



Kiemplantenziekten van coniferen

<https://hdl.handle.net/1874/342800>

A. qu. 192, 1939.

**KIEMPLANTENZIEKTEN VAN
CONIFEREN**

J. G. TEN HOUTEN A. THzn.

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

KIEMPLANTENZIEKTEN VAN
CONIFEREN

KIEMPLANTENZIEKTEN VAN
CONIFEREN

1918
1919
1920
1921
1922
1923
1924
1925
1926
1927
1928
1929
1930
1931
1932
1933
1934
1935
1936
1937
1938
1939
1940
1941
1942
1943
1944
1945
1946
1947
1948
1949
1950
1951
1952
1953
1954
1955
1956
1957
1958
1959
1960
1961
1962
1963
1964
1965
1966
1967
1968
1969
1970
1971
1972
1973
1974
1975
1976
1977
1978
1979
1980
1981
1982
1983
1984
1985
1986
1987
1988
1989
1990
1991
1992
1993
1994
1995
1996
1997
1998
1999
2000
2001
2002
2003
2004
2005
2006
2007
2008
2009
2010
2011
2012
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019
2020
2021
2022
2023
2024
2025

MAY 18 1871

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK UTRECHT



3495 9043

Diss. Utrecht 1939

KIEMPLANTENZIEKTEN VAN CONIFEREN

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. TH. M. VAN LEEUWEN, HOOGLEERAAR
IN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE,
VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER
UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN
VAN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUUR-
KUNDE TE VERDEDIGEN OP MAANDAG 23
JANUARI 1939 DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

JOHAN GERARD TEN HOUTEN
A. THzn.

GEBOREN TE WINTERSWIJK

DRUKKERIJ J. VAN BOEKHOVEN — UTRECHT — AMSTERDAM

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

4004-0040

AAN DE NAGEDACHTENIS VAN MIJN OUDERS
AAN MIJN VROUW
AAN MIJN Z O O N

VOORWOORD.

Bij het beëindigen van dit proefschrift denk ik in de eerste plaats met groote dankbaarheid aan wijlen mijn vader, Mr. A. Th. ten Houten, die mij vanaf mijn prilste jeugd in aanraking bracht met de bijzondere schoonheid van het Winterswijksche land. Zijn groote kennis van de natuur in al haar geledingen, waarvan ik op onze wekelijksche wandelingen steeds weer profiteerde, maakte mij reeds vroeg met de plant- en dierkunde vertrouwd, zoodat ik zonder aarzeling met de studie in de biologie aan de Utrechtsche Universiteit kon beginnen. Helaas mocht mijn vader het beëindigen van die studie niet meer beleven.

De belangstelling, die mijn tweede moeder steeds voor het verloop van mijn studie had en de financieele steun, die zij mij tijdens mijn promotiewerk zoo spontaan gaf, vervullen mij met groote erkentelijkheid jegens haar.

U, Hooggeleerde Pulle, Koningsberger en Jordan dank ik voor alles wat ik van Uw colleges, practica en excursies mocht leeren.

Ook het vele dat ik van de inmiddels overleden hoogleeraren Went en Nierstrasz mocht leeren, droeg zeer bij tot mijn biologische vorming.

U, Hooggeleerde Rutten, Kruyt en Moll dank ik voor Uw propaedeutische colleges. Weledelgestrenge Florschütz, U hebt mij ingeleid in de interessante pollenanalytische problemen, waarvoor ik U ook op deze plaats nog eens dank zeg.

Hooggeleerde Westerdijk, Hooggeachte Promotor, de periode, die ik in Uw laboratorium doorbracht, was ongetwijfeld de prettigste van mijn studententijd. Niet alleen door de groote belangstelling, die U steeds voor mijn werk had en de waardevolle adviezen die U mij daarbij gaf, maar vooral ook door Uw hartelijk medeleven met de ups en downs in mijn particuliere leven werd het onder Uw leiding werken tot iets zeer bijzonders.

Zeer geachte van Luijk, Uw vindingrijkheid en groote mycologische kennis hebben er in hooge mate toe bijgedragen, dat ik in staat was mijn

proefschrift in betrekkelijk korte tijd te voltooien. Ook voor Uw groote hulpvaardigheid bij het determineren van de lastige Pythiaceae dank ik U zeer.

Zeergeachte van Beyma thoe Kingma, voor Uw bereidwilligheid om vele van de in deze dissertatie genoemde schimmels te determineren ben ik U veel dank verschuldigd.

Zeergeachte van Dissel, U dank ik voor Uw bereidwilligheid, de laatste paragraaf van dit proefschrift door te willen zien.

De medewerking, welke ik van verschillende houtvesters van het Staatsboschbeheer ondervond was voor mijn onderzoek van groot belang. Een woord van dank aan U allen, in het bijzonder aan U, Zeergeleerde de Hoogh.

Veel dank ben ik ook verschuldigd aan U, Weledelgestrenghe Bonnema, Weledelgestrenghe Burdet, Zeergeachte Vogelenzang en Zeergeachte Duinker voor het beschikbaar stellen van gedeelten van de onder Uw beheer staande terreinen, voor het zenden van grond, en voor de vele waardevolle gegevens die U mij verstrekte.

De Heeren de Bie en Hijink dank ik voor het bezichtigen van hun kweekrijen.

Ik behoef U, Mejuffrouw Goossen, wel nauwelijks te verzekeren, hoe erkentelijk ik U ben voor het typen van het manuscript.

Mijn vrouw en collega wil ik ook op deze plaats nog eens hartelijk bedanken voor haar voortdurende interesse in mijn werk en de groote hulp die zij mij bij de samenstelling van dit proefschrift heeft verleend.

U, waarde Veenendaal en Kiljan, dank ik voor de hulp bij de voorbereiding van mijn proeven steeds van U ondervonden.

Allen, die hier niet met name genoemd zijn, maar die op eenigerlei wijze aan het tot stand komen van dit proefschrift hebben meegewerkt, dank ik eveneens.

Het Bestuur van het laboratorium „Willie Commelin Scholten” zeg ik dank voor de gastvrijheid, welke ik in dit laboratorium heb genoten.

Het Dagelijksch Bestuur van de Vereeniging tot Behoud van Natuurmonumenten in Nederland, en in het bijzonder haar Voorzitter, Mr. P. G. van Tienhoven, ben ik zeer erkentelijk voor het feit, dat het mij mogelijk werd gemaakt, vóór mijn indiensttreding bij genoemde Vereeniging, mijn proeven af te sluiten.

INHOUD.

Inleiding	11
Hoofdstuk I.	
Ziekteverschijnselen en algemeene literatuur.	
§ 1. Beschrijving van de ziekteverschijnselen	13
§ 2. Algemeene literatuur.....	16
Hoofdstuk II.	
Voorkomen van kiemplantenziekten in de praktijk in Nederland en analyse van deze ziektegevallen	21
Hoofdstuk III.	
Infectieproeven.	
§ 1. Algemeene beschouwingen	31
§ 2. Zaaddesinfectie	33
§ 3. Infectieproeven in reïncultuur.....	37
§ 4. Proeven om de invloed van de voeding op de virulentie van de parasiet te bepalen	46
§ 5. Proeven met verschillende grondsoorten en verschillende zaadbehandelingen	55
§ 6. Proeven over antagonisme.....	71
§ 7. Beschrijving van de ziektesymptomen door verschillende schimmels teweeggebracht	77
Hoofdstuk IV.	
Praktijkproeven.	
§ 1. Zaaitijd	97
§ 2. Invloed van de uitwendige omstandigheden op de infectie	104
a. Behandeling van de zaaibedden	107
b. Behandeling van het zaad	113
§ 3. Conclusies voor de praktijk.....	115
Summary	120
Literatuur	124

INLEIDING.

Het voorkomen van kiemplantenziekten van coniferen is in ons land reeds geruime tijd bekend. Zoo schreef de Koning (1927, 2) ter inleiding van een uitvoerig referaat van Belgische onderzoekingen op dit gebied:

„Er is een verschijnsel in onze kweekkerijen, en ook daarbuiten, waar menig houtteler mee verlegen zit en dat vooral sedert eenige jaren beteekenis heeft gekregen, nu niet alleen in de kweekkerij, maar ook buiten op de ontginningen, soms van zaaiing inplaats van planting wordt gebruik gemaakt. Het is een geleidelijk omvallen (omrotten zou men het kunnen noemen) van dennen-kiemplanten en van 1-jarig loofhout”

Verder deelt de Koning geen bijzonderheden, die op deze ziekten in ons land betrekking hebben, mee. In de phytopathologische literatuur worden wel schimmelsoorten als oorzaak genoemd. Een nauwkeurig onderzoek naar de schimmelsoorten, die in Nederland het omvallen van de zaailingen veroorzaken, is echter niet gedaan.

De eenige isolatieproeven die in Nederland worden vermeld, zijn die van de Plantenziektenkundige Dienst te Wageningen (1930), waarop ik in Hoofdstuk I nader terugkom.

Het leek mij, gezien de weinige gegevens, die over deze ziekten tot nu toe in ons land gepubliceerd werden, van belang na te gaan, in welke mate kiemplantenziekten van naaldhoutsoorten in de praktijk in Nederland voorkomen, en welke de oorzaken van die ziekten zijn. Daartoe werd een microscopische studie van zieke worteltjes gemaakt en werden zooveel mogelijk schimmels van zieke plantendeelen geïsoleerd. Met de aldus verkregen schimmels werden infectieproeven in reincultuur genomen, waarna door nauwkeurige waarnemingen een analyse van de door iedere fungus veroorzaakte ziektesymptomen gegeven kon worden.

Voor het verrichten van proeven in reincultuur is het noodzakelijk,

dat de zaden vrij van schimmels zijn, waartoe zaaddesinfectieproeven werden gedaan.

In de praktijk gebruikt men zeer uiteenlopende grondsoorten voor de zaaibedden, zoodat het noodig was vergelijkende proeven met die grondsoorten te doen, waardoor zooals zal blijken, merkwaardige verschillen aan het licht kwamen. Tenslotte werd de invloed van bodemdesinfectie, van zaaibedbehandeling, van zaaitijd, van zaaddesinfectie in de praktijk en van de aanwezigheid van saprophytische bodemschimmels, op het verloop van de aantasting nader onderzocht.

HOOFDSTUK I.

ZIEKTEVERSCIJNSELEN EN ALGEMEENE LITERATUUR.

§ 1. Beschrijving van de ziekteverschijnselen.

Hier worden alleen die aantastingen behandeld, die in de eerste maanden na de zaadkieming optreden, en ik begin met een beschrijving van de meest opvallende ziekte, **de omvalziekte** („damping-off”, „Umfallkrankheit”, „normaler Wurzelbrand”, „la fonte des semis”). Zooals uit de benaming al blijkt, is het omvallen van de plantjes het meest opvallende ziekteverschijnsel. De gezonde, roodachtige stengelbasis verkleurt onder invloed van parasitaire schimmels vlak boven de grond okergeel, bruin, bruinviolet, of grijsgroen, snoert in, de weefsels van dat gedeelte sterven en de plant valt om. Het rottingsproces gaat dan verder, zoodat na enkele dagen of weken — afhankelijk van de weersomstandigheden — van de kiemplant slechts met moeite iets is terug te vinden. In sommige gevallen begint de aantasting met wortelbrand en het omvallen vindt plaats, zoodra het wortelrot op de stengelbasis is overgegaan; maar in andere gevallen wordt de plant direct aan de wortelhals of stengelbasis aangetast, zonder dat er voorafgaande wortelbrand ontstaat. In het laatste geval gaat de rotting pas op de wortel over, nadat de plant is omgevallen (zie hoofdstuk III, § 7). Bij microscopisch onderzoek blijken de zieke wortels dikwijls opgevuld te zijn met schimmelhyphen; in enkele gevallen komen er ook talrijke vruchtlichamen in voor.

Een gedeelte van de schimmels die de omvalziekte veroorzaken, tast de pas gekiemde radricula zoo sterk aan, dat de zaden de oppervlakte niet bereiken, zoodat schijnbaar een slechte kieming optreedt. Dit stadium heet **kiemingsverlies** („germination loss”, „pre-emergence damping-off”, „Keimverlust”, „früher Wurzelbrand”, „perte à la germination”). In de praktijk valt alleen een slechte kieming op. Ten onrechte wordt meestal door de kweekers aan de kwaliteit van het zaad de schuld gegeven.

Een derde type van aantasting zou ik **topnecrose** („topdamping”, „fonte des extrémités extérieures”) willen noemen. Dit is een aantasting, die vanaf de zaadhuid op de cotylen overgaat en deze licht- tot donkerbruin kleurt en meestal doodt. Het ziekteproces verloopt in de regel zoo langzaam, dat inmiddels de zich in het centrum van de cotylenbundel bevindende naalden ontwikkeld zijn om de assimileerende functie over te nemen. Deze zaailingen blijven in ontwikkeling achter bij de gezonde exemplaren, en het gebeurt ook, dat de heele plant bezwijkt, n.l. als het rot ook op de stengel is overgegaan. In sommige gevallen is de aantasting al begonnen als zaad en cotylen nog onder de bodemoppervlakte zijn en dan is zij door bodemschimmels veroorzaakt. In andere gevallen zijn het zaadparasieten of schimmels die via de lucht op de cotylen terecht komen, welke de weefsels doodden.

Als laatste vorm van aantasting door schimmels noem ik de **late wortelbrand** („late damping-off”, „später Wurzelbrand”, „fonte tardives des semis”, zie foto tegenover pag. 16). Deze treedt op nadat de planten eenigszins verhout zijn en de schors van de stengels reeds is gerimpeld, d. w. z. vanaf ruim 2 maanden na de kieming. Zij wordt veroorzaakt door een deel van de parasieten, die ook de omvalziekte teweegbrengen (zie hoofdstuk II, pag. 26). Aan de bovenaardsche deelen is de aantasting meestal te zien doordat de planten klein blijven vergeleken bij de gezonde exemplaren en eenigszins gelig verkleurde naalden hebben. In de ergste gevallen kleurt de heele plant bruin en verdroogt zonder daarna om te vallen; zooals Roth (1935) terecht opmerkte, treedt dit stadium pas in herfst of winter op. De wortels worden dan volledig verwoest. Ook bij de minder zieke exemplaren is de normaliter zeer lange hoofdwortel op 3—11 cm onder de bodemoppervlakte weggerot. Maar nu nemen zijwortels de functie over, waarbij de top van die zijwortels dikwijls spoedig te gronde gaat. Dan treedt opnieuw zijwortelvorming op, zoodat tenslotte een sterk vertakt wortelstelsel kan ontstaan.

Naast deze door parasitaire fungi veroorzaakte aantastingen kunnen op de zaai-bedden beschadigingen optreden onder invloed van ongunstige klimatologische factoren en door verschillende dieren. Ter vergelijking met de schimmelziekten volgen zij hier.

Een **excessieve verhitting van de bodemoppervlakte** door de zon (Hartley, 1921) kan beschadiging van de kiemplantenweefsels in de bovenste aardlaag geven,

waardoor een basale verkleuring van de stengel ontstaat, gevolgd door insnoering en het omvallen van de zaailingen. Deze aantasting komt overeen met de door parasitaire fungi veroorzaakte omvalziekte.

Volgens Hartley treedt deze hittebeschadiging vooral op op zaaibedden met een losse oppervlaktelaag, welke gemakkelijk uitdroogt en waar geen beschaduwing aanwezig is. Hartley noemt ter onderscheiding van parasitaire omvalziekte, dat hittebeschadiging gelijkmatig over het zaaibed is verdeeld terwijl parasitaire omvalziekte steeds pleksgewijze optreedt. Van hittebeschadiging heb ik in onze kweekerijen nooit iets gevonden. Ook Roth (1935, pag. 104) geeft op, dat hittebeschadiging, althans in het jaargetijde waarin kiemplanten gevaar lopen door parasitaire schimmels aangetast te worden (Mei, Juni), waarschijnlijk niet voorkomt in Zwitserland. Mij lijkt deze hittebeschadiging alleen van belang voor landen met een echt vastelandsklimaat zooals dus ook O. Noord-Amerika. Dat verschillende kweekers, ook in ons land, het omvallen van kiemplanten aan hitte wijten is daaraan toe te schrijven, dat de aantasting door parasieten vooral tijdens en direct na een warme periode heel opvallend is.

Hevige wind, gepaard met **slagregens** of **hagelbuien** kan soms schade berokkenen. Dat bleek o.a. op de open gelegen zaaibedden van een kweekerij in Noord-Brabant, na de storm van 30 Mei 1938. Zeker 10 % van de eenige weken oude zaailingen van *Pinus silvestris* en *Pinus nigra austriaca* waren afgebroken. Het verschil met de parasitaire omvalziekte was in dit geval heel duidelijk, in de eerste plaats doordat de afgeknapte zaailingen allen ongeveer in dezelfde richting lagen en verder doordat de plantjes een scherp breukvlak vertoonden, ongeveer $\frac{1}{2}$ cm boven de grond. Deze verschijnselen treden nooit op bij parasitaire omvalziekten.

Vogels, muizen en insecten kunnen soms groote verwoestingen in de zaaibedden aanrichten. Het is niet steeds gemakkelijk om uit te maken wie de schuldigen zijn, maar vogelvraat werd o.a. met zekerheid geconstateerd in de laboratoriumtuin. Zij hebben het vooral op het aan de top van de kiemplant aanwezige zaad begrepen, waarbij een belangrijk deel van de krans van cotylen wordt meegenomen. In vele gevallen wordt deze zelfs geheel afgepikt, zoodat slechts een kort stengelstompje overblijft, dat na eenige tijd te gronde gaat. Ook vindt men bij vogelvraat steeds uit de grond getrokken kiemplanten. Het is afdoende om de zaaibedden met vischnetten te bedekken. Deze laat men het beste op een houten geraamte rusten, waarvan de zijkanen met fijn gaas worden afgezet. Een hoogte van 30 à 40 cm boven de grond is voldoende. **Muizenvraat** kan zoo ernstig zijn, dat van het zaaisel vrijwel niets terecht komt. Dat bleek mij o.a. op een proefveld, aangelegd in het Bikbergerbosch (Gooi), waar van de duizenden gemene zaden slechts een enkele gespaard bleef. De zaaibedden werden in dit geval omgewoeld voordat de zaden gekiemd waren, maar ook later trad vraat op, die hetzelfde beeld vertoonde als vogelvraat, zonder dat ik evenwel uit de grond getrokken kiemplanten tegenkwam (zie Steven, 1928).

Onder de **insecten** komen verschillende schadelijke soorten voor; met zekerheid kon ik vraat van *Agrotis*-soorten o.a. *Agrotis segetum* Schiff. vaststellen. Deze aardrupsen eten 's nachts van de bovenaardsche deelen en trekken overdag de planten naar beneden. De aangerichte schade was in de gevallen welke ik waarnam niet groot; ook Anderson (1930) die *Agrotis*-vraat constateerde vermeldt, dat het verlies dat aardrupsen geven slechts gering is vergeleken bij dat door „damping-off” veroorzaakt.

Steven (1928) noemt eveneens *Agrotis* schadelijk voor de zaaibedden, maar hij zag veel ernstiger verliezen door keverlarven (*Serica brunnea*, *Rhizotrogus solstitialis* en *Melolontha melolontha (vulgaris)*).

Roth (1935) vermeldt Tipuliden-larven als gevaarlijke belagers van kiemplanten, waarbij hij vooral wijst op *Tipula crocata* L., die tegenwoordig *Pachyrhina crocata* L. heet. De verschijnselen van vraat komen geheel overeen met die voor vogels opgegeven. Het is hoogstwaarschijnlijk, dat de schade op de met grof kippengaas afgesloten zaaibedden in Nunspeet eveneens aan deze soort moet worden toegeschreven, want in Mededeeling No. 66 van de Plantenziektenkundige Dienst (1932) wordt vermeld, dat *Pachyrhina crocata* L. schadelijk was voor coniferenzaailingen te Nunspeet.

Tenslotte vond ik, dat ook een slak, *Agriolimax reticulatus* (Müll.) zeer jonge kiemplanten aan de basis door kan raspen, zonder evenwel op de zaaibedden noemenswaardige schade te veroorzaken. Ir. W. Burdet deelde mij mede, dat ook hij destijds in Wageningen slakkenvraat aan coniferenkiemplanten had waargenomen.

§ 2. Algemeene literatuur.

Er bestaat een buitengewoon groot aantal publicaties over kiemplantenziekten van coniferen en vooral over de omvalziekte. Na een periode, waarin uitsluitend, vooral in Duitschland aan het einde van de vorige eeuw, de ziektesymptomen en de geïsoleerde schimmels werden beschreven, volgt een tijd, waarin ook aan infectie-proeven en aan de bestrijding van de ziekte de noodige aandacht wordt besteed; vooral Amerikanen verrichtten hier baanbrekend werk. Een overzicht over de literatuur tot 1921 geeft Hartley (1921), terwijl de Zwitser Roth (1935) ook de voornaamste na die tijd gepubliceerde onderzoekingen refereert. Volgens Hartley was de eerste die een opmerking over de omvalziekte maakte en daarbij aan een parasitaire schimmel dacht von Burgsdorf in 1783 in Duitschland. Hartig (1883, 1889, 1900) gaf voor het eerst een uitvoerige beschrijving van kiemplantenziekten van coniferen en zijn publicaties werden door een reeks andere gevolgd, vooral van Büttner (1903), Neger en Büttner (1907). Al deze onderzoekingen betreffen aantastingen op zaaibedden in Duitschland. Roth (1935) geeft een goed overzicht over het voorkomen van kiemplantenziekten van coniferen in andere Europeesche landen. De meeste van die publicaties benevens enkele niet door Roth genoemde zijn door mij geraadpleegd. Schade, veroorzaakt door schimmels in coniferenzaaibedden, wordt opgegeven voor Rusland (Dounin en Goldmacher, 1926), Noorwegen (Jørstad, 1925), Zweden (Lindfors, 1922), Denemarken (Rostrup, 1895), Duitschland (behalve de reeds genoemde: Burchard, 1929), Engeland (Steven, 1928; Anderson, 1930), Ierland

Foto 1a.

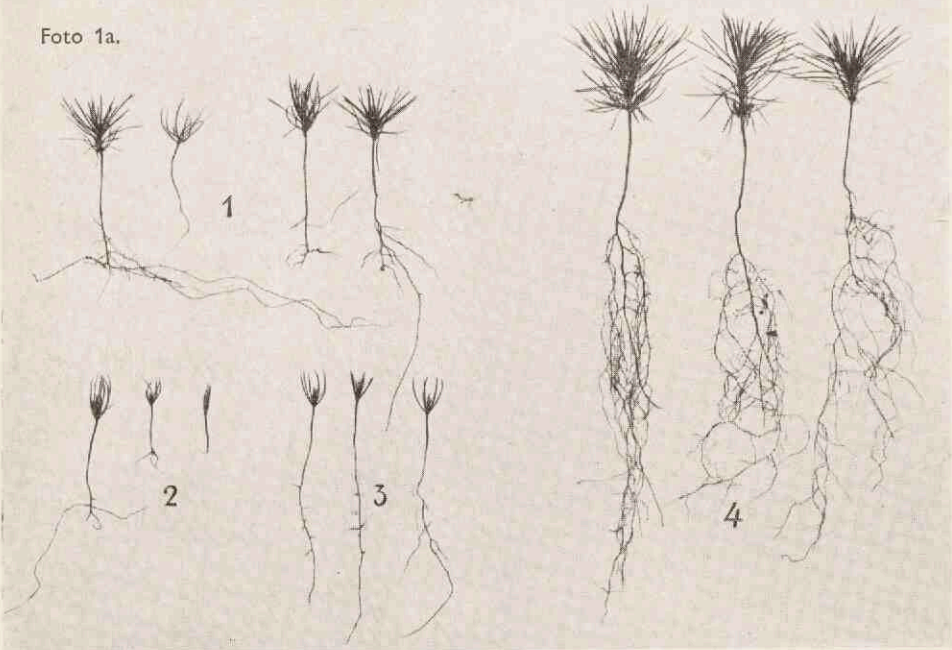
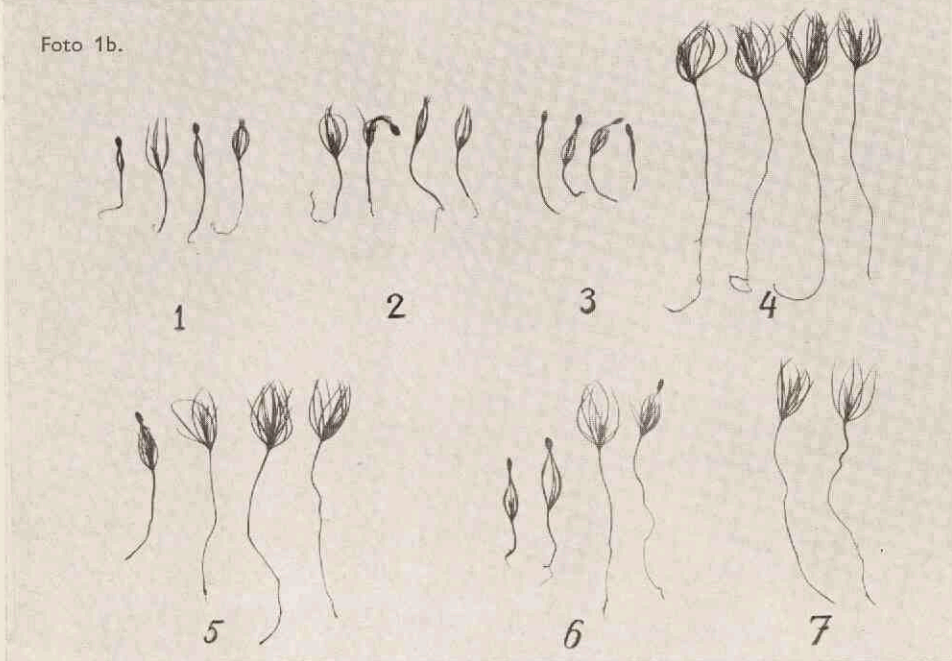


Foto 1b.



1a. Late wortelbrand bij *Pinus silvestris*. 1. aangetaste planten (5 maand oud); 2. aangetaste planten ($2\frac{1}{2}$ maand oud); 3. gezonde planten ($2\frac{1}{2}$ maand oud); 4. gezonde planten (5 maand oud). Alle planten waren afkomstig van een zaai-bed in de laboratoriumtuin.

1b. Aantasting van $2\frac{1}{2}$ maand oude kiemplanten van *Pinus silvestris* in reïncultuur in tuinaarde, veroorzaakt door: 1. *Pythium intermedium* stam 1; 2. *P. torulosum* (?) stam Pinus; 3. *Cylindrocarpon didymum* stam 1; 4. *Fusarium culmorum*, niet aangetaste exemplaren; 5. *Trichoderma lignorum*; 6. *Alternaria tenuis*, links twee aangetaste, rechts twee gezonde plantjes; 7. Contrôlè-planten.

(Muskett, 1929), België (Delevoy, 1926, 1927), Zwitserland (Schellenberg, 1905; Roth, 1935), Bulgarije (Christoff, 1933), Italië, (Petri, 1924; Sibilis, 1928).

Kiemplantenziekten van coniferen werden in Amerika het eerst gerapporteerd door Duggar and Stewart (1901), en daarna volgden de uitstekende onderzoekingen van Spaulding (1907, 1914), Hartley (1910, 1921), Gifford (1911) en verder van Hartley, Merrill en Rhoads (1918), Rathbun (1922, 1923), Rathbun—Gravatt (1925, 1931) e.a. Uit de Amerikaansche literatuur blijkt dat kiemplantenziekten van coniferen over geheel Noord-Amerika voorkomen. Voor Zuid-Afrika vermeldde Laughton (1937) het voorkomen van omvalziekte voor zaailingen van *Pinus radiata* en *P. pinaster*.

In de oudere Europeesche literatuur zijn het steeds ongeveer dezelfde schimmels die als vermoedelijke oorzaak voor de omvalziekte worden opgegeven, n.l. *Phytophthora omnivora* de Bary (het eerst in 1883 door Hartig op zieke coniferenkiemplanten gevonden) en *Fusarium*-soorten. Hartig (1900) geeft op, dat hij eenmaal *Rhizoctonia violacea* Tul. van coniferen-kiemplantjes heeft geïsoleerd. Steven (1928) noemt voor Engeland en Delevoy (1926) voor België isolaties van *Fusarium* en *Rhizoctonia*. Burchard (1929) vond een nieuwe schimmel, die hij *Moniliopsis Klebahnii* Burch. noemt, als oorzaak van coniferen-kiemplantenziekten. Jørstad (1925) vermeldt dat hij enkele malen *Fusarium* spp., *Pythium de Baryanum* en *Rhizoctonia solani* van zieke coniferen-kiemplanten isoleerde, terwijl *Phytophthora omnivora* éénmaal werd aangetroffen. Infectieproeven werden niet genomen.

Christoff (1933) en Roth (1935) vonden naast *Fusarium*-soorten en *Rhizoctonia solani*, *Pythium de Baryanum* als parasiet. Merkwaardig is het, dat zoowel *Pythium de Baryanum* als *Rhizoctonia solani*, die reeds sinds de laatste helft van de vorige eeuw in Duitschland als wortelparasieten van andere planten bekend waren, daar nooit (de eene *Rhizoctonia*-isolatie van Hartig uitgezonderd) van zieke coniferenwortels geïsoleerd werden. In de U.S.A. hadden Duggar and Stewart reeds in 1901 op het voorkomen van *Rhizoctonia* op zieke coniferenzaailingen gewezen; in 1910 bracht Hartley zoowel *Fusarium* spp. als *Rhizoctonia* en *Pythium de Baryanum* in verband met de omvalziekte.

Spaulding (1907) vond aanvankelijk alleen *Fusarium*-soorten, maar door Hartley's publicatie (1910) daarop opmerkzaam gemaakt gelukte het hem ook *Pythium de Baryanum* en *Rhizoctonia* sp. te isoleren (1914).

Gifford (1911) kon alleen *Fusarium*-soorten vinden, die blijkens zijn zorgvuldig uitgevoerde infectieproeven zeer parasitair waren. Hartley (1921) deed ook een reeks infectieproeven met een *Phytophthora* sp. waarbij duidelijk aantasting optrad, al was de werking van *Corticium vagum* (= *Rhizoctonia solani*) en *Pythium de Baryanum* veel destructiever. Later geven Crandall (1936) en Crandall en Hartley (1938) voor coniferen in Amerika een parasitaire *Phytophthora* op, eerst *P. cambivora* (1936) later *P. cactorum*, welke volgens de auteurs identiek zijn met de door Hartig (1883) opgegeven *Phytophthora omnivora* (= *P. fagi*).

Toch was het parasitisme van de meeste isolaties slechts gering; alleen met een door Pierce van *Pinus resinosa* geïsoleerde *Phytophthora* — die hij *P. pini* noemt — trad een zeer hevige aantasting op. In Zuid-Afrika werd onlangs (1937) door Laughton van zieke *Pinus*-kiemplanten een niet nader gedetermineerde *Rhizoctonia* sp. geïsoleerd.

In de Nederlandsche boschbouwliteratuur wordt terloops op het voorkomen van kiemplantenziekten gewezen. Zoo vermeldt de Hoogh (1924) het voorkomen van *Botrytis*-aantasting van bovenaardsche deelen bij eenjarige douglasplanten. Ook *Armillaria mellea* en *Phytophthora omnivora* worden opgegeven zonder dat blijkt dat deze beide soorten van ziek materiaal geïsoleerd werden. De Plantenziektenkundige Dienst (1930) noemt aantastingen van kiemplanten van lariks, grove den en fijnspar. Van de zieke wortels werden *Rhizoctonia solani* en een *Phycomycete*, waarvan zij vermoedden dat het *Phytophthora omnivora* was, maar die naar de beschrijving even goed een *Pythium* geweest kan zijn, geïsoleerd.

Later (1938) vermeldt de Hoogh hevige beschadiging van eenjarige verplante douglasplanten, welke hij aan insectenvraat toeschrijft, evenwel zonder insecten te kunnen vinden. Ik vond de door de Hoogh beschreven symptomen (het rondom afgevreten zijn van de schors even onder de oppervlakte) aan eenjarige onverspeende douglas waarbij een aardrups (*Agrotis*) de oorzaak van de beschadiging was. Stoffel (1938) wijst naar aanleiding van de publicatie van de Hoogh op het afsterven van veel douglaskiemplanten op het zaaibed, ook vóór verspening, terwijl de andere minder aangetaste planten er door heen groeien. Omtrent de oorzaak tast hij in het duister. Uit zijn vrij uitvoerige beschrijving kreeg ik de indruk dat wij hier te maken hebben met een geval van late wortelbrand, zoodat dan de door de Hoogh en de door Stoffel gerapporteerde ziektegevallen van geheel verschillende aard zijn, al beschouwt

de laatste de aantastingen in beide gevallen als identiek. Van Dissel en Malsch (1931) deelden in een verslag betreffende een studiereis naar Engeland mede, dat de jonge in April gezaaide kiemplanten van coniferen in Juni verspeend werden, omdat anders de planten meestal door „damping-off” afstierven. Zij vermeldden, dat het verschijnsel in Engeland werd toegeschreven aan *Phytophthora*, *Pestalozzia* of *Fusoma* (= *Fusarium*). Hieruit zien wij mijns inziens, dat men over het algemeen in ons land alleen de oudere en vooral de Deutsche literatuur over dit onderwerp kent, zooals deze steeds in de leerboeken werd overgenomen.

Vatten we de resultaten van alle onderzoekingen samen dan blijkt, dat in de meeste Europeesche landen waar de omvalziekte werd beschreven *Fusarium*-soorten als de hoofdoorzaak worden beschouwd (Rusland, Zweden, Denemarken, Engeland, Duitschland en Italië). In de oudere Deutsche literatuur komt daarnaast *Phytophthora omnivora* voor, terwijl in één Engelsche publicatie (Steven, 1928) naast *Fusarium* spp. *Rhizoctonia* wordt genoemd. Intusschen zij opgemerkt, dat *Phytophthora omnivora* is gebleken een verzamelnaam te zijn voor *P. cactorum*, *P. fagi*, e. a.

Ook in België (Delevoy, 1926) werden *Fusarium* spp. en *Rhizoctonia solani* gevonden. Alleen voor Noorwegen (Jørstad, 1925), Zwitserland (Roth, 1935) en Bulgarije (Christoff, 1933) worden zoowel *Pythium de Baryanum*, *Rhizoctonia solani* als *Fusarium*-soorten opgegeven. De Amerikaansche literatuur vermeldt als voornaamste parasieten *Pythium de Baryanum* en *Rhizoctonia solani* (Hartley, 1921) terwijl daarnaast vele *Fusarium* spp. werden gevonden (Gifford, 1911; Hartley, 1910, 1921; Spaulding, 1907, 1914; Hansen, c.s., 1923; e.a.). In een enkel geval is ook *Phytophthora cactorum* parasitair (Crandall en Hartley, 1938). Volgens Hartley moet het ontbreken van opgaven van *Pythium de Baryanum* en *Rhizoctonia solani* in de Deutsche literatuur waarschijnlijk geweten worden aan het betrekkelijk kleine aantal werkelijk uitgebreide onderzoekingen dat daar verricht werd. Uit de uitgebreide infectieproeven van verschillende Amerikanen, vooral van Hartley en zijn medewerkers, blijkt heel duidelijk, dat *Pythium de Baryanum* en *Rhizoctonia solani* wat de pathogeniteit betreft veel belangrijker zijn dan de *Fusarium*-soorten, waarbij de virulentie zeer sterk uiteenloopt. Waarschijnlijk heeft Roth (1935) gelijk als hij beweert, dat *Pythium de Baryanum* en *Rhizoctonia solani*, doordat ze niet zoo gemakkelijk te isoleeren en te herkennen zijn, door de meeste Europeesche onderzoekers over het hoofd werden gezien. Zeker is, dat ik aanvankelijk ook groote moeite

had *Rhizoctonia* en *Pythium* te isoleren, terwijl uit de in de volgende hoofdstukken te behandelen proeven duidelijk hun meestal grootere pathogeniteit, vergeleken met de vele gemakkelijk te isoleren *Fusarium*-soorten zal blijken.

Ten slotte noemt de Amerikaansche literatuur nog enkele andere fungi, die soms parasitair kunnen zijn. Hiervan is ongetwijfeld *Botrytis cinerea* Pers. de voornaamste (Hartley, 1921; Rathbun—Gravatt, 1925), hoewel deze schimmel volgens Rathbun—Gravatt slechts in enkele gevallen van coniferenzaailingen werd geïsoleerd.

In Europa wordt deze *Botrytis* als parasiet van coniferenzaailingen, vooral van douglasspar, opgegeven door de Hoogh (1924) en Muskett (1929).

Spaulding (1907) geeft *Pestalozzia funerea* op als parasiet, maar uit de stam-inoculatieproeven van Rathbun-Gravatt krijgt men de indruk, dat het parasitisme van deze schimmel minimaal is. Hartley (1921) noemt *Alternaria* sp., welke vaak op zieke coniferenkiemplanten is gevonden, maar waarmee nooit infectieproeven zijn genomen. Verder wijst deze auteur op de mogelijkheid, dat er nog verschillende en misschien zelfs belangrijke parasieten kunnen zijn, die nog niet gevonden werden.

Uit bovenstaande literatuur blijkt, dat bijna alle coniferen onder bepaalde omstandigheden aan kiemplantenziekten kunnen lijden; alleen de Cupressoideae zijn er vrijwel immuun voor (Hartley, 1921; Delevoy, 1927).

HOOFDSTUK II.

VOORKOMEN VAN KIEMPLANTENZIEKTEN IN DE PRAKTIJK IN NEDERLAND EN ANALYSE VAN DEZE ZIEKTEGEVALLEN.

De volgende kwekerijen en bezaaiingen werden op het voorkomen van kiemplantenziekten onderzocht: een handelskwekerij in Noord-Brabant; een handelskwekerij in Gelderland; de kwekerij van het Staatsboschbeheer te Drie (Gemeente Ermelo); de kwekerij van Middachten te de Steeg; de kwekerijen van het Provinciaal Waterleidingbedrijf van Noordholland te Bakkum en Egmond; de bezaaiing van het terrein Middelhart bij Nunspeet; enkele zaaibedden in de tuin van het Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten” te Baarn.

1. De **handelskwekerij in Noord-Brabant** bezat een groote oppervlakte coniferenzaaibedden, vooral van *Pinus silvestris*, *Pseudotsuga Douglasii* en *Pinus nigra austriaca* en verder ook zaaibedden van *Abies* spp., *Cedrus* spp., *Juniperus* spp. e. a.

De kwekerij ligt op een open terrein, zonder schaduw of windbeschutting en heeft een humeuze, zwarte zandbodem (oud bouwland). Eenmaal per jaar wordt een bemesting met stalmest toegediend, gegoten wordt er nooit. De zaden van *Pinus*-soorten worden gemenied, die van *Abies* en *Cedrus* species en van *Pseudotsuga* niet, omdat de laatsten veel harsen en terpentijn bevatten, waardoor de vogels ze toch niet eten. Vroeger gebruikte men als hechtmiddel voor de menie melk, maar sinds men de ervaring heeft opgedaan, dat vogels niet van terpentijn houden, worden de zaden losjes met wat van die vloeistof besprenkeld en daarna flink met meniepoeder geschud, waardoor dit prachtig hecht en volgens de kweker blijven de vogels nu nog beter van de zaden af. Het zaad wordt lang voorgeweekt en na voorkieming gezaaid, waarna het met een dunne bodemlaag wordt bedekt.

De aantasting van kiemplanten bleek op 1 Juni 1938 het sterkst te zijn bij de *Cedrus*-soorten: van *C. deodara* en *C. libani* was $\pm 50\%$ ziek,

C. atlantica had 40% aantasting. Deze soorten hebben zeer forsche, dikke en sappige kiemplanten. De zieke planten vertoonen donkerbruine, natrotte wortels, waarvan bij het uit de grond nemen alleen de centrale cylinder als een draadje blijft zitten. De stengelbasis is grijsgroen gekleurd en de planten hangen meestal scheef in verschillende richtingen, zonder heelemaal om te vallen. Dat gebeurt later wél, als de wortelrotting tot de wortelhals doordringt en deze insnoert. In het laboratorium werd van een reeks zieke planten de wortelhals, dus juist een stuk ziek en een stuk gezond weefsel, uitgelegd in petrischalen met een vaste 2% agar-laag. Een gedeelte van de aldus uitgelegde stukjes werd vooraf even in een 4% formol-oplossing ondergedompeld, in steriel water nagespoeld en tusschen steriel filtreerpapier gedroogd. De rest kwam zonder voorbehandeling op de 2% agar-bodem te liggen. Uit alle zieke planten groeide *Pythium de Baryanum* var. *pelargonii* Braun, terwijl uit één plantje bovendien een *Fusarium* werd geïsoleerd.

Bij de andere soorten was de aantasting veel minder hevig; toch had douglas nog 20% omval, *Pinus nigra austriaca* 10% en *Pinus silvestris* 5%.

De storm van 30 Mei 1938 had nogal veel schade aangericht op alle zaaibedden. De door de wind afgebroken planten waren gemakkelijk van planten met omvalziekte te onderscheiden, want bij windschade bleken de wortels overal gezond en waren de planten volgens een scherp breukvlak omgeknakt (zie Hoofdstuk I).

2. In de **handelskwekerij in Gelderland** lagen zaaibedden van douglas en *Larix leptolepis*. De laatste begon juist te kiemen (10 Juni 1938), zoodat van aantasting nog niets was te zien. Deze kwekerij ligt op oud bouwland en heeft een zwarte humeuze zandbodem. Het douglaszaad was gestratificeerd en voorgekiemd en in April gezaaid. Het zaad werd bedekt met een laagje heizand ter verbetering van de oppervlakte-structuur van de bodem (tegen het „dichtslaan”). Op de douglasbedden was $\pm 10\%$ van de planten omgevallen, maar het aantastingsstadium was voorbij, zoodat de meeste zieke plantjes al volkomen verdroogd waren. Uit het minder ver vergane materiaal werden in het laboratorium geïsoleerd *Fusarium* sp., *Phycomyces*, *Trichocladium asperum*.

3. **Kwekerij Staatsboschbeheer te Drie**, bezocht in Juni 1937. Deze kwekerij bestaat eigenlijk uit twee aan elkaar grenzende gedeelten, n.l. een open veld — de eigenlijke kwekerij — en daarnaast een gedeel-

telijk gekapt 46-jarig bosch, waar de overgebleven boomen ongeveer 10 meter van elkaar verwijderd staan.

Het open terrein bestaat uit een zandig-leemige grond van fijne structuur, waardoor gemakkelijk een zeer harde ingedroogde bovenlaag wordt gevormd. Hier lagen enkele zaaibedden van *Larix decidua*, bezaaid in Maart. De opkomst was slecht en van de opgekomen planten was nog ongeveer 20% omgevallen door schimmelziekten en mogelijk voor een deel door hitte-beschadiging, waarvan de symptomen nauwelijks van elkaar verschillen. De voorwerker in deze kweekerij vertelde mij, dat hij in andere jaren veel planten had zien wegvallen, hetgeen door hem aan droogte was toegeschreven. De omgevallen planten op het lariksbed waren reeds zoo uitgedroogd, dat een isolatie van schimmels geen waarde meer had.

Het door de overgebleven dennen gedeeltelijk beschaduwde deel van de kweekerij gaf een heel ander beeld. Hier lagen op dezelfde grondsoort, die evenwel vermengd was met de daar gevormde bosch-humus, zaaibedden van douglas en *Abies grandis*. Beide stonden er uitmuntend bij. Het douglas-zaad was van inlandsche herkomst (Schovenhorst) en de zaaibedden hiervan leken grazige weiden, nergens een open plek. Uit enkele chlorotische planten van *Abies grandis* werd *Botrytis cinerea* geïsoleerd, maar de aantasting was minimaal. Op dit gedeelte van de kweekerij kom ik later nog terug.

4. **Kweekerij Middachten.** Zaaibedden van *Abies grandis* en *Pseudotsuga Douglasii*. De kweekerij ligt op vruchtbare lössgrond en wordt aan de N.W.zijde door de Middachter Allee beschut. Aan de andere zijden ligt zij open. Eenmaal per jaar wordt met compost bemest. Het zaaizaad werd 10 dagen voorgeweekt, daarna gemenied en na het zaaien bedekt met een dun laagje heizand (diep gedolven), zooals dat ook in Duitschland, Engeland en Denemarken wordt gedaan. Later werd hier eenig fijn grint aan toegevoegd, om het snelle verstuiven tegen te gaan. Begin Juli 1937 trad een hevige aantasting op; zoowel van *Abies grandis* als van *Pseudotsuga Douglasii* bezweek meer dan 60% van de kiemplanten. Merkwaardig was dat de aantasting zoo laat begon, de kiemplanten waren al ruim 2 maanden oud. In 1938 gebeurde ongeveer hetzelfde, ook nu weer de eerste weken na de kieming weinig ziekte en begin Juli, toen de planten ongeveer 2 maanden boven de grond waren, hevige aantasting (*Abies grandis* 50%, *Pseudotsuga Douglasii* 55%). Het

douglaszaaibed was hetzelfde, waar in 1937 een hevige aantasting optrad. Van *Abies grandis* werden zoowel in 1937 als in 1938 de volgende fungi geïsoleerd: *Fusarium orthoceras*, *Fusarium oxysporum*, *Cylindrocarpon* sp. en *Pythium torulosum* (?). Steeds traden *Fusarium* spp. het meest op bij de verschillende isolaties, wat evenals het beeld van de zieke planten, die voor het grootste deel uitdroogden zonder om te vallen, wijst op late wortelbrand. Van *Pseudotsuga Douglasii* werden in beide jaren geïsoleerd: *Fusarium oxysporum*, *F. orthoceras*, *F. solani*.

Bij proeven, welke later met de lössgrond van deze kweekkerij in vitro werden genomen, bleek ook een sterk parasitaire *Rhizoctonia solani*-stam aanwezig te zijn (zie blz. 60). Op een zaaibed van *Larix leptolepis* trad bij 15% van de planten aantasting op, terwijl *Picea excelsa* het minst te lijden had (minder dan 10% aantasting). In September 1938 kwamen hier veel meer zieke planten voor, van het type late wortelbrand. Voor de in 1938 in deze kweekkerij genomen proeven verwijs ik naar bladzijde 109.

5. Nieuwe kweekkerij van het **Provinciaal Waterleidingbedrijf van Noordholland** te Bakkum. Bezocht Juni, Juli en September 1938. Zaaibedden van *Pseudotsuga Douglasii* en *Abies alba*. De bedden liggen op kalkrijk, humusarm duinzand en zijn aan alle zijden tegen de wind beschut door een omlijsting van boschjes van wilg en Oostenrijksche den. Het zijn 2 langgerekte zaaibedden van te zamen een paar meter breedte en enkele tientallen meters lengte. Deze vorm werd gekozen om een zoo goed mogelijke beschaduwing te waarborgen. Zoowel douglas als *Abies* staan er goed bij en vertoonen slechts weinig omvalziekte ($\pm 3\%$). Wel treedt veel cotylnecrose op, waarbij soms de heele zaadlob bruin gekleurd is, terwijl in andere gevallen slechts gedeeltelijke necrose voorkomt met hier en daar een zwarte vlek. Deze aantasting is zelden zo danig, dat de plant gevaar loopt, maar veroorzaakt wel steeds eenige groeiremming door de vermindering van het assimilerend oppervlak. Van de necrotische cotylen werd meestal *Alternaria tenuis* geïsoleerd; een enkele maal bleek een *Fusarium* sp. de vermoedelijke oorzaak van de necrose. Van kiemplanten met omvalziekte werd een *Fusarium* sp. geïsoleerd. Op het douglaszaaibed trad in September 1938 op verschillende plaatsen *Botrytis*-aantasting op, beginnende op de sappige jonge naalden aan de top. Er gingen nogal wat planten aan te gronde. De eerste symptomen zijn slap worden van de toppen van de zaailingen en daarna bruin-

kleuring. Op de bruine deelen zijn ook zonder loupe duidelijk talrijke donkerbruine conidiëndragers met grijswitte conidiënhoofdjes zichtbaar.

6. Kwekerij Noordveld van het **Provinciaal Waterleidingbedrijf van Noordholland** te Egmond. Hier lagen vooral zaaibedden van *Pinus nigra austriaca*, *Pinus nigra calabrica* en een enkel bed met *Pinus silvestris*. De bodem bevat geen kalk en is humusrijker dan in de vorige kwekerij. Elk jaar wordt met koemest bemest. Kunstmest wordt niet gebruikt. De kwekerij is aan alle zijden open gelegen.

De Oostenrijksche den is het beste tegen de zeewind bestand en wordt hier dan ook het meeste gekweekt. Het zaad wordt één week voorgeweekt en wordt voorgekiemd gezaaid, na eerst gemenied te zijn. Kiemplantaantasting is gering ($\pm 3\%$). Uit omvallers van *Pinus nigra austriaca* werden de volgende schimmels geïsoleerd: *Rhizoctonia solani*, *Cylindrocarpon didymum*, *Sporormia montana*, *Gliocladium penicillioides*, *Fusarium* sp., *Stemphylium asperulum* en *Pleospora herbarum*. Uit later genomen proeven met deze grond in vitro bleek, dat zij ook een parasitaire Phycomyceet, *Pythium intermedium*, bevatte.

Het is duidelijk ondanks de zeer geringe aantasting die dit jaar optrad, dat door het voorkomen van parasitaire bodemschimmels de kans niet denkbeeldig is, dat onder voor de fungi gunstige en voor de gastheer ongunstige omstandigheden, groote schade op kan treden.

7. Bezaaiing van **Middelhart**. Door de welwillende medewerking van Dr. de Hoogh, houtvester bij het Staatsboschbeheer, was het mogelijk zaaibedden aan te leggen van *Pinus silvestris*, *Pinus nigra austriaca* en *Larix leptolepis*. De zaaibedden lagen in het gebied dat door het Staatsboschbeheer in opdracht van de Gemeente Nunspeet herbeboscht werd. Dit terrein was vóór 1935, in welk jaar het afbrandde, hei met een dichte vliegdennenvetatie. In 1937 was het een omgespitte open vlakte; de bodem bestond uit grofkorrelig, plaatselijk sterk grinthoudend, weinig humeus zand. Vóór de herbebossching werd het geheele terrein bemest met 600 kg slakkenmeel per ha. Gezaaid werd 22 April 1937. Het zaad werd niet voorgeweekt of gemenied. De zaaibedden waren tegen vogels en viervoeters afgezet met kippengaas, ook van boven. De opkomst op de zaaibedden was slecht. Op 24 Mei was van *Pinus silvestris* 19%, van *Pinus nigra austriaca* 22% en van *Larix leptolepis* 17% gekiemd. Bij *Pinus nigra austriaca* trad vermoedelijk door insectenvraat veel schade

op, waardoor ongeveer 40% van de opgekomen planten tot vlak boven de oppervlakte werd opgegeten. Veel door schimmels aangetaste zaailingen werden niet gevonden. Bij alle drie coniferen kwamen chlorotische planten voor, waarvan *Alternaria tenuis* werd geïsoleerd. Isolaties van *Pinus silvestris* gaven: *Trichoderma lignorum*, *Naemosphaera rostellata*, *Verticillium* sp., *Mortierella* sp. *Dematium pullulans*, *Cladosporium* sp., *Mucorinae*. Van *Pinus nigra austriaca* werden geïsoleerd: *Fusarium culmorum*, *F. sambucinum* forma 6, *Coniothyrium pityophilum*, *Trichoderma lignorum*, *Alternaria tenuis*, *Botrytis cinerea* en een *Phycomycet*. Van *Larix leptolepis* kwamen: *Alternaria tenuis*, *Botrytis cinerea*, *Leptothyrium* sp. *Graphium* sp.

8. Zaaibedden laboratoriumtuin. Ter verkrijging van ziek materiaal werden zaaibedden met *Pinus silvestris* en *P. nigra austriaca* aangelegd. De bodem bestaat uit zand met een middelmatig humusgehalte. De zaden waren gedeeltelijk met een $\frac{1}{4}$ % Ceresanoplossing, gedeeltelijk met 2% formol gedesinfecteerd, terwijl de rest op geen enkele wijze was behandeld. De zaaibedden werden dagelijks flink begoten. Reeds 3 weken na het zaaien trad op beide bedden hevige omvalziekte op, terwijl van de planten vooral van *Pinus silvestris*, die aan de eerste aanvallen van grondschimmels weerstand boden, na 2—5 maanden een groot deel door late wortelbrand bezweek.

Van omvalzieke zaailingen van *Pinus silvestris* werden geïsoleerd: *Rhizoctonia solani*, *Pythium de Baryanum*, *P. intermedium*, *P. torulosum* (?), *P. artotrogus*, *Fusarium solani*, *Coniothyrium pityophilum*, *Chaetomium elatum*, *Penicillium Wortmanni*, *Mucorinae*.

Van 5 maanden oude *Pinus silvestris* met late wortelbrand werden geïsoleerd: *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. solani* var. *minus*, *F. solani* var. *Martii*, *Cylindrocarpon radiculicola*.

Van *Pinus nigra austriaca* (omvalzieke planten) werden geïsoleerd: *Rhizoctonia solani*, *Pythium intermedium*, *Fusarium scirpi*, *F. coeruleum*, *Cylindrocarpon didymum*, *Chaetomium globosum*, *Arachniotus trisporus*, *Trichoderma lignorum*, *Penicillium Wortmanni*, *Botrytis cinerea*, *Mucorinae*.

Van *P. nigra austriaca* met late wortelbrand (5 maanden oude planten): *Fusarium solani*, *F. solani* var. *minus*, *F. solani* var. *Martii*, *Cylindrocarpon didymum* en *Pythium* sp. (slechts 1 maal geïsoleerd).

Vatten we de voornaamste uitkomsten samen, dan blijkt, dat kiem-

plantenziekten in Nederland algemeen voorkomen en in sommige gevallen groote verliezen geven. Deze zijn meestal niet uitsluitend te wijten aan het voorkomen van parasitaire bodem-schimmels, maar de aantasting moet mogelijk gemaakt worden door uitwendige omstandigheden (temperatuur, vochtigheid, zuurgraad van de grond, enz.) tijdens de kritieke periode van de hoogere plant.

Ter verduidelijking volgen hieronder de verschillende coniferen met de daarvan geïsoleerde schimmels, telkens verdeeld in twee rubrieken, t.w. die, geïsoleerd van wortel en/of wortelhals (a) en die, afkomstig van stengel en/of cotylen (b).

Van *Pinus silvestris*:

- (a) *Pythium de Baryanum* Hesse
 „ *intermedium* de Bary
 „ *artotrogus* (Mont.) de Bary
 „ *torulosum* Coker et Patterson (?)
Rhizoctonia solani Kühn
Fusarium oxysporum Schl.
 „ *solani* (Mart.) App. et Wr.
 „ „ var. *minus* Wr.
 „ „ var. *Martii* (App. et Wr.) Wr.
Cylindrocarpon radiculicola Wr.
 „ *didymum* (Harting) Wr.
Coniothyrium pityophilum (v. Höhn) Petr. et Syd.
Chaetomium elatum Kunze et Schmidt
Penicillium Wortmanni Klöcker
Verticillium sp.
Trichoderma lignorum (Tode) Harz
Mucoraceae (o.a. *Mortierella* sp.)
(b) *Naemosphaera rostellata* (Grove) Sacc.
Botrytis cinerea Pers.
Cladosporium sp.
Mortierella sp.

Van *Pinus nigra austriaca*:

- (a) *Rhizoctonia solani* Kühn
Pythium intermedium de Bary
Fusarium scirpi Lamb. et Tautz.

- Fusarium coeruleum* (Lib.) Sacc.
 „ *culmorum* (W. Sm.) Sacc.
 „ *sambucinum* Fuck. f. 6 Wr.
 „ *solani* (Mart.) App. et Wr.
 „ „ var. *minus* Wr.
 „ „ var. *Martii* (App. et Wr.) Wr.
Cylindrocarpon didymum (Harting) Wr.
 „ *radicicola* Wr.
Chaetomium globosum Kunze
Pleospora herbarum (Pers.) Rbh.
Botrytis cinerea Pers.
Coniothyrium pityophilum (v. Höhn.) Petr. et Syd.
Trichoderma lignorum (Tode) Harz
Penicillium Wortmanni Klöcker
Arachniotus trisporus Hotson
Stemphylium asperulum Sacc.
Sporormia montana Peyr.
Mucoraceae (o.a. *Mortierella* sp., *Mucor* sp.)
Pyrenochaeta acicola (Lev.) Sacc.
Gliocladium penicillioides Corda
Phoma glomerata (Cda.) Wr. et Hochapfel
 (b) *Coniothyrium pityophilum* (v. Höhn.) Petr. et Syd.
Botrytis cinerea Pers.
Alternaria tenuis Nees.

Van **Larix leptolepis:**

- (a) *Alternaria tenuis* Nees
Trichoderma lignorum (Tode) Harz
Botrytis cinerea Pers.
Leptothyrium sp.
 (b) *Alternaria tenuis* Nees
Botrytis cinerea Pers.
Graphium sp.

Van **Pseudotsuga Douglasii:**

- (a) *Pythium* sp.
Fusarium orthoceras App. et Wr.
 „ *oxysporum* Schl.

Fusarium solani (Mart.) App. et Wr.

Fusarium sp.

Trichocladium asperum Harz

Alternaria tenuis Nees

(b) *Fusarium* sp.

Botrytis cinerea Pers.

Alternaria tenuis Nees

Van **Abies grandis**:

(a) *Pythium torulosum* Coker et Patterson (?)

Fusarium orthoceras App. et Wr.

„ *oxysporum* Schl.

Cylindrocarpon sp.

Botrytis cinerea Pers.

(b) *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz

Botrytis cinerea Pers.

Van **Cedrus atlantica** en **C. deodara**:

(a) *Pythium de Baryanum* var. *pelargonii* Braun

Fusarium sp.

Verder werden van **zaden** verschillende schimmels geïsoleerd, omdat de mogelijkheid bestond, dat daaronder veroorzakers van de omvalziekte voorkwamen. Gedeeltelijk waren deze zaden oppervlakkig ontsmet met een $\frac{1}{4}\%$ Ceresan-oplossing, gedeeltelijk waren zij niet gededesinfecteerd.

Van **Pinus silvestris** zaad:

Alternaria tenuis Nees.

Cladosporium sp.

Naemosphaera rostellata (Grove) Sacc.

Mollisia cinerea (Batsch.) Rehm.

Mucoraceae (o.a. *Mucor* sp., *Mortierella* sp., *Rhizopus* sp.).

Penicillium spp.

Sclerophoma sp. (?)

Trichoderma lignorum (Tode) Harz.

Van **Pinus Merkusii** zaad:

Botryodiplodia theobromae Pat.
Rhizopus sp.

Van **Pinus nigra austriaca** zaad:

Cladosporium sp.
Fusarium solani (Mart.) App. et Wr.
Geomyces cretaceus Traaen
Mucoraceae (*Mucor* sp., *Mortierella* sp., *Rhizopus* sp.).
Penicillium spp.
Phoma libertiana Speg. et Roum.
Sclerophoma sp. (?)
Trichoderma lignorum (Tode) Harz

Van **Pseudotsuga Douglasii** zaad:

Pyronema confluens Tul.
Mucoraceae
Penicillium sp.

In het volgende hoofdstuk zal worden onderzocht welke van bovenvermelde schimmels parasitair zijn, terwijl daar tevens uitvoerig zal worden stilgestaan bij de door de verschillende schimmels veroorzaakte ziektesymptomen.

HOOFDSTUK III.

INFECTIEPROEVEN.

§ 1. Algemeene beschouwingen.

a. Eigenschappen van de parasieten. Wij zagen in het vorige hoofdstuk dat tal van schimmels voor coniferen-kiemplanten parasitair kunnen zijn. Sommige tasten de bovenaardsche, andere de onderaardsche deelen van de gastheer aan. Hieruit blijkt al dadelijk, dat er groote verschillen in levenswijze bestaan bij de verschillende fungi. Eén eigenschap moeten al deze schimmels evenwel gemeen hebben, n.l. de mogelijkheid om de hoogere planten aan te tasten. Hierbij komt het herhaaldelijk voor, dat van een bepaalde schimmelsoort de eene isolatie wel, de andere niet of minder in staat is een bepaalde gastheer te infecteeren. Die beide isolaties zijn dan verschillend virulent. Vaak komen dergelijke virulentieverschillen niet alleen tot uiting t.o.v. één bepaalde gastheer, maar treden zij ook t.o.v. andere gastheeren, waarvoor de soort parasitair is, op. Dit is vooral het geval met enkele polyphage schimmels, zooals *Rhizoctonia*-, *Pythium*- en *Fusarium*-soorten die t.o.v. de gastheer al heel weinig kieskeurig zijn. Het zijn juist deze bodemschimmels, welke in staat zijn zich vaak jarenlang saprophytisch te voeden, die voor de jonge kiemplanten van overwegend belang zijn.

De virulentie van een bepaalde schimmel-isolatie kan door uitwendige factoren sterk beïnvloed worden. Zoo is b.v. de voedingsbodem waarop de schimmel vóór de infectie is gegroeid van veel belang. Veelal scheiden de parasieten toxische stoffen af, die de aantasting van de hoogere plant veroorzaken. Juist voor de productie van die toxinen is de aard van de voedingsbodem belangrijk. Daardoor zal b.v. een *Fusarium* sp. die op rijst — waarin naar de ervaring leert, gemakkelijk toxinen geproduceerd kunnen worden — gekweekt is, veel virulenter zijn, dan dezelfde schimmelstam, die op 2% agar, een heel arme voedselbron, werd gekweekt. Wij moeten daarbij niet uit het oog verliezen, dat ongetwijfeld

ook de hoeveelheid schimmelmateriaal steeds van veel belang is voor het al dan niet optreden van de infectie. Dat toxische stoffen veel invloed hebben is b.v. gebleken uit onderzoekingen van Van Eek (1937), die met een extract van een *Fusarium*-cultuur op rijst een even sterke aantasting kreeg als met de levende schimmel zelf. In veel gevallen zijn het enzymen, die de toxische werking uitoefenen, maar ook andere stoffen zijn van belang.

Dezelfde en waarschijnlijk ook andere schimmel-afscheidings zijn in staat om andere schimmels te vernietigen (antagonisme). Dit antagonisme draagt veel bij tot het tot stand komen van een biologisch evenwicht in de bodem en zonder dat zou wellicht geen enkele hogere plant voor de werking van parasitaire schimmels veilig zijn.

Naast antagonisten komen in de natuur ook synergisten voor, die het parasitisme van andere schimmels stimuleeren, zonder zelf parasitair te zijn.

Tenslotte dient opgemerkt te worden, dat iedere schimmel zijn eigen optimale omstandigheden heeft wat betreft temperatuur, vochtigheid, aard van de voeding, enz.

b. Eigenschappen van de gastheeren. De eigenschappen van de coniferen, waarmee ik werkte zijn niet gelijk. Zoo zijn de Pinus-soorten voor een goede kieming allereerst van een voldoende hoeveelheid zonlicht afhankelijk, terwijl *Pseudotsuga* en *Larix* beter kiemen als de insolatie niet al te sterk is. Van veel belang bij het kweken van coniferen is steeds de herkomst van het zaad. Daarom werd de Vereeniging tot Waarborg van de Herkomst van de Grove Den (W.H.G.) opgericht.

Het zaad van *Pinus silvestris* waarmee ik in de volgende proeven werkte was afkomstig van Nunspeet, dat van *Pinus nigra austriaca* van het landgoed „Elswout” bij Overveen. Het door mij gebruikte douglaszaad was afkomstig uit de Noord-Amerikaansche staat Washington, en wel uit Cowlitz County, 400—500 m hoog. Het zaad van *Larix leptolepis*, waarmee een enkele proef werd genomen, kwam uit Shinshu (\pm 700 m hoog), Japan.

Zaaddesinfectie wordt in de praktijk bij coniferenzaad niet toegepast. Toch zal in de volgende bladzijden blijken, dat zaadbeitsmiddelen hun nut kunnen hebben niet alleen ter bestrijding van parasitaire schimmels, maar ook als groeistimulantia. De kiemende zaden en de enkele weken oude zaailingen zijn het gevoeligst voor aantasting door schimmels. Zijn de zaailingen 6—8 weken oud, dan zijn de stammetjes verhout en

voor schimmels ontoegankelijk. Deze kunnen dan alleen de jonge, nog groeiende weefsels, dus worteleinden en jonge spruiten aantasten. Dit is het stadium waarin late wortelbrand (pag. 14) begint op te treden. Deze kan soms zoo hevig zijn, dat een groot percentage van de zaailingen er aan bezwijkt. Waarschijnlijk worden de planten vanuit de jonge worteldeelen vergiftigd.

De gevoeligheid van jonge scheuten en naalden voor top-necrose is afhankelijk van de soort. Zoo worden snel groeiende coniferen als *Larix* en *Pseudotsuga* met hun slappe, vleezige naalden veel sterker aangetast, dan de langzamer groeiende *Pinus*-soorten, waarvan de naalden stijver en droger zijn.

c. Omstandigheden waaronder infectie optreedt. Voor het epidemisch optreden van omvalziekte en van andere kiemplantenziekten is een zeer bepaalde samenwerking van uitwendige factoren noodzakelijk. In de eerste plaats is de grondsoort, waarin de zaailingen worden gekweekt van veel belang, want al naar de aard van de bodem (humusgehalte, zuurgraad, enz.) zullen parasitaire schimmels daar veel of weinig in voorkomen. Maar ook de vochtigheid en vooral de temperatuur bepalen in sterke mate de infectie-kans. De meeste bodemparasieten ontwikkelen hun grootste werkzaamheid als na een periode van groote vochtigheid een tijd van hooge gemiddelde temperaturen aanbreekt. Het schijnt evenwel, dat veroorzakers van top-necrose zooals *Botrytis cinerea* en *Alternaria tenuis* vooral schadelijk zijn bij nat, koud weer. Verschillende van bovengenoemde voor het optreden van kiemplantenziekten gunstige omstandigheden gaven aanleiding tot het toepassen van bepaalde bestrijdingsmiddelen.

§ 2. Zaaddesinfectie.

Als men infectieproeven in reïncultuur wil nemen, is het een eerste vereischte, dat het zaad waarmee men werkt geen schimmels meer bevat, daar deze in hooge mate het resultaat van de infectie kunnen beïnvloeden. Er kunnen parasitaire schimmels op het zaad voorkomen, waardoor men bij een infectieproef in reïncultuur ten onrechte de indruk kan krijgen, dat een volkomen onschadelijke schimmel, waarvan men de pathogeniteit nagaat, een flinke aantasting geeft. Maar ook al zijn er slechts saprophytische schimmels op het zaad aanwezig, dan kunnen deze door hun dikwijls snelle groei de schimmel, die men op zijn pathogeniteit onder-

zoekt, overwoekeren of op andere wijze in zijn groei remmen. Men zou denken, dat het dus vanzelf spreekt, dat de zaden voor het gebruik bij infectieproeven in reïncultuur gedesinfecteerd worden, maar toch blijkt, dat b.v. Rathbun-Gravatt (1931) in reïncultuur steeds met ongedesinfecteerd zaad werkte en daar haar conclusies op baseert. Volgens haar is dat geen bezwaar, omdat de worteltjes niet door de van het zaad groeiende schimmels worden aangetast, behalve in één geval. Ik meen dat men aan dergelijke proeven nauwelijks eenige waarde mag toekennen.

Als ontsmettingsmiddel gebruikte ik een Ceresan-oplossing, nadat gebleken was, dat 2% formol niet voldeed (onvoldoende ontsmetting en beschadiging van het zaad). De proeven werden genomen met verschillende concentraties en gedurende verschillende tijden. Het zaad moet volkomen ontsmet zijn, zonder dat de kiemkracht er onder lijdt. De met $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$ % Ceresan gedurende 20—30—40 minuten ontsmette zaden werden in petrischalen op 2% agar uitgelegd (20 zaden per petrischaal). Tabel 1 geeft het resultaat van de behandeling weer:

Tabel 1.

ZAADESINFECTIEPROEF MET ZAAD VAN PINUS
NIGRA AUSTRIACA

Concentratie en tijd	Aantal niet steriele zaden per 20, na:				
	3 dagen	5 dagen	8 dagen	10 dagen	12 dagen
$\frac{1}{8}$ % Ceresan 20'	12	19	19	20	20
30'	10	18	19	20	20
40'	8	16	18	20	20
$\frac{1}{5}$ % Ceresan 20'	0	1	1	1	1
30'	0	0	0	0	0
40'	0	0	0	1	1
$\frac{1}{4}$ % Ceresan 20'	0	0	1	1	1
30'	0	0	0	0	0
40'	0	0	0	0	0
$\frac{1}{3}$ % Ceresan 20'	0	0	1	1	1
30'	0	0	0	0	0
40'	0	0	0	0	0

Een behandeling met $\frac{1}{8}\%$ Ceresan-oplossing is onwerkzaam, terwijl $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}\%$ oplossing gedurende 20 minuten toegepast geen absolute ontsmetting geeft. Zaaddesinfectie gedurende 30 en 40 minuten blijkt afdoende zoowel met $\frac{1}{4}$ als met $\frac{1}{3}\%$ Ceresan-oplossing. Om nu na te gaan, hoe de kieming door de zaadontsmetting wordt beïnvloed, moest eerst de kiemkracht van het onbehandelde zaad bekend zijn. Deze werd bepaald volgens de internationale voorschriften, neergelegd in „Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut“ (1931) en bedroeg voor de Oostenrijksche den 76%. De kieming is altijd vrij onregelmatig omdat enkele zaden pas na een paar weken kiemen, vandaar dat in tabel 2 ook de kieming na 22 dagen moest worden opgenomen.

Tabel 2.

INVLOED VAN ZAADDESINFECTIE OP DE KIEMING VAN
PINUS NIGRA AUSTRIACA

Concentratie en tijd	Aantal gekiemde zaden per 20, na:				
	5 dagen	8 dagen	12 dagen	16 dagen	22 dagen
$\frac{1}{8}\%$ Ceresan 30'	12	16	17	17	17
40'	8	13	16	16	16
$\frac{1}{5}\%$ Ceresan 30'	12	17	17	17	17
40'	12	12	13	15	17
$\frac{1}{4}\%$ Ceresan 30'	10	14	17	17	17
40'	6	9	11	13	13
$\frac{1}{3}\%$ Ceresan 30'	6	11	14	14	14
40'	4	5	8	9	9

Hieruit blijkt dus, dat zaad-ontsmetting gedurende 40 minuten steeds de kieming vertraagt en bij $\frac{1}{4}$ en $\frac{1}{3}\%$ Ceresan-oplossing eveneens de kiemkracht vermindert. Ook $\frac{1}{3}\%$ Ceresan gedurende 30 minuten geeft een minder goede kieming. De resultaten van de vorige en deze tabel samenvattende, ziet men, dat voor zaden van de Oostenrijksche den ontsmetting gedurende 30 minuten met $\frac{1}{5}$ of $\frac{1}{4}\%$ Ceresan-oplossing voldoende is, zonder dat de kiemkracht van het zaad hierdoor geschaad wordt. Ik koos voor mijn volgende proeven de $\frac{1}{4}\%$ oplossing, omdat

bij $\frac{1}{5}$ % gedurende 40 min. één zaad niet ontsmet bleek. Herhaling van de proef gaf overeenkomstige resultaten. Ten overvloede werden 100 zaden van de Oostenrijksche den, die met $\frac{1}{4}$ % Ceresan-oplossing gedurende een half uur ontsmet waren, op 2% agar in petrischalen uitgelegd. Slechts uit één zaad, dat later verrot bleek te zijn, groeide een bacterie, alle andere zaden waren na 24 dagen volkomen ontsmet gebleven, terwijl van deze 100 zaden in totaal 91 kiemden; van de overige 9 zaden waren er 7 voos, 1 door bacteriën verrot en 1 gezond maar niet gekiemd. Deze proef werd genomen, nadat ik een methode had gevonden om een groot deel van de vooze zaden aan hun kleur te onderscheiden en dus vóór de proef te elimineeren. De methode door van Eek (1937) toegepast om de vooze zaden af te zonderen door het zaad in water onder te dompelen, waarbij de vooze zaden blijven drijven en de gezonde zinken, is hier niet te gebruiken omdat alle zaden minstens enkele uren blijven drijven, waardoor de zaadhuid week wordt en desinfectie gevaarlijk kan zijn. In verband met het drijven van het zaad is het noodzakelijk de glazen bakjes met goedsluitend deksel, waarin de ontsmetting wordt uitgevoerd, minstens 1 maal in de 5 min. krachtig om te schudden, opdat alle zaden voldoende door de Ceresan-oplossing worden bevochtigd.

Een soortgelijke zaad-ontsmettingsproef met zaad van de grove den gaf ongeveer dezelfde uitkomsten, zoodat ook hiervoor in het vervolg gebruik werd gemaakt van $\frac{1}{4}$ % Ceresan-oplossing gedurende 30 min. De kiemkracht van dit zaad is iets lager, n.l. ± 64 %.

Zaaddesinfectie-proeven met zaad van douglas gaven eenigszins andere uitkomsten. Hier bleek een ontsmetting met $\frac{1}{4}$ % Ceresan-oplossing gedurende 30 min. onvoldoende, terwijl ook bij gebruik van $\frac{1}{3}$ % Ceresan gedurende 30 min. geen volledige ontsmetting optrad. Bij 40 min. was dat wel het geval. De kieming van dit zaad verliep steeds zoo onregelmatig en zoo langzaam, dat het onmogelijk was de invloed van de ontsmetting op de kieming vast te stellen.

Uit latere proeven zal blijken, dat deze zaaddesinfectie voor de praktijk geen waarde heeft, maar voor proeven in reïncultuur is dit de aangewezen beitsmethode.

Met het oog op een eventueel nuttig effect van zaadontsmetting voor de praktijk werden enkele laboratoriumproeven genomen met droge beitsmiddelen, vooral met Ceresanpoeder, en later ook met cupro-oxyde. Van het eerste preparaat werd 2 gram per kg zaad gebruikt, welke hoeveelheid gedurende ± 5 min. krachtig met het zaad werd geschud

in een luchtdroog glazen bakje, om een zoo goed mogelijke verdeling van het poeder over de zaden te verkrijgen. Van de aldus behandelde zaden werd een honderdtal op 2% agar in petrischalen uitgelegd. Gedurende de eerste 6 dagen groeide uit geen enkel zaad een schimmel, terwijl zich uit 2 zaden bacteriën ontwikkelden. Inmiddels was het zaad gekiemd en hadden de kiemende planten de zaden van de agarbodem gelicht. Daarna begonnen in alle schalen enkele schimmelplekjes op te treden, maar niet op de plaatsen waar de zaden gelegen hadden. Het maakte dan ook de indruk dat enkele sporen van de zaden die door de kiemplant tegen de deksel van de petrischaal werden gedrukt af waren gevallen en nu bij afwezigheid van de organische kwikverbindingen kiemden. Het bleek zeer moeilijk om bij laboratoriumproeven met een droog beitsmiddel een indruk van de ontsmetting te krijgen. In de praktijk vormt het fijne, op de zaadhuid gekleefde poeder een beschermende laag in de bodem rondom het zaad, want men mag aannemen, dat in de vochtige aarde, die zich daar bevindt, een deel van de kwikverbindingen langzaam in oplossing zal gaan. In elk geval zal uit latere proeven (dit hoofdstuk § 6 en hoofdstuk IV § 2b) blijken, dat zaaddesinfectie met een droog ontsmettingsmiddel gunstige resultaten kan geven. Naast droge Ceresan komt daar de behandeling met menie en die met cupro-oxyde ter sprake.

§ 3. Infectieproeven in reïncultuur.

Wij zagen bij de algemeene beschouwingen aan het begin van dit hoofdstuk reeds hoe belangrijk temperatuur, vochtigheid en samenstelling van het substraat voor het tot stand komen van de infectie zijn. Ook werd daar gewezen op de beïnvloeding van de parasiet door andere micro-organismen (antagonisme en synergisme). Wil men deze biologische invloeden uitschakelen dan is het noodig in reïncultuur te werken, waarbij men dus de aantasting door de te onderzoeken schimmel alléén ziet. Weliswaar zullen in de praktijk steeds andere organismen aanwezig zijn, waaruit men geneigd is te concludeeren, dat proeven in reïncultuur geen waarde hebben. Toch is dat niet juist, want zooals van Eek (1937) terecht opmerkt, zullen aantastingen in de praktijk optreden, wanneer door samenloop van omstandigheden de voorwaarden voor de ontwikkeling van een bepaalde parasiet zeer gunstig worden, waarbij de invloed van andere organismen op de achtergrond treedt.

Voor de infectieproeven in reincultuur gebruikte ik de voortreffelijke methode van van Luijk (1934, 1938). Zij komt op het volgende neer: in gewone reageerbuisen wordt 5 cc van een voedingsoplossing gebracht — waarvoor in mijn proeven met succes de oplossing van Knop gebruikt kon worden — verder schuift men een uit filtreerpapier gevouwen tafeltje, dat de vorm van een van onderen open en van boven gesloten cylinder heeft, zoodanig in de reageerbuis, dat het open deel van de filtreerpapier-cylinder in de voedingsoplossing steekt. Op het gesloten, boven de vloeistof uitstekende deel van het filtreerpapier brengt men een agar-blokje van $\pm \frac{1}{2}$ cm² oppervlakte, waarop de te onderzoeken schimmel is gekweekt en daarop per buis 3 gedesinfecteerde coniferenzaden. Daarna worden de buizen met een stevige wattenprop afgesloten, waardoor de ruimte tusschen filtreerpapier en watten een hoog vochtigheidsgehalte krijgt. Dit is voor de meeste schimmels gunstig en bevordert de aantasting. Van iedere schimmel waarvan de pathogeniteit vastgesteld moest worden werden 4 van dergelijke reageerbuisen met in totaal dus 12 zaden gebruikt. Deze buizen worden op speciale houten rekken gezet waardoor men een goed overzicht krijgt van de werking van de verschillende schimmels. Bij sommige proeven stonden de rekken buiten in een door glas beschutte kraam; de ander proeven werden in een verwarmde kas genomen. Tijdens de proeven bleek:

1. dat het noodzakelijk is de zaden op het agarblokje te leggen en niet omgekeerd, daar in het laatste geval dikwijls het blokje met de schimmel door het kiemende zaad mee naar boven wordt genomen, waardoor het contact met het filtreerpapier is verbroken;
2. dat de met een $\frac{1}{4}$ % Ceresan-oplossing gedesinfecteerde zaden steeds met steriel water nagespoeld en tusschen steriel filtreerpapier gedroogd moeten worden, omdat anders de op het zaad aanwezige Ceresan-oplossing in het filtreerpapier-tafeltje overgaat en daar elke schimmelgroei belet.

Het groote voordeel van deze methode is, dat men gemakkelijk en snel uit kan maken of een schimmel al dan niet onder bepaalde, voor de fungus gunstige omstandigheden parasitair kan zijn. Men verkrijgt aldus een selectie, waarbij men de schimmels die onder deze omstandigheden geen aantasting geven bij de verdere proeven zonder bezwaar mag uitschakelen. Voor de overige, min of meer parasitaire fungi kan men met vrij groote zekerheid aannemen, dat zij althans onder bepaalde, voor hun ontwikkeling gunstige omstandigheden de plant kunnen aantasten. Een

ander voordeel is, dat men nauwkeurig het verloop van de aantasting kan volgen, m. a. w. kan zien wáár de schimmel de plant aantast en welke symptomen zich daarbij voordoen (foto's 1b, 2). Men kan aldus een beschrijving geven waardoor het vaak mogelijk is ook in de praktijk een diagnose te stellen van de schimmel of schimmels, die de aantasting veroorzaken (zie § 7).

In plaats van de oplossing van Knop met filtreerpapier kan men ook 6 cc gezeefde en gedroogde tuinaarde in de buizen doen, waaraan dan 2 cc van Knop's oplossing wordt toegevoegd. Daarbij is het zaak dat de buizen met gedroogde aarde en de voedingsoplossing afzonderlijk gesteriliseerd worden, want doet men beide tegelijk in de buizen dan wordt de aarde bij het uitlaten van de stoom uit de autoclaaf zoo los en vol luchtholten, dat de kiemplanten er slecht in groeien. Men brenge dus de gesteriliseerde oplossing met een steriele pipet van 2 cc in de gesteriliseerde buizen met gedroogde tuinaarde. Door aarde in plaats van vloeistof te nemen benadert men meer de natuurlijke omstandigheden. Uit de proeven van van Eek (1937) blijkt, dat bij hem dikwijls groote verschillen optraden tusschen de reeksen op vloeistof en de reeksen op aarde, waarbij de aantasting in de eerste sterker was dan in de tweede. Bij mijn proeven kwamen zulke groote afwijkingen weinig voor en als ze voorkwamen was meestal de aantasting in de buizen met aarde heviger dan in die met vloeistof.

In de volgende tabellen wordt de kieming per 12 zaden, het aantal aangetaste en het aantal daarvan weggevallen — dit is geheel weggerotte planten — en de gezondheidstoestand opgegeven. Daarvan vereischt de laatste eenige nadere verklaring.

Ik volgde daarbij dezelfde methode als van Eek (1937, blz. 15). Men verdeelt alle buizen van een proefserie over 11 reeksen zoodanig, dat de buizen met dezelfde graad van aantasting in eenzelfde reeks worden geplaatst. De buizen waarin alle planten geheel zijn weggerot krijgen het cijfer 0, terwijl de buizen met volkomen gezonde planten met een 10 worden aangeduid. De overige rangschikt men daar tusschen in. Het is vaak moeilijk een buis zijn juiste plaats te geven, vooral wanneer niet alle planten van die buis in dezelfde mate zijn aangetast, zooals dat bij coniferen in tegenstelling tot violen (van Eek) vaak voorkomt.

Hoe het komt, dat onder gelijke omstandigheden in sommige buizen (met *Fusarium culmorum*, *Alternaria tenuis*, e. a.) een deel van de planten volledig wegvalt, terwijl daarnaast volkomen gezonde planten groeien,

Tabel 3.

VERGELIJKENDE INFECTIEPROEF IN REAGEERBUIZEN 1

Aangezet 26 Juli 1937.

In de tabel wordt de toestand na 6 weken weergegeven.

a = Knop + filtreerpapier. b = steriele tuinaarde.

Schimmel	Geïsoleerd van	Pinus silvestris				Pinus nigra austriaca				
		Gezondheids-toestand	Geklemd per 12 zaden	Aangetast	Daarvan weggevallen	Gezondheids-toestand	Geklemd per 12 zaden	Aangetast	Daarvan weggevallen	
<i>Pythium artotrogus</i> (Montagne) de Bary	P. silv.	a	10	12	0	0	9 $\frac{1}{2}$	9	1	0
	b	10	12	0	0	9 $\frac{1}{2}$	7	0	0	0
<i>Pythium de Baryanum</i> Hesse.....	P. silv.	a	1+	4	4	3	0	7	7	7
	b	2	11	7	3	3	10	7	5	5
<i>Pythium intermedium</i> de Bary.....	P. silv.	a	10	10	0	0	10	9	0	0
	b	4	11	10	0	0	4	9	9	0
<i>Pythium intermedium</i> de Bary.....	P. silv.	a	10	10	0	0	9 $\frac{1}{2}$ x	9	1	0
	b	6 $\frac{1}{2}$	10	5	0	0	10	6	0	0
<i>Pythium torulosum</i> Coker et Patterson (?)	P. silv.	a	10	10	0	0	4	8	6	2
	b	5 $\frac{1}{2}$	11	9	0	0	5 $\frac{1}{2}$	11	8	0
<i>Mucorinae</i>	P. n. au.	a	8 $\frac{1}{2}$	8	1	0	10	8	0	0
	b	9	11	1	0	0	10	11	0	0
<i>Fusarium culmorum</i> (W.Sm.) Sacc....	P. n. au.	a	6	11	7	0	3	11	8	2
	b	6	11	7	0	0	5 $\frac{1}{2}$	10	10	0
<i>Fusarium orthoceras</i> App. et Wr. ...	Abies	a	3	11	11	3	1	8	8	6
	b	1	11	11	8	8	1	8	8	7
<i>Cylindrocarpon didymum</i> (Harting) Wr. isol. 1	P. silv.	a	1 $\frac{1}{2}$	6	6	2	0	9	9	9
	b	6	12	9	0	0	7	10	3	0
<i>Mycelium sterile</i>	Abies	a	9	10	2	0	10	7	0	0
	b	9 $\frac{1}{2}$	11	1	0	0	10	9	0	0
<i>Penicillium Wortmanni</i> Klöcker.....	P. silv.	a	8	12	5	0	8	10	1	0
	b	10	12	0	0	0	9	8	1	0
<i>Trichoderma lignorum</i> (Tode) Harz..	P. silv.	a	6	9	2	0	6 $\frac{1}{2}$	9	3	0
	b	8	11	1	0	0	8	8	0	0
<i>Alternaria tenuis</i> Nees	Larix	a	5	12	7	2	6	9	3	2
	b	6	10	4	2	4	11	8	3	2
<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	P. silv.	a	0x	4	4	4	0x	7	7	7
	b	0	10	10	10	10	0	9	9	9
<i>Botrytis</i> sp.	Abies	a	0x	8	8	7	0	8	8	8
	b	0	6	6	6	6	0	6	6	6
<i>Pleospora herbarum</i> (Pers.) Rabenh.	P. n. au.	a	3	7	5	4	5	10	7	4
	b	0	8	8	8	8	1	11	10	9
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	Larix	a	0x	7	7	7	0	9	9	9
	b	0	9	9	9	9	0	4	4	4
Contrôle	—	a	10	10	0	0	10	10	0	0
	b	10	11	0	0	0	10	8	0	0

+ In 2 buizen geen schimmelgroei, deze uitgeschakeld.

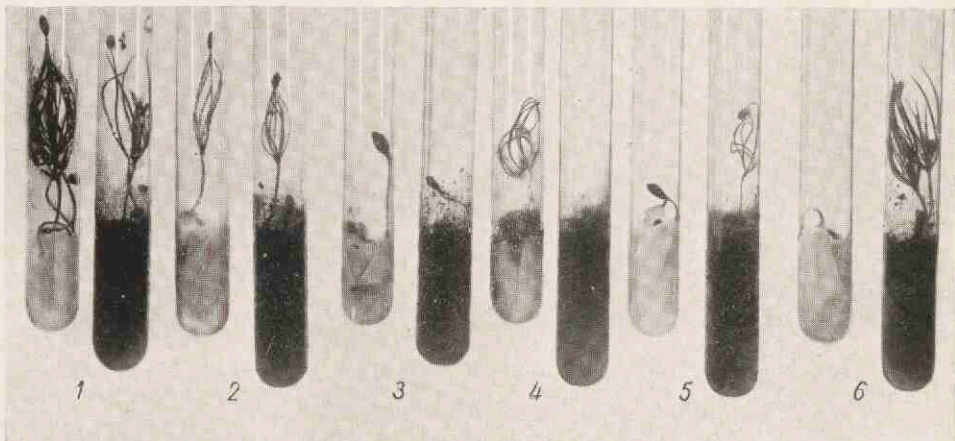
x In 1 buis geen schimmelgroei, deze uitgeschakeld.

Foto 2a.



Vergelijkende infectieproef met *Pinus nigra austriaca* in reageerbuizen met tuinaarde (tabel 4). 1. *Pythium torulosum* (?) stam *Abies*; 2. *Rhizoctonia solani*; 3. *Fusarium oxysporum*; 4. *Botryodiplodia theobromae*; 5. *Cylindrocarpon didymum* stam 2; 6. *Naemosphaera rostellata*; 7. Contrôle.

Foto 2b.



Vergelijking tusschen de aantasting in buizen met Knop en filtreerpapier (links) en buizen met steriele tuinaarde (rechts) bij *Pinus nigra austriaca*. 1. Contrôle; 2. *Fusarium orthoceras* stam *Abies*; 3. *Rhizoctonia solani*; 4. *Botrytis cinerea*; 5. *Pythium de Baryanum*; 6. *Cylindrocarpon didymum* stam 3.

Tabel 4.

VERGELIJKENDE INFECTIEPROEF IN REAGEERBUIZEN 2

Aangezet 2 September 1937.

In de tabel wordt de toestand na 2 maanden weergegeven.

a = Knop + filtreerpapier. b = steriele tuinaarde.

Schimmel	Geïsoleerd van	Pinus sylvestris				Pinus nigra austriaca				
		Gezondheids-toestand	Gekleemd per 12 zaden	Aange tast	Daarvan weggevallen	Gezondheids-toestand	Gekleemd per 12 zaden	Aange tast	Daarvan weggevallen	
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) App. et Wr.	P. silv.	a	4	10	9	2	6	4	3	1
		b	3 $\frac{1}{2}$	11	11	2	4	9	9	0
<i>Fusarium coeruleum</i> (Lib.) Sacc.....	P. n. au.	a	4 $\frac{1}{2}$	12	12	1	4 $\frac{1}{2}$	10	8	2
		b	4 $\frac{1}{2}$	11	11	2	5 $\frac{1}{2}$	10	10	0
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) App. et Wr.	Pseud.	a	2	9	9	3	1	10	10	6
		b	2 $\frac{1}{2}$	10	10	4	2	7	7	2
<i>Fusarium oxysporum</i> Schl.....	Pseud.	a	1	11	11	8	0	9	9	9
		b	0	8	8	8	0	10	10	10
<i>Fusarium orthoceras</i> App. et Wr. ...	Pseud.	a	5	8	8	1	4 $\frac{1}{2}$	10	10	2
		b	1 $\frac{1}{2}$	10	10	5	3	8	8	1
<i>Fusarium sambucinum</i> Fuck. f. 6 Wr.	P. n. au.	a	5 $\frac{1}{2}$	10	9	1	3	11	10	3
		b	4 $\frac{1}{2}$	10	9	2	2	10	10	2
<i>Fusarium scirpi</i> Lamb. et Fautr. ...	P. n. au.	a	2	9	9	4	1 $\frac{1}{2}$	11	11	9
		b	6	12	9	1	3	9	9	1
<i>Cylindrocarpon didymum</i> (Harting)Wr. isol. 2	P. n. au.	a	5	11	10	2	6	11	6	3
		b	6	11	11	0	6 $\frac{1}{2}$	8	8	0
<i>Cylindrocarpon didymum</i> (Harting)Wr. isol. 3	P. n. au.	a	4 $\frac{1}{2}$	12	12	3	5	11	11	0
		b	5	10	10	1	6	10	10	0
<i>Botryodiplodia theobromae</i> Pat.	P. Merk.	a	5 $\frac{1}{2}$	10	10	1	5	10	10	0
		b	4	6	6	1	5 $\frac{1}{2}$	8	8	1
<i>Naemosphaera rostellata</i> (Grove) Sacc.	P. silv.	a	0	12	12	12	0	8	8	8
		b	0	8	8	7	1 $\frac{1}{2}$	11	11	8
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	P. n. au.	a	8	10	0	0	7	9	6	0
		b	10	9	0	0	10	12	0	0
<i>Chaetomium elatum</i> Kunze et Schmidt	P. silv.	a	6	11	11	0	7	11	9	0
		b	7	6	4	0	7	7	6	0
<i>Arachniotus trisporus</i> Hotson	P. n. au.	a	7	10	0	0	7	9	5	1
		b	6	9	3	2	10	9	0	0
<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	P. silv.	a	—	—	—	—	—	—	—	—
		b	2	8	8	4	0	9	9	9
<i>Pythium torulosum</i> Coker et Patter-son (?)	Abies	a	4	11	11	2	3 $\frac{1}{2}$	10	10	2
		b	3	8	8	0	1 $\frac{1}{2}$	11	11	7
<i>Verticillium</i> sp.....	P. silv.	a	10	12	0	0	10	10	0	0
		b	10	8	0	0	10	6	0	0
<i>Mucorinae</i>	P. silv.	a	10	11	0	0	9 $\frac{1}{2}$	11	2	0
		b	10	7	0	0	10	9	0	0
<i>Cladosporium</i> sp.	P. silv.	a	9	10	1	1	10	12	0	0
		b	10	8	0	0	10	11	0	0
Contrôle	—	a	10	11	0	0	10	7	0	0
		b	10	8	0	0	10	9	0	0

O In geen van de 4 buizen schimmelgroeit.

is niet duidelijk. Mogelijk komen onder de zeer heterogene coniferenzaden min of meer resistente individuen voor. Een bewijs hiervoor heb ik evenwel niet. Ik bepaalde in zoo'n geval de graad van aantasting van elke plant afzonderlijk en nam het gemiddelde van de planten van 1 buis als uitkomst, hoewel ik mij ervan bewust ben, dat dit met het oog op het kleine aantal planten waarmee ik werkte eigenlijk niet heelemaal zuiver is. Daarbij kregen planten waarvan het wortelstelsel geheel was weggerot, maar waarvan de stengel en de cotylen nog gezond waren, het cijfer 5; waren ook deze in ontwikkeling achter gebleven bij die van de gezonde planten dan viel dit cijfer nog lager uit. Was $\frac{2}{3}$ deel van de plant weg gerot dan gaf ik het cijfer 3, enz. Het spreekt vanzelf dat dit een subjectieve methode is, maar dit is hier een gering bezwaar omdat het om vergelijkende uitkomsten gaat, die alle door mijzelf werden bepaald. Na eenige oefening kan men de gezondheidscijfers nauwkeurig vaststellen.

Bij de 4e serie infectieproeven in reïncultuur (tabel 6) liet ik de buizen met tuinaarde steriliseeren nadat ik de oplossing van Knop had toegevoegd. Aan het begin van dit hoofdstuk werd reeds op deze fout gewezen, waarbij bleek dat dan de aarde zeer los wordt, zoodat de planten er niet goed in groeien. Daardoor kon ik geen gezondheidstoestanden opgeven voor deze serie. Wel was duidelijk waar te nemen of aantasting al dan niet optrad.

In deze proef komen veel verschillen voor tusschen de serie met vloeistof en de serie met aarde. Zoo geeft *Phytophthora fagi* in de a-serie een middelmatige aantasting, terwijl deze in de b-serie hevig is, zoodat in de reeks met *Pinus silvestris* zelfs geen enkel zaad kiemt. Bij *Hypomyces solani*, *Phoma dunorum* nov. spec. en *Gliocladium penicillioides* is het juist omgekeerd. Nu krijgt men van deze schimmels sterk de indruk, dat de aantasting in de vloeistof hier berust op een langzaam toenemende verandering van de oplossing. Van Eek (1937) had dat ook opgemerkt bij enkele schimmels en bepaalde o.a. van de oplossing in de buizen met *Cephalosporium acremonium* de pH, welke 8,1 bleek te zijn tegen 6,8 van de contrôle-oplossing. Ook wijst hij op de mogelijkheid reeds door Schaffnit en Lüdtke (1932) vermeld, dat de schimmels voor de plant schadelijke stofwisselingsproducten zouden vormen en dat de pH dan een secundaire rol zou spelen. Want Schaffnit en Lüdtke zagen dat de cultuurvloeistof van *Fusarium vasinfectum* en *Fusarium lycopersici*

Tabel 5.

VERGELIJKENDE INFECTIEPROEF IN REAGEERBUIZEN 3.

Aangezet 24 December 1937.

In de tabel wordt de toestand na 2 maanden weergegeven.

Pinus nigra austriaca op Knop + filtreerpapier.

Schimmel	Geïsoleerd van	Gezondheids-toestand	Gekiemd per 12 zaden	Aange-tast	Daarvan weg gevallen
<i>Sporormia montana</i> Peyr	P. n. au.	5½	11	7	2
<i>Leptothyrium</i> sp.....	Larix	3	9	9	3
<i>Coniothyrium pityophilum</i> (v. Höhn) Petr. et Syd. isol. 1.....	P. n. au.	0	11	11	10
<i>Cylindrocarpon radicolica</i> Wr.....	P. silv.	0×	8	8	7
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) App. et Wr.....	P. n. au. (zaad)	0	7	7	6
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) App. et Wr. var. <i>Martii</i> (App. et Wr.) Wr.....	P. silv.	1	10	10	8
Contrôle.....	—	10	9	0	0

× In 1 buis geen schimmelgroei, deze uitgeschakeld.

gedurende de eerste 5 weken van ontwikkeling in Richard's oplossing opliep van pH 4 tot pH 7,4 en pH 7,8, maar vermindering van deze pH door toevoeging van citroen- of azijnzuur aan de oplossing gaf geen verminderde gifwerking voor verschillende planten. In dit verband noem ik ook het feit, dat parasitaire schimmels, zooals *Pythium intermedium* en *Rhizoctonia solani*, in bovengenoemde reeks op Knop's oplossing reeds dadelijk na de eerste kieming duidelijke ziekte-symptomen veroorzaken, terwijl *Hypomyces solani*, *Phoma dunorum* nov. spec. en vooral *Gliocladium penicillioides* pas een maand na de kieming de eerste ziekteverschijnselen teweeg brengen, nadat de planten zich vóór die tijd krachtig ontwikkeld hadden. Ook is hier het optreden van zijwortelvorming merkwaardig (zie pag. 90).

Uit de tabellen blijkt dat verschillende schimmels sterk parasitair zijn zoowel voor *Pinus silvestris* als voor *Pinus nigra austriaca*. Men mag natuurlijk uit het cijfer voor de gezondheidstoestand niet dadelijk besluiten welke schade die schimmel op de zaabedden teweeg zal brengen, want we zullen in § 7 zien, dat de aantasting op verschillende wijzen kan

plaats hebben. Om met één duidelijk voorbeeld te volstaan: *Botrytis cinerea* doodt in de buizen alle planten en geeft derhalve een gezondheids-toestand 0; de aantasting begint in dit geval bij de bovenaardsche deelen en pas als deze afgestorven zijn gaat ook de wortel dood. De planten in de buizen met *Pythium de Baryanum* hebben gemiddeld een gezondheids-toestand $1\frac{1}{2}$; hier tast de schimmel de wortels aan. Deze rotten spoedig geheel weg, maar pas veel later gaat de schimmel op de stengel over. Oogenschijnlijk is de aantasting met *Botrytis* heviger, maar in de praktijk komt een vochtigheidstoestand, zooals die in een met watten afgesloten reageerbuis optreedt, zelden of nooit voor, zoodat de kans op aantasting van bovenaardsche deelen veel minder groot is. Hooge bodemvochtigheid treedt vaak op en dan kan een wortelparasiet als *Pythium de Baryanum* dus hevig aantasten, waarbij dikwijls de heele wortel wegrot. De plant valt dus om en sterft af, meestal onder invloed van secundaire schimmels.

In § 7 zullen de door de verschillende fungi veroorzaakte ziekte-symptomen uitvoerig worden besproken en daar zal tevens een opsomming van de voor de praktijk belangrijkste parasieten gegeven worden. Uit deze infectieproeven in reincultuur blijkt intusschen duidelijk het groote verschil in aantasting van verschillende parasieten en daarnaast het voorkomen van saprophyten, die soms de groei van de plant zelfs stimuleeren zooals b.v. in tabel 6 *Phoma glomerata*, *Mollisia cinerea*, en *Pyronema confluens*, waarmee de groei beter is dan in de contrôlebuizen. In deze laatsten waarin dus geen enkele schimmel aanwezig is, groeien de wortels meestal niet door het filtreerpapier, maar ook al komen zij wel in de voedingsoplossing terecht, dan nog is de wortelontwikkeling hier veel slechter dan in de buizen met bovengenoemde saprophytische schimmels.

Van Luijk (1934) wees ook reeds op het voorkomen van saprophyten die de groei van kiemplanten stimuleeren. Hij noemt een *Phoma* sp., een *Mortierella* sp. en sommige *Pythium*-soorten.

In de volgende paragrafen zullen vooral de sterkste parasieten die in de praktijk geregeld voorkomen, worden gebruikt; dat zijn *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* en *Pythium de Baryanum*.

Ik heb het meest met *Pinus nigra austriaca* gewerkt, omdat deze soort de beste kiemkracht had en de groote zaden gemakkelijker te hanteeren zijn dan die van *Pinus silvestris*. Uit de infectieproeven in buizen was bovendien gebleken, dat beide soorten door dezelfde schimmels en ongeveer in gelijke mate werden aangetast.

Tabel 6.

VERGELIJKENDE INFECTIEPROEF IN REAGEERBUIZEN 4

Aangezet 28 Mei 1938.

In de tabel wordt de toestand na 2½ maand weergegeven, aangezien de kieming langzaam verliep.

a = Knop + filtreerpapier. b = steriele tuinaarde. C.B.S. = Centraalbureau voor Schimmelcultures.

Schimmel	Afkomstig van	Pinus silvestris				Pinus nigra austriaca				
		Gezondheids-toestand	Gekiemd per 12 zaden	Aangetast	Daarvan weggevallen	Gezondheids-toestand	Gekiemd per 12 zaden	Aangetast	Daarvan weggevallen	
<i>Phytophthora fagi</i> Hart.....	C. B. S.	a	6	9	2	1	6	12	5	2
		b	—	0	—	—	—	9	7	6
<i>Gibberella Fujikuroi</i> (Saw.) Wr. (= <i>Fusarium moniliforme</i> Sheld.)	C. B. S.	a	3	12	12	4	3	9	9	2
		b	—	6	6	5	—	10	7	2
<i>Gibberella acuminata</i> Wr. (= <i>F. acuminatum</i> E. et E.)	C. B. S.	a	5½	9	7	0	2½	12	12	3
		b	—	5	3	2	—	7	5	1
<i>Hypomyces solani</i> Rke. et Berth. ... (= <i>F. ventricosum</i> App. et Wr.)	C. B. S.	a	7	9	8	0	7	3	1	0
		b	—	10	2	0	—	11	2	1
<i>Pestalotia funerea</i> Desm.....	C. B. S.	a	5	10	5	1	6	11	5	3
		b	—	12	1	0	—	7	1	0
<i>Phoma glomerata</i> (Cda) Wr. et Hochapfel	P. n. au.	a	10	11	0	0	10	9	0	0
		b	—	9	0	0	—	8	1	1
<i>Phoma dunorum</i> nov. spec.	P. n. au.	a	5	8	6	2	6	9	5	2
		b	—	6	0	0	—	11	1	0
<i>Pyrenochaeta acicola</i> (Lév.) Sacc.....	P. n. au.	a	7	9	2	1	8	11	1	0
		b	—	9	0	0	—	9	0	0
<i>Stemphylium asperulum</i> Sacc.	P. n. au.	a	10	10	0	0	7½	8	3	1
		b	—	9	2	2	—	8	0	0
<i>Coniothyrium pityophilum</i> (v. Höhn) Petr. et Syd. isol. 2	P. n. au.	a	5	7	7	0	3½	10	10	2
		b	—	7	5	0	—	8	2	1
<i>Gliocladium penicillioides</i> Corda	P. n. au.	a	3½	11	11	2	4½	10	8	0
		b	—	9	1	0	—	9	1	0
<i>Mollisia cinerea</i> (Batsch.) Rehm. ...	P. silv.	a	10	11	0	0	9	11	0	0
		b	—	10	0	0	—	7	0	0
<i>Pyronema confluens</i> Tul.....	P. n. au.	a	10	7	0	0	10	11	0	0
		b	—	5	0	0	—	6	0	0
<i>Pythium intermedium</i> de Bary..... isol. 3	P. n. au.	a	2	10	10	2	2½	12	12	3
		b	—	3	3	0	—	8	8	0
<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn isol. 2	P. n. au.	a	0	8	8	8	0	12	12	12
		b	—	9	9	5	—	8	8	4
Contrôle	—	a	9½	12	0	0	8	10	0	0
		b	—	8	0	0	—	7	0	0

§ 4. Proeven om de invloed van de voeding op de virulentie van de parasiet te bepalen.

Deze paragraaf bevat de beschrijving van proeven, die genomen werden om de invloed van de voeding op de parasitaire eigenschappen van de schimmel na te gaan. Deze dienen als basis voor proeven over de invloed van verschillende grondsoorten op het tot stand komen van de infectie.

Dat de voeding van de schimmel voor de aantasting van essentieel belang is, blijkt duidelijk uit infectieproeven van Rathbun-Gravatt (1925). Zij vond, dat *Fusarium*-soorten steeds virulenter zijn, wanneer zij op rijst waren gekweekt, dan op maïsmeelagar. Zij wijst er op, dat de mycelium-ontwikkeling op rijst veel weelderiger is dan op maïsmeelagar, waaruit zij opmaakt, dat mogelijk de virulentie samenhangt met de mate van groei.

Bunschoten (1933) vond, dat de virulentie van *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) Masee grooter was bij gebruik van anorganische dan van organische N-verbindingen als voeding. Ook de invloed van verschillende koolhydraten was duidelijk: geringe virulentie met cellulose, gummi arabicum en amyllum solubile, sterke virulentie met saccharose, glucose en andere mono- en disacchariden.

Van Eek (1937) kon aantonen, dat *Fusarium*-soorten, die op rijst gekweekt werden, daarop thermostabiele stoffen vormen, die zeer schadelijk voor de plant zijn. Ook trad in rijstculturen sterke „staling” van de schimmels op, zoodat van Eek het gebruiken van deze voedingsbodem ter bepaling van de virulentie afraadt, want dit zegt niets over het mogelijke parasitisme in de praktijk. Dat was dan ook één van de redenen, waarom aanvankelijk bij de infectieproeven die in potten met tuinaarde genomen werden, gebruik gemaakt werd van schimmelculturen die op 2% agar waren gegroeid. Daarbij werd voor elke pot van ± 300 cc inhoud een stukje 2% agar overeenkomende met 5 cc (d. i. een kwart petriskaalcultuur) genomen. De meeste schimmels vertoonden op 2% agar een slechte groei, alleen *Pythium* spp. en *Rhizoctonia solani* groeiden iets beter. Deze proef werd tegen het einde van de zomer 1937 buiten (in een kraam) genomen.

Van de 32 aldus onderzochte soorten waren er onder deze omstandigheden slechts 3 parasitair, t.w. *Pythium de Baryanum*, *Pythium intermedium* en *Rhizoctonia solani*. De beide eerste soorten gaven slechts in gesterili-

seerde grond geringe aantasting. Alleen *Rhizoctonia* was sterk virulent, waarbij opviel, dat de aantasting in niet-steriele grond sterker was dan in steriele grond: in het eerste geval rotten 8 van de 10 planten weg, in het tweede 3 van de 12 planten. In de contrôlepotten groeiden resp. 17 en 15 planten, zoodat *Rhizoctonia* ook de kieming verminderde. Later zal dat nog duidelijker blijken. Opvallend was, dat met de in rein-cultuur in buizen zoo sterk parasitaire *Fusarium*-soorten onder deze omstandigheden nergens aantasting optrad. Uit de volgende proef zal blijken, dat dat inderdaad aan die omstandigheden heeft gelegen.

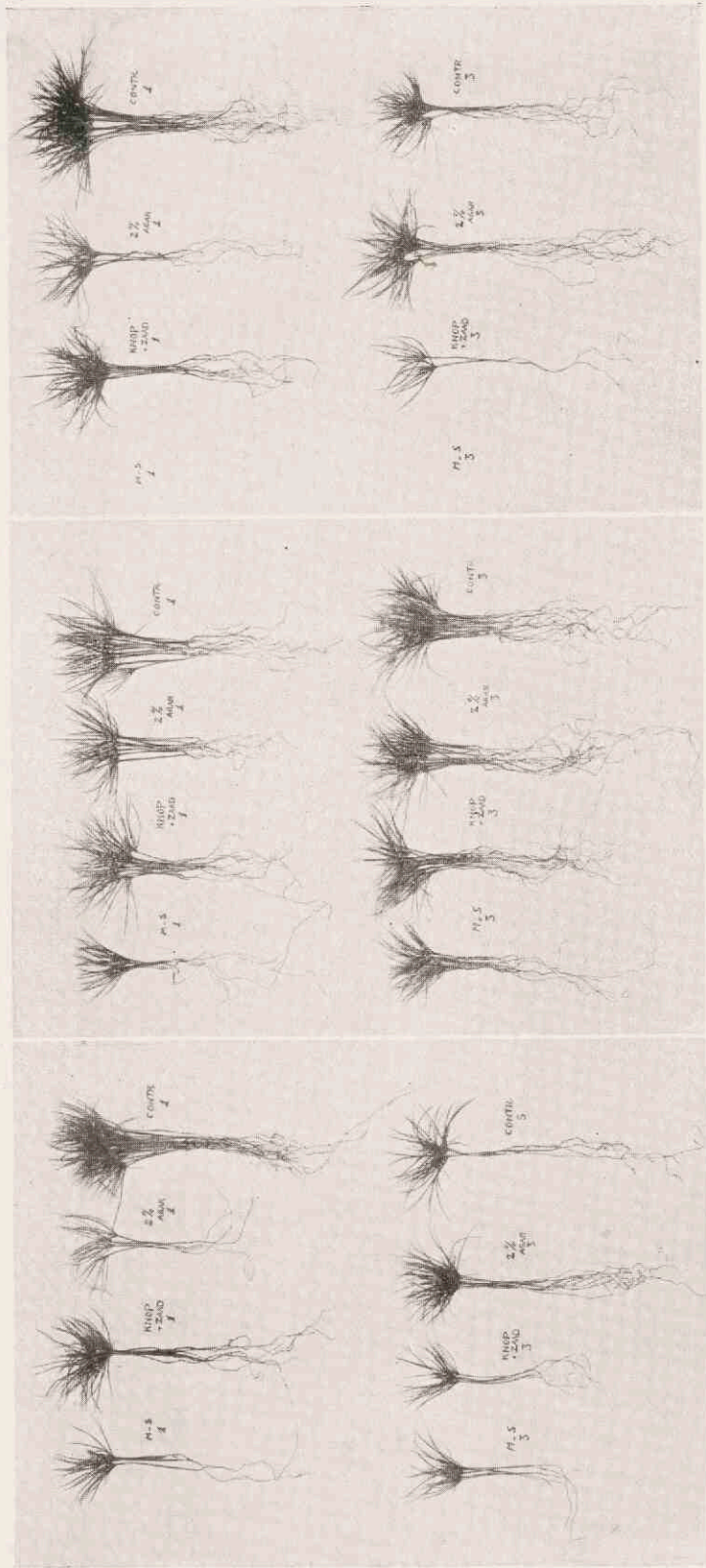
Het leek mij dus niet geschikt om met 2% agar te werken, zoodat ik na moest gaan, met welke voedingsbodem ik mijn verdere proeven zou nemen. Om nu in elk geval resultaten te zien, nam ik in een proef met *Fusarium oxysporum* opzettelijk een groote hoeveelheid infectiemateriaal per pot. In een deel van de potten deed ik een cultuur van deze schimmel, gegroeid op moutsalep-agar (die ongeveer 5% maltose bevat) en wel een heele petrischaal per pot, d. i. ongeveer 20 cc. *Fusarium oxysporum* groeide op deze voedingsbodem bijzonder goed en vormde veel lucht-mycelium. Verder kweekte ik deze schimmel in kolfjes met 20 cc van Knop's oplossing, waaraan ik per kolfje 3 gehalveerde met Ceresan-oplossing gedesinfecteerde en daarna in steriel water uitgewasschen zaden van *Pinus nigra austriaca* bracht. Ik ging hierbij uit van de veronderstelling dat in de natuur mogelijk ook enkele zaden door *Fusarium* overwoekerd worden en wilde nu eens zien, welke infectiekansen daarbij voor de andere zaden ontstaan. Per pot werd de inhoud van 1 kolfje gegoten, waarbij er voor gezorgd werd, dat daarna de gehalveerde zaden, waarop zich het meeste mycelium had ontwikkeld, zoo goed mogelijk over de oppervlakte werden verdeeld. Bij een andere reeks potten werd een *Fusarium*-cultuur, gegroeid op 2% agar, gebracht, waarvan ik 1 petrischaal per potje toevoegde, d. i. dus 4 x zooveel als in de eerste serie infectieproeven in potten gebruikt werd. Aan de contrôlepotten werd niets toegevoegd.

Behalve met tuingrond, die ook in de vorige potproeven was gebruikt, deed ik deze proef met boschgrond en met duingrond. De tuingrond was afkomstig uit het Cantonspark; de boschgrond uit een oud dennenboschperceel van het Baarnsche bosch en de duingrond kwam van *Pinus*-zaaibedden uit de kweekerij Noordveld bij Egmond-Binnen van het Provinciaal Waterleidingbedrijf van Noordholland. De zuurgraden van deze gronden waren als volgt: tuinaarde pH 6,5; boschgrond pH 4,5;

duingrond pH 6,4. Het humusgehalte was resp. 7%, 2% en 2,5%. De in de potten gebrachte schimmelculturen werden met een dunne laag van de desbetreffende grond bedekt. Daarop kwamen per pot 12 met Ceresan-oplossing gedesinfecteerde zaden van *Pinus nigra austriaca*, waaroverheen tenslotte weer een beetje aarde werd gestrooid. Steeds werden voor elke behandeling 4 potten genomen, waarvan 2 met gesteriliseerde (S) en 2 met niet gesteriliseerde (N) grond. Tabel 7 geeft de resultaten van de genomen proeven weer, resp. 1 maand, 2 maanden en 3 maanden na het zaaien (zie ook foto 3).

Duidelijk blijkt voor alle drie grondsoorten de aantasting in de potten met moutsalep-cultuur het eerst te beginnen. De aantasting is in de potten met een cultuur op Knop's oplossing plus gehalveerde zaden het onregelmatigste, wat ook te verwachten was in verband met de onmogelijkheid, om hier het mycelium gelijkmatig over de oppervlakte te verdeelen. Interessant is ook, dat de aantasting in de reeksen met gesteriliseerde gronden, waarin een 2% agarcultuur van *Fusarium oxysporum* is gebracht, nauwelijks minder is dan die in de overeenkomstige potten met moutsalep-agarculturen. Het eenige verschil is, dat de infectie met de 2% agarculturen minder snel verloopt. Iets dergelijks geeft Wollenweber (1913) voor *Fusarium niveum* op. Gekweekt op aardappel had de schimmel na een maand zijn virulentie reeds verloren, terwijl een even oude cultuur op filtreerpapier en 2% suikerwater nog zeer virulent was. Zeker is, dat *Fusarium oxysporum* op moutsalep-agar veel en veel meer mycelium had gevormd dan op 2% agar, waardoor vermoedelijk het snellere verloop van de aantasting in potten met moutsalep-agar verklaard kan worden. Dat inderdaad de hoeveelheid ingebracht mycelium een groote rol speelt bij het tot stand komen van de infectie, wordt m. i. overtuigend bewezen door de hevige aantasting in de potten met een 2% agarcultuur, terwijl in vorige proeven — waarbij slechts $\frac{1}{4}$ van de in deze proef gebruikte hoeveelheid infectiemateriaal werd ingebracht — absoluut geen aantasting optrad.

De aantasting in niet steriele grond is alleen duidelijk te controleren voor boschgrond, omdat daarin blijkens de controlepotten geen parasitaire schimmels aanwezig zijn. Zoowel in natuurlijke duingrond als in natuurlijke tuingrond komen parasieten voor, die in beide gevallen een sterke aantasting geven. Van de aangetaste planten in duingrond werden *Pythium intermedium* en een *Coniothyrium* sp. geïsoleerd; van planten uit tuingrond groeide eveneens *Pythium intermedium* en verder een *Cylindro-*



a. In duingrond.

b. In boschgrond.

c. In tuingrond.

Infectieproeven van *Pinus nigra austriaca* met *Fusarium oxysporum* gekweekt op verschillende voedingsbodems (tabel 7). Oogst na afloop van de proef. Bovenste rijen (1) van gesteriliseerde, onderste rijen (3) van ongestiliseerde grond. m-s = *Fusarium* gekweekt op moutsalep-agar. Knop + zaad = *Fusarium* gekweekt op een oplossing van Knop + gehalveerde steriele zaden. 2 % agar = *Fusarium* gekweekt op 2 % agar. Contrôle = geen schimmel toegevoegd.

Tabel 7.
 INFECTIEPROEVEN MET *FUSARIUM OXYSPORUM* App. et Wr. IN POTTEN.

S = gesteriliseerde grond.
 N = niet gesteriliseerde grond.

Grondsoort en voedingsbodern	Gekiemd per 24 zaden na			Weggevallen na			Gezond na		
	1 m.	2 m.	3 m.	1 m.	2 m.	3 m.	1 m.	2 m.	3 m.
Duingrond:									
mout-salepagar	S	15	17	9	10	12	6	7	5
Knop + Pinuszaden	N	18	19	9	13	14	9	6	5
2% agar	S	19	19	1	10	10	18	9	9
contrôle	N	21	21	4	14	17	18	7	4
	S	17	19	8	15	15	9	4	4
	N	21	21	0	11	12	21	10	9
	S	16	23	0	0	0	16	23	23
	N	16	16	0	8	11	16	8	5
Boschgrond:									
mout-salepagar	S	11	14	5	9	9	6	5	5
Knop + Pinuszaden	N	19	21	7	11	11	12	10	10
2% agar	S	19	21	5	10	10	14	11	11
contrôle	N	17	18	0	0	1	17	18	17
	S	19	22	2	7	13	17	14	9
	N	22	22	0	2	3	22	20	19
	S	16	17	4	5	5	12	12	12
	N	18	19	0	0	0	18	19	19
Tuingrond:									
mout-salepagar	S	18	18	13	17	17	5	1	1
Knop + Pinuszaden	N	17	17	6	15	17	11	2	0
2% agar	S	18	18	5	8	9	13	10	9
contrôle	N	19	19	1	14	17	18	5	2
	S	19	20	5	9	14	14	11	6
	N	17	19	2	7	8	15	12	11
	S	19	22	0	0	0	19	22	22
	N	18	18	0	6	9	18	12	9

carpon sp. Bij de boschgrondreeks zijn de resultaten met de gesteriliseerde grond niet zuiver, omdat daar zooals uit de desbetreffende contrôle blijkt, eenige aantasting optreedt. Steeds werd *Trichoderma lignorum* geïsoleerd; trouwens reeds aan het beeld van de aantasting was dadelijk te zien, dat we hier met deze schimmel te maken hadden. Op gesteriliseerde boschgrond groeit altijd *Trichoderma*, zooals ook later herhaaldelijk zal blijken. Hoewel dat eigenlijk in de volgende paragraaf thuishoort, wijs ik er hier reeds op, dat de boschgrondreeks na afloop van de proef duidelijk het beste er bij staat. De kieming van het zaad wordt blijkbaar nergens door *Fusarium oxysporum* beïnvloed. Ook uit de literatuur (Hartley, Merrill en Rhoads, 1918; Roth, 1935) blijkt dat *Fusarium* spp. tijdens de kieming van het zaad geen schade veroorzaken in tegenstelling met soorten als *Rhizoctonia solani* en *Pythium de Baryanum*.

Voor de later (pag. 73) te behandelen antagonismeproeven was het noodig te weten welke invloed de voedingsbodem had op de aantasting door *Trichoderma lignorum* in potten met gesteriliseerde boschgrond. Allereerst deed ik een proef om te weten te komen, in hoeverre *Trichoderma lignorum* zonder toevoeging van andere meer parasitaire schimmels de ontwikkeling van *Pinus nigra austriaca* beïnvloedt. Verder nam ik aan, dat de typische aantastingen door *Trichoderma*, veroorzaakt werden door de toxische stoffen die deze schimmel afscheidt, zoodat men dan in de mate van aantasting tevens een middel zou hebben om de hoeveelheid van die toxinen, gevormd op verschillende voedingsbodems, te vergelijken. Het zal n.l. in een volgende paragraaf blijken, dat juist deze toxinen voor de antagonistische werking van *Trichoderma* ten opzichte van andere schimmels aansprakelijk zijn (Weindling, 1934; Hino, 1935; Waksman, 1937). Daar kom ik op deze stoffen uitvoerig terug, alleen is het noodig, hier te vermelden, dat Weindling (1934) aan heeft kunnen toonen, dat de toxinen van *Trichoderma lignorum* vooral bij lage pH gevormd worden en daar veel langer blijven bestaan dan bij een hogere pH. Zoo worden bij pH 4,5 (de zuurgraad van de door mij gebruikte boschgrond) 10 tot 14 maal zooveel toxinen gevormd als bij pH 6,5 (de zuurgraad van de door mij gebruikte tuingrond), terwijl de toxische werking bij pH 4,5 ongeveer 5 à 10 keer zoo lang blijft bestaan als bij pH 6,5. Het behoeft gezien Weindling's resultaten dus niet te verbazen, dat bij mijn proeven met boschgrond wel eens beschadiging

van de kiemplanten optrad. Ook hier geldt weer, hoe meer mycelium, hoe meer toxinenproductie.

De *Trichoderma*-proef werd in een warme kas genomen met langdurig gesteriliseerde boschgrond. Vergeleken werd de aantasting veroorzaakt door *Trichoderma lignorum* ,gekweekt op moutsalep-agar, kers-agar en op 2% agar; van elk 4 potten. Per pot werd 20 cc van de schimmelcultuur toegevoegd, waarvan de helft ongeveer ter halve hoogte van de pot werd gebracht en de rest dicht onder de oppervlakte; er werden 12 met $\frac{1}{4}\%$ Ceresan-oplossing gedesinfecteerde zaden van *P. nigra*

Tabel 8.

TRICHODERMA-AANTASTING IN GESTERILISEERDE BOSCHGROND.

Proef begonnen 19 Jan. 1938 in warme kas.

Voedingsbodem	Gekiemd na		Weggefallen na		Topnecrose na		Gezond na	
	1 m.	2½ m.	1 m.	2½ m.	1 m.	2½ m.	1 m.	2½ m.
Moutsalep-agar	36	38	4	7	8	10	24	21
Kers-agar	33	39	1	3	7	6	25	30
2% agar	33	37	1	2	5	5	27	30
Contrôle:								
moutsalep-agar	33	37	2	4	5	7	26	26
kers-agar	27	29	2	4	1	1	24	24
2% agar	40	42	0	0	0	1	40	41
zonder voedingsbodem	24	38	0	0	0	1	24	37

austriaca per pot gezaaid. De schimmelculturen waren 12 dagen oud voor zij in de grond kwamen. Als contrôles nam ik gelijke hoeveelheden van dezelfde voedingsbodem, maar natuurlijk zonder schimmel, plus een extra contrôle-reeks zonder voedingsbodem. Ondanks alle voorzorgsmaatregelen slaagde ik er niet in de contrôle-potten vrij van *Trichoderma* te houden. De oppervlakte van de meeste *Trichoderma*-potten was na eenige dagen n.l. bedekt met een groene laag conidiën, die zich weldra door de heele kas verbreidden en ook mijn contrôle-potten infecteerden.

Ook hier is de aantasting met culturen op moutsalep-agar het hevigst, zoowel wat het aantal weggefallen planten als wat het voorkomen van topnecrose betreft. Onder topnecrose zijn hier alle graden van cotyl-aantasting samengebracht, dus zoowel de gevallen waarbij de heele top

van de plant afsterft, als de gevallen waarbij eenige cotylen verdrogen. Ik verwijs voor deze ziektesymptomen verder naar § 7 van dit hoofdstuk. In de kolom wegvallers bracht ik alle volkomen gedooide planten onder, die hetzij door wortelrot, hetzij na een hevige topnecrose zijn bezweken.

Tenslotte werd nog een proef genomen om na te gaan of het ook mogelijk zou zijn het gebruik van vaste voedingsbodems voor het doen van infectie-proeven volkomen te elimineeren, hetgeen een besparing aan werk en materiaal zou beteekenen. Daartoe werd een infectieproef in gesteriliseerde tuinaarde met de volgende schimmels aangezet: *Pythium de Baryanum*, *Rhizoctonia solani* en *Fusarium oxysporum*. Als vaste bodem werd aan verdunde moutsalep-agar, die $\frac{1}{5}$ van de normaliter genomen hoeveelheid mout bevatte, de voorkeur gegeven. Van elke schimmel infecteerde ik hiermee 4 potten (10 cc per pot). De andere potten kregen als infectiemateriaal voor de helft culturen op Knop's oplossing, waaraan $\frac{1}{2}\%$ saccharose was toegevoegd (15 cc per pot), terwijl aan de rest de schimmels, die eveneens op deze oplossing hadden gegroeid, zónder hun voedingsbodem werden gegeven. De ouderdom van de gebruikte culturen was als volgt: *Pythium* 4 dagen, *Rhizoctonia* 8 dagen en *Fusarium* 9 dagen. Ik verdeelde de schimmels zoo goed mogelijk over de geheele oppervlakte van de pot, wat het gemakkelijkste met de vaste moutsalep-agar, die in blokjes was gesneden, gelukte. Daarna vulde ik ongeveer 1 cm aarde bij en zaaide vervolgens *Pinus nigra austriaca* 12 gedesinfecteerde zaden per pot. Deze proef werd, in tegenstelling tot de vorige, buiten genomen in een kraam. Gezaaid werd 1 dag na het infecteeren van de grond, op 9 Juli 1938. In tabel 9 worden de resultaten na 1, $1\frac{1}{2}$ en $2\frac{1}{2}$ maand weergegeven.

Uit deze tabel blijkt dat *Pythium de Baryanum*, *Rhizoctonia solani* en *Fusarium oxysporum* zich geenszins gelijk gedragen wat betreft de beïnvloeding van de virulentie door de voedingsbodem.

Fusarium oxysporum tastte betrekkelijk weinig aan, maar ook in deze proef was de aantasting het sterkste bij gebruik van moutsalep-agar, die hier slechts $\frac{1}{5}$ van de bij tabel 7 vermelde hoeveelheid maltose bevatte.

Bij *Rhizoctonia solani* blijkt alleen met moutsalep-agar aantasting op te treden. Toch was de schimmel goed gegroeid in kolfjes met Knop plus suiker.

Bunschoten (1933) vond geen noemenswaardige verschillen in aan-

Tabel 9.

AANTASTING DOOR PYTHIUM DE BARYANUM, RHIZOCTONIA SOLANI EN FUSARIUM OXYSPORUM

GEKWEEKT OP DIVERSE MEDIA.

Proef begonnen 9 juli 1938 in open kraam.

Pinus nigra austriaca in gesteriliseerde tuinaarde.

Schimmel en voedingsbodem	Gekiemd na		Weggevallen na			Gezond na				
	1 m.	1½ m.	2½ m.	1 m.	1½ m.	2½ m.	1 m.	1½ m.	2½ m.	
<i>Pythium de Baryanum</i>										
verd. mout-salepagar	32	33	33	6	8	8	26	25	25	25
Knop + ½% suiker	35	35	35	7	10	11	28	25	24	24
zonder voedingsbodem	35	35	35	3	7	8	32	28	27	27
<i>Rhizoctonia solani</i>										
verd. mout-salepagar	29	29	29	12	17	17	17	12	12	12
Knop + ½% suiker	44	45	45	0	0	0	44	45	45	45
zonder voedingsbodem	31	32	32	1	1	1	30	31	31	31
<i>Fusarium oxysporum</i>										
verd. mout-salepagar	40	42	42	3	7	8	37	35	34	34
Knop + ½% suiker	38	42	42	1	2	4	37	40	38	38
zonder voedingsbodem	43	44	44	2	5	5	41	39	39	39
Contrôle										
verd. mout-salepagar	41	42	42	0	0	0	41	42	42	42
Knop + ½% suiker	37	38	38	0	0	0	37	38	38	38
zonder voedingsbodem	45	46	46	0	1	2	45	45	44	44

tasting door *Rhizoctonia* bij gebruik van verschillende N- en C-bronnen. Zij deed al haar infecties met agar-blokjes, omdat zij gevonden had, dat *Sclerotinia Libertiana* zich wel in een vloeibaar medium ontwikkelde, maar infecties met een schimmelmassa uit zoo een voedingsoplossing weinig aantasting gaven, doordat het mycelium dan niet zoo goed in de grond groeide. Met het oog hierop gebruikte zij ook voor haar infectie-proeven met *Rhizoctonia solani* uitsluitend vaste voedingsbodems.

Pythium stoort zich blijkbaar niet veel aan de voeding, tenminste niet wat betreft de hier gebruikte media. Het lijkt mij niet uitgesloten dat dit in verband staat met de waarschijnlijk principieel verschillende aard van aantasting door *Pythium* en door de andere hier genoemde schimmels. Van vele Phycomyceten is het bekend, dat zij in onverwonde planten binnendringen.

Men krijgt de indruk, dat *Pythium* vooral langs mechanische weg de planten aantast, terwijl *Rhizoctonia* en *Fusarium* spp. voornamelijk door de afscheiding van voor de gastheer toxische stoffen hun schadelijke werking uitoefenen. Een goede bevestiging van deze opvatting is, wat Roth (1935) zag bij zijn proeven, om de invloed van het watergehalte van de bodem op de hevigheid van de wortelbrand van *Picea*-zaailingen te bepalen. Uit zijn infectieproeven met *Pythium de Baryanum* blijkt, dat voor de hevigheid van de wortelbrand aan boven de bodem verschenen kiemplanten vooral de veranderlijke groeisnelheid van de schimmel van belang is en niet de virulentie. Wordt de infectie door *Rhizoctonia solani* veroorzaakt dan heeft in tegenstelling daarmee de van het watergehalte van de bodem afhankelijke virulentie het grootste belang en niet de verschillende vegetatieve groeimogelijkheden van de parasiet. Het is m. i. niet onmogelijk dat door een hoge bodemvochtigheid de door *Rhizoctonia* afgescheiden toxinen zoo sterk verdund worden, dat zij hun werkzaamheid t.o.v. de gastheer verliezen. Het mycelium kan dan natuurlijk nog even goed een flinke groei vertoonen. Voor *Pythium*, waarbij toxinen geen of nauwelijks een rol schijnen te spelen, geldt dat niet, zoodat daarbij de aantasting evenredig is met de vegetatieve groei van de schimmel.

Bij *Rhizoctonia* en bij *Fusarium* zijn andere factoren aan het werk. Matsumoto (1921) toonde voor *Rhizoctonia solani* aan, dat tal van enzymen, als diastase, maltase, cellulase, enz. worden afgescheiden. Uit talrijke publicaties over *Fusarium*-aantastingen (zie overzicht in hoofdstuk 4 bij van Eek, 1937), blijkt onmiskenbaar, dat hier voor de

hoogere plant toxische stoffen worden gevormd. Uit de door mij in deze paragraaf vermelde proeven blijkt duidelijk, dat bij gebruik van moutsalep-agarculturen de aantasting door *Fusarium oxysporum* bijna steeds grooter is dan bij gebruik van andere voedingsbodems. Hetzelfde geldt voor *Trichoderma lignorum*.

Nu is het in dit verband interessant dat van Luijk (1938) die — werkende met *Penicillium expansum*, een voor *Pythium* antagonistische fungus — de invloed van een lange reeks koolhydraten op de afscheiding van schadelijke stofwisselingsproducten naging, vond, dat maltose als bron voor toxinevorming verreweg het beste is. In de moutsalep-agar die ik in de beide eerste proeven van deze paragraaf gebruikte kwam ongeveer 5% maltose voor, in de bodem van de laatste proef $\pm 1\%$. De proeven van van Luijk zijn met de oplossing van Knop genomen, waaraan 2% van de gebruikte koolstofbron werd toegevoegd. Naar het schijnt is maltose ook voor *Fusarium oxysporum* en *Trichoderma* een gunstige koolstofbron voor de vorming van toxinen. Verdere proeven zullen dit uit moeten maken.

§ 5. Proeven met verschillende grondsoorten en verschillende zaadbehandelingen.

A factor, which seems to have an important bearing upon the amount of damage, is the reaction of the soil.

C. M. Gifford, 1911.

Het is reeds lang bekend, dat het optreden van de omvalziekte van coniferen in hooge mate afhankelijk is van de aard van de bodem waarop de zaaibedden zich bevinden. Daarbij werd al dadelijk aan de bodemreactie gedacht. Gifford (1911) merkte op, dat na een zware bemesting van een deel van de kweekkerij met kalkrijke asch, de bodem alkalisch was en sindsdien bleef. In dat gedeelte van de kweekkerij trad ook in latere jaren steeds meer verlies door „damping-off” op dan in het onbehandelde gedeelte. Hartley (1921) komt op grond van zijn onderzoekingen tot de conclusie dat een zure grond ongunstig is voor het optreden van de ziekte. Hij vermoedt dat de blijkbaar belangrijke invloed van de zuurgraad van de bodem op de vermindering van de omvalziekte bij enkele coniferen mogelijk gezocht zal moeten worden in een toename van de

resistentie van de gastheer, meer dan in een groeiverhinderend van de parasieten. Uit latere onderzoeken, vooral van Roth (1935), zal blijken dat toch het laatste het geval is. Geen ernstige schade door „damping-off” trad op in gronden met een pH lager dan 6. Toch moet er aan gedacht worden dat het — aangezien de talrijke coniferensoorten die gekweekt worden voorkeur voor verschillende standplaatsen hebben en vele zeer verschillende parasieten van potentieel belang zijn — niet waarschijnlijk is, dat er een constante betrekking tusschen eenige factor en het optreden van de ziekte gevonden zal worden. Dat kan men wel verwachten bij een ziekte waarbij slechts één enkele parasiet en één enkele gastheer zijn betrokken.

Anderson (1930) vond, dat houtasch de pH van de bodem belangrijk verhoogde. De uitkomsten van de door hem genomen proeven suggereren dat de hevigheid van „damping-off” in direct verband met de waterstof-ionenconcentratie van de bovenste bodemlaag staat. Hij merkte verder op, dat voor *Fusarium* het optimum van werkzaamheid ligt bij een pH van $\pm 6,4$.

Jackson (1933) zag bij zijn proeven in vloeistof- en zand-cultuur een stijging van het percentage aangetaste kiemplanten van douglas en *Pinus ponderosa* bij verhooging van de pH. Verschillende *Pythium*-stammen groeiden niet meer bij een pH 3,5, terwijl de groei van de door hem gebruikte zaailingen bij die pH uitstekend was.

Roth (1935) komt aan de hand van zeer uitgebreide en bijzonder nauwkeurige proeven tot de conclusie dat de zuurgraad van de bodem van eminent belang is voor het al dan niet optreden van wortelbrand-epidemieën bij coniferen. Als pH die in de praktijk in aanmerking komt, waarbij *Rhizoctonia solani* en *Pythium de Baryanum* zoo sterk mogelijk geremd worden, geeft hij op 4,2 tot 5. Evenwel kan pas een pH 3,5 en lager het optreden van de aantasting geheel onmogelijk maken, maar deze zuurgraden beschadigen de wortels van de gastheer (*Picea*) en komen dus niet in aanmerking.

Wean (1937) zag, dat de aantasting van *Pinus strobus*-zaailingen door *Polyporus Schweinitzii* bij pH 7 ruim het dubbele was van die bij pH 4,5.

Kadow en Anderson (1937) konden geen invloed van het bodemtype of de zuurgraad vaststellen op het verloop van „damping-off” van groente-zaailingen. Wel merkten zij op, dat een hoog humusgehalte de aantasting in de hand werkte. Dat zij geen invloed van de pH vonden, moet komen door het feit, dat zij met pH 5 en hooger werkten, terwijl juist beneden

pH 5 de invloed op de aantasting door *Phytium* en *Rhizoctonia* sterk is; voor groenten komen deze pH's evenwel niet in aanmerking.

Reinking (1935) die over *Fusarium*-aantasting van bananen werkte, vond wel groote invloed van de grondsoort op de hevigheid van de aantasting, maar er bestond geen correlatie met de pH. Hij komt tot de conclusie dat de in de grond aanwezige hoeveelheid schimmel de belangrijkste factor is en deze schimmelhoeveelheid is in zandige bodem veel grooter dan in klei, onafhankelijk van de pH. Waardoor dat komt kan hij niet verklaren.

M. i. is de aanwezige schimmelhoeveelheid eveneens van veel belang in al die gevallen, waar de pH van de bodem wèl een belangrijke rol speelt. Het is echter noodzakelijk ook op andere factoren van de bodem te letten, zooals humusgehalte, korrelgrootte, aanwezigheid van andere, niet parasitaire fungi, enz.

In de vorige paragraaf bleek de aantasting door *Fusarium oxysporum*, gegroeid op verschillende voedingsbodems, in boschgrond veel minder hevig te zijn dan in duin- en tuingrond, vooral wanneer de grond niet gesteriliseerd was. Weliswaar zijn in dit geval door het voorkomen van parasieten zoowel in duin- als in tuingrond de uitkomsten minder duidelijk te interpreteren; maar ook in gesteriliseerde toestand blijkt de superioriteit van de boschgrond. Ik verwijs hiervoor naar foto 3, die een en ander duidelijk demonstreert.

Het kwam mij wenschelijk voor het verband tusschen aantasting en bodem wat uitvoeriger te onderzoeken, terwijl ik daarbij tevens de invloed van zaaddesinfectie op de aantasting en de groei van de plant naging, omdat dat laatste bij proeven met coniferen steeds verwaarloosd werd. Om met meer materiaal te kunnen werken gebruikte ik kistjes met een inhoud van $\pm 6\frac{1}{2}$ dm³, terwijl per kistje 50 zaden van *Pinus nigra austriaca* in rijen van 10 werden gezaaid.

Voor de eerste proefserie (tabel 10) gebruikte ik:

tuingrond (T) een zandige, middelmatig humushoudende grond, afkomstig uit het Cantonspark, met een pH 6,1 en een humusgehalte van 7%; *)

boschgrond (B) afkomstig uit een oud perceel dennenbosch uit het

*) Het onderzoek van de grondmonsters werd verricht door het Bedrijfslaboratorium voor Grondonderzoek te Groningen. Voor de bepaling van de pH wordt daar gebruik gemaakt van de chinhydron-methode.

Tabel 10.

PROEF MET VERSCHILLENDE GRONDSOORTEN EN VERSCHILLENDE
ZAADESINFECTIES 1.

In de tabel wordt de toestand na 2½ maand weergegeven.

T = tuingrond (pH = 6,1; humus % = 7)

B = boschgrond (pH = 4,0; humus % = 2)

H = heidegrond (pH = 5,6; humus % = 1)

N = niet gesteriliseerde grond.

S = gesteriliseerde grond.

O = ongedesinf. zaad.

C = met Ceresanoplossing gedeseinf. zaad.

Cp = met Ceresanpoeder gedeseinf. zaad.

R = *Rhizoctonia solani* toegevoegd.

Grondsoort en zaadbehandeling	Gekiemd per 50 zaden	Weggevallen	Gezond	Gemiddelde wortellengte in mm	Gemiddelde stengellengte in mm
T O N	23	10	13	75 ± 5,6	64 ± 2,5
B O N	28	3	25	70 3,8	69 2,6
H O N	35	1	34	72 2,8	67 1,6
T O S	20	0	20	59 3,7	58 2,0
B O S	25	3	22	46 3,8	70 1,9
H O S	12	0	12	60 2,9	70 3,4
T C N	38	13	25	63 2,6	77 1,8
B C N	38	0	38	70 2,4	70 1,1
H C N	36	0	36	80 3,2	70 1,2
T C S	22	1	21	66 2,8	73 1,3
B C S	31	7	24	54 4,3	72 3,7
H C S	17	1	16	55 2,7	70 2,2
T Cp N	38	3	35	77 3,4	72 1,2
B Cp N	37	9	37	71 3,2	64 1,6
H Cp N	43	0	43	66 1,4	67 1,7
T Cp S	27	0	27	69 3,5	74 1,5
B Cp S	24	1	23	57 3,3	74 2,9
H Cp S	15	0	15	61 2,8	72 2,6
T C R N	29	21	8	64 8,6	74 2,1
B C R N	36	3	33	67 3,8	73 1,4
H C R N	36	8	28	67 2,1	78 1,1
T C R S	29	6	23	69 4,4	73 1,9
B C R S	22	5	17	51 4,1	61 3,9
H C R S	36	12	24	64 1,0	78 2,1

Baarnsche bosch; de boschhumuslaag werd verwijderd, zoodat bruingeel zand met wat kleine takjes en enkele naalden overbleef. De pH van deze grond is 4,0; het humusgehalte 2 %;

heigrond (H) afkomstig van een heiveld met vliegdennen in het Gooisch Natuurreservaat; de pH van deze grond is 5,6 en het humusgehalte 1 %.

Met deze drie grondsoorten nam ik de volgende proeven:

1. bezaaiing met ongedesinfecteerd zaad (O), welke tevens als contrôle dienst deed;

2. het zaad werd gedurende een half uur met een $\frac{1}{4}$ % oplossing van Ceresan (C) behandeld en niet nagespoeld met water;

3. het zaad werd gedurende 5 minuten flink geschud met Ceresan-poeder (Cp; 0,2 g per 100 g zaad);

4. zaadbehandeling als bij 2 maar aan de grond werd een *Rhizoctonia solani*-cultuur toegevoegd en wel 40 cc 2 % agar met de schimmel per kist; de culturen waren in blokjes van ± 1 cm² gesneden en zoo goed mogelijk over de oppervlakte van een kist verdeeld. Daarover kwam een dun laagje zand en dan werd in rijen van 10 zaden gezaaid, door, voor elke grondsoort met een apart afgegloeid stokje, ondiepe richels (maximaal $\frac{1}{2}$ cm) te maken, die na het zaaien werden dichtgemaakt. In de tabel wordt deze proef met CR aangeduid. Elke serie werd zoowel met gesteriliseerde grond (S) als met onbehandelde, niet steriele grond (N) aangezet. Begin van de proef 7 Oct. 1937; tot 22 Oct. buiten in een open kraam, daarna in een weinig verwarmde kas.

Omdat de voorwaarden waaronder deze proef werd genomen ongunstig waren en vooral ook om de in sommige opzichten duidelijk sprekende verschillen te testen, herhaalde ik deze proef. In plaats van 50 werden nu 100 zaden per behandeling genomen en in 2 kistjes gezaaid. Bovendien werden nog 2 grondsoorten, beide afkomstig uit coniferen-kwekerijen, ingelascht, zoodat ik met 5 verschillende bodems werkte. Nieuw waren:

duingrond (D) afkomstig van de kwekerij van het Waterleidingbedrijf van Noordholland te Bakkum; de pH van deze grond was 6,4, het humusgehalte $2\frac{1}{2}$ %;

lössgrond (L) afkomstig van coniferenzaaibedden van Middachten, de Steeg. Analyse van deze grond: pH 5,8, grof zand 36 %, fijn zand 50 %, leem 11 %, humus 2,7 %. Het Bedrijfslaboratorium merkte

hierbij op, dat deze samenstelling zeer afwijkt van die van de Limburgsche lössgronden, die veel meer fijne deelen, vooral leem, bevatten.

Deze proef werd genomen in een matig verwarmde kas met een goede vochtigheidsgraad. Begin van de proef 25 Jan. 1938, zie tabel 11.

Letten we eerst eens op de kieming in de verschillende gesteriliseerde en niet gesteriliseerde gronden, dan blijkt deze bij de eerste proef in de steriele grond steeds minder goed te zijn dan in de onbehandelde grond. Ik laat daarbij de serie waaraan *Rhizoctonia* is toegevoegd even buiten beschouwing, omdat daarbij de gesteriliseerde grond natuurlijk haar steriliteit dadelijk verloren heeft. De oorzaak van deze verschillen is m. i. waarschijnlijk het ontbreken van de kieming-bevorderende grondschemmels in de gesteriliseerde grond. De kieming was tengevolge van de ongunstige weersomstandigheden (koude) bij alle kistjes zeer vertraagd en duurde ± 2 x zoo lang als normaal. Mogelijk zou deze lage temperatuur tijdens de eerste weken van de proef ook de reden kunnen zijn voor het ontbreken van kieming-bevorderende bodemschemmels in de gesteriliseerde kistjes, want onder gunstiger omstandigheden zullen spoedig enkele schimmels via de lucht in de open kistjes terechtkomen en daar haar kieming-bevorderende werking uitoefenen. In de volgende proeven, die onder veel gunstiger omstandigheden werden genomen, blijft een verschillende kieming in steriele en normale grond volkomen achterwege.

Ook blijkt de zaaddesinfectie duidelijk een gunstige invloed op de kieming uit te oefenen, in de tweede proef vooral in bosch-, tuin- en lössgrond. Dit is ook herhaaldelijk door andere onderzoekers geconstateerd. Voor de beïnvloeding van de kieming maakte het over het algemeen in mijn proeven geen verschil, of nat of droog met Ceresan gebeitst werd, maar de kolom met het aantal aangetaste plantjes in proef 1 toont duidelijk, dat door droog beitsen het optreden van ziekten sterker tegengegaan wordt dan door nat beitsen. Bij de tweede proef komt dat niet zoo goed uit, alleen blijkt daar, dat top-necrose nooit voorkomt bij planten uit met Ceresanpoeder behandelde zaden.

Laten we de series waarbij *Rhizoctonia solani* in de bodem werd gebracht buiten beschouwing, dan blijkt, dat in sommige grondsoorten schadelijke parasieten voorkomen en in andere niet. Het sterkst was de aantasting in lössgrond, waar ongeveer $\frac{3}{4}$ van de zaailingen wegviel. Bij isolaties van een deel der zieke planten werd hoofdzakelijk *Rhizoctonia solani* gevonden, maar daarnaast *Fusarium* spp., een *Pythium* sp., een

Tabel 11. PROEF MET VERSCHILLENDE
GRONDSOORTEN EN VERSCHILLENDE ZAADDESINFECTIES 2.

In de tabel wordt de toestand na 2½ maand weergegeven.

H = heidegrond O = ongedesinfecteerd zaad
D = duingrond C = met Ceresanoplossing gedesinfecteerd zaad
B = boschgrond Cp = met Ceresanpoëder gedesinfecteerd zaad
T = tuingrond R = *Rhizoctonia solani* toegevoegd
L = lössgrond N = niet gesteriliseerde grond S = gesteriliseerde grond

Grondsoort en zaad- behandeling	pH	Humus %	Ge- kiemd per 100 zaden	Weg- gevallen	Top necrose	Gezond	Totaal droog gewicht in g	Gem. droog gewicht p-plant in mg	Gem. lengte stengel + cotylen in mm
H O N	5,6	1	85	0	1	84	6,7	79	72 ± 1,4
D O N	6,4	2,5	82	29	0	53	3,5	66	66 2,5
B O N	4,0	2	74	0	0	74	5,7	77	73 2,8
T O N	6,1	7	86	6	0	80	6,05	76	76 2,2
L O N	5,8	2,7	70	53	0	17	1,5	88	77 4,2
H O S	5,6	1	91	1	0	90	7,15	79	75 1,1
D O S	6,4	2,5	92	7	0	85	8,6	101	71 1,9
B O S	4,0	2	81	1	9	71	7,65	108	70 2,8
T O S	6,1	7	82	2	4	76	10,85	143	78 1,7
L O S	5,8	2,7	76	6	5	65	9,1	140	78 2,5
H C N	5,6	1	98	0	1	97	7,85	81	72 1,9
D C N	6,4	2,5	80	30	0	50	3,2	64	63 2,5
B C N	4,0	2	95	0	0	95	6,6	69	73 2,2
T C N	6,1	7	87	6	0	81	6,2	77	79 2,2
L C N	5,8	2,7	74	59	0	15	1,15	77	67 3,2
H C S	5,6	1	94	1	0	93	8,0	86	70 1,0
D C S	6,4	2,5	91	3	0	88	6,35	72	75 2,0
B C S	4,0	2	91	4	7	80	7,2	90	70 2,3
T C S	6,1	7	93	0	0	93	11,35	122	78 1,8
L C S	5,8	2,7	94	3	1	90	11,4	127	77 3,0
H Cp N *)	5,6	1	92	14	0	78	6,45	83	77 3,2
D Cp N	6,4	2,5	84	23	0	61	4,75	78	76 2,5
B Cp N	4,0	2	85	0	0	85	6,25	74	75 2,1
T Cp N	6,1	7	97	11	0	86	6,8	79	80 2,9
L Cp N	5,8	2,7	83	53	0	30	1,85	62	69 2,2
H Cp S	5,6	1	90	0	0	90	11,45	127	70 1,3
D Cp S	6,4	2,5	90	0	0	90	8,35	93	71 2,2
B Cp S	4,0	2	92	0	0	92	9,05	98	71 1,9
T Cp S	6,1	7	95	0	0	95	12,3	129	85 2,4
L Cp S	5,8	2,7	84	5	0	79	10,8	136	78 2,3
H C R N	5,6	1	87	12	1	74	5,8	78	75 1,6
D C R N	6,4	2,5	66	15	0	51	3,35	66	66 2,4
B C R N	4,0	2	87	0	0	87	6,0	69	73 2,4
T C R N	6,1	7	72	38	0	34	2,8	82	74 3,9
L C R N	5,8	2,7	55	49	0	6	0,6	100	—
H C R S	5,6	1	70	32	0	38	3,85	101	65 3,1
D C R S	6,4	2,5	73	22	0	51	4,6	90	71 3,2
B C R S	4,0	2	93	15	2	76	6,8	89	73 2,4
T C R S	6,1	7	82	22	0	60	7,5	125	83 1,4
L C R S	5,8	2,7	77	30	0	47	5,7	122	74 2,3

*) *Rhizoctonia*-aantasting door gebruik van niet gesteriliseerde *Rhizoctonia*-kist van vorige proef.

Cylindrocarpon sp. en *Phoma glomerata*. Daarvan bleek bij infectieproeven in reïncultuur de laatste niet parasitair, maar *Rhizoctonia solani* tastte alle planten sterk aan (zie tabel 6, *Rhizoctonia solani* isol. 2).

Ook in duingrond trad veel ziekte op, waarbij ongeveer $\frac{1}{3}$ van de planten wegviel. Het slaphangen van de cotylen en de volledig verrotte wortels deden al dadelijk aan een aantasting door *Pythium* denken. Van de meeste onderzochte zieke planten werd dan ook een *Pythium* geïsoleerd en wel *Pythium intermedium*, die bij infectieproeven in reïncultuur parasitair bleek te zijn.

Verder werden een *Fusarium*, een *Phoma* en éénmaal *Rhizoctonia solani* geïsoleerd. Deze laatste isolaties heb ik evenwel niet op hun parasitisme onderzocht. Ook in de tuingrond kwam eenige, zij het vrij onbeduidende, aantasting voor. Van de zieke planten werden geïsoleerd: *Pythium intermedium*, *Fusarium* sp., *Cylindrocarpon* sp.

Alleen de hei- en de boschgrond waren blijkbaar vrij van schadelijke fungi, aangezien hierin geen aantasting optrad, één kistje met heizand uitgezonderd. Maar dat kwam door een slordigheid van mij, waardoor een ongedesinfecteerd kistje, waarin in de vorige proef *Rhizoctonia* was gebracht, gebruikt werd. Ik had deze kisten n.l. gemerkt, juist om ze te laten steriliseren, maar had deze eene kist blijkbaar over het hoofd gezien. Bij isolatie van de in die kist aanwezige zieke planten kwam uitsluitend *Rhizoctonia* te voorschijn, waaruit naar mijn meening overtuigend blijkt, dat hier de gemaakte fout en niet de heigrond zelf de oorzaak was voor het optreden van de infectie.

Ook in de kistjes met gesteriliseerde grond trad soms eenige aantasting op door toevallige infecties uit de lucht, of bij de niet gedesinfecteerde zaden voor een deel door zaadschimmels, die vanaf de lang zittende zaden de cotylen aantastten. De oorzaak van de aantasting in steriele boschgrond was steeds *Trichoderma lignorum*, die hier op de bodemoppervlakte fructificeerde. Overtuigend blijkt in dit geval de gunstige werking van een droge Ceresanbehandeling van het zaad: alleen in de eerste proef trad één aangetast plantje op. Hoofdzakelijk veroorzaakt *Trichoderma* top-necrose; soms vallen de planten volledig weg. Maar ook al gebeurt dat niet, dan is de aantasting meestal toch zoo hevig, dat de planten zich niet normaal kunnen ontwikkelen (zie voor beschrijving ziektesymptomen van deze schimmel pag. 95).

In gesteriliseerde tuingrond met ongedesinfecteerde zaden kwam ook eenige aantasting voor, blijkbaar door met het zaad meegekomen fungi

veroorzaakt, want als de zaden met een Ceresanoplossing of met Ceresanpoeder behandeld werden, had in deze gesteriliseerde grond nergens aantasting plaats.

Isolaties van zieke planten gaven *Fusarium* en *Cylindrocarpon* sp., terwijl één van de cotyl-aantastingen, waardoor een plant tenslotte te gronde ging, veroorzaakt werd door *Coniothyrium* sp. Uit zieke planten van steriele duingrond groeide *Pythium intermedium*. Van de op steriele lössgrond aangetaste planten werden geen isolaties gedaan.

Bezien wij de kolom waarin het aantal gezonde planten wordt vermeld, en letten wij daarbij weer niet op de series die met *Rhizoctonia solani* geïnfecteerd waren, dan valt voor de niet gesteriliseerde gronden dadelijk op, dat in de eerste proef in hei- en boschgrond de meeste gezonde planten voorkomen, terwijl uit de tweede tabel blijkt, dat in hei-, boschen tuingrond belangrijk meer planten gezond zijn gebleven dan in duinen lössgrond. Natuurlijk wordt dit in de kolom die het totale drooggewicht in tabel 11 aangeeft weerspiegeld. Ook ziet men daar, dat de drooggewichten voor de steriele gronden beter zijn dan voor de niet steriele. Dat dat niet alleen door de sterkere aantasting op niet steriele grond wordt veroorzaakt, komt heel goed tot uiting in de kolom, waarin het gemiddelde berekende drooggewicht per plant staat vermeld.

Hoewel bij de eerste proef geen drooggewichten werden bepaald, kan men daar uit de som van de gemiddelde stengel- en wortellengten wel eenige conclusies trekken. Merkwaardigerwijze is deze som daar bij alle gesteriliseerde gronden lager dan bij de niet gesteriliseerde. Wat de oorzaak van dit verschillend gedrag in beide proeven is, is niet duidelijk. Zonder eenige twijfel zijn uitwendige omstandigheden als temperatuur en vochtigheid, die gedurende de beide proeven zeer ongelijk waren, van belang geweest.

In tabel 11 heb ik er van afgezien om de wortellengten te meten, omdat, hoe voorzichtig ik het ook aanlegde, de over de bodem van de kist door elkaar groeiende wortels moeilijk zonder beschadiging uiteen gehaald konden worden, zoodat een drooggewicht-bepaling, waarbij ik ook de afgebroken worteltjes meewoog, een zuiverder beeld van de ontwikkeling van de planten gaf. In de eerste proef groeiden de zaailingen door de lagere temperatuur minder krachtig, zoodat de wortels niet dooreengestremgeld waren en gemakkelijk zonder beschadiging uit de kistjes genomen konden worden. In de tweede proef werden de stengel-lengten alleen van de middelste rij planten uit iedere kist bepaald; voor

niet gesteriliseerde lössgrond met *Rhizoctonia* konden geen waarden opgegeven worden, omdat hier de middelste rij in beide kistjes geheel was weggevallen.

Het belangrijkste gedeelte van deze proeven is dat waarbij *Rhizoctonia solani* aan de verschillende grondsoorten werd toegevoegd.

Uit beide tabellen, vooral uit de tweede, blijkt dat deze zeer virulente parasiet in niet gesteriliseerde boschgrond practisch geen aantasting geeft. Ook in gesteriliseerde boschgrond doet deze schimmel weinig kwaad; vooral als wij de hier optredende aantasting met die van BCS vergelijken, zien wij in de eerste tabel geen verschil; want ook bij toevoeging van *Rhizoctonia* is steeds een deel van de zieke planten door *Trichoderma* weggevallen.

In de tweede proef zijn de verschillen wat grooter, maar ook daar is gesteriliseerde boschgrond, ondanks een geringe aantasting door *Rhizoctonia* en *Trichoderma*, qua aantal planten het beste.

In niet gesteriliseerde heigrond vallen eveneens maar weinig planten weg. In duin-, tuin- en lössgrond treedt naast omvalziekte een duidelijk kiemingsverlies op, maar van de gekiemde planten is later in de kisten met duingrond veel minder weggevallen dan in de series van deze grond waaraan geen schimmel werd toegevoegd. Mogelijk heeft hier een antagonistische werking plaats tusschen *Rhizoctonia solani* eenerzijds en *Pythium intermedium* anderzijds.

Van antagonisme is in de lössgrond natuurlijk niets te merken, want de daarin al aanwezige parasiet bleek immers eveneens *Rhizoctonia solani* te zijn. Typisch is, dat bij beide proeven in niet gesteriliseerde tuingrond een veel heviger aantasting optreedt dan in gesteriliseerde tuingrond. Hoogstwaarschijnlijk is hier een synergistisch werkend organisme in het spel.

Richards (1921) vermeldt dat hij bij zijn infectie-proeven van aard-appelspruiten met *Rhizoctonia solani* uitgesproken meer beschadiging kreeg in ongestriliseerde dan in gesteriliseerde grond, terwijl alle planten in de contrôlepotten vrij van aantasting bleven.

Van Luijk (1934) vond bij infectieproeven van grassen met *Rhizoctonia solani* hetzelfde. Hij denkt aan een stimulatie van de virulentie door saprophytische bodemschimmels of bacteriën en wijst op een mogelijk verband met de gunstige invloed die zaadschimmels op de kieming kunnen hebben. Het lijkt hem niet onmogelijk, dat de saprophyten

verschillende voedingsstoffen en voor de planten en voor de parasitaire schimmels beter opneembaar kunnen maken.

Dat in enkele gevallen de ontwikkeling van de overlevende zaailingen in de *Rhizoctonia*-reeks beter is dan normaal — hooger gemiddeld drooggewicht per plant — moet worden toegeschreven aan het kleine aantal planten dat zich in de desbetreffende kisten heeft ontwikkeld en dat dus een groote hoeveelheid voedingsstoffen tot zijn beschikking had. In een volgende proef (tabel 12) komt dat nog veel duidelijker uit.

Vatten we de resultaten van deze beide proeven zeer in het kort samen, dan blijkt:

1. dat een zaadbehandeling met Ceresanpoeder, overeenkomende met 0,2 g per 100 g zaad, dikwijls een gunstige invloed heeft en op een vermindering van de aantasting en op de ontwikkeling van de planten;
2. dat van de gebruikte grondsoorten boschgrond de beste resultaten gaf wat betreft het aantal verkregen zaailingen, terwijl *Rhizoctonia solani* in deze grond geen aantasting kon veroorzaken.

Vooraf het ontbreken van zieke planten na een infectie met *Rhizoctonia* in boschgrond was zeer opvallend. Als oorzaak hiervoor komen m. i. twee mogelijkheden in aanmerking, die waarschijnlijk beide in meerdere of mindere mate werkzaam zijn, nl. de lage pH en de bijzondere geschiktheid van deze grond voor de ontwikkeling van de bekende antagonist van *Rhizoctonia*, *Trichoderma lignorum*, want dit is de eenige grondsoort waarop deze schimmel na sterilisatie steeds vanzelf gaat groeien.

Uit de exacte onderzoeken van Roth (1935) die bij constante temperatuur, vochtigheid en belichting de invloed van de pH op de aantasting van *Picea*-kiemplanten door *Rhizoctonia solani* naging, blijkt overtuigend, dat bij een pH 4 de aantasting door deze schimmel zeer gering is. Toch kan de pH niet de eenige werkzame factor zijn, want de zuurgraad van de gesteriliseerde boschgrond is gelijk aan die van de niet gesteriliseerde, terwijl in de eerste ongetwijfeld eenige aantasting optreedt. Daarom moeten wij wel aannemen, dat de in de natuurlijke bodem aanwezige micro-organismen (o.a. *Trichoderma*) ook een invloed uitoefenen. Ik verwijs in dit verband naar § 6, pag. 71.

Ik had nu dus gevonden, dat in de voorgaande proeven boschgrond steeds de beste uitkomsten gaf, maar . . . ik had steeds met één en dezelfde boschgrond gewerkt, zoodat het noodig was, wilde ik een

Tabel 12.

PROEF MET VERSCHILLENDE SOORTEN DENNENBOSCHGROND
EN VERSCHILLENDE PARASIETEN.

Gezaaid 14 Mei 1938; in de tabel wordt de toestand na 2½ maand weergegeven.

G = Gooireservaat P = *Pythium de Baryanum*
 B = Baarnsche bosch R = *Rhizoctonia solani*
 K = Kampina F = *Fusarium oxysporum*
 V = Veluwe (Speulde)
 E = Elswout N = niet gesteriliseerde grond
 T = Tuingrond S = gesteriliseerde grond

Grondsoort en parasiet	pH	Humus %	Gekiemd per 100 zaden	Weg- gevallen	Gezond	Totaal droogge- wicht in g	Gemidd. droogge- wicht per plant in mg
G P N	4,6	2	89	5	84	12,4	144
B P N	4,0	2	97	2	95	11,2	118
K P N	4,2	7	98	1	97	15,3	158
V P N	4,1	9	96	0	96	22,3	232
E P N	6,5	3	43	13	30	6,7	223
T P N	6,1	7	96	4	92	19,8	215
G P S	4,6	2	86	2	84	13,9	165
B P S	4,0	2	92	1	91	7,45	82
K P S	4,2	7	93	2	91	9,5	104
V P S	4,1	9	96	0	96	12,55	131
E P S	6,5	3	25	18	7	0,9	129
T P S	6,1	7	42	19	23	10,7	465
G R N	4,6	2	38	24	14	3,05	218
B R N	4,0	2	85	7	78	12,5	160
K R N	4,2	7	69	14	55	10,5	191
V R N	4,1	9	75	12	63	14,9	237
E R N ^{*)}	6,5	3	54	26	28	5,2	186
T R N	6,1	7	61	47	14	3,75	268
G R S	4,6	2	76	18	58	11,0	190
B R S	4,0	2	86	14	72	6,6	92
K R S	4,2	7	66	19	47	5,2	111
V R S	4,1	9	93	12	81	11,35	140
E R S	6,5	3	41	24	17	2,05	121
T R S	6,1	7	52	37	15	6,9	460

*) 1 kist uitgevallen, getallen van overgebleven kist verdubbeld.

Vervolg tabel pag. 67.

Grondsoort en parasiet	pH	Humus %	Gekiemd per 100 zaden	Weg- gevallen	Gezond	Totaal droogge- wicht in g	Gemidd. droogge- wicht per plant in mg
G F N	4,6	2	92	0	92	15,15	165
B F N	4,0	2	91	11	80	12,9	161
K F N	4,2	7	90	0	90	15,3	170
V F N	4,1	9	89	2	87	19,0	218
E F N	6,5	3	75	3	72	12,4	172
T F N	6,1	7	93	3	90	19,1	212
<hr/>							
G F S	4,6	2	96	2	94	15,6	166
B F S	4,0	2	93	9	84	9,6	114
K F S	4,2	7	95	2	93	11,6	125
V F S	4,1	9	92	7	85	9,4	111
E F S	6,5	3	81	12	69	8,7	126
T F S	6,1	7	88	25	63	22,5	357
<hr/>							
G — N	4,6	2	79	2	77	14,8	191
B — N	4,0	2	87	0	87	13,85	159
K — N	4,2	7	79	0	79	12,3	155
V — N	4,1	9	85	0	85	17,5	206
E — N	6,5	3	82	6	76	12,4	163
T — N	6,1	7	79	0	79	17,45	221
<hr/>							
G — S	4,6	2	82	0	82	14,55	177
B — S	4,0	2	87	6	81	9,2	114
K — S	4,2	7	89	0	89	11,65	131
V — S	4,1	9	89	1	88	15,8	180
E — S	6,5	3	79	0	79	5,85+)	74+)
T — S	6,1	7	89	0	89	24,55	276

+) Te laag door *Agrotis*-vraat.

algemeene conclusie kunnen trekken, om liefst met zoo verschillend mogelijke dennenboschgronden een proef te nemen.

In die proef gebruikte ik uitsluitend met Ceresanpoeder behandeld zaad en infecteerde naast een serie met *Rhizoctonia solani* een reeks met *Pythium de Baryanum* en een met *Fusarium oxysporum*. De volgende boschgronden werden gebruikt (zie tabel 12):

1. (G) afkomstig uit \pm 28-jarig dennenbosch van het Gooisch Natuurreservaat, bij het Groote Waschmeer ten Zuiden van Hilversum, op stuifzand; pH 4,6; humusgehalte 2%.

2. (B) afkomstig uit het Baarnsche bosch, onder \pm 150-jarige dennen op fluvio-glaciaal zand met weinig boschhumus. pH 4,0; humusgehalte 2%.

3. (K) afkomstig van het landgoed Kampina bij Boxtel, 50—60-jarig dennenbosch op oud bouwland, zeer humeuze, colloïdale grond. pH 4,2; humusgehalte 7%.

4. (V) afkomstig van de Veluwe, n.l. uit het 46-jarige Speulderbosch van het Staatsboschbeheer bij Putten. Zeer merkwaardige leemhoudende, poreuze grond, waarvan Edelman (1934) zegt, dat het een prae-glaciale fijne, poreuze stofgrond is, die groote gelijkenis met lössgrond vertoont en waarschijnlijk eveneens een aeolisch sediment is. De door mij gebruikte grond bevatte naast dit poreuze stof vrij veel zand en zal dus wel een gemengd sediment zijn. Analyse: pH 4,1; grof zand 54%; fijn zand 30%; leem 7%; humus 9%.

5. (E) afkomstig uit 40—45-jarig bosch van Oostenrijksche den van het landgoed „Elswout” bij Overveen, op kalkrijke duinen. pH 6,5; humusgehalte 3%; koolzure kalk 1,7%.

Daarnaast werd als contrôle een reeks tuingrond (T), afkomstig uit het „Cantonspark”, van een plaats waar slechts weinig bodemparasieten bleken voor te komen, gebruikt. pH 6,1; humusgehalte 7%.

In tabel 12 wordt met P aangegeven, dat de bodem geïnfecteerd is met *Pythium de Baryanum*, R geeft hetzelfde aan voor *Rhizoctonia solani*, terwijl F beteekent dat *Fusarium oxysporum* in de grond werd gebracht. De culturen van deze schimmels, die op verdunde moutsalep-agar waren gekweekt, waren resp. 4, 6, en 12 dagen oud. Per kist werd 50 cc agar-cultuur, in stukjes verdeeld, op 1 cm onder de oppervlakte toegevoegd. S is gesteriliseerde grond, N is niet-gesteriliseerde grond. De vooze zaden waren voor het begin van de proef zooveel mogelijk verwijderd. In tabel 12 wordt de toestand bij het afsluiten van deze, op 14 Mei 1938 begonnen, proef op 8 Aug. weergegeven, d. w. z. 2½ maand na de kieming van het zaad.

Wij zullen achtereenvolgens de aantasting door *Pythium de Baryanum*, door *Rhizoctonia solani* en door *Fusarium oxysporum* in de verschillende grondsoorten bespreken.

Pythium de Baryanum blijkt in niet gesteriliseerde grond alleen bij duinboschgrond sterk parasitair te zijn en veroorzaakt daar behalve een aanzienlijk kiemingsverlies ook omvalziekte. In de andere boschgronden

en in tuingrond is onder deze omstandigheden de aantasting minimaal, terwijl geen kiemingsverlies wordt veroorzaakt. Een merkwaardig verschil met deze uitkomsten geeft gesteriliseerde tuingrond te zien, waar zowel een aanzienlijk kiemingsverlies als omvalziekte optreedt.

Ook de aantasting in gesteriliseerde duingrond is hevig en gaat gepaard met een zeer groot kiemingsverlies. In de andere gesteriliseerde gronden treedt nauwelijks aantasting op. Op de verklaring van deze verschillen kom ik dadelijk terug.

Rhizoctonia solani geeft de sterkste aantasting in tuingrond, boschgrond uit het Gooi en duinboschgrond, gepaard gaande met flink kiemingsverlies. In de andere boschgronden is de aantasting veel minder, maar toch treedt ook daar kiemingsverlies op. Op boschgrond uit het Baarnsche bosch hebben de zaailingen het minst te lijden. In de reeksen met gesteriliseerde grond komt de minste aantasting voor in boschgronden van de Veluwe en uit het Baarnsche bosch. De sterkste aantasting, ook wat kiemingsverlies betreft, vond ik hier in tuingrond en duinboschgrond, maar ook de gesteriliseerde gronden van Kampina en het Gooi vertoonden naast een middelmatige aantasting eenig kiemingsverlies.

Fusarium oxysporum geeft onder de omstandigheden die bij deze proef heerschten, in niet gesteriliseerde gronden alleen aantasting van eenig belang in boschgrond uit het Baarnsche bosch. Zijn de gronden gesteriliseerd, dan worden vooral in tuingrond en duinboschgrond nog al wat zaailingen gedood, terwijl de aantasting in boschgrond uit het Baarnsche bosch hier vrijwel gelijk is aan die in de niet gesteriliseerde kistjes.

Uit de contrôle-series krijgt men de indruk, dat de kieming daar over het algemeen minder is dan in de kistjes waarin de ingebrachte parasieten geen aantasting veroorzaken. De ontwikkeling van de zaailingen in de verschillende natuurlijke, dus niet gesteriliseerde, grondsoorten is af te lezen uit de laatste kolom, aangevende het gemiddeld drooggewicht per plant. De groei blijkt het beste in tuingrond en dennenboschgrond uit het Speulderbosch, dan volgen de gronden afkomstig uit het Gooisch Natuurreservaat en van het duinbosch, terwijl de ontwikkeling van de zaailingen in grond uit het Baarnsche bosch en van Kampina het minst was.

In de reeksen waaraan parasieten waren toegevoegd blijkt deze zelfde verhouding niet overal voor te komen; wel zijn tuingrond en boschgrond uit het Speulderbosch steeds superieur. Ongetwijfeld hebben tal van factoren op de ontwikkeling van de zaailingen groote invloed. Van veel belang is b.v. de hoeveelheid humus, maar dat dit niet de eenige factor

is blijkt duidelijk uit het groote verschil tusschen tuingrond en boschgrond uit Kampina, die hetzelfde percentage humus hebben. Maar nu is de pH van de eerste 6,1, van de laatste 4,2. De optimale pH voor de groei van *Pinus nigra austriaca* heb ik nergens kunnen vinden, wel vermeldt Schmidt (1927), dat deze soort nog volledig kiemt bij pH 2,5. De uitstekende ontwikkeling van de soort op kalkrijke duingrond wijst er naar mijn meening op, dat de optimale condities bij een veel hogere pH zullen liggen. De pH van de boschgrond uit het Speulderbosch is ongeveer gelijk aan die van Kampina, maar in de eerste is de groei toch veel beter. Merkwaardig is nu, dat alleen in deze grond aan de wortels van de Oostenrijksche den veel mycorrhizavorming optrad. Deze heeft ongetwijfeld de groei belangrijk bevorderd (Mitchell, Finn en Rosendahl, 1937).

Het opvallende verschil van *Pythium*-aantasting in steriele en niet steriele tuingrond (foto 4a) wordt veroorzaakt door het voorkomen van antagonistisch werkende organismen in de ongesteiriliseerde grond (zie ook tabel 14, TPS, TPN).

Dat in de boschgrondsoorten, met uitzondering van duinboschgrond, praktisch geen aantasting optrad is hoogstwaarschijnlijk een gevolg van de lage pH van die gronden.

Roth (1935) toonde in een reeks exacte proeven aan, dat optimale aantasting van *Picea*-kiemplanten door *Pythium de Baryanum* optreedt bij pH 6,7. Bij pH 3,9 vond hij praktisch geen aantasting meer, terwijl de aantasting bij pH 4,9 minder dan de helft was van die bij pH 6,7. Deze uitkomsten stemmen dus goed met mijn resultaten overeen.

De aantasting door *Rhizoctonia solani* is ook in deze proef het geringst in de zuurste gronden, terwijl het bij de vorige proef verkregen resultaat, dat meer zieke planten in steriele dan in niet steriele boschgrond voorkwamen, voor de Baarnsche boschgrond werd bevestigd. De hevige aantasting in niet steriele boschgrond uit het Gooisch Natuurreservaat (foto 4b) weet ik niet te verklaren. Mogelijk is de eenigszins hogere pH hiervoor gedeeltelijk aansprakelijk, maar waarschijnlijker lijkt het, dat deze grond organismen bevat, die de werking van *Rhizoctonia* bevorderen, want in gesteriliseerde grond is hier zoowel het kiemingsverlies als de aantasting bij gelijke pH veel geringer.

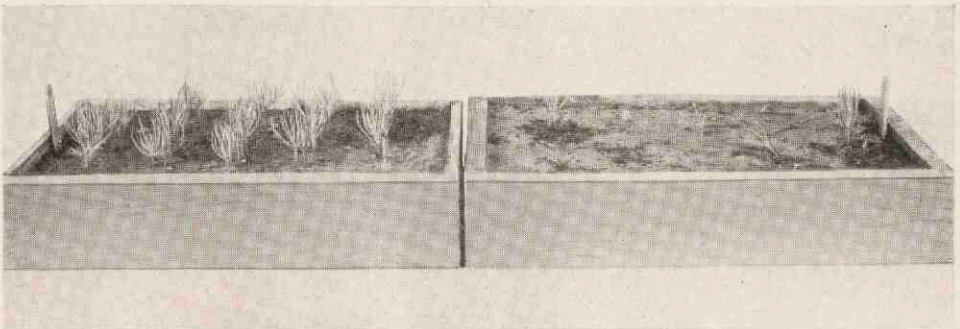
Fusarium oxysporum tastte onder de omstandigheden van deze proef niet veel zaailingen aan. Vermoedelijk is dit te verklaren door de gemiddeld lagere temperatuur in de kraam vergeleken met die van de kas,

Foto 4a.



Aantasting door *Pythium de Baryanum* in tuongrond (tabel 12). Links, boven: in gesteriliseerde tuongrond; beneden: in niet gesteriliseerde tuongrond. Rechts, boven: contrôlekist met gesteriliseerde tuongrond; beneden: contrôlekist met niet gesteriliseerde tuongrond.

Foto 4b.



Aantasting door *Rhizoctonia solani* in niet gesteriliseerde boschgrond uit het Gooisch Natuurreservaat (tabel 12).

Links: contrôlekist (zonder schimmeltoevoeging). Rechts: *Rhizoctonia solani* toegevoegd.

waarin een vorige proef (tabel 7) met deze schimmel werd genomen. Toch kwamen temperaturen boven 30° C. tijdens de eerste weken ook in de kraam herhaaldelijk voor, maar blijkbaar verhinderde de temperatuur daling die 's nachts intrad een sterke ontwikkeling van de schimmels. Het is bekend, dat de meeste *Fusarium*-soorten vooral bij hogere temperaturen virulent zijn. Zoo vond Roth (1935) dat *Fusarium moniliforme* en *Fusarium bulbigenum* var. *blasticola* alleen boven 24° C. sterke parasitaire eigenschappen bezaten. Gifford (1911), die van aangetaste coniferenkiemplanten uitsluitend *Fusarium*-soorten isoleerde, zag ook reeds verband tusschen het voorkomen van hooge bodemtemperaturen en het optreden van „damping-off”.

In verband met de in deze § gebleken invloed van de microflora van de bodem nam ik eenige proeven om te zien of er een duidelijke antagonistische werking van *Trichoderma lignorum* tegenover *Rhizoctonia solani*, *Pythium de Baryanum* en *Fusarium oxysporum* vast te stellen zou zijn. In de volgende paragraaf wordt een en ander nader besproken.

§ 6. Proeven over antagonisme.

It is certain that *Trichoderma lignorum* is one fungus which plays an important part in reducing the danger to crops from pathogenic fungi in the soil. Bisby, 1933.

In vorige paragrafen van dit hoofdstuk heb ik telkens gewezen op het verschijnsel dat antagonisme genoemd wordt. Uit het uitstekende literatuuroverzicht van Waksman (1937) blijkt, dat talrijke organismen zooals fungi, actinomyceten, bacteriën en protozoën in staat zijn elkaar te vernietigen. Voor deze antagonistische werking worden in de literatuur meerdere oorzaken genoemd. In verreweg de meeste gevallen is gevonden dat antagonisme optreedt als gevolg van de afscheiding van stofwisselingsproducten door het eene organisme, die toxisch werken op het andere. De aard van die toxische stoffen schijnt nogal uiteen te loopen. Zoo werden endo- en exo-enzymen, nitrieten, aldehyden en organische zuren gevonden.

Terloops zij opgemerkt, dat ik in vorige proeven een sterke antagonistische werking zag bij infectie met *Pythium de Baryanum* in

niet gesteriliseerde tuingrond. Van Luijk (1938) isoleerde verschillende schimmels uit tuingrond die in meerdere of mindere mate antagonistisch waren t.o.v. *Pythium volutum*, o.a. *Penicillium expansum*, *Gliocladium* sp., *Pullularia pullulans*, enz.

Hartley (1921) zag een duidelijk verminderde aantasting van coniferenzaailingen door *Pythium de Baryanum* als hij aan de gesteriliseerde grond verschillende saprophyten, zooals *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Phoma*, toevoegde.

Bij infectieproeven in boschgrond kreeg ik de indruk, dat *Trichoderma lignorum* antagonistisch werkte tegenover de voornaamste parasieten van coniferenzaailingen. Dat *Trichoderma lignorum* onder bepaalde omstandigheden antagonist is van *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp. en *Fusarium culmorum*, was door de resultaten van verschillende onderzoekers met zekerheid vastgesteld (Weindling, 1932, 1934; Allen en Haenseler, 1936; Bisby c.s., 1933). Weindling (1934) kon aan de hand van uitvoerige proeven waarnemen, dat het groei-optimum voor *Trichoderma lignorum* ligt tusschen pH 3,5 en 5 en dat de groeikromme na pH 6 steil afloopt. Bij de meeste *Trichoderma*-stammen waarmee hij in vitro werkte was het antagonisme t.o.v. *Rhizoctonia solani* beneden pH 5,5 zoo sterk, dat *Rhizoctonia* voor 100% gedood werd. Toxinenafscheiding is de oorzaak van dit sterke parasitisme t.o.v. *Rhizoctonia*. Weindling vond, dat deze toxinen niet stabiel zijn; zij worden bij pH 6,5 ongeveer 5 à 10 x zoo snel afgebroken als bij pH 4,5, terwijl bovendien bij deze laatste pH de toxinenproductie 10 tot 14 x zoo groot was als bij pH 6,5. Hieruit is dus zonder meer de enorme invloed van de zuurgraad op de antagonistische werking van *Trichoderma* duidelijk.

Trichoderma komt overal als bodemorganisme voor maar ontwikkelt zich het beste in zure boschgrond; zij is bijzonder werkzaam bij de afbraak van de daar aanwezige organische stoffen (dus doode plantendeelen als takken, bladeren enz.).

Allen en Haenseler (1936) toonden in een vloeibaar medium waarin *Trichoderma* 5 dagen had gegroeid een voor *Rhizoctonia* lethale stof aan, die na filtratie en eventueele verdunning tot $\frac{1}{3}$ met niet toxische vloeistoffen zijn toxiciteit niet had verloren, maar na verhitting gedurende 10 min. bij 100° C. geïnactiveerd was. Ook werd de werkzaamheid van het toxische agens vernietigd door zuurstof gedurende 5 min. door het filtraat te laten borrelen. Als zij het filtraat 20 dagen in met watten afgesloten buizen lieten staan was de werking eveneens verdwenen.

Weindling en Emerson (1936) geven een uitvoerige analyse van het door *Trichoderma* gevormde toxine, dat zij in kristalvorm wisten af te scheiden. De formule is waarschijnlijk $C_{14}H_{16}N_2S_2O_4$ en het moleculair gewicht 347.

Weindling en Fawcett (1936) konden een *Rhizoctonia*-aantasting van citruszaailingen tegengaan, door de bodem bij de zaden te verzuren. De aantasting verminderde niet in gesteriliseerde grond van dezelfde pH bij afwezigheid van *Trichoderma*.

Volgens hen is een verandering van de micro-flora (door verzuring van de grond) die *Trichoderma*-groei bevordert, het belangrijkste.

De eerste proef die ik nam om te trachten ook voor de parasieten waarmee ik werkte antagonisme door *Trichoderma lignorum* aan te toonen, werd in gesteriliseerde boschgrond in een warme kas ($\pm 25^\circ C.$) aangezet. Voor elke behandeling gebruikte ik 4 potten met tezamen 48 zaden van *Pinus nigra austriaca*. In elke pot werd 20 cc moutsalep-agar waarop de desbetreffende schimmel 12 dagen had gegroeid, gebracht en wel 10 cc op halve hoogte en 10 cc vlak onder de oppervlakte. Bij gebruik van 2 schimmels per pot nam ik van elke cultuur 10 cc, waarvan dan weer de helft diep en de andere helft vlak onder de oppervlakte werd gedeponeerd. Elke serie van 4 potjes kwam eenige dm van de andere serie te staan. Tegen uitdroging werden de potten in natte turfmoalm gezet; dagelijks werd met een kleine gieter voorzichtig gegoten. Na 3 dagen ontwikkelde zich op de oppervlakte van de potten waarin *Trichoderma* was gebracht een dichte, groene laag van conidiën van deze schimmel. Ik kon niet voorkomen, dat daardoor ook de potten waaraan geen *Trichoderma* was toegevoegd met deze schimmel geïnfecteerd werden. Daarbij bleek deze zich vooral in potten met een moutsalep-agarbodem zeer sterk te ontwikkelen. Maar ook in de contrôle-reeks, waar geen voedingsbodem aan toegevoegd was, waren groene conidiën-plukjes aanwezig. Merkwaardigerwijze ontbrak de schimmel in potten waaraan ik alleen een *Fusarium*-cultuur op moutsalep-agar had toegevoegd, terwijl deze serie juist het dichtste bij de besmettingshaard stond.

Hieruit blijkt m. i. een wederzijdsch antagonisme van *Fusarium oxysporum* en *Trichoderma*. Worden de schimmels in gelijke hoeveelheden samengebracht, dan is, naar duidelijk uit tabel 13 blijkt, *Trichoderma* de baas, maar als *Fusarium* zich flink heeft ontwikkeld, kunnen *Trichoderma*-sporen uit de lucht blijkbaar niet meer kiemen.

Onder de extreem gunstige omstandigheden die, blijkens de enorme

Tabel 13.

ANTAGONISMEPROEF IN POTTEN 1.

Aangezet 19 Januari 1938.

Pinus nigra austriaca in gesteriliseerde boschgrond, met *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* en *Trichoderma lignorum*.

Schimmel	Gekiemd na		Topnecrose door <i>Trichoderma</i> na		Weggefallen na		Gezond na	
	1 m.	2½ m.	1 m.	2½ m.	1 m.	2½ m.	1 m.	2½ m.
<i>Fusarium oxysporum</i>	38	45	0	0	16	25	22	20
<i>F. oxysp.</i> + <i>Trichoderma</i>	36	43	2	4	2	9	32	30
<i>Rhizoctonia solani</i>	28	32	1	1	5	7	22	24
<i>R. sol.</i> + <i>Trichoderma</i>	34	39	4	5	3	6	27	28
<i>Trichoderma lignorum</i>	36	38	7	10	4	7	25	21
Contrôle	24	38	0	1	0	0	24	37
Contr. + moutsalep-agar	33	37	5	7	2	4	26	26

conidiën-ontwikkeling tijdens deze proef voor *Trichoderma* heerschten, trad nog al wat beschadiging door deze schimmel op, vooral top-necrose, die daarom in de tabel in een aparte kolom is opgenomen. Antagonisme treedt het duidelijkste op, voor *Fusarium oxysporum*, waarbij na 2½ maand ondanks eenige top-necrose door *Trichoderma*, de combinatie van beide schimmels 50 % meer gezonde planten bevatte dan de reeks waaraan alleen *Fusarium* was toegevoegd. Verder maakt het de indruk dat *Fusarium* de kieming bevordert.

Bij *Rhizoctonia* was de antagonistische werking niet zoo duidelijk, maar zonder *Trichoderma* trad eenig kiemingsverlies op, terwijl ook de sterfte iets grooter was.

Voor dit kleine verschil in aantasting komen 2 oorzaken in aanmerking: de ontwikkeling van *Rhizoctonia* is ook zonder antagonist, blijkens vorige proeven, in boschgrond als deze, met een pH 4 à 4,5 zeer matig en bovendien was in de serie, waaraan alleen *Rhizoctonia* was toegevoegd, tengevolge van infectie via de lucht, een flinke *Trichoderma*-ontwikkeling opgetreden. *Trichoderma* gaf in de serie waaraan alleen deze schimmel was toegevoegd en in de contrôle met moutsalep-agar de meeste aantasting. Ik wijs er nog eens op, dat ik in ongesteeliseerde grond nooit eenige aantasting door *Trichoderma* heb waargenomen.

Doordat in deze proef overal infectie van *Trichoderma* was opgetreden,

was het noodig hem te herhalen, waarbij de grootst mogelijke voorzorgen tegen verontreiniging door deze schimmel in acht werden genomen. Ik breidde de proef uit, door ook de invloed van *Trichoderma* op *Pythium de Baryanum* te onderzoeken en naast gesteriliseerde boschgrond ook niet steriele boschgrond en steriele en niet steriele tuingrond te gebruiken (tabel 14). De proef werd buiten in kramen genomen. Alle gesteriliseerde potten kwamen in één kraam, de niet gesteriliseerde in een andere, terwijl tenslotte de gesteriliseerde potten, waaraan geen *Trichoderma* werd toegevoegd in een derde kraam, die eenige meters van de eersten was verwijderd, werden geplaatst.

Direct na sterilisatie bedekte ik deze potten tot aan de zaadkieming met door formol gedesinfecteerde glasplaten, terwijl alle potten in gesteriliseerde petrischalen stonden, die dagelijks met water werden gevuld. Direct na het zaaien werd ook de oppervlakte van de potten met water begoten. Daar ondanks het dagelijks bijvullen van de petrischalen de oppervlaktelaag, vooral van de boschgronden uitdroogde, werd later ook boven op de potten gegoten. Uit de resultaten blijkt, dat *Trichoderma* in deze proeven zelden aantasting gaf. De in de vorige antagonisme-proef zoo talrijk aan de bodemoppervlakte voorkomende conidiën werden nu alleen in enkele potten sporadisch opgemerkt. Ondanks alle genomen voorzorgsmaatregelen kwamen ook nu in enkele potten met boschgrond, waaraan geen *Trichoderma* was toegevoegd, een paar conidiën-plukjes te voorschijn.

Alle voor bodeminfectie gebruikte schimmelculturen waren gegroeid op verdunde moutsalep-agar. Daarvan werd 10 cc per schimmel per pot toegevoegd. Deze cultuurbodem werd in blokjes gesneden en op een diepte van ± 1 cm aangebracht. Gezaaid werd 3 Juni 1938. De kieming was overal traag en ruim 3 weken na het zaaien nog niet geheel voltooid.

Deze proef gaf geen aanwijzing voor eenige antagonistische werking. Vermoedelijk zijn vooral het uitdrogen van de oppervlaktelaag en de vrij lage temperatuur hiervan de oorzaak.

Ook Weindling (1934) had opgemerkt, dat *Trichoderma* zeer gevoelig is voor uitdrogen, veel meer dan *Rhizoctonia*.

Wel blijkt uit deze proef weer, dat *Pythium de Baryanum* alleen in steriele tuingrond eenige aantasting van belang, gepaard gaande met kiemingsverlies, veroorzaakt. Ook tast *Rhizoctonia solani* weer sterker aan in gesteriliseerde boschgrond dan in niet gesteriliseerde; in tuingrond was de aantasting ditmaal in tegenstelling met vorige proeven iets sterker

Tabel 14.

ANTAGONISMEPROEF IN POTTEN 2. Aangezet 3 Juni 1938.

S = gesteriliseerde grond P = *Pythium de Baryanum* F = *Fusarium oxysporum*
 B = boschgrond N = niet gesteril. grond R = *Rhizoctonia solani* Tr = *Trichoderma lignorum*
 T = tuingrond

Grondsoort en schimmel	Gekiemd na			Topnecrose na			Weggevallen na			Gezond na		
	1 m.	2 m.	2½ m.	1 m.	2 m.	2½ m.	1 m.	2 m.	2½ m.	1 m.	2 m.	2½ m.
B P S	33	39	39	0	0	0	0	0	0	33	39	39
B P N	41	42	42	0	0	0	0	0	0	41	42	42
B P Tr S	30	33	33	0	3	3	1	1	1	29	29	29
B P Tr N	40	44	44	0	0	0	0	0	0	40	44	44
T P S	23	24	24	0	0	0	5	8	8	18	16	16
T P N	39	39	39	0	0	0	0	1	1	39	38	38
T P Tr S	30	31	31	0	0	0	7	10	10	23	21	21
T P Tr N	37	38	38	0	2	2	0	0	0	37	36	36
B R S	39	41	41	0	0	0	5	9	9	34	32	32
B R N	43	44	44	0	0	0	1	2	2	42	42	42
B R Tr S	38	41	41	5	5	4	3	5	6	30	31	31
B R Tr N	40	44	44	0	0	0	0	1	1	40	43	43
T R S	23	24	24	0	0	0	16	17	17	7	7	7
T R N	30	30	30	0	0	0	16	17	17	14	13	13
T R Tr S	30	30	30	0	0	0	20	23	23	10	7	7
T R Tr N	24	27	27	0	0	0	9	12	13	15	15	14
B F S	33	37	37	1	1	0	3	5	6	29	31	31
B F N	42	44	44	0	0	0	2	2	2	42	42	42
B F Tr S	34	39	39	2	1	1	2	5	5	30	33	33
B F Tr N	39	43	44	0	0	0	0	0	0	39	43	44
T F S	44	44	44	0	0	0	2	3	3	42	41	41
T F N	40	41	41	0	0	0	0	0	0	40	41	41
T F Tr S	37	39	39	0	1	1	0	0	0	37	38	38
T F Tr N	37	37	37	0	0	0	0	0	0	37	37	37
B Tr S	39	40	40	1	1	1	0	1	1	38	38	38
B Tr N	38	38	38	0	0	0	0	0	0	38	38	38
T Tr S	33	35	35	0	1	1	0	0	0	33	34	34
T Tr N	33	33	33	0	0	0	0	1	1	33	32	32
Contrôle B S	33	33	33	0	0	0	0	0	0	33	33	33
Contrôle B N	45	46	46	0	0	0	0	1	1	45	45	45
Contrôle T S	43	43	43	0	0	0	0	0	0	43	43	43
Contrôle T N	45	45	45	0	0	0	0	0	0	45	45	45

in gesteriliseerde grond. In alle series was de kieming in niet steriele boschgrond beter dan in steriele.

Dat *Trichoderma* in boschgrond bijzonder goed groeit is reeds eerder (pag. 65) gebleken, want daar kwam de schimmel herhaaldelijk op gesteriliseerde boschgrond voor. Waarschijnlijk is deze voorkeur te verklaren door de aanwezigheid van hout en houtresten in boschgrond want juist hout schijnt een goede voedingsbodem voor *Trichoderma* te zijn, getuige het algemeene voorkomen van deze schimmel op rottende takken en boomstronken in de bosschen.

§ 7. Beschrijving van de ziektesymptomen door verschillende schimmels teweeggebracht.

Wij kunnen de schimmels, die op hun parasitisme tegenover *Pinus silvestris*, *Pinus nigra austriaca* en douglas onderzocht werden, het beste in 2 hoofdgroepen verdeelen:

1. fungi welke hoofdzakelijk de wortel en/of wortelhals aantasten;
2. fungi, welke cotylen en/of stengel vernielen.

De meeste, waaronder de schadelijkste parasieten, behooren tot de eerste groep. Het zijn in volgorde van hun belangrijkheid: *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp. (vooral *P. de Baryanum* en *P. intermedium*), *Fusarium* spp. (vooral *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme* C.B.S., *F. scirpi* en *F. orthoceras*) *Cylindrocarpon* spp., *Coniothyrium pityophilum*, *Naemosphaera rostellata* (niet voor douglas parasitair), *Phytophthora fagi* C.B.S., *Botryodiplodia theobromae*, en als minder belangrijke soorten *Gliocladium penicillioides*, *Leptothyrium* sp. en *Phoma dunorum* nov. spec. Tot de tweede groep behooren: *Botrytis cinerea*, *Botrytis* sp., *Alternaria tenuis*, *Pleospora herbarum*, *Pestalotia funerea* C.B.S., *Stemphylium asperulum* (tast *Pinus silvestris* niet aan), *Phoma libertiana* (alleen voor douglas onderzocht), *Trichoderma lignorum* (gaf alleen aantasting in potten met steriele boschgrond). Daarnaast kwamen een paar schimmels voor, die in reïncultuur geen echte aantasting maar alleen eenige groeiremming veroorzaakten, n.l. *Chaetomium elatum*, *Arachniotus trisporus*. Van de onderzochte schimmels waren de volgende niet parasitair: *Mortierella* sp., *Penicillium Wortmanni*, *Chaetomium globosum*, *Phoma glomerata*, *Verticillium* sp., *Cladosporium* sp., *Mollisia cinerea*, *Pyronema confluens*, *Mucoraceae*.

Ik zal trachten een beschrijving van de voor iedere schimmel specifieke

aantasting te geven, maar ben mij er wel van bewust, dat het in de praktijk dikwijls heel moeilijk zal zijn, om aan de ziektesymptomen vast te stellen, met welke parasiet men te doen heeft. Dit is des te moeilijker, omdat dikwijls van één zieke plant meerdere parasieten geïsoleerd worden, waardoor het niet mogelijk is te besluiten, door welke schimmel de eerste aantasting optrad.

Ook Stakman (1923), Jørstad (1925), Roth (1935) e.a. vermelden een gelijktijdig voorkomen van verschillende parasieten. Toch is het mij in de praktijk vaak gelukt naar de symptomen de veroorzaker van de aantasting aan te wijzen, die dan bij isolatie-proeven prompt te voorschijn kwam.

De eenige onderzoeker die consequent heeft getracht een correlatie te vinden tusschen de teweeggebrachte ziektesymptomen en de schimmelsoort die deze veroorzaakte, is Stakman (in Hansen, Kenety, Wiggin en Stakman, 1923). Het gelukte hem evenwel niet, deze correlatie te vinden. Dat moet m. i. grootendeels worden toegeschreven aan het feit, dat hij blijkbaar alleen heeft gelet op enkele opvallende verschillen, zooals het al dan niet omvallen van de zaailingen, verdrogen van de staan blijvende zaailingen, enz. Deze verschillen lijken mij veel eer te berusten op een ongelijke ouderdom van de zaailingen en op de tijd, die tusschen het eerste begin van de infectie en de observatie is verlopen. Alleen bij een pas begonnen aantasting kan men vaak de oorzaak van die aantasting herkennen, en dan nog alleen aan dikwijls kleine, oogenschijnlijk onbelangrijke verschillen, zooals uit de volgende beschrijvingen zal blijken. Zeker is evenwel, dat het ook bij pas aangetaste planten niet altijd zal gelukken de parasiet vast te stellen.

Groep 1.

a. BASIDIOMYCETEN.

Rhizoctonia solani Kühn. Het materiaal waarnaar de beschrijving werd gemaakt, is afkomstig van verschillende gesteriliseerde en niet gesteriliseerde grondsoorten (tabel 11), waarin de wijze van aantasting steeds hetzelfde bleek. Vaak trad aantasting direct na de zaadkieming, dus voor de planten boven de grond kwamen, op, waarbij de heele plant werd gedood, zoodat een schijnbaar verminderde kieming resulteerde. Dit is dus wat Hartley (1921) „germination-loss” en wat latere Amerikaansche onderzoekers (Horsfall, 1932) „pre-emergence damping-off” noemen.

Zijn de gezonde planten eenmaal boven de grond, dan tast de schimmel meestal de wortelhals aan. De stengel van een gezonde Pinus-kiemplant is aan de basis roodachtig. Het eerste symptoom van aantasting is, dat deze stengelzône en ook de wortelhals een lichte, meest stroogele verkleuring vertoont, die in veel gevallen aan één kant begint en gaandeweg de geheele wortelhals omvat. Als dat stadium bereikt is snoert het stroogele stuk in, en de kiemplant valt om. Bekijken wij de uit de grond genomen plant, dan zien wij behalve de ingesnoerde zône geen ziekteverschijnselen; zoowel de wortel als de stengel met cotylen zijn in niets van die van een gezonde plant te onderscheiden. Laat men een omgevallen plant liggen, dan rot deze vanaf de insnoeringszône verder, zoowel in de richting van de wortel als in die van de stengel. De kleur van deze rottende weefsels varieert aan de basis tusschen grijsbruin, bruin en bruinviolet, terwijl het bovenste stengeldeel aanvankelijk grijsgroen, later bruin verkleurt. Meestal ziet men aan de stervende plant nergens mycelium (behalve bij de proeven in buizen, waar alles door een dicht mycelium wordt overwoekerd), maar bij microscopisch onderzoek blijkt de binnenkant van wortel en stengel een wirwar van hyphen te zijn. De tijd gelegen tusschen omval en totale wegrotting loopt zeer uiteen. De aantasting is het hevigst bij 1 tot 3 weken oude kiemplanten, maar kan doorgaan tot 5 à 6 weken na de kieming. Dan zijn de centrale weefsels van de planten al zoo verhout, dat de schimmel er geen vat meer op heeft.

In verband met de aan de wortelhals beginnende aantasting van *Rhizoctonia solani* is een opmerking van Roth (1935, pag. 85) van belang. Hij zag tijdens zijn proeven, dat het mycelium van *Rhizoctonia* vooral over de bodemoppervlakte kruipt, in tegenstelling tot het mycelium van *Pythium de Baryanum*, dat vooral in de bodem groeit. „*Corticium vagum* (= *Rhizoctonia solani*) verursacht meist Gewebezestörung des ganzen unteren Stengelteils bis in mehrere Millimeter Höhe, während die Wurzeln meist noch gesund sind”.

b. PHYCOMYCETEN.

Pythium spp., *Phytophthora fagi*.

Hartley (1921) vond, dat *Pythium de Baryanum* Hesse één van de sterkste parasieten van coniferen-kiemplanten is. Daarnaast deed hij infectieproeven met *Rheosporangium aphanidermatum* Edson (= *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzpatrick) die echter nooit van coniferen-

zaailingen geïsoleerd werd. Deze schimmel was eenigszins parasitair, maar aanzienlijk minder dan *P. de Baryanum*. Tenslotte noemt Hartley *Pythium artotrogus* (Mont.) de Bary, die door Hahn van Pinus-zaailingen in Michigan werd geïsoleerd. Uit infectieproeven kreeg Hartley de indruk dat deze *Pythium* een potentieele parasiet van Pinus-zaailingen is, maar niet een van algemeen belang.

Matthews (1931) geeft bij de door haar als nieuwe soort beschreven *Pythium echinulatum* op, dat de algemeene habitus en grootte van de gestekelde oögonia en oösporen gelijk zijn aan die van *P. artotrogus*. Deze laatste vormt evenwel geen conidiën en sporangiën, wat *Pythium echinulatum* volgens haar zeer overvloedig doet. De door mij van Pinus silvestris-wortels geïsoleerde *Pythium* was niet tot sporangiënvorming te brengen en ook conidiën ontbraken geheel. Ik heb daarom de naam *P. artotrogus* gekozen, hoewel dat volgens Hartley (1921) een weinig definitieve soort is, juist door het ontbreken van sporangiën. Hartley heeft deze naam gehandhaafd, maar plaatst er een (?) bij. Het lijkt mij zeer waarschijnlijk dat ik met hetzelfde organisme als Hartley te doen had, hoewel absolute zekerheid dienaangaande ontbreekt. De maten die Matthews opgeeft voor oögonia en oösporen, komen precies met de mijne overeen. Het is de vraag, of het ontbreken van sporangiën bij deze soort een voldoende reden is, om hem van *Pythium echinulatum* gescheiden te houden en of het niet wenschelijk zou zijn deze laatste soort met *P. artotrogus* te combineeren.

Infectieproeven met *Pythium artotrogus* in reincultuur gaven mij bij Pinus silvestris geen aanwijzing voor parasitisme, maar in mijn proeven met Pinus nigra austriaca en Pseudotsuga Douglasii werden eenige planten aan de wortels aangetast. Deze fungus werd door mij slechts eenmaal geïsoleerd en ook ik ben van meening, dat *Pythium artotrogus* als wortel-parasiet van heel weinig beteekenis is.

Pythium intermedium de Bary isoleerde ik vaak van zieke coniferen-zaailingen en al is deze schimmel minder parasitair dan *Pythium de Baryanum*, als veroorzaker van wortelrot mag men hem zeer zeker niet verwaarloozen. Deze soort is evenmin als de in mijn infectieproeven parasitaire *Pythium torulosum* Coker et Patterson (?) van kiemplanten van coniferen bekend. Uit infectieproeven kreeg ik de indruk, dat naast een verschil in virulentie soms ook een zekere voorkeur voor een bepaalde gastheer bestaat (zie tabel 3).

Buisman (1927) en Meurs (1928) vermeldden *Pythium intermedium*

van rotte wortels van *Chrysanthemum* en andere kruidachtige planten, terwijl infectieproeven door Buisman genomen, het parasitisme bevestigden. Westerdijk en Buisman (1929) vonden aan gezonde *Ulmus campestris*-stammen kankers, die door deze schimmel veroorzaakt werden.

Het was niettegenstaande de zeer intensieve medewerking van den heer van Luijk niet mogelijk met zekerheid uit te maken, of we met *Pythium torulosum* te doen hadden. Voor de later door mij van zieke wortels van *Abies grandis* geïsoleerde *Pythium* geldt dat eveneens. Beide isolaties zijn identiek. De oögonia waren overwegend geheel opgevuld door de oösporen. Zij zijn gemiddeld 18—24 μ groot, de oösporen 12—20 μ . Deze maten vallen binnen de door Vanterpool (1938) en Matthews (1931) opgegeven grenzen. Evenals bij de door van Luijk (1934) geïsoleerde *Pythium torulosum* kwam op haverhout-agar in een petrischaal rosette-groei voor. Het was evenwel onmogelijk sporangiën te verkrijgen. Volgens den heer van Luijk zou ook *Pythium monospermum* Pringsheim in aanmerking kunnen komen, want een paar maal werden dactyloïde vormen gezien, die met de sporangiën van *P. monospermum* overeenkwamen. Zwerm-sporen-vorming werd niet waargenomen en alleen daardoor zou met zekerheid uit te maken zijn met welke soort we te doen hebben.

Voor *Pythium torulosum* geeft Vanterpool (1938) op, dat deze soort licht tot matig pathogeen is voor tarwezaailingen.

De ziektesymptomen zijn voor alle parasitaire *Pythium*-soorten gelijk en verschillen alleen gradueel naar de hevigheid van de aantasting.

Zij werden beschreven naar de aantasting van zaailingen van de Oostenrijksche den door *Pythium intermedium* in kistjes met duingrond en naar het ziektebeeld van grove en Oostenrijksche den in buizen met steriele tuinaarde door *P. de Baryanum*, *P. intermedium* en *P. torulosum* (?) veroorzaakt (zie foto's 1b en 5a).

In duingrond (*Pythium intermedium*) was het eerste ziektesymptoom een soort verwelken van de plant met slapworden van cotylen en naalden. Dat werd veroorzaakt door een onvoldoende vochtanvoer uit de bodem, want bij het uit de grond nemen van de planten, bleken de wortels dan al volkomen vernield. Vaak loopt het natrot door tot aan de stengelbasis, waarna de plant omvalt. De wortels zijn donkerbruin gekleurd en verrot, zoodat de onderste gedeelten niet meer uit de grond te halen zijn; dan volgt een worteldeel waarvan alleen de centrale cylinder als een dun

draadje blijft zitten. Alleen het bovenste stuk van de wortel, hoewel verrot en teer, blijft in verbinding met de stengel. Als de plant omgevallen is door rotting van die bovenste worteldeelen, ziet de stengelbasis er grijsgroen uit. Dan gaat de schimmel ook in de stengel over, die grijsachtig groen, later geelbruin verkleurt, en met vocht gevuld is. In buizen met aarde en *P. de Baryanum* en *P. intermedium* of *P. torulosum* (?) rot dadelijk na de zaadkieming de wortel weg, waarbij ook vaak de geheele, jonge kiemplant succombeert. Maar door de hooge vochtigheid in de buizen blijven de bovenaardsche deelen meestal turgescent, zonder ziektesymptomen te vertoonen, behalve bij *Pythium de Baryanum*, waar de schimmel ook op stengel en cotylen overgaat. In de andere gevallen blijven de plantjes klein en staan zij gesteund door de glaswand rechtop. In de buizen met *Pseudotsuga* en *Pythium de Baryanum* kiemde geen enkel zaad, zoodat daar de zaden blijkbaar al onder de aarde werden vernield. Meestal treedt deze vroege aantasting (kiemingsverlies) op aan pas gekiemde nog niet boven de grond gekomen kiemplanten, meer dan dat het volkomen gesloten zaad wordt aangetast. Roth (1935) nam eveneens waar, dat *Pythium de Baryanum* t.o.v. *Picea* een echte wortelparasiet is.

Phytophthora fagi begint (althans in buizen met Knop-oplossing of tuinaarde) met wortelaantasting, waarbij de wortels licht kastanjebruin verkleuren en de worteltop verslijmt. Later gaat onder deze omstandigheden de schimmel op stengel en cotylen over. Behalve in inoculatieproeven in buizen werd met deze nimmer door mij geïsoleerde schimmel niet gewerkt. Hoewel de mogelijkheid blijft bestaan, dat *Phytophthora* in Nederland een enkele maal aantasting zou kunnen geven, mag mede op grond van de moderne buitenlandsche literatuur (Crandall, Hartley, Rathbun-Gravatt), aangenomen worden, dat deze schimmel voor de praktijk van geen belang is. De cultuur waarmede de infectieproeven genomen werden was afkomstig uit het Centraalbureau voor Schimmelcultures en van beuk geïsoleerd. Deze zelfde stam is ook door Rathbun-Gravatt (1925) voor haar stengel-infectieproeven gebruikt.

c. FUNGI IMPERFECTI.

Fam. **Tuberculariaceae** (*Fusarium* spp., *Cylindrocarpon* spp.).

Tabel 15 geeft de op hun virulentie voor *Pinus silverstris*, *Pinus nigra austriaca* en *Pseudotsuga Douglasii* geteste *Fusarium*- en *Cylindrocarpon*-

Tabel 15.

FUSARIUM-SOORTEN GERANGSCHIKT VOLGENS AFNEMENDE AGGRESSIVITEIT T. O. V.

Pinus silvestris		Pinus nigra austriaca		Pseudotsuga Douglasii	
Schimmel	afkomst. van	Schimmel	afkomst. van	Schimmel	afkomst. van
<i>Fusarium oxysporum</i> Schl. <i>F. orthoceras</i> App. et Wr. <i>F. solani</i> (Mart.) App. et Wr. <i>Gibberella Fujikuroi</i> (Saw.) Wr. (= <i>F. moniliforme</i> Sheld.) <i>F. orthoceras</i> App. et Wr.	Pseud. Abies Pseud. C.B.S. Pseud. P. silv.	<i>Fusarium oxysporum</i> Schl. <i>F. orthoceras</i> App. et Wr. <i>F. solani</i> (Mart.) App. et Wr. var. <i>Martii</i> (App. et Wr.) Wr. <i>F. solani</i> (Mart.) App. et Wr.	Pseud. Abies Pseud. P. silv. P. n. au. P. n. au.	<i>Fusarium oxysporum</i> Schl. <i>F. culmorum</i> (W. Sm.) Sacc. <i>F. orthoceras</i> App. et Wr. <i>F. solani</i> (Mart.) App. et Wr. var. <i>Martii</i> (App. et Wr.) Wr. <i>Cylindrocarpon radicola</i> Wr.	Pseud. P. n. au. Pseud. P. silv. P. silv.
<i>F. solani</i> (Mart.) App. et Wr.	P. silv.	<i>F. scirpi</i> Lamb. et Fautr.	P. n. au.	<i>F. solani</i> (Mart.) App. et Wr.	P. n. au. zaad
<i>F. scirpi</i> Lamb. et Fautr. <i>F. coeruleum</i> (Lib.) Sacc.	P. n. au. P. n. au.	<i>F. sambucinum</i> Fuck. f. 6 Wr. <i>Gibberella acuminata</i> Wr. (= <i>F. acuminatum</i> E. et E.) (= <i>F. moniliforme</i> Sheld.) (= <i>F. moniliforme</i> Sheld.)	P. n. au. C.B.S. C.B.S.	<i>F. scirpi</i> Lamb. et Fautr. <i>F. solani</i> (Mart.) App. et Wr. var. <i>minus</i> Wr. <i>F. coeruleum</i> (Lib.) Sacc.	P. n. au. P. n. au. P. n. au.
<i>F. sambucinum</i> Fuck. f. 6 Wr. <i>Gibberella acuminata</i> Wr. (= <i>F. acuminatum</i> E. et E.) <i>F. culmorum</i> (W. Sm.) Sacc. <i>Cylindrocarpon didymum</i> (Hartig) Wr. <i>Hypomyces solani</i> Rke. et Berth. (= <i>F. ventricosum</i> App. et Wr.)	P. n. au. C.B.S. P. n. au. P. silv. C.B.S.	<i>F. orthoceras</i> App. et Wr. <i>F. culmorum</i> (W. Sm.) Sacc. <i>F. coeruleum</i> (Lib.) Sacc. <i>F. solani</i> (Mart.) App. et Wr. <i>Cylindrocarpon didymum</i> (Hartig) Wr. <i>Hypomyces solani</i> Rke. et Berth. (= <i>F. ventricosum</i> App. et Wr.)	Pseud. P. n. au. P. n. au. P. silv. P. silv. C.B.S.	<i>F. sambucinum</i> Fuck. f. 6 Wr. <i>Cylindrocarpon didymum</i> (Hartig) Wr.	P. n. au. P. silv.

soorten weer, volgens afnemend parasitisme gerangschikt. Als gegevens voor deze opstelling dienden de uitkomsten van de infectie-proeven in reincultuur in buizen met de oplossing van Knop en in buizen met aarde (zie tabellen 3, 4, 5 en 6). Wanneer de aantasting in beide series veel afweek, werd steeds gelet op de gang van zaken in de buizen met aarde, omdat de omstandigheden daar natuurlijker zijn dan in de Knopbuizen. De reeks voor *Pseudotsuga* opgegeven is niet zoo betrouwbaar als die van de Pinus-soorten, omdat de kieming van dat zaad zóó onregelmatig was, dat niet steeds een zuivere indruk verkregen kon worden van de werking van de schimmels. De opgaven voor deze soort in tabel 15 stammen van gegevens die 3 maanden na het aanzetten van de infectie-proeven in reincultuur werden verkregen. Ook hier werd vooral op de reeks met steriele tuinaarde in buizen gelet, welke trouwens goed met de Knop-reeks correspondeerde. De bij de infecties met *Fusarium*-soorten optredende verschillen wettigen in ieder geval wel de hier gegeven rangschikking volgens hun parasitisme. Voor alle drie coniferen blijkt *Fusarium oxysporum* de gevaarlijkste parasiet. Met deze soort is daarom bij vorige proeven steeds gewerkt. De andere *Fusarium*-soorten gedragen zich voor de verschillende gastheeren niet heelemaal gelijk. Zoo blijkt *Fusarium culmorum* voor de beide Pinus-soorten slechts weinig parasitair, terwijl hij t.o.v. *Pseudotsuga* zeer virulent is. Verder zijn de van Pinus nigra austriaca geïsoleerde *F. scirpi* en *F. sambucinum* forma 6 voor deze den veel virulenter dan voor Pinus silvestris. De van de grove den geïsoleerde *Fusarium solani* daarentegen, tast deze sterker aan dan de Oostenrijksche den. Dat deze correlatie niet steeds bestaat komt o.a. tot uiting bij *F. culmorum*, welke noch voor Pinus silvestris, noch voor Pinus nigra austriaca, waarvan hij geïsoleerd werd, erg parasitair is, maar *Pseudotsuga Douglasii* wordt wèl aangetast.

Van de aantasting van Pinus nigra austriaca door *Fusarium oxysporum* geef ik een wat uitvoeriger beschrijving, welke aan een gezamenlijke bespreking van de andere *Fusarium* spp. voorafgaat. De symptomen zijn beschreven naar materiaal uit potten met gesteriliseerde boschgrond en potten met dito tuinaarde (tabel 7), waarin een reincultuur van deze schimmel was gebracht. De eerste symptomen doen denken aan die van *Rhizoctonia*-aantasting, evenwel met dit verschil, dat de stengelbasis zelden strooigeel, maar meestal bont (overheerschend blauwpaars en bruin) verkleurt. Zelfs enkele weken na deze eerste aantasting is het langste deel van de wortel nog gezond, alleen dicht onder de oppervlakte

bevindt zich een donkerbruin verkleurde, verrotte zône van 1—3 cm lengte. Het is waarschijnlijk, dat in de natuur ook aan de onderste worteldeelen aantasting op kan treden, omdat ik deze schimmel eveneens isoleerde van planten met late wortelbrand, waar zij de jongste, dus diepst groeiende worteldeelen aantastte. De plant valt om zoodra de schimmel in de stengelbasis is overgegaan en deze laatste is ingesnoerd. De rotting verloopt veel minder nat dan bij *Pythium*-aantasting en de zieke stengeldeelen zijn hier na eenige tijd vaak met een laag rose *Fusarium*-conidiën bedekt. Dat laatste komt soms ook voor bij planten, die door *Rhizoctonia*- of *Pythium*-infecties omgevallen zijn en waar secundair *Fusarium*-soorten op zijn gaan groeien.

Typisch voor alle *Fusarium*-aantastingen is, dat ze doorgaans pas eenige weken na de kieming van het zaad optreden. Nooit zag ik kiemingsverlies door deze schimmelgroep veroorzaakt.

Roth, Hartley en Rathbun-Gravatt vonden dat evenmin. Merkwaardig is dat Rathbun-Gravatt (1925) bij haar directe infectieproeven aan coniferenstengels opgeeft, dat *Fusarium oxysporum* totaal geen parasitaire werking bezit, noch voor twee *Pinus*-soorten, noch voor een *Picea*. Dat is des te opvallender, omdat juist met deze schimmel bij mijn infectieproeven in buizen een sterke mycelium-ontwikkeling optrad die èn stengel èn cotylen totaal verwoestte (zie tabel 4). Hoogst waarschijnlijk heeft Rathbun-Gravatt een niet virulente stam gehad.

Van de in tabel 15 vermelde *Fusarium* spp. worden door haar als parasieten in volgorde van hun virulentie genoemd: *Fusarium moniliforme*, *F. solani*-groep, *F. orthoceras*, *F. culmorum*, *F. coeruleum*. Deze volgorde komt vrij goed met de door mij opgegevene overeen, vooral als men let op de reeks voor *Pinus nigra austriaca*. Uit de infectieproeven in rein-cultuur bleek duidelijk, dat de aantasting door *Fusarium*-soorten zoowel aan de wortelhals (stengelbasis) als aan de worteleinden kan beginnen. Ook kunnen sommige soorten cotylinfectie (topnecrose) vanaf de reesteerende zaadhuid veroorzaken, vooral de soorten die veel luchtmycelium maken, zooals *F. oxysporum*, *F. orthoceras*, *F. solani* isol. douglas. De vorming van luchtmycelium is blijkbaar van veel belang voor de aantasting. Brown (1928) merkte op, dat uitgaande van een éénsporecultuur van *Fusarium fructigenum* van de ± 40 saltanten, die daaruit ontstonden, alleen de saltanten van de mycelium-groep en die van de sporodochien-groep virulent waren, terwijl die van de pionnotes- en langsporen-groep geen virulentie bezaten.

Terecht wijst van Eek er op, dat deze virulentie-verschillen van de door Brown genoemde saltanten-typen de bestudeering van de virulentie van deze soorten zeer ingewikkeld maken. Daarom mag men een virulentie-opeenvolging, zoals ik die in tabel 15 opgeef, nooit generaliseeren.

Een merkwaardig verschijnsel dat bij mijn infectie-proeven in buizen met Knop alleen bij de groep van *Fusarium-Cylindrocarpon* optrad, was het volgende: nadat aanvankelijk de hoofdwortel was weggerot, trad na enkele maanden boven het verrotte wortelgedeelte zijwortelvorming op. Twee of meer krachtig ontwikkelde zijwortels groeiden door het dicht met schimmel begroeide filtreerpapier naar beneden in de oplossing van Knop, zonder dat daarbij ook maar de geringste aantasting optrad. Alle nog levende planten in buizen met *Fusarium*-soorten en meestal ook met *Cylindrocarpon*-soorten vertoonden dit verschijnsel. In buizen met andere wortelparasieten, zoals *Botryodiplodia theobromae* en *Pythium* spp. vond ik een dergelijke zijwortelvorming nooit. Aanvankelijk was dit vreemde gedrag van de *Fusarium* spp. volkomen onbegrijpelijk. Zoals reeds bij de bespreking van tabel 6 werd vermeld, zagen Schaffnit en Lüdtke (1932), dat de gifwerking van *Fusarium vasinfectum* Atk. en *Fusarium lycopersici* (Sacc.) Wr. niet verminderde, als de sterk opgelopen pH van de cultuurvloeistof van deze schimmels met citroenzuur of azijnzuur werd geneutraliseerd. Dat maakt het noodzakelijk om aan te nemen, dat door deze schimmels toxinen gevormd zijn. Karrer (1921) onderzocht o.a. de invloed van de pH op de ophooping en activatie van amylase gevormd door een *Fusarium* sp. en vond tusschen beide een duidelijk verband. Een maximale afscheiding van intra- en extra-cellulaire amylase had plaats in oplossingen met een pH tusschen 4,5 en 7,8. Het optimum van de activiteit lag bij pH 6. Werd de cultuurvloeistof alkalischer, dan verminderde de amylase-afscheiding, zonder dat evenwel een verminderde schimmelgroei optrad. In alle proeven liep de pH van de cultuurvloeistof op.

Weliswaar heb ik geen enkel bewijs, dat het juist deze amylase-afscheiding is, die de aantasting bewerkstelligt, maar ook al zou dat niet het geval zijn, dan blijft toch de mogelijkheid bestaan, dat ook andere stofwisselingsproducten van de schimmel zich op dezelfde wijze gedragen en hun werkzaamheid boven en beneden een bepaalde pH verliezen. In elk geval is het merkwaardig dat in mijn proeven, ondanks een zeer overvloedige myceliumgroei, na eenige maanden geen aantasting van de jonge, nog teere zijwortels optrad.

Met enkele niet voor wortels parasitaire schimmels kwam een heel andere vorm van zijwortelvorming voor, waarbij langs de geheele, krachtig ontwikkelde, gezonde wortel, korte, vaak vrijwel hyaliene wortelstompjes in groote hoeveelheid optraden. Dit was o.a. het geval in de buizen met *Phoma glomerata*, *Pyrenochaeta acicola*, *Pestalotia funerea* en *Stemphylium asperulum*. Vooral bij *Pinus silvestris* werd dit waargenomen. Het doet denken aan een soort mycorrhiza-vorming. In de contrôle-buizen treedt nooit zijwortelvorming op. De planten in de buizen met bovengenoemde schimmels zijn veel beter ontwikkeld, dan die van de contrôlereeks (zie foto 5a). Het is niet uitgesloten dat door deze fungi groeistoffen worden afgescheiden, die de groei van de hogere plant stimuleeren.

Fam. **Sphaeropsidaceae.**

Coniothyrium pityophilum (v. Höhn) Petr. et Syd. gaf bij *Pinus silvestris* en *Pinus nigra austriaca* een hevige wortelaantasting, waarbij de wortels kort en donkerbruin bleven. Bij *Pinus silvestris* werden de bovenaardsche deelen niet gedood. Bij *Pinus nigra austriaca* verschrompelden de eerst geel, later bruin verkleurde stengels, terwijl de cotyltoppen tordeerden. Mycelium noch pycniden werden op de planten waargenomen. De aantasting door deze soort lijkt mij in de praktijk macroscopisch niet vast te stellen. De schimmel werd door mij eenige malen van zieke zaailingen geïsoleerd en is oorspronkelijk beschreven naar haar voorkomen op naalden van *Pinus silvestris*.

Naemosphaera rostellata (Grove) Sacc. (= *Coniothyrium rostellatum* Grove). Petrak en Sydow (1927) brengen deze soort „pro parte” onder bij *Coniothyrium conicola* Vesterg. Deze schimmel werd door mij van zaad van *Pinus silvestris* geïsoleerd; zij bleek voor de douglasspar niet parasitair, maar was voor de *Pinus*-soorten één van de sterkste parasieten. Eerst werd de wortelhals aangetast, die verschrompelde en van daar uit rotten ook wortel en stengel weg. De eerste paar weken na de kieming groeiden de planten normaal, vermoedelijk omdat in die tijd het mycelium nog niet zoo goed was ontwikkeld. Bij het begin van de aantasting van wortelhals en wortels trad evenals met *Coniothyrium pityophilum* een merkwaardige torsie van de nog groene cotylen op. Deze torsie was met *Naemosphaera* veel sterker dan met de vorige soort; bij andere schimmels heb ik dit verschijnsel nooit waargenomen.

Vervolgens trad een bruine verkleuring van de geheele plant op, waarna het mycelium (in de buizen) op stengel en cotylen groeide en overal donkere glimmende conidiënklompjes vormde. In de natuur heb ik deze aantasting weinig gevonden, maar als zij optrad waren op de cotylen alleen de glimmende conidiënhoopjes te zien, geen mycelium.

Botryodiplodia theobromae Pat. is een in de tropen algemeen voorkomende schimmel, die vooral bekend is als een parasiet van de cacao, niet alleen van de vruchten maar ook van takken en wortels. Verder noemen Delacroix en Maublanc (1911) nog verschillende andere planten, waarvoor deze schimmel parasitair is, ook dikwijls aan de wortels, die dan met pycniden bezet zijn. Door mij werd *Botryodiplodia theobromae* van zaden van de tropische *Pinus Merkusii*, welke ik door bemiddeling van het Koloniaal Instituut ontving, geïsoleerd. Ik ging na of deze schimmel voor *Pinus Merkusii* in buizen met oplossing van Knop en in buizen met aarde parasitair was. De proeven werden in de kas genomen bij een temperatuur, varieerende tusschen 17° en 37° C. Onder die omstandigheden trad een behoorlijke kieming op ($\pm 60\%$) en een maand na de kieming waren alle planten, waar deze schimmel bij gebracht was, volledig dood. De worteltop werd direct geheel verwoest, zoodat zich nergens een flinke wortel kon ontwikkelen. Zijwortelvorming trad niet op. De contrôleplanten hadden lange wortels en zagen er ook verder gezond uit.

Voor *Pinus nigra austriaca* en *P. silvestris* bleek deze soort eveneens vrij parasitair, ongeveer in dezelfde mate als *Cylindrocarpon didymum* (zie foto 2a). De aantasting verliep in buizen met Knop en in buizen met aarde gelijk: een vroeg beginnend wortelrot met volledige verwoesting van de wortel, waardoor ook stengel en cotylen zich niet verder konden ontwikkelen en de planten klein bleven en niet tot het afwerpen van de zaadhuid konden komen. Op de bruin verkleurde, verrotte wortelstompjes vormden zich overvloedig de donkergekleurde pycniden van deze schimmel, dus juist zooals Delacroix en Maublanc dat voor andere planten opgaven.

Phoma dunorum nov. spec.

Beschrijving van de soort.

Pycniden op kunstmatige voedingsbodems talrijk, meest 0,22 x 0,28 mm, stomp kegelvormig, vaak meerdere met elkaar vergroeid, met één of

meer ostiola aan de top, bruinzwart, met parenchymatische wanden, meestal door een grijsachtig, wollig mycelium overgroeid.

Sporen zeer talrijk, in ranken uittredend of als lichtbruine druppels sporenslijm op de pycniden, klein, ovaal, aan de einden afgerond, meest $3,7-4 \mu$ lang, $2-2,3 \mu$ breed, met 2 oliedruppeltjes, hyalien (zie fig. 1).

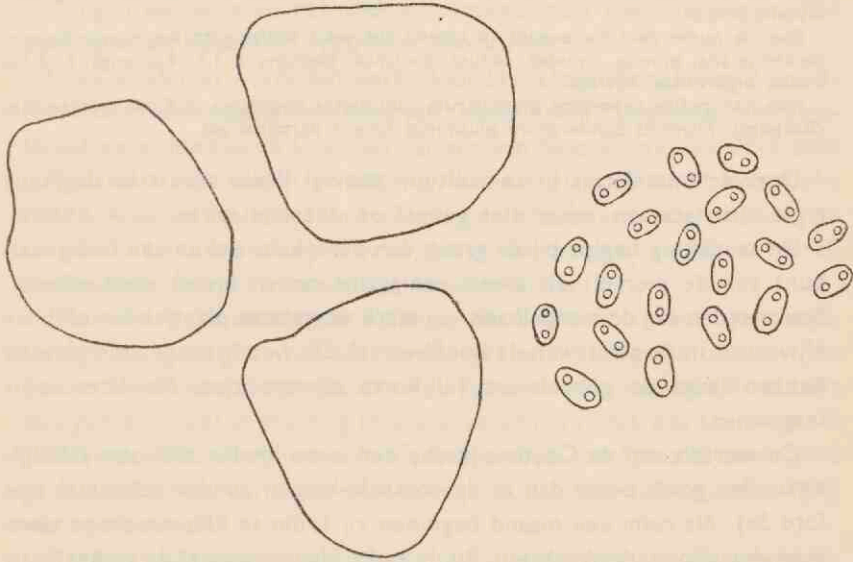


Fig. 1. *Phoma dunorum* nov. spec. Links: omtrek der pycniden ($\times 160$). Rechts: sporen ($\times 1500$).

Reincultures.

Op moutagar in petrischalen na 5 dagen: kolonie 3 cm, wollig, in het centrum beginnende bruinkleuring door vorming van pycniden in zônes.

Op haverhoutagar in petrischalen na $1\frac{1}{2}$ maand: schalen geheel volgegroeid (9 cm) met grijs, wollig mycelium, dat de talrijke pycniden bedekt.

Op haverhoutagar- en maïsmeelagar in buisjes na $1\frac{1}{2}$ maand: als in de petrischalen; aan de onderzijde een donkerlijfkleurig stroma-achtig weefsel zichtbaar.

Op lupinestengel in buisjes: talrijke pycniden, luchtmycelium bijna ontbrekend, later aan de basis een donkerbruin, stroma-achtig weefsel.

Hab.: van de wortelhal van zaailingen van de Oostenrijksche den, van duingrond uit Bakkum (N. H.). Voor coniferen-zaailingen zwak parasitair.

Phoma dunorum nov. spec.

Pycnidiis in artificioso alimento numerosis, plerumque 0,22 x 0,28 mm, obtuso-conoideis saepe compluribus conrescentibus, uno vel pluribus ostioliis in cacumine, brunneonigris, parietibus parenchymae similibus, plerumque cineraceo lanuginoso mycelio tectis.

Sporula numerosissima exeunt in catenis aut velut badiæ guttulæ in pycnidiorum cacumine sita, minuta, ovoidea, obtusa, continua, plerumque 3,7—4 μ longa, 2—2,3 μ crassa, biguttulata, hyalina.

Hab.: in radice superiore plantularum pini nigrae austriacae in dunis crescentium (Bakkum). Plantulis coniferorum plusminus fungus parasitus est.

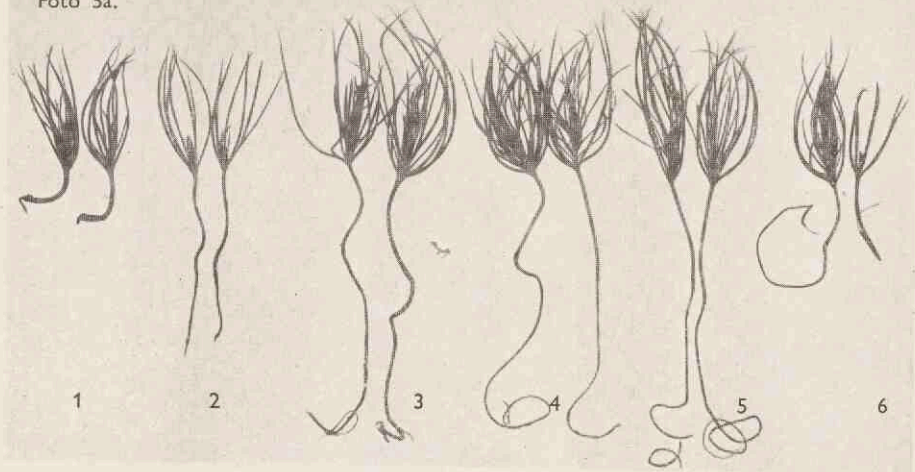
Deze schimmel tast in reïncultuur zoowel *Pinus silvestris* als *Pinus nigra austriaca* aan, maar niet geheel op dezelfde wijze.

De aantasting begint bij de grove den na enkele weken aan het groei-punt van de wortel; dit zwelt eenigszins op en kleurt donkerbruin. Soms treden aan de stengelbasis van sterk aangetaste plantjes één of meer zijwortels in de plaats van de hoofdwortel. De weinig aangetaste planten hebben langs de geheele wortel korte zijworteltjes, die later soms uitgroeien.

De wortels van de Oostenrijksche den ontwikkelen zich aanvankelijk bijzonder goed, beter dan in de contrôle-buizen zonder schimmel (zie foto 5a). Na ruim een maand beginnen zij bruin te kleuren en na twee maanden zijn zij donkerbruin. Bij de zieke planten snoert de stengelbasis daarna in, de stengel verkleurt bruinviolet en verschrompelt op de duur.

De beschreven symptomen treden alleen op in buizen met een oplossing van Knop. In buizen met aarde wordt slechts een enkele plant aangetast. Dit, en het laat beginnen van de aantasting in de serie met vloeistof, wijst er wel op, dat *Phoma dunorum* voor de praktijk slechts van geringe beteekenis is als veroorzaker van kiemplantenziekten. De door de schimmel afgescheiden stoffen werken aanvankelijk groeibevorderend (zie foto 5a), maar worden op de duur schadelijk, mogelijk door een belangrijke verandering van de zuurgraad van de cultuurvloeistof.

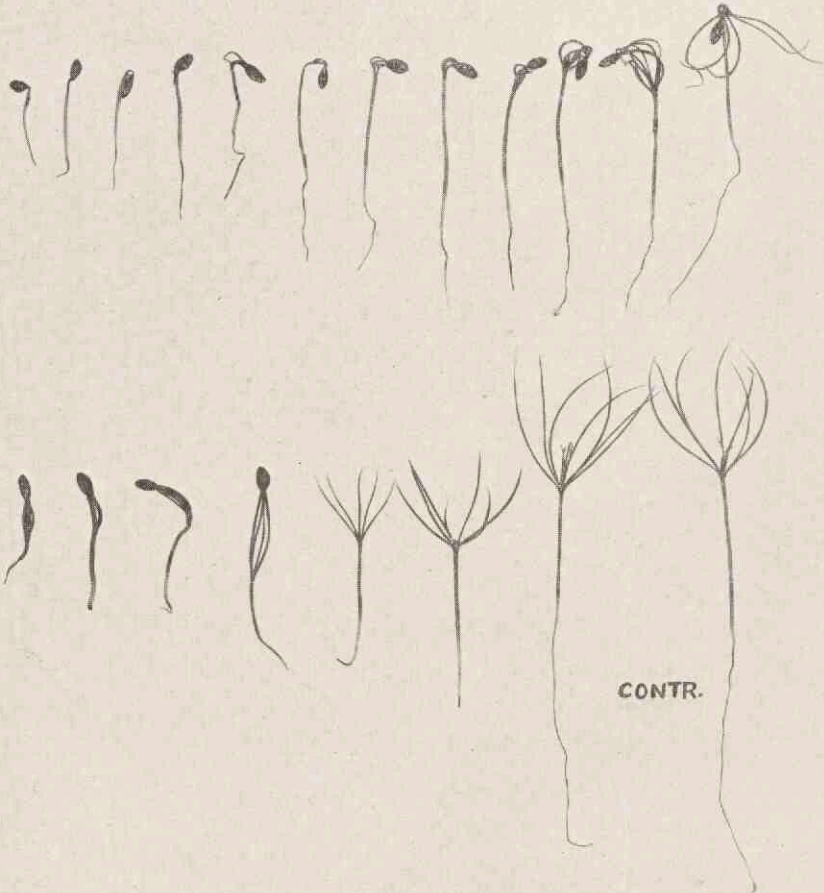
Foto 5a.



Aantasting resp. groeibevordering door schimmels bij proeven met *Pinus nigra austriaca* in reïncultuur. Ouderdom van de planten 2½ maand.

1. *Pythium intermedium*. 2. *Gibberella acuminata*. 3. *Phoma dunorum*. 4. *Pyronema confluens*. 5. *Phoma glomerata*. 6. Contrôle-planten.

Foto 5b.



Verschillende ziektesymptomen bij *Pinus nigra austriaca* veroorzaakt door *Trichoderma lignorum* in gesteriliseerde boschgrond (tabel 8). Bovenste rij: vormen van top-necrose.

Onderste rij: wortelaantasting en geheel rechts 2 gezonde controleplanten.

De plantjes zijn 1 maand oud.

Groep 2. (Alleen volgens afnemend parasitisme gerangschikt. *Pleospora herbarum* is de eenige Ascomyceet. Alle andere schimmels behooren tot de *Fungi Imperfecti*).

Botrytis cinerea Pers.

Spaulding (1914) meende, dat *Botrytis* praktisch nooit jonge coniferenzaailingen aantastte als een actieve parasiet, maar vaak op weggevallen zaailingen als secundair organisme voorkwam.

Deze schimmel wordt het eerst door Hartley, Merrill en Rhoads (1918) als vermoedelijke oorzaak van „damping-off” genoemd. Van coniferenkiemplanten in de Oostelijke staten van Noord-Amerika werd deze fungus door hen zelden geïsoleerd, wel van plantjes in de Westelijke staten, waar de schimmel op insnoeringen vlak boven de grond fructificeerde. Uit hun inoculatie-proeven blijkt, dat ze geen duidelijke omvalziekte door *Botrytis* veroorzaakt konden vinden.

Maar wel werd door deze schimmel de zaadkieming zeer vertraagd, terwijl het aantal na verloop van tijd gekiemde zaden in de contrôle-potten 3 maal zoo groot was als in de potten waarin een *Botrytis*-cultuur was gebracht. Dit is prachtig in overeenstemming met wat Garbowski (1937) voor *Botrytis* sp. opgeeft. Deze door hem van *Pinus silvestris* zaad geïsoleerde soort verlaagde de kieming van dat zaad tot ongeveer 34% van het normale.

Rathbun-Gravatt (1925) kreeg bij directe stam-inoculatieproeven met *Botrytis cinerea* een zeer hoog percentage wegvallers, waarbij het geen verschil maakte of de schimmel van coniferen dan wel van andere gastheeren was geïsoleerd.

Bij mijn proeven kon ik geen verminderde zaadkieming constateeren, noch in de proeven in buizen met Knop of steriele tuinaarde, noch in potproeven met steriele of niet steriele grond.

Wel begon ongeveer een week na de zaadkieming in buizen met Knop en in buizen met aarde een hevige aantasting van de bovenaardsche deelen van de kiemplanten. Pas als deze deelen, dus stengel en cotylen, volledig zijn verdroogd, gaan op de duur ook de wortels dood. De wortels zelf werden nergens aangetast. De bruine verdroogde stengels en cotylen waren steeds met een dichte laag conidiëndragers met conidiën bezet. Datzelfde gebeurde op de zaaibedden, waar vooral soorten met snelle groei en slappe stengels en naalden, als douglas en lariks, ervan te lijden hebben. Men kan deze aantasting dan ook macroscopisch goed

herkennen aan het voorkomen van een massa donkerbruin gekleurde conidiëndragers met klompjes grijswitte conidiën aan hun top.

Muskett (1931) vermeldt hevige aantasting van stengel en cotylen van *Pseudotsuga Douglasii* door *Botrytis* sp. op zaaibedden in Noord-lerland. De Sitka-spar had veel minder van deze schimmel te lijden.

Voor ons land beschrijft de Hoogh (1924) het voorkomen van *Botrytis cinerea* Pers. (= *Botrytis Douglasii* Tub.) op *Pseudotsuga Douglasii*. „De jonge, nog in ontwikkeling zijnde loten worden bruin en sterven af, evenals over een bepaalde lengte de scheut van het vorige jaar.” Verder geeft hij aan, dat op de naalden en de scheuten later kleine, zwarte stipjes (sclerotiën) zoo groot als een speldeknop voorkomen, die de infectie aantonen.

Mij lijken de conidiën-dragers met hun grijswitte hoofdjes een nog duidelijker kenmerk.

Deze *Botrytis* isoleerde ik behalve van douglas ook van naalden en stengels van *Pinus silvestris*, *P. nigra austriaca*, *Abies grandis* en *Larix leptolepis*. Bij isolaties van wortel- en wortelhals-materiaal kwam *Botrytis* eveneens vaak voor. Een flinke aantasting treedt voor zoover ik kon nagaan alleen in de herfst, vooral aan kiemplanten van douglas en lariks, op.

Een andere *Botrytis*-soort, die alleen kort na zijn isolatie sporadisch fructificeerde en sclerotiën vormde, gaf in buizen met Knop en buizen met aarde eveneens een hevige aantasting, zoowel van kiemplanten van douglas als van die van grove en Oostenrijksche den. Het eenige verschil met de vorige soort is, dat hier op de afgestorven bovenaardsche deelen nergens conidiën of sclerotiën gevormd werden. Wel worden de planten door een los myceliumlaagje overwoekerd.

Alternaria tenuis Nees.

Deze schimmel werd geïsoleerd van zaad van *Pinus silvestris*, van cotylen van *Pinus nigra austriaca*, van cotylen en naalden van *Pseudotsuga Douglasii* en van cotylen, naalden en wortelhals van *Larix leptolepis*. Hartley, Merrill en Rhoads (1918) en Hartley (1921) vermeldden dat een *Alternaria* sp. dikwijls van ziek coniferenmateriaal werd geïsoleerd, zoowel van heel jonge als van oude zaailingen. Infectieproeven deden zij niet, maar zij geloofden dat het geen belangrijke „damping-off” parasiet is, al lijkt het nemen van infectieproeven hun aanbevelenswaardig.

Stakman (zie Hansen, Kenety, Wiggin en Stakman, 1923) isoleerde *Alternaria* zeer vaak van allerlei deelen van diverse coniferen-

soorten. Infectieproeven nam hij niet, wel wijst hij er op, dat deze schimmel mogelijk parasitair is.

Eliason (1928) deed staminfectieproeven maar zag geen aantasting. Ook Wiant (1929) deed enkele infectieproeven die negatief uitvielen.

Uit infectieproeven in buizen met Knop en in buizen met steriele tuinaarde, welke ik nam met *Pinus silvestris*, *Pinus nigra austriaca* en *Pseudotsuga Douglasii*, bleek mij, dat bij de *Pinus*-soorten steeds enkele planten per buis werden aangetast, terwijl andere geen ziektesymptomen vertoonden. Alleen in buizen met douglasspar werden alle planten ziek. *Alternaria tenuis* groeit onder deze omstandigheden bijzonder goed, zoodat het ontsnappen aan de infectie er m. i. op wijst, dat dit voor *Pinus*-soorten in geen geval een sterke parasiet is.

Douglasspar met zijn veel sappiger naalden heeft van deze schimmel evenals van *Botrytis* ongetwijfeld veel meer te lijden. Zoo vertoonden eenjarige douglaszaailingen in Bakkum in September 1938 vaak grootere en kleinere stengel- en naaldnecrosen, waaruit steeds als eenige isolatie *Alternaria tenuis* groeide, evenwel een stam die veel luchtmycelium en weinig conidiën vormde en in dat opzicht van de andere *Alternaria tenuis*-isolaties afweek. De aantasting was steeds gelocaliseerd, zoodat de kiemplanten er niet aan succombeerden. De planten die bij proeven in rein-cultuur aangetast worden bezwijken dikwijls wel. *Alternaria* vernielt vooral de cotylen en in mindere mate de stengel. Wortelaantasting treedt niet op, hoogstens een geringe remming van de wortelgroei. De wortels in de buizen met Knop zijn dicht met mycelium en conidiën bezet, maar de onderste worteldeelen zien er geelwit en volkomen gezond uit en vertoonen ook na enkele maanden een duidelijke groei. Stengel en cotylen van de aangetaste planten zijn aanvankelijk mosgroen gekleurd door een dikke laag mycelium, later worden zij zwart, door een overtrek van zwarte conidiën. Op de zaaibedden in de laboratorium-tuin vond ik in het voorjaar eenige malen pas gekiemde *Pinus nigra austriaca*-zaailingen, die met het mosgroene mycelium van *Alternaria* bedekt waren. Of hier sprake was van een secundaire infectie, nadat de plantjes door een sterkere parasiet waren aangetast, kon ik niet vaststellen. Het maakt evenwel de indruk, dat *Alternaria tenuis* bij koud, nat weer, zooals dat in voor- en najaar voorkomt, wel degelijk als primaire parasiet, zij het dan ook van ondergeschikte beteekenis, op kan treden.

Pleospora herbarum (Pers.) Rbh.

Deze schimmel wordt in de literatuur (zie Sorauer, 1932) nog al eens in verband gebracht met blad- en stengelrottingen. Daarbij wordt, zooals Brinkman (1931) opgeeft, meestal de conidiënvorm (*Macrosporium* sp.) genoemd, terwijl volgens Bolle (1924) al die eventueel verschillende *Macrosporium* spp. zouden behooren tot de ascus-vorm *Pleospora herbarum* (Pers.) Rbh.

Bij mijn infectieproeven in buizen met Knop en in buizen met aarde tastte *Pleospora herbarum* vooral de cotylen aan, terwijl op de stengels necrotische plekken met anthracnose voorkwamen, waardoor in veel gevallen de stengels verdrogen. Toch lijkt deze schimmel mij voor de praktijk niet van groot belang, omdat zij slechts eenmaal van *Pinus nigra austriaca* werd geïsoleerd.

Pestalotia funerea Desm.

Pestalotia werd nooit door mij geïsoleerd. De stam die ik voor infectieproeven gebruikte was afkomstig van het Centraalbureau voor Schimmelcultures en van *Juniperus* in Nederland geïsoleerd. Ik onderzocht deze soort, omdat Spaulding (1907) er in reïncultuur infecties mee kreeg. In mijn infectieproeven in buizen tastte *Pestalotia* zowel grove als Oostenrijksche den aan, waarbij de stengels donker-oker of lichtbruin en de cotylen oker verkleurden. Stengel en cotylen vertoonden op de gekleurde deelen veel scherp begrensde zwarte conidiënklompjes. Het is niet uitgesloten, dat deze schimmel die blijkens bovengenoemde isolatie ook in ons land op coniferen voorkomt, een enkele maal in kweekrijen eenige top-necrose zal veroorzaken. Veel kwaad doet *Pestalotia* echter zeker niet.

Stemphylium asperulum Sacc.

Weber (1930) geeft soorten van dit geslacht op als veroorzakers van bladaantastingen met geel- of bruinkleuring. De door mij van Oostenrijksche den geïsoleerde soort tast *Pinus silvestris* niet aan, maar veroorzaakt een lichtbruine cotylverkleuring bij de Oostenrijksche den. Eenige tijd later zijn de cotylen dicht bedekt met een laag zwarte conidiën; het maakt dan de indruk alsof de planten bestoven zijn.

Phoma libertiana Speg. et Roum.

Deze soort werd van zaad van *Pinus nigra austriaca* geïsoleerd toen de proeven met de beide *Pinus*-soorten reeds genomen waren, zoodat

ik hem alleen op douglasspar kon toetsen. Daar veroorzaakte deze schimmel bij meerdere planten een cotyl-necrose zoowel in buizen met Knop als in buizen met steriele tuinaarde.

Trichoderma lignorum (Tode) Harz.

Hoewel *Trichoderma lignorum* door mij vaak van allerlei plantendeelen werd geïsoleerd, is het mij nooit gelukt in natuurlijke, niet gesteriliseerde grond, onverschillig of dat boschgrond of tuingrond was, aantasting teweeg te brengen. Alleen in gesteriliseerde boschgrond trad vaak infectie op (zie antagonisme-proeven p. 74). Bij proeven in buizen met Knop en in buizen met steriele tuinaarde komt weinig aantasting voor, wel groei-remming, waarbij de wortels een duidelijk opgezwollen vegetatiepunt met gebarsten cortex vertoonen (zie foto 1b). Bij proeven met gesteriliseerde boschgrond (tabel 8) traden bijna altijd groene plekje van *Trichoderma*-conidiën op, welke voorzorgen ik ook nam. Hartley, Merrill en Rhoads (1918) vonden eveneens dat *Trichoderma* vaak fructificeerde op pas gesteriliseerde grond, volkomen onafhankelijk van het vóórkomen van zaailingen. Zij kregen in geen enkele infectieproef aantasting, maar op grond van een reeks isolaties van kiemplanten met een typische cotyl-aantasting in een kweekkerij in Nebraska, besluiten zij, dat deze schimmel zeer waarschijnlijk onder heel bijzondere omstandigheden, i.c. abnormaal koud, nat weer, eenigszins parasitair kan zijn. Zij geven bij de behandeling van de ziekte-symptomen in een aparte rubriek „black-top” als vermoedelijke veroorzaker een *Trichoderma*-soort op en bovendien blijkt, dat bodeminfectie met zuur niet in staat is om „black-top damping-off” te voorkomen. Dat is vooral van belang, omdat uit mijn onderzoekingen duidelijk blijkt, dat *Trichoderma* zelfs bij voorkeur in zure grond groeit. De beschrijving en de gekleurde teekeningen die Hartley van „black-top” geeft maken het in hooge mate waarschijnlijk, dat zij inderdaad met *Trichoderma*-aantasting te doen hadden, want de opgegeven symptomen kloppen goed met wat ik zag (zie foto 5b) bij infectieproeven in reincultuur. De proeven waarbij de meeste aantasting optrad, werden in een warme kas genomen (zie antagonisme-proef 1 pag. 74) die bovendien flink vochtig was. *Trichoderma* gekweekt op moutsalep-agar gaf 2 x zoo veel aantasting als de op 2 % agar gekweekte cultuur. Vermoedelijk is hierbij vooral de veel grootere hoeveelheid mycelium die de schimmel op moutsalep-agar vormt, van belang. Ik deed opzettelijk om een flinke aantasting te verkrijgen veel materiaal in de potten (1 petrishaal-cultuur

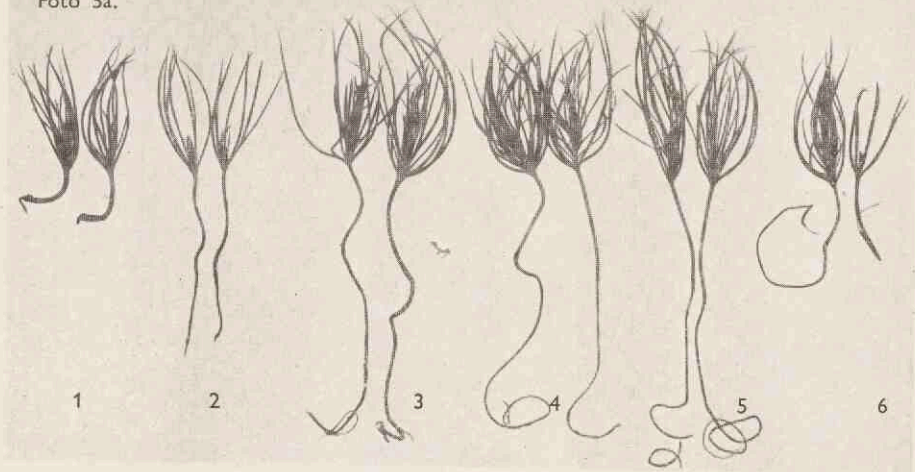
per pot). De ziekteverschijnselen zijn zeer verschillend, maar steeds heel duidelijk als *Trichoderma*-aantasting te herkennen, naar latere isolatie-proeven van op gesteriliseerde boschgrond spontaan ziek geworden plantjes bewezen. Aan de hand van foto 5b behandel ik eenige vormen van aantasting.

Niet zelden treedt deze op vóór of direct na het boven de grond komen van het zaad; daarbij rotten de in de zaadhuid en het endosperm besloten cotylen weg. Merkwaardig is, dat de stengel lange tijd gezond rechtop blijft staan; alleen vlak onder het zaad, dat de verrotte cotylen nog geheel omsluit, snoert ze in, waardoor het zaad scheef gaat hangen. De planten ontwikkelen zich niet verder en na eenige weken is meestal ook het gezonde stengeldeel weggefallen. Opent men het zaad dat aan de top van de stengel hangt, dan blijkt het de bruinzwarte, verdroogde cotylen te bevatten. Evenals bij de volgende stadia van top-necrose is het endosperm ingedroogd tot een zeer harde massa, zoodat het meestal onmogelijk is, de verdroogde of de gezonde cotylen zonder beschadiging uit het zaad te trekken. De wortels van deze vroeg aangetaste plantjes zijn ook ziek, vuilbruin verkleurd en veel korter dan gewoonlijk. Tusschen dit eerste stadium van top-necrose, dat dus reeds onder de grond begonnen moet zijn, tot aan de plant met uitgespreide cotylen, komen allerlei overgangen voor. Soms hebben de cotylen de zaadhuid reeds gedeeltelijk verlaten, terwijl het overige, binnen de zaadhuid besloten deel verrot is (droogrot). Ook gebeurt het, dat slechts 1 of 2 cotylen verdrogen, waardoor de top van de plantjes krom trekt, want de verdroogde cotylen zijn bij deze aantasting zeer taai. In de regel kunnen de gezonde cotylen niet vrijkomen uit de zaadhuid, maar als dat wel gebeurt, spreiden zij zich omgekeerd uit, dus met het in hun centrum gelegen vegetatiepunt naar beneden.

Behalve de aantasting van stengel en cotylen trad onder deze omstandigheden soms wortelaantasting op. Meestal zijn deze aangetaste planten dan klein en gedrongen, terwijl de zaadhuid op de cotylen blijft zitten of als deze afvalt, gaan de cotylen abnormaal ver uitstaan, zoodat ze in één vlak liggende, een ster vormen. Opvallend is bij deze aan de wortels door *Trichoderma* aangetaste planten vooral de blauwgroene kleur van de heele plant, waaraan men de wortelzieke exemplaren onmiddellijk herkent (zie foto 5b onderste rij).

Behandeling met Ceresanpoeder helpt afdoende tegen de cotylaantasting, die steeds het meeste voorkomt (zie tabellen 10 en 11).

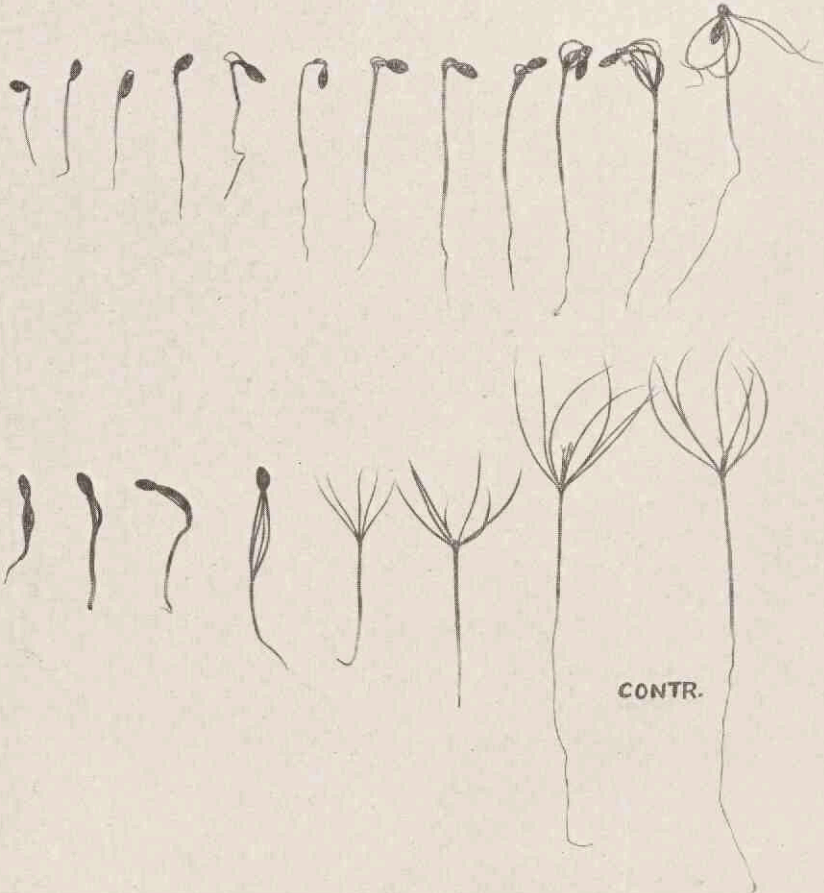
Foto 5a.



Aantasting resp. groeibevordering door schimmels bij proeven met *Pinus nigra austriaca* in reïncultuur. Ouderdom van de planten 2½ maand.

1. *Pythium intermedium*. 2. *Gibberella acuminata*. 3. *Phoma dunorum*. 4. *Pyronema confluens*. 5. *Phoma glomerata*. 6. Contrôle-planten.

Foto 5b.



Verschillende ziektesymptomen bij *Pinus nigra austriaca* veroorzaakt door *Trichoderma lignorum* in gesteriliseerde boschgrond (tabel 8). Bovenste rij: vormen van top-necrose.

Onderste rij: wortelaantasting en geheel rechts 2 gezonde controleplanten.

De plantjes zijn 1 maand oud.

HOOFDSTUK IV.

PRAKTIJKPROEVEN.

In Hoofdstuk III zagen wij, dat tal van factoren een belangrijke rol spelen bij het al dan niet optreden van kiemplantenziekten bij coniferen. Daarbij kon uiteraard niet gelet worden op de invloed, die mogelijk door de zaaitijd wordt uitgeoefend. Daarom deed ik op zaai-bedden een paar proeven, die in § 1 behandeld zullen worden.

Over de werking van zaaddesinfectie werden reeds enkele resultaten vermeld, maar alleen van proeven welke in vitro werden genomen. Dergelijke onderzoekingen deed ik ook op zaai-bedden. Tenslotte werd eveneens de invloed van bodemdesinfectie, van menging van grond, en van zaadbedekking op het optreden van kiemplantenziekten in zaai-bedden nagegaan.

Bij al deze praktijkproeven is het van het grootste belang om te zorgen, dat systematische bodemfouten zooveel mogelijk worden uitgeschakeld. Uit de literatuur blijkt, dat daar veel te weinig aandacht aan besteed wordt.

De heer Ir. W. Burdet, Rentmeester van het Gooisch Natuurreservaat, maakte mij attent op de methode van Knut Vik en bij de volgende proeven paste ik deze uitstekende methode ter verdeeling van de proefveldjes steeds toe. Zij zal in § 1 aan de hand van de daar verkregen uitkomsten nader worden toegelicht, terwijl het daar gegeven voorbeeld tevens op overtuigende wijze het groote voordeel van een proefveldverdeeling volgens Knut Vik duidelijk zal maken.

§ 1. Zaaitijd.

In de Amerikaansche literatuur wordt soms melding gemaakt van proeven ter bepaling van de beste zaaitijd, maar aangezien de klimatologische omstandigheden in Noord-Amerika zeer van de onze verschillen, hebben deze proeven voor ons praktisch geen waarde, zoodat ze hier onbesproken kunnen blijven.

In Schotland nam Steven (1928) over een reeks van jaren proeven om de beste zaaitijd voor douglasspar, sitkaspar en Europeesche lariks

na te gaan. Hij vond bij douglas een zeer groot verschil tusschen vroeg zaaien (December, Januari) en laat zaaien (April, Mei, Juni). Niet alleen was in het eerste geval het percentage van kieming veel beter, maar ook het aantal krachtig ontwikkelde, 2-jarige zaailingen, dat uit deze vroege zaaitijd resulteerde, was grooter. De zaadkieming is bij douglas zelfs onder de gunstigste omstandigheden zeer onregelmatig en het duurt altijd een week of zes, voordat de kieming afgelopen is. Zaait men iets te laat, dan kiemt een deel der zaden pas het volgende jaar. Tegen vroeg zaaien bestaat geen enkel bezwaar, want volgens Steven hebben douglas-kiemplanten in tegenstelling tot de volwassen boomen, niet de minste last van nachtvorst. De moeilijkheid is evenwel, en dat geldt ook voor ons land, dat het Amerikaansche zaad meestal pas in Februari te verkrijgen is; vandaar het enorme belang om zaad uit eigen land te gebruiken, want dat reageert volgens waarnemingen van Steven even gunstig op herfst- en winterzaaiing als het Amerikaansche.

In ons land heeft van der Craats (1934) de invloed van de zaaitijd voor douglas nagegaan. Hij vond, dat bij het zaaien tegen eind December begin Januari, de kieming 4 tot 5 maal zoo groot was als bij zaaiing in Maart. Ook bleken er groote verschillen te bestaan, die door de ligging van de zaai-bedden werden veroorzaakt: zaai-bedden in het Speulderbosch waren 60% beter dan in de er naast gelegen open kwekerij. Volgens van der Craats had het hier te lande gewonnen zaad een lagere kiemkracht, maar dat zal wel afhankelijk zijn van het oogstjaar, want de kieming die ik zag van zaad afkomstig van „Schovenhorst”, Putten, was uitstekend (zie ook Oudemans, 1934—1935).

Na het vorenstaande zal het duidelijk zijn, dat het voor mij volkomen overbodig was met douglasspar nog zaai-proeven te nemen.

Steven (1928) kon voor Europeesche lariks geen positieve invloed van de zaaitijd op de kieming en de ontwikkelingstoestand van 2-jarige zaailingen vaststellen.

Hij merkte alleen op, dat deze soort, ook tijdens de kieming, zeer gevoelig is voor vorst en dus adviseert hij niet te vroeg in het voorjaar te zaaien maar midden April tot Mei.

Omdat ik uit de literatuur zag, dat behalve douglasspar ook enkele W. Amerikaansche Pinus-soorten zich beter ontwikkelden bij vroeg zaaien (herfst, winter) leek het mij de moeite waard eens te zien hoe de Oostenrijksche den (*Pinus nigra austriaca*) op verschillende zaaitijden reageerde. Ik had daarbij niet alleen het oog op de zaadkieming, maar

tevens op de mate van wegvallen van zaailingen bij het zaaien in verschillende perioden.

Het is bij dergelijke praktijkproeven noodzakelijk met voldoende herhalingen te werken wil men eenige zekerheid betreffende de resultaten hebben. Nu speelt daarbij de verdeling van de proefveldjes over het beschikbare perceel een zeer belangrijke rol, vooral in verband met het veelvuldig voorkomen van bepaalde bodemverschillen in gedeelten van het proefperceel, het frequente optreden van bepaalde parasitaire schimmels in een deel van het veld en andere soortgelijke stelselmatig verloopende variatie-oorzaken. Deze kunnen de oorzaak van foutieve conclusies uit een proef zijn.

Burdet (1935) behandelt uitvoerig de methode van Knut Vik, ter uitschakeling van de systematisch verloopende variatie-oorzaken bij het proefveld-onderzoek. Ook Möller en Feichtinger (1929) bespreken deze methode. Knut Vik (1924) gaat uit van een zeer bepaalde proefvelden-aanleg, waarbij 3×3 , 5×5 , 7×7 , 9×9 enz. proefveldjes van gelijke grootte in een vierkant worden uitgezet. Daarbij worden dus 3, 5, 7 en 9 verschillende voorwaarden over het geheele proefveld verdeeld in resp. 3, 5, 7 en 9 herhalingen. Dit houdt dadelijk het bezwaar dat tegen deze methode gemaakt is in, want men kan alleen met een oneven aantal veldjes werken, zoals nog nader zal worden uitgelegd. In verreweg de meeste gevallen zal het evenwel mogelijk zijn de proeven hiernaar in te richten. Dit bezwaar weegt dan ook niet op tegen de zeer vereenvoudigde berekening van de middelbare fouten, die door deze methode verkregen wordt, vooral vergeleken met die welke b.v. bij de methode van Fisher noodig is. Het best uitvoerbaar is de methode van Knut Vik bij gebruik van 3×3 of 5×5 proefveldjes, omdat anders het aantal detailveldjes erg groot wordt. Daarom heb ik deze aanleg bij mijn proeven gekozen. Om de invloed van de zaaitijd voor *Pinus nigra austriaca* na te gaan werden 5×5 zaai-bedden van 80×80 cm aangelegd, waartusschen paadjes van 20 cm breedte werden uitgespaard, zoodat de oppervlakte van het geheele proefveld 5×5 m² bedroeg.

De eerste proef nam ik in de laboratoriumtuin, dus in tuinaarde. Gezaaid werd 3 Dec. 1937, 3 Jan. 1938, 3 Febr. 1938, 3 Mrt. 1938 en 3 Apr. 1938. Daarbij wordt de ligging van de 5 herhalingen zoodanig gekozen, dat in elke horizontale rij en in elke verticale rij iedere zaaitijd slechts 1 maal voorkomt. Schema 1 verduidelijkt een en ander. Deze aanleg verkrijgt men door in elke horizontale rij steeds onder het

Februari-veldje een December-veldje te plaatsen. Per bedje werden 6 rijen van 100 zaden gezaaid. Het zaad werd met Ceresanpoeder gebeitst in een verhouding van 2 gram per kg zaad, en ± 1 cm diep gezaaid. Het proefveld was vanaf het begin van de proef overdekt met vischnetten, die rustten op een houten frame, 40 cm boven de grond. De zijkanten waren met fijn kippengaas afgezet. Dit was noodig om vogels, katten, eekhoorns enz. buiten het proefveld te houden.

Tabel 16 geeft het verloop van de kieming en het wegvallen weer. Daarbij moet opgemerkt worden, dat de mogelijkheid bestaat, dat op 23 Mei de kieming van de April-veldjes nog niet voltooid was, maar dat was in September niet meer te constateeren. Ik kon toen slechts de aanwezige gezonde planten tellen en met die cijfers het aantal wegvallers sinds de vorige telling berekenen. Het is dus niet uitgesloten, dat het geringe aantal wegvallers van de in April gezaaide bedjes slechts schijnbaar is en dat in werkelijkheid tusschen 23 Mei en 23 September eerst nog verdere kieming optrad, terwijl eveneens meer planten wegvielen.

Uit de tabel is tevens duidelijk te zien, dat voor elke zaaitijd steeds in het 5e bedje de meeste ziekte optrad. In deze strook grond, die grenst aan een tuinpad, waren dus blijkbaar meer parasitaire schimmels aanwezig dan in de rest van het proefveld. Was een andere verdeeling gebruikt, dan zou dus het resultaat van de proef zijn geweest, dat ook in dat geval de aan het tuinpad grenzende bedden de meeste wegvallers gaven, waardoor men verkeerde conclusies zou trekken. Nu zijn dergelijke fouten uitgesloten, omdat van elke zaaitijd één zaai-bed in genoemde strook ligt. Met dit concrete voorbeeld is dus het nut van deze detailveld-verdeeling volgens Knut Vik overtuigend aangetoond.

Knut Vik rekent voor elk detail-veldje de afwijking van het gemiddelde van een bepaalde proefneming, in dit geval dus van een bepaalde zaaitijd, uit.

In schema 2 zijn deze afwijkingen genoteerd. Het zijn dus voor de December-veldjes de afwijkingen van het gemiddelde aantal gezonde planten van alle 5 December-veldjes; datzelfde geldt voor de afwijkingen van het gemiddeld aantal gezonde planten afkomstig van de Januari-veldjes, enz.

Naast de bovenbeschreven verdeeling van de detailveldjes over het proefveld zou nog een tweede verdeeling mogelijk zijn (aangegeven door a, b, c, d, e in de bovenhoek van elk vierkantje in schema's 1 en 2),

Tabel 16.

ZAAITJDPROEF MET PINUS NIGRA AUSTRIACA.

Zaaitijd	Gekiemd		Weggefallen			Gezond			
	8 Apr.	23 Mei	8 Apr.	23 Mei	23Sept.	8 Apr.	23 Mei	23Sept.	
December	1	376	460	2	52	80	374	408	380
	2	387	427	1	37	65	386	390	362
	3	407	441	0	57	80	407	384	361
	4	445	477	3	64	67	442	413	410
	5	386	447	2	137	187	384	310	260
	Totaal	2001	2252	8	347	479	1993	1905	1773
Januari	1	393	409	7	58	92	386	351	317
	2	421	421	9	70	98	412	351	323
	3	420	468	4	39	58	416	429	410
	4	445	459	4	70	87	441	389	372
	5	462	476	11	104	189	451	372	287
	Totaal	2141	2233	35	341	524	2106	1892	1709
Februari	1	470	502	3	31	56	467	471	446
	2	504	520	6	43	71	498	477	449
	3	496	509	5	58	109	491	451	400
	4	470	518	0	77	106	470	441	412
	5	395	488	2	145	201	393	343	287
	Totaal	2135	2537	16	354	543	2119	2183	1994
Maart	1	430	526	0	28	56	430	498	470
	2	139	517	0	16	37	139	501	480
	3	292	513	0	47	95	292	466	418
	4	388	497	0	11	38	388	486	459
	5	336	518	0	107	161	336	409	357
	Totaal	1585	2571	0	209	387	1585	2362	2184
April	1	0	458	0	1	18	0	457	440
	2	0	512	0	0	23	0	512	489
	3	0	480	0	3	23	0	477	457
	4	0	472	0	2	40	0	470	432
	5	0	410	0	4	29	0	406	381
	Totaal	0	2332	0	10	133	0	2322	2199

waarbij in iedere horizontale en iedere verticale rij elke letter slechts eenmaal voorkomt.

Knut Vik gaat hierbij van de gedachte uit, dat de gevallen a, b, c, d, e een blanco-proef voorstellen, d. w. z. dat indien alleen de systematische variatie-oorzaken aanwezig zouden zijn, alle 5 dezelfde uitkomst moesten geven.

Bestaat er nu toch nog een verschil in de uitkomsten, dan kan dat slechts tengevolge van toevallige variatie-oorzaken ontstaan zijn, zoodat we deze verschillen kunnen gebruiken om de middelbare fout van de uitkomsten van de proef te berekenen. Deze berekening is in tabel 17 uitgevoerd, waar dus de getallen voorkomende in alle a-vakjes van schema 2 zijn gemiddeld en eveneens die voor de b-, c-, d- en e-vakjes. Deze gemiddelden worden gekwadrateerd en daarna opgeteld. De middelbare fout (m) van elk gemiddelde uit 5 in de zelfde maand gezaaide veldjes is dan gelijk aan de wortel uit deze som, gedeeld door 5—1 (het aantal waarnemingen per onbekende is 5).

De middelbare fout van elk der 5 sommen in tabel 16 is dan natuurlijk 5 x groter, dus 75.

De uitkomst van deze proef is duidelijk. De beste eindresultaten verkreeg ik door *Pinus nigra austriaca* begin Maart of begin April te zaaien. Dit is ongeveer de tijd, waarin men in de praktijk ook pleegt te

Tabel 17.

	a	b	c	d	e
	+25	-25	+47	+ 33	0
	-19	+50	+43	+ 49	+ 7
	+ 1	-19	+17	+ 6	+68
	+22	- 8	+55	+ 30	+13
	-59	-95	-55	-112	-80
Gemiddelden . . .	- 6	-19	+21	+ 1	+ 2
Kwadraten . . .	36	361	441	1	4

$$\sum v^2 = 843$$

$$m = \pm \sqrt{\frac{843}{4}} = \sqrt{211} = 15$$

Schema 1.

I a 380	II b 317	III c 446	IV d 470	V e 440
IV c 480	V d 489	I e 362	II a 323	III b 449
II e 410	III a 400	IV b 418	V c 457	I d 361
V b 432	I c 410	II d 372	III e 412	IV a 459
III d 287	IV e 357	V a 381	I b 260	II c 287

I = gezaaid in Dec. (gem. 355) IV = gezaaid in Mrt. (gem. 437)
 II = „ „ Jan. („ 342) V = „ „ Apr. („ 440)
 III = „ „ Febr. („ 399)

Schema 2.

I a +25	II b -25	III c +47	IV d +33	V e 0
IV c +43	V d +49	I e +7	II a -19	III b +50
II e +68	III a +1	IV b -19	V c +17	I d +6
V b -8	I c +55	II d +30	III e +13	IV a +22
III d -112	IV e -80	V a -59	I b -95	II c -55

zaaien, zoodat de praktijk het in dit geval, in tegenstelling tot de tijd van zaaien voor douglasspar, bij het rechte eind had. Vanzelfsprekend mag het resultaat van deze proef, die maar gedurende één jaar werd genomen, niet gegeneraliseerd worden, want tengevolge van andere klimatologische omstandigheden zou het verloop een volgend jaar natuurlijk anders kunnen zijn. In het voorjaar van 1938 was de temperatuur in Maart abnormaal hoog, de neerslag abnormaal laag, waardoor de kieming van de vóór Maart gezaaide veldjes reeds 15 Maart begon. April was eveneens droog, maar zeer koud, met vrijwel ieder etmaal nachtvorst en soms zelfs abnormaal lage thermometerstanden voor deze tijd van het jaar. Dikwijls waren de kiemplanten witbevoren. Zij leden er geen blijvende, ernstige schade door, wel echter werden de vóór Maart gezaaide planten lange tijd in hun ontwikkeling geremd. Zij verloren meer naalden dan de later gezaaide planten waardoor de totale indruk van de Maart- en April-veldjes veel beter was. Het in Maart gezaaide zaad begon pas goed te kiemen na 1 April.

Een zelfde proef als de bovenbeschrevene deed ik in het Bikbergerbosch, van het Gooisch Natuurreservaat, dank zij de zeer welwillende medewerking van Ir. W. Burdet.

Helaas moest deze proef uitvallen, omdat muizen groote ravages hadden aangericht in de zaaibedden. Uit de zaailingen ontstaan uit zaden, die zij onaangeroerd lieten, bleek weliswaar duidelijk, dat ook hier zaaien in Februari en Maart de meeste planten gaf (in April werd niet gezaaid in verband met de ernstige muizenvraat). Vermeldenswaard is nog, dat meniën van het zaaizaad tegen muizenvraat niet helpt. Dat werd ook al door Steven (1928) geconstateerd. Hij geeft als eenige afdoende maatregel tegen muizen op, het gebruik van zeer fijnmazig gaas. Daarvan wordt 15 cm in de grond gegraven, terwijl het bovenste stuk, dat 30 cm boven de bodemoppervlakte uitsteekt, naar buiten en dan naar beneden wordt omgebogen, zoodat de muizen er niet tegenop kunnen klimmen.

§ 2. Invloed van de uitwendige omstandigheden op de infectie.

Voor tal van kiemplantenaantastingen was reeds lang de groote invloed, die de temperatuur op het al of niet epidemisch optreden van de ziekte uitoefent, bekend, vooral door de onderzoekingen van Jones en zijn school. Gifford (1911) wees voor coniferenzaailingen op het verband

tusschen temperatuur en vochtigheid en het optreden van de omvalziekte. Roth (1935) stelde voor Picea-kiemplanten aan de hand van uitvoerige laboratoriumproeven vast, dat het optreden van wortelbrand in hooge mate van de temperatuur afhankelijk is, onverschillig of die wortelbrand veroorzaakt wordt door *Pythium de Baryanum*, *Rhizoctonia solani* of *Fusarium* spp. De eerste 2 soorten veroorzaken alleen boven een temperatuur van 15° C. hevige wortelbrandschade. *Fusarium* spp. geven pas een sterke aantasting bij temperaturen boven 21°—24° C. Boven 30° C. zijn *Pythium* en *Rhizoctonia* van geen belang, maar dan kunnen *Fusarium*-soorten als wortelbrandparasieten veel kwaad doen.

De hevigste aantastingen treden in de praktijk op, als na zware regens een warme pericde volgt (Hartley, 1921). Ook de invloed van de bodemvochtigheid is dus van belang. Roth (1935) kon aantonen, dat vooral *Pythium* zeer van de bodemvochtigheid afhankelijk is. Toch werkt ook bij *Pythium* een extreem (100%) natte bodem remmend op de pathogene werkzaamheid.

De groote invloed die de aard van de bodem op de aantasting uitoefent werd reeds in hoofdstuk III, § 5. uitvoerig besproken. Zoowel zuurgraad als humusgehalte en bodemstructuur bepalen deze invloed. Hiermee zijn wij meteen terecht gekomen bij de eventueele maatregelen, die voor bestrijding van kiemplantenziekten in aanmerking komen. In de eerste plaats kunnen wij de zuurgraad beïnvloeden en het staat wel vast dat de dikwijls zeer gunstige werking van zwavelzuur, dat oorspronkelijk alleen met het oog op zijn desinfecteerende werking werd gebruikt, voor een belangrijk deël berust op de verlaging van de pH van de bodem (Jackson, 1933; Roth, 1935; Wilde, 1937).

Toch is zwavelzuur, dat voor deze doeleinden het eerst door Spaulding (1914) en later in uitvoerige proeven door Hartley en Pierce (1917), Toumey en Li (1927) e. a. werd gebruikt, niet in alle kweekerijen werkzaam. Jackson (1933, 2) vond, dat de graad van verzuring direct na de behandeling zeer afhankelijk is van de aard van de bodem. Wilde (1937) geeft een goed overzicht van de verschillende bezwaren, die zich in de praktijk bij de zwavelzuurbehandeling voor kunnen doen. Daaruit blijkt dat voor iedere grondsoort niet dezelfde concentratie gebruikt kan worden. De vermindering van de zuurgraad is evenredig met het colloïdale gehalte van de bodem. De affiniteit van de sterkst colloïdale gronden tot zwavelzuur is zóó groot, dat begieten na een zwavelzuur-behandeling de pH niet boven 3 kan doen stijgen

voordat de zaden kiemen. Daardoor kan een chemische beschadiging optreden. Verder bleek, dat humus dezelfde invloed heeft als minerale colloïden.

Behalve zwavelzuur worden tal van andere chemicaliën ter bestrijding van kiemplantenziekten aanbevolen. Daarvan zijn de voornaamste: formaline (Gifford, 1911; Delevoy, 1926), aluminiumsulfaat (Hartley, 1928; Wiant, 1929), kopersulfaat (Sibilia, 1928; Kadow en Anderson, 1937), uspulun (Sibilia, 1928; Wiant, 1929; Plantenziektenkundige Dienst, 1930), ruw phosphorzuur (Young c.s., 1937), kaliumpermanaanaat (Delevoy, 1926).

Tegen formaline bestaan meestal ernstige bezwaren, omdat daardoor de kieming van het zaad dikwijls zeer vermindert, zoodat de verliezen grooter zijn dan die, welke door ziekten worden veroorzaakt. (Spaulding, 1914; Hartley en Pierce, 1917; Toumey en Li, 1927; Young c.s. 1937). Maar ook de andere chemicaliën werken lang niet altijd gunstig. In veel gevallen schijnt zwavelzuur nog de beste uitkomsten te geven, mits men niet al te leemige, humus- of kalkrijke gronden in de kweekrij heeft. Vooral uit meer recente onderzoekingen (Jackson, 1933; Roth, 1935; Wilde, 1937) blijkt duidelijk, dat de voornaamste oorzaak van de werkzaamheid van zwavelzuur ongetwijfeld in de verzurende werking gezocht moet worden; blijft bodemverzuring achterwege, b.v. in een sterk gebufferde, kalkrijke grond, dan is ook zwavelzuur onwerkzaam.

Op de invloed van het humusgehalte van de bodem werd reeds eerder gewezen. Van nog grooter belang is waarschijnlijk de bodemstructuur. Hartley en Pierce (1917) zagen, dat in zandige gronden minder ziekte optrad dan in leemige gronden. Is het noodig toch in zwaardere bodem te zaaien, dan raden Hartley en Pierce aan, de bovenste laag met zand te mengen. Ook zagen zij in één geval voortreffelijke resultaten van het ophoogen van zoo'n grond met een laag van 8 cm zeer zandige, juist opgedolven ondergrond. Maar een nog gemakkelijker methode is, alleen het zaad te bedekken met kwartszand, dat zoo diep gedolven is, dat men mag aannemen dat het vrij van parasitaire schimmels is. Dit wordt ook in ons land veel toepast. Voor Engeland meldt Steven (1928) goede resultaten van zandbedekking bij sitkaspar en lariks. Douglas bleek betrekkelijk ongevoelig voor de condities van de bodemoppervlakte. Delevoy (1926, 1927) meldt uit België eveneens goede resultaten, maar nog beter was bedekking van het zaad met houtzaagsel.

a. Behandeling van de zaaibedden.

In verband met bovengenoemde bestrijdingswijzen nam ik een paar proeven, waarbij ik opzettelijk gronden koos, waarvan ik wist, dat er veel parasieten in aanwezig waren, n.l. tuingrond (laboratoriumtuin, Baarn) en zandige lössgrond (kwekerij Middachten, de Steeg).

De opstelling van de proef in de laboratoriumtuin wordt door schema 3 weergegeven.

Schema 3.

Larix leptolepis contrôle	Larix leptolepis H_2SO_4	Larix leptolepis 5 cm zand
Pinus nigra austriaca contrôle	Pinus nigra austriaca H_2SO_4	Pinus nigra austriaca 5 cm zand
Pseudotsuga Douglasii contrôle	Pseudotsuga Douglasii H_2SO_4	Pseudotsuga Douglasii 5 cm zand

Aangezien hier niet met herhalingen werd gewerkt en de verdeling van de proefvelden niet volgens Knut Vik was, zijn de mee te deelen resultaten niet heelemaal betrouwbaar.

De met zwavelzuur behandelde veldjes werden 10 dagen voor het zaaien begoten met verdund H_2SO_4 (50 cc ruw zwavelzuur in 5 liter water per m^2). Het op andere bedden gebruikte witte zand, dat volkomen vrij van humus was, werd één meter diep opgedolven. Elk bedje werd met een 5 cm dikke laag bedekt. 22 Maart 1938 werd gezaaid en wel van de Oostenrijksche den 600 zaden, van de douglasspar 1000 zaden en van de Japansche lariks 2100 zaden per bedje.

De zaden werden verspreid gezaaid en bedekt met een dun laagje van de grond waarop zij lagen, dus zaden op fijn zand met fijn zand, zaden op met zwavelzuur gedesinfecteerde tuinaarde met dito aarde, enz.

Steeds is het moeilijk om bij het tellen van de planten zekerheid te hebben, dat men bij een latere herhaling dezelfde planten zal tellen. Het kan immers gemakkelijk gebeuren, dat tusschen de eerste en de tweede opname eenige planten volledig zijn weggevallen en andere gekiemd. Dat maakt op het getelde aantal gezonde planten wel geen verschil, maar omdat het ons ook om de wegvallers te doen is, is deze opzet voor ons

doel ongeschikt. Daarom zette ik bij het tellen naast iedere gekiemde plant een houtje. *) Was bij een latere telling een deel der planten weggevallen, dan werden eenvoudig de daarbij behoorende houtjes verwijderd en geteld.

Uit tabel 18 blijkt, dat voor *Larix leptolepis* het contrôlebedje na afloop van de proef het beste is. Voor *Pinus nigra austriaca* is de zwavelzuurbehandeling in dit geval duidelijk beter dan de andere methoden.

Tabel 18.

INVLOED VAN BODEMBEHANDELING 1.

Aangezet 22 Maart 1938, in de laboratoriumtuin te Baarn.

Bodembehandeling	Plant	Gekiemd na			Weggevallen na		
		2 m.	3 m.	6 m.	2 m.	3 m.	6 m.
Bedecking met 5 cm diepgedolven wit zand.	<i>Larix lept.</i>	27	102	109	0	46	65
	<i>Pinus n. aust.</i>	402	404	404	38	45	116
	<i>Pseudotsuga D.</i>	213	253	286	63	75	103
Zwavelzuur-desinfectie (5 L 1 % per m ²)	<i>Larix lept.</i>	122	280	290	1	186	239
	<i>Pinus n. aust.</i>	430	433	433	31	45	70
	<i>Pseudotsuga D.</i>	207	288	299	33	67	102
Contrôle	<i>Larix lept.</i>	112	233	244	5	133	156
	<i>Pinus n. aust.</i>	373	375	375	69	93	100
	<i>Pseudotsuga D.</i>	214	219	287	33	66	96

Pseudotsuga gedraagt zich bij alle 3 behandelingen gelijk. Als we op het verloop van de kieming letten zien we, dat *Pinus nigra austriaca* zeer regelmatig kiemt; na 2 maanden is zij praktisch voltooid. Lariks en vooral douglas gaven een veel onregelmatiger kieming, die weliswaar tijdens de warmste zomermaanden even stil stond, maar in September opnieuw begon. Een tweede proef kon ik, dank zij de zeer welwillende medewerking van Ir. A. A. Bonnema, in de kweekkerij van Middachten aanleggen. De kweekkerij ligt op een open, onbeschadwd terrein en wordt

*) De N.V. Vereenigde Hollandsche Lucifersfabrieken te Eindhoven was zoo vriendelijk mij hiervoor kosteloos eenige tienduizenden ongekleurde luciferhoutjes zonder koppen, ter beschikking te stellen, waarvoor ik haar ook op deze plaats hartelijk wil bedanken.

jaarlijks met compost bemest; de bodem is een zandige lössgrond. Hier volgde ik de methode van Knut Vik, n.l. 5 verschillende proeven met 5 herhalingen. De Romeinsche cijfers in tabel 19 duiden de volgende behandelingen van de zaaibedden aan:

I. De bovenste 5 cm van het zaaibed gemengd met gelijke hoeveelheid heizand (2 m diep gedolven).

II. Zaaibed met 5 cm heizand (2 m diep gedolven).

III. Zaaibed 10 dagen voor het zaaien gedesinfecteerd met 50 cc zwavelzuur in 5 liter water.

IV. Zaad bedekt met een laagje fijn zand en fijn grint.

V. Zaaibed onbehandeld (contrôle).

Van ieder bedje werd de helft met 7 dagen voorgeweekt douglaszaad, de andere helft met 1 dag voorgeweekt zaad van Oostenrijksche den bezaaid. Direct voor het zaaien werden de vochtige zaden gemenied tegen vogelvraat. Van *Pinus nigra austriaca* zaaide ik 7 g (\pm 350 zaden), van douglasspar 5 g (\pm 450 zaden) per bedje. Gezaaid 7 April 1938. Tabel 19 geeft de resultaten van deze proef weer.

De kieming was steeds het snelste en ook kwantitatief het beste bij bedekking van het zaad met fijn zand. De bedden die met zwavelzuur behandeld waren vertoonden een vertraagde kieming. Op de bedden met 5 cm heizand was de kieming zeer slecht, mogelijk in verband met het snelle uitdrogen van deze zandlaag. Typische verschillen in onkruidontwikkeling traden op. Terwijl op 20 Mei de contrôle-bedjes dicht begroeid waren met muur en enkele andere akker-onkruiden, waren de met zwavelzuur behandelde veldjes praktisch onkruidvrij. Alleen op enkele plekken, die blijkbaar minder goed met zwavelzuur doordrenkt waren geweest, was eenige onkruidvegetatie.

Muskett (1931) wees ook op de onkruidvernietigende werking van zwavelzuur — welke overigens reeds door meerdere auteurs was geconstateerd — en kon berekenen, dat zwavelzuurbehandeling de onkosten voor de werkzaamheden op de zaaibedden met 34% verminderde. Bij die onkosten zijn dan inbegrepen het zwavelzuur en de behandeling van de zaaibedden ermee.

Ook de bedjes met 5 cm zand hadden weinig onkruiden. Waar de zaden met fijn zand bedekt waren bleek evenveel onkruid te groeien als op de contrôle-veldjes. Jackson (1933, 2) kon aantoonen, dat in de meeste gronden die met zwavelzuur behandeld worden de pH beneden een diepte van 5 cm niet verandert. De maximale pH-verandering ligt

Tabel 19.

INVLOED VAN BODEMBEHANDELING 2.

Aangezet 8 April 1938, in de kweekrij te Middachten.

Bodembehandeling	Pinus nigra austriaca				Pseudotsuga Douglasii				
	gekiemd na	weggeval- len na	gezond na		gekiemd na		weggeval- len na		gezond na
	2 en 5 m.	2 m.	5 m.	5 m.	2 m.	5 m.	2 m.	5 m.	5 m.
I. Gemengd met heizand									
1	236	41	51	185	113	130	7	55	75
2	262	24	30	232	93	110	5	25	85
3	252	39	46	206	142	148	8	44	104
4	275	12	14	261	119	131	9	24	107
5	255	19	27	228	193	201	18	68	133
Totaal	1280	135	168	1112	660	720	47	216	504
II. 5 cm heizand									
1	191	161	166	25	71	82	11	39	43
2	192	141	141	51	99	105	24	67	38
3	154	102	107	47	91	96	40	49	47
4	174	132	142	32	116	118	53	73	45
5	179	145	145	34	69	75	35	50	25
Totaal	890	681	701	189	446	476	163	278	198
III. 1% H₂SO₄									
1	290	78	113	177	241	259	13	61	198
2	282	53	70	212	203	217	12	40	177
3	278	71	93	185	242	259	6	49	210
4	300	45	47	253	226	236	14	51	185
5	292	22	29	263	250	262	13	37	225
Totaal	1442	269	352	1090	1162	1233	58	238	995
IV. Zaad bedekt met zand									
1	286	7	22	264	249	265	29	107	158
2	294	5	11	283	267	270	18	88	182
3	282	4	10	272	279	285	22	68	217
4	287	8	17	270	269	273	21	82	191
5	287	5	6	281	271	273	18	65	208
Totaal	1436	29	66	1370	1335	1366	108	410	956
V. Contrôle									
1	271	10	22	249	183	202	20	88	114
2	295	7	19	276	159	183	20	66	117
3	263	7	8	255	188	199	12	69	130
4	303	8	23	280	170	185	19	58	127
5	292	12	36	256	194	203	15	68	135
Totaal	1424	44	108	1318	894	972	86	349	623

meestal op een diepte van 1 cm, terwijl de graad van verzuring ten tijde van de behandeling afhankelijk is van de aard van de bodem, zooals al eerder op pag. 105 werd medegedeeld.

Wilde (1937) adviseert voor gronden die geschikt zijn voor de behandeling met zwavelzuur 1,5 % oplossing te gebruiken, toegediend direct na het zaaien. Merkwaardig is n.l. dat coniferenzaden in tegenstelling tot onkruidzaden geen directe schade van zwavelzuur ondervinden. Toch heb ik voor alle zekerheid de behandeling 10 dagen voor het zaaien toegepast en nam ik in verband met de zware grond een 1 % oplossing. Desondanks bleek in de bedden met Oostenrijksche den eenige chemische beschadiging op te treden.

Tabel 19 toont duidelijk de groote verschillen in zaadkieming, sterfte van zaailingen en het totale aantal gezonde kiemplanten bij de diverse zaaibed-behandelingen verkregen. De beste behandeling voor *Pinus nigra austriaca* is zaadbedekking met fijn zand, maar ook de contrôles waren heel goed, beter dan de bedden waarvan de bovenlaag met zand was gemengd. In de bedden met 5 cm heizand was het aantal weggevallen planten het grootst.

Voor douglas zijn de resultaten anders. Daar was behandeling met zwavelzuur het beste, hoewel de bedden waarin het zaad met fijn zand was bedekt beter kiemden. In de andere detail-veldjes was de kieming veel minder goed en de aantasting naar verhouding heviger.

We kunnen uit deze proef dus concludeeren, dat voor *Pinus nigra austriaca* bedekking van het zaad met fijn zand iets betere resultaten geeft dan de contrôle, terwijl de andere methoden niet gunstig waren. Voor douglas is bodemdesinfectie met zwavelzuur het beste, hoewel het eindresultaat maar weinig van dat van de met fijn zand bedekte bedjes verschilt. Beide methoden zijn belangrijk beter dan de contrôle. Dit is dus in tegenspraak met Steven's meening, dat bij douglas zaadbedekking met fijn zand geen waarde zou hebben.

De pH van de verschillend behandelde detail-veldjes bepaalde ik 2 maal: de eerste keer medio Juni, de tweede maal medio September. Ik gebruikte daarvoor de colorimetrische methode en stelde de pH van de bodem vast met de Hellige-comparator. Gelijke deelen water en bodem werden krachtig geschud, daarna liet ik 24 uur bezinken. De dan nog aanwezige zwevende deeltjes werden met een elektrische centrifuge uitgeslingerd en van de overblijvende vloeistof bepaalde ik de pH.

Tabel 20.

Behandeling:	pH	
	Juni	September
I. gemengd	—	5,7
II. heizand	6,7	6,6
III. zwavelzuur	3,6	5,1
IV. oppervl. zand.....	—	5,6
V. contrôle	5,7	5,7

Duidelijk valt op dat 5 cm heizand de pH verhoogde. Young, Davis en Latham (1937) vonden vooral in de centrale staten van Noord-Amerika, dat ook bedekken van het zaad met zand de pH verhoogde en daardoor de omvalziekte in de hand werkte. Dat kon ik in Middachten niet constateeren maar wel was de pH hoger als véél zand op de zaai-bedden werd gebracht. Of de sterke aantasting inderdaad door schimmels werd veroorzaakt of dat de wortels van de jonge zaailingen in deze zeer droge bedden direct na de kieming uitdroogden, was niet met zekerheid te zeggen.

Opvallend was de sterke verlaging van de pH door zwavelzuurbehandeling veroorzaakt. De eerste bepaling had 2½ maand na de behandeling plaats en was een volkomen bevestiging van wat Wilde (1937) voor dergelijke gronden opgeeft. Na 5½ maand bleek de verzuring door het zwavelzuur bijna uitgewerkt te zijn (zie tabel 20).

De groote invloed die de bodem uitoefent maakt het moeilijk algemeen geldende regels op te stellen. Verschillende auteurs vermelden dan ook nadrukkelijk, dat steeds voor iedere kweekrij de beste methode van behandeling empirisch moet worden vastgesteld. Dat zwavelzuurbehandeling in zandige tuinaarde (tabel 18) geen chemische beschadiging voor *Pinus nigra austriaca* gaf, maar integendeel juist gunstig scheen te werken, moet ook door verschillen van de bodem worden verklaard. Wilde (1937) zegt, dat zwavelzuur-behandeling van gronden met verschillend colloidaal gehalte toont, dat de zuurgraad na begieten met water vermindert omgekeerd evenredig met het colloïdale gehalte van de grond.

b. **Behandeling van het zaad.** Ofschoon Hartley (1921) er op wijst, dat verschillende parasieten groote kiemingsverliezen kunnen veroorzaken, heeft hij toch geen zaadbehandeling toegepast.

Ook Spaulding (1914), Hansen c.s. (1923), Wiant (1929) e.a. letten alleen op de invloed van bodem-desinfectie ter bestrijding van zaailingen-ziekten. Voor coniferen werd, voor zoover ik heb kunnen nagaan, de invloed van zaad-desinfectie nog niet onderzocht. Daarentegen verschenen vele publicaties over de invloed van zaad-desinfectie op het optreden van kiemplanten-ziekten van andere planten vooral groenten, sierbloemen e.d. Horsfall (1932), Horsfall, Newhall en Gutermaun (1934), Marsh (1937) en Ogilvie en Hickman (1938) hebben allen een dikwijls zeer gunstige werking gezien van een droge zaadbehandeling met rood koper-oxyde (cupro-oxyde, Cu_2O). Horsfall deelt de „damping-off” ziekte in 2 stadia in, n.l. de „pre-emergence” en de „post-emergence damping-off”; die „pre-emergence damping-off” is hetzelfde wat Hartley (1921) „germination-loss” noemt. Dit is het stadium dat Horsfall met succes kon bestrijden door een zaadbehandeling met rood koper-oxyde. Naast rood koper-oxyde werd ook de invloed van tal van andere stoffen onderzocht, waarvan organische kwikverbindingen (Semesan en Ceresan) en zink-oxyde (Vasco) de beste resultaten gaven. Vooral de uitvoerige proeven van Kadow en Anderson (1937) over desinfectie van groentezaden geven een goed beeld van de werking van de verschillende stoffen. Koper-oxyde is meestal het werkzaamste middel, maar voor bepaalde planten, b.v. cruciferen is het niet geschikt, omdat het chemische beschadiging geeft. Dan is Semesan het werkzaamst.

Smith, Jones, Killough en McNamara (1936) zagen een goede werking van Ceresanpoeder bij katoenzaad.

In hoofdstuk III, blz. 60, bleek Ceresan ook bij coniferen gunstig te werken. Ik heb in kisten naast elkaar geprobeerd: zaadontsmetting met Ceresanpoeder (in de verhouding van 2 g Ceresan op 1 kg zaad), cupro-oxyde 2 %, cupro-oxyde 5 % en menie + cupro-oxyde 3 %. In verband met de voor de parasitaire schimmels ongunstige lage temperatuur, trad in geen enkele kist kiemingsverlies op. Eenige dagen na de kieming werd de kas, waarin ik deze proef deed, verwarmd, waardoor de schimmels krachtig gingen groeien, zoodat wel in alle kisten veel omvalziekte optrad. Eenig verschil tusschen onbehandeld en behandeld zaad bleek daarbij niet te bestaan. Koper-oxyde gaf, ook bij de hoogste doseering, niet de minste beschadiging. Het verdient aanbeveling deze proeven

voort te zetten, liefst onder omstandigheden die van het begin af aan gunstig zijn voor schimmelontwikkeling, terwijl ook proeven waarbij de grond kunstmatig met *Rhizoctonia* geïnfecteerd wordt, waarschijnlijk interessante verschillen te zien zullen geven.

Naar mijn meening heeft menieën van het zaad geen fungicide werking. Uit gemeniede zaden, uitgelegd in petri-schalen op 2% agar, groeien na een paar dagen evenveel schimmels als uit onbehandelde zaden.

Mogelijk zal een combinatie van menie met 3% cupro-oxyde gunstig werken, zoodat het dan mogelijk zou zijn, dit preparaat als bescherming tegen bodemschimmels en tegen vogels te gebruiken. Hiervoor moeten evenwel eerst nog proeven genomen worden. Menie en koper-oxyde kunnen heel goed in droge toestand gemengd worden en op de natgemaakte zaden hecht de combinatie uitstekend. Droog rood koper-oxyde, niet te krachtig met zaden van Pinus in een volkomen droog glazen bakje geschud, bedekt het geheele zaad met een karmijnroode laag, die ook na de kieming aan het zaad gehecht blijft. Op zaaibedden in de laboratoriumtuin nam ik met aldus behandelde zaden een proef om de werking van cupro-oxyde met die van Ceresanpoeder te vergelijken. Ongedesinfecteerd zaad werd als contrôle gebruikt en de proef werd in triplo aangelegd volgens de methode van Knut Vik. Per bedje werden 500 zaden verspreid gezaaid. De met koper-oxyde ontsmette zaden kregen een hoeveelheid Cu_2O , overeenkomende met $2\frac{1}{2}$ gewichtsprocenten. Van Ceresan werd 0,2 g per 100 g zaad toegevoegd. Volgens Horsfall c.s. (1934) is het goed, vooral in zandige grond, de zaaibedden nat te houden. Daarom goot ik iedere dag. Gezaaid werd 20 Juni 1938. Tabel 21 toont de resultaten na 1, 2 en 3 maanden. De middelbare fout van de proef is 29, dus van elk van de drie sommen 87.

Uit de tabel blijkt, dat zaadbehandeling met koper-oxyde vooral een betere kieming geeft, maar ook ten opzichte van de „post-emergence damping-off” houden de planten afkomstig van de met deze stof behandelde zaden zich beter. Het eindresultaat is, dat er na afloop van de proef 219 zaailingen, d. i. ongeveer 20%, meer op de koper-oxydeveldjes staan dan op de contrôlebedjes. Dat verschil is $2\frac{1}{2}$ maal de middelbare fout; maar de verschillen tusschen de uitkomsten van de onbehandelde en met Ceresanpoeder behandelde zaden vallen binnen de middelbare fout.

Deze proef is natuurlijk onvoldoende om voor alle gevallen te bewijzen dat koper-oxyde als zaad-desinfectans gunstig werkt, maar zij demon-

Tabel 21.

ZAADESINFECTIEPROEF OP ZAAIBEDDEN.

Aangezet 20 Juni 1938.

Zaadbehandeling		Gekiemd na			Weggevallen na			Gezond na		
		1 m.	2 m.	3 m.	1 m.	2 m.	3 m.	1 m.	2 m.	3 m.
Cupro-oxyde	1	450	452	452	18	59	67	432	393	385
	2	405	406	406	18	62	65	387	344	341
	3	422	422	422	15	86	88	407	336	334
	Totaal	1277	1280	1280	51	207	220	1226	1073	1060
Ceresan-poeder	1	417	419	419	15	57	61	402	362	358
	2	351	352	352	18	70	73	333	282	279
	3	366	366	366	34	116	119	332	250	247
	Totaal	1134	1137	1137	67	243	253	1067	894	884
Contrôle	1	380	381	381	50	132	138	330	249	243
	2	377	378	378	32	105	113	345	273	265
	3	397	398	398	15	61	65	382	337	333
	Totaal	1154	1157	1157	97	298	316	1057	859	841

streert op overtuigende wijze het nut van deze behandeling in tuingrond.

Voor al voor zaai-bedden, die wegens hun bodem-structuur of humus-gehalte voor zwavelzuurbehandeling ongeschikt zijn, en dat zijn juist die bedden waarin kiemplantenziekten veelvuldig voorkomen, kan naar mijn meening een zaadbehandeling zijn nut hebben. Het is gewenscht dat uitvoerige onderzoekingen in die richting ook in ons land gedaan worden, niet alleen voor zaai-bedden in boomkweekerijen, maar evenzeer voor zaai-bedden van groenten- en bloemen-kweekers.

§ 3. Conclusies voor de praktijk.

In deze paragraaf vat ik de conclusies uit mijn eigen proefnemingen samen met die van de voornaamste andere onderzoekers op dit gebied, om aldus een voor de praktijk waardevoller overzicht te kunnen geven.

Voor boschbezitters die gewend zijn hun jonge naaldboomen zelf uit zaad te kweken, verdient het in de regel aanbeveling om de coniferenzaaibedden in een boschperceel aan te leggen. De beste resultaten kan men daarvan verwachten, wanneer met zaait onder een beschermend dak van 40-jarige of oudere dennen. Noch te veel, noch te weinig schaduw is gewenscht, zoodat het meestal goed zal zijn een deel van de boomen te vellen, en wel zoo, dat de overblijvende boomen op een onderlinge afstand van 15—20 m staan. De boschhumuslaag, welke in naaldhoutbosschen in ons humide klimaat in de regel onvoldoende verteert, moet verwijderd worden, waarna men de grond oppervlakkig kan laten bewerken. De onvoldoend gerotte boschhumus wordt met de aanvankelelijk daarop voorkomende vegetatie tezamen op hoopen gezet, om aldus het rottingsproces beter te laten werken. Toch duurt het nog 2 à 3 jaar eer op deze wijze de humus in bruikbare toestand is overgegaan. Het lijkt gunstig deze goed verteerde boschhumus door de bovengrond te mengen. Deze behandeling wordt o.a. in het Gooisch Natuurreservaat (Bikbergerbosch) met veel succes toegepast. *Pinus silvestris*-kiemplanten hebben die humus niet persé noodig, maar reageeren er evenals andere *Pinus*-soorten goed op. Voor kiemplanten van douglas, sitkaspar en fijnspar is de aanwezigheid van humus van nog grooter belang. Alleen wanneer men heeft vastgesteld, dat de grond van deze boschzaaibedden te zuur is, d. w. z. een $\text{pH} < 4,5$ heeft, kan toevoeging van een kleine hoeveelheid kalk gunstig op de ontwikkeling van de planten werken. Men moet hier evenwel voorzichtig mee zijn, want als men te veel kalk geeft en dus de pH van de bodem te veel verhoogt, werkt men het optreden van kiemplantenziekten in de hand. Ook wordt de onkruidvegetatie erdoor gestimuleerd. Het toevoegen van houtasch wordt door alle auteurs, die de invloed hiervan onderzochten, zowel in Europa als in Amerika, ten sterkste afgeraden, want daardoor neemt het wegvallen van kiemplanten in hooge mate toe. Alleen in combinatie met turfstrooisel dat de alkaliseerende invloed van houtasch neutraliseert, kan de schade verminderd worden. Bemesting met andere dan de hier vermelde meststoffen is niet aan te bevelen. Bedekken van het zaad met diepgedolven fijn wit zand werkt gunstig.

Van der Craats (1934) noemt als voordeelen van het zaaien (van douglas) in dennenbosch boven die van zaaien in de kwekerij:

1. meer planten per kg zaad.

2. weinig uitgaven voor onkruidbestrijding, daar de grond slechts 2 à 3 jaar in gebruik blijft, waarna weer een nieuw stuk genomen kan worden.
3. afdekken van de zaaibedden tegen vorstschade is niet noodig.

De oorzaak van het onder 1. genoemde voordeel is m. i. de sterk verminderde schade door parasitaire schimmels in boschgrond (zie ook Hoofdstuk III, § 5).

Is het om een bepaalde reden niet mogelijk in boschgrond te zaaien, dan kan men ook in opengelegen kwekerijen tegen kiemplantenziekten van coniferen eenige maatregelen nemen. Ik noem hier alleen die maatregelen uit de literatuur over het nut waarvan de meerderheid van de auteurs het eens is, tezamen met mijn eigen ervaringen. In verband met de zeer uiteenlopende grondsoorten die in de kwekerijen voorkomen mag men natuurlijk niet verwachten, dat de te noemen middelen ter voorkoming of bestrijding van de ziekten in alle gevallen zullen helpen. Men dient er in open kwekerijen allereerst voor te zorgen, dat de zaaibedden goed gedraineerd zijn. Heeft men telkens last van aantastingen gehad, dan dienen de zaaibedden of vóór of direct na het zaaien met een oplossing van zwavelzuur behandeld te worden. Voor zandige, kalkarme gronden is een $1\frac{1}{2}\%$ -oplossing het meest geschikt. *) Van deze oplossing moet per m² 4—8 liter gebruikt worden. Bestaan de zaaibedden uit zware of zeer humeuze gronden, dan is een concentratie van $\frac{3}{4}$ —1% voldoende. In de vorige paragraaf werd reeds meegedeeld, dat deze gronden een zeer sterke affiniteit voor zwavelzuur hebben, waardoor daarin soms chemische beschadiging op kan treden. Het is dan ook de vraag of een zwavelzuurbehandeling voor deze zware gronden aan te bevelen is; soms heeft men in die gevallen wel na de zwavelzuurbehandeling kalk toegevoegd, maar daardoor verdwijnt met stijgende pH tevens

*) Het in de handel zijnde ruwe zwavelzuur is zeer goedkoop (18 cent per kg). Ter verkrijging van de verdunde oplossing moet dit geconcentreerde zuur in water gegoten worden. Men mag nooit water bij het zuur gieten, want dan spat alles uit elkaar en heeft men kans op ernstige ongelukken; in geconcentreerde vorm tast zwavelzuur n.l. zoowel de huid als kleedingstukken hevig aan. Het verdunde zuur tast zink en andere metalen aan, zoodat gewone gieters alleen te gebruiken zijn, als men direct na het bereiden van de oplossing de inhoud van de gieter over het zaaibed uitgiet en daarna de gieter flink met water naspoelt.

de fungicide werking. Op daartoe geschikte gronden geeft een zwavelzuurbehandeling de volgende voordeelen:

1. vermindering van kiemplantenziekten, met als gevolg meer planten per kg zaad.
2. vernietiging van de onkruidflora, met als gevolg een belangrijke besparing op de uitgaven voor onkruidbestrijding.

Om de laatste reden alleen reeds wordt in Ierland in alle kweekerijen van boschboomen die onder het ministerie van landbouw ressorteeren, steeds een zwavelzuurbehandeling direct na het zaaien van de naaldhoutsoorten toegepast, want het was gebleken, dat hierdoor de uitgaven voor onkruidbestrijding (waarbij de kosten van het gebruikte zwavelzuur en de toediening ervan zijn inbegrepen) met 34% verminderden. De gunstige resultaten die andere onderzoekers van rood koperoxyde als zaadbeitsmiddel voor tuinbouwgewassen zagen en de goede werking die ik van dit preparaat voor zaad van Oostenrijksche den in tuingrond vond, wettigen het nemen van verdere proeven in die richting. Rood koperoxyde zal dan zeer waarschijnlijk het kiemingsverlies in besmette grond aanzienlijk blijken te verminderen. Tegen omvalziekte schijnt het echter weinig te helpen.

Evenals voor de zaaibedden op boschgrond is het op zaaibedden in open gelegen kweekerijen steeds aan te bevelen, de zaden met een dun laagje ($\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ cm) diepgedolven wit zand te bedekken. Onze zuidelijke bureu vermeldden bijzonder gunstige resultaten van zaadbedekking met zaagsel. Begieten wordt evenals het afschermen van de zaaibedden door middel van takkenbossen, jute of op andere wijze, vrijwel steeds afgeraden, want zij werken doorgaans het optreden van kiemingsverlies en omvalziekte in de hand. Alleen boven extreem zandige, gemakkelijk uitdrogende bodem kan een tijdelijke beschutting tegen al te sterke zonnebestraling zijn nut hebben. Het is evenwel nooit aan te bevelen, de zaaibedden ook na de gevoelige periode van de kiemplanten, d. w. z. wanneer deze meer dan 2 maanden oud zijn, kunstmatig tegen de zon te beschermen. In dit verband dient nog opgemerkt te worden, dat verschillende naaldboomen alleen goed kiemen door een voldoende insolatie van de bovenste aardlagen, zoodat voor die soorten (vooral *Pinus* spp.) afdekken van de zaaibedden steeds te ontraden is. Ook is gebleken, dat het mycelium van één van de gevaarlijkste parasieten,

Rhizoctonia solani, vooral over of vlak onder de bodemoppervlakte groeit. Dit mycelium wordt zoowel door de zonnewarmte als door de tengevolge daarvan optredende droogte van de oppervlaktelaag gedood.

In het kort samengevat kan dus het volgende aanbevolen worden:

1. Coniferen zoo mogelijk zaaien onder gedeeltelijk geveld dennenbosch.
2. Daarbij geen meststoffen gebruiken behalve goed verteerde boschhumus en in enkele gevallen een minimale kalkgift.
3. Zaad bedekken met een dun laagje ($\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ cm) diepgedolven, fijn wit zand.
4. In open gelegen kweekerijen op andere dan boschgrond kan bij geregeld verlies door kiemplantenziekten, een $1\frac{1}{2}$ %-zwavelzuuroplossing (4—8 liter per m²) eenige tijd voor, of direct na het zaaien toegediend, preventief werken. Op zeer humeuze of zware gronden kan men $\frac{3}{4}$ —1 %-oplossing probeeren.
5. Niet te zware bemesting met stalmest en goed verteerde compost zal doorgaans de groei van de zaailingen bevorderen, maar kan in sommige grondsoorten het aantal wegvallers door kiemplantenziekten vergrooten. Kunstmest werkt vrijwel steeds ongunstig.
6. Ook in open kweekerijen het zaad bedekken met diepgedolven, fijn wit zand, waaraan men tegen het wegstuiven een kleine hoeveelheid fijn grint kan toevoegen. Mogelijk verkrijgt men ook goede resultaten door het zaad met houtzaagsel te bedekken.
7. Indien zwavelzuurbehandeling geen goede resultaten geeft, kan men althans het kiemingsverlies belangrijk verminderen door de zaden met rood koperoxyde droog te beitsen (25—50 g koperoxyde per kg zaad, flink omschudden).
8. Begieten en afdekken van de zaaibedden moet, behalve onder extreme omstandigheden, worden afgeraden, omdat dit meestal het optreden van kiemplantenziekten bevordert.
9. Douglasspar zaait men het beste in de winter (December—Januari), Pinus-soorten in Maart—April.

SUMMARY.

1. In chapter I a description is given of the different types of damping-off of coniferous seedlings, while following the same division as given by Hartley (1921). In this chapter a review of the literature both of Europe and America is also given.
2. Damping-off causes heavy losses of coniferous seedlings in some nurseries in Holland. Sometimes more than 60% of the seedlings are killed. Isolation tests from parts of diseased seedlings produced many different fungi. On p. 27 - 30 a list of these fungi is given.
3. Inoculations were made with the majority of these isolated fungi. Hereby I used the method of van Lwijk (1934, 1938), a description of which is given on p. 38 of my paper. As hosts I chose the Scotch pine and the Austrian pine. The first experiments were made in pure culture in glass-tubes, partly on a nutrient solution after Knop, partly on autoclaved soil. The seeds were disinfected by a $\frac{1}{4}\%$ Ceresan-solution for 30 min. The most destructive parasites in these tests were: *Rhizoctonia solani*, *Pythium de Baryanum*, *P. intermedium*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. scirpi*, *F. orthoceras*, *Cylindrocarpon didymum*, *C. radicola*, *Coniothyrium pityophilum*, *Naemosphaera rostellata*, *Botrytis cinerea*, *Botryodiplodia theobromae*. Several of them killed all the seedlings in the test-tubes. Of some importance too but less destructive were: *Pythium torulosum*(?), *Gliocladium penicillioides*, *Leptothyrium* sp., *Phoma dunorum* nov. spec. (see description on p. 90), *Pleospora herbarum*, *Alternaria tenuis*, *Stemphylium asperulum*, and *Trichoderma lignorum* (only parasitic in autoclaved pineforest-soil).
4. A description of the various symptoms of the attack caused by these different fungi is given in chapter III, § 7. Some of the fungi are specially important as a cause of root-rot, while others cause top-damping.

Phytophthora fagi, although never isolated from diseased coniferous seedlings in Holland, was tested because it is one of the first fungi brought into connection with damping-off of conifers. In sterile tubes it did bear some slight evidence of pathogenicity. *Pythium artotrogus*, also isolated from diseased seedlings by Hartley (1921), was only a very weak parasite of Austrian pine and douglasfir, but it was absolutely non-parasitic for Scotch pine.

5. The influence of the medium on which the fungi were grown before bringing them into the soil appeared to be of importance upon the attacking capacity of these fungi. For *Fusarium oxysporum* this influence is demonstrated very clearly on picture 3. *Rhizoctonia solani* grown on a liquid medium did not show any attack at all, but the same fungus grown on a solid malt-salepagar medium proved to be very destructive. The infection with *Pythium de Baryanum* seemed to be almost independent of the kind of medium used for the growing of the fungus. As it is known that *Trichoderma lignorum* forms toxic substances (Weindling, 1934) and as this fungus proved to be highly dependent - concerning its parasitic capacity against pine-seedlings - of the kind of medium used in my experiments, I am inclined to believe that the differences in virulence, also for the other fungi mentioned above, are due to the formation of toxic substances.
6. The influence of the nature of the soil upon the rate of damage caused by damping-off fungi has been suggested several times, but was never tested in connection with conifers. So it seemed of interest to make some experiments on the subject. Different soils were chosen: garden-soil; pineforest-soil; heath-soil and in later experiments also dune-soil and löss-soil. The experiments were made in wooden trays. Seed disinfection with Ceresan-dust reduced the losses caused by damping-off fungi and appeared to be beneficial to the development of the seedlings. The trays were partly inoculated with a virulent strain of *Rhizoctonia solani*. This parasite killed many seedlings in all the soils except pineforest-soil where only a few plants were destroyed. Of all the soils used this forest-soil was the most acid. There existed some difference between autoclaved and normal forest-soil, the damage being greater

in the former. This difference showed itself in every experiment and must be due to the antagonistic action of *Trichoderma lignorum* in the unsterilized soil. In a following experiment I took pineforest-soils from several parts of the country, rich and poor in organic matter and with different pH values. It appeared that the parasitism of *Rhizoctonia solani* was highly dependent on the degree of acidity of the soil. In soils with pH values of 4,5 and lower the damage caused by this fungus is as a rule of no importance. In our country the pH value of pineforest-soils is mostly about 4,5, an exception being the calcareous part of the dunes, with values from 6,5 - 7. The same influence of the pH was stated for the parasitism of *Pythium de Baryanum*.

7. An antagonistic action of *Trichoderma lignorum* against *Fusarium oxysporum* was found in experiments with Austrian pine-seedlings in pots containing sterilized forest-soil. These experiments showed also some evidence of antagonism between *Trichoderma* and *Rhizoctonia solani*.
8. To obtain data showing the influence of the time of sowing on the rate of damping-off, experiments on seedbeds (arranged after the method of Knut Vik) were made in the laboratory-garden. For Austrian pine the best results were obtained by sowing in March-April. In this case germination-loss and damping-off were lower than in beds sown in December-February (see tabel 16).
9. In a nursery at de Steeg (near Arnhem) I attempted to secure data from beds treated in different ways and arranged after the method of Knut Vik. A comparison was made between the effect of: I. mixing the upper layer of the sandy clay of the nursery-soil with heath-sand; II. crowning the beds with 5 cm heath-sand; III. sulphuric acid treatment of the beds (5 L 1% solution per square meter); IV. seeds covered with heath-sand and gravel; V. seedbeds treated not at all, seeds covered with soil of the nursery (tabel 19). This experiment was made both with Austrian pine and douglasfir. For Austrian pine the best results were obtained by covering the seeds with heath-sand and gravel, but the check-beds were also very good. For douglasfir

a treatment with sulphuric acid gave the best results, although the covering of seeds with heath-sand and gravel gave a better germination. In all the other beds germination was less and losses from damping-off were heavier.

10. Seed treatment with fungicides, especially with red copper-oxide yielded promising results in some experiments, but it will be necessary to continue this work before giving more fixed conclusions. Especially the germination-loss seems to be reduced by copper-oxide dusting.
-

LITERATUUR

- Aaltonen, V. T. 1925. Über den Aziditätsgrad (pH) des Waldbodens. Medd. Forstvetensk. Försöksanst. Helsinki, 9.
- Allen, M. C. and Haenseler, C. M. 1935. Antagonistic action of *Trichoderma* and *Rhizoctonia* and other soil fungi. *Phytopathology*, 25, p. 244.
- Anderson, H. W., Kadow, K. J. and Hopperstead, S. L. 1937. The evaluation of some cuprous oxides recommended as seed-treatment products for the control of damping-off. *Phytopathology*, 27, p. 574.
- Anderson, M. L. 1930. A case of „damping-off” induced by the use of wood-ashes as a manure on seed-beds. *Scottish Forestry Journal*, 44, p. 7.
- Bavendamm, W. 1935. Umfallen von Kieferkeimlingen. *Mitt. Deutsche Dendr. Ges.*, 47, Frage 641.
- Bisby, G. R., James, N. and Timonin, M. 1933. Fungi isolated from Manitoba soil by the plate method. *Canadian Journ. of Research*, 8, p. 253.
- Bolle, P. C. 1924. Die durch Schwärzepilze (*Phaeodictyae*) erzeugten Pflanzenkrankheiten. Diss. Utrecht.
- Brinkman, A. 1931. De roodneuzen-ziekte van *Phaseolus vulgaris* L. veroorzaakt door *Pleospora herbarum* (Pers.) Rbh. Diss. Amsterdam.
- Brown, W. 1928. Studies in the genus *Fusarium*. VI General description of strains, together with a discussion of the principles at present adopted in the classification of *Fusarium*. *Ann. Bot.*, 42, p. 285.
- Buisman, C. J. 1927. Root rots caused by *Phycomycetes*. Diss. Utrecht.
- Bunschoten, G. E. 1933. Invloed van de voeding op de virulentie van schimmels. Diss. Utrecht.
- Burchard, G. 1929. Beiträge zur Kenntnis parasitischer Pilze. *Phytopath. Zeitschr.* 1, p. 278.
- Burdet, W. 1935. Het uitschakelen der systematische variatie-oorzaken bij het proefveldonderzoek volgens Knut Vik. *Landbouwk. Tijdschr. Jrg. 47, No. 570*.
- Büttner, G. 1903. Über das Absterben junger Nadelholzpflanzen im Saatbeete. *Mitt. Deutsche Dendr. Ges.* 12, p. 81.
- Christoff, A. 1933. The „damping-off” of coniferous seedlings and its control. *Gorski Pregled*, 19, p. 9. (*Rev. Appl. Myc.* 1933, p. 411).
- Craats, J. van der, 1934. Het kweken van douglasplanten in de boschwachterij „Speulder- en Sprielderbosch”. *Ned. Boschb. Tijdschr. Jrg. 7, p. 196*.
- Crandall, B. S. 1936. Root disease of some conifers and hardwoods caused by *Phytophthora cambivora* (*P. cinnamomi*). *Plant Disease Reporter* 20, p. 202. (*Rev. Appl. Myc.* 1937, p. 72).
- Crandall, B. S. and Hartley, C. 1938. *Phytophthora cactorum* associated with seedling diseases in forest nurseries. *Phytopathology*, 28, p. 358.
- Delacroix, G. et Maublanc, A. 1911. *Maladies des plantes cultivées dans les pays chauds*. Paris, Augustin Challamel.
- Delevoy, G. 1926, 1927. La fonte des semis ou „damping-off”. *Bull. Soc. Cent. Forest. Belg.* vol. 29, p. 305, p. 364; vol. 30, p. 497.
- Dissel, E. D. van, en Malsch, F. W. 1931. Verslag betreffende een studiereis naar Engeland. *Ned. Boschb. Tijdschr. Jrg. 4, p. 197*.

- Dounin, M. et Goldmacher, N. 1926. Quelques maladies épidémiques des jeunes plantes dans les pépinières des forêts. Actes du 1-er congrès intern. de sylviculture, 5, p. 284.
- Duggar, B. M. and Stewart, F. C. 1901. The sterile fungus *Rhizoctonia* as a cause of plant diseases in America. Cornell Univ. Agric. Exp. Sta. Bull. 186.
- Eek, Th. van, 1937. Wortelrot van *Viola tricolor* L. Max.Hort. Diss. Amsterdam.
- Edelman, C. H. 1934. De geologie van het Speulder- en Spriederbosch. Ned. Boschb. Tijdschr. Jrg. 7, p. 244.
- Eliason, E. J. 1928. Comparative virulence of certain strains of *Pythium* in direct inoculation of Conifers. *Phytopathology*, 18, p. 361.
- Fernando, M. 1937. A note on a soft rot of stored mangoes caused by *Botryodiplodia theobromae* Pat. *Trop. Agr.* 89, p. 381. (Rev. Appl. Myc., 1938, p. 331).
- Garbowski, L. 1937. Przyczynę do znajomości mikroflory grzybnej nasion drzew lesnyck. (Contributions to the knowledge of the fungal microflora of forest tree seeds). in *Rev. Appl. Myc.*, 1937, p. 147.
- Garrard, E. H. and Lockhead, A. G. 1938. Relationships between soil micro-organisms and soilborne plant pathogens. *A Review. Scient. Agricult.* 18, p. 719.
- Gifford, C. M. 1911. The damping-off of coniferous seedlings. *Vt. Agr. Exp. Sta. Bull.*, 157, p. 143.
- Hansen, T. S., Kenety, W. H., Wiggin, G. H. and Stakman, E. C. 1923. A study of the damping-off disease of coniferous seedlings. *Minnesota Agr. Exp. Sta. Techn. Bull.* 15.
- Hartig, R. 1883. Beschädigung der Nadelholzsäatbeete durch *Phytophthora omnivora* (Fagi). *Forstwissenschaftliches Centralblatt*, 27, p. 593.
- 1889. *Lehrbuch der Baumkrankheiten*. J. Springer. Berlin. p. 58.
- 1900. *Lehrbuch der Pflanzenkrankheiten*. 3 Aufl. p. 42, 67, 116—118.
- Hartley, C. 1921. Damping-off in forest nurseries. *U.S. Dep. of Agr. Bull.* 934.
- 1928. Forest tree seedlings kept from damping-off by Aluminum sulphate. *U.S. Dep. Agr. Yearbook of Agriculture*, p. 332.
- Hartley, C., Merrill, T. C. and Rhoads, A. S. 1918. Seedling diseases of conifers. *Journ. Agric. Research*, vol. 15, p. 521.
- Hartley, C. and Pierce, R. G. 1917. The control of damping-off of coniferous seedlings. *U.S. Dep. Agr. Bull.* 453.
- Hesselink, E. 1923. Beteekenis van het zaadvraagstuk voor onze grove dennenbosschen. *Meded. Rijksboschbouwproefstation I*, 1.
- Hino, I. 1935. Antagonistic action of soil microbes with special reference to plant hygiene. *Trans. Third Int. Congr. Soil Sc.* p. 173. (Rev. Appl. Myc. 1936, p. 395).
- Hoogh, J. de, 1924. De groene douglas (*Pseudotsuga taxifolia* Britt.) in Nederland. *Meded. Rijksboschbouwproefstation II*, 1.
- 1938. Beschädigung in de kweekerijen van 1-jarige verspeende douglas. *Ned. Boschb. Tijdschr. Jrg.* 11, p. 41.
- Horsfall, J. G. 1932. Red oxide of copper as a dust fungicide for combating damping-off by seed treatment. *N. Y. State Agr. Exp. Sta. Bull.* 615.
- Horsfall, J. G., Newhall, A. G. and Guterman, C. E. F. 1934. Dusting miscellaneous seeds with red copper oxide to combat damping-off. *N. Y. State Agr. Exp. Sta. Bull.* 643.
- Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut. 1931. *Comptes rendus de l'Ass. Int. d'Ess. des Semences* 18, p. 361.
- Jackson, L. W. R. 1933. Effects of H-ion and aluminum-ion concentrations on conifer damping-off. (Abstract) *Phytopathology*, 23, p. 18.
- 1933. Effect of sulphuric acid and aluminum sulphate, as used for the control of damping-off of conifers, on soil pH. (Abstract) *Phytopathology*, 23, p. 18.

- Jørstad, I. 1925. Norske Skogsykdommer.
- Kadow, K. J. and Anderson, H. W. 1937. Damping-off control, an evaluation of seed and soil treatments. Illinois Agr. Exp. Sta. Bull. 439, p. 291.
- Karrer, J. L. 1921. Studies in the physiology of the Fungi, XIII. The effect of hydrogen-ion concentration upon the accumulation and activation of amylase produced by certain Fungi. Annals Missouri Bot. Garden, vol. VIII, p. 63.
- Koning, M. de, 1927. Onderzoek naar de uitkomsten, verkregen met de cultuur van den Oostenrijkschen den (*Pinus nigra* Arn. var. *austriaca* Endl.) en den Corsicaanschen den (*Pinus nigra* Arn. var. *corsicana* Hort.) in Nederland. Meded. Rijksboschbouwraproefstation III, 2.
- 1927. Ziekte van kiemplanten. Tijdschr. over Plantenziekten, p. 44.
- Laughton, Elaine M. 1937. The incidence of fungal disease on timber trees in South Africa. S. Afr. Journ. Sci. XXXIII, p. 377. (Rev. Appl. Myc. 1937, p. 787).
- Lindfors, T. 1922. Studier öfver Fusarioser. Centralanst. Försöksväsendet på jordbruksområdet. 238, p. 1.
- Luijk, A. van, 1934. Untersuchungen über Krankheiten der Gräser. Meded. Phyt. Lab. „Willie Commelin Scholten“. XIII, p. 1.
- 1938. Antagonism between various micro-organisms and different species of the genus *Pythium*, parasitizing upon grasses and lucerne. Meded. Phyt. Lab. „Willie Commelin Scholten“. XIV, p. 43.
- Marsh, R. W. 1937. Some recent american work on the copper fungicides. Scient. Horticult. vol. V, p. 60.
- Matsumoto, Takashi, 1921. Studies in the physiology of the Fungi, XII. Physiological specialization in *Rhizoctonia solani* Kühn. Annals Missouri Bot. Garden, vol. VIII, p. 1.
- Matthews, Velma D. 1931. Studies on the genus *Pythium*. Univ. of N. Carolina Press.
- Meurs, A. 1928. Wortelrot, veroorzaakt door schimmels uit de geslachten *Pythium* Pringsheim en *Aphanomyces* de Bary. Diss. Utrecht.
- Miller, F. J. 1938. The influence of mycorrhizae on the growth of shortleaf pine seedlings. Journ. For. 36, p. 526.
- Mitchell, H. L. 1936. The effect of varied solar radiation upon the growth, development and nutrient content of white pine seedlings grown under nursery conditions. Black Rock Forest Papers, vol. I, 4, p. 16.
- Mitchell, H. L., Finn, R. F. and Rosendahl, R. O. 1937. The relation between mycorrhizae and the growth and nutrient absorption of coniferous seedlings in nursery beds. Black Rock Forest Papers, vol. I, 10, p. 58.
- Möller-Arnold, E. und Feichtinger, E. 1929. Der Feldversuch in der Praxis. Wien, Julius Springer.
- Muskett, A. E. 1929. Control of diseases and weeds in a forest nursery. Nature, 1929, p. 481.
- 1931. The control of diseases and weeds in a forest nursery. Journ. of the Minist. of Agric. for N. Ireland, p. 102.
- Neger, F. W. und Büttner, G. 1907. Über Erfahrungen mit der Kultur fremdländischer Koniferen im akademischen Forstgarten zu Tharandt. Naturw. Zeitschr. für Land- und Forstwirtschaft, 5, p. 204.
- Newton, W. and Mayers, N. 1935. The physiology of *Rhizoctonia solani* Kühn. III, The susceptibility of different plants as determined by seedling infection. IV, The effect of a toxic substance produced by *Rhizoctonia solani* Kühn when grown in liquid culture on the growth of wheat, carrots and turnips. Sci. Agricult. XV, 6, p. 393. (Rev. Appl. Myc. 1935, p. 603).

- Nord, F. F., Hofsteter, H. und Dammann, E. 1937. Enzymatische Umsetzungen durch Fusarien-Einwirkung von Adenylsäure und Adenosintriphosphorsäure auf die lebende Zelle bei der durch Fusarien bewirkten alkoholischen Gärung und Dehydrierung. *Naturwiss.* 25, p. 652.
- Ogilvie, L. and Hickman, C. J. 1938. Cuprous oxide and zinc oxide as seed protectants. *The Gardeners Chronicle*, vol. CIII, no. 2666.
- Oudemans, Th. C. 1934—1935. Kegeldragende Coniferen op „Schovenhorst” bij Putten (Gld.). *Tiende Jaarboek Ned. Dendr. Ver.*, p. 63.
- Ouden, P. den, 1937. *Naamlijst van Coniferen*. Boskoop, 1937.
- Peltier, G. L. 1916. Parasitic Rhizoctonias in America. *Illinois Agr. Exp. Sta. Bull.* 189, p. 283.
- Petrak, F. und Sydow, H. 1927. Die Gattungen der Pyrenomyceten, Sphaeropsideen und Melanconieen. *Repertor. Spec. nov. regni veget.* Beihefte Bnd. XLII.
- Rathbun, A. E. 1922. Root rot of pine-seedlings. *Phytopathology* 12, p. 213.
- 1923. Damping-off of taproots of conifers. *Phytopathology* 13, p. 385.
- Rathbun-Gravatt, A. 1925. Direct inoculation of coniferous stems with damping-off fungi. *Journ. Agric. Res.* vol. 30, p. 327.
- 1931. Germination loss of coniferous seeds due to parasites. *Journ. Agric. Res.* vol. 42, p. 71.
- Richards, B. L. 1921. Pathogenicity of *Corticium vagum* on the potato as affected by soil temperatures. *Journ. Agric. Res.* vol. 21, p. 459.
- 1923. Soil temperature as a factor affecting the pathogenicity of *Corticium vagum* on pea and bean. *Journ. Agric. Res.* vol. 25, p. 431.
- Reinking, O. A. 1935. Soil and Fusarium Diseases. *Zentralbl. für Bakteriöl., Parasitenk. und Infektionskr.* Bnd. 91, II Abt. p. 243.
- Rostrup, E. 1895. Oversigt over Landbrugsplanternes Sygdomme. *Tidsskr. Landbrugets Plante avl.* No. 2, Kjøbenhavn.
- Roth, C. 1935. Untersuchungen über den Wurzelbrand der Fichte (*Picea excelsa* Link) *Diss.* Zürich.
- Sanford, G. B. 1938. Studies on *Rhizoctonia solani* Kühn, III. Racial differences in pathogenicity. *Canad. Journ. Res.* 16, p. 53.
- Schaffnit, E. und Lüdtke, M. 1932. Über die Bildung von Toxinen durch verschiedene Pflanzenparasiten. *Ber. Deutsche Bot. Ges.* 50, p. 444.
- Schellenberg, H. C. 1905. Die wichtigsten Pilzfunde aus dem Ofengebiet und Scarltal. In: Coaz, J., Schröter, C. und Schellenberg, H. C. *Ein Besuch im Val Scarl.* Bern. p. 51.
- Schmidt, W. 1927. Reaktionsempfindlichkeit von Keimlingen. *Mitt. der Waldsamenprüfungsanst. Ebersw. Forstarchiv*, p. 81.
- Sibilia, G. 1928. Die Bekämpfung von Bodenpilzen in Koniferen-Baumschulen. *Nachr. Schädlingsbek.* Jahrg. 3, 4. p. 109.
- Simon Thomas, K. 1925. Onderzoekingen over *Rhizoctonia*. *Diss.* Utrecht.
- Smith, H. P., Jones, D. J., Killough, D. T. and McNamara, H. C. 1936. Chemical dust treatment of cottonseed for planting purposes. *Tex. Agric. Exp. Sta. Bull.* 531.
- Sorauer, P. 1932. *Handbuch der Pflanzenkrankheiten*. Bnd. 3, Berlin.
- Spaulding, P. 1914. The damping-off of coniferous seedlings. *Phytopathology*, 4, p. 73.
- Steven, H. M. 1928. Nursery investigations. *Forestry Commission, Bull.* 11.
- Stoffel, B. 1938. Beschädigung aan douglaszaailingen. *Ned. Boschb. Tijdschr.* Jrg. 11, p. 110.
- 1938. Eenige wenken over het kweken van douglas. *Ned. Boschb. Tijdschr.* Jrg. 11, p. 274.

- Toumey, J. W. and Li, T. T. 1924. Nursery investigations with special reference to damping-off. Yale Univ. School of Forestry, Bull. 10.
- Toumey, J. W. and Neethling, E. J. 1923. Some effects of cover over coniferous seedbeds in Southern New England. Yale Univ. School of Forestry, Bull. 9.
- Vanterpool, T. C. 1938. Some species of *Pythium* parasitic on wheat in Canada and England. Ann. Appl. Biol. XXV, 3, p. 528.
- Verslagen en Mededeelingen van den Plantenziektenkundigen Dienst te Wageningen.
 1928. No. 51, p. 50.
 — 1930. No. 62, p. 39.
 — 1932. No. 66, p. 45.
- Waksman, S. A. 1932. Principles of soil microbiology. The Williams & Wilkins Co. Baltimore.
 — 1937. Associative and antagonistic effects of micro-organisms: I Historical review of antagonistic relationships. Soil Sci. vol. 43, p. 51.
- Wean R. E. 1937. The parasitism of *Polyporus Schweinitzii* on seedling *Pinus strobus*. Phytopathology, 27, p. 1124.
- Weber, G. F. 1930. Gray leaf spot of tomato caused by *Stemphylium solani* sp. n. Phytopathology, 20, p. 513.
- Weindling, R. 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. Phytopathology, 22, p. 837.
 — 1934. Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. Phytopathology, 24, p. 1153.
 — 1937. Isolation of toxic substances from the culture filtrates of *Trichoderma* and *Gliocladium*. Phytopathology, 27, p. 1175.
- Weindling, R. and Emerson, O. H. 1936. The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of *Trichoderma*. Phytopathology, 26, p. 1068.
- Weindling, R. and Fawcett, H. S. 1936. Experiments in the control of *Rhizoctonia* damping-off of Citrus seedlings. Hilgardia X, p. 1. (Rev. Appl. Myc. 1936, p. 361).
- Westerdijk, Johanna, en Buisman, Christine, 1929. De lepenziekte. Nederl. Heide Mij.
- Wiant, J. S. 1929. The *Rhizoctonia* damping-off of conifers, and its control by chemical treatment of the soil. Cornell Agr. Exp. Sta. Mem. 124.
- Wilde, S. A. 1937. Recent findings pertaining to the use of sulphuric acid for the control of damping-off disease. Journ. For. 35, p. 1106.
- Wollenweber, H. W. 1913. Pilzparasitäre Welkekrankheiten der Kulturpflanzen. Ber. Deutsche Bot. Ges. 31, p. 17.
- Young, G. Y., Davis, W. C. and Latham, D. H. 1937. Control of damping-off of conifers. (Abstract). Phytopathology, 27, p. 144.

STELLINGEN.

- I. In de boschbouwliteratuur wordt *Phytophthora omnivora* de Bary (de oudere naam voor meerdere *Phytophthora*-soorten samen) herhaaldelijk als veroorzaker van kiemplantenziekten van coniferen genoemd. Deze schimmel is echter voor het optreden van genoemde ziekten van ondergeschikt belang.
- II. Ten onrechte wordt door verschillende Fransche en Italiaansche auteurs beweerd, dat de „toile“-schimmel een vorm van *Botrytis cinerea* Pers. zou zijn.
- III. De resultaten door Carbone en medewerkers met „vaccinatie“ van planten verkregen, berusten alleen op de vorming van autotoxinen door de gebruikte schimmel.
- IV. Het optreden van sommige „vergroeningen“ moet waarschijnlijk aan een stikstofovermaat tijdens een vroeg ontwikkelingsstadium van de bloem worden toegeschreven.
- V. De opvatting van Verzár, dat geadsorbeerde galzure zouten de permeabiliteit van het darmepitheel voor vetzuren verhoogen, is in strijd met het feit, dat vetzuren en galzure zouten op dezelfde plaatsen van de darm het best geresorbeerd worden.
- VI. In de subatlantische en wellicht ook reeds in de subboreale spectra van pollendiagrammen van Nederlandsche venen komt een anthropogene invloed op de bosschen tot uiting.
- VII. Hetero-auxine kan antagonistisch werken ten opzichte van sommige virusziekten.

- VIII. Het voorkomen van veel relict-endemen mag als bewijs gelden voor de hypothese, dat het Canadeesche schiereiland Gaspé gedurende het pleistoceen niet door landijs werd bedekt.
- IX. Uit landschappelijk-aesthetische overwegingen, maar ook ter wille van landbouw-economische belangen is het noodig, de eeuwenoude hakhoutwallen en andere houtopstanden op onze zandgronden in stand te houden.
- X. Juist in ons vlakke, practisch geheel in cultuur te brengen land is een natuurbeschermingswet niet slechts een billijke, maar zelfs een gebiedende eisch.
- XI. Te weinig aandacht wordt besteed aan het feit, dat ontginning van woeste gronden en plassen in vele gevallen minder voordeelen oplevert voor de gemeenschap dan het behoud van die terreinen. Derhalve is ontginning in die gevallen economisch niet verantwoord.
-

U
1