



Wortelrot, veroorzaakt door schimmels uit de geslachten Pythium (Pringsheim) en Aphanomyces (de Bary)

<https://hdl.handle.net/1874/291712>

4.9.1928

WORTELRROT, VEROOR-
ZAAKT DOOR SCHIMMELS
UIT DE GESLACHTEN
PYTHIUM PRINGSHEIM EN
APHANOMYCES DE BARY

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

A. MEURS

at

8

WORTELROT, VEROORZAAKT
DOOR SCHIMMELS UIT DE GE-
SLACHTEN PYTHIUM PRINGSHEIM
EN APHANOMYCES DE BARY

ABRAHAM NIELSEN

WOEFELKOT VERDOORZAAT
DOOR SCHIMMEL 3 UIT DE GR
SLACHTEN PYTHIAE PERS. KROM
IN APLANOMYCES DE BARY

RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT



1779 1827

Diss. Utrecht 1928

WORTELROT, VEROOR-
ZAAKT DOOR SCHIMMELS
UIT DE GESLACHTEN
PYTHIUM PRINGSHEIM EN
APHANOMYCES DE BARY

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. H. Th. OBBINK, HOOGLEERAAR IN DE
FACULTEIT DER GODGELEERDHEID,
VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER
UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN
VAN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUUR-
KUNDE TE VERDEDIGEN, OP MAANDAG
22 OCTOBER 1928, DES NAMIDDAGS 4 UUR

DOOR

ABRAHAM MEURS

GEBOREN TE ROTTERDAM

BAARN — HOLLANDIA-DRUKKERIJ — 1928

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

AAN MIJN OUDERS

AAN MIJN AANSTAANDE VROUW

Bij het afsluiten van mijn academischen studietijd maak ik gaarne van de gelegenheid gebruik langs dezen weg mijn welgemeenden dank te betuigen aan allen, die tot mijn wetenschappelijke ontwikkeling hebben bijgedragen.

Hooggeleerde Nierstrasz, de kritische wijze, waarop Gij steeds in uw colleges de vraagstukken behandelt, heeft mij altijd bijzonder geboeid.

Hooggeleerde Jordan, U ben ik zeer erkentelijk voor het binnenleiden in het gebied van de vergelijkende physiologie der dieren. Met dankbaarheid denk ik terug aan den tijd, dat ik een dezer onderwerpen onder Uw leiding mocht bestudeeren.

Hooggeleerde Pulle, met veel belangstelling heb ik mij gedurende mijn studietijd verdiept in de systematiek der planten. Zeer aantrekkelijk was voor mij de bewerking van een Surinaamsche plantenfamilie, toen ik als candidaat Uw practicum volgde.

Hooggeleerde Went, hoewel ik niet tot den kring van Uwe speciale leerlingen behoor, heb ik aan U zeer veel te danken. Niet alleen voor den degelijken algemeen botanischen grondslag zeg ik U dank, doch in het bijzonder voor de wijze, waarop Gij Uw leerlingen inleidt in het bestudeeren van wetenschappelijke literatuur en hun leert, welke eigenschappen in een natuuronderzoeker voor zijn wetenschappelijk werk onontbeerlijk zijn. Uw „schimmelpracticum" is voor mij van bijzonder groote beteekenis geweest als onmisbare voorbereiding tot de phytopathologie.

Hooggeleerde Westerdijk, hooggeachte Promotrix, de tijd, welken ik in Uw laboratorium heb mogen doorbrengen, behoort ongetwijfeld tot de aangenaamste van mijn studie. Uw groote belangstelling voor mijn werkzaamheden en de opgewekte geest, welke in Uw laboratorium heerscht, zullen mij steeds in levendige herinnering blijven. Voor Uw zeer talrijke raadgevingen en aanwijzingen op phytopathologisch gebied ben ik U hoogst dankbaar, terwijl ik het bijzonder op prijs stel, dat het mycologische gedeelte van mijn proefschrift op breede basis is opgezet kunnen worden.

Den heer van Luik zeg ik een bijzonder woord van dank voor de bereidwilligheid, waarmede hij mij onder alle omstandigheden met raad en daad heeft geassisteerd.

Mej. dr. Buismann ben ik zeer erkentelijk voor hare welwil-

VIII

lendheid mij steeds te helpen, wanneer de determinaties der Pythium-soorten moeilijkheden opleverden.

Mej. E. P e t t e r ben ik dankbaar voor het belangeloos afstaan van de in dit geschrift beschreven nieuwe Pythium-soort, welke zij had geïsoleerd.

Allen, die mij op eenige wijze geholpen hebben aan phytopathologisch materiaal, betuig ik hiervoor mijn hartelijken dank. Veel ben ik in dit opzicht verschuldigd aan den heer G o o s s e n, hortulanus van Cantonspark.

Ten slotte rest mij nog een woord van dank aan de stichting „Willie Commelin Scholten” voor de gastvrijheid, welke ik in haar laboratorium heb genoten.

INLEIDING

In het voorjaar van 1927 verscheen het proefschrift van mej. Ch r. J. B u i s m a n, getiteld „*Root rots caused by Phycomycetes*”. Hierin komen verschillende schimmels ter sprake, welke in bladgrond voorkomen, en tot de geslachten *Pythium*, *Phytophthora*, en *Aphanomyces* behooren. Hoewel slechts weinig bladzijden in deze dissertatie aan het mycologisch onderzoek van bladgrond zijn gewijd, wordt daarin evenwel duidelijk geschetst in welk een groot aantal de Phycomyceten, speciaal de vertegenwoordigers van het geslacht *Pythium*, in den bladgrond aanwezig zijn en hoeveel verschillende soorten er bij nader onderzoek uit kunnen worden geïsoleerd.

Teneinde over het voorkomen van deze schimmels nadere gegevens te verzamelen, isoleerde ik gedurende 4 maanden talrijke *Pythiums* uit verrotte of verkleurde wortels van de meest uiteenlopende planten, die in het algemeen ziekten vertoonden. Het hiermede beoogde doel was tweeledig: in de eerste plaats werden langs dezen weg een groot aantal schimmels geïsoleerd, waarvan het voorkomen in bladgrond vaststaat, en in de tweede plaats gaven deze isolaties uit zieke deelen eenige aanwijzingen over het parasitair voorkomen van *Pythiums* in wortels van verschillende gewassen.

Speciaal uit zieke wortels van leguminosen konden vele schimmels van het geslacht *Pythium* gekweekt worden. Aangezien het van belang was te weten of de op deze wijze uit verrotte wortels verkregen schimmels de oorzaak waren van het wortelrot van boonen en erwten, was het wenschelijk hieromtrent een nader onderzoek in te stellen. In den herfst van 1927 werden hiertoe eenige reeksen oriënteerende proeven genomen, teneinde de geïsoleerde schimmels te onderzoeken op hun parasitair vermogen ten opzichte van de wortels van erwt en boon. In 1928 zijn deze

proefnemingen herhaald en uitgebreid, speciaal met de bedoeling den invloed van voedingsoplossingen van verschillenden zuurgraad op het optreden van wortelrot te kunnen bestudeeren.

Het isoleeren van een nog niet beschreven soort van het geslacht *Pythium* uit de wortels van omgevallen bietenplantjes was aanleiding tot het nemen van een aantal infectieproeven, ten einde te kunnen beslissen of deze ziekte al of niet door genoemde soort kon worden teweeggebracht.

Tevens werden nog eenige proeven genomen omtrent het wortelrot van violen, naar aanleiding van het voorkomen van een *Aphanomyces*-soort in wortels van deze planten.

Ten slotte zijn bijna alle geïsoleerde schimmels (eveneens eenige door mej. B u i s m a n achtergelaten ongedetermineerde *Pythium*-soorten) gedetermineerd kunnen worden. Eenige vormen, welke niet tot bepaalde fructificaties te brengen waren, moesten, mede wegens gebrek aan tijd, ter zijde worden gelegd.

HOOFDSTUK I

HET VOORKOMEN VAN TOT DE GESLACHTEN PYTHIUM, PHYTOPHTHORA EN APHANOMYCES BEHOORENDE SCHIMMELS IN BLADGROND

§ 1. LITERATUUROVERZICHT

Alvorens over te gaan tot de bespreking van de literatuur over het voorkomen van tot de geslachten *Pythium*, *Phytophthora* en *Aphanomyces* behorende schimmels in den bodem, volgt hieronder eerst een beknopt overzicht over de belangrijkste onderzoekingen omtrent het isoleeren van schimmels uit den bodem in het algemeen.

A. Het isoleeren van schimmels uit den bodem in het algemeen

A d a m e t z (1886) was de eerste onderzoeker, welke de studie der bodemschimmels ter hand nam. Zijn doel was de chemische omzettingen te bestudeeren, welke door schimmels in den bodem kunnen worden teweeggebracht. Door kleine hoeveelheden grond te brengen in steriele kolven, welke gevuld waren met een voedingsoplossing, isoleerde hij o.a. *Penicillium glaucum* Link., *Mucor Mucedo* L., *Mucor racemosus* Fres., *Mucor stolonifer* Ehr. (*Rhizopus nigricans* Ehr.), *Aspergillus glaucus* (L.) Link., en *Oidium lactis* Fres., in het geheel 11 schimmels en 4 gisten.

N i k i t i n s k y (1902) bracht een aftreksel van grond in een drietal oplossingen, welke alle humuszuur, KH_2PO_4 , en MgSO_4 bevatten en verder $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ en rietsuiker in wisselende hoeveelheid. De op deze cultuurmedia groeiende schimmels werden

drie keeren overgeënt op oplossingen van dezelfde samenstelling en vervolgens geënt op een peptonhoudende agar. Als resultaat werd *Penicillium glaucum* verkregen, benevens een *Mucor* en een *Trichothecium*.

Van Iterson (1904) werkte met glasdoozen, waarin twee steriele stukken filtreerpapier geplaatst waren, welke vochtig gehouden werden met leidingwater, dat NH_4NO_3 en KH_2PO_4 bevatte. Hierin werden bodemdeeltjes gebracht, doch betere resultaten werden verkregen door de glasdoozen aan de lucht bloot te stellen. Uit zijn opsomming van de geïsoleerde vormen blijkt evenwel niet, welke schimmels uit de lucht en welke uit den bodem zijn verkregen.

Van meer belang is het onderzoek van Oudemans en Koning (1902) over de in den humusgrond van het Spanderswoud bij Bussum aanwezige schimmels. Koning bracht kleine stukjes humus, bij voorkeur bladresten, in steriel water en maakte deze met behulp van een steriele glasnaald fijn. De aldus verkregen oplossing werd passend verdund en uitgegoten op petriscalen, welke een saccharosehoudende moutgelatine of moutagar bevatten. Na eenigen tijd werd het water van deze petriscalen verwijderd en kon na verloop van twee dagen het begin van ontwikkeling van schimmelkolonies worden waargenomen. Hiervan kon worden overgeënt op andere petriscalen en konden de aldus verkregen soorten worden gedetermineerd.

Langs dezen weg isoleerde Koning 45 soorten schimmels, welke door Oudemans werden gedetermineerd. Van deze soorten zijn talrijke door latere onderzoekers teruggevonden. Deze publicatie kan wel als het eerste exacte onderzoek over bodemschimmels worden beschouwd.

Na deze publicatie zijn eenige onderzoekingen verschenen over het voorkomen van bepaalde groepen schimmels in den bodem.

De monographie van Butler (1907) over het geslacht *Pythium* zal eenige bladzijden verder worden besproken. Voorloopig zij hier vermeld dat in deze monographie, welke niet uitsluitend de in grond voorkomende *Pythium*-soorten behandelt, een zevental soorten beschreven worden, die door Butler zelf uit den bodem zijn geïsoleerd geworden.

Hagem (1907, 1910) bestudeerde het voorkomen van *Muco-*

rales in de verschillende grondsoorten van Noorwegen en slaagde erin een 18-tal soorten uit deze groep te isoleeren. Zijn methode was zeer eenvoudig: kleine hoeveelheden grond werden gestrooid op petrischalen, welke met een laag moutagar waren gevuld. De opkomende kolonies groeiden en fructificeerden zeer snel, zoodat herhaaldelijk overenten noodzakelijk was. Daar de langzaam groeiende vormen gemakkelijk overgroeid werden door de sneller groeiende, was het noodzakelijk bij zijn proeven veel petrischalen te gebruiken en hierop zeer weinig grond te brengen.

Omstreeks denzelfden tijd isoleerde L e n d n e r (1908, 1910) *Mucorales* uit den bodem van Zwitserland. Hiertoe gebruikte hij als substraat moutgelatine of vochtig brood, waarop met behulp van een gesteriliseerde lucifer kruimels aarde werden geënt. Op deze wijze werden een tiental *Mucorineën* verkregen, welke met alle overige *Mucor*-soorten uit Zwitserland gepubliceerd zijn in een monographie „*Les Mucorinées de la Suisse*”.

Tenslotte heeft N a m y s l o w s k i (1908, 1910) isolaties van *Mucorales* uit den bodem gemaakt en zijn door hem een drietal soorten verkregen. De door hem gebezigde methode hebben wij niet in de literatuur kunnen vinden.

B e c k w i t h (1911) vond talrijke *Hyphomyceten*, welke voor het eerst uit den bodem werden geïsoleerd, in de zgn. „wheat-sick soil” van N. Dakota. Dit werd bereikt door verdunnen grond uit te gieten op petrischalen met grondagar.

J e n s e n publiceerde in 1912 een zeer uitvoerig stuk, getiteld „*Fungous flora of the soil*”. Hij verdeelt de in den bodem levende schimmels in obligate saprophyten en facultatieve parasieten. Obligate saprophyten kan men alleen verkrijgen door ze uit grond te kweken. Langs twee wegen kan uitgemaakt worden of bodemschimmels facultatieve parasieten zijn, nl.:

1°. door het maken van isolaties uit den bodem en te onderzoeken of de gevonden soorten pathogeen zijn door het nemen van infectieproeven op den vermoedelijken gastheer;

2°. door planten onder bepaalde omstandigheden te laten groeien, en in geval ziekte door parasieten optreedt, den veroorzaker uit den gastheer te isoleeren.

Verder merkt J e n s e n op, dat lang niet alle soorten schimmels uit den grond kunnen worden geïsoleerd volgens eenzelfde kweek-

methode of met eenzelfde voedingsbodem. Er valt een zekere specialisatie wat betreft voedsel, temperatuur, vochtigheid, en zuurstof onder de schimmels op te merken. Talrijke isolatieproeven van bepaalde bodemschimmels verlopen negatief wegens het niet gebruiken van een geschikt cultuurmedium.

Jensen's publicatie bevat een uitvoerig literatuuroverzicht, waarin hij, behalve een gedetailleerd overzicht van de verschillende onderzoekingen over het isoleeren van obligate saprophyten, ook een kort overzicht geeft van het onderzoek omtrent facultatieve parasieten, o.a. over de publicaties van Busse, Peters en Ulrich (1913) over den bietenwortelbrand. Hierop zal later worden teruggekomen.

Voor het isoleeren van de verschillende bodemschimmels maakte Jensen van niet minder dan 15 zeer uiteenlopende media gebruik, waaronder eenige bijzonder gecompliceerde. Hij verkreeg de diverse vormen zoowel door zeer kleine hoeveelheden van de verschillende grondsoorten rechtstreeks op de voedingsbodems te brengen, als volgens de methode der grondverdunding. De volgens den laatsten weg verkregen vormen traden eveneens op wanneer stukjes zieke, verkleurde wortels van maïs en Capsicum (na desinfectie met 1 : 1000 HgCl_2) op agarbodems uitgelegd werden.

Als resultaat van zijn uitvoerige proeven verkreeg hij 35 soorten, waarvan er talrijke door vroegere onderzoekers reeds waren aangetroffen, en waaronder ook eenige nieuwe soorten waren.

Behalve een zeer uitvoerige beschrijving van alle tot dusver bekende schimmels, welke uit den bodem waren geïsoleerd, geeft Jensen nog een lijst van facultatieve parasieten met de bijbehorende literatuur. Deze facultatieve parasieten, waaronder o.a. *Pythium de Baryanum* Hesse, *Aphanomyces laevis* de Bary en *Pythiacystis citrophthora* R. E. & E. H. Smith worden genoemd, zijn niet in deze publicatie beschreven. Op de wenschelijkheid van het onderzoek van den bodem op de vertegenwoordigers van deze groep vestigt Jensen de aandacht.

Na Jensen dienen twee stukken van miss. E. I. Dale (1912, 1914) vermelding. Haar in 1912 verschenen publicatie is een verslag van het onderzoek van een zuren en een alkalischen zandgrond, het stuk van 1914 behandelt schimmels uit kalkrijken grond,

hoogveengrond en drooggelegde moerassen. Zij vermengde een suspensie van deze grondsoorten met moutgelatine of gelatine, welke een aftreksel van rozijnen bevatte. Vele van de door haar geïsoleerde schimmels zijn gelijk aan die, welke door Hagem in Noorwegen, Oudemans en Koning in Nederland en Jensen in de Vereenigde Staten van Noord-Amerika zijn gevonden.

Ook bij het raadplegen van de lijst der 18 schimmels, welke Goddard (1913) uit den bodem te Ann Arbor isoleerde ten behoeve van zijn proefnemingen over assimilatie van vrije stikstof door schimmels, valt het op dat verscheidene soorten identiek zijn met die, welke door Oudemans en Koning zijn geïsoleerd.

Eveneens vonden MacLean en Wilson (1914) talrijke schimmels in den grond, waarvan het voorkomen in den bodem reeds vroeger door andere onderzoekers was vastgesteld.

Waksman (1916) maakte van 4 verschillende voedingsbodems gebruik ten einde schimmels uit den bodem te isoleeren (o.a. van Czapek-agar) en bediende zich hiertoe zoowel van de verdunningsmethode als van de methode der directe enting. In het geheel isoleerde hij meer dan 100 soorten schimmels uit verschillende soorten grond, voor het meerendeel Hyphomyceten.

Als de meest voorkomende geslachten, zoowel wat abundantie als aantal soorten betreft, geeft Waksman op: *Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Cladosporium* en *Fusarium*.

Waksman's publicatie is de eerste van een reeks van zijn hand verschenen verhandelingen over de chemische omzettingen, welke door schimmels in den bodem kunnen worden teweeggebracht. In zijn stuk van 1916 is een uitgebreid literatuuroverzicht over dit onderwerp aanwezig naast een historische beschouwing over het systematische gedeelte van het bodemfloraonderzoek.

Brierley (1923) merkt in „*The Micro-organisms of the Soil*” (samengesteld door Russell e.a.) op, dat het grootste gedeelte der onderzoekingen over het voorkomen van schimmels in den bodem in een of meer van drie groepen kan worden ondergebracht, t.w.:

1°. zuiver systematische onderzoekingen, welke bestaan uit het isoleeren en determineeren van schimmels uit verschillende grondsoorten. (Hiertoe behooren o.a. bijna alle hierboven besproken verhandelingen);

2°. physiologische onderzoekingen, waarin de vele biochemische omzettingen in den grond worden bestudeerd, welke door schimmels worden veroorzaakt;

3°. quantitatieve onderzoekingen, waarin schattingen in cijfers voorkomen omtrent de schimmelflora in diverse gronden.

Bij het bespreken van de resultaten van het isoleeren der grondschimmels zegt Brierley o.m. dat in de meeste gevallen fungi imperfecti optreden en dat het grootste aantal hiervan op de meeste synthetische voedingsbodems kunnen groeien. De meeste synthetische voedingsbodems zijn evenwel zeer selectief, zoodat ze slechts een gedeelte van de in het entmateriaal aanwezige grondschimmels gelegenheid geven zich te ontwikkelen. Bovendien groeien vele schimmels hierop zoo langzaam, dat ze overgroeid worden door de sneller groeiende vormen; ook worden vele nadeelig beïnvloed door de stofwisselingsproducten van andere schimmels.

In Waksman's handboek „*Principles of Soil Microbiology*” (1926) is een hoofdstuk, hetwelk handelt over den bodem als woonplaats voor microorganismen, welke plantenziekten kunnen teweegbrengen. Bij de ziekten, welke worden veroorzaakt door in den bodem levende schimmels, wordt opgemerkt, dat deze schimmels niet alleen zijn verkregen uit gecultiveerde gronden, doch ook uit maagdelijke gronden en uit gronden, waar de gastheer nooit eerder was gekweekt. Een indeeling van deze voor planten schadelijke grondschimmels in eenige groepen is in dit hoofdstuk aanwezig.

Gilman en Abbott (1927) publiceerden in 1927 de resultaten van hun onderzoek naar het voorkomen van schimmels in den bodem van Iowa en Louisiana. Hierbij isoleerden zij een 20-tal nieuwe soorten, alle tot de fungi imperfecti behorende. Zij beperkten zich echter alleen tot die soorten, welke rechtstreeks uit den bodem konden worden geïsoleerd, terwijl zij zich niet bezighielden met het isoleeren van bodemschimmels uit zieke plantendeelen.

Hun mededeeling bevat verder een uitgebreide determineertabel van alle tot nu toe bekende bodemschimmels, terwijl ten slotte een beschrijving is te vinden van al deze soorten. Ook hier zijn weer de uit zieke plantendeelen gekweekte schimmels buiten beschouwing gelaten. In het geheel zijn er 242 soorten opgesomd.

Ook in dit onderzoek zijn niet vermeld de soorten welke gevonden zijn op substraten, welke niet tot den eigenlijken „grond” behooren, zooals rottend hout en bladaarde, terwijl de zgn. paddenstoelen geheel zijn weggelaten in verband met de mogelijkheid van mycorrhiza op wortels van diverse andere planten. Verder worden nog 19 soorten en 20 geslachten vermeld, welke wel als in grond voorkomende zijn gesignaleerd, doch welke niet in de lijst zijn opgenomen, aangezien het zuiver in grond voorkomen van deze vormen volgens Gilman en Abbott twijfelachtig is.

Aangezien bij de meeste onderzoeken over grondschemmels de monsters genomen waren van terreinen, op welke gedurende een korter of langer aantal jaren landbouwgewassen waren gekweekt en deze gronden steeds waren bemest, stelde Paine (1927) een onderzoek in naar de schimmels, welke voorkomen in maagdelijke gronden. Hij geeft hiervan 37 soorten op, waaronder er 5 nieuwe zijn, en waarvan verschillende vroeger reeds in gecultiveerde gronden waren aangetroffen.

Hiermede is in het kort een overzicht gegeven van de geschiedenis van het onderzoek naar schimmels in den bodem, voorzover het betreft systematisch getinte studies. De onderzoeken over de door fungi teweeggebrachte omzettingen in den bodem, benevens die omtrent de hoeveelheden schimmels in den grond, zijn in de bovenstaande bladzijden niet besproken. Voor de resultaten hiervan moet worden verwezen naar de verschillende publicaties van Waksman en naar diens handboek.

B. Het isoleeren van tot het geslacht Pythium behorende schimmels uit den bodem

Met uitzondering van de monographie van Butler (1907) wordt in geen der stukken, welke in het overzicht der literatuur over het isoleeren van schimmels uit den bodem in het algemeen worden genoemd, melding gemaakt van het isoleeren van soorten, welke tot het geslacht *Pythium* behooren. Geen der genoemde onderzoekers heeft langs dezen weg van het algemeene grondonderzoek er in kunnen slagen *Pythium*-soorten te verkrijgen uit verschillende grondsoorten en met behulp van zeer uiteenlopende methoden. Wanneer men zich afvraagt, wat hiervan de oor-

zaak kan zijn, ligt het voor de hand de oplossing van deze vraag te zoeken in het veelvuldig gebruik van selectieve voedingsbodems ten opzichte van fungi imperfecti en Mucorineën, en het niet gebruiken van cultuurmedia, waarop *Pythium*-soorten bij voorkeur groeien. Het is zeer goed denkbaar dat op de veel gebruikte voedingsbodems voor isolaties de in de bodemdeeltjes aanwezige fructificaties en mycelia minder goed kiemen en groeien dan die van fungi imperfecti en Mucorineën, zoodat ze dus weldra overgroeid worden door de vertegenwoordigers van deze laatste groepen.

Het is Butler (1907) geweest, die het eerst heeft aangegeven op welke wijze men te werk moet gaan om zich *Pythium*-soorten uit den grond te verschaffen.

Butler (1907) bracht tuinaarde in ondiepe, vlakke schalen, welke met water waren gevuld, en waarin hij gekookte stukjes wortel van *Abutilon* liet drijven, welke al of niet waren gedoopt in een aftreksel van vliegen. Ook werd dit gedaan met duizendpooten, bijen en nog eenige andere substraten. Na 24 uur werd het substraat overgebracht in een grootere hoeveelheid water en 24 uur hierna onderzocht.

Het bleek, dat *Pythium*-soorten op deze substraten, vooral op de *Abutilon*-wortels, snel groeien; sneller dan de andere schimmels, welke in den grond aanwezig zijn en eveneens in het water zwerm-sporen vormen (o.a. *Saprolegniaceae*).

De volgende soorten werden door hem op de boven beschreven wijze uit den bodem verkregen: *Pythium proliferum* de Bary, *Pythium monospermum* Prings., *Pythium gracile* Schenk, *Pythium intermedium* de Bary, *Pythium vexans* de Bary, en *Pythium rostratum* Butler. Van *Pythium de Baryanum* Hesse geeft hij op, dat deze saprophytisch kan voorkomen in den bodem; zijn eigen isolaties van deze soort verkreeg hij echter uit zieke kiemplantjes van *Lepidium*.

Na de monographie van Butler hebben slechts weinige onderzoekers zich bezig gehouden met het isoleeren van *Pythiums* uit deeltjes van den bodem. In dit verband moet een stuk van Hawkins (1916) genoemd worden, waarin een in N. Amerika als „potato-leak” bekend staand rot van aardappelknollen wordt behandeld. Slechts na verwonding der aardappelknollen bij ruw oogsten (met een vork) bleek deze ziekte op te treden. Hawkins

vermoedde, dat de steeds uit de knollen geïsoleerde schimmel, welke als *Pythium de Baryanum* door hem werd gedetermineerd, van den grond uit in de verwonde knollen zou komen en aldaar rotting zou veroorzaken. Teneinde na te gaan of deze schimmel in den grond voorkwam, legde hij monsters grond uit op petrischalen met maïsmeelagar, en na eenigen tijd kon hij steeds *Pythium de Baryanum* in de zich ontwikkelende schimmelkolonies aantreffen.

Verder kon Hartley (1921) gemakkelijk *Pythium de Baryanum* uit den grond isoleeren door deeltjes ervan op petrischalen met pruimagar te brengen.

Talrijker zijn de onderzoeken, waarin het voorkomen van *Pythium*-soorten in den bodem langs indirecten weg is vastgesteld, n.l. door de schimmels te isoleeren uit zieke wortels of stengeldeelen van verschillende planten.

Ook hierover bevat Butlers monographie (1907) vele gegevens. Zoo heeft De Bary reeds verschillende *Pythiums* uit zieke of verrotte plantendeelen geïsoleerd, n.l. *Pythium megalanthum* de Bary (parasitair op prothalliën van *Todea africana* en saprophytisch op doode plantendeelen in den grond), *Pythium vexans* de Bary (saprophytisch aangetroffen op aardappelknollen), *Pythium intermedium* (parasitair op prothalliën van *Equisetum*, *Todea* en *Ceratopteris*, saprophytisch in verrotte kiemplanten van *Lepidium* en *Amaranthus*) en *Pythium artotrogus* (Mont.) de Bary (saprophytisch in rottende *Lepidium*plantjes en aardappels), eveneens *Pythium de Baryanum* Hesse (op verschillende kiemplanten).

Door Trow werd *Pythium ultimum* als saprophyt gevonden in *Lepidium sativum*.

Butler trof *Pythium gracile* aan als parasiet op gemberwortels, en ook hij vond, evenals De Bary, *Pythium artotrogus* in rotte aardappelknollen. Ook *Pythium de Baryanum* werd door hem gevonden.

Pythium de Baryanum Hesse is het eerst door Hesse gevonden en is later door zeer vele onderzoekers aangetroffen in wortels en stengels van de meest uiteenlopende gewassen. Butlers monographie geeft een groote lijst van planten, waarin deze soort meestal als parasiet, is waargenomen. Voor bijzonderheden hieromtrent moet naar deze lijst verwezen worden, aangezien het niet

mogelijk is in een beperkt bestek al deze verschillende gastheeren eenigszins uitvoerig te bespreken.

De voornaamste onderzoekingen na het verschijnen van Butlers monographie over het voorkomen van *Pythiums* in zieke plantendeelen volgen hieronder. Slechts de belangrijkste zijn aangegeven, terwijl niet vermeld zijn de onderzoekingen, waarin de determinaties der gevonden soorten twijfelachtig zijn of in het geheel niet zijn uitgevoerd.

Peters (1910) onderzocht pelargoniums, welke te gronde waren gegaan, terwijl de stengelbasis zwart werd. Met zekerheid kan door hem in deze zieke planten de aanwezigheid van *Pythium de Baryanum* worden aangetoond. Hetzelfde is vastgesteld o.a. door Van Poeteren (1922), Buddin en Wakefield (1924) en Braun (1924, 1925).

In 1913 is een stuk verschenen van Busse, Peters en Ulrich (1913), waarin de resultaten zijn vastgelegd van hun onderzoek naar het voorkomen van de veroorzakers van den bietenwortelbrand in den bodem. Hiertoe werden de bieten zelf als vangplant gebruikt, door „bietenzaad" na pasteurisatie in verschillende grondsoorten te laten groeien. Gevonden werd, dat *Pythium de Baryanum* een der in den bodem voorkomende veroorzakers van den bietenwortelbrand is, terwijl hetzelfde moet worden gezegd van *Aphanomyces laevis*.

Aan het aantoonen van de afzonderlijke parasieten in de zieke planten waren moeilijkheden verbonden, daar fructificaties zeldzaam waren en de parasieten niet naar het mycelium te determineeren waren. Om de fructificaties te verkrijgen werden de zieke plantjes schoongemaakt, met steriel water omgespoeld, en in een steriele petrischaal met steriel water gebracht. Van alle drie soorten parasieten kon na verloop van weinige dagen de identiteit vastgesteld worden door middel van de in dien tijd gevormde fructificaties (Peters, 1906).

Eveneens is Edson (1915 a) langs denzelfden weg, nl. het kweken van bietenplantjes in ongestertiliseerden grond, erin geslaagd *Pythium de Baryanum* als een der veroorzakers van deze ziekte vast te stellen, welke in den bodem aanwezig is.

In een volgend stuk van Edson (1915 b) wordt uitvoerig een der grondschemmels beschreven, welke bietenwortelbrand kan te-

weegbrengen. Deze soort had hij in zijn vorige publicatie (1915 a) slechts in het kort kunnen bespreken. Edson beschreef deze schimmel onder den naam *Rheosporangium aphanidermatus* Edson. Tegenwoordig is deze soort door Fitzpatrick (1923) bij het geslacht *Pythium* ondergebracht als *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp..

Kyropoulos (1916) vond *Pythium de Baryanum* als oorzaak van het omvallen van verschillende kiemplanten. In de wortels van bloemkoolplanten vond zij, behalve deze soort, nog *Pythium artotrogus*.

Stewart (1919) beschrijft het omvallen van komkommerkiemplantjes en geeft als veroorzaker *Pythium de Baryanum* aan.

Subramaniam (1919) heeft de door Butler gevonden schimmel op gemberwortels nogmaals bestudeerd en deze onder den nieuwen naam *Pythium Butleri* Subramaniam beschreven. Ook deze soort moet volgens Fitzpatrick (1923) thans als *Pythium aphanidermatum* worden beschouwd.

Hartley (1921) bestudeerde het omvallen van coniferenzaailingen en kon *Pythium de Baryanum* gemakkelijk uit zieke worteltjes isoleeren door ze op pruimagar te brengen. Deze soort bleek een der veroorzakers van de ziekte te zijn. Uit zieke wortels van *Pinus resinosa* en *Pinus Banksiana* verkreeg hij *Pythium artotrogus*. De stam uit laatstgenoemde soort was in geringe mate parasitair.

Als oorzaak van het wortelrot van suikerriet, ananas, rijst en bananen op Hawaii noemde Carpenter (1921) *Rheosporangium aphanidermatus*. Het isoleeren geschiedde met een dextrosehoudende bouillonagar. Reeds voelde hij ervoor deze soort als een *Pythium* te beschouwen.

Braun (1924, 1925) onderzocht het stekrot van *Pelargonium*, en kon uit de zwartgekleurde wortels en stengels, behalve *Pythium de Baryanum*, drie nieuwe schimmels isoleeren, welke alle in staat waren de ziekte teweeg te brengen. Deze werden door hem beschreven onder de namen *Pythium complectens* Braun, *Pythium splendens* Braun, en *Pythium de Baryanum* var. *pelargonii* Braun.

Brauns isolatiemethode was de volgende: De zieke plantjes werden gereinigd, door alcohol gehaald en geflambeerd. Het ge-

zonde gedeelte van den stengel werd in tweeën gesneden en de rest in tweeën gescheurd. Zoodoende werd het inwendige weefsel zonder aanraking blootgelegd. Kleine stukjes weefsel op de grens van gezond en ziek gedeelte van den stengel werden op steriele wijze uitgelegd op maismeelagar. Weldra groeiden de schimmels hierop uit. Bacteriën en secundair aanwezige schimmels traden bij deze methode weinig op, wel indien de stengel tot op de grens van het zieke weefsel was uitgehold. De soorten werden vervolgens gereinigd en op haverhoutagar bewaard.

Pape (1925) maakt melding van de aantasting van stekken van anjelieren door *Pythium de Baryanum*.

Lehman en Wolf (1926) beschreven het wortelrot van soja-boonen en kwamen tot de conclusie, dat *Pythium de Baryanum* als oorzaak hiervan moet worden beschouwd.

In het proefschrift van Buisman (1927) worden talrijke *Pythium*-soorten vermeld, welke in wortels van zieke planten voorkomen. Zoo werd *Pythium intermedium* geïsoleerd uit zieke chrysanthemumstekken; *Pythium irregulare* Buisman, benevens eenige andere *Pythiums*, uit erwten; *Pythium megalacanthum* uit vlaswortels, welke door vlasbrand aangetast waren. Verder leverden vele wortels van zieke kiemplantjes *Pythium de Baryanum* en *Pythium de Baryanum* var. *pelargonii* op. Van komkommerzaden, welke niet kiemden, werden *Pythium irregulare*, *Pythium intermedium* en een niet nader gedetermineerde *Pythium* met stekels geïsoleerd.

Teneinde al deze soorten te verkrijgen werden in de meeste gevallen zieke of verrotte worteltjes op haverhoutagar uitgelegd, zonder dat de worteltjes gesteriliseerd waren. Kersagar bleek voor isolatiedoeleinden minder geschikt te zijn.

Harter en Whitney (1927) beschrijven het verschijnsel van „mottle-necrosis” bij de knollen van *Ipomoea Batatas*. De veroorzakers van deze ziekte waren meerdere soorten van het geslacht *Pythium*, waaronder twee, *Pythium ultimum* Trow en *Pythium scleroteichum* Drechsler (een nog niet beschreven soort), uit de zieke wortels konden worden verkregen.

In 1927 publiceerde Wardlaw (1927 a en b) twee stukken over een in Lanarkshire heerschende ziekte onder de aardbeien. Uit de zieke planten werd *Pythium proliferum* geïsoleerd en deze

schimmel bleek in infectieproeven de ziektesymptomen te kunnen veroorzaken.

Ook de parasitaire stengelverbranding bij Deli-tabak wordt door meerdere soorten van het geslacht *Pythium* veroorzaakt. J o c h e m s (1927) isoleerde er een viertal uit de zieke stengels, n.l. *Pythium de Baryanum* en *Pythium aphanidermatum*, terwijl de andere twee nog niet definitief zijn gedetermineerd.

Hij bracht stukjes stengel op de grens van gezond en ziek weefsel in kleine kolfjes met gekookte rijst. Na een dag kon reeds overgeënt worden van het mycelium, dat zich in dien korten tijd rijkelijk ontwikkeld had. Als andere voedingsbodems werden daarnaast nog gebruikt banaan, appel, tabaksblad en termietenlarven.

Het voorkomen van *Pythium*-soorten in tabak was reeds eerder waargenomen, doch niet als oorzaak van stengelverbranding bij te velde staande tabak. Clinton (1907) maakte melding van het omvallen van zaailingen in kassen door *Pythium de Baryanum*. Peters en Schwarz (1912) noemden deze soort als vermoedelijke oorzaak van „Wurzelbrand” bij tabak, terwijl ook J o h n s o n (1924) en Moore (1926) *Pythium de Baryanum* noemen als oorzaak van „damping-off”. In de beide laatste gevallen werd de ziekte echter op de zaadbedden gevonden. Ten slotte wordt *Pythium aphanidermatum* door Bunting en Dade (1924) genoemd als verwekker van een dergelijke ziekte aan de Goudkust.

Ook van der Meer (1928) trof *Pythium megalacanthum* aan in de wortels van vlasbrandzieke planten en kon in petrischalen met maïsagar deze schimmel uit de zieke wortels isoleren.

Een drietal onderzoekingen omtrent door *Pythiums* veroorzaakte vruchtrottingen verdienen aparte vermelding. L e h m a n (1921) vond vruchten van „sweet-pepper” (*Capsicum annum* var. *gros-sum*), die slechts 6 tot 8 inches boven den grond aan de takken hingen, aangetast door *Pythium de Baryanum*. Zeer waarschijnlijk acht hij de oorzaak hiervan te vinden in het spatten van zoösporen van deze schimmel uit den grond bij regenachtig weer op de vruchten en het binnendringen van deze zoösporen in op de vruchten aanwezige wonden.

Een dergelijke, door *Pythium aphanidermatum* veroorzaakte

ziekte is bij de „egg-plant” (*Solanum Melongena* L.) beschreven door Drechsler (1926 a). Drechsler zag evenwel, dat in sommige gevallen de vlak boven den grond hangende vruchten met den grond verbonden waren door een zwaar myceliumweefsel, zoodat de oorzaak van deze ziekte zeker in genoemde schimmel moet worden gezocht.

Ten slotte is door Mitra en Subramaniam (1928) melding gemaakt van een door *Pythium aphanidermatum* veroorzaakte soortgelijke vruchtrotting bij verschillende Cucurbitaceae in Engelsch-Indië. Ook hier waren het de meeste vruchten, welke op den grond lagen of vlak boven den grond hingen, welke waren aangetast. Steeds vond dit plaats gedurende of na regenbuien, waardoor de veronderstelling, dat deze infectie van den grond uit plaatsgrijpt, aannemelijk is.

Wanneer men nagaat op welke wijzen *Pythium*-soorten uit grond of zieke plantendeelen zijn geïsoleerd, valt het op, dat in verreweg de meeste gevallen zetmeelhoudende voedingsbodems zijn gebezigd (b.v. maïsmeelagar, haveremoutagar, rijst), afgezien van Butlers zeer speciale methode van de in water drijvende stukjes *Abutilon*wortel. Blijkbaar werkten deze zetmeelbodems selectief ten opzichte der verschillende *Pythiums*. Eveneens opvallend is, dat slechts een hoogst enkele onderzoeker, vermeld in de bladzijden, waarin het algemeene isoleeren van schimmels uit den grond is behandeld, zich van een zetmeelhoudenden voedingsbodem heeft bediend, of met andere soorten voedingsbodems er in geslaagd is *Pythium*-soorten te verkrijgen uit grond of zieke wortels.

C. De aanwezigheid van tot het geslacht *Phytophthora* behorende schimmels in den bodem

In 1922 is van Helena L. G. de Bruijn (1922) een uitgebreid artikel verschenen over het saprophytische leven van *Phytophthora*-soorten in den grond, waarin o.a. vermeld staat van welke *Phytophthora*'s toentertijd met zekerheid bekend was dat zij als saprophyt in den grond konden voorkomen en waarin eveneens staat opgegeven van welke soorten deze levenswijze nog niet geheel en al vast stond.

Aan de saprophytische levenswijze in den grond van de volgende soorten kan niet getwijfeld worden: *Phytophthora fagi* Hart., *Ph. cactorum* (Lebert en Cohn) Schröt., *Ph. nicotianae* Van Breda de Haan, *Ph. Syringae* Kleb., *Ph. terrestris* Sherb., *Ph. cryptogea* Pethyb. en Laff., *Ph. erythroseptica* Pethyb., *Ph. arecae* (Colem.) Pethyb. en *Ph. parasitica* Dastur, terwijl in 1922 deze levenswijze bij *Phytophthora colocasiae* Rac., *Ph. infestans* (Mont.) de Bary, en *Ph. Faberi* Maubl. nog niet onomstootelijk was aangetoond. Volgens alle waarschijnlijkheid zou bij *Phytophthora Meadii* Mc. Rae de bodem geen rol spelen in den levenscyclus.

De publicatie van de Bruijn bevat uitvoerige gegevens omtrent de methoden, welke zijn gebezigd om de saprophytische levenswijze van al deze schimmels in den bodem te kunnen vaststellen. Voor nadere bijzonderheden hieromtrent zij dus naar dit werk verwezen.

De Bruijn (1922) kon aantonen dat ook *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary als saprophyt in de aarde kan leven. Het gelukte haar nl. deze soort te kweken op gesteriliseerde aarde in buisjes, waarbij bleek, dat het mycelium zich vermeerderde, zoodat wel als vaststaand beschouwd kan worden, dat de schimmel uit de bestanddeelen der aarde voedsel kan opnemen. Hetzelfde werd langs dezen weg aangetoond voor *Phytophthora Syringae* Kleb. en *Phytophthora erythroseptica* Pethyb..

Na het verschijnen van de Bruijns publicatie zijn nog eenige stukken verschenen, waarin over de aanwezigheid van *Phytophthora*'s in den grond wordt gesproken. Ook hier worden slechts de belangrijkste ervan hieronder weergegeven.

Zoo kon R a n d s (1922) waarnemen, dat de door *Phytophthora cinnamomi* Rands veroorzaakte aantasting van kaneel (streepkan-ker) meestal beneden de bodemoppervlakte begint, zoodat de schimmel wel in den grond aanwezig moet zijn. Het is R a n d s echter niet gelukt bij het onderzoek van plantaardigen afval en grond in de nabijheid van de basis van ernstig aangetaste boomen eenige fructificatie van de schimmel te vinden. Eveneens mislukte de methode van B u t l e r om de schimmel uit den grond te verkrijgen. Mogelijk acht R a n d s dit falen toe te schrijven aan het ontbreken van een specifiëken voedingsbodem.

Leonian (1922) beschreef een rotting van de vruchten van „pepper” (*Capsicum annum*) waarvan de nieuwe soort *Phytophthora capsici* Leon. de oorzaak bleek te zijn. Behalve de vruchten worden ook de zaden aangetast en komt de schimmel met het aangetaste zaad in den grond. Leonian kon aantoonen, dat in den grond kiemende zaden door de schimmel kunnen worden aangetast. Ook pleit voor de aanwezigheid van deze soort in den bodem, dat steeds de laagst hangende vruchten het sterkst door de ziekte worden getroffen.

Hotson en Hartge (1923) maakten melding van een tomatenziekte, welke door *Phytophthora mexicana* Hotson en Hartge werd teweeggebracht. Door stukjes agar met deze schimmel op den bodem te plaatsen, waarin tomaten groeiden, kon na eenigen tijd „damping-off” der planten ter hoogte van de bodemoppervlakte worden geconstateerd.

Het door Godfrey (1923) beschreven voetrot van rhabarber, hetwelk door de door hem beschreven nieuwe variëteit *Phytophthora parasitica* var. *rhei* wordt veroorzaakt, schijnt eveneens van den bodem uit te beginnen. Godfrey wijst er tenminste op, dat het aanbeveling verdient den grond te desinfecteeren, waar zieke plantendeelen in den bodem zijn achtergebleven, aangezien deze gevaar opleveren voor de naburige gezonde planten. Dit laatste blijkt voldoende uit de lange rijen gapingen, welke tusschen vele gezonde rhabarberplanten werden waargenomen.

Rose (1924) maakte in 1924 gewag van een aantasting van aardbeien door *Phytophthora cactorum* (Lebert en Cohn) Schröt.. Daar de aardbeien, welke den grond aanraakten, het eerst geïnfecteerd werden, acht hij het waarschijnlijk dat deze ziekte van den bodem uit wordt veroorzaakt, hetzij door mycelium, hetzij door zwermsporen van deze schimmel.

Rose en Lindgren (1925) beschreven het rot van afgevallen appels en peren in N. Amerika, hetwelk door *Phytophthora cactorum* wordt veroorzaakt. In Europa was deze vruchtrotting al door vele onderzoekers beschreven (het eerst door Osterwaller in 1906). Om te bewijzen, dat de schimmel van den grond uit de afgevallen vruchten aantast, brachten zij gave, gesteriliseerde appels en peren in vochtige kamers, waarin klei uit boomgaarden met een weinig steriel water aanwezig was. Alle exem-

plaren bleken na verloop van drie weken de typische kenmerken van het rot te hebben.

Drechsler (1926 b) bewees dat het voetrot van *Lilium candidum* en *Lilium pyrenaicum* aan dezelfde schimmel is toe te schrijven. Aangezien de zieke plekken aan den stengel uitsluitend beneden de oppervlakte van den grond te vinden waren, is het vanzelfsprekend, dat deze schimmel in den bodem kan leven.

Reeds in 1921 had Hartley (1921) melding gemaakt van een uit omgevallen zaailingen van *Pinus resinosa* geïsoleerde schimmel, welke tot het geslacht *Phytophthora* behoorde. Deze soort kon, wat bleek uit de door Hartley ingestelde infectieproeven, in geringe mate de wortels van dennen aantasten. Pas in 1925 is deze soort door Leonian (1925) beschreven als *Phytophthora pini* Leon.. Ook deze soort behoort dus onder de in den bodem aanwezige *Phytophthora*'s gerekend te worden.

Carne (1925) maakte uit veld- en laboratoriumproeven den vermoedelijken levenscyclus van *Phytophthora hibernalis* Carne, de veroorzaker van het bruinrot der Citrus-soorten in Australië, op. Volgens hem zou *Phytophthora hibernalis* van den grond uit laaghangende bladeren en vruchten aantasten. De kieming der oösporen (in den grond) kon door hem evenwel niet worden aangetoond.

Van Dufrénoy (1926) is een referaat verschenen over het parasitaire en saprophytische leven der *Phytophthoraceae*, waarbij ook het voorkomen in den bodem van de vertegenwoordigers van deze groep ter sprake komt. Nieuwe feiten of gezichtspunten hierover zijn bij hem echter niet te vinden.

Tisdale en Kelley (1926) beschreven de in Florida en Georgië als „black shank” bekendstaande ziekte van stengels van tabak. Als oorzaak werd een stam van *Phytophthora nicotianae* Van Breda de Haan opgegeven. De ziekte is primair een aantasting der wortels en van het basale gedeelte van den stengel, zoodat men ook hier wel genoodzaakt is tot het aannemen van de aanwezigheid der schimmel in den bodem.

Buisman (1927) bestudeerde het wortelrot van *Richardia aethiopica* en gaf als oorzaak hiervan een nieuwe *Phytophthora* aan, nl. *Phytophthora Richardiae* Buisman. Het isoleren van

deze soort uit de zieke wortels leverde vele moeilijkheden op, aanzien bij het uitleggen der wortels talrijke secundair hierin aanwezige *Pythium*-soorten werden verkregen. Betere resultaten werden verkregen door de zieke knollen met water schoon te borstelen en deze op jampotten, gevuld met voedingsoplossing van v. d. Crone, wortels te laten vormen. Hierdoor waren de vele grondschimmels uitgeschakeld, en kon uit de in deze oplossing gevormde worteltjes de veroorzaker worden geïsoleerd. Daar deze zeer langzaam groeit, is het te begrijpen dat uit de wortels van in den grond gekweekte exemplaren, slechts de veel sneller groeiende *Pythiums* werden verkregen.

Salmon en Ware (1927) hebben een dergelijke ziekte van *Richardia* beschreven, welke in Engeland was waargenomen. Ook hier was een *Phytophthora* uit den bodem in de wortels aanwezig, welke soort zeer veel overeenkomst met *Phytophthora Richardiae* vertoonde.

Volledigheidshalve dient hier nog vermeld te worden, dat van *Pythiacystis citrophthora* R. E. en E. H. Smith, welke soort door Leonian (1925) bij het geslacht *Phytophthora* is ondergebracht, het voorkomen in den bodem reeds lang bekend is. (Smith en Smith, 1906).

Eveneens komt de door Buisman (1927) en tegenwoordig ook door Petri als een *Phytophthora* beschouwde *Blepharospora cambivora* Petri in den bodem voor (Petri, 1923).

Evenals bij *Pythium* het geval was, zijn ook voor de isolatie van vele vertegenwoordigers van het geslacht *Phytophthora* zetmeelhoudende voedingsbodems gebruikt. Bij het bestudeeren der bovenvermelde literatuur is wel gebleken, dat in het bijzonder maïsmeelagar en havermoutagar voor deze doeleinden zeer geschikt zijn.

Tenslotte zij hier nog medegedeeld, dat in alle hierboven besproken publicaties de *Phytophthora*-soorten zijn geïsoleerd uit zieke plantendeelen.

D. Het voorkomen in den bodem van tot het geslacht *Aphanomyces* behoorende schimmels

Tot voor 1906 was de aanwezigheid in den bodem van tot het

geslacht *Aphanomyces* behoorende schimmels niet bekend. Alle toen bekende soorten van dit geslacht waren gevonden in het water en wel voorkomende op rottende insecten of als parasieten van wieren.

Het was Peters (1906), die de aandacht vestigde op de mogelijkheid van voorkomen in den bodem van de tot dit geslacht behoorende soorten. In de zieke wortels van bieten, welke bieten-brand hadden, kon hij *Aphanomyces laevis* de Bary aantoonen, terwijl het parasitair vermogen werd vastgesteld op de wijze, welke in dit hoofdstuk reeds bij *Pythium de Baryanum* is besproken.

Drechsler (1924) bestudeerde het wortelrot van erwten in de Vereenigde Staten van N. Amerika en kon vaststellen, dat van de talrijke Phycomyceten, welke uit de zieke erwtenwortels konden worden gekweekt, een toen nog niet bekende *Aphanomyces* de ernstigste parasiet was. Deze soort is uitvoerig beschreven door Jones en Drechsler (1925); in deze publicatie blijkt wel duidelijk met welk een moeite deze soort kon worden geïsoleerd. *Aphanomyces euteiches* Drechsler groeit slechts zeer korten tijd in de plantenweefsels; bij het begin van de aantasting bleek deze soort niet op voedingsbodems uit te groeien, terwijl dit eveneens het geval was zoodra de schimmel oösporen ging vormen. Ook waren vele secundair in de wortels aanwezige saprophyten een groote hindernis bij de isolatie. Ten einde de schimmel te kunnen isoleeren mengden Jones en Drechsler zieke wortels met bijbehorende aarde met gesteriliseerden grond en lieten hierin erwten kiemen. Wanneer de plantjes in het geschikte stadium waren voor isolatie van de schimmel, werden stukjes wortel uitgelegd op 2%- of 3%-agar of pruimagar en werd op deze wijze *Aphanomyces euteiches* ten slotte geïsoleerd.

In 1925 is deze soort waargenomen door mej. Solberg (1925). Verder vond zij deze schimmel in vele andere leguminosen, nl. in lupine, klaver, boonen en lathyrus, terwijl zij meende te kunnen aannemen, dat iedere gastheer aangetast werd door een verschillend biologisch ras van deze schimmel.

Omstreeks denzelfden tijd is ook in Engeland *Aphanomyces euteiches* twee malen waargenomen door Pethybridge (1926), eveneens als oorzaak van wortelrot bij erwten.

Aphanomyces euteiches is na 1925 in Amerika nog in de wor-

tels van vele andere planten gevonden; zoo trof o.a. Drechsler (1927) haar aan in wortels van tomaat, terwijl Linford (1927) 8 soorten *Vicia*, 3 soorten *Lathyrus*, en verder *Medicago sativa* en *Melilotus alba* als vatbaar voor *Aphanomyces* opgeeft.

Buisman (1927) heeft bij haar onderzoek over wortelrot bij erwten *Aphanomyces euteiches* nooit aangetroffen; wel kon een *Aphanomyces* uit violenwortels worden geïsoleerd, welke morfologisch geen afwijkingen van *Aphanomyces euteiches* vertoonde, doch welke geen ziekte der erwten kon teweegbrengen.

Kendrick (1927) kweekte uit zieke zwartgekleurde wortels van radijs een nieuwe *Aphanomyces*, welke hij *Aphanomyces raphani* noemde. Door infectieproeven kon hij aantoonen, dat deze soort verantwoordelijk moet worden gesteld voor de door hem gevonden aantasting der radijsworteltjes.

Tenslotte heeft Drechsler (1928) uit zieke suikerbietenkiemplantjes eveneens een nieuwe soort geïsoleerd, welke hij *Aphanomyces cochlioides* noemde. Deze soort kon door hem niet bij *Aphanomyces euteiches* of *Aphanomyces laevis* worden ondergebracht, hoewel zijn schimmel vrij veel op *Aphanomyces laevis* schijnt te gelijken.

Over deze twee nieuwe soorten zijn nog slechts weinig gegevens bekend, aangezien ze in korte „abstracts” in het tijdschrift „Phytopathology” zijn behandeld.

§ 2. EIGEN ONDERZOEKINGEN

Aangezien beoogd werd een oriënteerend onderzoek in te stellen naar de in bladgrond aanwezige soorten van de geslachten *Pythium*, *Phytophthora* en *Aphanomyces*, welke als wortelparasieten kunnen optreden, werd uitsluitend gebruik gemaakt van verkleurde of zieke worteltjes van de meest uiteenlopende planten, terwijl de methode van het uitleggen van deeltjes grond op een passenden voedingsbodem niet werd gebezigd.

In de volgende bladzijden worden achtereenvolgens besproken het gebruikte materiaal, de methodiek van het isoleren en determineeren der schimmels, en de gevonden soorten.

A. Materiaal

In verband met het feit, dat de meeste onderzochte planten in bladaarde werden gekweekt, is het goed eerst eenige opmerkingen over deze grondsoort te maken. Bladaarde wordt verkregen door afgevallen bladeren van beuken, eiken en andere boomen in den herfst te verzamelen en deze langs den natuurlijken weg tot ontbinding over te laten gaan. Na drie jaar aan de verschillende weersomstandigheden blootgesteld te zijn geweest, is een hoop bladeren geworden tot bladaarde, welke de fijne kruimelige structuur vertoont, welke haar geschikt maakt voor kweekgrond voor planten. Het ontbindingsproces kan versneld worden door op de afgevallen bladeren een laag paardenmest te leggen, dit geheel eenige d.M. onder den grond te brengen, en de bladeren aldus een jaar te laten liggen. Op deze wijze zijn de bladeren minder aan droogte onderhevig, zoodat het overgangsproces vlugger plaats kan grijpen. Na verloop van een jaar worden de halfvergane bladeren onder den paardenmest weggehaald en nog gedurende een jaar aan de buitenlucht blootgesteld, zoodat dan reeds na twee jaar bladaarde van geschikte kwaliteit kan worden verkregen.

Als plantenmateriaal voor dit onderzoek werd in hoofdzaak gebruik gemaakt van verwelkende of in groei achtergebleven planten, welke groeiden in den bladgrond van „Cantonspark", een te Baarn aanwezige Hortus der Rijksuniversiteit te Utrecht. De volgende soorten werden hiervoor o.a. gebruikt: *Viola tricolor* L., *Viola cornuta* L., *Arabis alpina* L., *Spinacia oleracea* L., *Sinapis chinensis* L.

Een andere methode, welke zeer geschikt bleek voor het verkrijgen van planten met zieke wortels, was het kweken van verschillende leguminosen uit zaad in ondiepe zaaipannen. De wortelstelsels van de opgroeiende planten beschikken hier niet over voldoende ruimte, zoodat vermoed werd, dat met behulp van dergelijke in minder goede conditie verkeerende wortels verscheidene schimmels uit den bodem zouden kunnen worden „weggevangen", hetgeen inderdaad het geval was.

Begin Mei 1927 werden voor dit doel o.a. zaden van *Phaseolus vulgaris* L., *Lens esculenta* Mnch. en *Lupinus polyphyllus* Lindl. uitgelegd in zaaipannen.

Vervolgens werden vele wortels op Phycomyceten onderzocht van zieke planten, welke naar het Phytopathologisch laboratorium „Willie Commelin Scholten” te Baarn waren opgestuurd, o. a. *Escholtzia californica* Cham., *Godetia Willdenowiana* Spach., *Gloxinia* sp., *Fragaria vesca* L., en *Aquilegia vulgaris* L.. Op excursies buiten Baarn werden nog verzameld: *Beta vulgaris* L., *Phaseolus vulgaris* L., en *Pisum sativum* L..

Ten slotte werden eenige door Buisman geïsoleerde ongedetermineerde Phycomyceten voor nader onderzoek bestudeerd.

B. Methode van het isoleeren en kweken der schimmels

Allereerst werden de te onderzoeken wortelstelsels resp. andere plantendeelen met behulp van den straal van de waterleidingkraan zoo veel mogelijk ontdaan van de aan de wortels klevende gronddeeltjes. Met een loupe werden aan de wortels de verrotte of verkleurde gedeelten opgezocht, welke vervolgens onveranderd onder het microscoop werden bekeken, ten einde te kunnen constateeren of in de worteltjes Phycomyceten aanwezig waren. Konden in de worteltjes mycelium zonder tusschenschotten, conidiën, oogoniën of oösporen worden waargenomen, dan werden de wortels in kleine stukjes verdeeld en deze in steriel water gebracht. De stukjes wortel werden vijf maal in steriel water omgespoeld, ten einde de laatste verontreinigingen in den vorm van aan de wortels klevende stukjes mycelium of sporen van ongewenschte schimmels zoo veel mogelijk te verwijderen. De volgens dit recept schoongemaakte wortelstukjes werden vervolgens tusschen twee bladen steriel filterpapier goed gedroogd en op steriele wijze op petrischalen met havermoutagar gebracht.

Zooals Buisman (1927) reeds opmerkte, is het desinfecteeren der worteltjes met sublimaat af te raden, aangezien bij deze desinfectie het mycelium van de Phycomyceten gedood wordt.

Er werd juist van havermoutagar gebruik gemaakt om de in de wortelstukjes aanwezige *Pythium*-soorten een voorsprong te geven boven eventueel aanwezige *Hyphomyceten*. Ook Buisman (1927) maakte van dezen voedingsbodem met succes gebruik.

Na verloop van twee à drie dagen was het eerste optreden van schimmelgroei uit de worteltjes in de meeste gevallen zichtbaar.

Zoodra het eenigszins mogelijk was, werd van de aldus ontstane kolonies van de randen overgeënt, teneinde te voorkomen dat de uitgegroeide *Phycomyceten* door bacteriën of andere schimmels werden overgroeid. Zoo moest in de zomermaanden vaak om den anderen dag op nieuwe petrischalen worden overgeënt, aangezien de *Pythium*-soorten dan binnen twee dagen de geheele oppervlakte van een petrishaal kunnen overgroeien.

Wanneer de schimmels voldoende gereinigd waren van bacteriën, werden zij op buisjes met haverhout geënt ten einde bewaard te worden. Deze buisjes werden eens in de 6—8 weken overgeënt, met de bedoeling ook hier te verhinderen, dat de groei der aanwezige bacteriën de overhand kreeg of ten minste storend ging werken.

Het voorkomen van bacteriën in cultures van *Phycomyceten*, in het bijzonder bij de geslachten *Pythium* en *Phytophthora*, is herhaaldelijk in de literatuur vermeld. Het afenten der schimmel van den rand der cultures is niet absoluut afdoende, daar de bacteriën steeds aan den celwand van de schimmel kleven, wat ook aan den rand der cultures het geval is.

Petri (1927) heeft onlangs melding gemaakt van het parasitair voorkomen van bacteriën *binnen* de hyphen van schimmels, zoodat het zuiveren van bacteriën wel met zeer groote moeilijkheden gepaard gaat. Het is herhaaldelijk voorgekomen dat cultures van schimmels, welke aan het „Centraal Bureau voor Schimmelcultures” te Baarn aankwamen en volgens inzenders geheel zuiver waren, een niet onbelangrijke hoeveelheid bacteriën bleken te bevatten.

Een door Kniep aan het Centraal Bureau schriftelijk medegedeeld ongepubliceerd recept voor de zuivering der schimmels van bacteriën bleek aanvankelijk nog al gunstige resultaten af te werpen: Men neemt een cultuurbuisje met voedingsbodem en ent de schimmel *onder* den voedingsbodem door met behulp van een gegloeide entnaald den voedingsbodem eerst geheel van den glaswand los te maken, zoodat het oorspronkelijk schuine vlak ongeveer verticaal staat, daarna aan de achterzijde van den voedingsbodem het entmateriaal te brengen, en tenslotte den voedingsbodem in den gewonen stand terug te brengen. Het mycelium groeit dan door een vrij dikke laag voedingsbodem heen, terwijl de,

blijkbaar aërobe, bacteriën achterblijven. Eenige keeren herhaald, leverde deze methode bij vele soorten gunstige resultaten op, in dier voege, dat er een wollig luchtmycelium optrad, dat zich zeer goed liet overenten. Toch bleek na eenige weken ook hier weer, dat het mycelium per slot van rekening ging samenplakken en er bacteriën optraden. Slechts tijdelijk waren deze dus op den achtergrond gebracht.

Voor zuivering van bacteriën bleek groei op 2%-agar in sommige gevallen gunstig. Luchtmycelium werd vaak met succes verkregen door de schimmel te laten groeien op zure havermoutagar of op een mengsel van gelijke deelen kers-, havermout- en peptonagar.

Voor het zuiveren van *Phytophthora*'s van bacteriën maakt Ashby volgens een schriftelijke mededeeling aan het Centraal Bureau met succes gebruik van maismeelagar, welke met melkzuur is aangezuurd. Of deze methode ook voor *Pythiums* van toepassing kan zijn, moet nog beslist worden.

C. Methode van het determineeren der schimmels

Voor dat de 154 isolaties van uit bladaarde geïsoleerde Phycomyceten werden gedetermineerd, werden eerst de in de collectie van het „Centraal Bureau voor Schimmelcultures" aanwezige soorten van het geslacht *Pythium* bestudeerd en de typische kenmerken ervan nagegaan.

Om de soorten van het geslacht *Pythium* te kunnen bepalen werd de door Butler (1907) aangegeven indeeling gebruikt. Hierbij wordt speciaal waarde gehecht aan den vorm der zwerm sporangiën, oögoniën, antheridiën en oösporen der schimmels. Het was dus een allereerste vereischte, er voor te zorgen, deze organen bij de verschillende soorten op gemakkelijke en vlugge wijze te kunnen verkrijgen.

Ten einde de geslachtelijke voortplanting der *Pythium*-soorten te kunnen bestudeeren, werd gebruik gemaakt van cultures in petrischalen met havermoutagar. In de meeste gevallen waren na 5 dagen antheridiën en oögoniën te zien, terwijl oösporen ook dan reeds, hoewel nog weinig, waar te nemen waren. Eenvoudig het bestudeeren van microscopische preparaten van deze cultures gaf

in vele gevallen al sterke aanwijzingen voor de bepaling der soort.

Ook voor de vorming van conidiën bij de soorten, welke geen geslachtelijke voortplanting vertoonen, bleek havermoutagar een zeer geschikt medium te zijn. De vorming van zwermsporangiën leverde in vele gevallen meer moeilijkheden op. Op havermoutagar worden deze nagenoeg niet gevormd, zoodat hiervoor een speciale methode vereischt is. In haar proefschrift vermeldt Buisman (1927) een recept van Petri (1918) om langs vrij eenvoudigen weg zwermsporen te verkrijgen bij *Phytophthora cambivora*:

In Erlenmeyer-kolfjes, welke een dunne laag vloeistof bevatten van de volgende samenstelling:

0,400 gr. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,150 gr. KH_2PO_4 , 0,150 gr. MgSO_4 , 0,060 gr. KCl, 1000 gr. gedestilleerd water,

worden stukjes mycelium van de te onderzoeken schimmel gebracht en deze hierin gekweekt gedurende eenige dagen. Er worden dan zwermsporangiën gevormd, doch nog geen zwermsporen. Brengt men na verloop van dien tijd het mycelium over in water, dan vindt zwermsporenvorming plaats in korteren of langeren tijd (1—24 uur), al naar gelang van de soort.

In de door mij genomen proeven is het mycelium steeds 5 dagen in de oplossing van Petri gehouden en wel bij lage temperatuur (11°C.). Het bestudeeren van de zwermsporenvorming werd niet gedaan door het mycelium in een horlogeglas te brengen en dit op de objecttafel van het microscoop te leggen, zooals Buisman (1927) aangeeft, doch door het mycelium te brengen in een door van Luijk (1927) ontworpen vochtige kamer.

Ter nadere toelichting volgt hieronder de samenstelling van dit model vochtige kamer: In het deksel van een petrischaal is een rond gat van 3,5 c.M. doorsnede gemaakt. Boven dit gat wordt een dekglas van 40 bij 50 m.M. gelegd, hetwelk met behulp van paraffine aan de randen aan het deksel wordt bevestigd. Aan de onderzijde van het dekglas brengt men een druppel vloeistof, waarin het te bestudeeren object zich bevindt. Door in de onderste helft van de petrischaal een weinig steriel water te brengen en het deksel hierop te plaatsen, beschikt men over een vochtige kamer, waar de kans tot uitdrogen van den druppel praktisch uitgesloten is, en waar ook voor het uitputten der zuurstof door de

schimmel in den hangenden druppel niet behoeft te worden gevreesd. (Terloops zij medegedeeld, dat geen gebruik werd gemaakt van gelatine om het dekglas op het deksel te bevestigen, zooals oorspronkelijk door van Luijk is beschreven, omdat dit talrijke bezwaren met zich medebracht).

Het zich in den hangenden druppel bevindende mycelium werd met de sterke vergrooting van het microscoop bekeken op gezette tijden, gemiddeld om het kwartier. Wanneer de eerste zwersporen zich in den hangenden druppel vertoonden, kon het geheele proces zonder moeite tot in details worden nagegaan.

Voor de zwersporenvorming is het noodig, dat het mycelium niet aan stooten of schommelen onderhevig is. Hiervoor leent een vochtige kamer (model van Luijk) zich beter dan een horlogeglas met water, dat uit den aard der zaak minder vast staat op de objecttafel van het microscoop. Om dezelfde reden was het ook gemakkelijker myceliumstukjes in een vochtige kamer te bekijken dan in een horlogeglas.

Een ruime hoeveelheid zuurstof is de andere factor, welke voor zwersporenvorming onontbeerlijk is. Reeds Butler (1907) wijst hierop en geeft aan, dat het ververschen van de vloeistof aanbeveling verdient. Om deze reden werd om het half uur de hangende druppel met een filtreerpapiertje weggenomen en door een nieuwen druppel versch leidingwater vervangen.

Met de hierboven beschreven methoden werden, zoowel wat vorming van oösporen als wat zwersporenvorming betreft, goede resultaten geboekt.

D. Resultaten van het determineeren der schimmels. Bijzonderheden omtrent de gevonden soorten

De resultaten van de verschillende determinaties der schimmels zijn in nevenstaande tabel weergegeven. In de aan de linkerzijde van deze tabel aanwezige verticale rij zijn de namen der planten opgegeven, uit welke de schimmels zijn geïsoleerd, terwijl in de aan de bovenzijde van de tabel te vinden horizontale rij de namen der gevonden schimmels zijn vermeld.

Uit tabel I blijkt wel duidelijk dat *Pythium de Baryanum*, *P. de Baryanum* var. *pelargonii*, *P. intermedium*, en *P. irregulare* tot de

TABEL I. Overzicht van de uit verschillende planten geïsoleerde schimmels.

	P. monospermum	P. de Baryanum	P. de Baryanum var. pelargonii	P. splendens	P. intermedium	P. irregulare	P. artotrogus	P. mamillatum	Ph. cactorum	Aph. euteiches P. F. 2	Ongedetermineerde soorten	Totaal
Richardia aethiopica L.	1										2	3
Beta vulgaris L.		4						4			1	9
Spinacia oleracea L.	1	2	2				1			1		7
Aquilegia vulgaris L.			1		5							6
Esscholtzia californica Cham.			1						3			4
Arabis alpina L.			1		3		1			1		6
Sinapis chinensis L.						2						2
Hesperis matronalis L.					7							7
Viola tricolor L.					2	4				1	2	9
Viola cornuta L.			4									4
Fragaria vesca L.					4							4
Pisum sativum L.			2		1	5						8
Phaseolus vulgaris L.		3	8		4	4						19
Lupinus polyphyllus Lindl.			2									2
Lens esculenta Mnch.		2	3			9						14
Godetia Willdenowiana Spach.			1		1				6			8
Azalea mollis Blume											1	1
Nicotiana tabacum L. (Connecticut)				10								10
id. (Havana)				10								10
Antirrhinum majus L.						1						1
Calceolaria scabiosaefolia Sims.						1					1	2
Nemesia strumosa Bent.						1						1
Gloxinia sp.		8	4									12
Bietengrond					1							1
Vlasgrond			1				1					2
Komkommerzaad					1						1	2
	2	19	30	20	29	27	3	4	9	3	8	154

schimmels behooren, welke het talrijkst uit de verschillende zieke plantendeelen zijn geïsoleerd en welke ook in de meest uiteenlopende planten zijn gevonden. Ook *P. splendens* is meermalen geïsoleerd, echter alleen uit tabak.

Thans zal worden overgegaan tot het bespreken van de gevonden schimmels, waarbij ook in beknopte vorm de kenmerken der geslachten *Pythium*, *Phytophthora*, en *Aphanomyces* uiteengezet zullen worden.

PYTHIUM Pringsheim

De plaats van het geslacht *Pythium* in de orde der Oömyceten zal hier slechts zeer in het kort worden besproken. Butler (1907) beschrijft in zijn monographie hoe het geslacht *Pythium* oorspronkelijk bij de Saprolegniaceae was ondergebracht, omdat de eerste gevonden soorten van dit geslacht in het water leefden. De Bary heeft het geslacht *Pythium* bij de Peronosporaceae ingedeeld; hoewel het niet aan tegenspraak heeft ontbroken (o.a. Schröter, 1897), is deze meening tot nu toe algemeen gehuldigd.

Een lastiger op te lossen probleem is de begrenzing van het geslacht *Pythium*. Butler (1907) geeft als eenig typisch kenmerk van het geslacht *Pythium* op, dat het laatste stadium van de vorming der zwersporen plaats grijpt in een blaasje, dat aan den mond van het sporangium wordt gevormd. Volgens Butler zou dit een wezenlijk verschilpunt met *Phytophthora* zijn.

Dit laatste is evenwel niet juist gebleken. Fitzpatrick (1923) gaf een samenvatting van het *Pythium-Phytophthora* probleem, waaruit blijkt, dat een scheiding van deze geslachten naar de zwersporenvorming onbevredigend is. Er zijn *Phytophthora*'s, welke de zwersporen zoowel normaal binnen het sporangium kunnen vormen als wel op de wijze, welke Butler als karakteristiek voor *Pythium* opgeeft.

Het is nuttig de indeeling, welke Butler (1907) van het geslacht *Pythium* geeft, iets nader uiteen te zetten. Butler verdeelt het geslacht *Pythium* allereerst in twee ondergeslachten, nl. *Aphragmium*, hetwelk gekenmerkt is door draadvormige sporan-

giën (b.v. *P. monospermum*), en *Sphaerosporangium*, waarbij de sporangiën bolvormig of ovaal zijn.

In het ondergeslacht *Sphaerosporangium* zijn eenige soorten, waarvan de sporangiën, na geledigd te zijn, doorgroeid worden door den sporangiëndrager, welke binnen het oude sporangium een nieuw sporangium kan vormen (b.v. *P. megalacanthum*, een soort uit deze groep met gestekelde oögoniën). De overige soorten van het ondergeslacht *Sphaerosporangium* hebben geen doorgroeide sporangiën en worden verder onderverdeeld naar het al of niet glad zijn van oögoniën en oösporen.

Ondergeslacht *Aphragmium*

Pythium monospermum Pringsheim

Over deze soort schrijft Butler (1907) het volgende: „Hyphen onregelmatig vertakt, tot 7μ in diameter, met talrijke knopachtige laterale uitgroeiingen. Sporangia en zoösporen als bij *P. gracile*, doch de algemeene habitus is grooter. Oögoniën eindelingsch of intercalair, of te vinden in de laterale knoppen. Antheridiën een of meer, knotsvormig, afkomstig van de oögoniumhyphe of van een andere hyphe. Oösporen glad, welke het oögonium geheel opvullen, zoodat de oögoniumwand vaak moeilijk te bepalen is, $12-15\mu$ in diameter. Kieming na een rustperiode, welke verscheidene maanden lang kan zijn, door middel van een hyphe, welke spoedig verandert in een sporangium.”

Een van de door Buisman niet gedetermineerde schimmels uit *Richardia* bleek aan deze gegevens te beantwoorden. De oösporen, welke het oögonium geheel opvulden, bleken 13 of 14μ groot te zijn; ook werden knopachtige verdikkingen in het mycelium aangetroffen. Zwermsporenvorming werd niet door ons waargenomen; wel werden draadvormige zwermsporangiën gezien, wanneer het mycelium 5 dagen in de vloeistof van Petri had gelegen.

Ook werd deze soort geïsoleerd uit zieke worteltjes van kiemplantjes van spinazie.

Ondergeslacht *Sphaerosporangium*

A. Sporangien worden doorgroeid

Pythium megalacanthum de Bary

Hoewel deze soort niet in onze isolaties is opgetreden, wordt zij om reden van volledigheid hier behandeld.

Butler (1907) zegt over *P. megalacanthum* o. m.: „Mycelium, samengesteld uit fijne hyphen, welke een lengte van 1 m.M. kunnen bereiken en onregelmatig vertakt zijn. Sporangien bolvormig, langgerekt, eivormig, of peervormig, in den regel eindelingsch, soms intercalair, onregelmatig van vorm en voorzien van een kiembuis, waarvan de lengte vele malen den diameter van het sporangium bedraagt. Na lediging vindt doorgroeïng plaats. Zoösporen zeer groot, tot $18-20\mu$ in diameter, wanneer zij in rust zijn. Conidiën onbekend. Oögoniën eindelingsch of intercalair, eerst glad, later met talrijke radiale, kegelvormige uitsteeksels, zonder deze $36-45\mu$ in diameter; uitsteeksels $6-9\mu$ lang. Antheridiën in den regel meer dan een, afkomstig van naburige hyphen, niet van de oögoniumhyphye. Oösporen 27μ in diameter, glad. Kieming na een langen rusttijd, tot 11 maanden.”

De door Buismann (1927) geïsoleerde stam uit vlas komt met deze beschrijving overeen; zwerm-sporenvorming hebben wij, evenmin als Buismann, bij dezen stam kunnen waarnemen.

Ondergeslacht *Sphaerosporangium*

B. Sporangien worden niet doorgroeid

I. Oögoniën en oösporen glad

Pythium de Baryanum Hesse

Butler (1907) geeft o.m. de volgende bijzonderheden over deze soort:

„Mycelium vrij grof; hyphen groot, zich onregelmatig en vrij vertakkende, met tusschenschotten in oude cultures. Sporangien bolvormig of ovaal, eindelingsch en intercalair. De sporangiumdragende hyphen zijn meestal onder het sporangium over een variablen afstand zonder inhoud, en zijn zoowel van het sporangium als

van het gedeelte der hyphe met inhoud door een dwarswand gescheiden. Blaasvorming vindt plaats door laterale kieming van het sporangium. Geen doorgroeiing. Conidiën in den regel talrijk, $15-25\mu$ in diameter, rond, ovaal, of wat onregelmatig van vorm en afmetingen in oude cultures. De conidiën kunnen dadelijk kiemen, doch dit vindt in den regel plaats, wanneer zij na een korte rustpoos in versch water worden gebracht.

Oögoniën in den regel talrijk, soms zeer vroeg in de cultuur aanwezig, $20-25\mu$ in diameter, bolvormig, eidelingsch of intercalair. Antheridiën tot 3 in aantal, afkomstig van de hyphe, welke het oögonium draagt, of van een andere hyphe. Vaak worden zij vlak onder het oögonium gevormd en zijn niet zelden hypogyn.

Oösporen $14-18\mu$ in diameter, het oögonium niet opvullende, bolvormig, glad, kiemende na een rusttijd van eenige maanden met een hyphe, welke zich vertakt.

Het mycelium parasiteert in levende planten, voornamelijk kiemplanten, en komt ook saprophytisch in tuinaarde voor."

Wij isoleerden deze soort uit zieke wortels van bieten, boonen, linzen en spinazie, terwijl ook uit zieke knollen en stengels van gloxinia deze soort werd verkregen.

Gedurende 1927 en 1928 zijn op het laboratorium „Willie Commelin Scholten" verscheidene malen zieke, uitgelopen gloxinia-knollen ingekomen, welke de volgende symptomen hadden: De knol is geheel bruin en een weinig vochtig. Van den knol zijn spruiten uitgelopen, welke zijn aangetast door een *Phycomyces*. Het bovenste gedeelte van deze spruit is nog gezond en normaal van kleur, terwijl het aan den knol grenzende gedeelte van de spruit een schorsrot vertoont. Het gedeelte van den stengel binnen den centralen cylinder is niet aangetast, wel de daarbuiten liggende weefsels, welke weldra verdrogen.

Het uitleggen op haverhoutagar van stukjes ziek weefsel, welke aan het gezonde gedeelte grenzen, leverde in alle gevallen *Pythium de Baryanum* op. Wij waren niet in de gelegenheid door infectieproeven aan te toonen of deze soort de werkelijke oorzaak van de ziekte is.

Pythium de Baryanum Hesse,var. *pelargonii* Braun

Deze variëteit is beschreven door Braun (1925), welke de volgende diagnose geeft:

„Hyphen coenocytisch en hyalien, zich rijkelijk vertakkend van dikkere hyphen, $3,8-9,8\mu$ breed (gemiddeld $6,2\mu$). Oösporen bolvormig of ongeveer bolvormig, glad, $15,9-19,9\mu$ in diameter (gemiddeld $17,8\mu$), vrij liggend in het oögonium en met dunnen wand; zelden voorkomend in cultures, dikwijls te gronde gaande. Diameter van het oögonium $17,4-21,9\mu$ (gemiddeld $20,1\mu$). 1 tot 4 knotsvormige antheridiën aanwezig, welke vaak over de geheele lengte tegen het oögonium liggen, en in den regel van een naburige hyphe afkomstig zijn. Conidiën bolvormig of ongeveer bolvormig, eidelingsch en intercalair voorkomende, glad, diameter $12,8-27,7\mu$ (gemiddeld $20,1\mu$), hyalien. Kieming vindt plaats door 1 tot 3 buizen. De conidiën worden op verschillende media overvloedig gevormd. Twee dagen na enten worden op plaatcultures sikkelvormige lichamen aangetroffen, welke alleen of in kettingen kunnen voorkomen. Binnen zeven dagen na enten worden op plaatcultures onregelmatige intercalaire lichamen gevonden, welke gevormd worden door het terugtrekken van protoplasma, waarbij achtereenvolgens vele tusschenschotten worden gevormd. Kieming van deze lichamen door een kiembuis. Minimum temperatuur 6°C ., d.i. lager dan bij *Pythium de Baryanum*, van welke soort deze variëteit te onderscheiden is in cultures, vooral door de meer compacte wijze van groeien.

Parasitair op *Pelargonium* sp., veroorzaakt stengelrot.”

Ook Buismann (1927) maakt van deze variëteit gewag in haar proefschrift. Zij is evenwel niet in de gelegenheid geweest de door haar als *P. de Baryanum* var. *pelargonii* betitelde vormen te vergelijken met de in Amerika als zoodanig beschreven schimmel. Aangezien pas in 1928 een cultuur van deze uit Amerika naar het Centraal Bureau is gestuurd, hebben wij kunnen constateeren, dat de in Nederland aanwezige stam in geen enkel opzicht van den Amerikaanschen verschilt.

De determinatie van deze variëteit was niet zeer moeilijk te volbrengen. Reeds dadelijk trekt de afwezigheid van antheridiën,

oögoniën en oösporen de aandacht. Verder is het voorkomen van zeer dikke hyphen, welke zich vertakken in dunnere, een typisch kenmerk, terwijl ook de zeer sterk wisselende grootte der conidiën in het oog loopend is. De vaak lichtgroene kleur dezer organen is mede een verschilpunt met *Pythium intermedium*, welke soort eveneens geen oösporen vormt.

Teneinde met absolute zekerheid uit te maken of een te onderzoeken schimmel *P. de Baryanum* var. *pelargonii* of wel *P. intermedium* is, werden kleine stukjes mycelium in den hangenden druppel van een vochtige kamer (model van L u i j k) gebracht. In tegenstelling met *P. intermedium* kon nooit waargenomen worden, dat er conidiën in kettingen werden gevormd.

Steeds kon na voldoende zuivering van bacteriën een zeer compact luchtmycelium op haveremoutagarcultures worden waargenomen. Ook bij deze variëteit kon, niettegenstaande vele proefnemingen, geen zwermsporenvorming tot stand gebracht worden met behulp van de methode van Petri.

Uit het meerendeel der planten, waarvan zieke worteltjes werden onderzocht, kon deze variëteit worden geïsoleerd, waaruit wel de conclusie kan worden getrokken, dat *Pythium de Baryanum* var. *pelargonii* als algemeen of zeer algemeen in den bodem voorkomend kan worden bestempeld.

Pythium splendens Braun

Pythium splendens is door Braun (1925) geïsoleerd uit zieke pelargoniumstekken en in 1925 beschreven. Zijn diagnose luidt als volgt:

„Hyphen van 3,5—9,2 μ breed, gemiddeld 6,4 μ . Oösporen bolvormig tot ellipsvormig, met gladden wand, vrij liggend in het gladde oögonium. Verhouding van oöspore tot oögonium als 1 : 1,2. Oösporen dikwandig, worden in cultures sporadisch gevormd. 3 tot 8 antheridiën, welke knotsvormig zijn en zoowel van de oögoniumhyphe als van een naburige hyphe afkomstig kunnen zijn. Oösporen binnen een maand na vorming kiemend door middel van een kiembuis. Conidiën bolvormig, steeds eindelings gevormd, gladwandig, 21,7—48,9 μ in diameter, gemiddeld 36,2 μ , hyalien,

donkerder gekleurd op aan voedingsstoffen rijke media, kiemende door middel van 2—6 kiembuizen.

Op plaatcultures zijn twee dagen na enting sikkelvormige of knotsvormige lichamen te zien, welke enkel of in kettingen worden gevormd. Temperatuurgrenzen 10—37,5° C., optimum 30° C. Verschilt van *P. de Baryanum* door lager temperatuurminimum, sterkeren groei tusschen 20 en 35,5° C., en specifieke verschillen in cultuur.

Parasiteert op pelargoniums, in de weefsels waarvan overvloedig conidiën worden gevormd."

Uit de wortels van tabaksplanten, welke bij het kweken in kassen van Cantonspark achtergebleven en omgevallen waren, werd deze soort zonder eenige moeite geïsoleerd volgens de gebruikelijke methode. Het determineeren geschiedde gemakkelijk door het steeds voorkomen van alleen eindelingsche, zeer groote conidiën en de vele antheridiën, terwijl de typische opzwellingen van den conidiëndrager (zie Braun, 1925, plaat 4, B), het kiemen van de conidiën met vele kiembuizen, en het voorkomen van de sikkelvormige lichamen allen twijfel buitensloten. De afmetingen van oögoniën en conidiën vielen binnen de door Braun opgegeven grenzen.

Pythium intermedium de Bary

Butler (1907) beschrijft deze soort in zijn monographie uitvoerig; de voornaamste kenmerken komen op het volgende neer:

„Hyphen zeer talrijk, tot 6 μ dik, regelmatig, zonder intercalaire opzwellingen. Vertakking vindt vaak onder rechte hoeken plaats. De uiteinden van alle vrije vertakkingen zijn voorzien van sporen, welke 18—24 μ in diameter groot zijn, en normaliter in kettingen aanwezig zijn. Deze kettingen worden basipetaal gevormd. De sporen van deze kettingen zijn soms peervormig, in de meeste gevallen bolvormig en zijn door zeer korte myceliumstukjes van elkaar gescheiden. Deze sporen kunnen als sporangiën of als conidiën kiemen. In jonge cultures komen vele sporangiën voor, welke bij toevoeging van versch water zoösporen vormen, terwijl in oudere cultures meer conidiën worden gevormd. Vaak zijn de conidiën voorzien van dikke wanden, welke een dubbelen omtrek hebben.

Geslachtelijke voortplanting is niet waargenomen."

Butler geeft verder op, dat deze soort algemeen in den grond als saprophyt voorkomt en hij verwondert zich erover, dat ze zelden is aangetroffen, sinds ze door de Bary is beschreven.

Buisman (1927) isoleerde *Pythium intermedium* uit chrysanthemumstekken en andere planten. Door het brengen van stukjes mycelium in horlogeglazen met water kon zij de identiteit binnen korten tijd vaststellen, daar de in kettingen gevormde conidiën konden worden waargenomen.

Om met zekerheid vast te stellen of een der geïsoleerde schimmels, welke geen geslachtelijke voortplanting vertoonde, al of niet *P. intermedium* was, gingen wij in hoofdzaak volgens hetzelfde beginsel te werk. Een stukje mycelium van een jonge cultuur op haverhoutagar werd geplaatst in den hangenden druppel van een vochtige kamer (model van Luyk). Na verloop van 24 uur werd het preparaat bekeken. Was de te onderzoeken schimmel *P. intermedium*, dan kon steeds de aanwezigheid van lange kettingen van conidiën vastgesteld worden.

De meestal ongekleurde inhoud der conidiën en der hyphen waren kenmerken, die steeds door ons konden worden waargenomen bij *P. intermedium*.

In de meeste gevallen kon in de cultures op haverhoutagar van *P. intermedium* een dun luchtmycelium geconstateerd worden, hetwelk evenwel nooit zoo compact en dik was als bij *P. irregulare*, *P. de Baryanum*, of *P. de Baryanum* var. *pelargonii*.

Pythium intermedium isoleerden wij uit zieke worteltjes van boon, akelei, aardbeien, viool en arabis. De aantasting van boonwortels door *P. intermedium* was zeer waarschijnlijk van secundaire aard, daar op de grens van ziek en gezond weefsel in den stengel een *Fusarium*-soort kon worden geïsoleerd.

Over het voorkomen van *P. intermedium* in akeleien kan het volgende vermeld worden:

In Juni 1927 werden eenige akeleien onderzocht, welke in de gemeenteplantsoenen van Utrecht hadden gestaan en aldaar verkleurd en verwelkt waren. De eerste waarneembare verkleuring was een verandering der bladkleur in geelgroen, terwijl oudere bladeren reeds geel en ten slotte bruin waren geworden en geheel verdroogd en opgerold. De wortels bleken bruin gekleurd te zijn.

Aan de worteluiteinden liet de schors gemakkelijk van de vaatbundels los en voelde het geheel slap aan. In drogen toestand waren deze wortelgedeelten zeer bros en vielen gemakkelijk af.

Bij microscopisch onderzoek bleken in de schors, zoowel als in de vaatbundels conidiën van *P. intermedium* aanwezig te zijn.

Als oorzaak van deze ziekte werd aan de afdeling Plantsoenen van Gemeentewerken te Utrecht beschouwd het verplanten van de akeleien. Niet verplante exemplaren bleken nl. volkomen gezond te zijn.

De mogelijkheid bestaat o.i., dat bij het verplanten de wortels der akeleien beschadigd zijn en dat de in den grond aanwezige *Pythium intermedium* door deze wonden in de wortels is gekomen, als gevolg waarvan het verwelken der bladeren zou zijn opgetreden.

Infectieproeven moeten deze veronderstelling nader bewijzen; hiertoe waren wij echter niet in de gelegenheid.

Ondergeslacht *Sphaerosporangium*

B. Sporangien worden niet doorgroeid

III. Oögoniën gestekeld, oösporen glad

Pythium irregulare Buisman

Door Buisman (1927) wordt deze soort als volgt beschreven:

„Oögoniën vaak met uitsteeksels van verschillende afmetingen en vormen.

Oögoniën in sommige gevallen bolvormig, in andere gevallen onregelmatig van vorm. Wanneer de oögoniën bolvormig zijn, is de grootte vaak $\pm 16-18 \mu$ in diameter, terwijl ze meestal intercalair gevormd worden. Oösporen liggen vrij in het oögonium en hebben in den regel een diameter van $14-16 \mu$. De wand van de oöspore heeft een dikte van ongeveer $1-1,5 \mu$.

De antheridiën worden aan dezelfde hyphe gevormd als het oögonium, soms zijn er meerdere om een oögonium. Zwerm-sporangien en conidiën varieeren sterk in afmetingen ($\pm 10-20 \mu$), terwijl ze bolvormig of omgekeerd-eivormig zijn. Zwerm-sporen worden zelden gevormd, $\pm 8 \mu$ in diameter, wanneer ze in rust zijn. Geïsoleerd uit erwtenwortels, lupineplanten en komkommer-zaden.

Verschilt van *Pythium de Baryanum* door de uitsteeksels, welke op de oögoniën worden aangetroffen."

Uit tabel I blijkt, dat deze schimmel verscheidene malen werd gevonden in de wortels van erwten, linzen, boonen en violen.

Het determineeren van deze soort leverde betrekkelijk weinig moeilijkheden op. Reeds in jonge cultures waren de onregelmatige, zeer vaak intercalaire oögoniën te herkennen, terwijl in cultures, welke eenige weken oud waren, zonder uitzondering de stekels optraden. Ook werd steeds gelet op het voorkomen van antheridiën en oögoniën aan eenzelfde hyphe. Met behulp van deze feiten was *Pythium irregulare* altijd met zekerheid te herkennen.

Ondanks herhaalde pogingen is de vorming van zwermsporen bij deze soort niet waargenomen kunnen worden.

Na voldoende zuivering van bacteriën bleek deze soort op haver-moutagar een vrij dik, wollig luchtmycelium te maken.

Het verdient nog vermelding, dat deze soort, welke in den bladgrond te Baarn blijkbaar in sterke mate vertegenwoordigd is, eveneens gevonden is in wortels van zieke erwten, welke groeiden in een tuin te Velsen, zoodat bij verder onderzoek de aanwezigheid van *Pythium irregulare* op meer plaatsen in Nederland wel zal blijken.

Pythium artotrogus (Mont.) de Bary

Door Butler (1907) worden over deze soort de volgende bijzonderheden vermeld:

„Mycelium saprophytisch in doode planten; hyphen rijk vertakt. Sporangien en conidiën onbekend. Oögoniën voornamelijk intercalair, bolrond, met radiale uitsteeksels van den oögoniumwand; zonder uitsteeksels $18-27\ \mu$ in diameter, uitsteeksels $3-6\ \mu$ lang. Antheridiën steeds hypogyn, in den regel enkel (doch mogelijk dubbel, waarbij er dan één boven en één onder het oögonium zou worden afgesneden); normaliter gevormd uit een onveranderd, afgesneden segment van de oögoniumdragende hyphe, welke zeer zelden opgezwollen is. Kieming na 3—4 maanden door middel van een vertakte hyphe."

Uit arabisstekken, welke te laat waren gestekt, zoodat de stengel toen reeds houtig was, isoleerden wij een schimmel met gestekelde

oögoniën, waaraan wij dezen naam meenen te moeten toekennen. Eveneens werd deze soort geïsoleerd uit zieke spinaziewortels, en bleek een door B u i s m a n uit vlasbrandzieken grond geïsoleerde schimmel hiermede identiek te zijn.

Hoewel met deze schimmel talrijke proeven zijn gedaan om conidiën of sporangiën te verkrijgen, is het verloop hiervan steeds negatief geweest. Daarentegen konden steeds goed de gestekelde oögoniën worden geobserveerd, waaraan antheridiën te vinden waren, welke met B u t l e r s aanwijzingen overeenstemden. Op grond van deze feiten werd besloten deze schimmel als *Pythium artotrogus* te betitelen.

Er is reeds meermalen in de literatuur op gewezen, dat het, door gebrek aan sporangiën en zwermsporenvorming, strikt genomen niet mogelijk is te bewijzen, dat deze soort bij het geslacht *Pythium* moet worden ondergebracht.

Op havermoutagar vormde deze soort geen luchtmycelium, op rijst, zure havermoutagar en het mengsel van gelijke deelen kers-, havermout-, en peptonagar slechts in geringe mate.

Pythium mamillatum n. sp.

Uit eenige op klei grond in de nabijheid van Ierseke gekweekte bietenplantjes, welke aan wortelbrand leden, werd in Juli 1927 een *Pythium* geïsoleerd, welke niet bij een der reeds bestaande soorten kon worden ondergebracht. Deze soort trok de aandacht door het voorkomen van vaak gebogen stekels, welke niet in een scherpe punt eindigden, zooals bij eenige gestekelde *Pythiums* voorkomt, doch waarvan het einde stomp is.

Morphologie. Het mycelium van deze soort onderscheidt zich niet van dat van andere *Pythiums*. De hyphen zijn zonder tusschenschotten, vertakken zich uit dikke hyphen, zijn vrij sterk oliehoudend en hebben een doorsnede van $4,0-9,3 \mu$, meest $5,3-6,7 \mu$, (Gemiddelde van 25 metingen $5,9 \mu$).

De oögoniën zijn bolvormig en zijn reeds kort na de vorming gestekeld. Het knotsvormige antheridium ontstaat aan een zijtak van de oögoniumdragende hyphe en wordt van dezen tak afgescheiden door een tusschenschot (zie fig. 1a). De bevruchte oögoniën hebben met de stekels medegerekend een diameter, welke

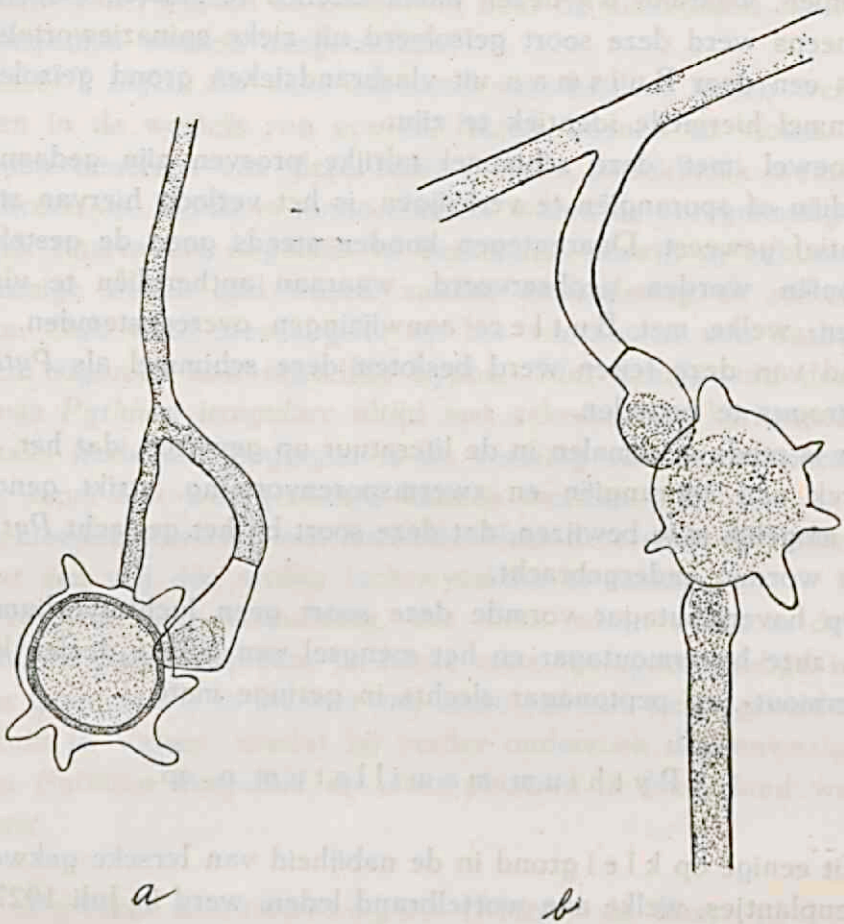


Fig. 1. *Pythium mamillatum* n. sp.. a. Normale type van bevruchting.
b. Abnormale wijze van bevruchting (slechts éénmaal waargenomen).
Vergrooing 1000 $\times$.

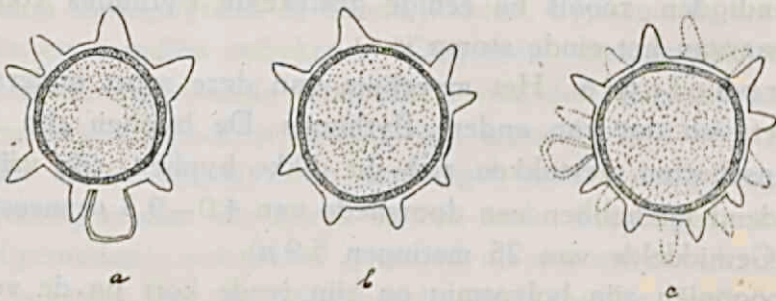


Fig. 2. *Pythium mamillatum* n. sp., a en b. Oögoniën, waarvan slechts de omtrekken zijn aangegeven, welke in het vlak der teekening zichtbaar zijn. c. Hetzelfde oögonium als b, doch hier zijn de uitsteeksels gestippeld, welke zichtbaar worden bij andere instellingen. Vergrooing 1000 $\times$.

varieert tusschen 20,3 en 29,3 μ , meestal tusschen 22—27 μ (gemiddelde van 25 metingen 24,5 μ), zonder de stekels een diameter van 13,3—19,3 μ , meest van 15,3—18 μ (gemiddelde van 25 metingen 16,4 μ). Een meting van de lengten van 25 stekels gaf een grootte van 2,7—6,0 μ , meest 4,0—6,0 μ (gemiddelde van 25 metingen 4,4 μ). Bij de bevruchting is het oögonium niet geheel gevuld, na de bevruchting vult de oöspore het geheele oögonium op, zoodat het vaak moeilijk is den oögoniumwand waar te nemen. De oöspore heeft een bruinachtigen wand, waarvan de dikte varieert tusschen 0,8 en 1,6 μ , gemiddeld tusschen 1 en 1,33 μ . De oösporen zijn soms niet homogeen van samenstelling; ze bestaan dan uit twee deelen van verschillende optische dichtheid en wel zoo, dat het centrale gedeelte hol en alleen een vrij dikke periphäre laag protoplasma aanwezig is (zie fig. 2).

Een hooge uitzondering was het, wanneer het antheridium afkomstig was van een naburige hyphe. Een dergelijk geval hebben wij slechts éénmaal waargenomen (zie fig. 1b).

Zooals reeds gemeld was, zijn de stekels altijd stomp, terwijl ze in vele gevallen min of meer gebogen zijn, iets wat bij geen andere *Pythium*-soort ooit beschreven is, voor zoover wij de literatuur hebben kunnen nagaan.

Aan de zwerm-sporenvorming (zie fig. 3) kon worden beslist, dat deze soort inderdaad tot het geslacht *Pythium* behoort. Wanneer kleine stukjes luchtmycelium van deze soort gedurende 5 dagen in de *Petri*-oplossing werden gehouden, na verloop van dien tijd eenige keeren werden afgespoeld met leidingwater, en dan in een hangenden druppel in de vochtige kamer (model van *L u i j k*) werden gebracht, kon steeds na verloop van 2 à 2 $\frac{1}{4}$ uur de zwerm-sporenvorming worden waargenomen. De na 5 dagen gevormde zwerm-sporangiën varieerden van 14,3—20,7 μ in diameter, gemiddeld 16,3 μ .

Na verblijf van twee uur in den hangenden druppel vormden de bolvormige zwerm-sporangiën een korte kiembuis, welke in een blaasje met zeer dunnen wand eindigde. Dit blaasje had ongeveer een even groot volume als het sporangium. Er kon worden vastgesteld, dat de inhoud van het sporangium in ongedifferentieerden toestand in het blaasje overgaat. 10 minuten nadat dit gebeurde, kon gezien worden, dat de inhoud van het blaasje zich ging diffe-

rentieeren en dat ten naaste bij de begrenzing van de zwersporen duidelijk begon te worden. Eenige oogenblikken nadat de zwerm-

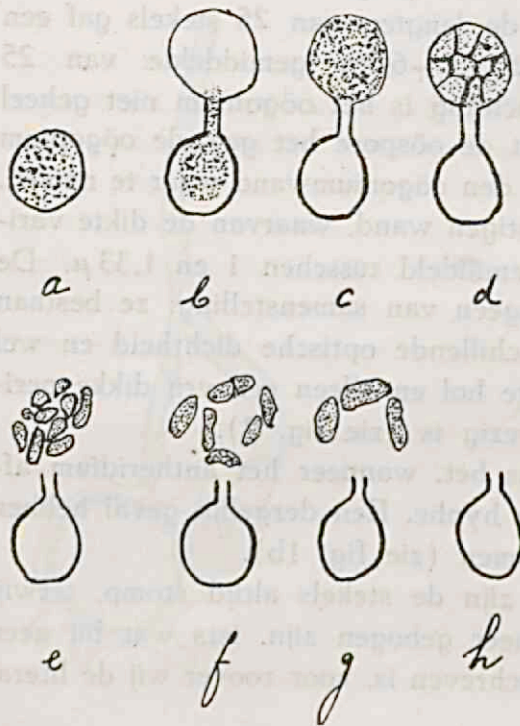


Fig. 3. Zwersporenvorming bij *Pythium mamillatum* n. sp.. *a*, zwersporangium, *b*, blaasvorming, *c*, inhoud van het sporangium is overgegaan in het blaasje, *d*, begin der differentiatie van den inhoud van het blaasje, *e*, juist vrijgekomen zwersporen, *f*, *g*, en *h*, vergrooting en uiteengaan van de zwersporen. Vergrooting 540 $\times$.

sporen zich gevormd hadden, barstte de wand van de blaas en kwamen de zwersporen dus vrij te liggen aan het einde van de korte buis. Het klompje zwersporen ging nu schommelende en rukkende bewegingen uitvoeren, waarbij de zwersporen zelf ook onderling van plaats veranderden door het uitvoeren van glijdende bewegingen langs elkander. Hierbij namen de zwersporen zeer sterk in volume toe. Kort na deze bewegingen gingen de groote niervormige, aan een kant afgeplatte zwersporen successievelijk met een ruk uit het gezichtsveld.

Het aantal zwersporen per sporangium was niet constant, gezien de wisselende grootte der sporangien. Wij zagen uit een klein sporangium 5 zwerm-

sporen ontstaan, uit een zeer groot 14, doch het is niet uitgesloten, dat er nog meer zwersporen uit een sporangium kunnen worden gevormd.

Groei op verschillende media. Deze nieuwe soort, welke wij in verband met het voorkomen van de kegelvormige, stompe uitsteeksels van den oögoniumwand *Pythium mamillatum* noemden, werd bij voorkeur gekweekt op haveremoutagar, waarop drie dagen na enting reeds een dun luchtmycelium te zien was, dat spoedig dichter werd. Na verloop van 5—7 dagen konden

reeds oösporen worden waargenomen en konden dan de bevruchtungsstadiën uitnemend worden bestudeerd. Hetzelfde kan worden gezegd van de cultures op maïsmeelagar, zure en alkalische haver-moutagar en aardappelagar.

Cultures op rijst gaven een uiterst compact, dicht luchtmycelium te zien, waarbij echter geen oösporen konden worden gevormd. Hetzelfde trad op bij cultures op peptonagar, Raulin-agar, apennoot, en alle onderzochte moutbodems, zooals moutagar, moutgelatine en moutsalep. Deze laatste cultures gaven veel luchtmycelium en weinig oösporen, terwijl de groei van de schimmel kleverig was.

Kersagar gaf een weinig compact luchtmycelium; pas na 10 dagen werden op dit medium oösporen gevonden.

Veel oösporen werden in korten tijd verkregen op lupinestengel, bietenstengel, wortel, mestagar en hooiagar. Bij de cultures op mestagar werd in het geheel geen luchtmycelium gevormd; op hooiagar slechts een spoor van luchtmycelium. Hooiagar was een zeer geschikt medium voor het bestudeeren van de bevruchtungsstadiën; door de lichte, heldere kleur van dezen voedingsbodem konden deze stadiën zonder moeite bij 1500 $\times$ vergrooting geteekend worden.

Plaats binnen het geslacht *Pythium*. Na de op de bladzijden 30 en 31 gegeven uiteenzetting over de indeeling van het geslacht *Pythium*, valt het niet moeilijk deze soort in te deelen bij het ondergeslacht *Sphaerosporangium*, en wel bij de soorten, welke geen doorgroeide sporangiën hebben, en welke voorzien zijn van gestekelde oögoniën en gladde oösporen.

Vergelijking met de overige *Pythium*-soorten met gestekelde oögoniën. Zooals reeds is opgemerkt, onderscheidt *Pythium mamillatum* zich van de reeds bekende *Pythiums* met gestekelde oögoniën (*P. megalacanthum*, *P. artotrogus*, *P. irregulare*), door het voorkomen van stompe stekels, welke vaak gebogen zijn. Een verder verschilpunt met *P. megalacanthum* is de geringere grootte der oögoniën, terwijl ook geen proliferatie der sporangiën aanwezig is. De talrijke verschillen met *P. artotrogus* blijken wel voldoende uit een vergelijking van bevruchting en conidiën- en zwermsporenvorming.

Het is goed hier nog even te wijzen op eenige *Pythiums* met

gestekelde oögoniën, waarvan nog slechts zeer weinig gegevens in de literatuur vermeld staan.

Drechsler (1923) beschrijft een op „water-melons” voorkomende gestekelde *Pythium*, welke daar o.a. bloeminfecties kan teweegbrengen. Deze soort vertoont veel overeenkomst met *P. artotrogus*, heeft echter 1—4 antheridiën, welke niet overeenkomen met die van *P. artotrogus*. Ook zijn de stekels beschreven als „narrowly conical radial processes”, zoodat hiermede genoeg verschillpunten met *P. mamillatum* aanwezig zijn.

Sawada en Chen (1926) hebben een nieuwe soort, *Pythium spinosum* beschreven, welke op *Antirrhinum majus* parasiteert. Naar den naam te oordeelen, zal deze soort tot de gestekelde vormen behooren. Zwermsporenvorming werd door hen niet waargenomen. Nadere gegevens ontbreken ons. Wij zijn van meening, dat deze soort niet identiek is met *P. mamillatum*.

Technische beschrijving van *Pythium mamillatum* n. sp.

Mycelium zonder tusschenschotten, 4—9,3 μ breed, meest 5,3—6,7 μ , gemiddeld 5,9 μ .

Oögoniën bolvormig, voorzien van stompe, vaak gebogen, stekels. Antheridium knotsvormig, aanwezig aan een zijtak van de oögoniumhyphe. Bevruchte oögoniën met stekels 20,3—29,3 μ in diameter, meest 22—27 μ , gemiddeld 24,5 μ ; zonder stekels 13,3—19,3 μ , meest 15,3—18 μ , gemiddeld 16,4 μ . Stekels 2,7—6,0 μ lang, meest 4,0—6,0 μ , gemiddeld 4,4 μ . Oöspore in rijpen toestand het oögonium opvullend, voorzien van een wand, welke varieert van 0,8—1,6 μ dikte, meest tusschen 1—1,33 μ .

Zwermsporangiën bolvormig, 14,3—20,7 μ in diameter, gemiddeld 16,3 μ . Zwermsporenvorming door kieming van het sporangium en vorming van een blaasje, waarin 5—14 zwermsporen worden gevormd. Zwermsporen niervormig, aan een zijde afgeplat.

Geïsoleerd uit bieten, welke wortelbrand hadden. Tot het veroorzaken hiervan is de schimmel in staat.

Technical description of *Pythium* *mamillatum* n. sp.

Mycelium unseptate, $4-9,3\mu$ in diameter, mostly $5,3-6,7\mu$, average $5,9\mu$.

Oogonia globose, with obtuse, often curved protuberances. Antheridium clavate, arising from the oogonial hypha. After fertilization oogonia with protuberances $20,3-29,3\mu$ in diameter, mostly $22-27\mu$, average $24,5\mu$; without protuberances $13-19,3\mu$ in diameter, mostly $15,3-18\mu$, average $16,4\mu$. Length of protuberances $2,7-6,0\mu$, mostly $4,0-6,0\mu$, average $4,4\mu$. Oospore completely filling oogonium, when ripe; oogoniumwall $0,8-1,6\mu$ in diameter, mostly $1-1,33\mu$.

Swarmsporangia globose, $14,3-20,7\mu$ in diameter, average $16,3\mu$, 5—14 swarmspores produced in a bladder at the mouth of the sporangium. Swarmspores kidney-shaped, flattened at one side.

Parasitic on beet-seedlings, producing damping-off.

PHYTOPHTHORA de Bary

Over de begrenzing van de geslachten *Phytophthora* en *Pythium*, benevens de zwermsporenvorming bij *Phytophthora*, zie de inleiding, welke de bespreking der *Pythium*-soorten voorafgaat.

Rosenbaum (1917) heeft getracht de *Phytophthora*-soorten te classificeeren naar de grootten van de fructificatieorganen. Doch zijn indeeling in een *Cactorum*-groep (waarin de antheridiën zijdelings aan het oogonium zijn vastgehecht, dus paragyn zijn), een *Phaseoli*-groep (waarin de antheridiën aan de basis van het oogonium om de oogoniumhyphe bevestigd zijn, dus amphigyn zijn), en een *Faberi*-groep (waarin antheridiën niet bekend zijn), bleek ondoelmatig te zijn, aangezien er *Phytophthora*'s zijn, welke naast paragyne antheridiën ook amphigyne antheridiën hebben, o.a. *Phytophthora cactorum*.

Leonian (1925) heeft daarom getracht het probleem der indeeling van het geslacht *Phytophthora* op te lossen langs physiologischen weg, doch ook hieraan zijn vele bezwaren verbonden.

Phytophthora cactorum (Leb. en Cohn) Schröt.

Uit Godetia's, welke toegestuurd waren uit Nijmegen en welke een voet- en stengelrot vertoonden, isoleerden wij zoowel in 1927 als in 1928 een Phycomyceet, welke wij als *Phytophthora cactorum* (Leb. en Cohn) Schröt. determineerden. Dezelfde soort werd eveneens verkregen uit zieke Esscholtzia's, welke in 1927 uit Groningen naar het laboratorium waren gezonden.

De diagnose van *Phytophthora cactorum*, welke in Saccardo (1888) vermeld staat, is thans niet meer als volledig te beschouwen en niet voldoende om deze soort te herkennen. Talrijke onderzoekers hebben in lateren tijd het geslacht *Phytophthora* bestudeerd en in dit geslacht vele bijzonderheden gevonden. Wij denken in de eerste plaats aan de onderzoekingen van Pethybridge (1913) over de antheridiën van *Phytophthora*'s, die van Rosenbaum (1917) en Leonian (1925) over de indeeling van dit geslacht, en die van Rosenbaum (1915), Rose (1924) en Rose en Lindgren (1925) meer in het bijzonder over *Phytophthora cactorum*.

Een bepaalde diagnose van *Phytophthora cactorum* zal hieronder niet gegeven worden, doch wel zullen alle kenmerken opgegeven worden, welke de aandacht trokken.

Het mycelium is ongesepeteerd, onregelmatig vertakt en voorzien van talrijke knopvormige uitgroeiingen. Het protoplasma is korrelig en bevat talrijke oliedruppels.

Ovale conidiën waren steeds te vinden op haverhoutagarcultures; zij waren steeds voorzien van een apicale uitstekende papil. Zwermsporenvorming kon duidelijk waargenomen worden met de methode van Petri. Vastgesteld werd, dat bij de zwermsporenvorming de papil opzwelt, barst, en dat de reeds gedifferentieerde zwermsporen successievelijk door de aldus ontstane kleine opening ontsnappen. In overeenstemming met Rosenbaum (1915) werd een enkelen keer zwermsporenvorming geconstateerd, zooals bij *Pythium*-soorten voorkomt, nl. vorming van een buis en een blaasje. Ook werd het door alle onderzoekers vastgestelde feit geconstateerd, dat eenige zwermsporen in het sporangium achterblijven en niet door de opening zich naar buiten begeven.

De antheridiën waren in den regel paragyn, een enkelen keer

werd een amphigyn antheridium gevonden, wat klopt met de waarnemingen van Lafferty en Pethybridge (1922). Oögoniën waren gladwandig; de oösporen hadden een bruinen wand.

Uit deze gegevens blijkt, dat deze soort thuishoort in de *Cactorum*-groep van Rosenbaum. Het voorkomen van uitstekende papillen en de afwezigheid van chlamydosporen in deze groep komt voor bij *Ph. fagi* en *Ph. cactorum*, zoodat tusschen deze twee soorten moest worden gekozen.

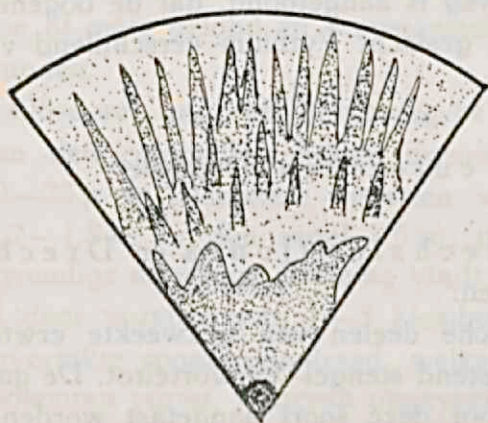


Fig. 4. Schets van het stervormig sectoriaal gerangschikte luchtmycelium van *Phytophthora cactorum* (Leb. & Cohn) Schröt. in een culture op kersagar. Natuurlijke grootte.

Een vergelijking tusschen deze schimmels had tot resultaat, dat zij verschillen in groei op verschillende media, b.v. kersagar. *Ph. fagi* vormt hierop een gelijkmatig wollig luchtmycelium, terwijl *Ph. cactorum* een zeer vlakken groei vertoont met stervormig sectoriaal gerangschikt luchtmycelium, waarvan bijgaand schetsje (fig. 4) een denkbeeld geeft.

De uit Godetia's verkregen stam stemde geheel en al overeen met een in het Centraal Bureau aanwezige

cultuur van *Phytophthora cactorum*, welke eenige jaren geleden door mej. Birnie uit een verrotte, op den grond liggende hazelnoot is geïsoleerd. Mej. Birnie heeft volgens de biometrische methode dezen vorm vergeleken met de in de collectie van het Centraal Bureau aanwezige stammen van *Phytophthora cactorum*, welke door Peters en Rose waren ingestuurd, en op grond van de afmetingen van al deze vormen heeft zij de uit hazelnooten geïsoleerde schimmel bij *Phytophthora cactorum* ondergebracht. De resultaten van dit onderzoek zijn evenwel niet gepubliceerd.

De op Esscholtzia's voorkomende stam van *Phytophthora cactorum* stemde met dien van Godetia's overeen, alleen waren de

sectoren luchtmycelium iets smaller dan bij den uit *Godetia*'s ge-
haalden stam.

APHANOMYCES de Bary

Het geslacht *Aphanomyces* behoort tot de Saprolegniaceae; sommige soorten doen uiterlijk echter veel aan *Pythium* denken. De zoösporen worden evenwel nooit in een blaas gevormd, terwijl de dimorphie der zwersporen nooit bij *Pythium* voorkomt, wel vaak bij andere Saprolegniaceae. In het algemeen kan nog gezegd worden, dat langs cytologischen weg is aangetoond, dat de oögenese bij Saprolegniaceae en bij het geslacht *Pythium* verschillend verloopt.

Aphanomyces euteiches Drechsler

Deze soort wordt door Drechsler (Jones en Drechsler, 1925) als volgt beschreven:

„Parasitair op ondergrondse deelen van gekweekte erwten; veroorzaakt aldaar een verwoestend stengel- en wortelrot. De gastheer kan op alle leeftijden door deze soort aangetast worden.

Hyphen hyalien, zich vertakkende op afstanden van 20—150 μ onder bijna rechte hoeken, 4—10 μ in diameter, niet plotseling veranderende van breedte; voorkomende binnen de schorscellen van den gastheer.

De sporangïën ontstaan in cultuur door verandering van omvangrijke gedeelten van het mycelium, welke door een of meer dwarswanden worden begrensd en vaak vertakt zijn. Lediging vindt plaats door een of meer (tot 4) dun uitlopende takken, waarvan de distale gedeelten ongeveer 4 μ in doorsnede groot zijn.

Zoösporen cilindervormig; wanneer ze uit de nauwer wordende takken ontsnappen, worden zij tot wormvormige lichamen verdund (3,5 μ in diameter, 30—50 μ lang). Aan de opening van het sporangium vormen zij bolvormige cysten, welke 8—11 μ , zelden tot 16 μ in diameter groot zijn. De zoösporen, welke uit de cysten ontstaan, hebben twee trilharen; de ledige cystenwand is voorzien van een korte kiembuis (1 μ lang, 2,5—3 μ in diameter).

Oögoniën in den regel eidelings op een korten, lateralen my-

celiumtak, van welke het gescheiden kan zijn door een tusschen-schot of door een columella-achtig lichaam, hetwelk in de holte van het oögonium naar binnen steekt. Oögoniën bolvormig, 25—35 μ in diameter, in rijpen toestand voorzien van een dikken periferen wand met gladden buitenkant en bochtigen binnenkant, zoodat de dikte wisselend is en wel tusschen 1—5 μ , in den regel tusschen 1—2,5 μ .

Antheridiën typisch tweehuizig, aanwezig aan een myceliumtak, welke den oögoniumtak insluit, en welke zich vaak een of meer malen vertakt; antheridiën 8—10 μ in diameter, 15—18 μ lang. Wanneer zij aanmerkelijk langer zijn, zijn ze vaak meer gebogen, min of meer gelobd en samengesteld door de vorming van dwarswanden.

Oösporen ongeveer bolvormig of zelden ellipsvormig ten gevolge van den columella-achtigen dwarswand; 18—25 μ , in den regel 20—23 μ in diameter; voorzien van een wand van gelijke dikte (1,2—1,8 μ , in den regel 1,5 μ); in geringe mate excentrisch van inwendige structuur. Kieming vindt plaats zonder lange rustperiode of door vorming van 1—3 kiembuizen of door vorming van één onvertakte sporangiumdraad, welke 200—350 μ lang is en 13—18 zoösporen vormt, waarvan ongeveer de helft binnen den oösporenwand wordt gevormd.

Herhaaldelijk in zieke erwten gevonden in verschillende staten der U. S. A."

B u i s m a n (1927) isoleerde uit zieke violenwortels een *Aphanomyces*-soort, welke zij morphologisch niet van *Aphanomyces euteiches* kon onderscheiden. Evenmin konden door ons morphologische verschilpunten tusschen deze twee schimmels worden vastgesteld. In de cultuur waren echter wel eenige verschillen op te merken.

Aphanomyces euteiches groeit niet op kersagar, terwijl de Hollandsche vorm wel op dezen bodem bleek te groeien. Eerstgenoemde schimmel kon echter wel op kersagar groeien, wanneer een gering percentage amyllum solubile (0,1%) aan dezen bodem werd toegevoegd. Blijkbaar is dus voor den groei van den Amerikaanschen stam een kleine hoeveelheid zetmeel onontbeerlijk.

Een tweede verschilpunt was het uiterlijk der cultures. Na passende zuivering van bacteriën bleek *Aphanomyces euteiches* (stam Drechsler) op zure havermoutagar luchtmycelium te vormen,

terwijl onder gelijke omstandigheden bij de uit violen geïsoleerde schimmel ondanks herhaalde pogingen nooit luchtmycelium kon worden waargenomen; deze schimmel vertoonde een zeer vlakken groei.

Op rijst vormde geen van beide schimmels luchtmycelium.

Wegens gebrek aan morphologische verschillen met *Aphanomyces euteiches* meenen wij de door B u i s m a n geïsoleerde *Aphanomyces* uit violen als een physiologisch of biologisch ras van *Aphanomyces euteiches* te moeten beschouwen. Wij stellen voor, den door D r e c h s l e r uit erwten geïsoleerden vorm te betitelen als *Aphanomyces euteiches Drechsler P.F. 1* (volgens de door het „Joint Committee on Nomenclature“ der „American Phytopathological Society“ voorgestelde nomenclatuurregels; zie hiervoor Report of the Sixteenth Annual Meeting of the American Phytopathological Society) en den Hollandschen vorm uit violen als *Aphanomyces euteiches Drechsler P.F. 2* (P.F. = physiological form).

De verschillen tusschen deze twee vormen wat betreft aantastingsvermogen van erwten en violen zullen in de hoofdstukken over wortelrot van erwten resp. violen worden uiteengezet.

HOOFDSTUK II

WORTELROT VAN ERWTEN (*Pisum sativum* L.)

§ 1. LITERATUUROVERZICHT

De literatuur over dit wortelrot wordt in het proefschrift van Buisman (1927) uitvoerig besproken. Van de aldaar vermelde feiten zal hier slechts een kort résumé gegeven worden, terwijl de later verschenen publicaties over dit onderwerp iets uitgebreider zullen worden weergegeven.

Jones (1924) vond in de schors van leguminosen vaak een Phycomyceet, welke hij als een soort mycorrhiza beschouwde. Onder normale omstandigheden richtte deze schimmel, welke hij niet uit de weefsels kon isoleeren, niet veel schade aan.

Drechsler (1925) bestudeerde in 1924 de verschillende Phycomyceten, welke hij uit erwtenwortels kon isoleeren. Het waren 6—8 soorten *Pythium* (waaronder *Pythium de Baryanum*), 2—3 soorten *Artotrogus* en *Aphanomyces euteiches*.

Deze laatste soort is uitvoerig beschreven door Jones en Drechsler (1925) en zij bleek de belangrijkste parasiet te zijn van alle uit erwtenwortels geïsoleerde schimmels, terwijl de verschillende *Pythium*-soorten als secundair in de wortels aanwezig moesten worden beschouwd. Indien *Aphanomyces euteiches* de erwt in zeer jongen toestand aantast, verwelkt en sterft de plant spoedig. In een wat ouder stadium aangetast, blijft de erwt klein en verdrogen de bladeren van den grond af naar boven, terwijl er geen vruchten worden gezet. Het wortelstelsel van dergelijke planten is vrijwel geheel verrot; bij het uittrekken der planten komen slechts

de vaatbundels mee naar boven, terwijl de vergane schors en opperhuid in den grond achterblijven.

Bij de door Jones en Drechsler genomen infectieproeven kon tusschen 10 en 30° C. infectie waargenomen worden, en bleek het optimum tusschen 15 en 30° C. te liggen. Verschillen in vochtigheid van den grond gaven in deze infectieproeven weinig uiteenlopende resultaten, terwijl op het veld daarentegen kon worden geconstateerd, dat de ziekte het sterkst optreedt op gronden, welke het water sterk vasthouden of welke slecht gedraineerd zijn. Als bestrijdingsmiddel gaven Jones en Drechsler vruchtwisseling aan.

Linford en Vaughan (1925) raden ter bestrijding van dit wortelrot aan het vroeg planten der erwten, zoodat de planten een zekere grootte hebben, wanneer de bodem warm genoeg is om de schimmel gelegenheid te geven zich te ontwikkelen. Met deze voorzorgsmaatregel werd minder wortelrot waargenomen dan wanneer deze niet toegepast was. Verder gaven zij aan, dat een 3 jaren durende vruchtwisseling nog niet afdoende is ter bestrijding van de ziekte, zoodat het uitroeien van de schimmel in den grond langs dezen weg niet vlot verloopt.

Jones en Linford (1925) bevelen in hun overzicht van de erwtenziekten van Wisconsin gedurende 1924 als bestrijdingsmiddel aan tegen het door *Aphanomyces euteiches* veroorzaakte wortelrot een 5—6 jaar durende vruchtwisseling, benevens het vermijden van slecht gedraineerde gronden voor erwtencultuur. Ook wijden deze onderzoekers o.a. beschouwingen aan het voorkomen van *Pythium*-soorten in de wortels van erwten. Zoowel uit zieke als gezonde gedeelten van erwtenwortels konden zij verschillende *Pythium*-soorten isoleeren, o.a. waarschijnlijk *P. de Baryanum*. Als resultaat van genomen infectieproeven geven zij op, dat onder de condities te velde de *Pythium*-soorten een zeer gering vermogen hebben om stengel- of wortelrot teweeg te brengen.

Ook in New-Jersey werd *Aphanomyces euteiches* als sterkste parasiet onder de erwten aangetroffen (Haenseler, 1925). Echter vond Haenseler, dat een drietal stammen van *Pythium* (welke vermoedelijk identiek waren) bij infectieproeven op erwten positief resultaat gaven. Bij 60—80% vochtigheid van den bodem leverde de enting van deze *Pythiums* 100% rotting van de zaden op.

Jones (1926) vergeleek drie vatbare en drie betrekkelijk resistente rassen van de erwt met elkaar en kwam tot de conclusie, dat de meer resistente rassen betrekkelijk vrij bleven van het indringen van *Aphanomyces euteiches* in den centralen cylinder van wortel en epicotyl, nadat de schors door genoemde soort was vernield, de meer vatbare rassen daarentegen niet. Resistentie tegen wortelrot in den algemeenen zin des woords bleek de som van een reeks verschillende factoren te zijn.

In een tweede stuk van Haenseler (1926) wordt vastgesteld, dat de erwten van de kieming af tot het volwassen stadium vatbaar zijn voor infectie, hoewel het verloop der ziekte bij oudere planten langzamer plaats grijpt. Haenseler vond tevens, dat de zoösporen van *Aphanomyces euteiches* zich zelfs geen halven inch in den grond kunnen verplaatsen, zoodat er geen of weinig verspreiding van de schimmel gedurende den groeitijd van de erwten zal plaats vinden. Evenals in vroegere proeven trad het wortelrot het sterkst op bij hooge vochtigheid van den bodem, tot verzadiging toe; evenwel vond geen infectie plaats op gronden, welke 40—20% van hun watercapaciteit bevatten. De sterkste verliezen werden geleden, wanneer de grond warm en vochtig was gedurende de periode van infectie, en later, juist voor de rijpheid van het gewas, buitengewone droogte heerschte.

Vermelding verdient nog, dat Clinton (1920) in 1919 een wortelrot van erwten waarnam, waarvan hij den veroorzaker niet uit de wortels kon isoleeren, doch op grond van metingen der in de wortels gevonden fructificaties, als oorzaak *Phytophthora cactorum* opgaf. Jones en Drechsler (1925) vermoeden, dat van deze ziekte echter *Aphanomyces euteiches* de oorzaak is. Inderdaad vertoonen Clintons teekeningen overeenkomst met de oösporen van *Aphanomyces euteiches*.

Al deze publicaties hebben betrekking op in Amerika geconstateerde gevallen van wortelrot van erwten. In Europa zijn ziekten van dien aard veel minder in de literatuur beschreven. Zoo heeft Wittmack in 1891 (geciteerd naar Butler) *Pythium Sadebeckianum* Wittmack als parasiet op erwten waargenomen. Butler (1907) heeft deze soort niet in zijn monographie opgenomen, daar Wittmack de schimmel uiterst onvolledig heeft beschreven. Of deze soort identiek is met *Pythium de Baryanum*, welke in En-

geland en de Vereenigde Staten erwten aantast, is niet bekend. In 1925 trof Solberg (1925, 1926 a) in Noorwegen een ziekte der erwten aan, welke zij in die jaren aan *Aphanomyces euteiches* toeschreef.

Pethybridge (1926) maakte melding van twee gevallen in Engeland van wortelrot van erwten, hetwelk door *Aphanomyces euteiches* wordt veroorzaakt.

Buisman (1927) kon deze erwtenparasiet in door haar onderzochte zieke erwten nooit vinden. Wel toonde zij aan, dat in Nederland een erwtenziekte wordt veroorzaakt door *Pythium irregulare*. Op het veld kon worden waargenomen, dat de planten geel of gevlekt werden en vervolgens uitdroogden. Bij het uittrekken uit den grond bleken de wortels teekenen van rotting te vertoonen. Door uitleggen van zieke wortelgedeelten op haverhoutagar werden vele Phycomyceten geïsoleerd. Infectieproeven leerden, dat van deze soorten *Pythium irregulare* de sterkste erwtenparasiet was. Hiertoe werden jonge erwtenplanten geplaatst op watercultures en werd geënt met stukjes agar met mycelium.

Bij het bespreken van de resultaten van deze infectieproeven worden de uiterlijke kenmerken der wortelstelsels, welke met *Pythium irregulare* waren geënt, slechts beknopt besproken, terwijl slechts enkele regels gewijd zijn aan de wortelstelsels van planten, welke met *Pythium de Baryanum* en *Pythium de Baryanum* var. *pelargonii* waren geïnfecteerd.

§ 2. EIGEN ONDERZOEKINGEN

Aangezien Buisman (1927) in de door haar genomen infectieproeven betrekkelijk weinig vermeldt omtrent het verloop van de aantasting door de schimmels, welke wortelrot van erwten kunnen veroorzaken, en de langs dezen weg verkregen ziektebeelden der wortels evenmin zeer uitvoerig worden behandeld, zijn de door haar genomen proeven herhaald en uitgebreid, ten einde omtrent de verschillende aantastingen meer gedetailleerde gegevens te verkrijgen.

A. Methode

De gebezigde methode sluit zich vrijwel geheel aan bij die, welke door Buisman (1927) en s' Jacob (1927) zijn toegepast. Evenals door Buisman werd voor de hieronder volgende infectieproeven gebruik gemaakt van de doperwt-variëteit „Wonder van Amerika”, welke variëteit resistenter tegen ziekten is dan andere variëteiten van doperwten. De erwten werden in scherp zand te kiemen gelegd na gedurende 10 à 15 minuten gedesinfecteerd te zijn geworden met een 0,25% oplossing van Uspulun. Wanneer de zaden gekiemd waren en de plantjes een hoofdwortel van ± 5 c.M. lengte hadden, werden deze gebruikt voor infectieproeven op watercultures.

Deze watercultures bestonden uit jampotten van ± 350 c.M.³ inhoud, welke eerst van buiten zwart geverfd waren om den groei der wortels in het donker mogelijk te maken en den groei van wieren te voorkomen, en vervolgens met een laag witte verf waren overtrokken, teneinde te sterke verwarming van de voedingsoplossing door de zonnestralen te voorkomen. De metalen deksels van de jampotten waren doorboord; in de aldus ontstane opening werd een doorboorde kurk gebracht, waarbinnen het plantje met behulp van watten losjes werd bevestigd en wel zoodanig, dat de cotylen steeds boven de kurk uitstaken of tegen den binnenkant van de kurk rustten. Steeds werden voor het gebruik der jampotten deksel en kurken geparaffineerd, teneinde het roesten van de deksels en eventuele infectie der wortels van de kurk uit te verhinderen.

Voor voedingsoplossing werd v. d. Crone's oplossing gebruikt, welke steeds kort voor het begin der proefnemingen bereid was. De samenstelling van deze oplossing is als volgt:

1 L. water, 1 gr. KNO_3 , 0,5 gr. CaSO_4 , 0,5 gr. MgSO_4 , 0,25 gr. $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$, 0,25 gr. $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

De erwtenworteltjes werden met de op parasitisme te onderzoeken schimmel in aanraking gebracht door dunne stukjes van een jonge cultuur op havermoutagar met behulp van een dun raffiabandje tegen de wortels te bevestigen. Het wortelstelsel werd hierdoor niet beschadigd. Deze methode bleek gunstiger resultaten op te leveren dan het los aanbrengen van stukjes agar met mycelium tusschen de worteltjes.

Het door de planten verbruikte water werd 2 of 3 keer per week aangevuld.

Zooals door Buisman (1927) reeds is opgemerkt, kan tegen deze methode het bezwaar gemaakt worden, dat de omstandigheden, waarin erwt en schimmel verkeerden, niet overeenkomen met de condities te velde. De schimmel verkeert nl. in een zeer gunstig milieu, daar de aanwezigheid van zouten en veel water bevorderlijk is voor zwerm-sporenvorming, terwijl de erwt bezwaarlijk als een waterplant kan worden beschouwd. Toch blijken de wortelstelsels van erwten (eveneens van boonen) zeer goed in deze oplossing te groeien, zoodat dit bezwaar in werkelijkheid zeer gering is. Door de groote hoeveelheid water, waarover de planten onder deze omstandigheden beschikken, zijn de verwelkingsverschijnselen echter minder gemakkelijk te voorschijn te roepen dan onder natuurlijke voorwaarden.

Een wezenlijk voordeel van deze werkwijze is, dat men alle andere in den grond levende schimmels kan buitensluiten en zoodoende steeds de vraag kan beantwoorden of een bepaalde schimmel al of niet parasitair optreedt. Met proeven in potten zijn, zooals in het hoofdstuk over den bietenwortelbrand zal worden uiteengezet, hieraan groote moeilijkheden verbonden.

Bij de proefnemingen, welke bij een constanten zuurgraad moesten verlopen, werden de volgende voorbereidingen en maatregelen getroffen:

De in den handel verkrijgbare tabletten van buffermengsels, welke door Kolthoff zijn samengesteld, werden in 20 c.M.³ gedestilleerd water opgelost en hierbij werd de passende hoeveelheid druppels indicatoren gevoegd (zie hierover Kolthoff, 1923). Aldus werden standaardoplossingen van verschillende zuurgraden verkregen. Ten einde een voedingsoplossing van een bepaalden zuurgraad te verkrijgen, werd eerst de pH van v. d. Crone's oplossing nagegaan door aan 20 c.M.³ hiervan de benodigde hoeveelheid indicator te voegen en de aldus verkregen kleur te vergelijken (eventueel met behulp van een comparator van Walpole) met de standaardoplossingen. Met 0,1 N. HCl of 0,1 N. KOH werd nagegaan, hoeveel druppels aan de 20 c.M.³ v. d. Crone's oplossing toegevoegd moest worden om de gewenschte pH te verkrijgen. Deze hoeveelheid werd omgerekend op de in een

jampot aanwezige hoeveelheid v. d. Crone's oplossing, zoodat langs dezen weg iedere verlangde zuurgraad kon worden verkregen.

Aangezien waargenomen werd, dat de groeiende planten de oplossingen steeds naar den neutralen kant veranderen, moest de pH van de oplossing geregeld worden bijgehouden, ten einde de groei der planten en de infecties zooveel mogelijk bij eenzelfde pH te doen plaats vinden. In den regel werd 3 keer per week de pH van de voedingsoplossing gecontroleerd en op de juiste hoogte teruggebracht.

De proefnemingen duurden gemiddeld een maand en werden gedurende 1927 genomen in een tegen regen en wind beschutte werkgelegenheid van Cantonspark, terwijl zij gedurende 1928 plaats vonden in de experimenteerkas van Cantonspark, welke een gemiddelde temperatuur van 20° C. heeft.

B. Resultaten der proefnemingen

Allereerst werden in den zomer van 1927 reeksen infectieproeven genomen met eenige schimmels, welke door B u i s m a n uit zieke erwtenwortels waren geïsoleerd, te weten met *Pythium irregulare*, *P. de Baryanum* var. *pelargonii* en *P. intermedium*. Eveneens werden de Amerikaansche en Hollandsche stammen van *Aphanomyces euteiches* voor dit doel gebruikt. Bij al deze oriënteerende proeven werd v. d. Crone's voedingsoplossing gebruikt, waarbij de zuurgraad niet geregeld op eenzelfde hoogte werd gehouden.

De resultaten van deze proeven wezen op een sterk uiteenlopend vermogen van infectie van de verschillende schimmels. Zoo kon reeds spoedig vastgesteld worden, dat *Aphanomyces euteiches* P. F. 1. (zie voor deze nomenclatuur blz. 50 van dit geschrift), dus de in Amerika geïsoleerde stam uit erwten, verreweg de sterkste parasiet van de gebruikte soorten was. Ook *Pythium irregulare* tastte de wortels hevig aan, *P. de Baryanum* eveneens, in mindere mate *P. de Baryanum* var. *pelargonii*, terwijl *Aphanomyces euteiches* P. F. 2 (de in Holland uit violen gekweekte stam) en *P. intermedium* geen infectie teweeg brachten.

Vervolgens werd in 1928 de invloed nagegaan van den zuurgraad der voedingsoplossing op het verloop van de infectie. Het

zou b.v. zeer goed mogelijk kunnen zijn, dat een bij $\text{pH} = 7,0$ verlopende infectie sterker of wel minder hevig zou plaats grijpen in een zuurder of alkalischer milieu.

Als oplossing voor deze proeven werd genomen v. d. Crone's oplossing, welke met 0,1 N. HCl was aangezuurd tot $\text{pH} = 5,4$, of wel met 0,1 N. KOH alkalisch was gemaakt tot $\text{pH} = 8,0$. Deze cijfers werden gekozen in verband met het feit, dat volgens s' Jacob (1927) bij een pH van 5,0 tot 6,0 in watercultures de krachtigste planten worden gevormd, terwijl bij $\text{pH} = 8,0$ de planten nog zonder afwijkingen zijn, doch niet meer onder optimale condities verkeerden.

Ten slotte werd *Pythium de Baryanum* ook in dit onderzoek opgenomen, daar ook deze soort in de literatuur meermalen als in de wortels van erwten voorkomende is gevonden.

Bij het bestudeeren van de getallen der geïnfecteerde planten en der controleplanten valt het op, dat deze niet steeds gelijkmatig zijn. In 1927 werden nl. steeds kleine series (hoogstens 5 exemplaren) aangezet; in 1928 meestal series van 10 exemplaren. Er moet verder rekening worden gehouden met het feit, dat vaak een of meer exemplaren niet goed aansloegen en dus voor vergelijking met normaal uitgegroeide planten onbruikbaar waren.

De verschillende reeksen van infectieproeven volgen hieronder en zijn gerangschikt naar de schimmels, welke voor deze proeven zijn gebruikt.

Aphanomyces euteiches Drechsler

De met *Aphanomyces euteiches* P. F. 1 ingestelde infectieproeven zijn in tabel II weergegeven.

In de in 1927 genomen oriënteerende proeven konden de waarnemingen van Buisman (1927) volkomen bevestigd worden. De wortels worden bij aantasting door deze Amerikaansche erwten-schimmel niet glazig en doorschijnend, zooals bij aantastingen door *Pythium*-soorten het geval is, doch blijven wit, of worden hoogstens geelachtig. Gekleurde vlekken, zooals bij infecties met *P. irregulare* optreden, werden nooit waargenomen. Wel was het gehele wortelstelsel na korten tijd slap en kleefden alle wortels aan elkaar, wanneer de planten uit de oplossingen werden gehaald.

TABEL II

Overzicht der met *Aphanomyces euteiches* P. F. 1. genomen infectieproeven op doperwten (var. Wonder van Amerika)

Datum van infectie	pH	Geïnfecteerde planten			Controleplanten		
		Aantal	Ziek	Gezond	Aantal	Ziek	Gezond
29-3-'27	var.	3	3	0	3	0	3
14-4-'27	var.	2	2	0	2	0	2
15-9-'27	var.	2	2	0	2	0	2
2-3-'28	8,0	10	10	0	5	0	5
2-3-'28	5,4	10	10	0	5	0	5

N.B. var. = zuurgraad, welke niet constant werd gehouden, welke dus variabel was.

De serie van 15 September bestond uit peulen, var. De Grace.

Eveneens kon worden vastgesteld, dat de erwten op de watercultures verwelkten en spoedig afstierven.

In het geheele wortelstelsel bleken bij microscopisch onderzoek het mycelium en de oösporen van de schimmel in groote hoeveelheden aanwezig te zijn.

De zuurgraad van het milieu bleek geen invloed te hebben op de infectie der planten. Zoowel bij pH = 8,0 als pH = 5,4 traden in alle gevallen de bovenbeschreven karakteristieke verschijnselen op. Weinige dagen na het enten van de schimmel tegen de wortels kon geconstateerd worden, dat de onderste bladen van de planten verdroogden. Achtereenvolgens verdroogden hierna alle overige bladeren, en wel de bovenste bladeren het laatst. Na het verdrogen van de bladeren trad pas verkleuring op. Bij pH = 8,0 waren de wortels geelachtig, in de nabijheid van den stengel eenigszins egaal roodbruin van tint, terwijl bij pH = 5,4 de kleur eveneens geelachtig was, doch in de nabijheid van den stengel meer bruin.

Geheel anders dan *Aphanomyces euteiches* P. F. 1. gedroeg zich *Aphanomyces euteiches* P. F. 2, de uit violen geïsoleerde stam. Wat Buisman (1927) reeds had gevonden, nl. dat deze voor erwten geen parasiet is, kon in alle opzichten bevestigd worden, zooals blijkt uit onderstaande tabel:

TABEL III

Overzicht der met *Aphanomyces euteiches* P. F. 2. genomen infectieproeven op doperwten (var. Wonder van Amerika)

Datum van infectie	pH	Geïnfecteerde planten			Controleplanten		
		Aantal	Ziek	Gezond	Aantal	Ziek	Gezond
29-3-'27	var.	3	1	2	3	0	3
14-4-'27	var.	2	0	2	2	0	2
5-4-'28	8,0	9	0	9	9	0	9
5-4-'28	5,4	9	1	8	9	1	8

De eerste serie geeft weliswaar geen absoluut overtuigend bewijs van het niet parasitaire gedrag van deze schimmel, doch uit de overige series kan deze conclusie ongetwijfeld worden getrokken. Het ziek worden van de twee planten uit de laatste serie bleek echter niet aan *Aphanomyces* te wijten te zijn, daar terugisolaties uit de zieke worteltjes deze soort niet opleverden. Waarschijnlijk is deze infectie ontstaan door het instuiven van een schimmel tijdens het bijhouden van de pH.

De planten, welke met *Aphanomyces euteiches* P. F. 2 waren geënt, vormden een wortelstelsel, dat even rijk vertakt was en er even gezond, gaaf, en blank uitzag als de exemplaren uit de controleseries. Ook de spruiten vertoonden evenmin eenige afwijking met die der controleplanten. Beide waren in het bezit van forse stengels met groote, gezonde, groene bladeren.

Microscopisch was in het geheele wortelstelsel niet het geringste spoor te vinden van mycelium of oösporen van de bewuste schimmel.

Ook hier bracht de cultuur van de erwten op verschillende oplossingen geen uiteenlopend gedrag van de schimmel. Evenals in de series met variabele pH waren alle wortelstelsels, welke met *Aphanomyces euteiches* P. F. 2 waren besmet, volkomen gezond en leidde het algeheele uiterlijk der planten, zoowel als het micro-

TABEL IV

Overzicht der met *Pythium irregulare* genomen infectieproeven op doperwten (Wonder van Amerika)

Datum van infectie	pH	Geïnfecteerde planten			Controleplanten		
		Aantal	Ziek	Gezond	Aantal	Ziek	Gezond
25-8-'27	var.	4	4	0	4	0	4
25-8-'27	var.	4	4	0	4	0	4
1-9-'27	var.	3	3	0	3	0	3
1-9-'27	var.	3	3	0	3	0	3
6-9-'27	var.	3	3	0	2	0	2
1-12-'27	8,0	5	2	3	3	0	3
1-12-'27	5,4	5	5	0	3	0	3
10-12-'27	8,0	5	2	3	3	0	3
10-12-'27	5,4	5	5	0	3	0	3
13-1-'28	8,0	3	1	2	3	0	3
13-1-'28	5,4	5	5	0	3	0	3
20-1-'28	8,0	3	1	2	3	0	3
20-1-'28	5,4	3	3	0	3	0	3

N.B. De serie van 6 September 1927 is genomen met doperwten var. Dwerg van Vilmorin.

TABEL V

Overzicht der met *Pythium irregulare* genomen infectieproeven op peulen, var. De Grace

Datum van infectie	pH	Geïnfecteerde planten			Controleplanten		
		Aantal	Ziek	Gezond	Aantal	Ziek	Gezond
24-8-'27	var.	3	3	0	3	0	3
30-8-'27	var.	3	3	0	2	0	2
1-9-'27	var.	4	4	0	3	0	3

scopisch onderzoek, met zekerheid tot de conclusie, dat hier niet van een wortelparasiet sprake kan zijn.

Pythium irregulare Buisman

Met *Pythium irregulare* werden geïnfecteerd zoowel doperwten, var. Wonder van Amerika, als doperwten, var. Dwerg van Vilmorin, en peulen, var. De Grace.

Een overzicht over deze proefnemingen geven bovenstaande tabellen IV en V.

Na *Aphanomyces euteiches* P. F. 1 is *Pythium irregulare* als sterkste wortelparasiet van de erwten te beschouwen. Bij alle voorproeven bleek het parasitaire karakter op ondubbelzinnige wijze. De hoofdzaken van het door *P. irregulare* veroorzaakte ziektebeeld komen op het volgende neer:

Het geheele wortelstelsel is in alle gevallen sterk verkleurd en vertoont roodbruine, donkerbruine, of bruinzwarte gedeelten over kleine en groote afstanden. Opvallend zijn verder de lange, slappe, afhangende gedeelten der zijwortels, welke zich onder genoemde donker gekleurde plekken bevinden en welke hoofdzakelijk bestaan uit opperhuid, benevens eenige resten van vaatbundels. Het geheele schorsweefsel is verdwenen en is door de schimmel verbruikt. Vaak is het geheele wortelstelsel tot den stengel toe doorgerot en slap.

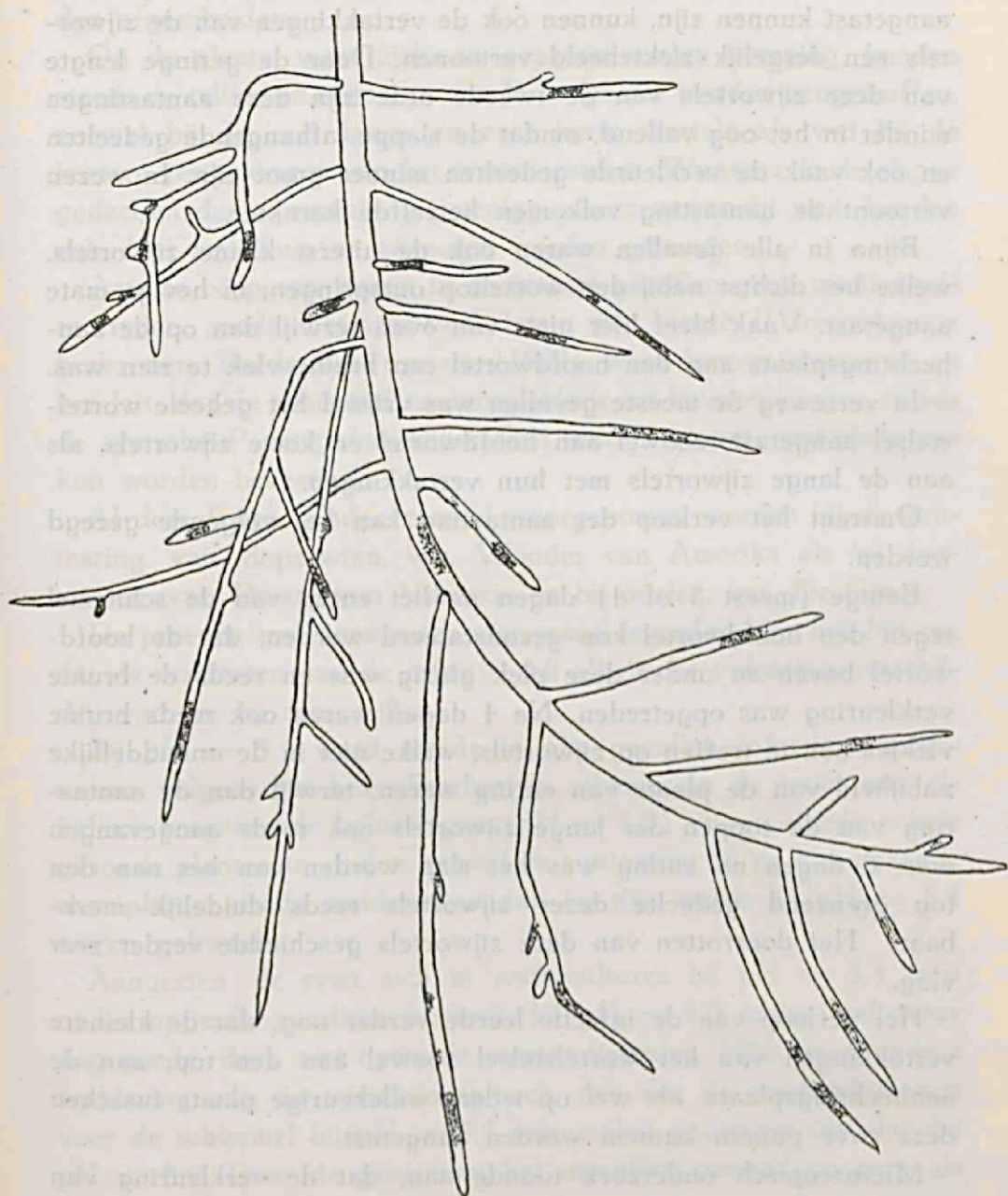


Fig 5. Gedeelte van het wortelstelsel van een erwt, welke met *Pythium irregulare* Buisman is geïnfecteerd. De bruine verkleuringen zijn door donkere plekken aangegeven. Vergrooting 2 $\times$.

Behalve de lange zijwortels, welke over het grootste gedeelte aangetast kunnen zijn, kunnen ook de vertakkingen van de zijwortels een dergelijk ziektebeeld vertoonen. Door de geringe lengte van deze zijwortels van de tweede orde zijn deze aantastingen minder in het oog vallend, omdat de slappe, afhangende gedeelten en ook vaak de verkleurde gedeelten minder groot zijn. In wezen vertoont de aantasting volkomen hetzelfde karakter.

Bijna in alle gevallen waren ook de uiterst kleine zijwortels, welke het dichtst nabij den worteltop ontspringen, in hevige mate aangetast. Vaak bleef hier niets van over, terwijl dan op de aanhechtingsplaats aan den hoofdwortel een bruine vlek te zien was.

In verreweg de meeste gevallen was vrijwel het geheele wortelstelsel aangetast, zoowel aan hoofdwortel en korte zijwortels, als aan de lange zijwortels met hun vertakkingen.

Omtrent het verloop der aantasting kan het volgende gezegd worden:

Eenige (meest 3 of 4) dagen na het enten van de schimmel tegen den hoofdwortel kon geconstateerd worden, dat de hoofdwortel boven en onder deze plek glazig was en reeds de bruine verkleuring was opgetreden. Na 4 dagen waren ook reeds bruine vlekjes aan te treffen op zijwortels, welke niet in de onmiddellijke nabijheid van de plaats van enting waren, terwijl dan de aantasting van de toppen der lange zijwortels ook reeds aangevangen was. 6 dagen na enting was het slap worden van het aan den top grenzend gedeelte dezer zijwortels reeds duidelijk merkbaar. Het doorrotten van deze zijwortels geschiedde verder zeer vlug.

Het verloop van de infectie leerde verder nog, dat de kleinere vertakkingen van het wortelstelsel zoowel aan den top, aan de aanhechtingsplaats, als wel op iedere willekeurige plaats tusschen deze twee punten kunnen worden aangetast.

Microscopisch onderzoek toonde aan, dat de verkleuring van het zieke wortelstelsel haar oorzaak vindt in een verkleuring van den *centralen cylinder*. Deze verkleuring zet zich veel verder dan de grens van zieke en gezonde schors voort. (Iets dergelijks nam J o c h e m s [1927] waar bij de parasitaire stengelverbranding van Deli-tabak, waar de houtcylinder zelfs tot vlak onder het vegetatiepunt bruin verkleurd wordt). Waarschijnlijk wordt deze kleur ver-

oorzaakt door toxinen of enzymen, welke door de schimmel worden afgescheiden.

Op de plaats, waar zieke in gezonde schors overging, konden steeds mycelium en oösporen van *P. irregulare* worden aangetroffen, zoowel bij de zeer lange en zeer korte wortels als wel bij de kortere vertakkingen van het wortelsysteem. Wanneer in de slappe gedeelten der zijwortels nog eenige schors aanwezig was, konden ook daar mycelium en oösporen worden gevonden.

Aan de oösporen waren in de meeste gevallen geen uitsteeksels te vinden, zoodat het zeer vaak lastig was hieruit *P. irregulare* te herkennen. Reeds Buisman (1927) wees hierop; eveneens op het feit, dat de schimmel na terugisolatie op haverhoutagar steeds de typische *P. irregulare*-kenmerken weer vertoont, wat door ons kon worden bevestigd.

Al deze feiten konden zoowel waargenomen worden bij de aantasting van doperwten, var. Wonder van Amerika als bij doperwten, var. Dwerf van Vilmorin en bij peulen, var. De Grace.

De proeven met constanten zuurgraad leverden hier het feit op, dat de resultaten van de infecties bij alkalische oplossing verschillen van die bij zuur milieu.

Bij $\text{pH} = 5,4$ werd steeds in alle gevallen infectie waargenomen volgens het bovenbeschreven schema. In de series met alkalisch reagerende oplossingen ($\text{pH} = 8,0$) waren steeds enkele gezonde planten te vinden, terwijl de aantasting bij de niet-gezonde exemplaren steeds minder was dan bij die, welke bij $\text{pH} = 5,4$ waren gekweekt.

Aangezien de erwt zich in watercultures bij $\text{pH} = 5,4$ juist onder optimale condities bevindt, bij $\text{pH} = 8,0$ onder weliswaar nog goede, doch niet optimale omstandigheden, blijft geen andere verklaring van dit verschijnsel over, dan dat de omstandigheden voor de schimmel bij $\text{pH} = 5,4$ vele malen gunstiger zijn dan bij $\text{pH} = 8,0$. Daar de groei van het mycelium zoowel op zure als op alkalische bodems gelijk te noemen is (oösporenvorming eveneens), bestaat de mogelijkheid, dat de zwermsporenvorming in zuur milieu beter plaats vindt dan in een alkalisch reagerende oplossing.

Het verdient nog vermelding, dat bij alle hierboven vermelde proeven zelden eenige afwijkende kenmerken aan de spruit wer-

den waargenomen. Slechts bij cultures, welke langer dan een maand duurden en waar het wortelstelsel zeer sterk aangetast was, kon het verdrogen en verwelken van de bladeren opgemerkt worden.

Pythium de Baryanum Hesse

Deze soort werd niet door Buismann of door ons uit erwten geïsoleerd. Daar het voorkomen van deze soort in erwtenwortels meermalen in de literatuur vermeld wordt, is deze algemeen verspreide schimmel eveneens opgenomen in het onderzoek over het vermogen van infectie bij verschillende zuurgraden. Gebruikt werd een stam van *Pythium de Baryanum*, welke uit zieke gloxiniaspruiten was geïsoleerd (vergelijk pag. 32).

TABEL VI

Overzicht der met *Pythium de Baryanum* genomen infectieproeven op doperwten (var. Wonder van Amerika)

Datum van Infectie	pH	Geïnfecteerde planten			Controleplanten		
		Aantal	Ziek	Gezond	Aantal	Ziek	Gezond
26-3-'28	8,0	10	10	0	10	0	10
26-3-'28	5,4	10	10	0	10	0	10

Uit de tabel blijkt zeer duidelijk, dat *Pythium de Baryanum* gerekend moet worden tot de schimmels, welke zoowel in alkalisch als in zuur milieu wortelrot kunnen veroorzaken. De wijze van aantasting deed veel denken aan die van *P. irregulare*. Ook hier werd steeds eerst de hoofdwortel aangetast en waren wat later op de zijwortels en hun vertakkingen vlekken te zien, welke veel overeenkomst hadden met de door *P. irregulare* veroorzaakte vlekken. Op alle plaatsen van het wortelstelsel konden, evenals bij *P. irregulare*, genoemde afwijkingen geconstateerd worden. De kleur van deze vlekken was echter veel lichter bruin en minder in 't oog loopend dan bij *P. irregulare*. Het zieke wortelstelsel was

eveneens lichter van kleur en geler dan bij *P. irregulare*; deze lichtgele kleur was niet bij de controle-exemplaren aanwezig.

Evenals bij *P. irregulare* waren bij microscopisch onderzoek van de toppen der aangetaste vertakkingen van het wortelstelsel slechts opperhuid en eenige vaatbundelresten te vinden. Op de grens van ziek en gezond weefsel waren weer mycelium en oösporen te vinden.

Ook hier bleken de vaatbundels door de aantasting verkleurd te zijn. De aanwezigheid van lange, slappe zijwortels werd ook in de door *P. de Baryanum* aangetaste exemplaren vastgesteld.

Pythium de Baryanum var. *pelargonii* Braun

De resultaten van de infectieproeven met *Pythium de Baryanum* var. *pelargonii* zijn in onderstaande tabel vervat:

TABEL VII

Overzicht der met *Pythium de Baryanum* var. *pelargonii* genomen infectieproeven op doperwten (var. Wonder van Amerika)

Datum van infectie	pH	Geïnfecteerde planten			Controleplanten		
		Aantal	Ziek	Gezond	Aantal	Ziek	Gezond
25-8-'27	var.	4	4	0	4	0	4
1-9-'27	var.	3	3	0	3	0	3
29-3-'28	8,0	9	9	0	—	—	—
29-3-'28	5,4	9	9	0	—	—	—
4-5-'28	8,0	9	9	0	9	0	9
4-5-'28	5,4	9	9	0	9	0	9

De controleplanten van de serie van 29 Maart waren alle zeer slecht uitgegroeid en niet te vergelijken met normale controleplanten, reden waarom deze serie herhaald is.

De exemplaren, welke met *Pythium de Baryanum* var. *pelargonii* waren geïnfecteerd, waren na verloop van een maand, aan de

spruit van de controleplanten niet te onderscheiden. Aan de wortels bestonden evenwel steeds verschilpunten met deze. Het ziektebeeld van de wortels kan als volgt worden geschetst:

Het vrij behoorlijk ontwikkelde wortelstelsel is voor een grooter of kleiner gedeelte voorzien van steeds kleine bruinrood gekleurde vlekjes, welke regelmatig over het geheele wortelstelsel zijn verspreid. Zoowel de zijwortels als hun vertakkingen kunnen deze aantasting, welke steeds tot kleine afstanden beperkt blijft, vertoonen. De bij *P. irregulare* voorkomende rotting van de lange zijwortels over groote afstanden zijn hier nooit te vinden. Vaak blijft de aantasting van de kleinere zijwortels van de tweede orde beperkt tot het topje, waar dan een kleine bruinroode vlek te zien is. Talrijk zijn in den regel de aantastingen van de kleine zijwortels nabij den top van den hoofdwortel. Vooral bij de allerjongste blijft dan van deze zijworteltjes vaak niets over en ziet men niets meer dan een in de schors ingevreten bruine vlek.

Lange zijwortels, welke op korten afstand van de stengelbasis ontspringen, en tot den bodem van den jampot reikten, vertoonden in enkele gevallen de naar boven verloopende aantasting, welke aan den top begint. De aangetaste gedeelten waren, evenals bij *P. irregulare*, slap en glazig, terwijl de bekende bruinroode vlek op de grens van ziek en gezond weefsel aanwezig was. Het dient echter uitdrukkelijk vermeld te worden, dat deze doorlopende infecties zeer weinig optraden, en in geenen deele een overheerschen den indruk maakten, wat bij *P. irregulare* wel het geval is. Ook waren de slappe gedeelten nooit zoo lang als bij *P. irregulare*.

Het microscopisch onderzoek van de zieke deelen leverde steeds de aanwezigheid van mycelium op: in de bruinroode vlekken waren bovendien de conidiën van *Pythium de Baryanum* var. *pelargonii* te vinden. Steeds kon uit de terugisolaties op haverhoutagar van de zieke gedeelten *P. de Baryanum* var. *pelargonii* worden verkregen, zoodat hiermede wel bewezen is, dat deze soort voor de beschreven aantasting moet worden aansprakelijk gesteld.

Uit de tabel blijkt, dat zoowel bij pH = 8,0 als bij pH = 5,4 de wortelstelsels van alle planten waren aangetast. De indruk werd verkregen, dat de aantasting bij pH = 5,4 iets sterker was dan bij pH = 8,0, doch een wezenlijk verschil tusschen deze twee series viel niet te bespeuren.

Wanneer men het door *P. de Baryanum* var. *pelargonii* aange-
taste wortelstelsel vergelijkt met een door *P. irregulare* aangetast
wortelstelsel, dan valt dus als kenmerkend verschilpunt te consta-
teeren, dat met eerstgenoemde schimmel de infectie altijd op zeer
korten afstand plaats vindt, terwijl na infectie met *P. irregulare*
de wortels over grooten afstand ziek en slap worden. Dit laatste
komt, zooals reeds is opgemerkt, bij de aantastingen door *P. de*
Baryanum var. *pelargonii*, slechts op zeer kleine schaal voor en
niet eens in alle gevallen. Gevoeglijk kan uit deze feiten besloten
worden, dat *P. de Baryanum* var. *pelargonii* als een minder sterke
parasiet moet worden beschouwd dan *P. irregulare*.

Pythium intermedium de Bary

Hieronder volgt het overzicht van de met deze soort genomen
infectieproeven:

TABEL VIII

Overzicht der met *Pythium intermedium* genomen infectieproeven
op doperwten (var. Wonder van Amerika)

Datum van infectie	pH	Geïnfecteerde planten			Controleplanten		
		Aantal	Ziek	Gezond	Aantal	Ziek	Gezond
25-8-'27	var.	4	0	4	4	0	4
1-9-'27	var.	4	0	4	3	0	3
6-9-'27	var.	4	0	4	4	0	4
12-3-'28	8,0	5	0	5	5	0	5
9-7-'28	5,4	5	0	5	5	0	5

N.B. De serie van 6 September bestond uit doperwten, var.
Dwerg van Vilmorin.

Pythium intermedium bleek weldra niet te behooren tot de schim-

mels, welke zich ten opzichte van het wortelstelsel van de erwt agressief gedragen. Tijdens het verloop van de infectieproeven bleken de wortelstelsels zich niet van de controleplanten te onderscheiden. Bij het macroscopisch onderzoek bleek slechts hoogst zelden eenige verkleuring op te treden, en waar dit al het geval was, kon nooit van een ziek wortelstelsel worden gesproken. Een verdere afwijking dan het klein blijven en roodachtig verkleuren van eenige zijworteltjes in de onmiddellijke nabijheid van de plaats van het entmateriaal kon niet geconstateerd worden. Hiermede mag wel de conclusie worden getrokken, dat *Pythium intermedium* niet als een veroorzaker van wortelrot bij erwten mag worden beschouwd.

Het verloop van de infectieproeven, waarbij de pH constant werd gehouden, steunde deze opvatting. Ook in deze series hadden de planten, welke met *P. intermedium* waren geënt, volkomen gezonde wortels zonder eenige afwijking.

HOOFDSTUK III

WORTELROT VAN BOONEN (*Phaseolus vulgaris* L.)

Zooals reeds elders is medegedeeld, werden in talrijke verkleurde of zieke worteltjes van boonen oösporen, conidiën, of mycelium van *Pythium*-soorten gevonden. Het lag daarom voor de hand na te gaan of er onder deze soorten voorkomen, welke wortelrot kunnen veroorzaken.

Over het veroorzaken van wortelrot van boonen door vertegenwoordigers van het geslacht *Pythium*, werden in de literatuur geen gegevens aangetroffen.

EIGEN ONDERZOEKINGEN

A. Methode

Deze sluit zich geheel aan bij de in het vorige hoofdstuk beschreven methode voor de infectieproeven met erwten. Gebruikt werd de stamboon-variëteit „Heinrichs reuzen bonte". Ook de boonen werden aanvankelijk gedesinfecteerd met 0,25% oplossing van Uspulun voor ze in scherp zand te kiemen werden gelegd, doch met zeer weinig bevredigend resultaat. Spoedig bleek, dat de boonen van de desinfectie te lijden hadden gehad, daar de kieming zeer slecht was. Om deze reden werd van deze maatregel afgezien; de kieming verliep zonder desinfectie beter en regelmatig.

Ook in de hieronder te beschrijven series is gebruik gemaakt van de watercultures in jampotten, terwijl bij alle proeven met constanten zuurgraad dezelfde maatregelen en voorzorgen waren genomen als bij de overeenkomstige proeven met erwten. Voor

bijzonderheden hieromtrent wordt dus naar de in het vorige hoofdstuk beschreven methode verwezen.

B. Resultaten

Aangezien uit de zieke boonenworteltjes meermalen *Pythium irregulare* was geïsoleerd, werden in Augustus en September 1927 eenige reeksen oriënterende proeven genomen met deze soort, ten einde de mogelijkheden van een eventueel optredend wortelrot na te gaan. Later werden proeven genomen met constante pH.

Onderstaande tabel geeft een overzicht van deze proeven:

TABEL IX

Overzicht der met *Pythium irregulare* genomen infectieproeven op boonen (var. Heinrichs reuzen bonte)

Datum van infectie	pH	Geïnfecteerde planten			Controleplanten		
		Aantal	Ziek	Gezond	Aantal	Ziek	Gezond
24—8—'27	var.	3	3	0	3	0	3
30—8—'27	var.	4	4	0	4	0	4
8—9—'27	var.	4	4	0	4	0	4
15—9—'27	var.	4	4	0	4	0	4
23—1—'28	8,0	5	2	3	5	0	5
23—1—'28	5,4	5	5	0	5	0	5
23—4—'28	8,0	5	3	2	5	0	5
23—4—'28	5,4	5	5	0	5	0	5
7—5—'28	8,0	10 *)	5	4	5	0	5
7—5—'28	5,4	10	10	0	5	0	5

*) Een exemplaar van deze serie ging vroegtijdig dood aan aantasting door *Gloeosporium Lindemuthianum*, zoodat deze plant niet bij de resultaten van de serie is opgegeven.

De resultaten van de voorproeven kunnen als volgt worden samengevat:

Over het geheel genomen was er algeheele overeenstemming met de aantasting van doperwten door *P. irregulare*.

Steeds was het geheele wortelstelsel sterk verkleurd en waren er over korten of grooten afstand donkerbruine en bruinzwarte gedeelten aan het wortelstelsel te bespeuren (de bij erwten voorkomende roodgele verkleuring werd slechts in een enkel geval opgemerkt). Eveneens waren ook groote gedeelten van de wortels onder deze verkleuring slap en doorzichtig en konden slechts opperhuid en eenige overblijfsels van vaatbundels waargenomen worden.

Ten einde niet in herhalingen te vervallen zij medegedeeld, dat volkomen dezelfde gedeelten van het wortelstelsel als bij de erwt aangetast en wel op geheel analoge wijze. Voor verdere bijzonderheden gelieve de lezer dus het in het vorige hoofdstuk beschreven wortelrot van doperwten (door *P. irregulare* veroorzaakt) te raadplegen.

Het verloop van de infectie klopt ook volkomen met dat der aantasting van de erwten.

Bij het microscopisch onderzoek van de door *P. irregulare* verrotte worteltjes traden ook weer dezelfde feiten aan het licht als bij de door genoemde schimmel aangetaste erwtenworteltjes, nl. dat de verkleuring van het wortelstelsel toe te schrijven is aan een verkleuring van den centralen cylinder en dat verder mycelium en oösporen steeds te vinden zijn op den overgang van ziek in gezond weefsel. Talrijker dan bij de erwt komen in de slappe wortelgedeelten oösporen voor, welke (eveneens talrijker dan bij de erwt) vaak door hun onregelmatigen wand en hun stekels opvielen.

De proeven, waarbij de pH resp. op 8,0 en 5,4 constant werd gehouden, leverden geheel en al hetzelfde resultaat op als de overeenkomstige proeven met doperwten. Kon bij pH = 5,4 steeds waargenomen worden, dat de wortels ernstig en over het geheele wortelstelsel waren aangetast, bij pH = 8,0 waren slechts zeer weinige exemplaren ernstig aangetast, terwijl de overige exemplaren, welke in de tabel in de kolom „ziek” staan aangegeven, een zeer matig wortelrot vertoonden, waarbij bruinkleuring op kor-

ten afstand aan de kleinere vertakkingen van het wortelstelsel kon worden waargenomen, doch waarbij geen doorlopend rot van de groote zijwortels werd geconstateerd.

Pythium de Baryanum Hesse

Hieronder volgt een overzicht van de infectieproeven, welke met *Pythium de Baryanum* zijn genomen op boonen.

TABEL X

Overzicht der met *Pythium de Baryanum* genomen infectieproeven op boonen (var. Heinrichs reuzen bonte)

Datum van infectie	pH	Geïnfecteerde planten			Controleplanten		
		Aantal	Ziek	Gezond	Aantal	Ziek	Gezond
25-6-'28	8,0	7	7	0	7	0	7
25-6-'28	5,4	7	7	0	7	0	7

De controleplanten van deze beide series hadden vele lange, witte, blanke wortels, welke geen spoor van wortelrot vertoonden. Aan de oudste wortels was een wat geler kleur waar te nemen, doch zij waren steeds gezond en niet slap.

Bij de exemplaren, welke met *Pythium de Baryanum* waren geïnfecteerd, waren de wortels binnen weinige dagen lichtbruin van kleur en geheel slap. Bij het lichten van de planten uit de jam-potten kleefden ook hier alle zijwortels tegen elkaar. Een typische donkere verkleuring op bepaalde plekken van het wortelstelsel, zooals bij *Pythium irregulare* optreedt, was slechts bij uitzondering hier te bespeuren. Zoowel bij pH = 8,0 als bij pH = 5,4 werden al deze verschijnselen geconstateerd.

Oösporen en mycelium waren bij microscopisch onderzoek te vinden op de plaatsen, waar gezond en ziek weefsel aan elkaar grenzen.

HOOFDSTUK IV

WORTELROT VAN VIOLEN (*Viola tricolor hybride*)

§ 1. LITERATUUROVERZICHT

In 1926 beschreef Solberg (1926 b) het voorkomen in Noorwegen van een wortelrot in gekweekte violen (*Viola tricolor* L.), hetwelk volgens haar toe te schrijven was aan een of meer Phycomyceten. Bij microscopisch onderzoek van de zieke wortels kon zij de oösporen van drie verschillende schimmels waarnemen, nl. een schimmel, welke tot de *Pythium* de *Baryanum*-groep behoort, een vorm met groote, gestekelde oösporen (*P. hydnosporum* = *P. artotrogus*) en een Phycomyceet met oösporen, welke niet grooter waren dan 10μ .

Aan de planten werd een bronsachtige verkleuring van de bladeren waargenomen, terwijl bladeren en bloemen in hun groei belemmerd waren en de planten ten slotte te gronde gingen door het verrotten van het geheele wortelstelsel.

Buisman (1927) isoleerde uit vergane wortels van viooltjes, welke in Baarn bij lage temperatuur in den grond gekweekt waren, een *Aphanomyces*, welke veel geleek op *Aphanomyces euteiches*. Zij was evenwel niet in de gelegenheid na te gaan of de geïsoleerde schimmel de oorzaak is van het in Baarn waargenomen acute wortelrot. Dat de bewuste schimmel niet op erwten parasiteert, werd door Buisman vastgesteld.

§ 2. EIGEN ONDERZOEKINGEN

Ten einde na te kunnen gaan of de door Buisman geïsoleerde

Aphanomyces inderdaad het wortelrot van violen veroorzaakt, werden violen op watercultures gezet en werden de infectieproeven op de gebruikelijke wijze uitgevoerd.

Aangezien het voor de hand lag, dat de zeer kleine kiemplantjes minder geschikt zouden zijn om op watercultures geïnfecteerd te worden, werd besloten een iets ouder stadium van de violen te nemen.

Zaden van *Viola tricolor* (gemengd) en *Viola cornuta* (var. „Thüringen“) werden in scherp zand te kiemen gelegd en eerst dagelijks met water, later dagelijks met v. d. Crone's voedingsoplossing begoten, ten einde na de kieming de planten van de noodige zouten te voorzien. De planten werden vervolgens eenigen tijd in gesteriliseerde aarde gekweekt en daarna gebruikt voor de watercultures. (Het wortelstelsel was dan ongeveer 10 c.M. lang). Alvorens hiertoe over te gaan, werden de wortels grondig gereinigd van de aanklevende gronddeeltjes. Deze methode voldeed goed, de op de jampotten gezette plantjes groeiden behoorlijk en konden zelfs tot bloei gebracht worden.

Hieronder volgt een overzicht van de infectieproeven met de door Buisman geïsoleerde *Aphanomyces*, welke, zooals elders in dit geschrift is uiteengezet, als een physiologisch ras van *Aphanomyces euteiches* moet worden gerekend.

TABEL XI

Overzicht der met *Aphanomyces euteiches* P. F. 2 genomen infectieproeven op violen

Datum van infectie	Soort	Geïnfecteerde planten			Controleplanten		
		Aantal	Ziek	Gezond	Aantal	Ziek	Gezond
23-8-'27	V. tricolor	1	1	0	1	0	1
23-8-'27	V. cornuta	3	3	0	3	0	3

Zoowel bij *Viola tricolor* als bij *Viola cornuta* waren de controleplanten voorzien van forsche, groene bladeren en lange, dunne

worteltjes, welke alle gaaf waren en talrijke wortelharen bezaten.

Het exemplaar van *Viola tricolor*, dat met deze schimmel was geïnfecteerd, was na verloop van een maand niet gegroeid. De bladeren waren geheel verwelkt, de onderste geheel verdroogd. Gedurende het verloop van deze proef waren de bladeren van de randen af geel gekleurd, welke kleur zeer spoedig gevolgd werd door een paarsachtig-bronzen verkleuring.

Het wortelstelsel was klein gebleven, en had een gele kleur. In de wortels konden de oösporen van deze *Aphanomyces* aangetoond worden.

Geheel dezelfde symptomen konden waargenomen worden bij de geïnfecteerde exemplaren van *Viola cornuta*. Ook hier waren talrijke bladeren verdroogd en van de randen af vergeeld, welke verkleuring gevolgd was door een paarsachtig-bronzen verkleuring, eveneens van de randen af optredende.

Het wortelstelsel was eveneens bij de exemplaren van deze soort aangetast en was bijzonder slap. Bij het lichten van de planten uit de jampotten kleefden alle wortels als het ware tegen elkaar aan. Tevens kon worden waargenomen, dat vele wortels op korten afstand van den top een olijfgroen tot bruine vlek hadden, waarin steeds *Phycomycetenmycelium* te zien was, terwijl ook binnen de schors de oösporen van *Aphanomyces* duidelijk konden worden geconstateerd. Uit de zieke wortels kon steeds deze soort met zekerheid teruggeïsoleerd worden.

Uit deze gegevens mag dus besloten worden, dat *Aphanomyces euteiches* P. F. 2 veroorzaker kan zijn van wortelrot bij violen.

In verband met het feit, dat Buisman (1927) reeds geconstateerd had, dat de uit violenwortels geïsoleerde *Aphanomyces euteiches* geen wortelrot van erwten teweeg kan brengen (hetgeen door ons is bevestigd), lag het voor de hand na te gaan of de in Amerika op erwten zoo sterk parasiteerende *Aphanomyces euteiches* P. F. 1 in staat is een wortelrot bij violen tot stand te kunnen brengen. Een overzicht van proeven over deze vraag geeft tabel XII.

Aan de controleplanten van *Viola tricolor* en *Viola cornuta* konden geen afwijkingen worden vastgesteld.

Het met dezen stam van *Aphanomyces euteiches* geïnfecteerd

TABEL XII

Overzicht der met *Aphanomyces euteiches* P. F. 1 genomen infectieproeven op violen

Datum van infectie	Soort	Geïnfecteerde planten			Controleplanten		
		Aantal	Ziek	Gezond	Aantal	Ziek	Gezond
23—8—'27	V. tricolor	1	0	1	1	0	1
23—8—'27	V. cornuta	3	0	3	3	0	3

exemplaar van *Viola tricolor* onderscheidde zich niet van het controle-exemplaar. Het was een sterke plant met een goed ontwikkelde spruit en lange, blanke, een weinig geel gekleurde wortels, waaraan geen enkele afwijking te bespeuren viel en waaraan geen spoor van wortelrot te bekennen was.

Evenzoo waren de met dit ras geïnfecteerde exemplaren van *Viola cornuta* frisch en rijk bloeiend. Het wortelstelsel was bij geen dezer planten groot te noemen, doch de talrijke zijwortels waren alle blank en gaaf, terwijl er ook niet de minste aanwijzing voor wortelrot was te vinden.

Terugisolaties uit worteltjes leverde in geen der gevallen *Aphanomyces euteiches* op.

Wij concludeeren dus uit deze feiten, dat de Amerikaansche stam (P. F. 1) van *Aphanomyces euteiches* geen wortelrot bij violen kan veroorzaken onder de omstandigheden, waarbij de Nederlandsche stam (P. F. 2) dit wel kan doen.

Tot onze spijt waren wij niet in de gelegenheid uitgebreider onderzoekingen over dit onderwerp in te stellen of meer planten per serie te gebruiken. De resultaten van de hierboven beschreven kleine series zijn echter volkomen duidelijk.

Ten slotte zij nog opgemerkt, dat wij bij het microscopisch onderzoek van zieke violenwortels (welke afkomstig waren van in den tuin van het laboratorium gekweekte violen) talrijke malen *Asterocystis radialis* de Wildeman in zeer groote hoeveelheden vonden.

HOOFDSTUK V

BIETENWORTELBRAND

§ 1. LITERATUUROVERZICHT

In de laatste jaren van de 19de eeuw zijn over de oorzaak van den bietenwortelbrand vele meeningen geopperd, welke evenwel niet voldoende gestaafd waren. Pas de zeer exacte onderzoekingen, welke in de „Kaiserliche Biologische Anstalt für Land- und Forstwirtschaft" te Berlijn gedurende de jaren 1905—1911 zijn uitgevoerd door Peters en medewerkers (1906, 1908, 1913, 1913) hebben in deze zaak het noodige licht gebracht.

Peters (1913) heeft in 1913 een zeer omvangrijke studie gepubliceerd over de veroorzakers van den bietenwortelbrand. Reeds eerder had hij verschillende voorloopige mededeelingen hieromtrent geschreven (o.a. Peters, 1908), doch in zijn stuk van 1913 zijn alle details aangaande dit vraagstuk vermeld. Hij heeft, vooral in de jaren 1906—1908, honderden bietenplantjes, welke het verschijnsel van wortelbrand vertoonden, onderzocht en gevonden, dat verschillende schimmels als oorzaak van deze ziekte moeten worden beschouwd, nl. *Pythium de Baryanum* Hesse, *Aphanomyces laevis* de Bary en *Phoma Betae* Fr. Door talrijke infectieproeven kon hij aantonen, dat slechts drie schimmels, welke uit zieke bietenplanten werden gekweekt, inderdaad de oorzaak konden zijn van wortelbrand, terwijl vele andere schimmels, welke uit bietenplanten waren geïsoleerd, zooals *Botrytis cinerea* Pers., *Pythium artotrogus* (Mont.) de Bary, *Phytophthora omnivora* de Bary, *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link. en *Sporodesmium putrefaciens* Fuckel, het vermogen misten bietenwortelbrand teweeg te brengen.

Peters (1913) toonde door infectieproeven overtuigend aan, dat *Pythium de Baryanum* allereerst de kieming van de kluwens geheel verhinderen kan, of pas uitgelopen kiemplantjes voor een zeer groot percentage kan doen afsterven.

Infectieproeven op wat oudere planten leerden, dat deze schimmel bij voorkeur den wortelhals aantast en onder voor de schimmel zeer gunstige omstandigheden met vrij groote snelheid naar boven doorgroeit, zoodat de plant in korten tijd gedood wordt en er bovenaardsch als een zwarte draad uitziert, waarbij de wortels gezond blijven. Het typisch ziektebeeld is evenwel, dat de van den wortelhals uitgaande infectie beperkt blijft tot een $\frac{1}{2}$ —1 c.M. lange zone in het hypocotyl; de aangetaste weefsels verdrogen en hebben een bruinzwarte kleur, en er ontstaat een min of meer sterke insnoering.

Aantasting van hoofd- en zijwortels bleek bij *P. de Baryanum* niet uitgesloten, evenmin aantasting van de cotylen.

Bij infectieproeven met *Aphanomyces laevis* kon ook geringere kieming geconstateerd worden, echter minder dan bij *P. de Baryanum*. Echter bleek de aantasting van de plantjes hier het geheele hypocotyl te beslaan, terwijl de kleur van de aangetaste deelen minder bruinzwart, doch meer olijfgroen was. Evenals bij *P. de Baryanum* was ook hier aantasting mogelijk van hoofd- en zijwortels.

Phoma betae brengt volgens Peters geen vermindering van kieming teweeg, veroorzaakt echter wel de typische aantasting van het onderste gedeelte van het hypocotyl en het bovenste gedeelte van het wortelstelsel, welke als wortelbrand bekend staat. Aantasting van het wortelstelsel werd niet opgemerkt. Van de aangetaste planten kon vermeld worden, dat zij al in zeer korten tijd bij de controle-exemplaren in groei ten achter stonden.

Busse, Peters en Ulrich (1913) publiceerden in 1913 het verslag van hun onderzoek over het voorkomen van de veroorzakers van bietenwortelbrand in den grond. Reeds eerder is in dit geschrift uitvoerig melding gemaakt van deze publicatie, zoodat thans mag worden volstaan met het feit, dat zij konden vaststellen, dat *Pythium de Baryanum* en *Aphanomyces laevis* in verschillende grondsoorten konden worden aangetoond.

Edson (1915 a) bestudeerde de kiemplantenziekten van suiker-

bieten in Michigan en vond als veroorzakers *Phoma betae* Fr. *Rhizoctonia* sp. (vermoedelijk identiek met *Corticium vagum* B. & C. var. *Solani* Bart.), *Pythium de Baryanum* Hesse en een nog niet bekende soort, welke hij later (Edson, 1915 b) als *Rheosporangium aphanidermatus* beschreef, doch welke tegenwoordig als *Pythium aphanidermatum* (Eds.) Fitzp. te boek staat.

Het ziektebeeld, door *Pythium aphanidermatum* teweeggebracht, verschilt zeer weinig van de door *Pythium de Baryanum* veroorzaakte beschadigingen. Ook hier trad geen kieming op, wanneer de infectie bij het zaaien geschiedde. Zijwortelaantasting werd eveneens door deze soort veroorzaakt.

Drechsler (1928) maakt melding van *Aphanomyces cochlioides* als veroorzaker van bietenbrand, eveneens in Michigan. Proeven op een goed nat gehouden grond toonden aan, dat deze schimmel meer schade aanrichtte dan alle overige veroorzakers van wortelbrand tezamen.

Het optreden van bietenwortelbrand staat echter ook in verband met de samenstelling van den grond.

Arrhenius (1923) vond, dat bieten het best groeien bij een $\text{pH} = 7,2$ à $7,6$, waarschijnlijk bij $\text{pH} = 7,5$. Hij constateerde tevens, dat de groei van *Pythium de Baryanum* bij een $\text{pH} = 7,5$ bijna verhinderd werd, wat volgens hem de afwezigheid van de ziekte op licht alkalische gronden zou verklaren. Op grond van deze feiten raadt hij aan den grond op een $\text{pH} = 7,5$ te brengen door het brengen van kalk in den grond.

Het optreden van bietenwortelbrand bij $\text{pH} = 6,3$ — $6,6$ en de afwezigheid bij $\text{pH} = 7,0$ — $7,3$ is eveneens door Zutavern (1926) opgemerkt. Ook hij acht het neutraal maken van den grond door kalk van het hoogste belang.

§ 2. EIGEN ONDERZOEKINGEN

A. Methode

Om vast te kunnen stellen of *Pythium mamillatum* n. sp., welke uit zieke bietenwortels (bietenwortelbrand) was geïsoleerd (zie pag. 39), te beschouwen is als veroorzaker van bietenwortelbrand, werden eerst infectieproeven aangezet op watercultures. Het bleek echter weldra, dat deze methode zich voor dit doel

minder goed leent. Bij infectieproeven over wortelbrand is het vooral van belang de eventueele veroorzakers op de plantjes in te laten werken, wanneer zij in een zeer jong stadium verkeerden, in het bijzonder, wanneer zij pas gekiemd zijn. Het behoeft geen betoog, dat het onmogelijk is bietenplanten in een dergelijken jongen toestand op watercultuur te kweken. Enkele proeven in deze richting mislukten dan ook volkomen. Wel konden zonder eenig bezwaar bieten op watercultuur worden gekweekt, wanneer zij reeds eenige bladeren hadden. Dit heeft aan den anderen kant het nadeel, dat de planten in dit oudere stadium mogelijk resistent tegen wortelbrand zijn dan kort na de kieming.

Om al deze redenen werden potproeven met gesteriliseerden bladgrond resp. kleigrond genomen en werd hierbij te werk gegaan, zooals P f ä l t z e r (1927) in zijn proefschrift aangeeft.

Wanneer men in gesteriliseerden grond één bepaalde schimmel brengt, hetzij een parasiet of wel een saprophyt, en hierin planten kweekt, loopt men groot gevaar, dat men met deze cultures zeer weinig succes oogst. Dit vindt zijn oorzaak hierin, dat de bewuste schimmel den grond dan geheel doorwoekert, wegens gebrek aan concurrentie van andere grondschemmels, zoodat zelfs saprophyten onder deze omstandigheden voor de te kweken planten lang niet ongevaarlijk zijn. Busse, Peters en Ulrich (1913) wezen hierop reeds in hun publicatie over het voorkomen in den grond van de veroorzakers van bietenwortelbrand; de verklaring van bovenstaand verschijnsel werd door Busse en Ulrich (1908) gegeven.

Ten einde in den bodem een meer natuurlijk evenwicht te verkrijgen, is het zaak behalve de op parasitisme te onderzoeken soort eenige bodemschemmels in den grond te brengen, welke zooals van zelf spreekt, geen wortelparasieten van de te kweken plant mogen zijn.

Wij brachten behalve *Pythium mamillatum* de volgende 5 schemmels:

Penicillium echinatum Dale, *Ramularia eudidyma* Wr., *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz., *Mucor Ramannianus* Möller, en *Mucor glomerula* (Bainier) Lendner.

in potten met bladgrond, welke een uur in een autoclaaf bij 115° C. waren gesteriliseerd, en zaaiden een week na infectie met

de grondschemmels per pot 15 bietenkluwens, welke waren gesteriliseerd.

Dit laatste werd gedaan volgens een recept van den Plantenziektenkundigen Dienst (Verslagen en Mededeelingen no. 47, 1927) door de kluwens gedurende 4 uur in een 0,25% oplossing van Germisan te brengen, ten einde de op de kluwens aanwezige kiemen van *Phoma betae* te doden. Geheel vrij van *Phoma*-aantasting was de opkomst van aldus behandelde kluwens niet, betere resultaten werden verkregen, wanneer aan de 0,25% oplossing van Germisan een scheutje alcohol werd toegevoegd, hetwelk de op de kluwens zeer vaak aanwezige luchtbellen wegnam, waardoor de kluwens over hun geheele oppervlakte met het desinfectans in aanraking kwamen.

Gebruikt werden de suikerbietvariëteiten Klein Wanzlebener en Vitrix, benevens de voederbietvariëteit Collet Vert.

B. Resultaten

Oriënteerende proeven met de variëteiten Klein Wanzlebener en Vitrix over het al of niet parasitair zijn van *Pythium mamillatum* in bladgrond en kleigrond brachten weldra aan het licht, dat in potten, welke waren geïnfecteerd met deze soort, plekken te vinden waren, waar geen plantjes boven de oppervlakte verschenen, waaruit volgt, dat de kieming verhinderd was. In de controle-series was de opkomst gelijkmatig en zonder dergelijke plekken.

Verder waren zeer veel planten uit de geïnfecteerde potten aanmerkelijk kleiner dan de planten uit de controle-series: sommige waren zelfs zeer klein te noemen. Dergelijke planten waren voorzien van een bruine, min of meer ingevreten plek op den wortelhals, welke kleiner of groter was al naar gelang van de mate van aantasting.

Ook werden plantjes gevonden, welke kort na het verschijnen boven den grond geheel door de schimmel waren aangetast, absoluut verdroogd waren en als een zwarte draad op de oppervlakte van den grond lagen.

Bij microscopisch onderzoek kon steeds *Phycomyceten*mycelium worden aangetoond. Fructificaties waren lang niet altijd te zien; in de weinige gevallen, dat zij aanwezig waren, konden zij met

groote zekerheid als die van *Pythium mamillatum* worden geïdentificeerd. Steeds waren zij dan binnen de aangetaste weefsels aan te treffen.

Het fijn vertakte wortelstelsel werd door deze soort niet aangetast. Er werden nooit verkleuringen waargenomen; ook kon nooit de aanwezigheid van de schimmel vastgesteld worden.

Enkele steekproeven leerden, dat bij terugisolatie uit de zieke planten steeds uitsluitend *Pythium mamillatum* werd verkregen. Terugisolaties, welke later op grootere schaal werden aangelegd, bevestigden deze uitkomst volkomen.

Met de voederbietvariëteit Collet Vert werden geheel dezelfde resultaten verkregen, zoowel in de potproeven met kleigrond als met bladgrond. Een overzicht van deze proeven bieden de tabellen XIII en XIV.

Ten einde in het bijzonder nog na te gaan, of ook bij deze variëteit

TABEL XIII

Overzicht der met *Pythium mamillatum* genomen infectieproeven op voederbieten (var. Collet Vert), in bladgrond

Datum van infectie	Geïnfecteerde bladgrond			Controlebladgrond		
	Opgekomen	Ziek	Gezond	Opgekomen	Ziek	Gezond
27-4-'28	20	14	6	22	0	22
27-4-'28	26	18	8	31	0	31
27-4-'28	27	21	6	25	0	25
27-4-'28	31	26	5	38	0	38
25-5-'28	22	19	3	31	2	29
25-5-'28	10	8	2	23	0	23
25-5-'28	15	12	3	31	1	30
25-5-'28	23	20	3	33	0	33

TABEL XIV

Overzicht der met *Pythium mamillatum* genomen infectieproeven op voederbieten (var. Collet Vert) in kleigrond

Datum van infectie	Geïnfecteerde kleigrond			Controlekleigrond		
	Opgekomen	Ziek	Gezond	Opgekomen	Ziek	Gezond
27-4-'28	27	22	5	29	0	29
27-4-'28	31	26	5	32	0	32
27-4-'28	31	23	8	30	0	30
27-4-'28	18	12	6	27	0	27
25-5-'28	28	19	9	25	2	23
25-5-'28	23	20	3	23	0	23
25-5-'28	9	7	2	20	1	19
25-5-'28	28	21	7	32	0	32

de kieming door deze schimmel al of niet wordt beïnvloed, hetgeen uit de twee tabellen niet duidelijk volgt, werden kiemingsproeven van 15 kluwens in gesteriliseerd zand (waaraan de 5 grondschemmels weer waren toegevoegd) aangezet, waarbij tegen ieder kluwen een niet geringe hoeveelheid haverhoutagarculture van *Pythium mamillatum* werd gebracht. De resultaten der kieming onder deze condities blijken uit tabel XV.

Uit deze gegevens blijkt, dat de kieming van de kluwens in bovenstaande proeven ongetwijfeld op ongunstige wijze is beïnvloed.

Samenvattend kan uit alle boven beschreven proefnemingen geconcludeerd worden, dat *Pythium mamillatum* zeker tot de schimmels behoort, welke bietenwortelbrand kunnen veroorzaken.

TABEL XV

Overzicht der met *Pythium mamillatum* genomen kiemingsproeven bij voederbieten (var. Collet Vert) in scherp zand

Datum van infectie	Geïnfecteerd scherp zand	Controle
	Opgekomen	Opgekomen
19-6-'28	21	30
19-6-'28	24	32
6-7-'28	16	30
6-7-'28	13	28

SUMMARY

1. A short account has been given of the isolation of fungi from the soil, after which the occurrence of species of the genera *Pythium* Prings., *Phytophthora* de Bary, and *Aphanomyces* de Bary has been discussed.
2. The results of investigations about the occurrence of species of the genera *Pythium*, *Phytophthora*, and *Aphanomyces* in vegetable mould (Holland) are given. The fungi were obtained by laying diseased or rotten roots of different plants in petri-dishes on oatmealagar after adequate purification of the roots from adhering soil-particles.
3. *Pythium de Baryanum* Hesse, *Pythium de Baryanum* Hesse var. *pelargonii* Braun, *Pythium intermedium* de Bary, and *Pythium irregulare* Buisman were very often isolated from diseased roots. *Pythium monospermum* Prings., *Pythium splendens* Braun, *Pythium artotrogus* (Mont.) de Bary, *Phytophthora cactorum* (Leb. & Cohn) Schröt. and a physiological form of *Aphanomyces euteiches* Drechsler (morphologically identical with the American pea-root parasite, but different from it in growth and parasitism) were less numerous in these isolations.

The name *Aphanomyces euteiches* Drechsler P. F. 1 is proposed for the American form, the name *Aphanomyces euteiches* Drechsler P. F. 2 for the Dutch form (isolated from pansies).

4. From damped-off sugar-beet seedlings, grown on claysoil, a new species of *Pythium* was isolated, which is distinguished from all other *Pythiums* by the occurrence of conical, often curved protuberances with obtuse top on the oogonia. Sexual reproduction and producing of swarmspores could easily be studied. A description of this species is given; the name *Pythium mamillatum* n. sp. is proposed. The place of this fungus within the genus *Pythium*, according to Butler's division, is discussed.

5. As many fungi were isolated from diseased roots of peas and beans, inoculation experiments in watercultures with these fungi on these leguminoses were undertaken. The very typical root rot of peas caused by *Pythium irregulare* was described extensively. *Pythium de Baryanum* and *Pythium de Baryanum* var. *pelargonii* too may be the cause of root rot of peas. The virulence of *Aphanomyces euteiches* P. F. 1, when attacking peas, was confirmed. On the other hand neither *Aphanomyces euteiches* P. F. 2 nor *Pythium intermedium* did attack peas at all.
Pythium irregulare always causes root rot of peas in acidified v. d. Crone's solution ($\text{pH} = 5,4$) while the attack in alkaline v. d. Crone's solution ($\text{pH} = 8,0$) was considerably less violent.
6. The root rots of beans, caused by *Pythium irregulare* and *Pythium de Baryanum* are described. The attack by *Pythium irregulare* does not vary from the attack of peas by this fungus, neither at $\text{pH} = 5,4$, nor at $\text{pH} = 8,0$.
7. *Aphanomyces euteiches* P. F. 2 is the cause of an acute root rot of pansies occurring in Holland. *Aphanomyces euteiches* P. F. 1 does not attack the roots of pansies at all.
8. *Pythium mamillatum* n. sp. has to be considered as one of the causes of damping-off of sugar-beet seedlings.

LITERATUURLIJST

- ADAMETZ, L., Untersuchungen über die niederen Pilze der Ackerkrume.
1886, Inauguraldissertation, Leipzig.
- ARRHENIUS, O., Försök till bekämpande av Betrodbrand.
1923, Meddel. Centr. Anst. f. försöksväsendet på jordbruksområdet,
240, 12 p.
- BECKWITH, T. D., Root and culm infections of wheat by soil fungi
in North-Dakota.
1911, Phytopathology, Vol. I, p. 170—176.
- BRAUN, H., Geranium stem rot, caused by *Pythium complectens* n. sp.
1924, Journ. Agr. Res., Vol. 29, p. 399—419.
- BRAUN, H., Comparative studies of *Pythium debaryanum* and two
related species from geranium.
1925, Journ. Agr. Res., Vol. 30, p. 1043—1062.
- BRIERLEY, W. B., „The occurrence of Fungi in the Soil” in
1923, „The Micro-Organisms of the Soil”, by Sir John Russell a. o.
- DE BRUYN, Helena L. G., The saprophytic life of *Phytophthora* in
the Soil.
1922, Med. Landbouwhoogeschool, Deel 24, Verh. 4, p. 1—38.
- BUDDIN, W., and WAKEFIELD, E., Blackleg of *Pelargonium* cuttings.
1924, Gard. Chron. 75.
- BUISMAN, C. J., Root rots caused by *Phycomycetes*.
1927, Med. Phytopath. Lab. „Willie Commelin Scholten”, Baarn,
11, p. 1—51.
- BUNTING, R. H., and DADE, H. A., Gold Coast Plant Diseases.
1924, Waterlow & Sons. Ltd., London, Dunstable and Watford.
- BUSSE, W., PETERS, L., und ULRICH, P., Ueber das Vorkommen
von Wurzelbranderregern im Boden.
1913, Arb. Biol. Anst. f. Land- u. Forstw., Bd. 8, p. 260—302.
- BUSSE, W., und ULRICH, P., Ueber das Vorkommen von Wurzel-
branderregern auf der Rübensaat.
1908, Arb. Biol. Anst. f. Land- u. Forstw., Bd. 6, p. 373—384.
- / BUTLER, E. J., An account of the genus *Pythium* and some Chy-
tridiaceae.
1907, Mem. Dept. Agr. India, Bot. Ser., Vol. 1, No. 5, p. 1—160.
- CARNE, W. M., A brown rot of citrus in Australia.
1925, Journ. Roy. Soc. Western Australia, Vol. 12, p. 13—41.
- CARPENTER, C. W., Morphological Studies of the *Pythium*-like fungi
associated with root rot in Hawaii.
1921, Bull. Exp. St. Hawaiian Sugar Planters Association, Bot. Ser.,
Vol. 3, Part 1, p. 59—65.
- CLINTON, G. P., Part V. Report of the Station Botanist.
1907, Report of the Conn. Agr. Exp. St. for the year 1906, p. 326.
- CLINTON, G. P., New or unusual plant injuries and diseases found in
Connecticut, 1916—1919.
1920, Bull. 222, Conn. Agr. Exp. St., p. 397—482.

- DALE, E., On the fungi of the soil.
 1912, Ann. Mycol., Bd. 10, p. 452—477.
 1914, Ann. Mycol., Bd. 12, p. 33—62.
- DRECHSLER, Ch., A new blossom-end decay of watermelons caused by an undescribed species of *Pythium*.
 1923, Phytopathology, Vol. 13, p. 57 (Abstract).
- DRECHSLER, Ch., Root rot of peas in the middle Atlantic States.
 1925, Phytopathology, Vol. 15, p. 110—114.
- DRECHSLER, Ch., The cottony leak of eggplant fruit caused by *Pythium aphanidermatum*.
 1926 a, Phytopathology, Vol. 16, p. 47—49.
- DRECHSLER, Ch., Foot rot of *Lilium candidum* and *Lilium pyrenaicum* caused by *Phytophthora cactorum*.
 1926 b, Phytopathology, Vol. 16, p. 51—53.
- DRECHSLER, Ch., Two water molds causing tomato injury.
 1927, Journ. Agr. Res., Vol. 34, p. 287—296.
- DRECHSLER, Ch., The occurrence of *Aphanomyces cochlioides* n. sp. on sugar beets in the United States.
 1928, Phytopathology, Vol. 18, p. 149 (Abstract).
- DUFRENOY, J., La vie parasitaire et la vie saprophytique des *Phytophthorées*.
 1926, Rev. gén. des Sciences, 15 mars 1926.
- EDSON, H. A., Seedling diseases of sugar beets and their relation to root-rot and crown-rot.
 1915 a, Journ. Agr. Res., Vol. 4, p. 135—168.
- EDSON, H. A., *Rheosporangium aphanidermatum*, a new genus and species of fungus parasitic on sugar beets and radishes.
 1915, Journ. Agr. Res., Vol. 4, p. 279—291.
- FITZPATRICK, H. M., Generic concepts in the *Pythiaceae* and *Blastocladiaceae*.
 1923, Mycologia, Vol. 15, p. 166—173.
- GILMAN, J. C., and ABBOTT, E. V., A Summary of the Soil Fungi.
 1927, Iowa State College Journal of Science.
- GODDARD, H. N., Can fungi living in agricultural soil assimilate free nitrogen?
 1913, Bot. Gazette, Vol. 56, p. 249—305.
- GODFREY, G. H., A *Phytophthora* footrot of rhubarb.
 1923, Journ. Agr. Res., Vol. 23, p. 1—26.
- HAENSELER, C. M., Pea root rot studies.
 1925, 45th Ann. Rep. New Jersey Agr. Exp. St., p. 403—414.
- HAENSELER, C. M., Studies on the root rot of Peas (*Pisum sativum*) caused by *Aphanomyces euteiches* Drechsler.
 1926, 46th Ann. Rep. New Jersey Agr. Exp. St., p. 467—484.
- HAGEM, O., Untersuchungen über Norwegische Mucorineen. I.
 1907, Vidensk. Selsk. I, Math. Naturw. Klasse, Bd. 7, p. 1—50.
- HAGEM, O., Neue Untersuchungen über Norwegische Mucorineen.
 1910, Ann. Mycol., Bd. 8, p. 265—286.
- HARTER, L. L., and WHITNEY, W. A., Mottle necrosis of sweet potatoes.
 1927, Journ. Agr. Res., Vol. 34, p. 893—914.
- HARTLEY, C., Damping-off in forest nurseries.
 1921, Bull. 934, Un. St. Dept. Agr.
- HAWKINS, L. A., The disease of potato known as „leak”.
 1916, Journ. Agr. Res., Vol. 6, p. 627—639.
- HOTSON, J. W., and HARTGE, L., A disease of tomato caused by *Phytophthora mexicana* sp. nov.

- 1923, *Phytopathology*, Vol. 13, p. 520—531.
- VAN ITERSON JR., C. J., Die Zersetzung von Zellulose durch aërobie Microorganismen.
- 1904, *Centr. Bl. f. Bakt., und Inf.*, 2e Abt. Bd. 11, p. 689—698.
- s'JACOB, J. C., Anorganische beschadigingen bij *Pisum sativum* L. en *Phaseolus vulgaris* L. (Dissertatie, Utrecht).
- 1927, Hollandia-drukkerij, Baarn.
- JENSEN, C. N., *Fungous Flora of the Soil*.
- 1912, *N. Y. (Cornell) Agr. Exp. St. Bull.* 315, p. 415—501.
- JOCHEMS, S. C. J., Parasitaire Stengilverbranding bij Deli-tabak.
- 1927, *Med. Deli-Proefstation*, 2de serie, no. 49.
- JOHNSON, J., Tobacco diseases and their control.
- 1924, *Un. St. Dept. of Agric., Dept. Bull.* 1256.
- JONES, F. R., Mycorrhizal fungi in the roots of legumes and in some other plants.
- 1924, *Journ. Agr. Res.*, Vol. 29, p. 459—470.
- JONES, F. R., Resistance of peas to rootrot.
- 1926, *Phytopathology*, Vol. 16, p. 459—465.
- JONES, F. R., and DRECHSLER, Ch., Root rot of peas in the United States caused by *Aphanomyces euteiches* (n. sp.).
- 1925, *Journ. Agr. Res.*, Vol. 30, p. 293—325.
- JONES, F. R., and LINFORD, M. B., Pea Disease Survey in Wisconsin.
- 1925, *Res. Bull.* 64, *Agr. Exp. St., Univ. of Wisconsin, Madison*, p. 1—30.
- KENDRICK, J. B., Radish black-root caused by *Aphanomyces raphani* n. sp.
- 1927, *Phytopathology*, Vol. 17, p. 43 (Abstract).
- KOLTHOFF, I. M., Der Gebrauch von Farbenindikatoren.
- 1923, Julius Springer, 2e Auflage.
- KYROPOULUS, P., Einige Untersuchungen über das Umfallen der Keimpflanzen, besonders der Kohlarten.
- 1916, *Centr. Bl. f. Bakt., Par., und Inf.*, 2e Abt. Bd. 45, p. 244—257.
- LAFFERTY, H. A., and PETHYBRIDGE, G. H., On a *Phytophthora* parasitic on apples which has both amphigynous and paragynous antheridia; and on allied species which show the same phenomena.
- 1922, *Scient. Proc. Roy. Dubl. Soc.*, Vol. 17, No. 4.
- LEHMAN, S. G., Soft rot of pepper fruits.
- 1921, *Phytopathology*, Vol. 11, p. 85—87.
- LEHMAN, S. G., and WOLF, F. A., *Pythium* root rot of soy bean.
- 1926, *Journ. Agr. Res.*, Vol. 33, p. 375—380.
- LENDNER, A., *Les Mucorinées de la Suisse*.
- 1908, Berne.
- LENDNER, A., *Nouvelles contributions à la flore cryptogamique Suisse*.
- 1910, *Bull. Soc. Bot. Genève*, S. 2, T. 2, p. 78—81.
- LEONIAN, L. H., Stem and fruit blight of peppers caused by *Phytophthora capsici* sp. nov.
- 1922, *Phytopathology*, Vol. 12, p. 401—408.
- LEONIAN, L. H., Physiological studies of the genus *Phytophthora*.
- 1925, *Am. Journ. of Bot.*, Vol. 12, p. 444—498.
- LINFORD, M. B., Additional hosts of *Aphanomyces euteiches*, the pea root rot fungus.
- 1927, *Phytopathology*, Vol. 17, p. 133—134.
- LINFORD, M. B., and VAUGHAN, R. E., Root rot of peas. Some ways to avoid it.
- 1925, *Wisc. Agr. Coll. Exten. Serv. Circ.* 188.

- VAN LUIJK, A., Pilzkulturen in feuchten Kammern.
1927, Med. Phytopath. Lab. „Willie Commelin Scholten”, 11, p. 58—59.
- MAC LEAN, H. C., and WILSON, G. W., Ammonification studies with soil fungi.
1914, N. Y. Agr. Exp. St. Bull. 270.
- VAN DER MEER, J. H. H., Vlasbrand (Brûlure du lin).
1928, Tijdschrift over Plantenziekten, 34e jaargang, no. 4, p. 126—146.
- MITRA, M., and SUBRAMANIAM, L. S., Fruit-rot diseases of cultivated Cucurbitaceae caused by *Pythium aphanidermatum*.
1928, Mem. Dept. Agr. India, Bot. Ser., Vol. 15, no. 3.
- MOORE, E. S., Diseases of Virginian Tobacco in South Africa.
1926, Journ. Dept. Agr. S. Africa, XII, 5, p. 428—455.
- NAMYSLOWSKI, B., Studien über Mucorineen.
1910, Bull. Acad. Sci. Cracovie, Class Math. et Nat., ser. B., p. 477—520.
- NAMYSLOWSKI, B., *Zygorhynchus Vuilleminii*, une nouvelle Mucorinée isolée du sol et cultivée.
1910, Ann. Mycol., Bd. 8, p. 152—155.
- NIKITINSKY, J., Ueber die Zersetzung der Huminsäure durch physikalisch-chemische Agentien und durch Microorganismen.
1902, Jahrb. f. Wiss. Bot., Bd. 37, p. 365—420.
- OSTERWALDER, A., Die Phytophthora-fäule beim Kernobst.
1906, Centr. Bl. f. Bakt., Par., und Inf., 2e Abt., Bd. 15, p. 435—440.
- OUDEMANS, C. A. J. A., et KONING, C. J., Prodrome d'une flore mycologique obtenu par la culture sur gélatine de la terre humeuse du Spanderswoud près de Bussum.
1901, Arch. Néerl. d. Sci. Exact. et Nat., Vol. 2, p. 266—298.
- PAINE, F. S., Studies on the fungous flora of virgin soils.
1927, Mycologia, Vol. 19, p. 248—267.
- PAPE, H., Ueber eine durch *Pythium de Baryanum* Hesse verursachte Stecklingskrankheit der Nelken.
1925, Die kranke Pflanze, 11, 4, p. 64—68.
- PETERS, L., Zur Kenntnis des Wurzelbrandes der Zuckerrübe.
1906, Ber. d. D. Bot. Ges., Bd. 24, p. 323—329.
- PETERS, L., Eine häufige Stecklingskrankheit der Pelargonien.
1910, Gartenflora, 59 Jahrg., Heft 10, p. 209—213.
- PETERS, L., Ueber die Erreger des Wurzelbrandes.
1913, Arb. Biol. Anst. f. Land- u. Forstw., Bd. 8, p. 211—259.
- PETERS, L., und SCHWARZ, Krankheiten und Beschädigungen des Tabaks.
1912, Mitt. Kais. Biol. Anst. f. Land- u. Forstw..
- PETHYBRIDGE, G. H., On the rotting of potato tubers by a new species of *Phytophthora* having a method of sexual reproduction hitherto undescribed.
1913, Scient. Proc. Roy. Dubl. Soc., Vol. 13, no. 35, p. 529—565.
- PETHYBRIDGE, G. H., Fungous and allied diseases of crops.
1926, Min. Agric., Misc. Publ. 52.
- PETRI, L., Studi sulla malattia del castagni, detta „dell' inchiostro”.
1918, Ann. del R. Ist. sup. forest. naz. Vol. 3.
- PETRI, L., Sul modo di diffondersi del mal dell' inchiostro del Castagno e sui mezzi più efficaci per combatterlo.
1923, Nuovi Ann. Min. Agric. III, p. 3—19.
- PETRI, L., Un batterio parassita di alcune *Phytophthoraceae*.
1927, Bol. della R. Stazione di Pat. Veg., Anno 7, N. S., Ott. — Dec. 1927.

- PFÄLTZER, A. C. B., Het vrucht- en bladvuur van de komkommer, *Cladosporium cucumerinum* Ell. et Arth. en *Corynespora melonis* (Cooke) Lindau. Dissertatie Utrecht.
1927, Hollandia-drukkerij, Baarn.
- VAN POETEREN, N., Verslag over de werkzaamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in de jaren 1920 en 1921.
1922, Juli 1922, Wageningen.
- RANDS, R. D., Streepkanker van kaneel, veroorzaakt door *Phytophthora cinnamomi* n. sp.
1922, Med. Inst. voor Plantenziekten, No. 54, 1—54.
Report of the Sixteenth meeting of the American Phytopathological Society.
1925, *Phytopathology*, Vol. 15, p. 316.
- ROSE, D. H., Leather rot of strawberries.
1924, *Journ. Agr. Res.*, Vol. 28, p. 357—375.
- ROSE, D. H., and LINDEGREN, C. C., *Phytophthora* rot of pears and apples.
1925, *Journ. Agr. Res.*, Vol. 30, p. 463—468.
- ROSENBAUM, J., *Phytophthora* disease of Ginseng.
1915, Bull. 363, Cornell Univ. Agr. Exp. St., p. 65—106.
- ROSENBAUM, J., Studies of the genus *Phytophthora*.
1917, *Journ. Agr. Res.*, Vol. 8, p. 233—276.
- SACCARDO, P. A., *Sylloge Fungorum*.
1888, Vol. 7, pars 1, p. 238.
- SALMON, E. S., and WARE, W. M., Root rot of *Richardia*.
1927, *The Gardeners' Chronicle*, Vol. 34, p. 287—296.
- SAWADA, K., and CHEN, C. C., On the putrefaction disease of *Antirrhinum majus*.
1926, *Journ. Nat. Hist. Soc. Formosa*, 16, p. 199—212. (Abstract in *Jap. Journ. of Bot.*, Vol. III, 4, p. 100—109, 1927).
- SCHRÖTER, J., „*Saprolegninae*” in „*Die natürlichen Pflanzenfamilien*” 1er Teil, Abt. I, p. 93—105.
1897, W. Engelmann, Leipzig.
- SMITH, R. E., and SMITH, E. H., A new fungus of economic importance.
1906, *Bot. Gazette*, Vol. 42, p. 215—221.
- SOLBERG, L., Sygdom paa Erter.
1925, *Havedyrkningens Venners Medlemsskrift*, 4.
- SOLBERG, L., Visnesyke paa erter og blomstererter.
1926 a, *Nordisk Jordbrugsforskning*, 4—7 Hefte, p. 698—703.
- SOLBERG, L., Syke Stedmorsblomster.
1926 b, *Havedyrkningens Venners Medlemsskrift*, H. 2.
- SOLBERG, L., Notis om de nyeste resultater av undersøkelse over ertenens visnesyke.
1927, *Nordisk Jordbrugsforskning*, p. 306—307.
- STEWART, F. C., Notes on New York plant diseases II.
1919, Bull. 463, N. Y. Agr. Exp. St. Genova, N. Y.
- SUBRAMANIAM, L. S., A *Pythium* disease of ginger, tobacco, and papaya.
1919, *Mem. Dept. Agr. India*, Vol. 10, No. 4, p. 181—194.
- TISDALE, W. B., and KELLEY, J. G., A *Phytophthora* disease of tobacco.
1926, Bull. 179, Univ. of Florida Agr., Exp. St.
- Verslagen en Mededeelingen van den Plantenziektenkundigen Dienst te Wageningen, No. 47.
1927, April 1927, Wageningen.

- WAKSMAN, S. A., Soil fungi and their activities.
 1916, Soil science, Vol. 2, no. 2.
 WAKSMAN, S. A., Principles of Soil Microbiology.
 1927, Baillière, Tindall and Cox, London.
 WARDLAW, C. W., The strawberry disease in Lanarkshire.
 1927 a, Ann. of Appl. Biol., Vol. 14, p. 197—201.
 WARDLAW, C. W., Note on the occurrence of *Pythium proliferum* de
 Bary on the roots of the strawberry.
 1927 b, Ann. of Bot., Vol. 40, p. 817—818.
 ZUTAVERN, Wurzelbrand bei Rüben.
 1926, Deutsche Landw. Presse, LIII, 27, p. 342.

STELLINGEN

I.

Ten onrechte acht M. N. Walker de identiteit van de veroorzakers der mozaiekziekten van tomaat en komkommer waarschijnlijk.

(Phytopathology, Vol. 16, p. 431—458, 1926).

II.

Het verdient aanbeveling de veroorzakers van virusziekten in te deelen volgens het door Johnson aangegeven schema.

(Wisc. Agr. Exp. St., Res. Bull. 76, Febr. 1927).

III.

De wijze, waarop Leonian het geslacht *Phytophthora* naar physiologische kenmerken indeelt, is verkeerd.

(Am. Journ. of Bot. Vol. 12, p. 444—498, 1925).

IV.

Voor den groei van schimmels uit het geslacht *Aspergillus* is zink een onontbeerlijk element.

V.

Asparaginevorming bij planten moet als physiologisch analoon van ureumvorming bij hogere dieren worden beschouwd.

VI.

Het verdient aanbeveling het geslacht *Sagenopteris* niet bij de Marsiliaceae in te deelen, doch bij de Caytoniaceae.

VII.

Terecht beschouwt Thomas de Caytoniales als angiosperme planten.

VIII.

De argumenten, welke Demoll aanvoert voor zuurstofadsorptie in tracheeën van insecten, zijn onvoldoende.

INHOUD

	blz.
INLEIDING	1
Hoofdstuk I. HET VOORKOMEN VAN TOT DE GESLACHTEN PYTHIUM, PHYTOPHTHORA EN APHANOMYCES BEHOORENDE SCHIM- MELS IN BLADGROND.	
§ 1. Literatuuroverzicht	3
§ 2. Eigen onderzoekingen	22
Hoofdstuk II. WORTELROT VAN ERWTEN (PI- SUM SATIVUM L.).	
§ 1. Literatuuroverzicht	51
§ 2. Eigen onderzoekingen	54
Hoofdstuk III. WORTELROT VAN BOONEN (PHASEOLUS VULGARIS L.).	
Eigen onderzoekingen	71
Hoofdstuk IV. WORTELROT VAN VIOLEN (VIOLA TRICOLOR HYBRIDE).	
§ 1. Literatuuroverzicht	75
§ 2. Eigen onderzoekingen	75
Hoofdstuk V. BIETENWORTELBRAND.	
§ 1. Literatuuroverzicht	79
§ 2. Eigen onderzoekingen	81
SUMMARY	87
LITERATUURLIJST	89

INHOUD

INLEIDING

Hoofdstuk I. HET VOORKOMEN VAN TOT DE
GESACHTEN *PHYTHUM PHYTOPHTHORA*
EN *APHANOMYCES* BEHOORENDE SCHIM-
MELS IN BLADGROND

- 1. Inleiding
- 2. De ziekteverschijnselen

Hoofdstuk II. WORTELROT VAN ERWTEN (*PHASOLUS VULGARIS*)

- 1. Inleiding
- 2. De ziekteverschijnselen

Hoofdstuk III. WORTELROT VAN BOONEN
(*PHASOLUS VULGARIS*)

- 1. Inleiding

Hoofdstuk IV. WORTELROT VAN VIOLEN
(*VIOLA TRICOLOR* SYRIACA)

- 1. Inleiding
- 2. De ziekteverschijnselen

Hoofdstuk V. BIETTERWORTELROT

- 1. Inleiding
- 2. De ziekteverschijnselen

SUMMARY

LITERATUURLIJST

INHOUD

	blz.
INLEIDING	1
H o o f d s t u k I. HET VOORKOMEN VAN TOT DE GESLACHTEN PYTHIUM, PHYTOPHTHORA EN APHANOMYCES BEHOORENDE SCHIM- MELS IN BLADGROND.	
§ 1. Literatuuroverzicht	3
§ 2. Eigen onderzoekingen	22
H o o f d s t u k II. WORTELROT VAN ERWTEN (PI- SUM SATIVUM L.).	
§ 1. Literatuuroverzicht	51
§ 2. Eigen onderzoekingen	54
H o o f d s t u k III. WORTELROT VAN BOONEN (PHASEOLUS VULGARIS L.).	
Eigen onderzoekingen	71
H o o f d s t u k IV. WORTELROT VAN VIOLEN (VIOLA TRICOLOR HYBRIDE).	
§ 1. Literatuuroverzicht	75
§ 2. Eigen onderzoekingen	75
H o o f d s t u k V. BIETENWORTELBRAND.	
§ 1. Literatuuroverzicht	79
§ 2. Eigen onderzoekingen	81
SUMMARY	87
LITERATUURLIJST	89

D
Ut

1