

ENKELE WAARNEMINGEN OVER HET OPTREDEN VAN DE VERWELKINGSZIEKTE BIJ LUZERNE IN ZEELAND IN 1957¹

With a summary: Some observations on lucerne wilt disease in Zeeland in 1957

DOOR

J. KORT en H. A. VAN RHEENEN
Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

INLEIDING

In 1957 en 1958 werd door de Plantenziektenkundige Dienst, op verzoek van de Rijkslandbouwconsulenten te Goes en Axel, een oriënterend onderzoek ingesteld naar de verwelkingsziekte in luzerne. Deze ziekte brengt in het zuiden van ons land veel schade toe aan dit gewas.

Als voornaamste veroorzaker van de verwelkingsziekte wordt algemeen *Verticillium albo-atrum* REINKE & BERTH. genoemd. ISAAC (1957) constateerde, dat behalve *V. albo-atrum* ook *V. dahliae* KLEB. verwelkingsverschijnselen in luzerne teweeg kan brengen, hoewel deze schimmel door hem slechts éénmaal uit verwelkte planten van 29 percelen kon worden geïsoleerd.

Bij de determinatie van de in dit artikel genoemde schimmels, speciaal waar het gaat om het onderscheid tussen *Verticillium albo-atrum* en *V. dahliae*, werden de opvattingen van het Centraal Bureau voor Schimmelcultures te Baarn gevolgd.

Behalve *V. albo-atrum* zijn nog enkele andere parasitaire organismen, zoals *Fusarium oxysporum* f. *medicaginis* WEIMER (WEIMER, 1928), *Corynebacterium insidiosum* (McCULLOCH) JENSEN (JONES & McCULLOCH, 1926) en de kort geleden beschreven *Flavobacterium vasculorum* RIBALDI en *Aerobacter luteum* RIBALDI (RIBALDI, 1958), in staat een verwelking van luzerne te veroorzaken.

Door de verwarring in de determinatie binnen het geslacht *Verticillium* in het verleden en door de vermelding van verschillende organismen als ziekteverwekkers, is de gedachte opgekomen dat ook andere *Verticillium*-soorten dan *V. albo-atrum*, en eventueel andere parasieten, in Zeeland een rol spelen.

Het onderzoek in deze provincie was in de volgende onderdelen gesplitst:

1. Het vaststellen van de mate, waarin de verwelkingsziekte in de voornaamste cultuurgebieden optreedt, alsmede een onderzoek naar de factoren die mogelijk hierop invloed uitoefenen.
2. Waarnemingen over het verloop van de ziekte gedurende het seizoen.
3. Bepaling van de identiteit van de ziekteverwekker(s).
4. Onderzoek naar onkruiden als waardplanten.
5. Invloed van het maaien op de uitbreiding van de ziekte.

Het onderzoek strekte zich uit over 1957 en 1958. De bovenstaande punten worden eerst behandeld, daarna de infectieproeven die werden uitgevoerd.

¹ Aangenomen voor publikatie 16 mei 1959.

1. *De mate van optreden van de ziekte en de invloed van verschillende factoren hierop.*

Teneinde informatie te verkrijgen over het optreden van de ziekte en over de factoren die mogelijk hierop invloed kunnen hebben werd door de Rijkslandbouwoorlichtingsdienst in geheel Zeeland een enquête gehouden, waarbij 82 luzernepercelen waren betrokken. Er werden gegevens over de volgende onderwerpen verzameld: het bouwplan in de voorgaande jaren, de cultuurtoestand van de grond, het voorkomen van onkruiden en het aantastingspercentage van het gewas door verwelkingsziekte. De laatste waarneming werd bepaald door per perceel volgens een vast schema op vijf plaatsen het aantal gezonde en aangetaste stengels per 200×25 cm te tellen. Van elk aangetast perceel werd een monster ziek materiaal naar de Plantenziektenkundige Dienst te Wageningen gezonden voor het maken van isolaties. De opzet om de waarnemingen in het gewas kort vóór de tweede snede uit te voeren was gebaseerd op de ervaring, dat de verwelkingsziekte zich in dit ontwikkelingsstadium van het gewas goed openbaart. Dit nu is in 1957 niet uitgekomen. In de meeste percelen trad de ziekte niet of zeer sporadisch op. De bepaling van het aantastingspercentage is daarom op een later tijdstip op 55 luzernepercelen herhaald. Dit geschiedde deels vóór de derde, deels vóór de vierde snede van het gewas.

Het is niet mogelijk gebleken om uit de enquête veel gegevens te verzamelen die in rechtstreeks verband met het optreden van de verwelkingsziekte kunnen worden gebracht. Dit geldt voor de voorvrucht, het gebruik van stal- en/of groenbemesting, de stand van het gewas en de kwaliteiten van de grond. Slechts ten aanzien van het gehalte aan afslibbare delen van de onderzochte percelen bleek, dat de ziekte op de zwaardere gronden minder ernstig optrad dan op de lichtere. Van de 55 aangetaste luzernepercelen waren er 47 overjarig en slechts acht in het voorgaande jaar onder dekvrucht ingezaaid. Dit is in overeenstemming met de ervaring dat de ziekte in het jaar van inzaai zelden wordt waargenomen. Het aantal aangetaste percelen met een slechte, matige en goede stand bedroeg respectievelijk 16, 61 en 23 % van het totaal. Binnen de beide eerste categorieën kwamen percelen voor met zeer uiteenlopende aantastingspercentages. In de gewassen met een goede stand bleek minstens de helft geen ziekteverschijnselen te vertonen, terwijl de overige in een lichte graad waren aangetast. Het gemiddelde aantastingspercentage van elke categorie afzonderlijk correleerde wel met de beoordeling van de stand. Deze percentages bedroegen voor de categorieën „slechte stand”, „matige stand” en „goede stand” resp. 10,1, 4,7 en 1,08. Voor elk afzonderlijk perceel was de aantastingsgraad van het gewas niet zonder meer uit de stand daarvan af te leiden.

2. *Waarnemingen over het verloop van de ziekte*

Teneinde inlichtingen te verkrijgen over het verloop van de ziekte werden in de Wilhelminapolder 10 en bij Kloosterzande in Zeeuwsch-Vlaanderen 12 permanente waarnemingsveldjes van 200×25 cm uitgezet (zie fig. 1). Op deze waarnemingsveldjes werd op 2 mei, 26 juni en 17 augustus 1957 het percentage aangetaste stengels bepaald. Tijdens elke beoordeling werd aangetast materiaal voor het maken van isolaties verzameld. Het bleek dat de aantasting op 26 juni (kort vóór de tweede snede van het gewas) minder ernstig was dan op 2 mei (ten

tijde van de eerste snede), overeenkomstig de bevindingen tijdens de enquête opgedaan. Op 17 augustus daarentegen had de ziekte zich sterk uitgebreid. De gemiddelde aantastingsgraad van de 22 veldjes bedroeg, uitgedrukt in procenten van het totaal aantal stengels, op de drie waarnemingsdata respectievelijk 20,7, 13,7 en 25,6.

Uit de waarnemingen van één jaar kan geen verklaring voor het ongelijke gedrag van de schimmel in verschillende jaren worden verkregen. Het is bekend dat *Verticillium* bij hoge temperaturen, b.v. 25°C, minder pathogeen is dan bij lagere, zoals is beschreven bij de tomaat (BEWLEY, 1922). Een vergelijking tussen de weergegevens van juni 1956 en juni 1957 toont wel grote verschillen aan. Juni 1956 was nat en koud, terwijl in die maand in 1957 weinig neerslag viel en de temperatuur zeer hoog was.

3. Bepaling van de identiteit van de ziekteverwekker(s)

Het verzamelde zieke luzernemateriaal werd in het laboratorium van de Afdeling Diagnostiek bewerkt. De monsters bestonden uitsluitend uit duidelijk aangetaste planten met een volledige penwortel. Van de wortels werd een stuk van 1 tot 4 cm afgesneden. Dit werd in leidingwater gereinigd, in alcohol 96 % gedompeld en afgebrand. Het wortelstuk werd daarna gebruikt voor het maken van isolaties op kersagar. Per monster werden vier petrischalen bij een temperatuur van 24°C weggezet en na ongeveer twee weken onderzocht. In tabel 1 zijn de resultaten hiervan weergegeven.

TABEL 1. Overzicht van de uit verwelkte luzerneplanten geïsoleerde schimmels en de frequentie van hun voorkomen.

The most frequently occurring fungi in wilted lucerne plants

Consulentschap <i>District</i>	Aantal monsters <i>Number of samples</i>	Percentage van het aantal monsters aangetast door <i>Percentage of samples attacked by</i>		
		<i>V. albo-atrum</i>	<i>Gliocladium</i>	<i>Fusarium</i>
Goes	38	50	2,5	69
Axel	49	35	10	84

Van de volgende isolaties werden reïncultures gemaakt voor infectieproeven:

Verticillium albo-atrum, cultuur 217a

Gliocladium roseum, cultuur 273

Fusarium avenaceum, cultuur 295

Verticillium albo-atrum, cultuur 217b ¹.

Het totale aantal isolaties uit ziek luzernemateriaal bedroeg 520, terwijl daarnaast nog ongeveer 1000 isolaties nodig waren om de verschillende schimmels in reïncultuur te krijgen. De verschillende schimmels kwamen veelvuldig tezamen in één plant voor en het was dus niet mogelijk om conclusies ten aanzien van de pathogeniteit van de afzonderlijke schimmels te trekken. Door de hieronder beschreven infectieproeven werden later aanvullende gegevens verkregen. Het ontbreken van *Verticillium dahliae* was een aanwijzing dat deze schimmel waarschijnlijk geen grote rol bij de verwelkingsverschijnselen in luzerne speelt.

¹ Deze isolatie werd eerst na de infectieproeven als *V. albo-atrum* gedetermineerd. Door afwijkingen in de groei van het mycelium was deze aanvankelijk niet als zodanig herkend.

4. Onderzoek naar onkruiden als waardplanten

Om na te gaan of de veroorzaker(s) van de verwelkingsziekte van luzerne zich ook in onkruiden kan (kunnen) ontwikkelen, werd tussen 24 en 28 juni 1957 op de waarnemingsveldjes een groot aantal onkruiden verzameld. Uit de wortels werden cultures op kersagar gemaakt. Deze werden na ongeveer twee weken onderzocht. Het totale aantal onderzochte species bedroeg 50; hiervoor waren 370 isolaties nodig.

Het overgrote deel van de aangetoonde schimmels bleek tot soorten te behoren, die als zwakteparasiet of als veroorzaker van secundaire aantastingen bekend staan. Voor later uit te voeren infectieproeven op luzerne werden van de onderstaande isolaties reincultures gemaakt:

uit <i>Plantago major</i> L.	<i>Verticillium albo-atrum</i> , cultuur 59
uit <i>Capsella bursa-pastoris</i> Med.	<i>Verticillium albo-atrum</i> , cultuur 57
uit <i>Capsella bursa-pastoris</i> Med.	<i>Verticillium dahliae</i> , cultuur 8
uit <i>Thlaspi arvense</i> L.	<i>Verticillium dahliae</i> , cultuur 24
uit <i>Prunella vulgaris</i> L.	<i>Verticillium dahliae</i> , cultuur 247
uit <i>Plantago major</i> L.	<i>Verticillium lecanii</i> , cultuur 59

In de overige 45 onderzochte onkruiden kwam geen *Verticillium* voor.

5. De invloed van het maaien op de uitbreiding van de ziekte

In de Wilhelminapolder werd een waarnemingsveldje aangelegd, waarop niet-maaïen, 1 × maaïen, 2 × maaïen en 3 × maaïen met elkaar werd vergeleken. De maaidata waren 4 mei, 28 juni en 19 augustus 1957. Het veldje werd uitgezet in een vrij homogeen door verwelkingsziekte aangetast gedeelte van een praktijkperceel overjarige luzerne. Na de eerste snede van het gewas vertoonden de planten op het nietgemaaid blok iets meer verwelkingsziekte dan op de gemaaid blokken. Dit werd vermoedelijk veroorzaakt door het schaduwrijke, vochtige microklimaat onder het dichte, in elkaar gezakte gewas. Op de onderste, aangetaste blaadjes kon schimmelpuis worden waargenomen. Later zou blijken dat op deze blaadjes, wanneer zij vochtig werden gelegd, vooral op de nerven een massale vorming van conidiëndragers van *Verticillium albo-atrum* optrad (fig. 2).

Na de tweede snede was de aantasting op de gemaaid blokken ernstiger dan op het nietgemaaid blok, terwijl tussen 1 × en 2 × gemaaid blokken duidelijke verschillen te zien waren ten nadele van de meest gemaaid blokken. Bij voortzetting van het maaien nam de aantasting nog meer toe.

Uit het bovenomschreven verloop van de waarnemingen in de Wilhelminapolder blijkt, dat er een samenhang moet bestaan tussen de frequentie van maaien en de mate waarin de ziekte zich openbaart, m.a.w. dat de gevoeligheid van het gewas toeneemt, naarmate het vaker wordt beschadigd. Dit gold op het waarnemingsveld reeds ten aanzien van het maaien alleen, omdat dit met de hand gebeurde. Op de praktijkpercelen geschiedt dit machinaal, waarbij het gewas bovendien door het rijden wordt gekneusd. De aantasting is daarom het ernstigste op de wielsporen van maaimachines, trekkers en vrachtauto's, welke laatste het gemaaid produkt van het land halen. Deze wielsporen zijn dan ook later duidelijk terug te vinden als banen verwelkte planten. Luzerne is zeer gevoelig voor beschadiging van wortelhals en kroon.

De op het aangetaste en afgevalen blad tot ontwikkeling komende sporen-



FIG. 1. Eén van de 12 waarnemingsveldjes in luzerne waarop de aantastingsgraad werd bepaald op 2-5, 26-6 en 17-8-1957.

One out of 12 observation plots in lucerne on which the degree of infestation was estimated on 2-5, 26-6 and 17-8-1957.

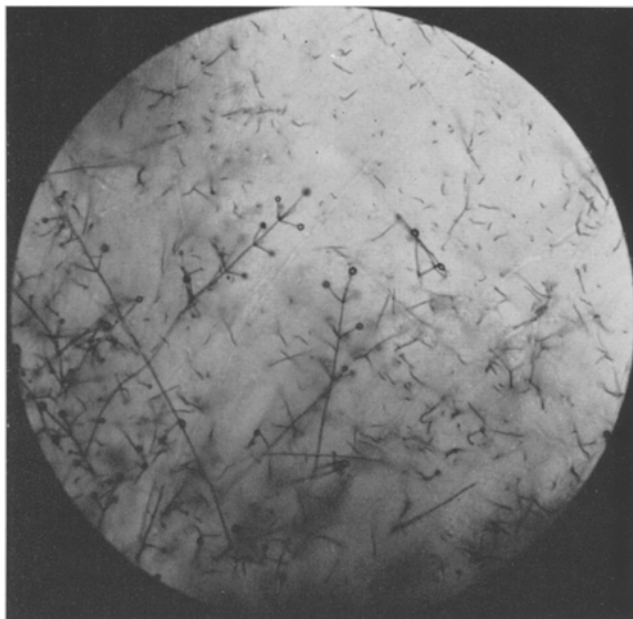


FIG. 2. Microfoto van de kransvormige conidiëndragers van *Verticillium albo-atrum*, gevormd op de nerven van vochtig gelegde, aangetaste luzerneblaadjes.

Micro-picture of whorled conidiophores of Verticillium albo-atrum, grown on the veins of attacked lucerne leaves, under favourable conditions of moisture.

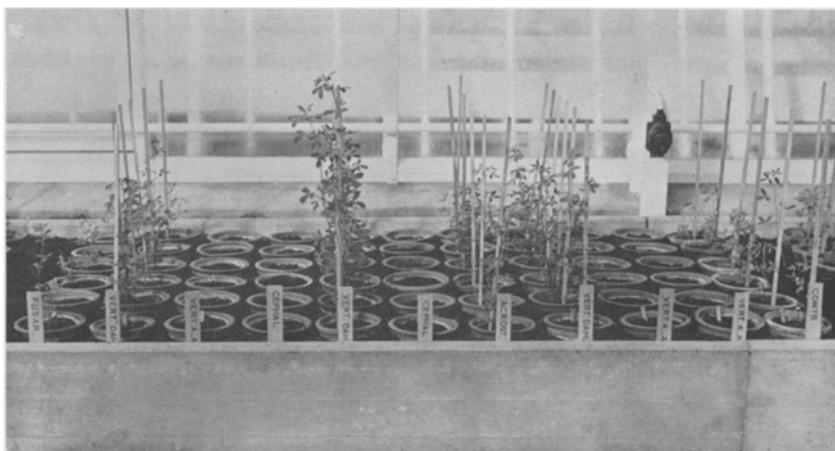


FIG. 3. Overzicht van de wortelinoculatieproef, 49 dagen na de inoculatie. De objecten 1-11 zijn gerangschikt van rechts naar links.

General view of the root-inoculation experiment, 49 days after inoculation. Subjects 1-11 placed from right to left.

Voor obj. 5 / for subj. 5 (Acrost.) lees / read *Gliocladium roseum*

Voor obj. 6 / for subj. 6 (Cephal.) lees / read *Verticillium lecanii*

Voor obj. 8 / for subj. 8 (Ceplal.) lees / read *Verticillium albo-atrum*

massa's vormen een potentiële besmettingsbron temidden van een gemakkelijk te infecteren gewas. Reeds eerder werd opgemerkt, dat de ziekte eerst in het tweede jaar na de inzaai duidelijk zichtbaar wordt. De besmettingskans voor een eenjarig gewas is ogenschijnlijk even groot als voor een overjarig gewas, zij het dat het eenjarige gewas minder vaak wordt gemaaid.

Zodra de luzerne onder de dekvrucht vandaan komt, vertoont zij een sterke groei. Behalve dat het voor een schimmel steeds moeilijker is om een sterk groeiende plant binnen te dringen, verliest een dergelijke plant gedurende enige tijd na het afmaaien vocht via het snijvlak van de stengel. Dit laatste kan een beletsel zijn voor het binnendringen van de schimmelsporen.

Indien de schimmel de planten van de grond uit zou binnendringen, was te verwachten dat dit in het bijzonder in het jaar van inzaai zou gebeuren. Onder de dekvrucht groeit het gewas onder meer of minder kommervolle omstandigheden, die de gevoeligheid voor de parasiet slechts kunnen verhogen. Aangezien de feiten niet in overeenstemming met de verwachtingen zijn, lijkt ons verspreiding van de ziekte door middel van sporen uit de lucht aannemelijker dan besmetting van de grond uit.

INFECTIEPROEVEN OP LUZERNE

Reeds bij de bespreking van de identiteit van de ziekteverwekker(s) en de waardplanten onder de onkruiden werd een aantal schimmels genoemd, dat in reincultuur voor infectieproeven werd gereserveerd. Het doel van deze proeven was driedelig. In de eerste plaats werd gezocht naar een antwoord op de vraag, door welke schimmel(s) de verwelkingsziekte in luzerne kan worden veroorzaakt. Verder werd nagegaan of de schimmels uit de luzerne en de onkruiden dezelfde pathogeniteit bezitten. Ten slotte is het van belang te weten langs welke weg het pathogeen het gewas kan binnendringen.

De proeven werden als volgt uitgevoerd. Op 10 december 1957 werden drie zaaipannen met gezeefde, gestoomde bladaarde gevuld en met luzerne bezaaid. De kiemkracht van het gebruikte zaad bedroeg 83 %. De zaaipannen werden in een kas geplaatst bij een constante temperatuur van ongeveer 17°C. Na de opkomst van de plantjes werd een extra belichting gegeven met H.P. Philips hoge druk kwiklampen, 125 W, type 57202 E/21. Deze belichting werd in de loop van de proeven aan de wisselende daglengten aangepast en op 29 april 1958 uitgeschakeld. Op 7 januari hadden de plantjes een lengte van 2 tot 2,5 cm bereikt. In dit stadium werden zij in bloempotten (Ø 14 cm) overgeplant, die alle gevuld waren met dezelfde aarde als waarin was gezaaid. In totaal werden 198 bloempotten ieder met één plantje beplant. Hierna werden de potten in een kastabiet met vochtige turfmoalm ingegraven bij dezelfde omstandigheden als beschreven voor de zaaipannen. Er werden drie groepen van 66 potten gevormd, iedere groep bestaande uit een zesvoudige herhaling van de onderstaande objecten:

- | | |
|--|---|
| 1. onbehandeld | |
| 2. <i>Verticillium albo-atrum</i> , cultuur 57 | uit <i>Capsella bursa-pastoris</i> MED. |
| 3. <i>Verticillium albo-atrum</i> , cultuur 59 | uit <i>Plantago major</i> L. |
| 4. <i>Verticillium dahliae</i> , cultuur 8 | uit <i>Capsella bursa-pastoris</i> MED. |
| 5. <i>Gliocladium roseum</i> , cultuur 273 | uit <i>Medicago media</i> L. |
| 6. <i>Verticillium lecanii</i> , cultuur 59 | uit <i>Plantago major</i> L. |
| 7. <i>Verticillium dahliae</i> , cultuur 247 | uit <i>Prunella vulgaris</i> L. |

8. *Verticillium albo-atrum*, cultuur 217(b) uit *Medicago media* L.
9. *Verticillium albo-atrum*, cultuur 217(a) uit *Medicago media* L.
10. *Verticillium dahliae*, cultuur 24 uit *Thlaspi arvense* L.
11. *Fusarium avenaceum*, cultuur 295 uit *Medicago media* L.

Wortelinoculatie

Van deze 10 schimmels werden schudcultures gemaakt en op 20 januari 1958 werden deze in 10 grote petrishalen uitgegoten. Als controle werd een Czapek-oplossing gebruikt. Per object werden de zes plantjes rechtstandig uit de bloempotten getrokken, waardoor aan de fijne wortels schade werd toegebracht. De plantjes werden daarna gedurende 16 uur tot aan de wortelhals in de sporensuspensie gelaten en vervolgens weer in de potten teruggezet.

Met de wortelinoculatie werd beoogd na te gaan of het binnendringen van de schimmels via wortelbeschadigingen mogelijk is en zo ja, of dit binnendringen zou leiden tot een snel of een langzaam verlopend ziekteproces. In het veld kan een dergelijke wortelbeschadiging optreden door het scheuren van kleigrond onder invloed van uitdroging.

De planten, die met *Gliocladium roseum* waren geïnoculeerd, reageerden reeds na één dag met omkrullende, lichtgeel verkleurende blaadjes. De geelverkleuring ging later in witverkleuring over, waardoor het beeld iets aan verbranding of vergiftiging deed denken. Van de verkleurde blaadjes bleven de bladstelen fris groen. In tegenstelling tot de verwachting dat de planten snel te gronde zouden gaan, trad na een week herstel in. De verkleuring zette zich niet verder voort en er deden zich geen blijvende afwijkingen voor. Deze schimmel, die eerst na afloop van de proef werd gedetermineerd, staat bekend als een saprofyt. Zij bevat blijkbaar toch toxische stoffen die luzerne kunnen beschadigen.

De planten, geïnoculeerd met *Verticillium dahliae* uit *Prunella vulgaris*, *Thlaspi arvense* en *Capsella bursa-pastoris*, ontwikkelden zich alle krachtig en behielden een gezond uiterlijk tot het einde van de proef.

De met *Fusarium avenaceum* geïnoculeerde planten vertoonden vijf dagen na de inoculatie de volgende verschijnselen. De kiemblaadjes en het ongedeelde blad verkleurden en gingen slap hangen. De gedeelde blaadjes krulden op en tweede van de zes planten vielen geheel om. Van de gedeelde blaadjes verkleurde in het bijzonder het bladcentrum geel, terwijl de bladranden groen bleven. De nerven vertoonden een bruine verkleuring. Tien dagen na de inoculatie trad herstel in, zodat de resterende vier planten normaal doorgroeiden, al bleven zij in lengte bij de controleplanten achter.

De met *Verticillium albo-atrum* uit luzerne (object 9) geïnoculeerde planten reageerden eerst na 25 dagen met een plotselinge verwelking, zonder verkleuring van het blad. Hetzelfde geldt voor object 8. Dit beeld komt volledig overeen met het ziektesymptoom te velde. Negenendertig dagen na de inoculatie waren drie van de zes planten dood, terwijl de rest enige tijd daarna afstierf.

Verticillium albo-atrum uit *Plantago major* en uit *Capsella bursa-pastoris* hebben, evenals de isolatie uit luzerne zelf, een totale afsterving van de luzerneplantjes veroorzaakt. De planten geïnoculeerd met de isolatie uit *Plantago* reageerden met verwelking, voorafgegaan door geelkleuring van het blad; die geïnoculeerd met de isolatie uit *Capsella* alleen met verwelking.

De inoculatie met *Verticillium lecanii* heeft een snellere reactie van de planten tot gevolg gehad dan die met *V. albo-atrum*. Reeds na 18 dagen trad geelkleuring

en verwelking van het blad op. Alle met deze schimmel geïnoculeerde planten stierven af.

Fig. 3 geeft een overzicht van dit gedeelte van de proeven.

Stengelinoculatie

De tweede inoculatieproef werd op 9 april 1958 uitgevoerd met de luzerneplanten in de overige 132 bloempotten. Deze planten hadden inmiddels een lengte van ongeveer 30 cm bereikt. De helft der planten werd geïnoculeerd met behulp van een injectienaald no. 14. Per stengel werd enkele keren geïnjecteerd in de richting van de stengeltop (inoculatie door middel van injectie). Van de andere helft van de planten werden de stengels tot op 3 cm van de grond afgesneden, om het maaïen te imiteren. Nadat de snijvlakken iets waren opgedroogd werden hierop druppeltjes van de sporensuspensies gebracht (inoculatie van het afgesneden gewas). De controleplanten werden met een Czapek-oplossing, geënt op haverhoutagar, gehandeld.

Inoculatie door middel van injectie. Op 1 mei vertoonden 2 planten in object 3 (*V. a.-a.* uit *Plantago*) enige slaphangende blaadjes. Later waren alle planten duidelijk aangetast. Op 5 mei werden verschillende planten in de objecten 2 (*V.a.-a.* uit *Capsella*), 6 (*V. lecanii* uit *Plantago*), 8 (*V.a.-a.* uit luzerne) en 9 (*V.a.-a.* uit luzerne) ziek, waarbij geelkleuring van het blad, beginnende rondom de nerven, in de meeste gevallen het inleidende ziektesymptoom van de later optredende verwelking vormde.

De eerste ziekteverschijnselen bij de met *Verticillium lecanii* geïnoculeerde planten bestonden eveneens uit een geelkleuring rondom de hoofdnerf van het blad.

De met *Fusarium avenaceum* geïnoculeerde planten bleven duidelijk lichter groen van kleur dan de controleplanten, doch andere symptomen deden zich niet voor.

Op 16 mei had een waardering plaats van de graad van verwelking in de 11 objecten. In tabel 2 wordt hiervan een overzicht gegeven.

TABEL 2. De graad van verwelking van de planten 37 dagen na de inoculatie.
The degree of wilting 37 days after the inoculation.

Objecten / Subjects	Herhalingen / Replicates						Gemiddeld Mean
	a	b	c	d	e	f	
1. Onbehandeld / check	0	0	0	0	0	0	0
2. <i>V. albo-atrum</i> uit / from <i>Capsella</i>	3	5	4	4	3	5	4
3. <i>V. albo-atrum</i> uit / from <i>Plantago</i>	8	4	5	8	8	0	5,5
4. <i>V. dahliae</i> uit / from <i>Capsella</i>	0	0	0	0	0	0	0
5. <i>Gliocladium ros.</i> uit / from luzerne	0	0	0	0	0	0	0
6. <i>V. lecanii</i> uit / from <i>Plantago</i>	0	7	9	6	2	2	4,3
7. <i>V. dahliae</i> uit / from <i>Prunella</i>	0	0	0	0	0	0	0
8. <i>V. albo-atrum</i> uit / from luzerne	2	3	1	6	3	1	2,7
9. <i>V. albo-atrum</i> uit / from luzerne	10	6	7	8	8	9	8,1
10. <i>V. dahliae</i> uit / from <i>Thlaspi</i>	0	0	0	0	0	0	0
11. <i>Fus. avenaceum</i> uit / from luzerne	0	0	0	0	0	0	0

0 = geen verwelking / no wilting
10 = geheel verwelkt / fully wilted

Na de beoordeling op 16 mei werden uit alle aangetaste objecten zieke stengels geknipt voor het opnieuw maken van isolaties.

Inoculatie van het afgesneden gewas. Gedurende een maand na de inoculatie van de planten werden aan de hernieuwde groei, die zeer welig was, geen ziekteverschijnselen waargenomen. Eerst op 10 mei werd aan één plant in object 9 (*Vert. a-a.* uit luzerne) verwelking geconstateerd. De volgende dag werden ook in de objecten 2 (*V. a-a.* uit *Capsella*) en 3 (*V. a-a.* uit *Plantago*) bladverkleuringen opgemerkt. In object 11 (*Fusarium* uit luzerne) gaven alle planten een merkwaardige bronskleuring van het blad te zien. Op 16 mei traden in object 8 (*V. a-a.* uit luzerne) de eerste bladverkleuringen op. Het blad werd geel.

Stengels van de planten in de objecten 2, 3, 8 en 9, die aanvankelijk geheel gezond opgroeiden, werden op een later tijdstip toch aangetast.

Bij een eindbeoordeling op 5 juni waren alle planten van de objecten 2, 3, 8 en 9 door verwelkingsziekte aangetast. Bij object 6 was dit slechts bij 2 planten het geval. In object 11 vertoonden de geel verkleurde blaadjes een groot aantal necrotische stippen en vlekken. Deze aantasting resulteerde in een sterk omkrullen van het blad en later in bladval. Het nieuw gevormde blad daarentegen was gezond en alle planten bleven in leven.

SAMENVATTING EN CONCLUSIES

Het onderzoek naar het optreden van de verwelkingsziekte in luzerne in Zeeland heeft een oriënterend karakter gehad. De verzamelde gegevens, alsmede de voorlopige conclusies en suggesties, zijn voor uitvoeriger onderzoek wellicht van enig nut.

De verwelkingsziekte van luzerne komt in geheel Zeeland voor. In ongeveer 70 % van de in een door de Rijkslandbouwvoorlichtingsdienst uitgevoerde enquête betrokken percelen werd de ziekte geconstateerd. Het ware nuttig om de door de ziekte veroorzaakte schade door middel van opbrengstproeven vast te stellen.

Uit de enquêtegegevens kan geen rechtstreeks verband worden aangetoond tussen het optreden van de ziekte enerzijds en de voorvruchten, de toegepaste stal- en/of groenbemesting, de structuur, de zuurgraad en de kalktoestand van de grond anderzijds. Wel treedt de ziekte over het algemeen sterker op de wendakkers en in de wielsporen van landbouwmachines op. Dit kan op de wendakkers het gevolg zijn van structuurbederf en/of door beschadiging van het gewas door het heen en weer rijden van vrachtauto's die het gemaaid product van het perceel afvoeren. Aangezien op eenzelfde perceel de ziekte op een éénmalig veroorzaakt wielspoor buiten de wendakker in de volgende snede sterk naar voren komt is dit vermoedelijk meer het gevolg van een beschadiging van het gewas dan van structuurbederf. Er is een aanwijzing dat de ziekte gemiddeld in geringere mate optreedt op percelen met een hoog gehalte aan afslibbare delen dan op lichtere gronden. Ten aanzien van de stand van het gewas kon alleen bij een gemiddelde uit veel waarnemingen enige correlatie met de mate van aantasting worden aangetoond. Dit verband is voor de afzonderlijke percelen niet aanwezig. Overigens was het aantal waarnemingen aan de lage kant voor het trekken van conclusies voor dit soort factoren.

Het percentage zieke planten neemt toe naarmate een gewas vaker wordt gemaaid. Bovendien heeft de beschadiging van het gewas door landbouwmachines

dezelfde invloed. Er dient naar maatregelen te worden gezocht om deze beschadigingen zoveel mogelijk te voorkomen.

In de op *Verticillium albo-atrum* en *Fusarium avenaceum* onderzochte luzerne-monsters bleken deze schimmels in respectievelijk 41 en 77 % van het aantal voor te komen. De voornaamste veroorzaker van de verwelkingsziekte van luzerne is zonder twijfel *Verticillium albo-atrum* REINKE et BERTH. Daarnaast kan *Verticillium lecanii* (ZIMM.) VIEGAS dezelfde symptomen veroorzaken.

De rol van *Fusarium avenaceum* (FR.) SACC. is niet duidelijk. In ieder geval is deze schimmel niet in staat om luzerne te doen verwelken en afsterven, zoals *V. albo-atrum* dit doet. Hoewel de ziektesymptomen van beide schimmels duidelijk van elkaar zijn te onderscheiden, bestaat de mogelijkheid dat bij de beoordeling van de aantasting van een gewas luzerne deze verschillen over het hoofd worden gezien. Tussen het voorkomen van *Verticillium* en *Fusarium* kan geen verband worden gelegd.

Verticillium dahliae KLEB. werd nimmer uit zieke luzerne geïsoleerd. Wel werd zij in herderstasje (*Capsella bursa-pastoris* MED.), witte krodde (*Thlaspi arvense* L.) en brunel (*Prunella vulgaris* L.) gevonden. Geen van deze isolaties bleek echter in staat om bij luzerne ook maar een enkel ziektesymptoom te veroorzaken. Deze schimmel speelt dus bij de verwelkingsziekte van luzerne geen rol.

Verticillium albo-atrum kon worden geïsoleerd uit herderstasje (*Capsella bursa-pastoris* MED.) en grote weegbree (*Plantago major* L.). De beide isolaties gaven na inoculatie in luzerneplanten dezelfde ziektesymptomen als de isolatie van deze schimmel uit zieke luzerne. Er werd niet onderzocht of en op welke wijze de schimmel van de onkruiden op de luzerne kan overgaan.

De voornaamste verspreidingswijze van *Verticillium albo-atrum* in het veld is vermoedelijk die door middel van sporen door de lucht. Deze sporen worden bij vochtig weer in grote hoeveelheden op het aangetaste en later afgevallen blad gevormd en kunnen een gemaaid en/of stukgereden gewas gemakkelijk binnendringen. Het verdient aanbeveling de mogelijkheid tot uitschakeling van deze besmettingsbron door een bespuiting met een fungicide direct na het maaien te onderzoeken. Daarnaast is het van belang om een matig ziek gewas, dat de neiging vertoont ernstiger ziek te worden, vroegtijdig af te maaien om te voorkomen dat het aangetaste blad afvalt en een bron van besmetting vormt.

Hoewel een nieuw ingezaaid gewas door kunstmatige wortelinoculatie met *Verticillium albo-atrum* zeer gemakkelijk kan worden geïnfecteerd, blijkt dit in de praktijk zelden te gebeuren. Een aantasting van het gewas door de schimmel van de grond uit schijnt dus niet plaats te vinden. Hoewel de mogelijkheid tot infectie van het gewas in het eerste jaar ogenschijnlijk niet kleiner is dan van een overjarig gewas, wordt het eerste zelden door verwelkingsziekte aangetast. Het is de moeite waard om na te gaan of hier sprake is van een verband tussen het verschil in groeikracht tussen de beide ontwikkelingsstadia van het gewas en de mogelijkheid voor de schimmel om de plant binnen te dringen. Hierbij kan worden gedacht aan een verschil in uitreden van de sapstroom bij versgemaaide stengels.

In de kas uitgevoerde inoculatieproeven met een aantal schimmelisolaties toonden aan, dat met een inoculatie van de wortel, de bebladerde stengel en de afgesneden stengel van luzerne, de voor elke schimmel karakteristieke ziektesymptomen kunnen worden opgewekt. Uit de zieke planten konden in alle gevallen de geïnoculeerde schimmels (vaak in reincultuur) weer worden geïsoleerd.

SUMMARY

Some observations have been made on lucerne wilt disease during the growing season in 1957, and in experimental inoculation tests in a glasshouse in 1958. In the province of Zeeland the disease does harm to the crop and prevents many farmers from keeping their crops longer than two years.

In a survey data have been collected on soil type, preceding crops, green manuring and manuring with stable dung, pH, structure and weeds. No correlations between these factors and the degree of attack by the disease could be proved, except that on heavy soils the disease was less severe than on lighter soils (as a mean of all observations).

Development of the disease is facilitated by damage caused by mechanical equipment to the crop. Damage to the crown of the plants should be avoided as much as possible. The disease is distributed extensively after frequent mowing. On attacked leaves left behind on the mowed stalks, and on decayed leaves dropped to the soil, masses of spores of *Verticillium albo-atrum* are produced, which form a potential source of infection in a weakened crop.

It seems that the disease is more air-borne than soil-borne, since one year old crops are seldom attacked.

From attacked lucerne plants in the field the following fungi have been isolated: *Verticillium albo-atrum* REINKE & BERTH., *Gliocladium roseum* BAIN and *Fusarium avenaceum* (FR.) SACC. (table I).

Isolations have been made from 50 different species of weeds, out of which the following fungi were obtained: *Verticillium albo-atrum* REINKE & BERTH. from *Capsella bursa-pastoris* MED. and *Plantago major* L., *V. dahliae* KLEB. from *Prunella vulgaris* L., *Capsella bursa-pastoris* MED. and *Thlaspi arvense* L., and *V. lecanii* (ZIMM.) VIEGAS from *Plantago major* L.

In inoculation experiments with all these isolates, in roots, stalks and on cut plants of lucerne, only *V. albo-atrum*, both from lucerne and weeds, and *V. lecanii* proved to be able to cause wilting of leaves and stalks. With *Gliocladium*, *Fusarium* and *Verticillium dahliae* no such symptoms could be obtained. The results were the same whatever method of inoculation was used.

De schrijvers zijn de Rijkslandbouwconsulenten te Goes en Axel, de Heren Dr. Ir. C. W. C. VAN BEEKOM en Ir. J. A. H. HAENEN, alsmede hun medewerkers zeer erkentelijk voor de prettige wijze waarop met hen werd samengewerkt. Tevens zijn zij dank verschuldigd aan de Heren Ir. W. P. DE LEEUW en Drs. G. H. BOEREMA, van de Afdeling Diagnostiek van de Plantenziektenkundige Dienst, voor hun waardevolle aanwijzingen bij het omvangrijke mycologische laboratorium-onderzoek. De determinatie van de schimmels werd door het Centraal Bureau voor Schimmelcultures te Baarn geverifieerd, waarvoor de schrijvers hun dank betuigen.

Tenslotte brengen zij dank aan de Heer E. B. BROWN, N.A.A.S., Trumpington, voor de correctie van de Engelse samenvatting.

LITERATUUR

- JONES, F. R. & L. McCULLOCH, – 1926. A bacterial wilt and root rot of alfalfa caused by *Aplanobacter insidiosum* L. McC. J. agr. Res. 33: 493–521.
- RIBALDI, M., – 1958. Ricerche sul diradamento dei medicaî italiani. Phytopath. Z. 31: 337–366.
- WEIMAR, J. L., – 1928. A wilt disease of alfalfa caused by *Fusarium oxysporum*, var. *medicaginis*. J. agr. Res. 37: 419–433.