervlakte als op een glasplaat. Gestimuleerd door contact met de harde laag worden appressoria gevormd, van waaruit hyphen de cuticula trachten te doorboren (DE BARY, 1886). DE BARY en na hem vele andere onderzoekers menen, dat de hyphen pas kunnen binnendringen, wanneer de celwanden door een afgescheiden enzym aangetast zijn en de celinhoud gedood. BLACKMAN en WELSFORD (1916) en ook BROWN (1922) nemen daarentegen aan, dat de kiembuizen de cuticula mechanisch doorboren. Ingeval de cuticulaire lagen gezwollen zijn volgen zij de weg van de minste weerstand door horizontaal onder de cuticula te groeien (BLACKMAN en WELSFORD 1916).

Voor slecht groeiende of beschadigde planten kan *Botrytis* echter wel schadelijk worden: BROWN (1935) vermeldt aantasting van onderste, dode of af-

stervende bladeren van sla, wanneer de planten te lijden hadden als gevolg van overplanten in koude grond, door hevige regens of nachtvorst. In de literatuur zijn veel gegevens te vinden, die in dezelfde richting wijzen. De cellen, waarin de kiembuizen binnendringen, behoeven nog niet volledig afgestorven te zijn. BROOKS nam binnendringen waar in cellen die nog plasmolyseerbaar waren, BROWN en HARVEY zagen dit, nadat zij een *Eucharis*blad met schadelijke dampen behandeld hadden en ook nadat het blad aan -5°C blootgesteld was.

Over het mechanisme van het binnendringen bestaan verschillende opvattingen. Aan DE BARY was het reeds bekend, dat kiembuizen kunnen binnendringen wanneer voldoende voedingsstof in de druppel aanwezig is. Goed gevoede hyphen zouden door toxine-afscheiding de onderliggende cellen doen afsterven en voor de hyphen toegankelijk maken (BROOKS, 1908). Wanneer de epidermis op vele plaatsen doorboord is, kunnen de kiembuizen ook door de stomata binnendringen, hetgeen misschien toegeschreven moet worden aan de aanwezigheid van vocht in de intercellularen (BLACKMAN en WELSFORD, 1916). Ook NOBÉCOURT (1928) is van oordeel, dat celvocht in de intercellularen bij geplasmolyseerd weefsel van *Opuntia* de aantasting door *Botrytis* bevordert. BROWN en HARVEY (1927) en later ook BROWN (1948) nemen aan, dat verder binnendringen na doorboring van de cuticula pas geschiedt, wanneer de epidermiscellen de turgor verloren hebben, zoals dit gebeurt na verwonding, chloroformbehandeling of bevriezen. Na het binnendringen hangt het verdere verloop van het ziekteproces af van de verhouding parasiet-gastheer. Het kan zijn, dat de schimmel door afscheiding van toxine naburige cellen tot afsterven brengt, waarna de hyphen ook deze binnendringen. Het is ook mogelijk, dat het weefsel rondom de geïnfecteerde plaats niet verder aangetast wordt. NOBÉCOURT zag bij *Opuntia* onder invloed van langzaam afstervende cellen een kurklaag optreden die *Botrytis* kan tegenhouden. Dit is echter alleen het geval, indien zich achter de kurklaag levende cellen bevinden. Wanneer deze hun vitaliteit verliezen, kan de schimmel gemakkelijk de barrière doorwoekeren. Het is de levende cel, die *Botrytis* weert en tegelijk is het ook het levende weefsel, dat de wondreacties tot stand doet komen. Volgens BÜESGEN bepaalt de „levensenergie” van de cel de doorlaatbaarheid van de tonoplast en daarmee de verhouding parasiet-gastheer. Met uitdrukkingen zoals „levensenergie” en „vitaliteit” valt echter niet te werken.

b. Sclerotinia sclerotiorum (LIB.) MASSEE.

In 1937 werden bij het dorsen sclerotiën van deze polyphage schimmel gevonden tussen zaad, afkomstig van vroeg afgestorven planten (Plantenziektenkundige Dienst, 1938). Toch wordt de schimmel niet vaak uit erwten geïsoleerd. CROZIER (1936), die 6500 erwtenzaden onderzocht, vond de schimmel slechts zelden. Het gedrag van deze parasiet, dat overeenkomt met dat van *Botrytis*, werd het eerst door DE BARY (1886) uitvoerig beschreven. Het binnendringen gaat makkelijk door wonden, doch heeft ook plaats door onbeschadigde plantendelen. DE BARY hield zich reeds bezig met de vraag, waarom sommige planten in een aangetast bed vrijblijven van de schimmel en ook waarom deze op bepaalde plaatsen nooit waargenomen kon worden. Naast een voorkomen van *Sclerotinia* op bepaalde gronden, meent DE BARY dat men de individuele verschillen in het gedrag van de planten alleen kan verklaren door een praedispositie aan te nemen voor de schimmel. Jonge kiemplanten zijn zeer gevoelig,

later vermindert de gevoeligheid, hetgeen DE BARY toeschrijft aan een veranderde samenstelling van de celwand. Daarnaast vermoedt hij echter nog andere factoren. Het probleem is nog niet tot oplossing gebracht.

c. *Fusarium avenaceum* FR. (SACC). Deze schimmel en andere Fusaria, behorend tot de *Roseum*-groep werden herhaaldelijk geïsoleerd uit de voet van zieke zowel als van gezonde erwtenplanten (SCHREUDER, 1949) en o.a. uit de stengelvoet, de zaden, stoppels en stroresten van granen (BENNETT, 1928). Omrent de pathogeniteit vermeldt BENNETT, dat het wel lukte tarwekiemplanten tot afsterven te brengen in grond met *Fusarium avenaceum* besmet, doch op groeiende stengels ontstonden slechts enkele bruine vlekjes, waarbij de hyphen aan de oppervlakte bleven. Zij dringen pas binnen, als het weefsel door een andere oorzaak aangetast of verzwakt is. Sterk groeiende zijspruiten van de zieke stengelbasis blijven gezond, terwijl volwassen weefsels aangetast kunnen worden. BENNETT zoekt de resistentie in de eigenschappen van de celinhoud. SCHREUDER beschouwt de schimmel als minder belangrijk voor erwten, daar deze vaak samen met andere, sterkere pathogenen voorkomt. Ook WENT (1934) is van oordeel, dat de stammen van de sectie *Roseum*, waarmede zij werkte als zwakke parasieten te beschouwen zijn, daar geïnoculeerde planten slechts geringe groeivermindering vertoonden. Toch doorboorden de hyphen wortelharen en epidermis van planten, die op agar in buizen opgekweekt waren en die dus in minder gunstige omstandigheden verkeerden. Daar WENT uit zieke planten van het veld herhaaldelijk *Fusarium*-stammen van deze groep isoleerde, spreekt zij het vermoeden uit, dat het tot stand komen van infecties in het veld sterk afhankelijk moet zijn van uitwendige omstandigheden. ROORDA VAN EYSINGA ¹⁾ bevestigde het binnendringen van *F. avenaceum*-stammen, zowel van haver als van erwten afkomstig, in epicotyl en wortels van erwten onder ongunstige omstandigheden opgekweekt. Bij tijdig uitplanten in potten of in het veld herstellen de planten zich echter onder vorming van nieuwe zijwortels.

Samenvattend kan men zeggen, dat bij de tot dusverre besproken schimmels de resistentie berust op de toestand van de levende cel. Voor de plant schijnt een hoge turgor en ontbreken van vocht in de intercellulaire gunstig. Een toestand van verminderde turgor of plasmolyse, waarbij zich celvocht in de intercellulaire bevindt, schijnt het binnendringen te vergemakkelijken. Bij de nu volgende schimmel liggen de verhoudingen anders.

d. *Ascochyta pinodella* L. K. JONES. Hoewel het ziektebeeld goed bekend is (NOLL, 1939), is het nog niet duidelijk welke factoren het optreden van de schimmel bevorderen. Niet alleen kan de infectie plaats vinden vanuit het zaad, maar ook vanuit de bodem (JONES, 1927). Misschien dienen chlamydosporen, die in Juni actief worden (STOLL, 1950), misschien hyphen, die als pseudo-mycorrhiza wortels van o.a. tarwe omringen (WINTER en RUEMKER, 1950), als infectiebron. Zowel uit voetzieke als uit uiterlijk gezonde erwtenplanten werd de schimmel geïsoleerd.

¹⁾ Ongepubliceerd verslag, Laboratorium voor Phytopathologie, 1949.

METEREOLOGISCHE WAARNEMINGEN

In de jaren 1938, 1941 en 1942 werd *Botrytis*-aantasting als gevolg van nachtvorst waargenomen. In 1949 trad het verschijnsel veelvuldig op in West-Brabant en Zeeland. Het is bekend, dat nachtvorsten in hoge mate plaatselijk optreden, meest op lage plekken van het veld. De kans op beschadiging van de planten is groot op natte plaatsen, waar een ijskorst in de oppervlakkige grondlaag kan ontstaan en ook wanneer stengel en bladeren vóór het dalen van de temperatuur nat zijn. Ijskristallen, die op de nog tere weefsels gevormd worden, kunnen veel schade aanrichten.

Het vinden van een correlatie tussen de minimum-temperaturen in April en Mei en het al of niet optreden van de ziekte bleek uit de literatuur niet mogelijk. Enerzijds zal de ziekte zeker in meer jaren voorgekomen zijn dan beschreven is, anderzijds zijn de temperatuurgegevens, verstrekt door het K.N.M.I. te De Bilt, afkomstig van stations ver afgelegen van erwtenvelden, waar het verschijnsel optrad. Als de metingen bovendien op een hoogte van 2 meter boven de grond werden uitgevoerd, zeggen zij niets omtrent de temperatuur, die in een bepaald veld tussen de planten geheerst kan hebben. In tabel 1 worden enkele minimum-temperaturen onder 0° C gegeven, gemeten 10 cm boven de grond, waargenomen in April en Mei van de bovengenoemde jaren, verstrekt door het K.N.M.I. Zij geven een beeld, welke temperaturen er in Nederland in die weken kunnen optreden en waren een richtlijn voor proeven, waarbij planten kunstmatig aan vorst blootgesteld werden.

TABEL 1. Minimum temperaturen in ° C onder 0° gemeten 10 cm boven de grond.
Minimum temperatures in ° C below zero measured 10 cm above soil level.

Station <i>Station</i>	jaar <i>year</i>	April (<i>April</i>)													
		15	16	17	18	19	20	21	24	25	26	27	29	30	
De Bilt Wageningen Wageningen Castricum N.O. Polder	1938			0,5	2		0,5	2							
	1938		0,2	1	5	2,4	5	5			1,8		1	2	
	1941	1,5	2						1	1					
	1949							1,5	1			3,8			
	1949										2,1			2,2	
		Mei (<i>May</i>)													
		1	2	3	4	5	7	8	9	10	11	12	13	16	
De Bilt Wageningen Wageningen Castricum N.O. Polder	1938							0,5	2						
	1939					2	1	2,2	4,2	2	2,8	2,2			
	1941			2,5	3	1	2	4,5	5	0,5	2	4	0,5	2	
	1949														
	1949	3,8	2,2							1,1					

MATERIAAL EN METHODE

De proeven werden op een enkele uitzondering na, uitgevoerd met het ras Rondo C.B.

A. *Proeven in potten.* Uiterlijk gezonde erwten werden na ontsmetten met sublimaat uitgelegd in bloempotjes, telkens 3 per pot. Wanneer de eerste 2 blaadjes ontvouwd waren en de plantjes een hoogte van 3 à 4 cm bereikt

hadden, werden zij aan lage temperatuur blootgesteld. In dit stadium, ongeveer 10 dagen na het zaaien bleken de planten gevoelig voor de behandeling en in staat zich daarvan te herstellen. Met een watje werd de waslaag zacht van de blaadjes afgewreven, opdat blaadjes en stengel met een verstuiver goed bevochtigd konden worden. Ook de aarde werd nat gemaakt. De potjes werden in een frigidaire geplaatst bij -3.5°C à -4.5°C , waarin zij ± 16 uren bleven. Daar in de regel 20 potjes tegelijk behandeld werden, duurde het lang voor de aarde de lage temperatuur aangenomen had. Men kan aannemen, dat zeker de grond en misschien ook de planten niet 16 uren op de laagste temperatuur bleven. Vervolgens werden zij ontdooit bij kamertemperatuur, waarna eventueel geïnoculeerd werd. De potjes werden nu in een inoculatiebak geplaatst, waarin de temperatuur tot boven 20°C kon oplopen. Dezelfde extremen in temperatuur kan men in Mei registreren, wanneer een heldere nacht met strenge nachtvorst wordt gevolgd door een zonnige windstille dag. Na 24 uur werden de potjes in de kas geplaatst en normaal begoten.

B. *Proeven in buizen*. Om het gedrag van één bepaalde schimmel t.o.v. een al of niet aan lage temperatuur blootgestelde erwtenplant te onderzoeken, was het nodig plantjes steriel op te kweken. Dit gebeurde in gesteriliseerde buizen van $3\frac{1}{2}$ cm diameter, waarin op een tafeltje van filtreerpapier in water telkens 3 gezonde ontsmette erwten uitgelegd werden. Als de kiemplantjes ± 3 cm hoog waren, werden zij aan lage temperatuur blootgesteld. Bij de eerste proeven werden de buizen in de frigidaire geplaatst bij $\pm -3.5^{\circ}\text{C}$, doch door de slechte geleiding van de luchtkolom in de met een wattenprop afgesloten buis, duurde het lang eer de planten op de vereiste temperatuur kwamen. Bovendien had geen ijsvorming plaats door vriespuntsverlaging van het water, waarin zich de wortels bevonden. De planten werden op deze wijze niet door de lage temperatuur beschadigd. In enkele gevallen werden ze gestimuleerd, hetgeen bleek uit verhoogde lengtegroei. Trad tenslotte toch ijsvorming op, dan beschadigde de ijsmassa de wortels zodanig, dat de planten stierven. Daarom werden de buizen later behandeld in een ruimte van -8°C , nadat het water grotendeels verwijderd was. Na 35 minuten werden de planten iets glazig, ijskristallen vertoonden zich op het nog vochtige filtreerpapier. Na ontdooien bij kamertemperatuur werden de plantjes geïnoculeerd en gedurende 24 uur in een thermostaat bij 24°C geplaatst. Vervolgens werden ze in het licht gebracht bij kamertemperatuur.

Steeds werd gewerkt met de volgende proefreeksen: 1. onbehandelde planten; 2. planten aan lage temperatuur blootgesteld; 3. planten geïnoculeerd met een pathogeen; 4. planten aan lage temperatuur blootgesteld en geïnoculeerd.

Voor de inoculaties werden in reïncultuur gebrachte schimmels gebruikt, geïsoleerd uit zieke erwtenplanten:

Botrytis cinerea PERS. van verschillende herkomsten; *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) MASSEE van een veld in Hoofddorp; *Fusarium avenaceum* (FR.) SACC. van een veld in de N.O. polder; *Ascochyta pinodella* L.K. JONES van een veld in Nw. Beerta.

Een enkele proef werd gedaan met een *Fusarium*, die overeenkwam met *F. solani* (MART.) APP. et WR., afkomstig van een veld in Groningen. Hoewel de fungi geen schade van de lage temperatuur ondervonden, werden de inoculaties zo mogelijk na de behandeling verricht, om de schimmels gelegenheid te geven direct aan te slaan.

C. *Veldwaarnemingen*. Zowel in 1950 als in 1951 werden aan lage temperatuur blootgestelde planten in het veld uitgezet om de verdere ontwikkeling na te gaan. Op proef- en praktijkvelden werden de resultaten van de laboratoriumproeven geverifieerd.

RESULTATEN VAN HET ONDERZOEK

A. *De verschijnselen, die na de lage temperatuur-behandeling optreden*

a. *Direct na de behandeling*

Door de ongelijkmatige verdeling van de temperatuur in de frigidaire en ook door individuele verschillen, vertoonden de planten na de behandeling een ongelijk beeld. De meesten waren echter stijf en donkerder groen dan normaal met op de vlakken van de vierkante stengel onregelmatige blazen van 1 à 2 mm lengte. De epidermis was hier van het schorsweefsel losgescheurd. Bij doorvallend licht waren stengel en blaadjes echter lichter van kleur dan bij onbehandelde plantjes, enigszins transparant of glazig. Op de hoeken van de stengels waren de sclerenchymstrengen als donkere lijnen zichtbaar. Planten, die deze verschijnselen zeer duidelijk vertoonden, werden na het ontdooien slap en herstelden zich niet meer. Zij waren kennelijk „bevroren”. Tussen deze en andere planten, die niet of nauwelijks van onbehandelde te onderscheiden waren, viel een reeks van beschadigingen van verschillende graad waar te nemen. Soms kwamen in één potje een „bevroren”, een normale en een beschadigde plant naast elkaar voor. Door deze grote variatie kon alleen kwalitatief, niet kwantitatief, gewerkt worden.

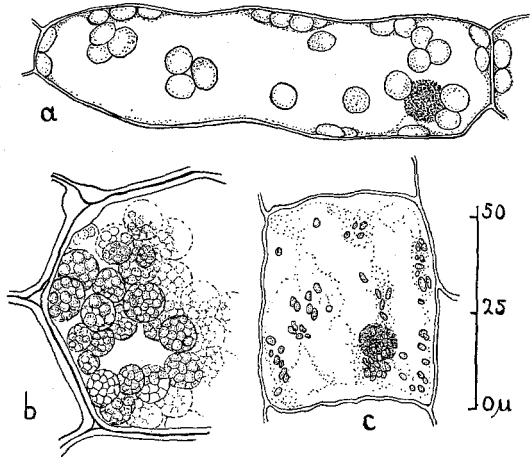
Het microscopisch onderzoek van doorschijnende stengels van planten, die geacht werden tot herstel in staat te zijn, wees uit, dat de epidermis over grote afstand los gescheurd kon zijn, met medenemen van één laag schorscellen. Op de vlakke zijden van de vierkante stengel ontstonden op deze wijze spleten, die op dwarse doorsnede gezien van het ene hoekpunt van de stengel naar het andere reikten. De lucht, die in een wat dikke doorsnede van een normale plant de brede, grillig gevormde donkere intercellulairen duidelijk doet uitkomen, was bij de behandelde planten niet of nauwelijks meer aanwezig, hetgeen de stengels hun doorschijnend uiterlijk gaf. Soms waren grote luchtbellen in de spleten aanwezig. De schorscellen aan de spleet grenzend, hadden intacte celwanden. Wat de inhoud betrof, viel er soms geen verschil waar te nemen tussen deze en normale parenchymcellen. In andere gevallen waren de chloroplasten lichter van kleur en groter dan normale. Zij vertoonden een netvormige tekening. De celkern kreeg een duidelijke omtrek, in tegenstelling met de doorzichtige normale kernen. Plasmolyse met 3 % KNO_3 was bij dergelijke cellen niet altijd meer mogelijk. Bij sterker beschadiging vielen de chloroplasten in kleine veelhoekige deeltjes uiteen, het cytoplasma werd korrelig en balde samen om de gedege-nereerde kern. In dit geval trad nooit plasmolyse op: de cel was dood. In het schorsweefsel van behandelde planten kwamen soms normale, licht en zwaar beschadigde cellen naast elkaar voor (fig. 1).

Volgens JENSEN (1942) is plasmolyseerbaar zijn nog geen bewijs, dat een cel leeft. De tonoplast voert de reactie uit, waarbij het cytoplasma als een dode massa meegaat. JENSEN stelt daarom voor de resistentie van weefsels tegen vorst na te gaan aan meristemen, waarbij groei een kenmerk zou zijn van het behoud van vitaliteit. Inderdaad herstelden planten met gelijk uiterlijk als die, waarvan

Fig. 1.

Cellen uit de schors; a: van een gezonde stengel; b en c: van een stengel direct na blootstellen aan -2°C gedurende 16 uur. b: stengel met eerste tekenen van glazigheid, plastiden met netvormige structuur en groter dan in a. c: stengel geheel glazig, plastiden en kern gedegeneerd.

Cells from the cortex; a: of a normal stem; b en c: from stems directly after exposure to -2°C for 16 hours. b: from a stem showing the first signs of translucency, plastids with a net structure and bigger than in a. C: from a translucent stem; plastids and nucleus degenerated.



coupes werden gemaakt, zich na de koudebehandeling. Het valt dan echter niet meer uit te maken in welke toestand zich de weefsels oorspronkelijk bevonden.

b. Toestand van de behandelde planten na 3 à 4 weken.

De symptomen komen geheel overeen met die door WALKER (1939) beschreven (zie p. 30). Hier zij bovendien nog het volgende opgemerkt: de vervormingen en verkleuringen van de blaadjes hadden juist daar plaats, waar druppels in ijs waren overgegaan; de bladranden zijn vaak naar beneden omgekruld. De organen, die tijdens de behandeling in embryonale toestand verkeren, hebben het meest te lijden. Jonge blaadjes groeien misvormd uit of in het geheel niet, internodiën strekken zich niet meer tot de normale lengte. Bij een plant, waarvan de internodiën regelmatig in lengte behoren toe te nemen, kan men er na vorst één of twee vinden, die zeer kort zijn en dikwijls vervormd door spleten of omwallingen (fig. 2).

Het groeipunt kan hierboven internodiën van normale lengte vormen, of de stengel wordt plotseling dunner en de plant krijgt een „spichtig” uiterlijk. In geval het groeipunt verwoest is, ontwikkelen zich zijassen in de oksels van de cotylen of het eerste bladpaar, waardoor abnormaal vroeg in de ontwikkeling een vertakte plant ontstaat. Soms neemt een zijas de plaats in van de hoofdas, die geleidelijk afsterft en later nauwelijks meer terug te vinden is.

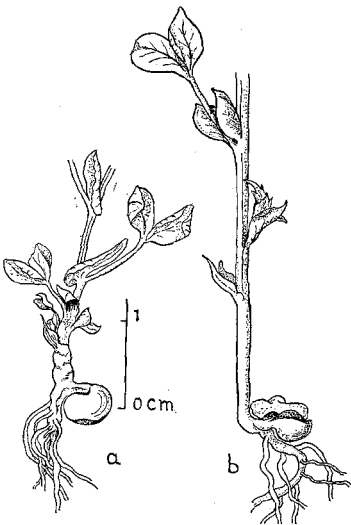


Fig. 2.

a: 28 dagen oude plant, op de leeftijd van 5 dagen blootgesteld aan -3°C gedurende 16 uur. Onderste internodiën misvormd. b: even oude, onbehandelde plant.

a: plant 28 days old, exposed to -3°C for 16 hours, 5 days after sowing. Malformation of the lowest internodes. b: untreated plant of the same age.

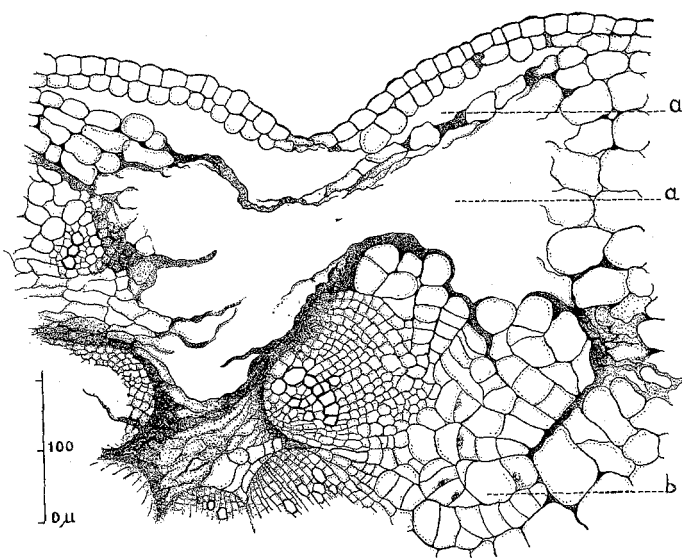


Fig. 3. Dwarse doorsnede van een stengel van een 28 dagen oude plant, 10 dagen na ontkieming blootgesteld aan $-3,5^{\circ}\text{C}$ gedurende 16 uur. a: spleten in de schors; b: wondweefsel.

Transverse section of the stem of a 28-days old plant, which was exposed to $-3,5^{\circ}\text{C}$ for 16 hours, 10 days after germination. a: rifts in the cortex; b: wound-tissue.

Onder de behandelde planten bevonden zich vaak enkele, die niet de beschreven morphologische veranderingen vertoonden, maar, hoewel ze in leven bleven, zich toch slecht ontwikkelden. Zij behielden hun min of meer doorzichtige voet, wat vooral goed uitkwam, als men uitgegraven planten een dag in een vochtige ruimte bewaarde. Terwijl het epicotyl van controle-planten dan nog een witglanzend uiterlijk heeft, is dat van de behandelde planten vuilgrijs, enigszins glazig. Dit was ook het geval bij planten, afkomstig van een veld, waar de grond eind April tot op vrij grote diepte bevroren was geweest. Er was nog weinig lucht in de intercellulair aanwezig, hetgeen waarschijnlijk verband hield met het slechte herstel. De planten bleven, evenals de proefplanten, in ontwikkeling achter.

Het microscopisch onderzoek wees uit, dat de spleten in de schors van jonge internodiën, die aanvankelijk dicht onder de epidermis lagen, zich later ook voortzetten tot in de diepere schorslagen. Aan de binnenzijde van deze onregelmatige holten liggen dode cellen en cellen met geblokeerde intercellulair. De binnenste schorscellen reageren door radiale strekking en vorming van tangentiële delingswanden. Er ontstaat een inwendige cylinder van wondweefsel, waarvan de wanden met Soedan III gekleurd kunnen worden (fig. 3).

De schorslagen en de epidermis, die aan de buitenzijde van de spleet liggen, sterven af of worden afgestoten, terwijl de bladspoorbundels aan de hoekpunten van de stengel binnen de kurklaag komen te liggen. Zodoende wordt de stengel scherpkantig, met ingezonken zijvlakken, waar de epidermis soms nog als een rimpelig huidje overheen ligt. Als de spleten zich voortzetten tot in de centrale cylinder, vormt het pericykel een dikke laag wondweefsel, die zich als

een omwalling voordoet. Ook in onbehandelde planten is in het epicotyl een verkurkte cellaag te vinden. Deze is echter slechts 1 of 2 cellagen dik en regelmatig van bouw.

c. De verdere ontwikkeling

Gedurende 2 achtereenvolgende jaren werden totaal 287 onbehandelde planten en 496 planten, die op de leeftijd van 10 à 12 dagen een koude behandeling hadden ondergaan (16 uur bij -3.5°C) uitgeplant op zandgrond, toen zij 3 à 4 weken oud waren. Ongeveer 10 weken later was de stand van de onbehandelde planten aanmerkelijk dichter dan die van de behandelde. Niet alleen was slechts 10 % van de onbehandelde afgestorven tegen bijna 30 % van de behandelde, maar ook waren de overlevende onbehandelde planten beter ontwikkeld. Zij hadden een forse hoofdas, met regelmatig geplaatste zijtakken tot aan de hogere knopen.

De behandelde planten vertakten zich reeds op jeugdige leeftijd, waarbij zijassen gevormd werden in de oksels van de cotylen en van de laagste bladeren. De vertakking was onregelmatig, de voet van de plant knobbelig, met verdikte, vaak zeer korte en gespleten internodiën (fig. 6).

Een zijas kan de hoofdas vervangen. Andere behandelde planten vertakten zich in het geheel niet. Zij bleven „spichtig” en droegen slechts enkele peulen. Dit zijn planten, waarvan de voet na de vorst lange tijd glazig blijft.

Microscopisch onderzoek wees uit, dat tijdens de secundaire diktegroei bij behandelde planten de scheuren in de schors, die ook normaal voorkomen, tot diep in de centrale cylinder kunnen doordringen. Om deze spleten liggen wondweefselstroken, waardoor grote gedeelten van de stengel worden afgestoten, terwijl aan de randen van de scheuren omwallingen optreden. In tegenstelling tot de bruin-gele kleur van de kurklaag van normale planten, waren de voeten van de behandelde planten meest donkerbruin tot zwart. In een der beide proefjaren werd hieruit overwegend *Mycosphaerella pinodes* geïsoleerd.

Samenvattend kan men zeggen, dat Rondo-plantjes, die aan lage temperatuur zijn blootgesteld, zich in het geheel niet of eerder en minder regelmatig vertakten dan normale planten en eerder een dikkere en minder regelmatige kurklaag in het epicotyl aanleggen, waardoor de voet een knobbelig uiterlijk krijgt. Uiteindelijk is de stand van het gewas minder dicht.

B. De invloed van lage temperatuur op planten van verschillende leeftijd

Het is de vraag in welk stadium jonge planten het meest gevoelig zijn voor nachtvorst. Reeksen in de kas opgekweekte planten werden gedurende één nacht aan vorst blootgesteld van af het zaaien tot aan de 21e dag (tabel 2). Plantendelen, die tijdens de behandeling in een embryonaal stadium verkeerden, vertoonden later typische vervormingen.

Het bleek, dat behandelen direct na het zaaien een verdikking van het zwelende hypocotyl veroorzaakt, op de plaats waar de cotylen zijn aangehecht. Tot de 6e en 7e dag was de schade gering; behandeling tussen de 8e en 12e dag was het meest gunstig voor het opwekken van sterke reacties; vertakkingen, spleten, en dergelijke. Planten van $2\frac{1}{2}$ à 3 weken stierven na de behandeling vaak af. Kasplanten van ± 10 dagen oud komen overeen met het gewas, zoals dit eind April of begin Mei te velde staat. Voor die tijd zijn nachtvorsten blijkbaar van

TABEL 2. Invloed van lage temperatuur ($-3,5^{\circ}\text{C}$ gedurende 16 uur) op planten van verschillende leeftijd.

Influence of low temperature ($-3,5^{\circ}\text{C}$ during 16 h.) on plants of different age.

Leeftijd in dagen na zaaien <i>Age in days after sowing</i>	aantal planten <i>Number of plants</i>	% dood % killed	Gem. lengte in cm na 28 dagen <i>Average length in cm after 28 days ¹⁾</i>	Plaats en aard van de symptomen <i>Place and character of the symptoms</i>
0-1	64	5	10	hypocotyl
2-3	57	7	12	hypocotyl + top epicotyl
4-5	72	7	12	epicotyl + 1e internodium
6-7	72	4	12	epicotyl + 1e + 2e internodium
8-9	72	11	10	3e intern.; vertakt of spichtig ²⁾
10-13	72	15	8	3e + 4e int.; „ „ „
14-16	72	15	8	4e + 5e int.; „ „ „
17-21	72	28	9	4e — 6e int.; „ „ „
Onbehandeld ³⁾	240	0	12	

¹⁾ van de overlevende planten
of the surviving plants

²⁾ *branched or scanty*

³⁾ *not treated*

weinig betekenis. Treden zij in het begin van Mei op, dan kunnen de typisch vertakte plantjes verschijnen. Treden nachtvorsten nog later op, dan kunnen zij zeer schadelijk zijn.

C. Het gedrag van schimmels ten opzichte van planten aan vorst blootgesteld

a. Botrytis cinerea PERS.

De eerste oriënterende proeven werden gedaan met steriele plantjes, die in buizen opgekweekt werden tot zij een hoogte van ± 3 cm bereikt hadden. Het verschil in gedrag van het mycelium gelegd tegen gezonde stengels en tegen de glazige stengels van planten, die aan lage temperatuur waren blootgesteld, was opmerkelijk. In het laatste geval ontwikkelde zich direct een wit-pluizig mycelium, dat de weefsels binnendrong. De plantjes kregen een bruine glazige, later rottende voet en waren binnen een week geheel door de schimmel overgroeid. Het mycelium tegen gezonde stengels aangelegd, ontwikkelde zich voornamelijk verder op het agar-blokje, het filtreerpapier en op de cotylen. Het epicotyl vertoonde ter plaatse slechts een donker vlekje op de epidermis en de buitenste schorslagen. Soms kon men het mycelium van de stengel verwijderen, zonder dat er een spoor van over bleef. De planten alleen aan vorst blootgesteld herstelden zich bijna alle. Ze vertoonden de reeds beschreven verschijnselen. De onbehandelde planten bleven gezond.

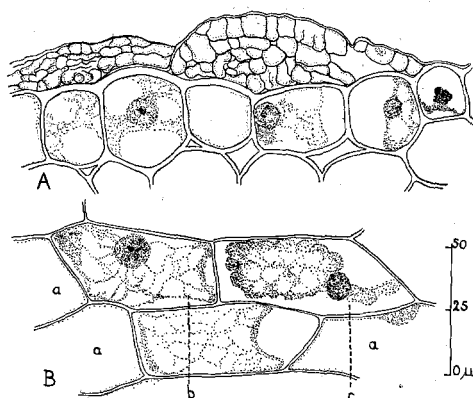
Uit het microscopisch onderzoek bleek, dat *Botrytis*-mycelium op een gezonde stengel gebracht, zich aanvankelijk met hechtorganen op de epidermis vastzet, voornamelijk op de huidmondjes, waar zich sclerotienachtige lichamen ontwikkelen. In de vochtige lucht in de buizen woekerde het mycelium subcuticulair verder (fig. 4A).

Slechts een enkele maal kon er een hyphe in of tussen de epidermiscellen gevonden worden, doch nooit drong het mycelium anders dan plaatselijk enkele cellagen diep in de schors binnen, waarbij de omgevende cellen bruin verkleurden (fig. 4B). Een dergelijk necrotisch centrum bleef scherp van het omringende

Fig. 4.

Lengtedoorsnede van de epidermis van het epicotyl van een gezonde plant, geïnoculeerd met mycelium van *Botrytis cinerea*. A: hyphen subcuticulair, begin degeneratie protoplasten. B: epidermis-cellen plaatselijk beschadigd onder invloed van hyphen. a: normaal, b: protoplasma korrelig, c: verdere degeneratie.

Longitudinal section of the epidermis of the epicotyl of a healthy plant, inoculated with Botrytis cinerea mycelium. A: showing subcuticular hyphae and slight degeneration of the protoplasts. B: protoplasts damaged by local hyphae. a: normal cells. b: cells with granular protoplasma. c: further degeneration.



levende schorsweefsel gescheiden. In een plant, die aan vorst was blootgesteld, dringen de hyphen onmiddellijk binnen, nadat de hechtorganen zich op de stengel hebben vastgezet. Straalsgewijs verspreiden de hyphen zich eerst inter- en later intracellulair door de gehele stengel. De wanden der vaten verkleuren. Duidelijk is het verschil in gedrag waar te nemen, wanneer men stukjes stengel van behandelde en van onbehandelde planten op een agarplaat uitlegt naast een *Botrytis*-kolonie. Na 24 uur heeft het gezonde stengeltje nog slechts mycelium aan de oppervlakte, terwijl het glazige weefsel van de behandelde stengel dan reeds geheel door het mycelium doorwoerd is (fig. 5A en 5B).

Bij potproeven was het resultaat enigszins afwijkend. De planten aan lage temperatuur blootgesteld en met *Botrytis* geïnoculeerd, stierven niet direct af, maar de aanvankelijk glazige voet werd bruin, droog en tenslotte draadvormig. De plant viel om, terwijl de top nog fris was. Na ongeveer 7 weken werden de planten uit de potten genomen. Tussen vochtig filtreerpapier ontwikkelden zich de conig-

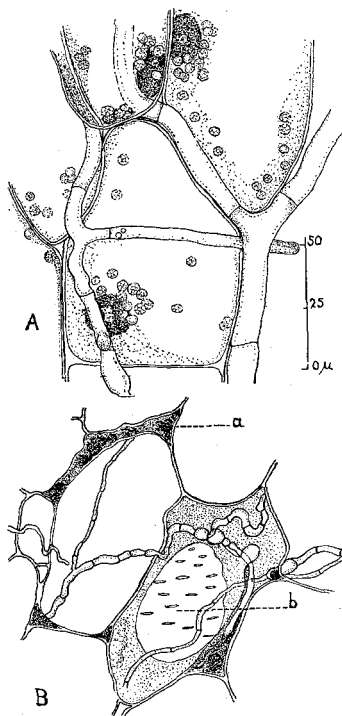


Fig. 5.

A: stengel na blootstellen aan vorst bij een cultuur van *Botrytis cinerea* gebracht. Schorscellen na 28 uur met mycelium doorwoerd. B: stengel na blootstellen aan vorst met mycelium van *Botrytis cinerea* besmet. Schorscellen met intercellulair mycelium. a: donkere druppels in intercellularen; b: stippels op het grensvlak van twee cellen.

A: stem after exposure to frost, placed next to a colony of Botrytis cinerea. Cells of the cortex invaded by mycelium. B: stem exposed to frost and then inoculated with mycelium of Botrytis cinerea. Cortical cells with intercellular mycelium. a: dark exudate in the intercellular spaces. b: pits in the walls where 2 cells touch

diophoren van *Botrytis* uit de dunne stengelgedeelten. Het beeld komt geheel overeen met wat men in Juni op het veld kan waarnemen (fig. 7).

De planten alleen met *Botrytis* geïnoculeerd, vertoonden een donkere verkleuring aan de voet en bleven vrijwel niet achter in groei vergeleken met de onbehandelde planten (tabel 3).

TABEL 3. Invloed van vorst en *Botrytis* op planten in potten

Influence of frost and Botrytis on plants in pots

Zaaidatum (*date of sowing*): 13-12; behandeling (*treatment*): 28-12; meting (*measured*): 16-1

Behandeling <i>Treatment</i>	aantal planten <i>Number of plants</i>	gem. lengte in cm <i>Average length in cm</i>	Abnormaal vertakt in % ⁴⁾ <i>Abnormally branched in % ⁴⁾</i>	voet donker in % ⁴⁾ <i>Foot dark in % ⁴⁾</i>	Dood in % <i>Dead in %</i>
Onbehandeld <i>Untreated</i>	24	15	4	4	0
Vorst ¹⁾ <i>Frost ¹⁾</i>	21	13	100	10	0
Botr. myc. ²⁾	20	15	10	40	0
Botr. aarde ³⁾	30	12	0	73	0
Vorst + Botr. myc.	24	9	50	100	75
Vorst + Botr. aarde	30	6	12	100	73

¹⁾ gedurende 16 uur bij -3,5° C
during 16 hours at -3,5° C

²⁾ agar met *Botrytis*-mycelium bij de voet
agar with Botrytis-mycelium at the foot

³⁾ grond geïnfecteerd met *Botrytis*
soil infected with Botrytis

⁴⁾ van de overlevende planten
of the surviving plants

Men kan verwachten, dat de *Botrytis*, die in het veld door nachtvorst beschadigde planten aanvalt, afkomstig is uit de grond of met het zaaizaad is meegekomen, wanneer dit slecht bewaard en niet ontsmet is. Om de mogelijkheid van besmetting vanuit de grond te onderzoeken, werd aan steriele tuinaarde een cultuur van *Botrytis* in grond toegevoegd. Van de hierin gezaaide erwten werd ruim 30 % direct aangetast en kwam niet op. De planten, die zich wel ontwikkelden, waren kleiner dan de onbehandelde planten en hadden een donker epicotyl. Hoewel deze plantjes na blootstellen aan lage temperatuur niet direct afstierven, bleven zij klein, met donkere voet en min of meer verwelkte blaadjes. Op den duur bleven ook zij niet in leven (tabel 3).

Om de invloed van besmet zaad na te gaan, werden met sublimaat ontsmette erwten gedurende ± 4 uren in een conidiën-suspensie van *Botrytis* ondergedompeld. Uit tabel 4 blijkt, dat van deze zaden een deel niet opkwam, terwijl na blootstellen aan lage temperatuur nog 13 % van de zwakke plantjes stierf. Van de onbehandelde planten stierf slechts 1 %. Na 4 weken waren deze uitgegroeid tot stevige plantjes van gemiddeld 10 cm hoogte, terwijl de aangetaste en aan vorst blootgestelde planten zwak waren, gemiddeld slechts 3 cm lang, terwijl de te verwachten vertakking slechts bij 22 % te vinden was. Zij groeiden na de behandeling niet meer en leidden een kwijnend bestaan (fig. 8).

TABEL 4. Invloed van vorst op planten gekweekt uit zaad met *Botrytis* besmet
Influence of frost on plants grown from seeds contaminated with Botrytis
Behandeling 18 dagen en meting 28 dagen na zaaïen
Treatment 18 days and measured 28 days after sowing

Behandeling <i>Treatment</i>	Aantal zaden <i>Number of seeds</i>	Opgekomen in % <i>Emergence in %</i>	Gedood door vorst in % <i>Killed by frost in %</i>	Gem. lengte in cm ³⁾ <i>Average length cm ³⁾</i>	Abnormaal vertakt in % ³⁾ <i>Abnormally branched in % ³⁾</i>	Voet donker <i>Foot dark in % ³⁾</i>
Onbehandeld <i>Untreated</i>	162	96	—	10	0	11
Vorst ¹⁾ <i>frost ¹⁾</i>	162	99	1	7	65	9
Botr. susp.	162	83	—	5	15	100
Vorst + Botr. susp. .	162	69	13 ⁴⁾	3	22	100

¹⁾ gedurende 16 uur bij $-3,5^{\circ}\text{C}$
during 16 hours at $-3,5^{\circ}\text{C}$

²⁾ zaden besmet met conidiën-suspensie van *Botrytis*
seeds contaminated with a spore suspension of Botrytis

³⁾ berekend van de overlevende planten
calculated from the surviving plants

⁴⁾ de overige zwak
the others weak

Uit de boven beschreven en andere proeven bleek:

1. Na blootstellen aan lage temperatuur (16 uur bij $-3,5^{\circ}\text{C}$) vertonen jonge erwtenplantjes van het ras Rondo typische symptomen van vorstbeschadiging. Het percentage vertakte planten na vorst is bij de gezonde planten steeds groter dan bij geïnfecteerde. De laatste zijn vaak zo verzwakt, dat zij geen zijspuiten meer kunnen maken (tabel 3 en 4).

2. *Botrytis*, aanwezig in de grond of op de zaadhuid, kan slechte opkomst tengevolge hebben; de kiemplanten blijven klein door weggroten van de cotylen en door aantasting van de stengelvoet. Gezonde, goed groeiende planten worden door *Botrytis* nauwelijks aangetast.

3. Nachtvorst doet een hoog percentage van de besmette jonge planten afsterven (tabel 3). Minder sterk aangetaste, door vorst beschadigde planten reageren met een donkere draadvormige stengel en vallen om. *Botrytis* en nachtvorst doen elk voor zich aan krachtige planten weinig schade. De beide factoren te samen kunnen de plant doen afsterven.

Microscopisch onderzoek wees uit, dat met *Botrytis* besmette planten na vorst soms nog wel in staat zijn tot vorming van een inwendige wondkurklaag om de centrale cylinder, waarbij de buitenste schorslagen, met intracellulair mycelium grotendeels afgestoten worden. De houtvaten hebben roodverkleurde wanden en donkere inhoud, hetgeen men op het veld ook duidelijk kan waarnemen. In deze toestand kan de plant nog enige weken blijven leven, doch tenslotte blijkt de verkurkte laag niet in staat de schimmel tegen te houden en de plant sterft. Andere met *Botrytis* besmette planten vormden na vorst geen kurkweefsel. In de intercellulaire van de binnenste schorslagen was slechts weinig lucht aanwezig; de planten bleven glazig en stierven snel af.

b. Sclerotinia sclerotiorum (LIB.) MASSEE

Mycelium deed aan steriele planten in buizen weinig schade; zij bleven iets kleiner dan de contrôles en kregen een donkere vlek op de stengelvoet en enkele donker verkleurde wortels. Het merendeel van de planten door lage temperatuur glazig geworden, werd echter direct door het bijgebrachte mycelium doorwoerd, waarna zich sclerotiën op de stengeltjes vormden (fig. 9). Zonder mycelium herstelden alle glazige plantjes zich onder het vormen van zijassen. Zowel bij uitzaaien in besmette aarde als na inoculatie met mycelium gold ook voor planten in potten de regel, dat lage temperatuur-behandeling en schimmel samen ernstiger gevolgen hadden dan de som van beide factoren afzonderlijk (tabel 5). Sclerotiën werden in de potten echter nooit gevormd. De weefsels van de behandelde planten bleven glazig zonder zich te herstellen. Het lukte niet de parasiet hieruit te herisoleren. Andere microörganismen, zoals *Trichoderma*-, *Aspergillus*- en *Fusarium*-soorten namen de plaats in. Ook te velde werd *Sclerotinia* zelden geïsoleerd.

Microscopisch kwam het ziektebeeld met dat van *Botrytis* overeen, hoewel meestal geen wondreactie optrad.

TABEL 5. Invloed van vorst en *Sclerotinia sclerotiorum* op planten in potten

Influence of frost and Sclerotinia sclerotiorum on plants in pots

Zaaidatum (date of sowing): 25-8; behandeling (treatment): 5-9; meting (measured): 14-9.

Behandeling Treatment	Aantal planten Number of plants	Dood door behandeling in % Killed by treatment in %	Gemiddelde lengte in cm ⁴⁾ Average length in cm ⁴⁾	Abnormaal vertakt in % ⁴⁾ Abnormally branched in % ⁴⁾
Onbehandeld	30	0	28	0
Vorst ¹⁾	30	20	27	63
Frost ¹⁾	30	20	27	63
S. myc. ²⁾	29	7	25	10
Vorst + S. myc.	30	50	18	23
onbehandeld	30	0	14	0
Vorst ¹⁾	30	57	13	13
Frost ¹⁾	30	57	13	13
S. aarde ³⁾	28	10	14	11
Vorst + S. aarde	30	70	4	0

¹⁾ gedurende 16 uur bij -3,5° C
during 16 hours at -3,5° C

²⁾ mycelium van *Sclerotinia* bij de voet gebracht
mycelium of *Sclerotinia* placed at the foot

³⁾ grond met *Sclerotinia* besmet
soil contaminated with *Sclerotinia*

⁴⁾ berekend van de overlevende planten
calculated from the surviving plants

c. Fusarium avenaceum (FR.) SACC.

Zowel bij proeven in buizen als bij potproeven viel dezelfde grote tegenstelling waar te nemen tussen het gedrag van mycelium bij normale en bij door vorst beschadigde planten. In het laatste geval trad een bruine verkleuring op van het aanvankelijk glazige, vuil witte schorsweefsel. Conidiën ontwikkelden zich op het epicotyl of op de cotylen, terwijl de vaatbundels donker verkleurden (tabel 6).



Fig. 6. A: 3 planten van het veld, ras Kelvedon Wonder, beschadigd door vorst, foto 26 Mei. Links: spleet in internodiën; midden en rechts: korte internodiën en vroege vertakking. B: volwassen plant, ras Rondo, beschadigd door vorst, foto eind Juli; voet donker; een zijas neemt de plaats van de hoofdas in.

A: 3 plants from a field, of the variety Kelvedon Wonder, damaged by frost, photographed 26 May. Left: internode split open. Middle and right: short internodes and early branching. B: mature plant of the variety Rondo, damaged by frost, photographed end of July. Showing discoloration of the foot and a lateral taking the place of the main axis.

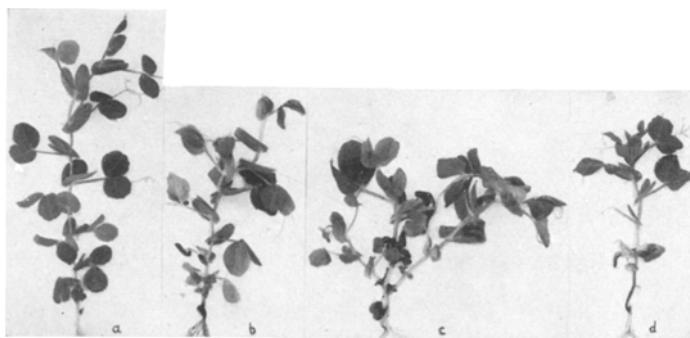


Fig. 7. 28 dagen oude planten. a: onbehandeld. b: geïnoculeerd met mycelium van *Botrytis cinerea*. c: blootgesteld aan $-3,5^{\circ}\text{C}$ gedurende 16 uur, 10 dagen na zaaien. d: vorst en *Botrytis* samen.

*Plants 28 days old. a: untreated. b: inoculated with mycelium of *Botrytis cinerea*. c: exposed to $-3,5^{\circ}\text{C}$ for 16 hours 10 days after sowing. d: frost and *Botrytis* together.*



Fig. 8. Van links naar rechts: 1: onbehandelde plant. 2: plant 10 dagen na zaai gedurende 16 uur aan $-3,5^{\circ}\text{C}$ blootgesteld. 3: erwt voor zaaien in suspensie van *Botrytis cinerea* gedompeld. 4: vorst en *Botrytis* samen.
*From left to right: 1: untreated. 2: plant exposed to $-3,5^{\circ}\text{C}$ for 16 hours, 10 days after sowing. 3: seed treated with *Botrytis*-suspension before sowing. 4: frost and *Botrytis* together.*

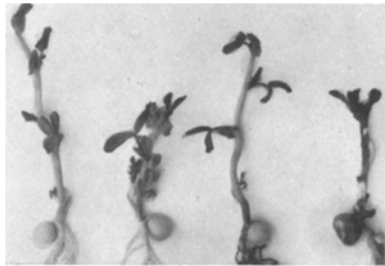


Fig. 9. Planten opgekweekt in buizen. Van links naar rechts: 1: onbehandelde plant. 2: 13 dagen na zaaien blootgesteld aan -8°C gedurende 35 minuten. 3: mycelium van *Sclerotinia sclerotiorum* bij voet gebracht. 4: vorst en *Sclerotinia* samen.
*Plants grown in tubes. From left to right: 1: untreated. 2: exposed to -8°C for 35 minutes, 13 days after sowing. 3: mycelium of *Sclerotinia sclerotiorum* placed at the foot. 4: frost and *Sclerotinia* together.*



Fig. 10. Planten 24 dagen oud. Van links naar rechts: 1: onbehandelde plant, 2: 11 dagen na zaaien blootgesteld aan $-3,5^{\circ}\text{C}$ gedurende 16 uur. 3: uitgezaaid in grond besmet met *Fusarium avenaceum*. 4: vorst en *Fusarium* samen.
*Plants 24 days old. From left to right: 1: untreated. 2: exposed to $-3,5^{\circ}\text{C}$ for 16 hours, 11 days after sowing. 3: grown in soil contaminated with *Fusarium avenaceum*. 4: frost and *Fusarium* together.*

TABEL 6. Invloed van vorst en *Fusarium avenaceum* op planten in potten*Influence of frost and Fusarium avenaceum on plants in pots*Zaadatum (*date of sowing*): 25-8; behandeling (*treatment*): 3-9; meting (*measured*): 13-10

Behandeling <i>Treatment</i>	Aantal planten <i>Number of plants</i>	Dood na be- handeling in % <i>Killed by treatment in %</i>	Gem. lengte in cm ²⁾ <i>Average length in cm ²⁾</i>	Abnormaal vertakt in % ³⁾ <i>Abnormally branched in % ³⁾</i>	Voet donker in % ³⁾ <i>Foot dark in % ³⁾</i>
Onbehandeld	30	0	27	0	0
Vorst ¹⁾	30	13	21	73	0
F. myc. ²⁾	30	7	27	20	60
F. myc + vorst	30	43	8	13	57

¹⁾ gedurende 16 uur bij -3,5° C*during 16 hours at -3,5° C*²⁾ mycelium van *Fusarium avenaceum* bij de voet gebracht*mycelium of Fusarium avenaceum placed at the foot*³⁾ berekend van de overlevende planten*calculated from the surviving plants*

Andere wijzen van inoculeren, zoals uitzaaien in besmette grond gaf hetzelfde effect (fig. 10).

Bij microscopisch onderzoek van planten aan vorst blootgesteld, bleek de schimmel eerst inter- later ook intracellulair de schors te doorgroeien. Een eenzijdige aantasting werd soms door een wondweefsel afgesloten.

d. Fusarium solani (MART.) APP. et WR.

Hoewel de hier gebruikte stam tot de meest virulente behoorde van vele onderzochte, was het resultaat van proeven in buizen als bij *F. avenaceum* beschreven (tabel 7).

TABEL 7. Invloed van vorst en *Fusarium solani* op planten in buizen.*Influence of frost and Fusarium solani on plants in tubes.*Zaadatum (*date of sowing*): 3-11; behandeling (*treatment*): 16-11; meting (*measured*): 22-11.

Behandeling <i>Treatment</i>	Aantal planten <i>Number of plants</i>	Dood na be- handeling in % <i>Killed by treatment in %</i>	Gem. lengte in cm ²⁾ <i>Average length in cm ²⁾</i>	Abnormaal vertakt in % ³⁾ <i>Abnormally branched in % ³⁾</i>	Voet donker in % ³⁾ <i>Foot dark in % ³⁾</i>
Onbehandeld	23	0	9½	13	0
Vorst ¹⁾	22	0	6	77	0
F. myc. ²⁾	21	0	10	14	29
Vorst + F. myc.	22	73	5	41	27

¹⁾ gedurende 35 minuten bij -8° C*during 35 minutes at -8° C*²⁾ mycelium van *F. solani* bij voet gebracht*mycelium of F. solani placed at the foot*³⁾ Berekend van alle planten*calculated from all plants*

Bij potproeven was hetzelfde effect moeilijker te bereiken. Op de *Fusarium solani*-voetziekte zal hier echter niet nader worden ingegaan.

e. Ascochyta pinodella L. K. JONES

Uit zaden, uitgelegd in besmette grond of voor het zaaien gedompeld in een sporensuspensie, ontwikkelden zich kleine plantjes met donkere voet. Terwijl enerzijds vooral jonge planten meer van deze parasiet te lijden hadden, dan van de tot dusver in het onderzoek betrokken schimmels, was anderzijds de invloed van lage temperatuur op de oudere besmette planten minder opvallend dan in de vorige gevallen. Het percentage planten, met mycelium besmet, dat onder invloed van beide factoren afstierf, was betrekkelijk laag. Van de dwergplantjes in besmette grond stierf echter 65 % na blootstellen aan lage temperatuur, terwijl de overlevende niet meer tot vertakken in staat waren (tabel 8).

TABEL 8. Invloed van vorst en *Ascochyta pinodella* op planten in buizen en in potten
Influence of frost and Ascochyta pinodella on plants in tubes and in pots

Behandeling Treatment	Aantal planten Number of plants		Dood na behandeling in % Killed by treatment in %		Gemiddelde lengte in cm ⁴⁾ Average length in cm ⁴⁾		Abnormaal vertakt in % ⁴⁾ Abnormally branched in % ⁴⁾		Voet donker in % ⁴⁾ Foot dark in % ⁴⁾	
	in buizen in tubes	in potten in pots	in buizen in tubes	in potten in pots	in buizen in tubes	in potten in pots	in buizen in tubes	in potten in pots	in buizen in tubes	in potten in pots
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Onbehandeld . . .	13	29	0	0	9	35	0	0	20	0
Vorst ¹⁾	13	30	8	13	3½	23	85	73	23	0
Frost ¹⁾										
A. myc. ²⁾	67	30	0	0	8	33	4	3	95	27
Vorst + A. myc. .	30	29	21	21	4	21	73	76	98	62
Onbehandeld . . .		29		0		35		3		3
Vorst		30		3		23		60		20
Frost										
A. aarde ³⁾		30		0		33		3		73
Vorst + A. aarde .		29		65		21		0		97

¹⁾ Planten in buizen gedurende 35 minuten bij -8° C; in potten gedurende 16 uur bij -3,5° C
Plants in tubes during 35 minutes at -8° C; those in pots during 16 hours at -3,5° C

²⁾ Mycelium van *Ascochyta pinodella* bij de voet gebracht
Mycelium of Ascochyta pinodella placed at the foot

³⁾ Grond met *Ascochyta pinodella* besmet
Soil infected with Ascochyta pinodella

I: Planten in buizen. Zaai (*sowing*) 7-10; behand. (*treatment*) 16-10; meting (*measured*) 24-10.
Plants in tubes

II: Planten in potten. Zaai (*sowing*) 25-8; behand. (*treatment*) 2-9; meting (*measured*) 19-10.
Plants in pots

⁴⁾ Berekend van de overlevende planten
calculated from the surviving plants

Bij microscopisch onderzoek van ongeveer 2 maanden oude voetzieke planten, die door lage temperatuur beschadigd waren, waren de necrotische schorscellen met donkere wand en inhoud en intercellulair mycelium, sterk gelocaliseerd. Zij werden door een wondweefsel, gevormd door niet aangetaste diepere schorslagen, scherp gescheiden van het gezonde stengelgedeelte, dat bleef functioneren. De vaten waren niet verkleurd. Dergelijke planten kunnen nog lang in leven blijven en een, zij het ook kwijnend bestaan leiden. De invloed van

vorst en schimmel samen is hier niet veel meer dan de som van elk dezer factoren afzonderlijk.

Vergelijkt men het gedrag van b.v. *Fusarium avenaceum* met dat van *Ascochyta pinodella*, dan valt het verschil in karakter op. Als *Fusarium* eenmaal toegang heeft gekregen tot de door vorst glazig geworden weefsels, worden de cellen waarschijnlijk door toxine in een zodanige toestand gebracht, dat wondreactie's uitblijven. Zijtakken worden niet meer gevormd. *Ascochyta* tast daarentegen de diepere schorslagen niet aan, waardoor deze tot wondreacties in staat blijven. Zijtakken kunnen gevormd worden.

D. Zaadontsmetting

Het feit, dat bodemschimmels zowel voor als na het optreden van vorst ernstige schade kunnen veroorzaken, doet de vraag rijzen of zaadontsmetting misschien indirect tegen nachtvorstschade van belang kan zijn. Wel hebben de uitgroeiende stengel en wortel na de ontkieming geen nut meer van een beschermende laag, doch de cotylen kunnen nog lang door een ontsmettingsmiddel bedekt blijven. Juist deze organen worden na vorst week en vallen ten prooi aan *Botrytis* of andere schimmels, die door de aanhechtingsplaatsen gemakkelijk toegang tot de glazig geworden voet kunnen verkrijgen. Bovendien zijn planten met gave cotylen sterker dan andere, die deze organen vroeg verliezen. De aanwezige reservestoffen komen aan de plant ten goede, die daardoor indirect beter tegen lage temperatuur bestand is.

In potten met aarde, besmet met verschillende schimmels, werden al of niet met phygon ontsmette zaden uitgezaaid. Uit vele beschermingsmiddelen werd dit middel gekozen als het meest gebruikte voor erwten. Eén van de proefreeksen, weergegeven in tabel 9 werd uitgevoerd met het ras Unica.

Uit vergelijkbare proefreeksen bleek het volgende:

- 1e Het % opgekomen planten is bij phygon-ontsmetting hoger dan zonder ontsmetting (tabel 9, kolom II);
- 2e Planten ontwikkeld uit ontsmette zaden zijn gemiddeld langer dan uit niet ontsmette zaden. De stengels zijn forser, de internodiën langer en de blaadjes groter (kolom III);
- 3e De cotylen van de behandelde zaden hebben minder neiging tot rotting en afvallen dan bij de onbehandelde (kolom IV);
- 4e De phygon-laag op de zaadhuid belet het binnendringen van bodemschimmels. De voetaantasting is bij de planten, opgegroeid uit ontsmet zaad, dan ook minder dan zonder ontsmetting (kolom V);
- 5e Het aantal planten afgestorven door blootstellen aan lage temperatuur, was in de ontsmette reeksen in het algemeen iets lager dan in de niet-ontsmette (kolom VI). De eerste weerstonden de lage temperatuur beter, en zo er al een hoog % te gronde ging, zoals b.v. bij besmetting met *Fusarium avenaceum* het geval was, dan namen de buurplanten weldra de ruimte in door hun sterke ontwikkeling. Hierdoor zagen de reeksen met zaadontsmetting er beter uit dan die zonder.

Ook voor *Botrytis cinerea* kwam het resultaat met het bovenstaande overeen. Door behandeling met phygon dringen bodemschimmels de cotylen minder gemakkelijk binnen. De plantjes zijn sterker en beter tegen vorst bestand.

LAMMERS (1949) beschrijft hoe bij een phygonproef, na optreden van nachtvorst het phygon-object op de rij af niet door *Botrytis* werd aangetast. Zaadbescherming helpt uiteraard niet tegen schimmels, die zich al in het zaad bevinden.

TABEL 9. Zaden van het ras Unica beschermd met phygon en niet beschermd uitgezaaid in besmette grond. Lage temperatuur-behandeling

Seeds of the Unica-variety protected and non-protected by phygon sown in infected soil. Low temperature-treatment

Zaai (sowing): 13-2; behandeling (treatment): 13-3; meting (measured): 3-4.

Behandeling Treatment	I Aantal planten Number of plants	II Opgekomen in % Emergence in %	III Gemiddelde lengte in cm Average length in cm	IV Cotylen rot of afgevallen in % Cotyledons rotten in %	V Voet donker in % Foot dark in %	VI Dood binnen 50 dagen in % Dead within 50 days in %
Onbehandeld . . .	28	93	7½	18	14	0
Ph ¹⁾	29	97	10	0	0	0
b ²⁾	29	97	6	34	28	48
b + ph	30	100	9	30	10	37
F. av. ³⁾	30	100	9	27	93	0
S. scl. ⁴⁾	23	77	9	61	17	0
F. sol. ⁵⁾	29	97	10	55	21	0
A. pd. ⁶⁾	27	90	9	100	100	37
F. av. + ph	30	100	11	43	3	0
S. scl. + ph	25	83	11	24	8	0
F. sol. + ph	30	100	14	7	3	0
A. pd. + ph	30	100	13	90	60	0
F. av. + b	26	87	7	50	77	46
S. scl. + b	20	67	5	80	50	35
F. sol. + b	30	100	8	87	43	27
A. pd. + b	28	93	7	100	100	43
F. av. + b + ph	29	97	8½	38	45	45
S. scl. + b + ph	25	83	8	60	28	28
F. sol. + b + ph	31	100	9	48	26	16
A. pd. + b + ph	30	100	8	100	90	40

¹⁾ ph: zaad beschermd met phygon
seed protected by phygon

²⁾ b: gedurende 16 uur bij -3,5° C
during 16 hours at -3,5° C

³⁾ F. av.: grond besmet met *Fusarium avenaceum*
soil infected with Fusarium avenaceum

⁴⁾ S. scl.: grond besmet met *Sclerotinia sclerotiorum*
soil infected with Sclerotinia sclerotiorum

⁵⁾ F. sol.: grond besmet met *Fusarium solani*
soil infected with Fusarium solani

⁶⁾ A. pd.: grond besmet met *Ascochyta pinodella*
soil infected with Ascochyta pinodella

BESPREKING DER RESULTATEN

De veranderingen, die na blootstellen van jonge erwtenplanten aan lage temperatuur het duidelijkst opvallen, zijn van morphologische aard. Daar de vroegtijdig ontwikkelde en onregelmatig geplaatste zijassen later toch rijkelijk peulen kunnen dragen, heeft men de gevolgen van nachtvorst niet als ernstig beschouwd.

De gevoeligheid van jonge planten voor vorst, die direct na de ontkieming slechts klein is, neemt toe met het ouder worden. Dit verklaart het verschil in gedrag, dat vaak is opgemerkt bij planten van naast elkaar gelegen percelen, die na elkaar gezaaid werden. De eerst gezaaide velden kunnen van late vorst veel te lijden hebben, terwijl de later gezaaide geen schade behoeven te onder vinden. Er zijn gevallen uit de practijk bekend, waarbij een bepaalde zaaidatum duidelijk de grens aangaf. Het optreden van voetziekte in de Noord-Oostpolder in 1948 schijnt hiermee in verband te staan (LAMMERS, 1948).

Physiologische veranderingen, zoals het glazig worden na vorst door verlies van lucht uit de intercellularen, zijn moeilijker waar te nemen. Herstel treedt in gevallen van niet te zware beschadiging, slechts langzaam op. Lange tijd na de vorstperiode is het epicotyl van beschadigde planten nog vuilwit en glazig, in tegenstelling met de schors van gezonde planten, waar op doorsnede witglanzende en heldergroene chlorophyllrijke schorsgedeelten scherp van elkaar gescheiden zijn. In het glazige weefsel dringen verschillende parasieten, die een goed groeiende, gezonde plant niet aanvallen, gemakkelijk binnen. Vooral *Botrytis cinerea* kan men na vorst vaak aantreffen. Infectie van uit de lucht is mogelijk, doch bij een bespuiting met een conidiënsuspensie van planten aan vorst blootgesteld, waren het niet in de eerste plaats de stengeldelen, die met vorstverschijnselen reageerden, die aangetast werden. Infectie vanuit de grond heeft echter zeer makkelijk plaats, zelfs in grond kunstmatig met andere schimmels besmet, drong *Botrytis* soms spontaan het eerst de glazige voet binnen. Het is dan ook niet te verwonderen, dat *Botrytis*-aantasting het eerst als gevolg van nachtvorst beschreven werd, hoewel, zoals door dit onderzoek gebleken is, ook andere schimmels, zoals *Fusarium avenaceum* kunnen binnendringen, dikwijls via de cotylen. Het gedrag van deze parasiet is schijnbaar grillig. In gezonde, krachtig groeiende planten dringt deze niet binnen of vormt scherp afgegrensde necrotische vlekken in de schors. In weefsels, die door vorst of andere oorzaken in verzwakte toestand gebracht zijn, dringt de schimmel binnen onder vorming van dicht inter-, later intracellulair mycelium. Daar men de uiterst kleine veranderingen in de cellen, waarvoor de schimmel gevoelig is, van buiten aan een stengel niet kan zien, is het vaak niet duidelijk, waarom de hyphen in het ene geval wel en in het andere niet binnendringen.

Een geheel ander karakter heeft *Ascochyta pinodella*, die zowel jonge als oudere planten binnendringt, zonder dat vorstbeschadiging nodig is. Wel gaat de uitbreiding sneller in door vorst beschadigde planten.

Welke schimmels in een beschadigde stengelvoet binnendringen, zal afhangen van de bodemflora ter plaatse, van de toestand van de weefsels en van de temperatuur en vochtigheid. Geen wonder, dat bij dit ingewikkeld samenspel van plant, micro-organismen en wisselende omstandigheden, die invloed op beide partijen uitoefenen, verschillende organismen de stengelvoet kunnen bewonen. Als inleidende factor tot dit desintegratie-proces moet men de verzwakte toe-

stand van de weefsels zien. Een schimmel zoals *Sclerotinia sclerotiorum* kan dit proces bevorderen, zonder zelf binnen te dringen. *Ascochyta pinodella* maakt op de hier behandelde groep schimmels een uitzondering. Op een veld, waar vele jonge plantjes van het ras Rondo ernstig van vorst te lijden hadden, vertoonden later de beschadigde zowel als de onbeschadigde planten zwarte voeten, veroorzaakt door *Ascochyta pinodella*. Uit de voeten van de beschadigde planten werden bovendien nog vele andere schimmels geïsoleerd, zoals *Fusarium avenaceum*, *F. solani*, *F. culmorum*, *Aspergillus* sp., een *Chaetomium* sp. en andere.

Vorst is niet de enige oorzaak, die voetziekte tengevolge kan hebben. Het is bekend, dat in Zeeland herhaaldelijk „voetziektejaren” optraden, waarin van nachtvorst geen sprake was. Op dit probleem zal hier niet verder worden ingegaan.

Op vele andere wijzen dan door blootstellen aan lage temperatuur kan een weefsel glazig gemaakt worden, waarbij lucht uit de intercellulaire door water of celvocht vervangen wordt. Tal van schimmels dringen weefsels in de toestand van „water-congestion” makkelijk binnen (JOHNSON, 1947). Mogelijk is het vocht in de intercellulaire een gunstig milieu voor de hyphen. Dit zou men kunnen afleiden uit het feit, dat de meeste schimmels eerst inter- en later pas intracellulair groeien. Zoals reeds in de inleiding besproken is, bestaan er verschillende opvattingen omtrent de factoren, die de dispositie van een weefsel voor bepaalde schimmels bepalen. Door THATCHER (1939) is het probleem nader tot oplossing gebracht. Van weefsels van selderij, aangetast door *Sclerotinia sclerotiorum* en *Botrytis cinerea* ging hij de permeabiliteit na, door geplasmolyseerd weefsel te brengen in een hypotonische suikeroplossing. De tijd nodig tot deplasmolyseren is een maat voor de permeabiliteit. Hij vond een geleidelijk toenemen van de permeabiliteit van af het gezonde weefsel in de richting van het centrum van de infectie. Hoge permeabiliteit gaat vooraf aan de dood van de cellen. Men mag aannemen, dat de toxinen door de hyphen afgescheiden, deze verandering bewerkstelligen. Omgekeerd zal men kunnen verwachten, dat alle factoren, die ongunstig op de plant werken, in die zin, dat de permeabiliteit verhoogd wordt, binnendringen en uitbreiden van de schimmels begunstigen. Dit zou kunnen gebeuren door vorst, extreme vochtigheid, onevenwichtige bemesting of door andere factoren. Wanneer door verhoging van permeabiliteit vocht in de intercellulaire treedt en lucht verdreven wordt, zal de normale gaswisseling niet meer kunnen plaats vinden. Dit zal tot verdere degeneratie leiden en de cellen voor bepaalde schimmels nog makkelijker toegankelijk maken. Door schimmels afgescheiden toxische stoffen zullen in dezelfde richting werken. Krachtig groeiende planten met tonoplasten, waarvan de permeabiliteit zich niet licht laat veranderen, zullen voor zwakke parasieten moeilijker toegankelijk zijn.

HET KWEKEN VAN RASSEN RESISTENT TEGEN DE GEVOLGEN VAN VORST

Het glazig worden van de voet van jonge erwtenplanten maakt het binnendringen van bepaalde parasieten mogelijk. Eén der oorzaken, waardoor dit kan gebeuren is vorst. De snelheid, waarmee de plant zich kan herstellen bepaalt, hoelang de plant in vatbare toestand blijft. Uit voorlopige proeven bleek, dat plantjes van het ras Rondo zich eerder herstellen na lage temperatuurbehandeling dan die van Unica. De eerste vertakken zich snel, terwijl de Unica's

dit niet deden. Er zijn dus duidelijke rasverschillen waar te nemen. Mogelijk is er naast verschillen in vorstresistentie ook onderscheid tussen de wijzen waarop planten van verschillende rassen op de aanwezigheid van schimmels reageren. Mogelijk hebben niet alle rassen evenveel van „voetziekte” te lijden na vorstbeschadiging. Ook hybriden zouden in dit opzicht getoetst kunnen worden. Toch is blootstellen aan lage temperatuur niet een in de eerste plaats aangegeven weg om de gevoeligheid van planten voor schimmels zodanig te verhogen, dat de resultaten bij de individuele planten vergelijkbaar zijn. Daartoe moet men over een vriesruimte met zeer gelijkmatige temperatuur beschikken en zelfs dan nog zijn de verschillen in vorstresistentie, die gelijk behandelde jonge planten vertonen, zeer groot. Ook met een goede installatie zal het moeilijk uit te maken zijn, of een hoge resistentie van een bepaalde hybride toegeschreven moet worden aan toevallige omstandigheden, zoals eventuele luchtstromingen, vochtigheid of bepaalde voeding, dan wel aan genetische factoren. De methode van EADES en WADE (1944), waarbij op nachtvorstresistentie getoetst wordt door de planten in een oplossing van tri-ethyleenglycol van -4°C te brengen, is mogelijk geschikt. Ook op andere wijzen, die nog nader onderzocht zullen worden kan men planten in een toestand van „water-congestion” brengen, waarin zij voor schimmels meer toegankelijk worden.

SAMENVATTING

1. Het doel van het onderzoek was het bestuderen van de invloed van nachtvorst op jonge erwtenplanten en van het gedrag van verschillende schimmels ten opzichte van de door vorst verzwakte planten.
 2. Jonge planten in potten, variëteit Rondo, verbleven gedurende 16 uur in een frigidaire bij $\pm -3.5^{\circ}\text{C}$ à -4°C . Steriel opgekweekte planten in buizen werden eveneens aan lage temperatuur blootgesteld om afzonderlijk de invloed van een bepaalde schimmel te kunnen onderzoeken.
 3. Het eerst zichtbare gevolg van de behandeling is een „glazig” worden van stengels en bladeren als gevolg van het vervangen van lucht in de intercellulairruimten door celvocht. De epidermis kan loslaten.
 4. Later vertonen de planten de gevolgen van beschadiging van het groeipunt en die organen, die tijdens de vorst in embryonale toestand verkeerden: korte, onregelmatig gevormde internodiën met barsten en omwallingen, soms ook vroegtijdig afsterven van de hoofdas en vroegtijdige ontwikkeling van zijassen. Een inwendige wondkurklaag sluit de buitenste schorslagen af. De verdere ontwikkeling der zijassen verloopt normaal.
 5. Vorst in de eerste helft van April heeft weinig invloed op de nog jonge plantjes. Op nachtvorst in de tweede helft van April en begin Mei reageren de planten met bovengenoemde verschijnselen. Voor late nachtvorsten zijn de dan verder ontwikkelde planten zeer gevoelig.
 6. Bij de voet van glazig geworden planten werd één van de volgende schimmels gebracht: *Botrytis cinerea* PERS., *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) MASSEE, *Fusarium avenaceum* (FR.) SACC., *Fusarium solani* (MART.) APP. et WR., en *Ascochyta pinodella* L. K. JONES.
- Ook werden de planten geïnoculeerd door de zaden voor het zaaien in een sporensuspensie onder te dompelen of door zaaien in besmette grond. De volgende resultaten werden verkregen:

- a. Alle genoemde schimmels behalve *Ascochyta pinodella* tasten gezonde planten weinig of niet aan. Door vorst gepraedisponeerde weefsels worden snel doorwoekerd. Een hoog % der planten sterft af. De invloed van vorst en schimmels samen is in alle gevallen zeer groot, terwijl elk dezer factoren afzonderlijk slechts weinig schade doet.
- b. *Ascochyta pinodella* is virulenter dan de andere onderzochte schimmels. Bij hoge luchtvochtigheid kan de schimmel jonge kiemplanten doen afsterven en oudere planten in ontwikkeling remmen. Wel heeft sterkere uitbreiding plaats in door vorst gepraedisponeerde weefsels dan in gezonde en jonge aangetaste planten sterven door vorst spoedig af.
7. Met phygon ontsmette zaden leveren sterkere en gezondere planten, die beter bestand zijn tegen vorst en daardoor minder gevoelig voor aantasting door schimmels.

SUMMARY

1. The purpose of the experiments was to study the influence of spring frost on pea plants and the behaviour of certain fungi in relation to plants weakened by low temperature.
2. About ten days old pea plants of the „Rondo”-variety grown in pots, were exposed to a temperature of -3°C to -4°C in a refrigerator during 16 hours. After the treatment the plants were placed in an incubator at 15°C – 20°C , thus imitating the differences in night- and daytemperature, which were frequently registered at different meteorological stations in the Netherlands at a height of 4 inches during the last week of April and during the month of May (table 1). Plants in sterile conditions in tubes were also exposed to low temperature.
3. Directly after exposure to low temperature all plants showed a dark green stem, slightly translucent on the flat sides. Under the epidermis, which detached from the cortex, air-bubbles were found. The plastids in the cells of the cortex enlarged and fell into small pieces, the protoplast became less lucid (fig. 1). In most cases plasmolysis was still possible. Air had disappeared from the intercellular spaces. If humidity was high, the „water-soaked” condition continued for several days. The physiological change is more important than the morphological changes which occurred afterwards.
4. The plants may recover, though the main axis may die partly or completely. If the growing point or other embryonic tissues were damaged, they stop developing in a normal way, giving rise to deformed internodes and leaves. Irregularly placed laterals developed prematurely (fig. 2). A woundcork layer developed in the epicotyl at an earlier stage than normally, rejecting the dead parts of the cortex. It might run as deep as the central parts of the stem, giving the lowest internodes an irregular shape (fig. 3).
5. Plants smaller than $1\frac{1}{2}$ –2" were less sensitive to frost than plants of about 4", which showed morphological changes (fig. 6). Plants over 6" were easily damaged and did not restore (table 2).
6. After exposure to frost the plants were inoculated with one of the following fungi: *Botrytis cinerea* PERS., *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) MASSEE, *Fusarium avenaceum* (FR.) SACC, *Fusarium solani* (MART.) APP. et WR. and *Ascochyta pinodella* L. K. JONES. In other cases seeds were sown in contaminated soil or treated with spore-suspensions before sowing.
 - a. *Botrytis cinerea*. If mycelium was placed on the epicotyl of nontreated sterile plants in tubes, hyphae developed mainly on the cotyledons and the filterpaper, without damaging the tissues of the hostplants. At the utmost small spots occurred as the consequence of necrotic epidermis cells (fig. 4). If mycelium was placed against the stem of plants, damaged by frost, which looked water-congested, the hyphae soon penetrated the tissues of stem and root. The plants were overgrown by the fungus within a week (fig. 5). Most of the plants, exposed to frost while grown under sterile conditions, recovered. The following conclusion can therefore be drawn: neither the damage caused by low temperature, nor that caused by the fungus only, is severe. However, the combination of these two factors on the same plants proves to be fatal. A slightly different result was obtained with plants in pots. The mycelium only slowly invaded the base of the plants, which had been exposed to frost. After 6 to 7 weeks the epicotyl and the lower internodes had become dark and thin, the top of the plant being still green and fresh. Soon the plants turned over and died (table 3). Conidia developed on the darkened parts of the stem.

The vascular bundles coloured deep red. The picture coincides completely with the one in the field in June (fig. 7). The same symptoms were observed on plants in contaminated soil, as well as on plants grown from seed treated with a spore-suspension before sowing (fig. 8). In these cases many seedlings were killed before emergence (table 4).

- b. *Sclerotinia sclerotiorum*. Contrary to non-frozen plants, which are hardly attacked by this fungus, plants exposed to frost are easily killed (table 5). In tubes under sterile conditions sclerotia developed on the plants (fig. 9); in pots, however, the fungus did not penetrate the tissues after killing the plant. Other fungi took its place: *Botrytis*, *Aspergillus* and others were isolated.
 - c. *Fusarium avenaceum*. This fungus behaved in the same way as *Botrytis*, giving a dark brown discolouration of the cortex and a red vascular bundle in the plants treated at low temperature (table 6). Among diseased plants sown in contaminated soil there was a striking difference between those which were exposed to low temperature and the non-treated ones (fig. 10). Those of the first group died for a great deal.
 - d. *Fusarium solani*. After inoculation with this fungus the roots in particular became soft and decayed slowly. The leaves turned yellow and the plants finally died off. Plants not exposed to low temperature were not or hardly attacked by the strain that was used in the experiments (table 7).
 - e. *Ascochyta pinodella*. Though this fungus also easily penetrated tissues that are damaged by frost, it attacked healthy plants as well. Specially if temperature and humidity were high, the fungus spread readily through the cortex. It is more virulent than the other fungi mentioned here, which only attacked tissues in a weakened condition (table 8).
7. Seed-treatment by phygon, a seed-protectant, proved to stimulate the growth of the plants: the cotyledons being protected against soilfungi. Those plants, which disposed over their food-reserves as long as possible, became stronger and were more able to cope with low temperature and fungus attack (table 9).
8. Frost is not the only factor which may weaken the tissues of the pea plant. Also by exhausting the air could be expelled from the intercellular spaces and replaced by water. In whatever way the tissues become water-congested, they can always easily be attacked by the above mentioned fungi. Perhaps this predisposition is due to the changed air-water ratio in the tissues, which facilitates the entrance of the fungi. More likely the problem is more complicated. The normal gaseous exchange between the cells and the intercellular spaces is disturbed. The cells, weakened by lack of oxygen or by a surplus of carbonous oxyd, show an increased permeability in combination with a decreased osmotic pressure. This condition may facilitate the entrance of certain fungi.

LITERATUUR

- BARY, A. DE - 1886. Ueber einige Sclerotinien und Sclerotinien krankheiten. Bot. Ztg. 44: 377-474.
- BENNET, F. T. - 1928. On two species of *Fusarium*, *F. culmorum* (W. G. Sm) Sacc. and *F. avenaceum* (Fries) Sacc. as parasite of cereals. Ann. Appl. Biol. 15: 213-244.
- BLACKMAN, V. H. and E. J. WELSFORD - 1916. Studies in the physiology of parasitism 2. Infection by *Botrytis cinerea*. Ann. Bot. 30: 389-398.
- BROOKS, F. T. - 1908. Observations on the biology of *Botrytis cinerea*. Ann. Bot. 22: 479-487.
- BROWN, W. - 1922. Studies in the physiology of parasitism VIII. Of the exosmosis of nutrient substances from the host tissue into the infection drop. Ann. Bot. 36: 101-119.
- 1935. On the *Botrytis* disease of lettuce, with special reference to its control. Pomology and Hort. Sc. 13: 247-259.
- 1948. Physiology of the facultative type of parasite. A discussion on the physiology of resistance to disease in plants. Proc. Roy. Soc. London, B. 135: 171-195.
- and C. C. HARVEY - 1927. Studies in the physiology of parasitism X. On the entrance of parasitic fungi into the host plant. Ann. Bot. 41: 643-662.
- BUESGEN, M. - 1918. Biologische Studien mit *Botrytis cinerea*. Flora 111-112: 606-620.
- CROSIER, W. F. - 1936. Prevalence and significance of fungous associates of pea seeds. Proc. Ass. Off. Seed Anal. N. Amer. 101-107.
- EADES, J. A. and B. L. WADE - 1944. Frost resistance tests with cold liquids. Proc. Amer. Soc. Hort. Sc. 45: 303-305.
- GOOSSSENS, J. A. A. M. H. - 1948. Iets over voet- en vaatziekten bij erwten. Meded. blad Pl. ziektenk. Dienst, Wageningen 3: 22-26.
- ILJIN, W. S. - 1933. Ueber den Kältetod der Pflanzen und seine Ursachen. Protoplasma 20: 105-124.

- JENSEN, A. B. – 1942. Studien über die Kälteresistenz von Pflanzenzellen. *Protoplasma* 36: 195–203.
- JOHNSON, J. – 1947. Water-congestion and fungus parasitism. *Phytopathology* 37: 403–417.
- JONES, L. K. – 1927. Studies of the nature and control of blight, leaf and pod spot and foot rot of peas caused by species of *Ascochyta*. *New York St. Agr. Exp. Sta. Bull.* 547: 3–46.
- JONES, L. R., J. JOHNSON and J. G. DICKSON – 1926. Wisconsin studies upon the relation of soil temperature to plant diseases. *Agr. Exp. St. Univ. Wisconsin, Madison, Res. Bull.* 71: 1–144.
- LAMMERS, R. P. – 1948. Verslag omtrent de technische werkzaamheden. *Peulvruchten Studie Combinatie* in 1948: 4–37.
- 1949. Verslag omtrent de technische werkzaamheden. *Peulvruchten Studie Combinatie* in 1949: 5–45.
- LANGNER, W. – 1936. Untersuchungen über Lärchen-, Apfel- und Buchenkrebs. *Phytopath. Z.* 9: 111–146.
- LEVITT, J. – 1945. Frost killing and hardiness of plants, a critical review, Minneapolis: 1–211.
- NOBÉCOURT, P. – 1928. Contribution à l'étude de l'immunité chez les végétaux. *Tunis*: 1–173.
- NOLL, W. – 1939. Untersuchungen über Fuss- und Welkekrankheiten bei Leguminosen. *Z. Pfl. krankheiten* 49: 385–431.
- PLANTENZIEKTENKUNDIGE DIENST – 1938. Verslag over de werkzaamheden in 1937, 89: 1–92.
- SCHREUDER, J. C. – 1949. Voet- en vaatziekten bij erwten. Tien jaren P.S.C., jubileum-uitgave 10-jarig bestaan der Peulvruchten Studie Combinatie, Wageningen: 136–143.
- STOLL, K. – 1950. Ein Beitrag zur Kenntnis der Chlamydosporenkeimung von *Ascochyta pinodella* JONES. *Nachr. bl. dtsch. Pfl. schutzdienst n.F.* 3: 96–100.
- THATCHER, F. S. – 1939. Osmotic and permeability relations in the nutrition of fungus parasites. *Amer. J. Bot.* 26: 449–458.
- VLOTEN, H. VAN – 1932. Rhabdoclone pseudotsugae Sydow, oorzaak eener ziekte van Douglas spar. *Diss. Wageningen* 1–168.
- WALKER, J. C. – 1939. Freezing injury to canning peas. *Phytopathology* 29: 188–194.
- WENT, J. C. – 1934. Fusarium-aantastingen van erwten. *Diss. Utrecht*: 1–83.
- WINTER, A. G. und R. VON RUEMKER – 1950. Die Mikroflora der Rhizosphaere als resistenzbestimmender Faktor. *Arch. Mikrobiol.* 15: 72–84.

EEN BLADVLEKKENZIEKTE VOORKOMEND OP DE POPULIEREN, VEROORZAAKT DOOR

SEPTOTINIA POPULIPERDA WATERMAN & CASH¹⁾

*With a summary: Leaf blotch of poplars caused by Septotinia populiperda
Waterman & Cash*

DOOR

Ir G. VAN DEN ENDE

Phytopathologisch Lab. „Willie Commelin Scholten”, Baarn

In Juni 1950 werden op de populieren-kwekerij van de Ned. Heide Mij te Hoog Keppel bladeren gevonden waarop bladvlekken voorkwamen. De geïsoleerde schimmel komt overeen met een door WATERMAN & CASH (1950) nieuw beschreven species van *Septotinia*. Dit is volgens hen de tweede soort van het door WHETZEL (1937) beschreven geslacht *Septotinia*, behorend tot de *Ciborioideae* der *Helotiaceae*. Het type-materiaal was *Septotinia podophyllina* op *Podophyllum peltatum*.

¹⁾ Ontvangen voor publicatie 5 Dec. 1951.