

„ZWARTBENIGHEID” BIJ TULP EN IRIS, VEROORZAAKT
DOOR *SCLEROTIUM WAKKERII* NOV. SPEC.¹

“Black Leg” on tulip and iris, caused by *Sclerotium wakkerii* nov. spec.

DOOR

G. H. BOEREMA en CILIA J. M. POSTHUMUS
Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

INLEIDING

In een voorgaand artikel (BOEREMA, 1960) is reeds een en ander gezegd over de symptomen, de oorzaak en de bestrijdingsmogelijkheden van „zwartbenigheid” bij tulpen. Thans worden nadere gegevens over deze ziekte en de ziekte-verwekkende schimmel medegedeeld, waarbij de laatste wordt beschreven als een nieuwe soort: *Sclerotium wakkerii*.

Zwartbenigheid is een zeer karakteristieke naam voor deze ziekte, die in feite alleen bekend is van de tulp, maar die ook bij bolirissen kan optreden. De basis van de bloemstengel en soms ook van het onderste blad vertoont nl. tegen het einde van het groeiseizoen een inzinking, waarbij het weefsel eerst lichtgroen van kleur wordt om dan spoedig geheel zwart te verkleuren en ineen te schrompelen (fig. 1). Het resultaat is een voortijdige afsterving van de planten.

Bij de nieuwe bollen van dergelijke zieke planten is de buitenste vliezige rok („huid”) pleksgewijze oppervlakkig zwart verkleurd en meestal papierachtig dun en bros, waardoor hij vaak bij het rooien en pellen loslaat (fig. 2 en 3). Ter plaatse van de zwarte verkleuring bevinden zich soms in het rokweefsel opvallende, platte, zwarte sclerotiën. De buitenste vlezige bolrok en de bodem van de nieuwe bol(len) kunnen bruinzwarte, ingezonken plekken vertonen (fig. 2c). Soms zijn uitgaande van de bodem ook de binnenste bolrokken meer of minder aangetast en oppervlakkig zwart verkleurd (fig. 4). Tussen deze rokken ziet men dan vaak platte, zwarte sclerotiën.

Zwartbenigheid is tot nu toe hoofdzakelijk waargenomen op de klei en de humeuze veengronden van West-Friesland. De groeiplaats speelt echter slechts een ondergeschikte rol, daar de ziekte via besmet plantgoed op elke grond kan optreden. Verder kan de ziekte in de grond overblijven en bij uitplanting van gezonde bollen pleksgewijze aantastingen veroorzaken.

Pas de laatste jaren is zwartbenigheid als ziekte bekend geworden. Het is echter geen nieuwe ziekte, want het is zo goed als zeker dat de betrokken ziekteverschijnselen reeds 15 jaar geleden bij tulpen zijn waargenomen, maar men heeft er toen verder geen aandacht aan geschonken. De veronderstelling dat zwartbenigheid identiek is met het „black rot”, dat in Noordamerikaanse vakliteratuur wordt genoemd (GOULD, 1957), bleek bij nader onderzoek niet juist te zijn (BOEREMA, 1960). Dank zij de bemiddeling van de heer N. G. SANCROCE waren wij in de gelegenheid enkele cultures van de schimmel die in Amerika het black rot veroorzaakt, te onderzoeken. Daarbij is gebleken dat

¹ Aangenomen voor publikatie 6 oktober 1962.

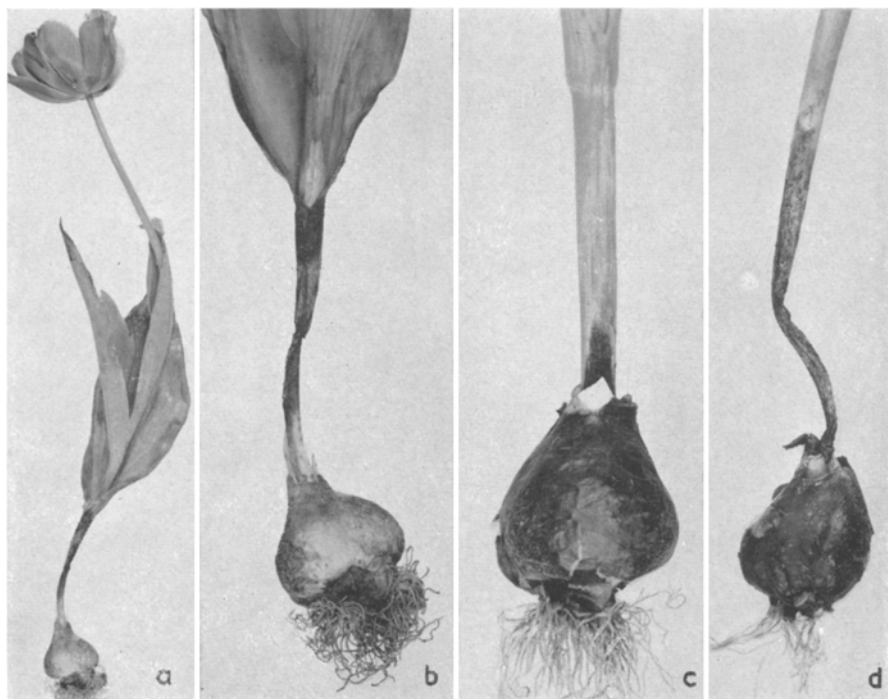


FIG. 1. De symptomen van zwartbenigheid bij bloeiende of juist uitgebloeide tulpen; a en b 'William Copland', c en d 'Queen of Night'.

The symptoms of black leg on blooming or just blown tulips; a and b 'William Copland', c and d 'Queen of Night'.

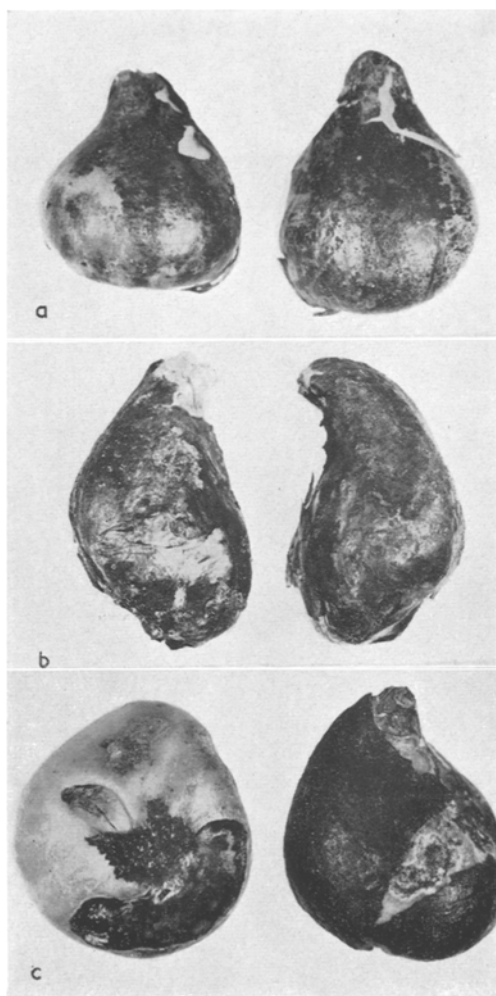


FIG. 2. Symptomen van zwartbenigheid bij tulpebollen (verschillende cultivars); a en b rok-aantasting; ter plaatse van de zwarte verkleuringen bevinden zich soms in het rokweefsel onopvallende, zwarte sclerotieën; c aantastingsplekken op de buitenste vlezige rok.

Symptoms of black leg on tulip bulbs (various cultivars); a and b infections on the outer scale (skin); sometimes inconspicuous black sclerotia are found within the black discoloured spots on the tissues of the outer scale; c infection spots on the outermost fleshy scale.

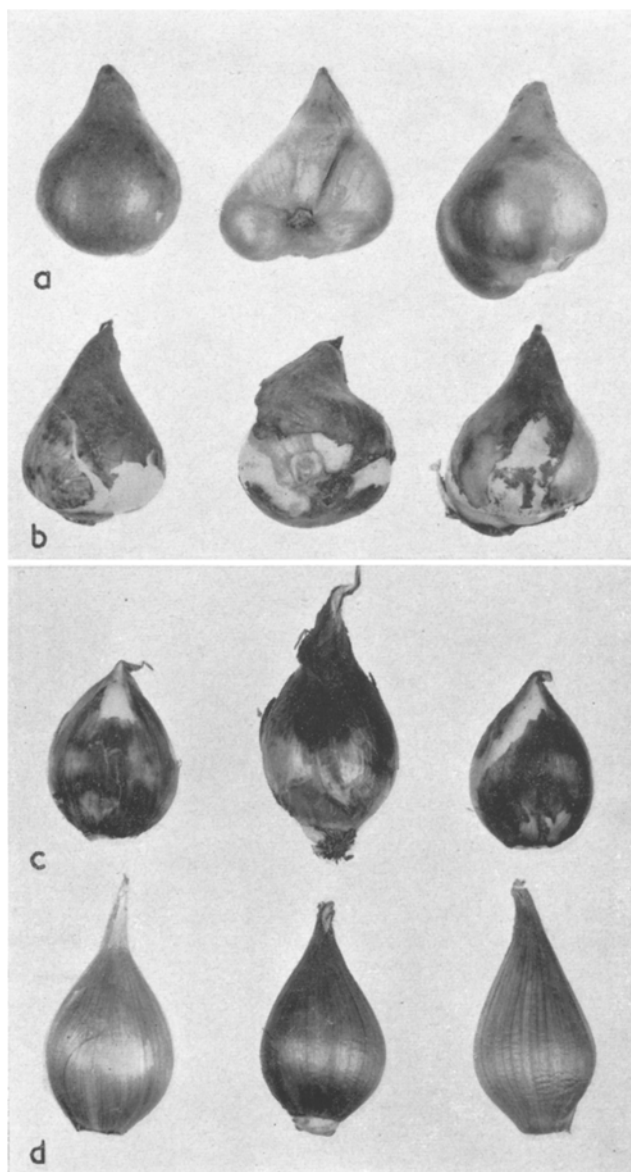


FIG. 3. Zieke tulpe- en irisbollen (b en c) in vergelijking met gezonde bollen (a en d); bij de zieke bollen is de rok behalve zwart verkleurd ook vaak gedeeltelijk niet meer aanwezig.

Diseased tulip and iris bulbs (b and c) in comparison with healthy bulbs (a and d); the outer scale of the diseased bulbs show a black discoloration and have partly come off.

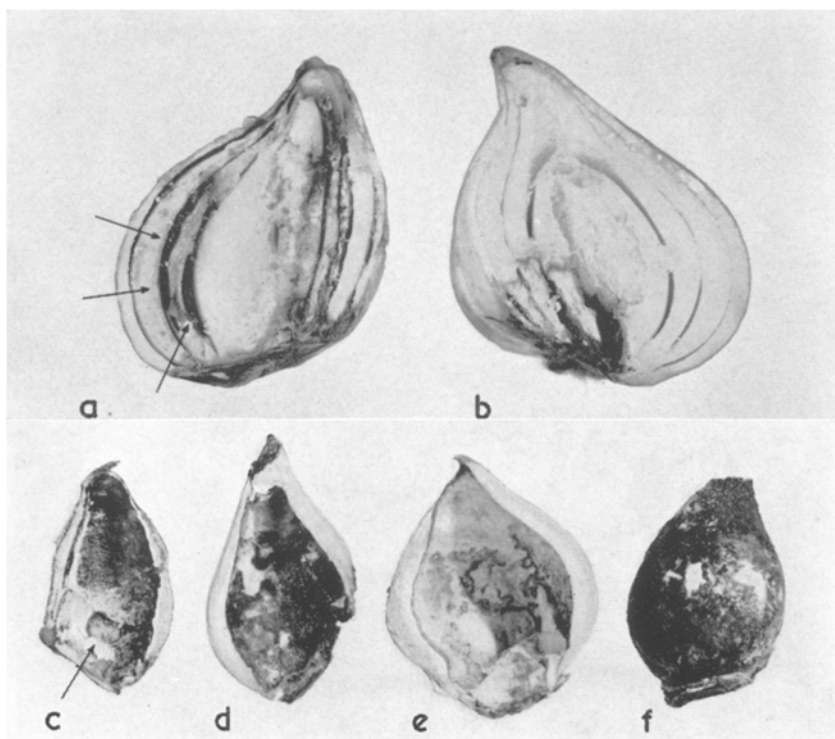
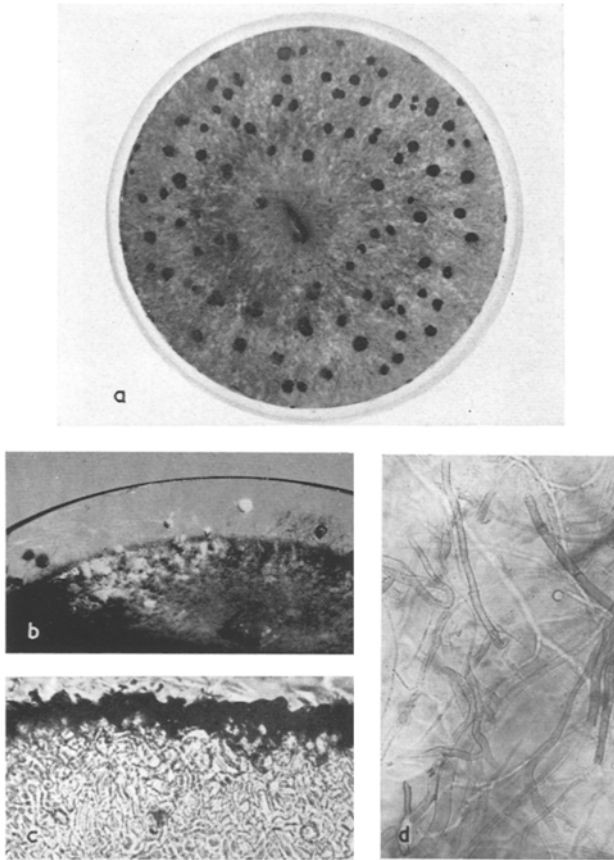


FIG. 4. Tulpebollen cv. 'Carrara', waarbij uitgaande van de bodem de binnenste vlezige bol-rokken in meer of mindere mate zijn aangetast door de zwartbenigheidsschimmel (a en b). De aangetaste rokken zijn zowel aan de binnenzijde (c, d en e) als aan de buitenzijde (f) gedeeltelijk zwart verkleurd, terwijl er tussen de rokken soms platte, zwarte sclerotiën zijn gevormd (zie de pijltjes bij a en c).

Tulip bulbs cv. 'Carrara' with an attack of the black leg-fungus on the inner bulb scales starting from the basal plate (a and b). The infected scales show a black discoloration of the inner (c, d and e) and outer side (f). Between the scales flat black sclerotia are sometimes developed (see arrows at a and c).



- FIG. 5. a. Een ongeveer één maand oude cultuur van de zwartbenigheidsschimmel op kers-agar, gekweekt in het donker bij 20°C. Op moutagar vertoont de schimmel onder deze omstandigheden ongeveer hetzelfde beeld; er ontwikkelt zich dan echter meer luchtmycelium, waardoor de platte sclerotiën minder opvallen.
- b. Vorming van sclerotiën in een ongeveer twee maanden oude cultuur van de zwartbenigheidsschimmel, gekweekt in het donker bij lage temperatuur (omstreeks 5°C). De sclerotiën ontwikkelen zich onder deze omstandigheden in het luchtmycelium als witte myceliumbolletjes, die na enige tijd een donkere wand krijgen.
- c. Doorsnede van een sclerotium, gevormd op moutagar bij 20°C (ca. 400×).
- d. Mycelium van de zwartbenigheidsschimmel op moutagar bij 20°C (ca. 400×).
- a. *A culture about one month old of the black leg fungus on cherry-agar, cultivated in the dark at 20°C. Growth on malt agar under these conditions is very similar; however, more aerial mycelium is produced and for this reason the flat sclerotia are not so conspicuous.*
- b. *Formation of sclerotia in a culture about two months old of the black leg fungus, grown in the dark at low temperatures (ca. 5°C). Under these conditions the sclerotia form in the aerial mycelium like little white mycelium balls which develop a dark wall after some time.*
- c. *Section of a sclerotium cultivated on malt agar at 20°C (× ca. 400).*
- d. *Mycelium of the black leg fungus cultivated on malt agar at 20°C (× ca. 400).*

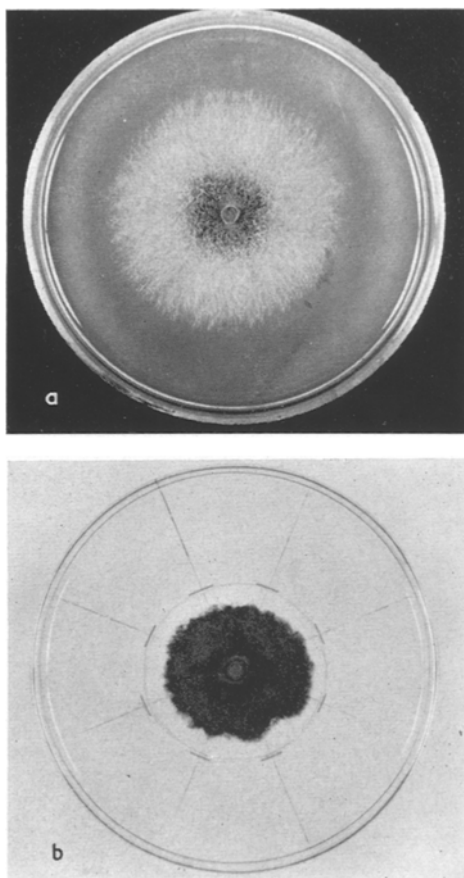


FIG. 7. a. Een 5 dagen oude cultuur van de zwartbenigheidsschimmel, gekweekt in het donker op moutager bij 12 °C.
 b. Een 11 dagen oude cultuur van de schimmel, gekweekt in het donker bij 25 °C. De cirkel geeft ook aan tot hoever er hyalion mycelium aanwezig was.

a. A five days old culture of the black leg fungus grown in the dark on malt-agar at 12 °C.
b. An eleven days old culture of the fungus grown in the dark on malt-agar at 25 °C. The circle shows how far hyaline mycelium was present.

deze „black rot-fungus” identiek is met *Sclerotinia bulborum* (Wakk.) Rehm, in ons land bekend als de veroorzaker van „zwartsnot”¹.

Overigens is er in de literatuur geen enkel gegeven te vinden over een op zwartbenigheid gelijkende ziekte bij tulp en/of iris.

ONDERZOEK NAAR DE VOOR ZWARTBENIGHEID GEVOELIGE BLOEMBOLGEWASSEN

Zoals reeds werd opgemerkt, is deze ziekte in de praktijk speciaal bekend van tulpen. In het bijzonder bij de paarszwarte tulp ‘Queen of Night’ is de aantasting vaak waargenomen, maar ook bij allerlei andere *Tulipa*-cultivars kan zwartbenigheid voorkomen. Dat ook bij bolirissen, *Iris*-cultivars, deze ziekte kan optreden is minder bekend, maar toch in de praktijk enkele malen waargenomen.

Teeltproeven op besmette grond

Om een indruk te krijgen van de bloembolgewassen waarbij zwartbenigheid kan optreden zijn in 1960/61 en in 1961/62 in de proeftuin van de Plantenziektenkundige Dienst op zwaar besmette grond² van elk van de volgende bloembolgewassen 30 gezonde bollen of knollen uitgeplant: *Allium moly* L., *Allium neapolitanum* Cyr. cv. ‘Grandiflorum’, *Chionodoxa luciliae* Boiss., *Crocusmia crocosmiflora* (Lemne) N.E.Br. (montbretia), *Crocus vernus* (L.) Wulf. cv. ‘Remembrance’, *Erythronium dens-canis* L., *Freesia*-cultivars, *Fritillaria meleagris* L., *Galanthus nivalis* L., *Iris danfordiae* Boiss., *Iris hollandica* Tub. cv. ‘Wedgwood’, *Iris reticulata* Bieb., *Ixiolirion montanum* (Lab.) Herb., *Muscari armeniacum* Bak., *Narcissus poetaz* v. d. Schoot cv. ‘Cheerfulness’, *Narcissus pseudonarcissus* L., *Oxalis deppei* Lodd., *Ranunculus asiaticus* L. (Franse ranonkels), *Scilla sibirica* Andr., *Tulipa* cv. ‘Aristocrat’ en cv. ‘Golden Harvest’ (laatbloeiende, enkele tulpen), *Sparaxis tricolor* (Curt.) Ker, *Tigridia pavonia* (L.f.) Ker en *Tritonia crocata* Ker & Gawl. Ter controle waren van deze gewassen ook steeds 30 bollen of knollen uitgeplant op niet met zwartbenigheid besmette grond.

Resultaten

Van alle genoemde bloembolgewassen vertoonden op de besmette grond alleen de tulpen en irissen tegen het einde van het groeiseizoen het typische ziektebeeld van de zwartbenigheid. Op de desbetreffende veldjes waren bijna alle planten aangetast. Bij de andere bloembolgewassen werden geen bovengrondse ziektesymptomen waargenomen, dus ook niet bij krokus, waarvan in de praktijk wel vermeld is dat hij ook gevoelig is voor zwartbenigheid (SILVER & SLOOTWEG, 1959). Wel bleek bij het rooien van deze plantesoorten dat soms de vliezige rokken min of meer zwart verkleurd waren door de aanwezigheid van de zwartbenigheidsschimmel. Dit was speciaal het geval bij de narcis. Voor zo-

¹ Zwartsnot is in ons land speciaal bekend van *Hyacinthus*, *Scilla* en *Muscari*. Dat *Tulipa*-cultivars evenals *Iris*- en *Narcissus*-cultivars ook door *Sclerotinia bulborum* kunnen worden aangetast is in ons land pas kort geleden vastgesteld (BOEREMA, 1962). In de praktijk wordt het zwartsnot bij de laatstgenoemde planten waarschijnlijk vaak aangezien voor één van de andere bekende bloembollenziekten.

² Deze besmetting is tot stand gebracht door de grond te mengen met haver- en tarwekorrels waarop de zwartbenigheidsschimmel in vitro was gekweekt. In feite komt dit neer op een besmetting met veel sclerotiën en mycelium. Zie: De schimmel die zwartbenigheid veroorzaakt.

ver kon worden nagegaan heeft dit geen directe schadelijke gevolgen en is er derhalve hier slechts sprake van een „schoonheidsfout”. Wel is het mogelijk dat door deze rokaantasting van overigens voor de ziekte ongevoelige gewassen de schimmel kan worden overgebracht.

De planten die op niet besmette grond gegroeid waren, bleven in alle gevallen geheel gezond.

Deze teeltproeven op besmette grond hebben het dus waarschijnlijk gemaakt, dat de zwartbenigheid een ziekte is die voor wat betreft de bovengenoemde bloembolgewassen alleen een rol speelt bij tulp en iris. Het is de bedoeling de komende jaren nog een aantal andere bloembolgewassen te toetsen op hun gevoeligheid voor zwartbenigheid.

DE SCHIMMEL DIE ZWARTBENIGHEID VEROOorzaakt

Dat zwartbenigheid door een schimmel wordt veroorzaakt werd in 1959 door middel van isolaties, besmettingsproeven en her-isolaties bewezen (BOEREMA, 1960). Van deze schimmel is in vivo, dus bij tulpen en irissen die zwartbenigheid vertonen, bijzonder weinig te zien. Het mycelium is nl. vrijwel uitsluitend in het aangetaste weefsel aanwezig. Alleen onder vochtige omstandigheden ziet men bij de stengelaantasting soms wat oppervlakkig grijs schimmelpuis; dit is meestal ook het geval bij een aantasting van de vlezige bolrokken. Fructificaties van de schimmel zijn op de aangetaste plantedelen nooit waargenomen. Wel is kenmerkend voor deze schimmelaantasting het incidenteel optreden van platte, onopvallende, zwarte sclerotiën in aangetaste vlezige rokken en tussen aangetaste vlezige bolrokken (fig. 4).

Een goed beeld van de ziekteverwekker krijgt men alleen bij het kweken van de schimmel op een kunstmatige voedingsbodem.

Isolatie-methode

De zwartbenigheidsschimmel kan goed worden geïsoleerd door stukjes aangetast weefsel, na reiniging met een vloeibaar synthetisch wasmiddel en uitspoeling in leidingwater, uit te leggen op schalen met kersagar, die worden geplaatst in een thermostaat bij omstreeks 20°C. Na ongeveer een week kan de schimmel dan voor het verder kweken in reïncultuur worden overgeënt. Daar bleek dat de schimmel op moutagar bijzonder snel en goed groeit, werd speciaal deze voedingsbodem gebruikt voor nadere bestudering van de schimmel in vitro.

Algemene kenmerken van de zwartbenigheidsschimmel bij groei in vitro

De schimmel vormt bij 20°C op moutagar een dichte mat van aanvankelijk hyalien en later bruinzwart wordend mycelium, dat dicht over en op de agar groeit. Dit mycelium bestaat uit gesepteerde, tamelijk dikwandige hyfen, die zich sterk vertakken en vaak anastomoserend (fig. 5d). De breedte van de hyfen varieert van 1,8 tot 7,5 μ ; de wand heeft een dikte van 0,4–0,8 μ . Bij de vertakkingen zijn de hyfen iets ingesnoerd. Tijdens de groei wordt een bruin pigment afgescheiden, waardoor het agar-medium spoedig opvallend bruinzwart gaat verkleuren. Na 2 à 3 weken ontwikkelen zich verspreid over de voe-

dingsbodem ronde of onregelmatig gevormde, platte sclerotiën, 2–5 mm in diameter en 0,5–1,5 mm dik (vgl. fig. 5a). Soms gaan enkele sclerotiën met elkaar vergroeiën en ontstaan tamelijk grote, onregelmatige complexen van sclerotiën. De sclerotiën hebben een duidelijk gedifferentieerde wand (fig. 5c), zodat men ze kan karakteriseren als echte sclerotiën. Op andere agar-voedingsbodems vertoont de schimmel een overeenkomstig groeibeeld.

Echte fructificaties zijn in cultures op moutagar en andere voedingsbodems nooit gezien. Wel werden in 1960 in een oude cultuur van de schimmel op moutagar in fialiden gevormde microconidiën gevonden (BOEREMA, 1960), maar nadien is dit nimmer meer waargenomen zodat hier mogelijk sprake is geweest van een verontreiniging.

De bovengenoemde pigmentering, die bij alle kunstmatige voedingsbodems optreedt, verklaart de opvallende, zwarte verkleuring van het aangetaste planteweefsel bij zwartbenigheid. De merkwaardige platte sclerotiën komen goed overeen met de onopvallende sclerotiën die zich bij zwartbenigheid in de aangetaste vliezige rokken en tussen de vlezige bolrokken kunnen ontwikkelen (vgl. fig. 4).

Invloed van de temperatuur op de groei

Om de groeisnelheid bij verschillende temperaturen te bepalen, werden uit een met de schimmel begroeide moutagar-plaat ronde stukjes geponst en geënt op petrischalen waarin 20 ml moutagar was gegoten. Deze schalen werden eerst gedurende 24 uur bij kamertemperatuur weggezet om „aan te slaan”. Op de schalen werd dan aangegeven tot hoever de schimmel was gegroeid, waarna de cultures in het donker bij verschillende temperaturen werden geplaatst. Hierbij werd voor temperaturen boven de kamertemperatuur gebruik gemaakt van een thermostaat, terwijl voor temperaturen beneden de kamertemperatuur een tot op één graad nauwkeurig werkende koelkast werd gebruikt. De temperaturen werden in beide gevallen gecontroleerd met behulp van een thermograaf.

Bij elke temperatuur werd de groei van het mycelium gedurende een bepaalde periode, afhankelijk van de groeisnelheid, gemeten. Dit werd achtereenvolgens steeds driemaal gedaan bij 10 gelijktijdig ingezette schalen. In fig. 6 is het resultaat van deze groeimetings in het donker bij verschillende temperaturen in een grafiek weergegeven. De aangegeven groei in mm per 24 uur berust dus steeds op 10 afzonderlijke metingen. Uit deze groeikromme kan men afleiden dat de optimale groei van de schimmel in het donker optreedt tussen 16 en 22°C. Dit is dus hoger dan eerder is vermeld (BOEREMA, 1960). Verder blijkt de laagste temperatuur waarbij de zwartbenigheidsschimmel nog groeit enige graden onder het vriespunt te liggen, terwijl bij oplopende temperaturen van 0 tot 21°C de groeisnelheid langzaam toeneemt. Na het bereiken van de optimale groeitemperatuur neemt de groeisnelheid bij hogere temperaturen snel af om tenslotte bij ongeveer 26°C tot niet meer waarneembaar te zijn gereduceerd. Bij verschillende temperaturen varieert het groeibeeld van de schimmel sterk. Bij optimale groeitemperatuur en bij lagere temperaturen is alleen het mycelium in het centrum van de kolonie gepigmenteerd en omgeven door een vrij brede zone van hyalien mycelium. Bij temperaturen hoger dan 22°C wordt de zone van hyalien mycelium steeds smaller, terwijl de pigmentering van het mycelium en de daarmee samengaannde verkleuring van de voedingsbodem steeds opvallender wordt (fig. 7a en b). Vermeldenswaard is verder dat bij lage temperaturen na een be-

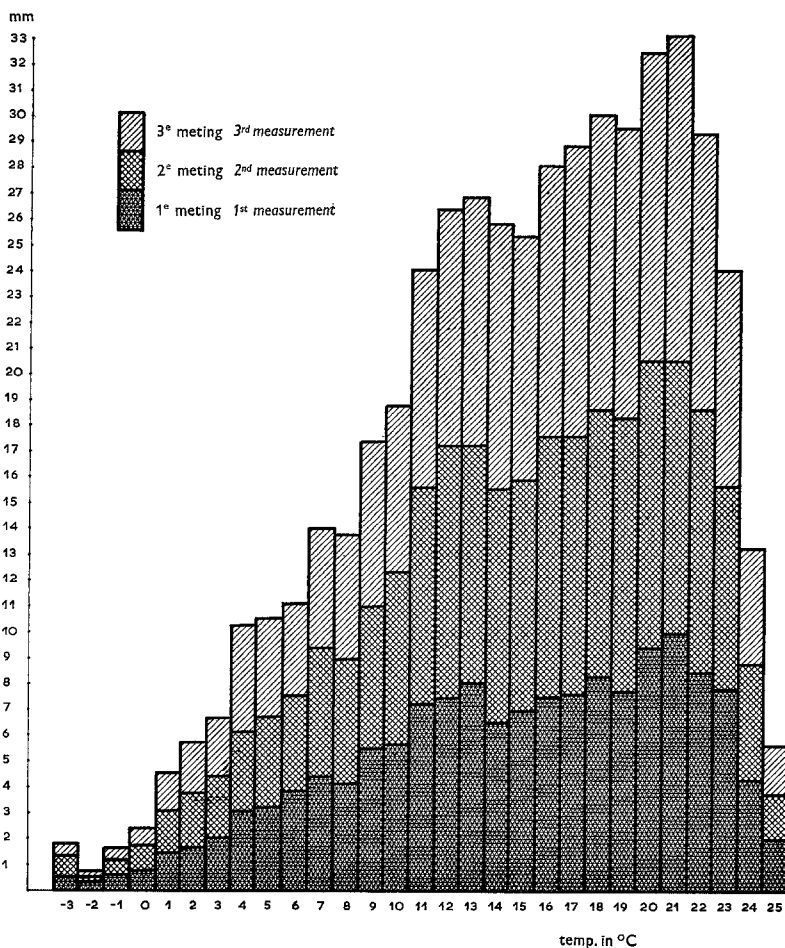


FIG. 6. Groei van de zwartbenigheidsschimmel op moutagar bij verschillende temperaturen in het donker. De drie achtereenvolgende metingen hebben steeds betrekking op tien afzonderlijke waarnemingen.

Growth of the black leg-fungus in the dark on malt agar at different temperatures. The three measurements given in each case relate to ten separate observations.

paalde tijd soms ook in het luchtmycelium sclerotiën worden gevormd, die zich aanvankelijk ontwikkelen als witte myceliumbolletjes die later een donkere wand krijgen (fig. 5b). Deze sclerotiën zijn dus van een geheel ander type dan de platte sclerotiën die de schimmel bij hogere temperaturen maakt.

Om een indruk te krijgen van de invloed van licht op de groeisnelheid van de schimmel zijn op de bovenbeschreven wijze ook enkele metingen verricht bij cultures die in het licht waren gegroeid. Hierbij is gebruik gemaakt van een lampje van 40 Watt dat ongeveer 15 cm boven de schalen was geplaatst. De resultaten van deze metingen gaven een aanwijzing dat licht bij lage temperaturen, tot ongeveer 17°C, een gering groeiremmend effect heeft, terwijl licht bij temperaturen boven 17°C enigszins stimulerend op de groeisnelheid werkt.

Uit het bovenstaande kan worden geconcludeerd, dat in de late herfst en in de wintermaanden de zwartbenigheidsschimmel zich in de grond en op besmette bollen meestal reeds enigszins zal kunnen ontwikkelen (vooral als de grond met stro is afgedekt). Pas in de daarop volgende voorjaarsmaanden, als de gemiddelde bodemtemperatuur steeds hoger wordt, zal de schimmel goed op gang kunnen komen. Zodra hij boven de grond komt zal licht deze groei mogelijk nog stimuleren. Een en ander is wellicht de achtergrond van het feit, dat de zwartbenigheid zich steeds tamelijk plotseling openbaart in het late voorjaar bij bloeiende of reeds uitgebloeide (late) tulpen en irissen. Ook kan men zich voorstellen dat de mate waarin zwartbenigheid in een bepaald jaar optreedt sterk afhankelijk is van de gemiddelde temperatuur in de voorjaarsmaanden.

De identiteit van de zwartbenigheidsschimmel

Na uitvoerige raadpleging van de in aanmerking komende literatuur en na vergelijking met de verschillende bekende sclerotiën vormende schimmels werd geconcludeerd dat wij hier te maken hebben met een nog niet beschreven schimmel. Daar er bij deze schimmel tot nu toe noch in vivo noch in vitro fructificaties zijn waargenomen, moet hij, althans voorlopig, worden ondergebracht in een van de vormgeslachten van de Mycelia Sterilia van de Deuteromycetes (Fungi imperfecti). Door de hoedanigheid van het mycelium en de habitus bij groei in vitro doet de zwartbenigheidsschimmel denken aan het vormgeslacht *Rhizoctonia*. Kenmerkend voor dit geslacht is evenwel het optreden van pseudo-sclerotiën, terwijl de zwartbenigheidsschimmel uitsluitend echte sclerotiën maakt. Derhalve past de schimmel nog het beste in het vormgeslacht *Sclerotium* en wordt hij hieronder ook als een nieuwe soort van dat geslacht beschreven. De schrijvers rekenen het zich daarbij tot een eer in deze schimmel te vernoemen wijlen Dr. J. H. WAKKER¹, de grondlegger van het wetenschappelijk onderzoek over bloembollenziekten.

Sclerotium wakkerii Boerema & Posthumus spec. nov.

Mycelium initio hyalinum, deinde fuscescens, plus minusve olivaceo-atrum vel fusco-atrum, septatum, ramosum, anastomosans, 1,8–7,5 μ diam. Parietis hyphae crassitudo 0,4–0,8 μ .

Sclerotia subimmersa vel superficialia (praecipue si artificialiter culta), depresso-sphaeroidea vel ellipsoidea, basi plana, 2–5 mm $\times$ 0,5–1,5 mm, interdum coalescens, cum cortice atro distincto, intus albo-medullosa, hyphis hyalinis, ramosis, peranguste innectis composita. Fungo culto sub frigore sclerotia interdum sphaerica, 0,5–2,0 mm diam.

Habitat in tunica bulbi, bulbo et pedicelli basi Tuliparum et Iridum hybridarum, maculas producit atras et plantas interficit praemature; observatus in Neerlandia.

Levende cultures van de schimmel zijn aanwezig in het Centraalbureau voor Schimmelcultures te Baarn (typecultuur) en in The Commonwealth Mycological Institute te Kew. In het laatstgenoemde instituut en in het Rijksherbarium te Leiden zijn bovendien gedroogde cultures van de schimmel gedeponeerd.

¹ Deze eminente Nederlandse bioloog (1859–1927) heeft zeer waardevol onderzoek gedaan over „geelziek”, „zwartsnot”, „witsnot” en „oudziek” van hyacint; „slapers” bij lelie; „kwade-grondziekte”, „gommen”, „spouwers” en „vuur” bij tulp; en een krokusziekte. Verder heeft hij ook op andere zeer uiteenlopende gebieden prachtig wetenschappelijk werk verricht. Zie voor nadere gegevens: WENT, F.A.F.C., – 1927. In memoriam Jan Hendrik Wakker. Vakbl. Biol. 9: 11–17.

Ten slotte moet nog worden opgemerkt dat *Sclerotium wakkerii* veel overeenkomst vertoont met *Sclerotium denigrans* Pape, bekend als de veroorzaker van een zwarte verkleuring en rottingsverschijnselen bij kiemen van *Convallaria majalis* L. (in Duitsland spreekt men hierbij van „Schwarzer Tod” of „Maienblumenpest”; zie PAPE, 1943). Deze twee schimmels zijn ongetwijfeld zeer nauw verwant. Het enige, maar dan ook zeer opvallende verschil tussen *Sclerotium wakkerii* en *Sclerotium denigrans* is de grootte van de sclerotiën. Deze zijn bij de laatstgenoemde schimmel nl. altijd bijzonder klein: 0,6–1,3 mm in diameter.

SAMENVATTING

Aansluitend op een vorige publikatie over de z.g. zwartbenigheid bij tulpen (BOEREMA, 1960) zijn in dit artikel nadere gegevens medegedeeld over deze ziekte en de veroorzakende schimmel. Een 23-tal bloembolgewassen zijn door uitplanting op zwaar besmette grond getoetst op hun gevoeligheid voor deze ziekte. Daarbij kon het typische ziektebeeld van de zwartbenigheid alleen worden verkregen bij tulpen en bolirissen. De uit de praktijk afkomstige stelling dat ook krokussen voor deze ziekte gevoelig zijn (SILVER & SLOOTWEG, 1959), kon niet worden bewezen.

De kenmerkende eigenschappen van de sclerotiën vormende schimmel die deze zwartbenigheid veroorzaakt, zijn uitvoerig besproken. Daar de schimmel onbekend blijkt te zijn, is deze beschreven als een nieuwe soort: *Sclerotium wakkerii*. Deze schimmel is nauw verwant aan *Sclerotium denigrans* Pape, die een zwarte verkleuring van *Convallaria*-kiemen veroorzaakt (PAPE, 1943).

SUMMARY

After reference to an earlier paper on “black leg” of tulips (BOEREMA, 1960) the present paper gives further data on the disease and the causal fungus. Besides affecting tulips, the disease is also found in the field on bulbous irises. The disease symptoms are shown in figs. 1, 2, 3 and 4.

The susceptibility to black leg of 23 bulb species was tested in heavily contaminated soil. In agreement with experience in practice, only tulips and irises developed the typical black leg symptoms. In other bulb species a black discoloration of the dead membranous bulb or tuber tunic was sometimes found, but no disease symptoms appeared above ground. This applied also to crocus, for which susceptibility to black leg in the field has been claimed (SILVER & SLOOTWEG, 1959).

The black leg-fungus is easily isolated on cherry agar at 20°C (fig. 5a), after treating the attacked tissue with a detergent and rinsing with tap water. Growth of the fungus was studied on malt agar, as this medium favours good and rapid growth. The relation between the growth rate on malt agar in the dark and temperature is shown in fig. 6. In the early stage a white flat mycelium is formed; later this turns brownish-black, secreting a typical dark pigment in the medium (fig. 7a and 7b). The hyphae (fig. 5d) vary in width from 1.8 to 7.5 μ , the walls being rather thick, 0.4 to 0.8 μ . The hyphae are often anastomosed and branched. After 2 or 3 weeks in culture the fungus develops brownish-black round or flattened irregular sclerotia 2–5 mm in diameter and 0.5–1.5 mm thick, consisting of a compact mass of hyaline hyphae surrounded by thick-walled dark

coloured cells (fig. 5a and 5c). When the fungus is grown at low temperatures sclerotia sometimes develop in the aerial mycelium. These are always somewhat spherical and at first white in colour (fig. 5b). In an old culture of the fungus grown on malt agar microconidia formed in phialides were found in 1960 (BOEREMA, 1960). This has not been observed again, however, so possibly a contamination was concerned.

The black leg fungus differs from all other known sclerotia producing fungi.¹ It is therefore described as a new species, viz. *Sclerotium wakkerii* Boerema & Posthumus nov. spec. We take pleasure in naming this species after Dr. J. H. WAKKER (1859–1927), originator of scientific work on bulb diseases. Living cultures of the fungus have been placed at the disposal of the Centraalbureau voor Schimmelcultures at Baarn (type culture) and at the Commonwealth Mycological Institute at Kew. Dried plate cultures were sent to the Commonwealth Mycological Institute at Kew and the Rijksherbarium at Leyden.

Sclerotium wakkerii closely resembles *Sclerotium denigrans* Pape, the cause of a black discoloration of the shoots of lily of the valley (PAPE, 1943). However, the sclerotia of *Sclerotium denigrans* are considerably smaller than those of *Sclerotium wakkerii*.

LITERATUUR

- BOEREMA, G. H., – 1960. De oorzaak van „zwartbenigheid” bij tulpen. Tijdschr. PlZiekt. 66: 232–234.
 BOEREMA, G. H., – 1962. Notes on some unusual fungus attacks on flower bulbs II. Versl. PlZiekt. Dienst 136, Jaarboek 1961: 210–217.
 GOULD, CH. J., – 1957. Bulb growing and forcing. Northwest Bulb Growers Association, Washington: 154–155.
 PAPE, H., – 1943. Untersuchungen über das „Schwarzwerden” der Maiblumenkeime. Angew. Bot. 25: 29–54.
 SILVER, C. N. & A. F. G. SLOOTWEG, – 1959. Zwartbenigheid in tulpen. Wbl. BloembCult. 70: 20.

¹ The assumption that “black rot” of tulip, iris and other bulb species (described in the United States of America by GOULD, 1957) is identical with black leg, observed in the Netherlands, is wrong. On examination of cultures of the black rot fungus obtained from Dr. CH. J. GOULD through the kindness of Mr. N. G. SANTACROCE, this fungus proved to be identical with *Sclerotinia bulborum* (Wakk.) Rehm, known in Europe as the cause of “black slime” of all kinds of bulbs (see BOEREMA, 1962).