



Het afsterven van stengels en knoppen bij de roode framboos

<https://hdl.handle.net/1874/288023>

Agri 192. 1927

HET AFSTERVEN VAN
STENGELS EN KNOPPEN
BIJ DE ROODE FRAMBOOS

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

J. P. KARTHAUS

s.
cht

27

HET AFSTERVEN VAN
STENGELS EN KNOPPEN BIJ DE
ROODE FRAMBOOS

JOHANNES PETRUS NANTHAUS

HET AESTERVEN VAN
STENGELS EN KNOOPEN BIJ DE
ROODE FRAMBOOS

RIJKSUNIVERSITEIT UTRECHT



1393 9230

Diss. Utrecht 1927

HET AFSTERVEN VAN STENGELS EN KNOPPEN BIJ DE ROODE FRAMBOOS

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE WIS- EN NATUURKUNDE
AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT,
OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS
Dr. A. NOORDTZIJ, HOOGLEERAAR IN DE
FACULTEIT DER GODGELEERDHEID,
VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER
UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN
VAN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUUR-
KUNDE TE VERDEDIGEN, OP MAANDAG
2 MEI 1927, DES NAMIDDAGS VIER UUR

DOOR

JOHANNES PETRUS KARTHAUS

GEBOREN TE AMBARAWA

BAARN — HOLLANDIA-DRUKKERIJ — 1927

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

Van deze gelegenheid maak ik gebruik om allen dank te zeggen, die aan mijn wetenschappelijke vorming medewerkten.

In het bijzonder zij mijn dank gebracht aan U, Hooggeleerde Went, Jordan, Pulle en Nierstrasz.

U, Hooggeleerde Westerdijk, Hooggeachte Promotrix kan ik niet genoeg danken voor de vele goede raadgevingen en critiek die U, met Uwe zoo rijke phytopathologische en levenservaring, mij in ruime mate toebedeelde. De tijd, dat ik op het door U geleide laboratorium mocht werken, zal een der beste herinneringen in mijn leven blijven.

Hooggeachte van Luyk, zeer veel dank ben ik U verschuldigd voor de groote bereidwilligheid waarmede Gij mij in de geheimen van mycologie en phytopathologie inwijdde. Ook voor Uw hulp bij het uiteraard vervelende corrigeeren der drukproeven ben ik U zeer dankbaar.

Den heeren Rietsema, de Rijk en Bloemsmā zeg ik hierbij hartelijk dank voor de hulp en steun die ik mocht onder vinden bij het verzamelen van materiaal voor dit onderzoek.

INHOUD

	blz.
INLEIDING	1
Hoofdstuk I. METHODIEK	3
Hoofdstuk II. EENIGE GEGEVENS OVER DE FRAMBOOS	5
Hoofdstuk III. HET AFSTERVEN DER STENGELS EN KNOPPEN VEROORZAAKT DOOR DIDY- MELLA APPLANATA (NIESSL) SACC.	
§ 1. Literatuur	7
§ 2. Symptomen van de ziekte	8
§ 3. Morphologie en nomenclatuur van de schimmel	14
§ 4. Isolatie en cultuur van de schimmel	17
§ 5. Eenige punten uit het leven van schimmel en voedsterplant in ver- band met de infectie	18
§ 6. Bestrijding	19
Hoofdstuk IV. HET DOOR CONIOTHYRIUM FUCKELII SACC. VEROORZAAKTE AFSTER- VEN VAN DE STENGELS EN KNOPPEN.	
§ 1. Literatuur	22
§ 2. Symptomen van de ziekte	23
§ 3. Morphologie en nomenclatuur van de schimmel	25
§ 4. Isolatie en cultuur van de schimmel	26
§ 5. Het leven van schimmel en voedsterplant in verband met de infectie	27
§ 6. Bestrijding	27
Hoofdstuk V. GLOEOSPORIUM VENETUM SPEG. IN ZIJN VERBAND MET DE AFSTER- VING VAN KNOPPEN EN STENGELS.	
§ 1. Literatuur	29
§ 2. Symptomen	30
§ 3. Eenige punten uit het leven van schimmel en voedsterplant in ver- band met de infectie	31
§ 4. Bestrijding	31

VIII

Hoofdstuk VI. HET STENGELSTERVEN IN VERBAND MET DE CALLUSZIEKTE.

§ 1. Symptomen van de ziekte	33
§ 2. Oorzaak van de ziekte	34
§ 3. Bestrijding	37

Hoofdstuk VII. VERTICILLIUM SP., BOTRYTIS CINEREA PERS., HENDERSONIA RUBI (WEST.) SACC. IN HUN VERBAND MET HET AFSTERVEN VAN KNOPPEN EN STENGELS.

§ 1. Verticillium sp. (Dahliaegroep)	40
§ 2. Botrytis cinerea Pers.	44
§ 3. Hendersonia rubi (West.) Sacc.	46

Hoofdstuk VIII. BASIS VOOR EEN GECOMBINEERDE BESTRIJDING VAN GLOEOSPORIUM VENETUM, PSEUDOMONAS TUMAEFACIENS EN DIDYMELLA APPLANATA

SAMENVATTING DER RESULTATEN	50
LITERATUURLIJST	53

INLEIDING

Ziet men in verschillende jaargetijden eens rond in de vele frambozenaanplantingen, die zich in de omgeving van Breda bevinden, dan valt direct op het veelvuldig voorkomen van onuitgelopen knoppen en het sterven van de stengels, in allerlei ontwikkelingsstadia. Ook op andere plaatsen in Nederland, o. a. te Baarn en Apeldoorn, kan men het voorkomen van dergelijke verschijnselen bij frambozen constateeren.

Besloten werd een onderzoek naar de oorzaken van het knopen en stengelsterven in te stellen. Hierbij werden op en in de stengels een aantal organismen gevonden, die deze verschijnselen kunnen veroorzaken. De volgende waren zeker, of bijna zeker, in staat de genoemde verschijnselen teweeg te brengen: *Didymella applanata* (Niessl) Sacc., *Coniothyrium Fuckelii* Sacc., *Gloeosporium venetum* Speg. en *Pseudomonas tumae-faciens* (Sm. & Town.) Duggar. Deze organismen zullen in hun verband tot het knop- en stengelsterven in aparte hoofdstukken worden besproken.

Verder werden nog enkele schimmels gevonden, waarvan het parasitisme nog twijfelachtig is en van welke het dus niet zeker is of zij genoemde verschijnselen kunnen veroorzaken. Dit zijn: een *Verticillium*species die tot de *Verticillium Dahliaegroep* behoort, *Botrytis cinerea* Pers, en *Hendersonia rubi* (West.) Sacc. Deze zullen gezamenlijk in één hoofdstuk worden besproken. Vooraf zullen nog worden behandeld, de methoden die bij de infectieproeven werden gebruikt en eenige gegevens over de framboos.

Behalve bovengenoemde organismen, die het knop- en stengelsterven min of meer direct teweeg brengen, werden nog ziekten aangetroffen, die indirect een groote rol lijken te spelen bij het veroorzaken van de afstervingsverschijnselen. Zij worden niet in een apart hoofdstuk behandeld, daar slechts eenige algemeene indrukken omtrent hun voorkomen werden opgedaan. Vooral om-

dat zij waarschijnlijk de vatbaarheid voor aantasting door de gevonden organismen, in hooge mate kunnen beïnvloeden, zullen zij hier kort worden besproken. Ik heb n.l. het oog op een of meer *virusziekten*, die hier te lande vrij algemeen blijken voor te komen. Zoo is bijv. in de frambozenculturen rondom Breda, een *mozaiekziekte* zeer verbreid. Bijna geen plant van de variëteiten Superlatief of Hornet, die er niet mede behept is. Ook onder de variëteit Boskoopsche Hornet, doet zij reeds haar intrede. De planten lijden er op het eerste gezicht niet merkbaar onder. Zij brengen bij goede cultuur en ruime bemesting nog behoorlijk ontwikkelde stengels voort. Toch geloof ik, naar aanleiding van hetgeen bij andere gewassen wordt waargenomen die aan virusziekten lijden, dat de aantasting door verschillende parasitaire organismen, zeer wordt bevorderd. Een virusziekte, die een vernietigenden invloed heeft op de plant, trof ik in de omstreken van Breda aan bij de variëteit Haagsche Bruine. Hier zag men tusschen behoorlijk ontwikkelde planten, exemplaren die dunne, lage stengels voortbrachten, met kleine gekrulde bladeren, al of niet voorzien van mozaiek-vlekken, kortom planten die typische kenteekenen van een virusziekte vertoonden. Deze stengels brachten, zooals te begrijpen, nauwelijks vruchten voort en er werden vele aangetroffen die afstierven, blijkbaar tengevolge van een aantasting door *Didymella applanata*. Of wij hier nu te doen hebben met een aparte virusziekte, of dat de verschijnselen een gevolg zijn van de genoemde mozaiekziekte, waarvoor de variëteit misschien zeer gevoelig is, blijft nog te onderzoeken.

HOOFDSTUK I

METHODIEK

Bij al de in de volgende hoofdstukken vermelde kunstmatige infecties, werd gebruik gemaakt van in den vollen grond (humusrijken zandgrond) staande planten en wel uitsluitend éénjarige stengels. Slechts een klein aantal stond ter beschikking, daar het zeer lastig was stengels te verkrijgen, waarvan men eenigszins zeker kon verwachten, dat er geen sporen van *Didymella appplanata* of andere parasieten op aanwezig waren. Wegens dit kleine aantal stengels waarmede gewerkt werd, kon slechts bij het *slagen* van een infectie, een conclusie getrokken worden, omtrent het al of niet parasitair zijn van de schimmel of bacterie in quaestie. Voor de infecties werden mycelium met of zonder sporen van de schimmel, of bacteriën, uit reïncultuur, gebruikt. Infecties met de schimmels werden op de volgende wijze uitgevoerd:

In een kleine schuine snede, die met een afgevlamd Gillette-mesje in de lengterichting van den stengel was gemaakt en die meestal niet dieper ging dan tot op de sklerenchymbundels in de primaire bast, werd een stukje agar met mycelium uit de reïncultuur gebracht. Vervolgens werd het geheel omwonden met een raffia-bandje. De contrôlestengels werden net zoo behandeld, alleen inplaats van agar met mycelium werd een steriel stukje agar in de wond gelegd. Iedere stengel werd op $\pm \frac{1}{4}$ en $\frac{3}{4}$ der totale lengte, van den grond af gemeten, geïnfecteerd.

Alleen bij infectie met *Pseudomonas tumae-faciens*, werd een andere methode gevolgd: op de te infecteeren plek werd een weinig van de bacteriënreïncultuur uitgestreken en vervolgens

eenige malen met een afgevlamde praepareernaald, in het weefsel gestoken. Het aldus bewerkte deel werd gemerkt, door er een O. I. inktlijn omheen te trekken. De contrôlestengel werd natuurlijk alleen beprikt, zonder toevoeging van de bacteriën.

In den regel werden per infectieproef en per organisme, drie stengels gebruikt, waarvan twee werden geïnfecteerd en één als contrôle diende. Werd meer dan één varieteit voor een infectieproef gebruikt, dan werden van ieder, drie stengels behandeld.

Bij de, in de volgende hoofdstukken vermelde, geslaagde infectieproeven, liepen de infecties bij iedere stengel op beide plaatsen door. De contrôles bleken steeds onbesmet.

Bij *Didymella applanata*, *Coniothyrium Fuckelii* en *Hendersonia rubi*, werden voor de infectieproeven reinculturen, afkomstig van enkelspoorisolaties van nog geen jaar oud en hiervan subculturen van hoogstens een maand oud, gebruikt. De stam van *Pseudomonas tumae-faciens*, was afkomstig uit de collectie van het Phytopathologisch Laboratorium Willie Commelin Scholten, te Baarn. Vóór het uitvoeren van een infectieproef, werd eerst gecontrôleerd of er overvloedig beweeglijke bacteriën aanwezig waren. De stam van *Gnomonia Rubi Rehm*, was afkomstig uit de collectie van het Centraal Bureau voor schimmelcultures te Baarn. Voor de uitgevoerde infectieproef, werd een sub-cultuur van nog geen maand oud gebruikt.

Met *Gloeosporium venetum*, *Verticillium sp.* en *Botrytis cinerea*, werden geen infecties uitgevoerd.

Ik gebruikte voor de infectieproeven uitsluitend groene stengels, waarop geen schimmelvlekken, of schorsverkleuringen, aanwezig waren. Het slagen van de infectie, bij de schimmels tenminste, kon men dan direkt bemerken, aan het vormen van verkleuringen rondom de infectieplek.

HOOFDSTUK II

EENIGE GEGEVENS OVER DE FRAMBOOS

De in dit geschrift behandelde ziekteverschijnselen werden alle waargenomen bij de roode framboos. De hier te lande gekweekte variëteiten zijn bijna alle afkomstig van de Europeesche roode framboos, *Rubus Idaeus L.* De meest gekweekte variëteiten zijn ongetwijfeld *Superlatief* en *Hornet*, beide echte *Rubus Idaeus* rassen. Men vindt er beschrijvingen en afbeeldingen van o. a. in de publicatie van Grubb (1922) over gekweekte frambozen-variëteiten. De var. *Hornet* wordt erin beschreven als *Hornet A*. In de omgeving van Breda trof ik dikwijls aan de variëteit *Boskoopsche Hornet*, een van de vorige vrij sterk afwijkende variëteit, waarvan ik geen beschrijving of afbeelding kon vinden. Eenige opvallende verschillen zijn de bruin-grijze schorskleur, de afwezigheid van een waslaag op de éénjarige stengels en het zeer vroege uitloopen in het voorjaar. Einde Februari zijn, althans te Baarn, de toppen der knoppen reeds groen. De variëteiten *Superlatief* en *Hornet* hebben een bruin-roode schors, de éénjarige stengels zijn met een waslaag bedekt en zij loopen later uit dan de *Boskoopsche Hornet*. Einde Februari waren de knoppen nog geheel bruin. *Rubus Idaeus L.* is, zooals men weet, een overjarig gewas, met een wortelstok waaruit elk jaar nieuwe stengels ontspruiten. Naast de wortelstok-scheuten, ontwikkelen zich ook jonge stengels uit wortelknoppen; bij sommige variëteiten in groote hoeveelheid, o. a. bij de *Boskoopsche Hornet*. De meeste van de uitspruitsels komen in het voorjaar boven den grond en laten in den herfst hun bladeren vallen. Uit de in dit jaar gevormde knoppen, ontwik-

kelen zich het volgend jaar vruchtdragende takken. Na het voortbrengen van de vruchten, sterft de stengel. De stengels zijn dus tweejarig, terwijl de wortelstok meerjarig is. In deze publicatie zullen de stengels éénjarig worden genoemd vanaf het ontspruiten, tot het begin van het jaar daarop; daarna worden ze tweejarig genoemd.

HOOFDSTUK III

HET AFSTERVEN DER STENGELS EN KNOPPEN, VEROOR- ZAAKT DOOR DIDYMELLA APPLANATA (NIESSL) SACC.

§ 1. Literatuur

Osterwalder (1917) meldt uit Zwitserland het parasitair optreden van de fungus onder den naam *Himbeerruten-krankheit*, later (1922) als *Didymellakrankheit*. Door infectieproeven bewees hij het parasitisme van de schimmel

Uit Duitschland wordt het optreden der door de schimmel veroorzaakte ziekte, o. a. door Rabbas (1922) uit Anhalt gemeld, onder den naam *Rutenkrankheit*.

Uit Engeland werd ze hier en daar als parasiet op frambozen gezien (Beaumont en Hodson (1925)).

In Denemarken (Kölpin Ravn (1919)) komt de schimmel zeer algemeen voor.

In Amerika is dezelfde schimmel, of hoogstens een iets afwijkend ras ervan, onder den naam *Mycosphaerella rubina* (Peck) Jacz., bekend als oorzaak van *spurblight* bij frambozen. Sackett (1915) geeft in een tamelijk uitvoerige publicatie, waarin vele en goede afbeeldingen voorkomen, een duidelijk beeld van de ziekte en wijst daarin het parasitisme van de schimmel, door infectieproeven. Na en voor het verschijnen dezer publicatie, wordt de ziekte in verschillende Amerikaansche proefstations „bulletins” en „reports” vermeld en kort beschreven. Echter brengen deze geen nieuws. Een voorloopige mededeeling van Newhall (1923), wijst op

het belang van den imperfecten vorm (een *Phoma*) van *Didymella applanata* als infectiebron.

Uit Nederland werd de schimmel nimmer als parasiet op frambozen vermeld. Het blijkt daar een zeer algemeen op deze plant voorkomende fungus te zijn. In elke kweekrij of tuin waar frambozen werden gekweekt trof ik haar op de stengels aan, zoo bij verschillende tuinders in de omstreken van Breda (Ginneken, Princenhage, Zundert), Apeldoorn en Baarn. Verder constateerde ik haar aanwezigheid op levend materiaal, afkomstig uit Hilversum, Middachten, Goes en Hees bij Nijmegen.

§ 2. *Symptomen van de ziekte*

Men ziet de schimmel voor het eerst in de levenscyclus van de frambozenstengel optreden, in haar eerste jaar en wel in den vorm van onregelmatige, bruine, bruinroode, of blauwpaarsbruine vlekken ¹⁾, die zich scherp afteekenen op de groene stengel en ongeveer begin Juli voor het eerst verschijnen, op de onderste helft. Zij beginnen dan bijna uitsluitend onder en om de oogen, daar waar een blad dood of afgevallen is; later in den tijd ook meer midden op de internodiën, althans niet in direct verband met een oog. Het plotselinge optreden van de vlekken in Juli, voor dien tijd treden zij slechts sporadisch en uitsluitend om wonden op, staat zooals uit het voorgaande blijkt, in nauwen samenhang met het afvallen der onderste bladen in den zomer. Dit is een normaal verschijnsel, dat elk jaar optreedt en in 1926 ongeveer einde Juni begon. Misschien is een der oorzaken, die het in de hand werken, de betrekkelijk slechte belichting dier bladen.

Nu is het verschijnen van dergelijk gekleurde vlekken als de beschrevene, onder oogen waar een blad dood of afgevallen is, niets bijzonders; beginnende *Didymella*-vlekken zijn dikwijls niet van hen te onderscheiden. De eerste blijven echter steeds klein (hoogstens 1 c.M. lang) en beslaan slechts een klein deel van de stengelomtrek, terwijl de laatste zich steeds uitbreiden, zoowel in

¹⁾ De kleur van de vlekken is b.v. bij de variëteit Boskoopsche Hornet bruin-grijs, bij de variëteiten Superlatief en Hornet in den regel paarsbruin. De vlekken zijn hier paarsbruin gekleurd door de kleurencombinatie van de blauwe waslaag, die op de stengels aanwezig is en de bruinroode kleur van de schimmelvlek.

de lengte (het meeste), als in de breedte, zoodat zij ten slotte de geheele stengelomtrek over een kleinere of grootere afstand omgeven.

Het bleek mij verder uit kunstmatige infecties, dat meerdere schimmels de stengels bruin kunnen kleuren, n.l. *Coniothyrium Fuckelii* Sacc. en *Gnomonia rubi* Rehm. Hiermede werden 16 Juni 1926, op de in Hoofdstuk I vermelde wijze, eenige stengels van de variëteit Superlatief geïnfecteerd. Na ruim een week verschenen om de infectieplekken vlekken van dezelfde kleur als bij *Didymella*-infecties. Daar *Coniothyrium Fuckelii* een schimmel is die hier te lande verscheidene keeren werd gevonden, bestaat de mogelijkheid, dat de bruine schimmelvlekken die men aantreft, niet alle aan *Didymella applanata* zijn te wijten, maar dat er ook *Coniothyrium*vlekken onder schuilen. Uit het verdere verloop van de aantasting is dan pas op te maken, waar we mee te doen hebben. Op de *Coniothyrium*vlekken ontwikkelen zich de voor de schimmel karakteristieke pykniden, op de *Didymella*vlekken *Phomapykniden* en peritheciën.

Nu treedt later in den zomer (Aug. Sept.) een verschijnsel op, dat het constateeren van de aanwezigheid van *Didymella* naar de bruine vlekken, zeer kan bemoeilijken. Bedoeld verschijnsel is de normale bruinkleuring der schors, die onregelmatig pleksgewijs optreedt en wel voornamelijk op de onderste stengelhelft. Deze verkleuringen hebben bij de variëteit Boskoopsche Hornet dezelfde tint als de *Didymella*vlekken, zoodat hier dan vrijwel niet meer is uit te maken of *Didymella* al of niet aanwezig is. Bij de variëteit Superlatief is de kleur duidelijk verschillend van de *Didymella*vlekken.

Gaat men na wat er uit de in Juli optredende bruine *Didymella*vlekken wordt, dan ziet men er omstreeks Augustus grijze vlekjes met zeer kleine zwarte stippen bezet, op verschijnen, vooral vlak onder een bladlitteeken. De zwarte puntjes zijn dikwijls de pykniden van een *Phoma*, die een nevenvruchtvorm van *Didymella* blijkt te zijn (zie § 3). De bruine vlekken worden in den loop van den nazomer-herfst, geheel grijs en zijn dan bezet met talloze kleine zwarte stippen, grootendeels bestaande uit de onrijpe peritheciën van de schimmel.

Op de frambozenstengels komen echter meerdere grijze plekken

voor, die door verschillende schimmels worden veroorzaakt. In de eerste plaats treft men vlekken aan die gelijken op de door *Didymella* veroorzaakte. Deze worden teweegebracht door *Coniothyrium Fuckelii*. Makroskopisch zijn ze wel eenigszins te onderscheiden, daar bij de *Coniothyrium*-vlekken de pykniden niet zoo talrijk zijn en bovendien minder scherp uitkomen. De *Didymella*-perithecieën heffen n.l. het bovenliggende weefsel betrekkelijk hoog op, terwijl de monding van de *Coniothyrium*-pykniden in het zelfde vlak van de epidermis ligt. Stewart (1902) vermeldt dat men op de *Coniothyrium*-vlekken massa's uitgeworpen sporen in den vorm van roetkleurige plekken vindt. Dit nam ik slechts één keer waar, op een doode 2-j. stengel.

Verder bleek mij, dat op de stengels grijze vlekjes voorkomen, waarop zich pykniden van *Phoma*-soorten bevinden. Deze vlekken zijn makroskopisch niet van *Didymella*-vlekken te onderscheiden.

Een zeer duidelijk verschil met de laatste vertoonen de grijze vlekken die *Botrytis cinerea* teweeeg brengt. Deze zijn egaal grijs zonder de talrijke zwarte stipjes der *Didymella*-vlekken, maar schaarsch bezet met langwerpige zwarte vlekken (± 2 m.m. tot $\frac{1}{2}$ c.m. lang, grootste afmeting in lengterichting stengel), die zich eenigszins boven de epidermis verheffen, welke hier en daar doorbroken is. Ook vindt men wel eigenaardige apart-staande groepjes zwarte hyphen en verder conidiendragers met of zonder conidien op deze vlekken; echter het meest voorkomende beeld is het eerste.

Men vindt op de stengels ook wel eens grijze vlekken, vrij dicht bezet met zeer kleine (tot $\pm \frac{1}{2}$ m.M.) zwarte vlekjes van verschillende grootte. Deze vlekjes zijn de stromata van *Hendersonia rubi*.

De verschillende schimmels die de bovenstaande typen van grijze vlekken teweeeg brengen, kunnen door elkaar voorkomen in diverse combinaties. Bovendien wordt vooral bij afstervende stengels, het beeld verward door allerlei sklerotien, stromata en pykniden die op de epidermis en in de schors voorkomen.

Met bovengenoemde symptomen van een *Didymella*-aantasting gaat lang niet altijd samen een bruinkleuring, of andere aantastingskenteekenen, van het levende weefsel dat zich onder de doode deelen, schors en kurkhuid, bevindt.

Ziet men nu makroskopisch wel een aantasting, waarbij de

stengel bij het doorsnijden geheel of gedeeltelijk bruin verkleurd blijkt te zijn, dan gelukt het echter toch niet om *Didymella* direkt als oorzaak hiervan vast te stellen. Hiervoor zou men het mycelium uit het bruingekleurde weefsel moeten telen. In de door mij onderzochte gevallen bleek, indien er mycelium in het aangetaste weefsel aanwezig was, dit steeds saprophytisch te zijn. Zoo werd herhaalde malen uit het betreffende weefsel een *Ramularia* species gekweekt.

Hiermede werden 17 Juli 1926, op de beschreven wijze (zie Hoofdstuk I), eenige stengels van de variëteit Boskoopsche Hornet geïnfecteerd, welke infecties niet door bleken te loopen. Infecties met *Didymella applanata* terzelfder tijd en op dezelfde wijze uitgevoerd, bleken wel door te loopen, d. w. z. om de infectie-wond vormde zich een groote bruine vlek.

Dikwijls was er ook in het geheel geen mycelium aanwezig.

Een typisch geval van het laatstgenoemde werd begin Januari 1927 aangetroffen in „Cantonspark" te Baarn, bij nog levende, voor een deel met *Didymella peritheciën* bezette stengels. Deze bleken ter hoogte van het grondoppervlak afgesneden, op doorsnede geheel normaal te zijn; van een aantasting was geen sprake. Maar meer naar boven waren zij over een grooten afstand, tot ± 30 c.M. toe, gedeeltelijk bruin verkleurd. De gekleurde sector liep naar boven en onder uit. In het verkleurde weefsel was geen mycelium aanwezig, althans naar dunne, dwarse, radiale en tangentialle scheermescoupen te oordeelen.

Ter controle werden, na uitwendige sterilisatie en verwijdering van de schors en de geheele of gedeeltelijke kurkhuid, schijfjes, tangentialle en radiale-coupen op verschillende hoogte van den stengel gesneden en op petrischalen met kersagar uitgelegd. De uitwendige sterilisatie geschiedde door afwasschen van het stengeldeel met zeep en water, gedurende 2 minuten dompelen in 0,1 % waterige sublimaatoplossing en vervolgens 2 minuten afspoelen onder de leidingkraan. Het verwijderen van schors en kurkhuid en het uitsnijden van het bruingekleurde weefsel, geschiedde met een afgevlamd Gilettemesje.

Er bleek uit bijna geen enkel stukje mycelium uit te groeien. In de enkele gevallen waarin dit wel gebeurde, was het mycelium van saprophyten als *Penicillium*, *Dematium*, enz. Toch moet men

hier de bruinkleuring wel aan de inwerking van *Didymella* toeschrijven, alles wijst er op. Van wortel of voetrot was geen sprake, symptomen van aanwezigheid der in de volgende hoofdstukken besproken schimmels en bacterie waren niet aanwezig. Mikroskopisch gaf de verkleuring te zien dat bij een aantal cellen in het phelloderm, phloeem, kambium en xyleem, meestal alleen de wanden en soms de inhoud bruin waren. Van de sklerenchymvezels in de bast was een heel enkele cel bruin gekleurd.

Hoe is nu de besproken verkleuring van het stengelweefsel tot stand gekomen? Men bedenke dat zich tusschen de schimmel en het onder de kurkhuid gelegen weefsel, een 5 tot 7 cellen dikke kurklaag bevond. Opvallende wonden in de kurkhuid, waardoor de schimmel haar invloed op 't weefsel zou kunnen uitoefenen, werden niet gezien. Men zou er aan gaan denken dat de kurkhuid permeabel was voor de door de schimmel afgescheiden stoffen. Deze kwestie is zonder experimenten toch niet of uiterst lastig uit te maken.

De doodende werking van *Didymella* op het stengelweefsel, schijnt wel een zeer langzame te zijn. Dit blijkt o. a. uit eenige infectieproeven die ik nam.

Eenjarige stengels van de variëteit *Hornet*, die op de gewone wijze, 4 Mei 1926 kunstmatig werden geïnfecteerd, bleven gedeeltelijk leven en groeiden zelfs nog, niettegenstaande de infecties waren doorgelopen. Eerst in het voorjaar, bij het uitloopen der knoppen, bleken ze dood te zijn. Een infectieproef 12 Aug. 1926 op gelijke wijze bij de var. *Superlatief* genomen, had hetzelfde resultaat. Uit deze infectieproeven bleek mij tevens, dat dunne, zwakke stengels, reeds hetzelfde jaar te gronde gaan. Dit is in overeenstemming met de waarneming dat één-jarige stengels, die in het najaar stervende werden gevonden met de symptomen van *Didymella*-aantasting, bijna uitsluitend dunne stengels waren. Oorzaken die het voortbrengen van dunne, zwakke stengels in de hand werken, zijn een of meer virusziekten, waarop in de inleiding van dit werkje de aandacht werd gevestigd.

Het verband van de schimmel met het knopsterven is mij niet duidelijk geworden. Dát zij een knopsterven kan veroorzaken, is zeer waarschijnlijk, daar op de stengels, waarop de *Didymella* voorkwam, steeds doode knoppen werden gevonden, welker dood

niet was te wijten aan *Coniothyrium Fuckelii*, *Gloeosporium venetum*, *Verticillium* of insecten (b.v. *Lampronia rubiella*). Vooral de var. Superlatief vertoonde het verschijnsel in hooge mate. Een sterven der knoppen in den zomer, daar waar de typische bruine vlekken onder een oog verschijnen, hetwelk Sackett (1915) in Colorado waarnam, is hier te lande nooit gezien.

Hoe staat het nu met de buiten Nederland waargenomen ziekte-symptomen?

Deze komen vrijwel overeen met de bij ons voorkomende. Eénige punten die aanleiding geven tot een bespreking volgen hieronder.

Osterwalder (1917) ziet op de geïnfecteerde stengels vooral in het onderste deel, diepe tot in 't merg reikende wonden optreden, die doen denken aan de door de „Schwarzbrenner“ (*Gloeosporium ampelophagum*) bij de druif veroorzaakte. Deze wonden werden niet door mij gezien, ook bij de stervende stengels niet. Sackett (1915) vermeldt ze ook niet. De vergelijking, dat de stengel er tengevolge van de aanwezigheid der wonden „wie angefressen“ uitziet, doet er aan denken, dat verwarring met de door *Gloeosporium venetum* veroorzaakte heeft plaats gehad.

Osterwalder (1917) en Schellenberg (1922) leggen vooral den nadruk op het sterven der *stengels* van de herfst af tot aan den tijd, dat ze vruchten dragen toe. Ook het niet of gebrekkig uitloopen in het voorjaar vermelden zij.

Sackett (1915) vermeldt behalve het *knopsterven* als gevolg van de infectie, ook het zeer *bros* worden der stengels op de infectieplaatsen. Het *bros* worden van de stengels op de infectieplaatsen nam ik waar bij kunstmatig geïnfecteerde stengels. De ondiepe wonden, hoogstens werd de snede tot op de sklerenchymvezels gevoerd, waren daarvan niet de oorzaak. De contrôle-stengels, die eveneens en ongeveer even diep werden verwond, waren niet *bros*; zij braken niet zoo licht af.

Sackett en andere Amerikaansche auteurs (Anderson (1920), Hessler en Wetzell (1917)) vermelden als karakteristiek voor de *Didymellavlekken* het optreden van *barstjes* en *spleten* in de schors (zoowel bij bruine als reeds grijze plekken).

Deze *barstjes* werden in Holland ook waargenomen en wel steeds op kunstmatige infecties, echter niet altijd op natuurlijke.

De barstjes bleken soms tot een eind *in* de kurkhuid te gaan.

Overigens is het optreden van barsten in de schors ook een normaal verschijnsel, dat bij verschillende variëteiten in de laatste helft van Augustus begint. De barsten gaan hier tot op de kurkhuid. Dit optreden heeft plaats in de onderste helft van de stengel en wel onregelmatig pleksgewijs. Het gaat gepaard met bruinkleuring van de schors om de barst; deze gaat tot op de kurkhuid, die aldaar dan al eenige cellen dik is. Het barsten treedt niet overal op. Zoo werd te Cantonspark in Baarn, waargenomen bij de var. *Hornet* dat exemplaren die op drogen, schraalgemesten zandgrond stonden, niet of nauwelijks barsten vertoonden, ten tijde dat deze optraden bij exemplaren op lage goedgemeste zandgrond, bij stengels van ongeveer gelijke ontwikkeling.

Over de symptomen die in 't weefsel beneden de kurkhuid voorkomen, laat alleen *Sackett* zich uit. Hij zegt dat het mycelium zich slechts tot op een diepte van enkele cellagen onder de epidermis bevindt, doch de weefselbruinkleuring veel dieper gaat. Het verdere verloop van de infectie beschrijft hij niet. Dit is slechts wat hij in den zomer waarnam.

Osterwalder (1917) en *Schellenberg* (1922) vermelden niet dit eigenaardige gedrag van de schimmel. *Schellenberg* zegt zelfs dat het mycelium van de schimmel uit het periderm (dus ook kurkhuid en phellodermcellen?) waarin het overwintert, doordringt in het daaronder gelegen weefsel. *Schellenberg* vermeldt niet of dit reeds bruin gekleurd is. Vermoedelijk is dit slechts een veronderstelling, of heeft hij saprophytisch mycelium voor *Didymella mycelium* aangezien en dit niet gecontroleerd, door het uit het weefsel te kweken.

§ 3. *Morphologie en nomenclatuur van de schimmel*

De perithecieën

De hier in Nederland gevonden perithecieën komen goed overeen met de beschrijving in *Saccardo* (*Syll. Fung.* I p. 546). De *paraphysen* heb ik echter in rijpe perithecieën nooit in geheel gaven toestand aangetroffen. Meestal zijn deze zoodanig verslijmd, dat men ze vindt als een verwarde slijmige massa, boven de asci gelegen. Hier en daar is er nog eenigen vorm in te onderkennen.

Tusschen de asci ziet men in 't geheel niets. Deze toestand is waarschijnlijk aanleiding geweest tot het beschrijven van *Didymella applanata* als *Mycosphaerella rubina* (Peck) Jacz. Wil men de paraphysen in gaven toestand te zien krijgen, dan moet men jonge peritheciestadia bekijken. Ik nam ze waar bij peritheciën, waar in de meest ontwikkelde asci de sporen zich juist begonnen te differentieeren.

De Phoma

De Phomapykniden treft men zooals gezegd in Augustus aan, op kleine grijze plekjes van de bruine *Didymella*-vlekken. Verder vond ik hen nu en dan tusschen de peritheciën, echter zeer sporadisch.

De beschrijving luidt:

Pykniden dunwandig (2—3 cellagen dikke wand), bruin gekleurd, vorm min of meer samengedrukt bolvormig (in richting $\perp$ epidermis samengedrukt), de epidermis doorborend en een weinig opheffend, grootste doorsnede 139—148 μ , duidelijk ostiolum; sporen hyalien, elliptisch met aan ieder einde een lichtbrekend druppeltje, grootte 6 μ bij 2,5 μ ; sporendragers niet aanwezig.

Deze beschrijving is echter niet voldoende om de Phoma te identificeeren, daar op dergelijke grijze plekjes, ook andere Phoma's werden aangetroffen, die aan dezelfde beschrijving voldoen, indien men althans voor de bepaling der sporengrootte niet meer dan 10 sporen, willekeurig gekozen, neemt. Het is mogelijk, dat men, indien men een groot aantal (b.v. 200) sporen meet, wel verschillen vindt. Echter veel gemakkelijker lijkt het mij de Phoma's uit te zaaien (gietscultuur) in kersagar, daar de groeiwijze van de bij *Didymella* behorende Phoma, op dit substraat zoo typisch is, dat men haar hieraan, in combinatie met voorgaande beschrijving, onmiddellijk kan identificeeren. Bovendien blijkt alleen deze Phoma, bij kunstmatige myceliuminfectie (in wonden) van jonge 1-jarige frambozenstengels, de bekende *Didymella*-vlekken te veroorzaken.

Het cultuurbeeld op kersagar in een petrischaal is als volgt:

4 dagen na uitzaaiing: myceliumvlekjes zichtbaar, $\pm$ 5 m.M. doorsnede, $\pm$ rond, diep ingesneden, wit, Luchtmycelium wit, zeer dun;

6 dagen na uitzaaiing: myceliumvlekjes rond, ondiep ingesneden, lichtbruin, talrijke, zeer kleine groenbruine spikkels over de geheele vlek verspreid. Luchtmycelium wit, tamelijk dicht-wollig, laag (± 1 m.M.), onregelmatig van dichtheid.

Hoe ouder de cultuur wordt, hoe meer de bruine kleur zich uitbreidt over de vlek en hoe donkerder ze wordt. Bij een cultuur van 3 weken oud, was 't midden zeer donker, zwart-bruin geworden.

Bij deze cultuurbeeld-beschrijving moet nog het volgende worden opgemerkt:

De temperatuur van de thermostaat, waarin de gietculturen werden gezet, was 19—23 gr. C. Onder ondiep ingesneden wordt verstaan, dat de diepste insnijding niet verder ging dan tot op de helft van de doorsnede; onder diep ingesneden, dat de diepste insnijding tot over de helft van de doorsnede ging. De groenbruine spikkels zijn appressorien en treden alleen daar op, waar 't mycelium tegen 't glas komt; dit al of niet raken van 't glas hangt vermoedelijk af van de dikte der agarlaag, die zich tusschen sporen en bodem bevindt. De agarlaag was in dit geval zeer dun, hoogstens een paar m.M.

Het beschrevene beeld verkreeg ik eenige keeren bij uitzaaiing van sporen, die direct uit de op de plant aanwezige pykniden afkomstig waren; het komt goed overeen met dat van een ascosporengietcultuur. Het is natuurlijk zeer goed mogelijk, dat bij deze wijze van uitzaaien, verontreiniging door bacteriën, enz. optreedt, waardoor het beeld zich misschien wijzigt. Wil men zekerheid, dan moet men eerst uit de geïsoleerde sporen een reincultuur zien te krijgen, die *Phoma*-sporen vormt (op frambozenstengel gelukt dit altijd) en deze uitzaaien op beschreven wijze; men krijgt dan hetzelfde beeld.

Volgens Schellenberg (1922), zou de *Phoma* die bij *Didymella applanata* behoorde overeenkomen met *Phoma Idaei* Oudem. Naar mijn meening komen deze echter niet overeen. De verschilpunten zijn (verg. de beschrijving in Saccardo, (Syll. Fung. XVI, p. 860), de zwarte, schildvormige vlekken in de epidermis boven de pykniden, de sporendragers, die $1,5 \mu$ breed zijn en even lang als de sporen. Deze kenmerken komen bij de *Phoma* van *Didymella* niet voor.

Zooals reeds vermeld werd, is het zeer waarschijnlijk aan de verslijmende en daardoor bijna niet meer te onderscheiden paraphysen, in rijpe perithecieën te wijten, dat *Didymella applanata* in Amerika door Peck als een nieuwe soort: *Sphaerella rubina* werd beschreven (later door J a c z e w s k i herdoopt in *Mycosphaerella rubina*).

Vergelijkt men de beschrijvingen van de betreffende schimmels in Saccardo (Sacc. Syll. Fung. I p. 546 voor *Didymella*),

(Sacc. Syll. Fung. XVI p. 527 voor *Sphaerella*), dan blijkt, zooals ook bij de beschrijving van *Sphaerella rubina* wordt vermeld, dat het voornaamste verschil bestaat in het al of niet aanwezig zijn van paraphysen.

Verder pleit voor een identiek zijn der beide schimmels:

1e. Het veroorzaken van dezelfde symptomen op frambozenstengels (verg. Stewart (1902), Sackett (1915)).

2e. Dat de imperfecte vorm bij *Mycosphaerella rubina* ook een *Phoma* is. Newhall (1923) meldt n.l. in een zeer korte voorloopige mededeeling, dat hij het verband tusschen het pykniden en perithecieën stadium door enkelspoor-cultuur op melilotusstengels bewezen heeft. Echter is de mededeeling van zoo voorloopigen aard, dat de beschrijving der *Phoma* ontbreekt en hiermede een schakel in het volledige bewijs van de identiteit van *Didymella applanata* en *Mycosphaerella rubina*.

Om dit bewijs te leveren is het wel gewenscht het oorspronkelijk exsiccaat van Peck te vergelijken en liefst ook materiaal met levende perithecieën. Men kan echter wel zeggen, dat het zeer waarschijnlijk is dat beide schimmels identiek zijn, of dat *Mycosphaerella* hoogstens een ras is van *Didymella applanata*, zonder paraphysen.

§ 4. Isolatie en cultuur van de schimmel

Op de volgende wijze werden gemakkelijk enkelspoorisolaties verkregen.

Een stukje schors met rijpe perithecieën bezet en afkomstig van een in levenden toestand afgesneden stengel, werd goed afgespoeld en daarna met wat paraffine op een stukje filtreerpapier geplakt, dat op zijn beurt weer met wat paraffine tegen den binnenkant

van het deksel eener petrischaal was bevestigd. Onder het aldus gemonteerde stukje schors, werd een door de vlam gehaald voorwerpglas gelegd. Hierop werd op de plek waarboven zich het stukje bast bevond, een druppel steriel water gebracht. Vervolgens werd het stukje filtreerpapier bevochtigd. Na een paar uur (bij kamertemperatuur) bleken dan meestal in de druppel water op het voorwerpglas voldoende ascosporen aanwezig. Hieruit werden zij dan gevischt met een in de vlam fijn uitgetrokken, glazen naald en iedere spore overgebracht in een cultuurbuis met kersagar. Op deze wijze verkreeg ik direct enkelspoor-reinculturen. Van het in de buis met kersagar gevormde mycelium, werd overgeënt op verschillende voedingsbodems, n.l. op havermout, kers, maismeel, aardappel, limaboonen, moutagar, moutsalep-agar, op gesteriliseerde spercieboonen, aardappelstukjes, wortelstukjes, lupinestengels, frambozenstengels en op kers en moutgelatine. Op geen dezer bodems werden ascosporen gevormd, wel sporen die overeenkwamen met de op de plant gevonden *pyknosporen*. Deze werden gevormd op frambozenstengel, wortelstukjes en een enkele maal op lupinestengel, in duidelijke vruchtlichamen. Van de fructificaties op frambozenstengel werden scheermescoupes gemaakt. Zij bestonden uit meerdere aaneengegroeide pyknideachtige lichaampjes, met of zonder porus, die door meestal onvolkomen wanden van elkaar gescheiden zijn. Zij hebben dus het voorkomen van een *Cytosporella*.

§ 5. *Eenige punten uit het leven van schimmel en voedsterplant in verband met de infectie*

Begin April werden te Baarn de eerste rijpe perithecieën gevonden. Eind April kwamen de jonge scheuten boven den grond. Ze zijn dus al dadelijk blootgesteld aan besmetting met *Didymella* (asco en pykno) sporen; trouwens al zouden de perithecieën eerst veel later rijp zijn, de besmetting door Phomasporen is altijd mogelijk. Door het rijpen van de perithecieën wordt de kans op infectie natuurlijk sterk vermeerderd, ook al tengevolge van de vermoedelijk sterker Phomapyknidenvorming, door kieming van ascoporen op de 2-jarige stengels en hieruit ontstaan van de imperfecte vorm.

De besmetting van stengels heeft dus al vroeg plaats. Waarom treden dan pas begin Juli de verschijnselen op, die erop wijzen dat infectie heeft plaats gehad? Het is natuurlijk zeer wel mogelijk dat dan pas sporen kans hebben, om in de plant binnen te dringen en eventueel de bruinroode vlekken te veroorzaken, als zij terecht komen op stervend of „verzwakt” weefsel, zooals bv. de bladstelen en bladkussens van de afstervende bladen. Het is echter ook mogelijk dat de schimmel in „gezond” weefsel binnen kan dringen en daar blijft leven, min of meer in haar ontwikkeling gestuit zolang het weefsel in normalen toestand verkeert, om zoodra het begint te „verzwakken”, zich geleidelijk uit te breiden en dan pas de bruine vlekken te veroorzaken. Met deze mogelijkheden zal men bij de bestrijding rekening moeten houden (zie § 6).

§ 6. Bestrijding

De bestrijding van de schimmel, als deze zich eenmaal op de stengel gevestigd heeft, is niet aan te raden. Osterwalder (1917) die het probeerde had in het geheel geen succes. Hij bestreek *Didymellavlekken* in November met een 30 % ijzervitriooloplossing, die ook wordt gebruikt bij de bestrijding van *Gloeosporium ampelophagum* bij de druif. Ook smeerde hij einde Maart, kort voor het uitloopen der knoppen, tweejarige stengels in met Californische pap 1 op 3 (20° Beaumé). Men zal in een reeds bestaande frambozenaanplant de ziekte dus moeten bestrijden, door te voorkomen dat de jonge scheuten worden geïnfecteerd. Dit zal b.v. kunnen worden bereikt, door de stengels te bedekken met een laagje van een fungicide stof, die er door spuiten wordt opgebracht. Hiervoor zal men Bordeauxsche of Californische pap kunnen gebruiken. Sackett (1915) had n.l. met Bordeauxsche pap veel succes bij de bestrijding der ziekte in Colorado.

De tijd en het aantal der bespuitingen hangt nu waarschijnlijk voor een groot deel af van de twee in § 5 genoemde mogelijkheden.

Blijkt de eerste mogelijkheid met den gang van zaken overeen te komen, dan zal men vermoedelijk kunnen volstaan met een drietal bespuitingen.

De eerste hiervan zal moeten worden toegediend zoo kort

mogelijk voor het begin van de zomerbladval, dus voor dat er maar eenig teeken van vergeling of verwelking van de onderste bladen te bespeuren valt. De tijd voor deze bespuiting lijkt mij ongeveer te vallen in de eerste helft van Juni, in aanmerking nemende, dat de zomerbladval, zooals in 1926 te Baarn werd waargenomen, ongeveer eind Juni begint.

In zooverre is deze tijd (voor de bespuiting) ongunstig, omdat dan zeer waarschijnlijk het uitwerpen der ascosporen, die ongetwijfeld de hoofdinfectiebron vormen, vermoedelijk nog voortgaat (dit is, zooals ik waarnam te Baarn, ongeveer half Juli afgelopen), de lengtegroei der scheuten nog niet beëindigd is en gedurende den pluktijd, die ongeveer half Juli begint (althans in 1926 was dit zoo), niet kan worden gespoten. Het is om al deze redenen aan te bevelen eenige dagen voor het begin van den oogst een tweede bespuiting toe te dienen, vooral ook omdat tijdens het plukken, de verspreiding van en de besmetting door *Didymella* vermoedelijk zeer in de hand wordt gewerkt.

De 3de bespuiting zal moeten plaats hebben vlak na den oogst, wanneer de tweejarige stengels zijn weggesneden. Het zoo spoedig mogelijk wegsnijden van de oude tweejarige stengels, lijkt mij een voornaam punt bij de bestrijding van de schimmel. Zij zijn n.l. een goede voedingsbodem voor de ontwikkeling van het *Phoma*-stadium, zoodat zij een bron van infectie vormen.

Blijkt de tweede in § 5 veronderstelde mogelijkheid bewaarheid te worden, dus de schimmel in staat te zijn in het levende „gezonde” weefsel binnen te dringen en zoo onder de kutikula en buiten het bereik van fungicides te komen, dan zal een andere bestrijdingswijze noodzakelijk zijn, die waarschijnlijk voor de practijk onbruikbaar is.

Elke besmetting met sporen levert in dit geval gevaar voor infectie op. Om deze besmetting te verhinderen, zullen dus de stengels zoo spoedig mogelijk na hun verschijnen moeten worden bespoten en steeds onder het fungicide moeten worden gehouden, tot het gevaar voor besmetting geweken zal zijn. Dit laatste is tenminste grootendeels het geval, als de tweejarige stengels, waarop zich de vruchtlichamen van de schimmel bevinden, zijn verwijderd.

Bij het aanleggen van een nieuwen aanplant moet men natuur-

lijk stengels gebruiken, waarop de schimmel niet voorkomt. In aanmerking genomen, dat de schimmel zoo algemeen verbreid is, lijkt mij dit met de tegenwoordige manier van vermeerdering vrijwel onmogelijk. Deze bestaat n.l. in het afsteken van door de planten gevormde scheuten, hetwelk meestal gebeurt in het vroege voorjaar voor het uitloopen der knoppen. De methode van vegetatieve vermeerdering die Rietsema (1923) aangeeft en waarmee hij goede resultaten verkreeg, lijkt mij zeer geschikt toe om schimmelvrije stengels te verkrijgen. Volgens deze methode worden vroeg in het voorjaar, b.v. in Maart, wortelstukken van voldoende grootte, bezet met flinke wortelknoppen, van de planten afgenomen. Deze methode is ook ter voorkoming van verspreiding van *Coniothyrium Fuckelii* en *Gloeosporium venetum* aan te bevelen.

HOOFDSTUK IV

HET DOOR CONIOTHYRIUM FUCKELII SACC. VEROR- ZAAKTE AFSTERVEN VAN DE STENGELS EN KNOPPEN

§ 1. Literatuur

Coniothyrium Fuckelii Sacc. is sinds langen tijd bekend als oorzaak van een stengelafsterving bij frambozen. In Amerika is de door haar teweeggebrachte ziekte bekend onder den naam *cane blight*. Haar parasitisme en levensloop werden uitvoerig besproken, ook voor het eerst haar parasitisme bewezen door Stewart en Eustace (1902). Sindsdien verschenen talrijke mededeelingen over haar voorkomen, in verschillende Amerikaansche proefstation bulletins, die zoo goed als geen nieuws brengen omtrent de schimmel en haar levensloop. Een gunstige uitzondering hierop maakt Stewart (1910), die eenige waarnemingen deed over het leven van de schimmel in den grond.

Nadere opgaven uit Duitschland, omtrent het optreden van de door haar veroorzaakte ziekte worden o.a. in 1911 uit Saksen (3) en in 1922 uit Anhalt en Saksen (Dessau) (4), onder den naam *Stammfleckenbrand* gemeld. Deze naam schijnt echter, zoowel de ziekte door *Coniothyrium Fuckelii* als die door *Didymella appplanata* veroorzaakt, aan te duiden. Ook wordt de naam *Stengelbrand* voor de *Coniothyrium*ziekte gebruikt door Kirchner (1923).

Hier in Nederland werd ze reeds lang op verschillende plaatsen waargenomen, o. a. is ze in 1908 in Gelderland gevonden (6) en in 1918 te Breda (5).

§ 2. *Symptomen van de ziekte*

Een afsterven der stengels, zooals Stewart (1902) dit beschrijft, nam ik hier niet waar. De schimmel werd alleen gevonden op levende en in winterschen toestand verkeerende, of geheel doode tweejarige stengels. Dat het zeer wel mogelijk is, dat men het door Stewart beschrevene verschijnsel hier te lande aan kan treffen, blijkt wel uit het sterk parasitaire karakter van de schimmel, hetwelk bij een infectieproef tot uiting kwam.

Omdat de mogelijkheid bestaat dat men het vermelde afsterfingsverschijnsel, dat door de schimmel wordt veroorzaakt ook in Nederland aan zal treffen, wordt het ziektebeeld, dat Stewart (1902) beschrijft, eerst besproken. Daarna volgt de beschrijving van de gevallen waarin ik de schimmel aantrof en van een naar aanleiding hiervan genomen infectieproef.

Volgens Stewart nu is het plotseling verwelken van geheele of gedeelten van vruchtdragende stengels, aan *Coniothyrium* toe te schrijven. Deze verwelking gaat gepaard met een bruine verkleuring van het hout, die bij het doorsnijden van den stengel zichtbaar is. Daarnaast vertoont de schors over een afstand van 5—10 c.M., een lichtgrijze kleur en is zij met zwarte spikkels bezet. Deze zwarte spikkels zijn de pykniden van de schimmel.

De lichte verkleuring der schors op de grens van het verwelkte en gezonde deel, zou men voor een *Didymella*-avlek kunnen houden. Zij verschilt daarvan echter, doordat op de *Coniothyrium*-vlekken dikwijls roetkleurige plekken van verschillende grootte en onregelmatig gevormd, voorkomen. Deze worden te voorschijn geroepen door de massa's uitgeworpen sporen. De roetkleurige plekken werden door mij slechts eenmaal en wel op een doode stengel waargenomen, zoodat het in elk geval geen zeer constant kenmerk is. Verder zegt Stewart, dat de *Coniothyrium*-pykniden met het bloote oog niet zijn te onderscheiden van *Didymella*-perithecieën. Dit verschil is m.i. wel op te merken, zooals ik reeds vermeld heb. Als verschil met de *Didymella*-aantasting, noemt hij ook de bruine verkleuring van het hout, die bij het doorsnijden van de stengel zichtbaar is. Deze bruine verkleuring kan hier te lande echter ook door *Didymella* teweeggebracht worden.

Volgens Stewart treedt het beschrevene verwelken vooral op

in droge zomers. Het is niet te verwarren met het sterven tengevolge van de droogte. Dit laatste gaat zeer geleidelijk en langzaam van boven naar beneden, over de geheele stengel voortschrijdend.

Naast het plotseling verwelken van de vruchtdragende stengels, hetgeen het meest typische en meest opvallende symptoom van de ziekte is, vindt men ook het sterven van een- en tweejarige stengels, gedurende de rest van het jaar. Verder kan het zijn, dat de schimmel de stengel over een groot gedeelte aantast, voordat deze doodgaat. Meestal echter zijn een of meer bepaalde plekken van de stengel aangetast.

De gevallen, waarin ik *Coniothyrium Fuckelii* hier te lande aantrof, waren de volgende.

Te Apeldoorn werd in November op een levende tak van de var. Superlatief onder en om een oog een grijze vlek aangetroffen, op het eerste gezicht sprekend gelijkend op een *Didymellavlek*, die echter bij nadere beschouwing het voornoemde, makroskopisch waarneembaar verschil, vertoonde. De vlek omgaf een gedeelte van de stengelomtrek over een afstand van ± 10 c.M. De knop boven de vlek bleek dood te zijn en de stengel op dwars-doorsnede gedeeltelijk bruin verkleurd.

In dezelfde maand werd *Coniothyrium Fuckelii* aangetroffen op een grijs gekleurd gedeelte van een levende stengel, vermengd met sklerotien van *Botrytis cinerea* en op een doode 2-jarige stengel. Bij de laatste waren de door Stewart vermelde roetkleurige plekken zeer duidelijk te zien. Op een doode tweejarige frambozenstengel, welke ik te Baarn aantrof en die bezet was met *Coniothyrium*pykniden, waren de roetkleurige plekken niet aanwezig.

Te Breda vond ik in October *Coniothyrium*pykniden op een bladkussen, onder een doode knop. De stengel bleek hieronder op doorsnede, over een afstand van ± 3 c.M. gedeeltelijk bruin verkleurd, het hierboven gelegen stuk nog levend.

Het samengaan van de doode knoppen met de aanwezigheid van de schimmelpykniden, doet er aan denken, dat *Coniothyrium Fuckelii* ook een knopsterven kan veroorzaken, temeer daar door een infectieproef bleek, dat de schimmel de stengels in hevige mate aantast. Of nu de schimmel de knoppen direkt aantast, of alleen na verwonding, was uit de gevonden gevallen niet op te maken.

Bedoelde infectieproef werd 16 Juni 1926 uitgevoerd met eenige stengels van de variëteit Superlatief, op de in „Methodiek” beschreven wijze. Ter vergelijking werden op dezelfde dag eenige stengels van ongeveer gelijke ontwikkeling van dezelfde variëteit en op dezelfde wijze, geïnfecteerd met *Didymella applanata*. De infecties liepen bij beide schimmels uiterst gemakkelijk door. Uit deze vergelijkende infectieproef bleek, zooals reeds vermeld, in Hoofdstuk III, § 2, dat de bruine vlekken, die zich om de infectieplekken vormden, bij beide schimmels dezelfde waren. Verder leek het wel of *Coniothyrium* heftiger op het stengelweefsel inwerkte dan *Didymella*. Althans na $1\frac{1}{2}$ maand bleek bij een der met *Coniothyrium* geïnfecteerde stengels, het deel boven de bovenste infectieplek afgestorven, terwijl dit bij geen der met *Didymella* geïnfecteerde stengels het geval was. In het voorjaar van '27 bleken alle geïnfecteerde stengels dood te zijn.

§ 3. *Morphologie en nomenclatuur van de schimmel*

De *Coniothyrium*, die ik van de verschillende plaatsen verzamelde, komt vrijwel overeen met de beschrijving van *Coniothyrium Fuckelii* Sacc. in Saccardo (Syll. Fung. III pag. 306). De sporen zijn echter niet rond, maar ovaal en meten $3,7 \mu$ bij $2,6 \mu$.

Mijn materiaal komt nog eerder overeen met de door Stewart (1902) gevonden *Coniothyrium*. Hij is er niet zeker van, dat het *Coniothyrium Fuckelii* Sacc. is. Als gronden voor deze onzekerheid geeft hij op, dat hij niet in de gelegenheid was om de schimmel met een oorspronkelijk exsiccaat van Saccardo op *Rubus* te vergelijken en bij vergelijking met een oorspronkelijk exsiccaat op *Tecoma radicans*, de sporen hier aanmerkelijk langer dan breed en hyalien bleken te zijn, dus verschillend van de door hem gevonden *Coniothyrium*. Er is m.i. niets tegen om de schimmel tot de soort *Coniothyrium Fuckelii* Sacc. te rekenen, daar de diverse hiertoe behorende vormen verschillen in sporengrootte vertoonen, die grooter zijn dan tusschen de door Stewart gevonden *Coniothyrium* en de *Coniothyrium Fuckelii forma Rubi*.

De ascusvorm van *Coniothyrium Fuckelii*, *Leptosphaeria Coniothyrium* (Fckl.) Sacc. werd, zoover ik weet, hier te lande nooit op frambozenstengels gevonden.

§ 4. *Isolatie en cultuur van de schimmel*

De schimmel werd geïsoleerd door sporen uit een van de plant afkomstig pyknidium, uit te zaaien in kersagar (gietcultuur). De sporen verkreeg ik, door een pyknide in een druppel steriel water op een afgevlamd voorwerpglas te kneuzen, waardoor massa's sporen in het water verspreid werden. Van deze sporenemulsie werd een öse overgebracht in een druppel steriel water, op hetzelfde voorwerpglas. Hieruit werd een oogje in de gesmolten kersagar gebracht. Van een myceliumvlekje uit de gietcultuur werd mycelium overgeënt op verschillende voedingsbodems, in de hoop dat hierop sporen zouden worden gevormd. Van de na eenige weken op sommige bodems verschijnende Coniothyriumsporen, werd een zeer verdunde sporenemulsie uitgestreken op een dun laagje kersagar, door middel van een steriel rechthoekig omgebogen glazen staafje. Het agarlaagje werd gevormd door uitgieten van wat kersagar op een steriel voorwerpglas. Na het uitstrijken van de sporenemulsie werd het voorwerpglas op een paar steriele glazen ringetjes (zooals gebruikt voor van Tieghemsche vochtige kamertjes) in een Petrischaal gelegd, waar zich op den bodem wat steriel water bevond. Na een dag of drie (bij kamertemperatuur), als de sporen begonnen te kiemen, werd bij zwakke vergroting (2/A Zeiss) een kiemende spore uitgezocht, die zich alleen in het gezichtsveld bevond. Vervolgens werd de spore met een fijne glazen naald opgelicht, wat door de gevormde kiembuis gemakkelijk ging, en in een kultuurbuis met kersagar overgebracht. Op vermelde wijze konden vrij vlug meerdere éénsporeculturen worden aangelegd. De culturen bleken steeds reinculturen te zijn. Van het in de buizen met kersagar gevormde mycelium werd, zoo noodig, overgeënt op een bodem, waarop de schimmel sporen vormde.

De bovenstaande methode voor het verkrijgen van éénspore-reinculturen werd gevolgd, omdat het mij niet gelukte de zeer kleine (± 3 bij 2μ) Coniothyriumsporen op de gewone wijze te isoleren, n.l. door opvisschen met een glasnaald uit een druppel zeer verdunde sporenemulsie.

Op een aantal voedingsbodems maakt de schimmel pykniden en sporen, o. a. op: maismeelagar, wortel, moutagar, haverhoutagar, aardappelagar, frambozenstengel, lupinestengel.

Vooraf op frambozenstengel werden buitengewoon veel sporen gevormd; op kersagar in het geheel geene.

§ 5. *Het leven van schimmel en voedsterplant in verband met de infectie*

De schimmel fructificeert, zegt Stewart (1902), het geheele jaar door, het overvloedigst op dood hout. Dit feit werd te Baarn waargenomen aan een tweejarige doode stengel, die, na een jaar buiten te hebben gestaan, nog pykniden met goed kiembare sporen vertoonde. Dat de sporen hun kiemkracht lang behouden, althans in drogen toestand en in reïncultuur, bleek uit het feit dat een cultuur op frambozenstengel na een jaar lang droog in het laboratorium te hebben gestaan, nog overvloedig pykniden met goed kiembare sporen bevatte.

Uit deze feiten volgt, dat besmetting van de stengels met sporen het geheele jaar mogelijk is. Het is natuurlijk volstrekt niet gezegd, dat met deze besmetting een binnendringen en aantasten van het stengelweefsel gepaard zullen gaan. Dit hangt te veel van allerlei omstandigheden af, zooals de toestand van de stengel, invloeden als temperatuur en vochtigheid, de levensduur van de sporen buiten op den stengel, enz. Over deze invloeden weet men niets positiefs. Stewart (1902) zegt wel, dat infectie zeer goed mogelijk is door de onbeschadigde epidermis of de huidmondjes, echter werd dit nooit aangetoond.

Over de verspreiding van de schimmel is ook nog zeer weinig bekend. De sporen worden volgens Stewart (1902) verspreid door regenvlagen, wind, cultuurwerkzaamheden, zooals plukken, wegsnijden van de oude stengels e. a., grondafspoeling, insecten en vogels. Dit alles zijn min of meer voor de hand liggende veronderstellingen, experimenteel aangetoond zijn ze niet of gedeeltelijk.

§ 6. *Bestrijding*

Zooals uit § 5 blijkt, weet men nog bijna niets over de invloeden, die de infectie van de plant beheerschen. Een direkte bestrijding b.v. door bespuitingen met een fungicide, is dus moeilijk aan te

geven. Men kan natuurlijk wel zeggen, dat het goed is ter beperking en voorkoming van besmetting met schimmelsporen, de oude 2-jarige stengels, die zooals uit § 5 blijkt een voorname infectiebron kunnen vormen, direct na den oogst te verwijderen. Verder moet men natuurlijk bij het aanleggen van een nieuwe frambozenaanplant er op letten, gezond plantgoed te gebruiken, waarop de schimmel niet voorkomt. Dit is gemakkelijker gezegd dan gedaan, daar het onmogelijk in alle gevallen aan de bladerlooze planten, met zekerheid is vast te stellen. Voortdurende controle van de moêrplanten geeft veel meer waarborg, dat het plantgoed schimmelvrij is, vooral als toegepast wordt het vermeerderen door wortelstek, dat volgens R i e t s e m a (1923) in veel gevallen zeer goed mogelijk is. (Zie Hoofdstuk III, § 6).

HOOFDSTUK V

GLOEOSPORIUM VENETUM SPEG. IN ZIJN VERBAND MET DE AFSTERVING VAN KNOPPEN EN STENGELS

§ 1.

Gloeosporium venetum Speg. is sinds lang bekend als oorzaak der anthracnose van verschillende Rubussoorten. De literatuur, die over haar bestaat, is hoofdzakelijk Amerikaansch; de twee beste publicaties, die van Burkholder (1917) en van Jones (1924).

Het stuk van Burkholder is het meest volledige; het geeft een literatuuroverzicht, een uitvoerige beschrijving der symptomen met vele afbeeldingen, verder morfologie en leven van de schimmel, pathologische histologie en bestrijdingsproeven.

Jones' publicatie is vooral van waarde door de uitvoerige bestrijdingsproeven en het onderzoek over den invloed van het weer op de uitbreiding der ziekte in haar verband met de ontwikkeling van de plant.

Na deze publicaties, waarin men de literatuur tot 1924 vindt, werd de ziekte uit Engeland gesignaleerd door Harris, die een uitvoerige beschrijving geeft van de symptomen, zooals die in Engeland optreden, welke trouwens veel overeenkomen met de elders waargenomene.

In Noorwegen is de ziekte door Schøyen waargenomen (1916).

In Nederland is voor zoover ik kon nagaan, haar voorkomen nooit vermeld; ze werd op het Phytopathologisch Laboratorium Willie Commelin Scholten in 1924 voor het eerst op zieke frambozenstengels geconstateerd.

§ 2. *Symptomen*

De schimmel tast hier te lande zoowel de stengels als de bladen, bladstelen, vruchttakken en vruchtsteeltjes aan.

De stengelsymptomen en een zeer waarschijnlijk door de schimmel veroorzaakt knopsterven, zullen alleen worden besproken, daar deze van belang zijn met het oog op het gestelde doel, n.l. het nagaan der oorzaken van het knop- en stengelsterven.

De jonge aantastingen op de éénjarige stengels vertoonen zich als kleine ± 1 m.M. groote, iets ingezonkene „waterige” vlekken, die al spoedig roodbruin tot purper omrand zijn. Ze worden langzamerhand grooter en 't ingezonken midden wordt grijswit van kleur. Zij zijn ovaal, scherp begrensd, met de grootste afmeting in de lengterichting van den stengel. Daar waar zij overvloedig voorkomen, versmelten zij met elkaar tot onregelmatig gevormde vlekken. De stengel ziet er dan net uit of ze aangevreten is door een of ander insect of slak. De vlekken vertoonen dikwijls barsten en spleten en vreten diep in het stengelweefsel door, soms tot in het merg. Deze diepe wonden vormen, zooals te begrijpen, gunstige infectieplaatsen voor alle mogelijke stengelparasieten. Zoo werd o. a. opgemerkt, dat rondom anthracnosevlekken en hiervan uitgaande, zich de bruine vlekken vormden, die op een *Didymella*-infectie wijzen. Verder zijn zij, zooals uit het volgende hoofdstuk zal blijken, zeer waarschijnlijk gunstige toegangspoorten voor de bacterie *Pseudomonas tumefaciens*. Indirect zijn de *Gloeosporium*-aantastingen dus van groote beteekenis voor het afsterven der stengels.

Naar mij bleek, is de schimmel hier te lande zeer waarschijnlijk ook de oorzaak van een knopsterven.

In een frambozen-aanplant nabij Breda, vond ik begin November '26 stengels van de variëteit Boskoopsche Hornet, die vooral daar, waar de meeste *Gloeosporium*-vlekken aanwezig waren, doode of bijna doode knoppen vertoonden, die blijkbaar in zeer jeugdigen toestand gedood waren. Dikwijls was aldaar, vlak boven de knop of op het bladkussen een *Gloeosporium*-vlek aanwezig, die misschien de oorzaak van de afsterving was.

Een langs de bruine, of ook groene gedeelten van bruine knop-schubben kruipend mycelium werd aangetroffen, dat vaak aan

dat van *Gloeosporium venetum* deed denken. Het bestond evenals bij deze schimmel, dikwijls uit ronde tot afgerond drie- of meerhoekige cellen, met een van vele vetdruppels voorziene protoplast. Het gelukte niet 't mycelium te isoleeren, wat mij bij verwerking van meer materiaal wel te doen blijkt

§ 3. *Eenige punten uit het leven van schimmel en voedsterplant, in verband met de infectie*

Naar enkele waarnemingen te oordeelen, schijnt het mij toe, dat het infectieverloop hier te lande veel overeenkomt met het door Burkholder (1917) en Jones (1924) beschrevene.

De vlekken verschenen hier (Apeldoorn) in 1926 ongeveer half Mei voor het eerst. In Wisconsin nam Jones de eerste vlekken waar, tusschen half Mei en einde Mei. Zijn waarnemingen loopen over vier jaar. De primaire infectie van de jonge scheuten, zal in Nederland waarschijnlijk uitsluitend door conidien geschieden, die worden voortgebracht door het in de anthracnosevlekken overwinterende mycelium. De ascusvorm *Plectodiscella veneta* Burkh. die Jones in Wisconsin overvloedig aantrof, werd hier te lande nooit gevonden. Na en naast deze primaire infecties hebben natuurlijk nog secundaire plaats door de op de jonge vlekken gevormde conidien. Een hoofdinfectieperiode, die volgens Jones in Wisconsin voorkomt, schijnt hier te lande ook voor te komen. Althans werden in aanplantingen rondom Breda eind October 1926, stengels van de variëteit Boskoopsche Hornet aangetroffen, die een verloop van vlekkenvorming vertoonden, waarin men duidelijk het bestaan van een hoofdinfectieperiode kon zien. Tusschen één derde en tweederde van de stengel ongeveer kwam het meeste aantal vlekken voor, daaronder en er boven veel minder.

§ 4. *Bestrijding*

De bestrijding van de eenmaal op de stengels gevestigde schimmel schijnt, naar de ervaringen van Jones (1924), mogelijk te zijn. Hij zegt tenminste, dat een vrij behoorlijke bestrijding kan worden verkregen, door de stengels, als de knoppen uitloopen, eenmaal met Californische of Bordeauxsche pap te bespuiten. Als

afdoende bestrijdingsmethode, althans voor Wisconsin, geeft hij op twee opvolgende bespuitingen met Californische pap (33° Beaumé), n.l. één met een oplossing van 1 op 10 als de eerste blaadjes in het voorjaar verschijnen en een tweede een week voor het bloeien der planten met een oplossing van 1 op 40. Hierbij worden zoowel de éénjarige als de tweejarige stengels bespoten.

Afgaande op deze gunstige ervaringen, lijkt het mij in onze omstandigheden geraden, een bespuiting van de stengels met Californische pap toe te passen, wanneer de eerste blaadjes zich ontplooien. Een tweede bespuiting zal naar de hoofdinfectieperiode geregeld moeten worden.

Bij het aanleggen van een nieuwe aanplant, moet men natuurlijk plantgoed gebruiken, dat vrij is van de schimmel. Hiervoor gelden dezelfde opmerkingen als onder Hoofdstuk III, § 6.

HOOFDSTUK VI

HET STENGELSTERVEN IN VERBAND MET DE CALLUSZIEKTE

§ 1. *Symptomen van de ziekte*

In de omgeving van Breda kon men tijdens den zomer van 1926 een afsterven van tweejarige stengels waarnemen, waarbij deze bedekt waren met knobbelige weefselwoekeringen, dikwijls samengegroeid tot min of meer uitgebreide complexen. In jongen toestand waren zij bleekgeel tot lichtbruin van kleur en van hardvleezige consistentie. Bij het ouder worden veranderde de kleur in donkerbruin, slonken ze en werden hard, zoodat de complexen dan dikwijls den indruk maakten van houtige lijsten, die zich op de stengels verhieven. Vaak waren de oudere knobbels bedekt met roode *Fusarium*fructificaties. De jonge gezwellen bleken hoofdzakelijk te bestaan uit dunwandig parenchym met hier en daar tracheidengroepjes. Zij hadden veel weg van calluswoekeringen. Om deze reden stel ik voor de ziekte voorloopig *Callusziekte* te noemen, totdat de oorzaak met zekerheid bekend is. Het aanwezig zijn van de gezwellen op stengels ging lang niet altijd gepaard met de dood van deze. Dit was meestal alleen het geval als zij in groot aantal voorkwamen.

Elders in den lande werd de ziekte ook waargenomen. In Mededeeling No. 44 van den plantenziektkundigen dienst te Wageningen, wordt n.l. een ziektegeval beschreven en afgebeeld, voorkomende bij frambozen uit Nijmegen, dat zeer veel overeenkomst vertoont met bovengenoemde symptomen. Misschien is ook de

Breda'sche frambozenziekte, die in verschillende No.'s der versl. en meded. van den plantenziektkundigen dienst wordt vermeld en die eveneens een afsterven van de stengels veroorzaakt, wel identiek met de callusziekte.

Een frambozenziekte uit Zweden, die Wulff (1908) in een uitvoerige publicatie bespreekt, komt zooveel overeen met de hier waargenomene, dat gezegd kan worden dat zij dezelfde is. In deze publicatie vindt men vele afbeeldingen, vooral ook van den anatomischen bouw der gezwellen.

§ 2. Oorzaak van de ziekte

Men zou op het eerste gezicht geneigd zijn de *Fusarium's*, die dikwijls op de oudere gezwellen fructificeeren, voor de oorzaak van de ziekte aan te zien. M.i. zijn zij dit niet en slechts van secundaire aard. Zij treden zeer waarschijnlijk pas op, als de knobbels uitgegroeid zijn en vinden in de weinig weerstandskrachtige parenchymmassa's een goeden voedingsbodem. Voor deze meening pleit ook het feit, dat op jonge, nog hardvleezige knobbels geen *Fusarium*fructificaties worden gevonden en verder dat in scheermescoupes van zulke gezwellen geen mycelium kon worden ontdekt. Ook een voorloopige infectieproef wijst op hun secundair karakter. Op 19 Juni 1926 werden op de in hoofdstuk I vermelde wijze, eenige stengels van de variëteit Boskoopsche Hornet met stukjes van de *Fusarium*fructificaties als infectiemateriaal geïnfecteerd. Geen der infecties bleek door te loopen. Het is dus wel zeer waarschijnlijk, dat de *Fusarium's* niet de oorzaak zijn van de ziekte.

Wulff (1908, 1909) meent eveneens, dat de in Zweden optredende *Fusarium*fructificaties van secundaire aard zijn, daar hij in de jonge knobbels nooit mycelium kon aantreffen. Als vermoedelijke oorzaak van de ziekte geeft hij op overvloedige stikstofbemesting en overmatige vochtigheid. Dit meent hij uit veldwaarnemingen te moeten opmaken.

M.i. is zeer waarschijnlijk de oorzaak, *Pseudomonas tumefaciens* (Sm. & Town) Duggar, de bacterie die de „crown gall” gezwellen bij verschillende plantensoorten en ook bij de framboos teweeg brengt. Deze meening berust o. a. op de sterke over-

eenkomst in anatomischen bouw en uitwendig voorkomen tusschen de jongere stadia van de knobbels en tumaefaciens-gezwellen, die ik verkreeg door kunstmatige infectie van eenige frambozenstengels. Deze werden op 12 Aug. 1926, op de in „Methodiek” vermelde wijze geïnfecteerd en wel stengels van Superlatief en van Hornet. 1 October 1926 waren duidelijke tumoren aanwezig, terwijl de contrôle-stengels geen spoor van gezwellen vertoonden. Het gemak waarmede de infectie gelukte, versterkte mij ook in de meening, dat de bacterie de oorzaak van de Callusziekte was. De bevestiging van deze meening moet nog geschieden.

Nu kunnen volgens R e h w a l d (1927), callusknobbels, die ontstaan zijn door verwonding van plantenweefsel, den zelfden anatomischen bouw hebben als tumaefaciens-gezwellen. Toch geloof ik niet dat de knobbels van de Callusziekte gewone calluswoekeringen zijn. Er zou dan trouwens een groot aantal wonden, in elk geval tot in het levende weefsel, op de stengels aanwezig moeten zijn geweest, om de woekeringen te voorschijn te roepen.

Inderdaad zijn dikwijls (althans te Breda), zulke wonden aanwezig op de stengels, n.l. de anthracnosevlekken, veroorzaakt door *Gloeosporium venetum* Speg. Deze wonden geven echter spontaan geen aanleiding tot de vorming van zulke gezwellen, als werden gezien bij de callusziekte. Ik zag n.l. ook vele tweejarige stengels die bezet waren met anthracnosevlekken, waarop geen spoor van calluswoekeringen was te onderkennen.

Dezelfde wonden nu vormen, naar het lijkt, zeer gunstige infectieplaatsen voor de bacterie. Men zou zelfs bijna gaan gelooven dat het, althans rondom Breda, de voornaamste infectieplaats voor *Pseudomonas tumaefaciens* vormt, daar *Gloeosporium venetum* er algemeen voorkomt op frambozenstengels. De bacterie is trouwens ook gebonden aan wondinfectie. Dit blijkt al vrij duidelijk uit de infectie-proeven van S m i t h (1911) bij een groot aantal planten, maar vooral uit proeven van R i k e r (1923) met tomatenstengels, die speciaal waren opgezet om dit na te gaan.

Neemt men nu aan, dat de bacterie de oorzaak is van de Callusziekte, dan duikt de vraag op, hoe de wonden met *Pseudomonas tumaefaciens* worden besmet. Deze zal in de meeste gevallen vermoedelijk met door haar besmette aarde in de wonde komen. Het is n.l. wel bekend, dat de bacterie dikwijls in den grond van

tuinen en kweekerijen voorkomt. Verschillende waarnemingen wijzen daarop; o. a. Smith noemt in zijn bekende publicatie van 1911 (pag. 188) eenige feiten uit de praktijk, die dit duidelijk demonstreeren. Hoewel genoemd feit reeds lang bekend is, bestaan er nog bijna geen exactere waarnemingen of proeven over het leven van de bacterie in den grond. Over de vraag, hoe lang de bodem besmet blijft na een teelt van met tumaefaciensgezwollen bezette planten, zijn b.v. nog zeer weinig meer nauwkeurige data bekend, hoewel deze vraag toch voor een doelmatige bestrijding van groot gewicht is.

Eigenaardig is het nu, dat de gezwellen alleen op de tweejarige stengels voorkomen, hoewel toch reeds lang *Gloeosporium*wonden op de eenjarige stengels aanwezig zijn (zooals in hoofdstuk V werd vermeld, van half Mei af). Ik kon zelfs begin November in een aanplant van de zeer vatbare variëteit Boskoopsche Hornet, waar vele tweejarige stengels de ziekte in hevige mate vertoonden, bij de éénjarige stengels, die ontsproten waren uit dezelfde wortelstok, waarop de zieke, tweejarige stengels zaten, geen knobbels aantreffen. Slechts in één geval zag ik dicht bij den grond een klein gezwel. *Gloeosporium*wonden waren overvloedig aanwezig.

Wanneer de woekeringen voor het eerst op de stengels verschijnen, heb ik niet kunnen nagaan. Zij werden pas begin Juni voor de eerste maal waargenomen. De toen aanwezige knobbels waren nog wel jong, geel en vleezig, maar hadden toch al een vrij aanzienlijke grootte bereikt. Ze moesten in ieder geval reeds veel vroeger verschenen zijn, vermoedelijk al begin Mei. Dat de tumoren eerst op dit tijdstip op de frambozenstengels verschijnen, zal zeer waarschijnlijk niet te wijten zijn aan de omstandigheid, dat dan pas de wonden met het organisme worden besmet. De besmetting door aarde, die zooals vermeld, hoogst waarschijnlijk de voornaamste wijze van infectie vormt, kan toch altijd geschieden. Er is geen enkele reden om aan te nemen, dat dit juist in het voorjaar moet gebeuren. Het kan evengoed in den vorigen zomer, herfst en winter plaats hebben. Waarom toen ter tijd dan geen tumorvorming plaats heeft gehad, ligt nog in het duister.

In herfst en winter kan het misschien zijn geweest omdat toen de temperatuur te laag was. De minimum-temperatuur in rein-

cultuur op verschillende voedingsbodems is n.l. 10° C. (Riker 1926). Het kan ook zijn, dat in herfst en winter de weefsels in een toestand verkeerden, waarin zij niet in staat waren tumoren te ontwikkelen. Smith (1911, pag. 158) nam n.l. waar, dat kunstmatige infectie in oude, harde, langzaam groeiende weefsels en zulke die in rusttoestand verkeerden, gewoonlijk mislukten. Verder bleken „rijpe” weefsels niet geschikt voor infectieproeven.

In den zomer echter liggen de omstandigheden voor tumorvorming juist zeer gunstig; de temperatuur is o. a. ver boven het genoemde minimum, de weefsels zijn in volle ontwikkeling. Ten overvloede wijs ik nog op het gemakkelijk slagen van de kunstmatige infecties die tevoren werden vermeld. Hier zou men dus geneigd zijn om de oorzaak te zoeken in den toestand van de Gloeosporiumwonden, waarvan tevoren werd verondersteld, dat zij de voornaamste toegangspoorten voor de bacteriën-infectie vormen. Het kan natuurlijk zijn, dat de schimmel, die in de anthracnosevlekken huist, in dezen tijd zeer levenskrachtig is en stoffen afscheidt, die de ontwikkeling der bacteriën verhindert of hun werkingen op het weefsel teniet doet en daardoor de ontwikkeling der tumoren wordt tegengehouden.

§ 3. Bestrijding

Vóór de onderstaande bestrijdingsmogelijkheden tegen de Callusziekte zullen worden besproken, zij er nog eens op gewezen, dat dit gebeurt in de veronderstelling, dat *Pseudomonas tumae-faciens* de oorzaak is van de Callusziekte en de wonden in de stengels veroorzaakt door *Gloeosporium venetum*, de voornaamste infectieplaatsen voor de bacterie vormen.

De bestrijding van de ziekte als de tumoren reeds op de stengels aanwezig zijn, is waarschijnlijk onmogelijk. Smith (1911, pag. 200) o. a. deed bestrijdingsproeven met verschillende fungicides die geen resultaat hadden. Het beste is hier dus weer, als in zooveel gevallen, preventief te werk te gaan. Uit de beschouwingen in § 2 volgt, dat het voorkomen van verwondingen vooral in acht moet worden genomen. Verder zal natuurlijk de bestrijding van *Gloeosporium venetum* ter hand moeten worden ge-

nomen. Ook andere oorzaken voor het vormen van infectieplaatsen, bijv. de doode knoppen die *Didymella applanata* teweeg brengt, zullen moeten worden weggenomen.

Nu bestaat de mogelijkheid dat tegelijkertijd met het voorkomen der ziekte, door middel van fungicide bespuitingen der stengels tegen *Gloeosporium venetum*, een directe bestrijding gecombineerd kan worden, n.l. door de vernietiging van *Pseudomonas tumae-faciens* in de door haar besmette *Gloeosporium*wonden met dezelfde fungicide bespuitingen. Zooals in Hoofdstuk V, § 4, werd gezegd, zal de eerste bespuiting ter bestrijding van *Gloeosporium venetum* vermoedelijk moeten geschieden, als de eerste blaadjes zich ontplooien. Dit gebeurt ongeveer begin tot half April, althans bij de variëteiten Superlatief en Hornet en naar waarnemingen te Baarn.

Nu werd in § 2 van dit hoofdstuk opgemerkt, dat de eerste tumoren vermoedelijk begin Mei verschijnen. De stengels moeten nu natuurlijk met de fungicide stof worden behandeld, vóór dat eenig teeken van tumorontwikkeling is te onderkennen, dus bijv. begin April. Het tijdstip voor de gecombineerde bestrijding zou dus zeer gunstig vallen. Ook het uitvoeren van de bespuitingen ter bestrijding van *Didymella applanata* zal door de desinfectie van de *Gloeosporium*wonden de bestrijding van *Pseudomonas tumae-faciens* bevorderen.

Het bovenbehandelde geldt voor de bestrijding der ziekte op een reeds gevestigde frambozenaanplant. In dit geval, en vooral bij het aanleggen van een nieuwen aanplant, zal vernietiging van de bacterie in den bodem, bijv. door grond-desinfectie met stoom of chemische middelen, eventueel de eerste jaren gecombineerd met fungicide bespuitingen der stengels, zoolang er nog teekenen van de ziekte op den aanplant voorkomen, de ideale bestrijding zijn. De kosten voor bodem-desinfectie zullen echter voor deze cultuur te hoog zijn. Misschien is wel in de richting die S h e r b a k o f f (1925), aangeeft, n.l. zwavelbehandeling van den grond, om daardoor een voor de bacterie funeste verschuiving van den zuurgraad te verkrijgen, een afdoende bestrijdingsmethode te vinden.

Het aanleggen van een nieuwen aanplant zal natuurlijk liefst op onbesmetten grond moeten geschieden. Dit zal in cultuurcentra, zooals de omstreken van Breda, lastig te bereiken zijn. Trouwens,

zekerheid dat het plantgoed niet besmet is, heeft men in de meeste gevallen toch niet. Door geregelde bespuitingen op de boven aangegeven wijze, zal men waarschijnlijk de ziekte, ook op besmetten grond, vrij goed in toom kunnen houden.

HOOFDSTUK VII

VERTICILLIUM SP., BOTRYTIS CINEREA PERS., EN HENDERSONIA RUBI (WEST.) SACC., IN HUN VERBAND MET HET AFSTERVEN VAN KNOPPEN EN STENGELS

§ 1. *Verticillium* sp. (*Dahliae*-groep)

Begin September 1926 trof ik in een veldje frambozen van de var. Boskoopsche Hornet, verscheidene stengels aan die typische bladverkleuringen vertoonden. Deze verschenen als onregelmatige gele vlekken tusschen de hoofdnerven, in den regel meer naar het midden, minder aan de bladranden beginnend. Zij breidden zich steeds meer uit en werden hierbij langzamerhand bruin. Ten slotte waren de bladgedeelten tusschen de hoofdnerven grotendeels bruingrijs (in elk geval bruin zonder rooden inslag) verkleurd en de bladranden waren opgekruld. Meestal vielen in dit stadium, althans de blaadjes, (van het samengestelde blad) af. De bladsteel bleef meermalen een tijd lang daarna aan den stengel zitten en viel dan pas later af.

De bladverkleuringen schreden van beneden naar boven langs den stengel voort, zoodat stengels werden gevonden in alle stadia van ontbladering, tot volkomen ontbladerde toe. Het waren zeker géén herfstverkleuringen. De stengels, die het verschijnsel vertoonden, stonden tusschen geheel groene in, die soms een enkel verkleurd blad op de onderste helft lieten zien. De verkleuring was hier dan trouwens van geheel anderen aard als de beschrevene. Die bladen verkleurden meestal geleidelijk tot een gelijkmatig geel, dat niet speciaal tusschen de hoofdnerven begon; daarna vielen zij dan af. Zij maakten in ieder geval nooit den „verschroeiden” indruk

(door de opgekrulde bladranden en de bruine verkleuringen), van de bovengenoemde bladen. De vermelde stengels vertoonden zich, over het heele veld verspreid. Zij stonden in groepjes, zaten dan dikwijls alle op één wortelstok en waren dus afkomstig van één plant, of afzonderlijk tusschen de „normale” in. In de „bossen”, d.w.z. een oude plant met omringenden „opslag” (scheuten uit wortelknoppen ontwikkeld), die de stengels met bovengenoemde symptomen vertoonden, waren dikwijls tweejarige doode stengels aanwezig met vele verdroogde vruchten. Deze stengels waren waarschijnlijk ontijdig afgestorven, waarbij de vruchten verdroogd en onbruikbaar, dus niet afgeplukt werden. Dat dit geen fictie is, bewijst wel het feit, dat ik bij deze variëteit dergelijke ontijdig afstervende stengels in den pluktijd aantrof, waaruit echter niet de hieronder vermelde *Verticillium* kon worden geïsoleerd en ook geen andere, duidelijk parasitaire schimmels. Er werd toen aan een aantasting door *Didymella applanata* gedacht. Ook zag ik in zulke bossen, stengels die in het geheel niet uitgelopen waren, dus in het voorjaar al dood waren geweest. Geen wonder dat aan een verband werd gedacht tusschen het bladverkleuringsverschijnsel en deze ontijdige afsterving. Dat dit verband werkelijk kan bestaan, bleek uit de hieronder volgende feiten.

Uit eenige van de stengels, die de bladsymptomen vertoonden, werd een *Verticillium*-species geïsoleerd, die in de *Verticillium Dahliae*-groep (Van der Meer (1925)) thuis behoorde. Bij sommige geheel ontbladerde stengels, waren makroskopisch, teekenen van de aanwezigheid dezer schimmel te zien. Zij vertoonden n.l. op dwarsdoorsnede (zoowel vlak bij den grond als hooger op, in de onderste stengelhelte), bruine stippen en vlekjes in het, aan het geelwitte merg grenzende, xyleem, dat overigens de normale groene kleur vertoonde. Ook het dichtst bij het xyleem gelegene merg was hier en daar bruin gekleurd. Mikroskopisch bleek veel bruine gom aanwezig in de dichtst bij het merg gelegene vaten en zoowel in het aangrenzende merg, als in de vaten zag men fijne myceliumdraden. Deze bleken bij steriel uitleggen van eenige schijfjes op kersagar, op de wijze als in hoofdstuk III vermeld, hyphen te zijn van de *Verticillium*-species. Bij sommige stengels (nog gedeeltelijk bebladerde) was zoowel vlak bij den

grond, als hooger op, zelfs bij tienmalige loupe-vergrooting geen spoor te bekennen van bruine stippen of vlekjes. Toch groeide er, bij op kersagar uitgelegde schijfjes, die uit een zich dicht bij den grond bevindend stengeldeel waren gesneden, de *Verticillium*-species uit en wel alleen uit een begrensde deel van de schijfjes, vlak bij het merg gelegen. Uit andere stengels met de bladsymptomen, kon in het geheel geen *Verticillium* worden geïsoleerd, hoewel toch schijfjes werden uitgelegd van dat deel der stengels, hetwelk vlak aan het grondoppervlak grensde. Misschien bevond zich hier het mycelium wel in den wortelstok.

Ik vermoed n.l. dat de *Verticillium*, zooals de *Verticillium*-rassen of misschien soorten van deze groep, bij zoovele planten (zie Van der Meer) via de ondergrondsche deelen in de stengels dringt. Een sterken indruk van de mogelijkheid hiervan, kreeg ik bij het beschouwen van de wortelstokken der meerdere jaren oude planten. Vooral door het in aanmerking nemen van het bevonden feit, n.l. het optreden van het mycelium in het merg zelve en de aan het merg grenzende vaten, werd deze indruk versterkt.

De oude stompen van de afgesneden stengels leken mij n.l. een zeer gunstige plaats voor het binnendringen van de schimmel, daar een directe verbinding van het merg dezer stompen met het merg van den wortelstok aanwezig is en in dit doode weefsel geen afsluiting of „bescherming” door gom, thyllen, tannine en dergelijke, mogelijk is. Vanuit dit merg zou het in het stengelmerg en vandaar in de vaten dringen.

Infectieproeven konden met het verkregen organisme niet meer worden gedaan, dus niet bewezen worden of zij de bovenvermelde ontijdige afsterving tengevolge kon hebben. Vermoed wordt dat de *Verticillium* zulke verschijnselen teweeg kan brengen, daar Harris (1925) en Berkeley en Jackson (1926) vonden, dat een *Verticillium*-species die, tenminste bij Berkeley en Jackson zeker ¹⁾, bij Harris vrij zeker, tot de *Dahliae*-groep behoorde, een afsterving der stengels en knoppen teweeg bracht. Verder vertoonden de aangetaste planten dezelfde bladverkleuring-symptomen als de bovenvermelde.

Harris geeft van deze symptomen een uitvoerige beschrijving

¹⁾ Berkeley en Jackson beschrijven haar als een nieuwe soort, *Verticillium ovatum*.

en uitstekende afbeeldingen. Volgens hem is in Engeland bij de variëteit Red Antwerp A (zie Grubb (1922)) een zeer karakteristiek symptoom van de ziekte, dat samen gaat met de bladverkleuringen, een meer of minder breede blauwe streep, „blue-stripe”, die van onderen af, langs den stengel naar boven loopt. Van deze blauwe streep zag ik nooit een spoor bij de vermelde variëteit Boskoopsche Hornet. Dit ontbreken van de streep meen ik hierdoor te moeten verklaren, dat deze blauwe kleur tot stand is gekomen door de samenwerking van de grijsblauw gekleurde waslaag die bij de variëteit Red-Antwerp A op de stengels aanwezig is, met de bruin verkleurde houtsector die zich onder de streep bevindt. De schorskleur, die mij niet bekend is doch waarschijnlijk zooals bij de meeste *Rubus* *Idaeus* variëteiten meer of minder bruinrood zal zijn, speelt natuurlijk ook een rol bij de totstandkoming van de blauwe kleur. De waslaag en de bruine houtsector, lijken mij echter hierbij juist de overwegende elementen, naar analogie van de (blauw)paarsbruine vlekken, die *Didymella applanata* o.a. bij de var. Superlatief teweeg brengt. Deze komt zooals duidelijk blijkt, tot stand door de combinatie van de bruinroode kleur van de schimmelvlek en het grijsblauw van de waslaag. Wrijft men de waslaag er af, dan blijkt de vlek bruinrood te zijn. Te meer denk ik dat de „blue-stripe” door bovengenoemde verschijnselen optreedt, omdat juist bij de door *Verticillium* aangetaste stengels van de variëteit Boskoopsche Hornet, de bruin verkleurde houtsector, en zooals juist karakteristiek voor deze variëteit, de waslaag, ontbreken.

Nog zij gewezen op de merkwaardige resistentie die de variëteit Superlatief vertoonde voor de *Verticillium*. Vlak aan de rijen planten van de variëteit Boskoopsche Hornet, stonden eenige rijen van de variëteit Superlatief. Hier en daar bevonden zich in een bos eenige stengels van de variëteit Boskoopsche Hornet, met de typische bladverkleuringssymptomen, die daar waarschijnlijk uit wortelknoppen waren opgeslagen. Geen der stengels van de variëteit Superlatief vertoonde echter ook maar een spoor van dergelijke verkleuringen. Uit een dergelijke stengel van de Boskoopsche Hornet, die reeds geheel ontbladerd was, werd de *Verticillium* gekweekt, zoodat deze inderdaad in de bos aanwezig bleek. Uit stengels van de variëteit Superlatief, van dezelfde bos, kon geen

Verticillium worden gekweekt. Dit alles pleit er wel voor, dat de variëteit Superlatief resistent is voor de Verticillium.

§ 2. *Botrytis cinerea Pers.*

Eind Augustus trof ik te Baarn op een aantal stengels eener variëteit, waarvan ik de naam niet kende, langgestrekte bruin-groene vlekken aan. Deze waren duidelijk verschillend van de hier en daar op dezelfde stengels aanwezige Didymellavlekken, welke donkerbruinrood gekleurd waren, als men de blauwe waslaag, die dikwijls nog aanwezig was, verwijderde. De eerstgenoemde vlekken werden later grijs en er verschenen talrijke conidien fructificaties op van *Botrytis cinerea Pers.*, gepaard gaande met of gevolgd door sklerotievorming. De sklerotien vertoonden zich als ± 2 tot 5 m.M. lange vlekken, welker grootste afmeting in de lengterichting van de stengels ligt. Het schorsgedeelte dat zich boven de sklerotien bevindt is vrij dikwijls gebarsten. Verscheidene van de dunnere stengels die met Botrytisvlekken bezet waren, bleken in den winter en in het voorjaar dood te zijn. Of Botrytis de oorzaak van het sterven was, is lastig uit te maken, daar ook Didymellaperitheciën op deze stengels aanwezig waren. Toch is het wel waarschijnlijk, daar in het volgende geval aanwijzingen werden gevonden, van een parasitair optreden van Botrytis.

Een der best ontwikkelde levende stengels, die einde Augustus 1926 de bruin-groene en later de grijze Botrytisvlekken vertoonde, werd 19 Januari 1927 vlak bij den grond afgesneden en onderzocht. Een beeld van de ontwikkeling dezer stengel vergeleken met de bovengenoemde dunne stengels, die in winter en voorjaar dood bleken te zijn, krijgt men eenigszins door de volgende maten: De lengte van de afgesneden stengel was 160 c.M. De diameter ter hoogte van het grondoppervlak $\pm 9\frac{1}{2}$ m.M. De lengte van drie der dunne stengels was ± 65 , 64 en 84 c.M., de diameter vlak bij den grond resp. $\pm 6\frac{1}{2}$, $5\frac{1}{2}$ en 6 m.M. Op ± 75 c.M. van het sneevlak begon een lange Botrytisvlek, die zich van hieruit naar boven uitstrekte. De stengel bleek onder deze grijze vlek over een afstand van ± 15 c.M. gedeeltelijk bruin verkleurd te zijn. Phelloderm, phloem en kambium waren bruin gekleurd, voor-

al het kambium, dat zich op dwarsdoorsnede als een bruine ring afteekende. De sklerenchymvezels in de bast waren niet gekleurd. In het xyleem waren slechts enkele mergstraalparenchymcellen bruin. Van al deze bruingekleurde cellen was meestal de wand, soms de inhoud gekleurd. Blijkbaar is deze bruinkleuring onder invloed van de schimmel tot stand gekomen, noch *Didymella* noch andere parasieten waren aanwezig. Een opvallende wond, waardoor *Botrytis* haar invloed kon laten gelden, werd niet gevonden. Hier hebben we dus een dergelijk verschijnsel als *Didymella applanata* bij de stengels teweegbrengt. In het verkleurde onder de kurkhuid gelegen weefsel en in de kurkhuid zelf werd, evenals dikwijls bij *Didymella* het geval is, geen mycelium gezien. In het schorsweefsel daarentegen werd inter- en intra-cellulair verlopend mycelium aangetroffen. Het al of niet aanwezig zijn van mycelium in genoemde weefsels, werd beoordeeld naar dunne dwarse, radiale en tangentiale scheermescoupes. Ter contrôle werden dwars, radiaal en tangentiaal coupes op met kersagar voorziene petrischalen uitgelegd, na uitwendige sterilisatie van het stengeldeel met 0,1 % sublimaat en verwijdering van de schors en een deel van de of de geheele kurkhuid. Enkele stukjes van het afgeschilde weefsel werden ook op kersagar uitgelegd. De uitwendige sterilisatie geschiedde als onder Hoofdstuk III, § 2 beschreven. Uit het bruingekleurde weefsel bleek niets te groeien. Uit de stukjes afgeschild weefsel kwam overvloedig mycelium te voorschijn, hetwelk, tenminste voor een groot deel, *Botrytis* mycelium bleek te zijn, daar na eenigen tijd de typische conidien-fructificaties en sklerotien werden gevormd.

Naar aanleiding van bovenstaande feiten, zou men toch aan een parasitisme van *Botrytis* gaan denken, al is het waarschijnlijk een „facultatief” parasitisme. De stengels, waarop eerst de bruin-groene en later grijze *Botrytis*vlekken verschenen, waren n.l. 13 Juli 1926 bespoten met Californische pap (18° Beaumé, 1 op 18). Daar bij verschillende dezer stengels, tengevolge der bespuiting eenige dagen later hier en daar bladbeschadigingen optraden, is het zeer goed mogelijk, dat ook de stengels op sommige plaatsen beschadigd werden. Op deze door het fungicide gedooide weefsel-plekken, zou de schimmel zich dan gevestigd en vervolgens van hieruit, de andere nog gezonde weefsels, aangetast hebben. Voor

deze mogelijkheid pleit ook het feit, dat *niet* bespoten stengels van dezelfde variëteit geen Botrytisvlekken vertoonden, ofschoon ze zich op kleinen afstand van de met Botrytis bezette, bespoten stengels bevonden.

§ 3. *Hendersonia rubi* (West.) Sacc.

Begin Februari '26, vond ik op een stengel van de variëteit Hornet een grijze vlek onder een oog. Hierop kwamen talrijke zwarte vlekjes voor, die zeer verschillend van grootte waren; de grootste waren $\pm \frac{1}{2}$ m.M. Deze vlekjes bleken pykniden te zijn van *Hendersonia rubi* (West.) Sacc., welke soort volgens Archer (1926) identiek is met *Coryneum ruborum* Oudem, waarin hij m.i. gelijk heeft. Het bleek mij dat hier en daar (1,2) de opvatting heerscht, dat *Hendersonia rubi* parasitair op framboos is. De doode knop boven de genoemde vlek wees ook in die richting. Een infectieproef echter, die ik 6 Mei '26 op de gewone wijze (zie hoofdstuk I) uitvoerde, had geen succes. Daar het aantal stengels klein was en misschien de tijd van het jaar niet geschikt voor het doorlopen der infectie, kan men hieruit nog niet de conclusie trekken dat de schimmel *niet* parasitair is. Het is echter toch zeer waarschijnlijk dat dit het geval is.

HOOFDSTUK VIII

BASIS VOOR EEN GECOMBINEERDE BESTRIJDING VAN GLOEOSPORIUM VENETUM, PSEUDOMONAS TUMAE- FACIENS EN DIDYMELLA APPLANATA

Leest men de §§ over bestrijding in de Hoofdstukken III, V en VI na, dan zal men bemerken, dat een gecombineerde bestrijding van de betreffende organismen mogelijk is. Zulk een bestrijdingsmethode ter gelijktijdige bestrijding van meerdere parasieten, is vooral voor een centrum van frambozen-cultuur, zooals Breda en omstreken, zeer gewenscht, daar dikwijls in één aanplant meerdere parasitaire organismen worden aangetroffen.

In de eerste plaats zal men de steeds bij elk betreffend organisme terugkomende maatregelen ter bestrijding, in acht moeten nemen. Deze zijn het verwijderen van de oude stengels, direct na den oogst, het gebruiken van schimmelvrij plantgoed, vooral met de vermeerdering door wortelstek te bereiken. In dit verband zij nog gewezen op het belang van het niet al te langen tijd laten staan van de planten, bijv. niet langer dan 4 tot 5 jaar. Na het verstrijken van dezen termijn, moeten de oude planten worden opgeruimd en het land, waarop zij stonden, één of meerdere jaren beplant met andere gewassen, die natuurlijk liefst niet vatbaar moeten zijn voor een aantal in den bodem levende frambozenparasieten, b.v. *Pseudomonas tumae-faciens* en *Verticillium* sp. Ter voorkoming van het optreden van laatstgenoemde schimmel, is het b.v. gewenscht, geen aardappels te verbouwen, die, zooals men weet, dikwijls zeer vatbaar zijn voor *Verticilliums* uit de *Dahliae*-groep (en *Verticillium albo-atrum*). Dit opruimen van de oude planten na 4—5 jaar lijkt

mij daarom zoo wenschelijk naar aanleiding van de bij *Verticillium* aangetroffen verschijnselen, waarbij zooals bleek de infectie zeer waarschijnlijk door het merg van de oude stompden der afgesneden stengels gaat, waardoor de schimmel in den wortelstok en vandaar uit in de stengels komt. Deze manier van binnendringen zal natuurlijk niet alleen voor de misschien tamelijk onschadelijke *Verticillium* gelden, maar ook voor andere parasitaire bodemorganismen.

Hoe ouder de wortelstok wordt, hoe meer van de genoemde toegangspoorten voor parasieten worden geschapen en hoe meer hij geïnfecteerd wordt, dus hoe meer het percentage voortgebrachte ziektestengels toeneemt.

Naast deze maatregelen, die voor alle behandelde organismen van kracht zijn, komt nu nog de bestrijding door fungicide-besputtingen van de stengels. Voor de *Gloeosporium venetum* en *Pseudomonas tumae-faciens* werd reeds de mogelijkheid van een gecombineerde bestrijding besproken (zie hoofdstuk VI, §3). Zij zou moeten bestaan uit een besputting van de stengels als de eerste blaadjes zich ontplooien hetwelk ongeveer begin tot half April het geval kan zijn. Voor de Callusziekte zou hiermede een behoorlijke bestrijding verkregen zijn, hoewel natuurlijk geen afdoende, daar, als het fungicide van de stengels verdwenen is, weer infectie door besmette aarde mogelijk is. *Gloeosporium* is door deze besputting slechts gedeeltelijk bestreden. In hoofdstuk IV § 4 werd gezegd, dat voor een afdoende bestrijding een tweede besputting noodig zou zijn, geregeld naar de hoofdinfectieperiode. Men zou misschien ook een afdoende bestrijding kunnen bereiken door één besputting, vóórdát de eerste *Gloeosporium* vlekken verschijnen, wat ongeveer half Mei plaats heeft. Deze zou dan zoo kort mogelijk van tevoren plaats moeten hebben, dus b.v. begin Mei. Dit tijdstip valt echter zeer ongunstig voor de bestrijding van *Pseudomonas tumae-faciens*, daar begin Mei juist de eerste gezwellen beginnen te verschijnen en is dus uitgesloten.

Kan nu de tweede besputting tegen *Gloeosporium* niet worden gecombineerd met een der besputtingen tegen *Didymella applanata*? Hierbij wordt alleen gedacht aan de bestrijdingsmethode die ingesteld is op de eerste veronderstelling in § 5 en § 6 van hoofdstuk III genoemd. De eerste besputting zou dan ongeveer

half Juni plaats moeten hebben. Dit tijdstip zal vermoedelijk wel te laat vallen voor de tweede bespuiting tegen *Gloeosporium*, daar de hoofdinfectie-periode, naar alle waarschijnlijkheid, vóór half Juni valt.

Alle bekende feiten en veronderstellingen in aanmerking genomen, zullen dus ter gezamenlijke bestrijding van de drie organismen meerdere bespuitingen noodig zijn, te weten: een eerste bespuiting ongeveer half April, een tweede ongeveer half Juni, een derde vlak voor den pluktijd, een vierde vlak na den oogst als de oude stengels verwijderd zijn. Hierbij zou dus nog een bespuiting tusschen half April en half Juni moeten komen, te regelen naar de hoofdinfectie-periode van *Gloeosporium venetum*.

Dit aantal is voor de praktijk veel te groot. Voor een eenigszins behoorlijke bestrijding, zal het toch niet dan op minstens twee kunnen worden teruggebracht. De eerste hiervan ongeveer half April en de tweede ongeveer half Juni uit te voeren. Voor deze bespuitingen lijken mij Bordeausche pap of Californische pap de aangewezen fungicides toe. In Amerika bereikte men n.l. met deze twee zeer goede resultaten bij de bestrijding van verschillende frambozenziekten. De eerste bespuiting zal dan moeten worden uitgevoerd met een $1\frac{1}{2}$ % oplossing van Bordeaux of een oplossing 1 op 10 van Californische pap (33° Beaumé); de tweede bespuiting, resp. met een 0,6 % oplossing en een oplossing 1 op 40 (33° Beaumé). Bij deze laatste bespuiting zal men vooral de éénjarige stengels moeten raken.

Ten slotte zij opgemerkt, dat ingeval de tweede in § 5 en 6 van hoofdstuk III genoemde veronderstelling opgaat, een bestrijding door deze twee bespuitingen totaal onvoldoende zal blijken te zijn. Hoeveel dan het minimum aantal bespuitingen zal bedragen dat noodig is voor een eenigszins afdoende bestrijding, is nu in het geheel niet te schatten. Dit zal pas kunnen, als de omstandigheden, die de infectie beheerschen, beter bekend zijn. Hierover weet men nog zoo goed als niets.

SAMENVATTING DER RESULTATEN

Nagegaan werden de oorzaken van het op verschillende plaatsen hier te lande veel voorkomende afsterven der knoppen en stengels bij de gecultiveerde roode framboos. Gebleken is dat dit knop- en stengelsterven aan verschillende oorzaken is te wijten, n.l. zeker of met groote waarschijnlijkheid aan de fungi: *Didymella applanata* (Niessl) Sacc., *Coniothyrium Fuckelii* Sacc., *Gloeosporium venetum* Speg. en aan de z.g. Callusziekte, waarvan vermoedelijk *Pseudomonas tumae-faciens* (Sm. & Town.) Duggar, de oorzaak is. Verder meer of minder zeker aan de fungi *Verticillium* Sp. (*Dahliaegroep*), *Botrytis cinerea* Pers. en *Hendersonia Rubi* (West.) Sacc.

Voor *Didymella applanata* werd vastgesteld dat zij een stengelsterven veroorzaakt. Bovendien is het zeer waarschijnlijk, dat deze schimmel ook een knopsterven teweeg brengt. Eenige punten uit haar levensloop, vooral in verband met infectie van de plant, werden nagegaan. Hierop werd een, althans theoretisch mogelijke bestrijding gebaseerd.

Coniothyrium Fuckelii bleek een afsterven van knoppen en stengels te kunnen veroorzaken. Naar aanleiding van de weinige punten die omtrent haar levensloop bekend zijn, werden eenige bestrijdingsmogelijkheden aangegeven.

Voor *Gloeosporium venetum* is het zeer waarschijnlijk, dat zij een knopsterven veroorzaakt en indirect ook een stengelsterven, door het verschaffen van voor infectie gunstige plaatsen voor allerlei parasieten speciaal *Pseudomonas tumae-faciens*. Op grond van

eenige waarnemingen en van gunstige ervaringen, die anderen bij de bestrijding der ziekte hadden, werd een bestrijding aangegeven.

Gezien werd, naar veldwaarnemingen te oordeelen, dat de Callusziekte een afsterven van de stengels tengevolge kan hebben. *Pseudomonas tumae-faciens* is waarschijnlijk de oorzaak van de ziekte. Naar aanleiding van deze veronderstelling werden eenige bestrijdingsmogelijkheden besproken.

Vermoed wordt dat de hier in frambozenstengels aangetroffen *Verticillium species*, die in de *Dahliae*-groep thuis behoort, één der oorzaken is van het knop- en stengelsterven. Eenige waarnemingen, zoowel op het veld als in het laboratorium gedaan, wijzen daarop en vooral ook het feit dat in Engeland en Amerika *Verticillium spp.* of rassen uit dezelfde groep dergelijke verschijnselen teweeg brengen.

Botrytis cinerea bleek met vrij groote zekerheid, maar dan alleen onder zeer speciale condities, een afsterven van stengels te veroorzaken.

Voor *Hendersonia rubi* is het onwaarschijnlijk, dat zij een knop- of stengelsterven veroorzaakt.

De basis, waarop een gecombineerde bestrijding van *Gloeosporium venetum*, *Pseudomonas tumae-faciens* en *Didymella applanata* behoort te berusten, werd besproken. Een bestrijding van genoemde organismen werd aangegeven.

LITERATUURLIJST

- ANDERSON, H. W., Diseases of Illinois Fruits.
1920, Agr. Exp. Sta. Illinois. Univ. Circ. 241.
- ARCHER, W. ANDREW, Morphological Characters of some
Sphaeropsidales in Culture.
1926, Annales Mycologici Vol. XXIV, p. 1.
- BEAUMONT, A. and HODSON, W. E. H., Second annual
report of the department of plantpathology.
1925, Seale-Hayne Agr. Coll. Newton Abbot, Devon
ref. in Rev. Appl. Myc. Vol. V, p. 343, 1926.
- BERKELEY, G. H. and JACKSON, A. B., Verticillium wilt of
the red raspberry.
1926, Scientific Agriculture Vol. VI, p. 261.
- (1) Board of agriculture and fisheries. Leaflet No. 269, April '13.
- BURKHOLDER, WALTER H., The anthracnose disease of the
raspberry and related plants.
1917, Agr. Exp. Sta. Cornell Univ. Bull. 395.
- GRUBB, N. H., Commercial Raspberries and their Classification.
1922, Journ. Pom. Hort. Sc. Vol. III.
- HARRIS, R. V., Three raspberry diseases.
1925, East Malling Res. Sta. Ann. Rep. p. 64.
- HARRIS, R. V., Blue stripe wilt of the raspberry.
1925, Journ. Pom. Hort. Sc. Vol. IV, p. 221.
- HESSLER, L. R. and WHETZEL, H. H., Manual of fruit di-
seases, 1st Ed. New York.
1917
- (6) Jaarverslag 1911, Phytopath. Lab. Willie Commelin Scholten.
1911
- JONES, LEON K., Anthracnose on cane fruits and its control on
black raspberries in Wisconsin.
1924, Agr. Exp. Sta. Univ. Wisc. Res. Bull. 159.
- VON KIRCHNER, O., Die Krankheiten und Beschädigungen
unserer landwirtschaftlichen Kulturpflanzen.
1923, 3. Aufl. Stuttgart.

- KÖLPIN RAVN, F., Oversigt over Havebrugs planternes Sygdomme i 1916 og 1917.
1919, Tidsskr. for Planteavl. Bd. 26, p. 297.
ref. in: Zschr. Pflkr. Bd. 31, p. 198.
- VAN DER MEER, J. H. H., Verticillium wilt of herbaceous and woody plants.
1925, Med. Landbouwhoogesch. Wageningen. Dl. 28.
(2) Mitt. Biol. Reichsanst. Heft 27, p. 212, 1926.
(3) Mitt. Biol. Reichsanst. Heft 11, p. 56, 1911.
(4) Mitt. Biol. Reichsanst. Heft 23, p. 85, 1922.
- NEWHALL, A. G., The importance of the Phoma stage of *Mycosphaerella rubina* causing spurblight of raspberries.
1923, Phytopath. Vol. 13, p. 44 (Abstract).
- OSTERWALDER, A., Untersuchungen über die Himbeerrutenkrankheit und ihre Ursache.
1917, Ber. Schweiz. Vers. Anst. Obst. Wein- und Gartenbau, Wädenswill 1915 u. 1916.
in Landw. Jahrb. Schweiz, p. 450.
- OSTERWALDER, A., Versuche zur Bekämpfung der Didymellakrankheit an Himbeerruten mit Bordeaux- und Schwefelkalkbrühe.
1922, Ber. Schweiz. Vers. Anst. Obst- Wein- und Gartenbau, Wädenswill 1917 u. 1920.
in: Landw. Jahrb. Schweiz, p. 85.
- RABBAS, Die Rutenkrankheit der Himbeersträucher.
1922, Nachr. bl. für den Deutschen Pflanzenschutzdienst, Jahrg. 2, p. 42.
- REHWALD, H. CHR., Ueber pflanzliche Tumoren als vermeintliche Wirkung chemischer Reizung.
1927, Zschr. Pflkr. Bd. 37, p. 81.
- RIETSEMA, I., Verslag van den proeftuin der R. K. Land- en Tuinbouwschool te Breda (Centrale proeftuin voor Noord-Brabant) over het jaar 1923.
1923
- RIKER, A. J., Some relations of the crown gall organism to its host tissue.
1923, Jour. Agric. Res. Vol. 25, p. 119.
- RIKER, A. J., Studies on the influence of some environmental factors on the development of crown-gall.
1926, Jour. Agr. Res. Vol. 32, p. 83.
- SACKETT, WALTER G., Spurblight of the red raspberry caused by *Sphaerella Rubina*.
1915, Agr. Exp. Sta. Colorado Agr. Coll. Bull. 206.
- SHELLENBERG, H. C., Die Erkrankung der Himbeersträucher durch *Didymella applanata* (Niessl) Sacc.

- 1922, Verh. Schweiz. Naturf. Gesellsch. 103e. Jahresver-
samml. p. 241.
- SCHØYEN, F. H., Beretning om skadeninsekter og plantesyg-
dommer landog havebenket 1915.
1916, Christiania 1916.
ref. in Zschr. Pflkr. Bd. 27, p. 132.
- SHERBAKOFF, C. D., Effekt of soil treatment with sulphur upon
crown gall in nursery apple trees.
1925, Phytopath. vol. 15, p. 104.
- SMITH, ERWIN F., BROWN, NELLIE A. and TOWNSEND,
C. O., Crown-galls of plants: Its cause and remedy.
1911, U. S. Dept. Agr. Bur. Plant. Ind. Bull. 213.
- STEWART, F. C., New York Agr. Exp. Sta. Bull. 328, p. 389.
1910.
- STEWART, F. C. and EUSTACE, H. J., Raspberry cane blight
and raspberry yellows.
1902, New York (Geneva) Agr. Exp. Sta. Bull. 226.
- (5) Versl. Meded. Phytopath. dienst Wageningen No. 12.
1920, Wageningen.
- WULFF, TH., Studien über heteroplastische Gewebewucherun-
gen am Himbeer und Stachelbeerstrauch.
1908, Arkiv för Botanik Bd. 7 Afh. No. 14.
- WULFF, TH., Weitere Studien über die Kalluskrankheit des
Himbeerstrauches.
1909, Arkiv för Botanik Bd. 8, Afh. No. 15.

STELLINGEN

I.

Het is gewenscht bij parasitaire plantenziekten alleen in die gevallen van immuniteit te spreken, waarbij duidelijk blijkt dat het binnendringen of verdergroeien van de parasiet niet door morphologische eigenaardigheden of invloeden van de omgeving der waardplant wordt verhinderd.

II.

Het is niet geoorloofd de afwijkende vormen die bij verschillende schimmels in reïncultuur optreden en bij verder kweken constant blijken te zijn, mutaties te noemen.

III.

De vermindering van het zetmeel en de daarmee gepaard gaande vermeerdering van het vetgehalte bij de z.g. vetboomen in den winter, is een periodiek verschijnsel dat niet direct afhangt van de temperatuursverlaging, maar wel gebonden is aan de periodiciteit in het klimaat van de gematigde luchtstreken.

De meening van Coster, dat het verschijnsel niet samenhangt met andere periodieke processen, zooals de vernieuwing der bladeren en de werkzaamheid van het cambium is te voorbarig.

Coster in: Ann. Jard. Bot.
Buitenzorg Vol. XXXV, p. 171

IV.

De contractiele vacuole van *Amoeba proteus* dient niet in de eerste plaats ter regeling van de osmotische druk.

V.

De onjuistheid van de theorie van Pütter is door de proeven van Bonnet afdoende aangetoond.

F. W. Bonnet, Eenige experimenten omtrent de theorie van Pütter. Diss. Leiden 1927.

VI.

Het voorkomen van een plantenspecies op standplaatsen die in oecologisch opzicht zeer van elkaar verschillen, staat voornamelijk in verband met de genotypische samenstelling van de gemengde populatie waaruit zij bestaat en is meestal niet in de eerste plaats toe te schrijven aan haar vermogen tot het vormen van modificaties.

VII.

Kennis van de meteorologie is voor den phytopatholoog noodzakelijk.

U
1