

DR J. GROSJEAN

Onderzoeker bij het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek

CHEMOTHERAPIE BIJ PLANTENZIEKTEN

The chemotherapy of plant diseases

INLEIDING

Wanneer wij tegenwoordig het woord „chemotherapie” horen bezigen in verband met plantenziekten, moeten wij in aanmerking nemen, dat de betekenis van dit woord in de laatste jaren enige beperking heeft ondergaan. „Chemotherapie” wil niets anders zeggen dan: geneesmethode, waarbij gebruik wordt gemaakt van chemicaliën, in tegenstelling met fysische therapie. Strikt genomen is dus ook bij plantenziekten reeds chemotherapie toegepast sinds zwavel, Bordeauxse pap en andere bestrijdingsmiddelen in gebruik kwamen. Al deze middelen oefenden echter hun werking uit aan het oppervlak van de plant. Waarschijnlijk was hun werking meer beschuttend dan genezend; ziekteverwekkers, die zich binnen in de plant bevonden, waren er onbereikbaar voor. Dat plantenziekten ook te bestrijden zouden zijn door middel van stoffen, die in het inwendige van de plant doordringen en daar hun genezende werking uitoefenen, is een denkbeeld, dat weliswaar volstrekt niet nieuw is, doch waarvan de mogelijkheden tot verwezenlijking pas de laatste tien jaar intensief worden onderzocht. Tot deze inwendige ziektebestrijding heeft het spraakgebruik nu de betekenis van het woord „chemotherapie” beperkt.

De inwendige therapie heeft dus bij plantenziekten pas laat haar intrede gedaan, in tegenstelling tot de menselijke en dierlijke geneeskunde, waar inwendige behandeling door geneesmiddelen sinds onheuglijke tijden tot de dagelijkse praktijk behoort. Verschillende oorzaken hebben hiertoe geleid: planten hebben geen bloedsomloop en missen dus het mechanisme, dat bij dieren een toegediende stof in korte tijd door het gehele lichaam verspreidt. Immunitetsreacties, waarmee het dierlijk organisme de strijd tegen ziekteverwekkers kan voeren, zijn bij planten onbekend. Dientengevolge is een plant veel moeilijker toegankelijk voor interne therapie dan een dier. De betrekkelijk geringe waarde van een plant als individu heeft bovendien de neiging tot experimenteren in deze richting niet aangemoedigd. Tot vóór een tiental jaren heeft de wetenschap zich dan ook slechts sporadisch met dit onderwerp bezig gehouden; langzamerhand echter begint men tot de overtuiging te komen, dat op dit gebied wellicht toch nog mogelijkheden liggen, speciaal ten opzichte van ziekten, die tot nu toe niet of zeer moeilijk te bestrijden waren. Dat men hierbij in de eerste plaats aandacht heeft besteed aan boomziekten ligt voor de hand, aangezien deze onder de planten de grootste individuele waarde vertegenwoordigen.

(1) 673

HISTORIE

Het denkbeeld, bijzondere stoffen door planten te doen opnemen teneinde de eigenschappen van de plant te beïnvloeden, is al heel oud. Reeds vijf eeuwen geleden trachtte LEONARDO DA VINCI vergiftige vruchten te kweken door arsenicumhoudende oplossingen in de stam van bomen te brengen, en volgens een Arabische schrijver werden in de 12de eeuw al pogingen gedaan om bloemen te kleuren en vruchten een bijzondere smaak te verlenen door middel van bepaalde stoffen, die men de bomen liet opnemen.

De eerste experimenten, waarbij het welzijn van de boom op de voorgrond stond, dateren uit de tweede helft van de vorige eeuw; deze hadden betrekking op de genezing van gebrekziekten. Omstreeks 1880 trachtte SACHS, met enig succes, verschijnselen van ijzerebrek bij bomen te doen verdwijnen door gaten in de stammen te boren en hierdoor oplossingen van ijzertzouten te laten opzuigen. Op dit gebied is later nog veel werk gedaan, in het bijzonder heeft ROACH (28) zich verdienstelijk gemaakt door de methodes te perfectionneren, waardoor deze geschikt werden gemaakt voor een snelle diagnose van gebreksverschijnselen en ook voor de therapie. Ook het werk van VAN KOOT te Naaldwijk moet hier worden genoemd (18).

Bestrijding van parasitaire ziekten door interne chemotherapie is een moeilijker opgave dan bestrijding van gebrekziekten; in het bijzonder worden hierbij aan de goede verdeling van de toegediende stoffen over de gehele boom de hoogste eisen gesteld. Het wetenschappelijk onderzoek op dit gebied is dan ook van later datum, hoewel reeds eeuwen geleden pogingen werden gedaan, bomen onvatbaar voor insectenaantasting te maken, o.a. door een gat in de stam te boren en hier peper in te brengen. Het eerste ernstige werk in deze richting geschiedde omstreeks 1900 en had ook betrekking op bestrijding van insectenplagen. Groot opgezette onderzoekingen dateren echter eerst van de laatste tien jaar; behalve insecten tracht men ook schimmels, bacteriën en viren te bestrijden door chemotherapie, en zoals wij zullen zien, niet geheel zonder succes. Dat men ten slotte deze weg is ingeslagen, is waarschijnlijk te danken aan het inzicht, dat de resistentie, die bepaalde planten van nature bezitten tegen sommige ziekteverwekkers, berust op het gehalte aan bepaalde chemische stoffen van deze planten. De resistentie van sommige uiensoorten tegen aantasting door *Colletotrichum circinans* is hiervan een bekend voorbeeld (22). Het denkbeeld, dat deze resistentie kunstmatig te verwekken door toediening van willekeurig gekozen stoffen, lag dus voor de hand.

ONDERZOEKINGSMETHODEN

De meeste onderzoekingen hebben tot nu toe een zuiver empirisch karakter gehad; men trachtte bij bomen, die reeds aan een of andere ziekte leden, de ziektesymptomen te doen verdwijnen door een chemotherapeutische behandeling, of wem paste deze behandeling toe op bomen, die ongeveer tegelijkertijd werden geïnoculeerd met een ziekteverwekker en nam dan waar of de ziektesymptomen uitbleven of in mindere mate optraden dan zonder de behandeling het geval zou zijn

geweest. De twee voornaamste problemen worden hierbij gevormd door de keuze van de toe te passen stof en de methode van toediening.

Wat de keuze van de stof betreft, kan men zeggen, dat stoffen met sterk phytocide werking natuurlijk onbruikbaar zijn, maar dat overigens de keus vrijwel onbepert is. Men denkt natuurlijk in de eerste plaats aan stoffen waarvan bekend is, dat zij fungicide of bactericide werking hebben, of wel virus inactiveren. Ook andere stoffen kunnen echter chemotherapeutisch werkzaam zijn; deze werkzaamheid kan verklaard worden doordat zij toxinen, die door de parasiet worden afgescheiden, onwerkzaam maken of wel doordat zij de hogere plant op een zodanige wijze beïnvloeden, dat de resistentie wordt verhoogd. Zo is bijvoorbeeld bekend dat malachietgroen de vermeerdering van virus in tabaksbladeren kan verhinderen, hoewel het in vitro deze werking op het virus niet uitoefent, zoals TAKAHASHI aantoonde(34).

Of een stof wegens phytocide of phytotoxische werking moet worden uitgesloten, is een punt van onderzoek op zichzelf. ZENTMEIJER, HORSFALL en WALLACE (41) hebben bij hun werk over de iepenziekte de phytotoxische werking van verscheidene stoffen onderzocht, zowel door deze in de bomen te brengen als door afgesneden bebladerde takken in oplossingen van deze stoffen te zetten. Deze laatste methode is veel eenvoudiger en minder kostbaar, maar geeft geen volledige aanwijzing over de al of niet bruikbaarheid van een stof. Zet men bijvoorbeeld afgesneden takken in een 0,1 % salicylzuuroplossing, dan ziet men al spoedig de bladeren verdorren, terwijl bomen vrij grote hoeveelheden van een 0,2 % oplossing kunnen opzuigen zonder merkbare schade. Men behoeft dus in dit opzicht niet te angstvallig te zijn en daar verder niet van te voren valt te zeggen of van een bepaalde stof op grond van zijn eigenschappen geen chemotherapeutische werking is te verwachten, komt een enorm groot aantal stoffen voor beproeving in aanmerking. De lijst van stoffen, die in de onderzoeken zijn betrokken, heeft dan ook reeds een respectabele lengte bereikt, en zal ongetwijfeld in de toekomst nog heel wat langer worden.

Wat de wijze van toediening betreft, is het aantal mogelijkheden veel kleiner. De ideale manier zou zijn, de planten de gelegenheid te geven de toe te dienen stoffen langs natuurlijke weg, dus door de wortels op te nemen. Bij de onderzoeken is men hier echter pas laat mee begonnen, en de redenen hiervoor liggen voor de hand: wil men een stof bij de wortels van een plant brengen, dan zal men deze in vaste of opgeloste toestand op of in de aarde moeten brengen, en het is duidelijk, dat hierbij allerlei reacties van de stof en de bodembestanddelen ten opzichte van elkander kunnen optreden, die ten gevolge hebben, dat de wortels in het geheel niet worden bereikt. Verder weten wij ook niet of de wortels de toegevoegde stof al of niet opnemen, en men krijgt aldus bij het onderzoek met twee belangrijke onbekende factoren te maken. Men heeft dan ook lange tijd zijn toevlucht genomen tot het boren van gaten in de stammen van bomen waaraan buizen of slangen werden verbonden, waardoor de stoffen in oplossing uit een reservoir kunnen worden opgezogen en aldus direct in de sapstroom kunnen overgaan. Ook kunnen vaste stoffen in de boorgaten worden gebracht, waarna het gat wordt afgesloten; men laat het dan aan de sapstroom in de boom over de stof op te lossen en verder te vervoeren. Voor deze wijzen van toediening heeft zich het woord „injectie” ingeburgerd, hoewel dit woord hier niet geheel op zijn plaats is. Analogie met de medische behandeling, die injectie wordt genoemd, bestaat echter in zoverre, dat de opname van de stof niet geschiedt langs natuurlijke weg, doch via een speciaal hiervoor gemaakte wond.

Het voordeel van deze methode is dat men, althans wanneer men met vloeistoffen werkt, zeker weet dat de stof die men wil toedienen, ook werkelijk door de boom is opgenomen. Hier staan echter belangrijke nadelen tegenover. In de eerste plaats is de verwonding van de boom, hoewel in de regel niet ernstig, toch niet geheel onbedenklijk, vooral wanneer de bewerking enige malen moet worden herhaald. Dit laatste is dikwijls noodzakelijk, daar de snelheid waarmee de vloeistof door de boom wordt opgezogen gewoonlijk spoedig afneemt, doordat de aangeboorde houtvaten afgesloten worden. Na enige tijd is dan de opname zó gering geworden, dat een nieuw gat moet worden geboord. De omvang van de benodigde apparatuur levert moeilijkheden op bij proeven op ver van het laboratorium gelegen plaatsen; lekkage bij de uitmonding van het boorgat kan op hoogst onaangename wijze storend optreden. Deze laatste bezwaren vervallen, wanneer men geen vloeistoffen doch vaste stoffen in de boorgaten brengt; hiervoor worden wel vaste stoffen in gelatine capsules of in pastillevorm gebruikt. De proeven worden hierdoor belangrijk vereenvoudigd; men ziet dan echter niet in hoeveel tijd de ingebrachte stof wordt opgelost.

Een groot nadeel van deze injectiemethoden is verder, dat de verdeling van de stoffen over de boom over het algemeen veel te wensen overlaat. Het vervoer heeft bijna uitsluitend plaats door de aangeboorde vaten, dus in longitudinale richting; verplaatsing in zijdelingse richting is van weinig betekenis. Men kan dus niet met één boorgat volstaan, doch zal verscheidene gaten moeten boren, wil men een enigszins gelijkmatige verdeling krijgen, en zelfs dan nog loopt men de kans dat sommige delen van de boom niet worden bereikt. De verschillende chemicaliën gedragen zich in dit opzicht niet gelijk; door ZENTMEIJER (41) werd gevonden, dat borax zich vrij gemakkelijk over een boom verdeelt, terwijl andere stoffen veel meer neiging hebben op bepaalde plaatsen gelocaliseerd te blijven. Van koper en kwik is bekend, dat zij door verhoude cellen worden vastgehouden en zich dientengevolge slechts over kleine afstanden verplaatsen; wanneer men zeer verdunde oplossingen gebruikt.

Men heeft dan ook naar andere methoden van toediening gezocht, men heeft twijgen en takken afgesneden en oplossingen door het snijvlak laten opzuigen; men heeft ook intacte bladeren in oplossingen gedompeld en geconstateerd, dat deze inderdaad sommige stoffen kunnen opnemen, welke dan over zekere afstand kunnen worden vervoerd. Al deze methoden hebben echter voor de praktische therapie tot nu toe weinig opgeleverd, en ten slotte is men gekomen tot de methode, die eigenlijk het meest voor de hand zou liggen, n.l. de opname door de wortels¹⁾. Men is hiermee begonnen, nadat het duidelijk was geworden dat het opnamevermogen van wortels voor verschillende stoffen veel groter is dan men vroeger meende, en volstrekt niet beperkt is tot water en anorganische ionen. Op deze wijze verkrijgt men een veel betere verdeling van de chemicaliën over de gehele boom dan met de

¹⁾ Reeds omstreeks 1936 werden in Duitsland door GASSNER en HASSEBRAUK onderzoekingen gedaan over roestbestrijding in graanplanten door middel van stoffen die door de wortels werden opgenomen. Naar aanleiding van dit werk werden in 1939 dergelijke proeven in de Verenigde Staten gedaan door HART en ALLISON (42).

injectiemethoden. Vooral wanneer de chemicaliën in oplossing in de grond worden gespoten, krijgt men goede resultaten, zoals in het werk van DIMOND (5) over de iepenziekte is gebleken. In de plantenteelt zonder aarde is deze methode heel gemakkelijk toe te passen.

Het aantal problemen is niet uitgeput met de keuze van de stof en de methode van toediening; het jaargetijde waarin een behandeling de meeste uitwerking heeft, vormt ook een belangrijk punt van onderzoek.

TOEPASSINGEN VAN DE CHEMOTHERAPIE

Gebrekziekten

Tegen de gebrekziekten heeft de chemotherapie het eerst succes opgeleverd; de genezing van chlorose bij perziken door „injectie” van vast ijzer- of mangaancitraat, welke methode door ir VAN KOOT te Naaldwijk is uitgewerkt (18), is van algemene bekendheid. Ook zinkgebrek is op deze wijze te verhelpen; hiervan zijn zeer kleine hoeveelheden reeds voldoende, zoals blijkt uit het feit, dat het aan CHANDLER (3) gelukte de verschijnselen van zinkgebrek bij bomen te doen verdwijnen door zinken spijkers in de stam te slaan. Stip in appels kan worden bestreden door injectie van enkele grammen borax per boom (26).

Hoewel met de boorgatmethode hier resultaten van betekenis zijn bereikt, zoekt men toch ook voor de gebrekziekten naar andere behandelingen, waarbij geen verwondingen nodig zijn. Het is gebleken dat ook bespuiting met de chemotherapeutica gunstige uitwerking heeft; de ervaring zal moeten uitmaken welke methode voor de practijk het meest geschikt is. Bespuiting met mangaansulfaat heeft zelfs reeds verbetering ten gevolge indien de bespuiting plaats heeft nog vóór het uitlopen van de bladeren (39).

Het feit, dat ook de intacte bovengrondse delen van de planten het vermogen bezitten, chemicaliën in zodanige hoeveelheden op te nemen, dat ziekteverschijnselen hierdoor verdwijnen, is van grote betekenis voor de chemotherapie in het algemeen; wellicht kan hiervan ook bij andere ziekten gebruik worden gemaakt.

Insectenplagen

Het denkbeeld bomen en struiken voor insecten ongenietbaar of vergiftig te maken door middel van stoffen, die men in de stam of in de takken bracht, is al eeuwen oud en talrijke verhalen over wonderbaarlijke resultaten hebben hieromtrent de ronde gedaan. Nog tot ongeveer veertig jaar geleden had bijvoorbeeld het cyaan-kalium een zekere reputatie als een middel om op deze wijze bomen tegen insecten te beschermen. Toen serieuze onderzoekers zich hiermee gingen bezighouden, kon hiervan echter uiterst weinig worden bevestigd; wel vond men dikwijls ernstige beschadigingen ten gevolge van de toediening van deze stof. Een uitvoerig overzicht van deze onderzoeken vindt men in het in 1926 verschenen boek „Die innere Therapie der Pflanzen” door A. MÜLLER.

De eerste boven alle verdenking staande resultaten zijn pas in de laatste jaren verkregen. Het bekendste voorbeeld is de werking van de seleniumverbindingen, o.a. natriumselenaat, dat goed door de plantenwortels wordt opgenomen en de planten

behoorlijk tegen insecten (en spint) beschermt, doch wegens zijn giftigheid alleen voor de sierbloementeel in aanmerking komt (20). Deze werking van de seleniumverbindingen werd in de Verenigde Staten ontdekt, waar men bemerkte, dat op sterk seleniumhoudende gronden de gewassen vrij bleven van bladluisplagen.

Dat parathion enigszins in hiermee bespoten planten doordringt en dat diens gevolg ook insecten worden gedood op plaatsen, die bij de bespuiting niet of moeilijk kunnen worden geraakt, is bekend genoeg; andere organische fosforverbindingen, zoals „Pestox III” bezitten deze eigenschap in nog hogere mate. VAN MARLE heeft hierover het een en ander meegedeeld in zijn verslag over een studiereis naar Engeland (24), en aangezien hij reeds bezig is, de mogelijkheden van de chemotherapie tegen dierlijke parasieten te onderzoeken, mogen wij hopen hier mettertijd meer over te vernemen.

Aangezien bij deze wijze van bestrijding alleen de voor de planten schadelijke insecten worden gedood en hun natuurlijke vijanden niet, zou de interne chemotherapie ook voor de insectenbestrijding van belang kunnen zijn.

Schimmelziekten

Zoals voor de hand ligt, heeft men getracht de methoden van de chemotherapie in de eerste plaats toe te passen tegen die schimmels, waartegen geen bestrijdingsmethode bekend was, zoals de in de vaten levende *Verticillium*- en *Fusarium*-soorten, *Ceratostomella ulmi*, *Stereum purpureum*. Omstreeks 1935 trachtten een Belgische en een Franse onderzoeker de iepenziekte te bestrijden door chemotherapie; dit werk is echter niet voortgezet en heeft weinig de aandacht getrokken. In de Verenigde Staten werd door HOWARD in 1940 een onderzoek gedaan naar de mogelijkheid van bestrijding van een ziekte bij esdoorns, veroorzaakt door *Phytophthora cactorum*; hij vond dat de symptomen van deze ziekte verdwenen na injectie van diamino-azobenzeenzoutzuur (16). De werking berustte waarschijnlijk niet op de directe beschadiging van de parasiet, maar op de inactivering van de door deze afgescheiden toxinen. De kans op blijvende genezing was dus nog niet groot.

Naar aanleiding van dit werk van HOWARD begonnen ZENTMEIJER en HORSFALL aan het „Connecticut Agricultural Experiment Station” te New Haven de iepenziekte op deze wijze onder handen te nemen en dit onderzoek, dat jaren lang is voortgezet en waaraan later ook andere onderzoekers hebben deelgenomen, heeft zeer veel ervaring opgeleverd, die voor de chemotherapie in het algemeen van grote waarde is (41). Van een groot aantal stoffen is de uitwerking zowel op de parasiet als op de boom onderzocht en allerlei methoden van toediening zijn beproefd. Bovendien zijn onderzoeken gedaan over de door *Ceratostomella ulmi* afgescheiden toxinen en over de voedingsstoffen, die deze schimmel nodig heeft en dank zij de hierbij verkregen resultaten is men ook iets nader gekomen tot een verklaring van de werking der toegepaste chemotherapeutica. Als meest werkzame stoffen werden aanvankelijk p-nitrophenol, hydrochinon en oxychinolinesulfaat gevonden; later bleek het oxychinolinebenzoesaat een nog betere werking te hebben dan het overeenkomstige sulfaat. In het begin werden deze stoffen bij wijze van injectie aan de bomen toegediend, doch deze methode werd spoedig verlaten, daar de verdeling van

de stoffen over de boom te veel te wensen overliet, en ten slotte is men gekomen tot de eenvoudigste methode die mogelijk is, n.l. de toevoeging van de chemicaliën aan de aarde rondom de boom. Oxychinoline-benzoaat, op deze wijze aangewend, had een veel betere uitwerking dan bij injectie in de stam; de toepassing in de aarde is sindsdien de gebruikelijke methode gebleven. Men kan deze nog op verschillende manieren toepassen: de chemicaliën kunnen in vaste toestand rondom de voet van de boom worden gestrooid, waarna zij door begieting met water benedenwaarts moeten worden vervoerd; men kan de stoffen in oplossing op de grond gieten, of wel deze oplossingen onder druk in de grond spuiten. De laatste manier bleek de beste te zijn. Het is bewezen, dat bij bomen, die door de iepenziekte waren aangetast en daarna aldus waren behandeld, de ziekte een minder ernstig verloop had dan bij onbehandelde bomen, en dat zij ook iets meer kans hadden de ziekte te boven te komen. Volledig herstel is echter nog weinig voorgekomen.

Bij de verklaring van de werking van deze oxychinolineverbindingen heeft men aanvankelijk gedacht aan inactivering van de toxinen, die de schimmel afscheidt; tegenwoordig acht men het waarschijnlijker, dat de stofwisseling van de schimmel zelf wordt bemoeilijkt, doordat de werking van bepaalde enzymen onmogelijk wordt gemaakt, of wel doordat sporen-elementen, die de schimmel voor zijn voeding nodig heeft, worden vastgehouden (40).

Het iepenziektevraagstuk is dus door dit onderzoek nog niet opgelost, doch de talrijke ervaringen, die hierbij zijn opgedaan, hebben zeker grote waarde. Het onderzoek wordt nog steeds voortgezet; antibiotica tegen *Ceratostomella ulmi* zijn reeds gevonden bij sommige Actinomyceten (33), en het is dus niet onmogelijk, dat nog belangrijke vondsten zullen worden gedaan.

Er zijn nog meer schimmelziekten, waartegen de chemotherapie met enig succes is beproefd. De Franse onderzoeker FRON, die reeds in 1935 de inwendige behandeling van de iepenziekte beproefde, heeft ook een methode beschreven tot bestrijding van een Fusarium-ziekte bij anjers (10). De jonge planten werden gedurende enige tijd ondergedompeld in bepaalde oplossingen; hij kreeg na een dergelijke behandeling een veel lager percentage zieke planten dan bij onbehandelde. Het is merkwaardig, dat hij bij zijn onderzoekingen ook reeds de gunstige werking van oxychinolinesulfaat ontdekte, welke stof later ook door de Amerikaanse onderzoekers veel is gebruikt, zonder dat zij het werk van FRON kenden.

Over bestrijding van Fusariumziekte bij tomaten en Verticilliumziekte bij iepen en esdoorns zijn enige jaren geleden voorlopige mededelingen verschenen (35).

Proeven over bestrijding van de loodglansziekte, veroorzaakt door *Stereum purpureum*, werden in Engeland te East Malling omstreeks 1939 begonnen; ook hierbij meende men een gunstige uitwerking van oxychinolinesulfaat te kunnen constateren. Berichten hierover bereikten ons eerst na afloop van de oorlog; intussen was te Wageningen ook het onderzoek over loodglansziektebestrijding door chemotherapie begonnen, natuurlijk in volkomen onwetendheid omtrent hetgeen elders in de wereld op dit gebied werd verricht. Ook bij dit onderzoek werden aanvankelijk injectiemethoden toegepast, die later plaats maakten voor behandeling van de grond. Als voorlopig resultaat kan worden medegedeeld, dat gunstige beïnvloeding van het

verloop van de ziekte op deze wijze mogelijk is gebleken. Volledig herstel als gevolg van deze behandelingen is tot nu toe weliswaar nog niet vaak bereikt; er zijn echter nog verscheidene mogelijkheden voor proefnemingen over, waarvan wij mogen hopen, dat zij zullen leiden tot verdere verbetering van het resultaat. Antibiotica zullen hiertoe misschien kunnen bijdragen; proeven van de laatste jaren hebben ook de hoop gewekt, dat salicylzuur een bruikbaar middel zal blijken te zijn.

De schimmelziekten, waarop men de chemotherapie heeft getracht toe te passen, behoren dus in hoofdzaak tot de vaat- en houtziekten. Ook enkele bladaantastingen zijn in de onderzoeken betrokken; zo vond ROACH, dat meeldauw op appelbladeren kon worden bestreden door injectie van natriumthiosulfaat, vooral indien de injectie in de herfst geschiedde. Aangezien dergelijke bladaantastingen over het algemeen goed door bespuitingen te bestrijden zijn, is het echter de vraag, of de interne therapie hier veel zin heeft; enkele lastig te bestrijden schimmels, zoals *Venturia inaequalis* maken hierop misschien een uitzondering. Organismen die antibiotica afscheiden, werkzaam tegen *Venturia*, zijn reeds gevonden; misschien kan hiervan in de toekomst gebruik worden gemaakt. De onderzoeken over roestbestrijding in granen door middel van interne therapie werden reeds genoemd, zie de noot op blz. 676.

Virusziekten

Aangezien sinds lang bekend is dat viren in vitro door verschillende stoffen kunnen worden geïnactiveerd, lag het voor de hand, dat men zou gaan trachten deze inactivering ook in de zieke plant te doen plaats hebben, vooral ook omdat ons overigens slechts zeer weinig middelen voor de bestrijding van virusziekten ten dienste staan. Een zeer uitvoerig onderzoek is gedaan door STODDARD, te New Haven, over bestrijding van het X-virus van de perzik, dat in de Verenigde Staten een grote plaag vormt (31). Bomen beneden de driejarige leeftijd worden in de regel spoedig gedood door besmetting met dit virus; oudere bomen sterven niet zo snel af, maar worden onproductief, daar de vruchten verdrogen en ontijdig afvallen. De ziekte kan kunstmatig worden overgebracht door enten of oculeren van ziek materiaal op gezonde planten. STODDARD ontdekte nu, dat knoppen van zieke bomen de ziekte niet meer overbrachten, wanneer zij eerst gedurende enige tijd in oplossingen van bepaalde chemicaliën werden gedompeld. Verschillende stoffen waren hiervoor bruikbaar, o.a. ook oxychinolinesulfaat, de stof, die haast bij alle onderzoeken over chemotherapie een belangrijke rol speelde. Later slaagde STODDARD er ook in, het virus in gehele planten te inactiveren; aanvankelijk gebruikte hij hiertoe injectiemethoden, ten slotte ging hij ook over tot bodembehandeling, waarbij geen verlies in chemotherapeutische werkzaamheid viel te constateren. Bij deze behandeling van gehele planten bleken enige stoffen goed resultaat te geven, die in de geïsoleerde knoppen het virus niet inactiveerden, n.l. p-aminobenzeen sulfonamide en andere sulfonverbindingen. Blijkbaar werken deze stoffen dus niet direct op het virus in, doch op de plant, die zij op zodanige wijze beïnvloeden, dat resistentie tegen het virus ontstaat. Bij gebruik van sommige stoffen bleek de resistentie tien maanden na de behandeling nog aanwezig te zijn.

Behalve allerlei organische stoffen bleken ook zinksulfaat en calciumchloride werkzaam te zijn tegen het X-virus van de perzik. Ook extracten van bladeren en stammen van een wilde *Prunus* (*Prunus serotina*), die immuun is voor X-virus, konden de vatbaarheid van perzikken voor dit virus verminderen. Blijkbaar berust de

immuniteit van *Prunus serotina* dus op de aanwezigheid van bepaalde stoffen, die geëxtraheerd kunnen worden en op perzik overgebracht, deze immuniteit kunnen verlenen. Deze belangrijke resultaten geven hoop, dat op het gebied van virusziekten met chemotherapie nog veel zal kunnen worden bereikt.

Bacterieziekten

Ook bacterieziekten vormen een belangrijk onderwerp voor onderzoekingen op het gebied der chemotherapie. Er is zelfs een bacterieziekte bekend, die zó duidelijk reageert op chemotherapeutische behandeling, dat men deze wel als toetsobject voor de vergelijking van de werking van verschillende chemotherapeutica tracht te gebruiken; dit is de bacterieziekte van de boon, veroorzaakt door *Xanthomonas phaseoli*. Bij deze ziekte (die bij ons niet schijnt voor te komen) kan de bacterie zich door de gehele plant verspreiden, zodat een totale infectie („systemic infection”) plaats heeft. Door DIMOND en STODDARD werd gevonden, dat deze ziekte voor een belangrijk percentage kon worden genezen door begieting van de bodem, waarin deze planten groeiden, met oplossingen van bepaalde chemicaliën (7, 8). Verschillende stoffen waren hiervoor bruikbaar; de beste resultaten werden verkregen met salicylzuur, dat bij 86 % van de geïnoculeerde planten de symptomen achterwege deed blijven, terwijl bij 50 % hiervan de bacterie niet meer was terug te isoleren.

Een bacterieziekte, waarbij niet de gehele plant wordt geïnfecteerd, doch de ziekteverwekker op enkele plaatsen gelocaliseerd blijft, wordt veroorzaakt door *Phytomonas tumefaciens*, de bekende gezwelwormer. Ook hierop heeft men getracht de chemotherapie toe te passen. Het is hierbij echter nog niet gelukt genezing te krijgen door middel van stoffen, die door de plantenwortels worden opgenomen en men is overgegaan tot behandeling van de gezwellen zelf. In 1941 beschreef ARK de resultaten van een onderzoek naar de bestrijdingsmogelijkheden van deze ziekte bij amandelbomen (1); de gezwellen werden met verschillende chemicaliën ingesmeerd en dit scheen soms inderdaad succes op te leveren. In latere jaren is door verschillende onderzoekers de werking van antibiotica op deze ziekte bestudeerd. Het gebruik van antibiotica bij de plantenziektenbestrijding geeft aanleiding tot enige bijzondere beschouwingen; daaraan zal hier een afzonderlijk hoofdstuk worden gewijd.

ANTIBIOTICA TEGEN PLANTENZIEKTEN

Onder „antibiotica” verstaat men stoffen, gevormd door levende organismen, die de eigenschap hebben het leven van andere organismen onmogelijk te maken; zij veroorzaken dus verschijnselen van antagonisme. De verschijnselen van antagonisme tussen micro-organismen onderling hebben tot nu toe de meeste aandacht getrokken; men is dan ook het eerst antibiotica gaan isoleren uit micro-organismen, en speciaal die, welke antibacteriële eigenschappen bezitten, omdat deze voor de geneeskunde de meeste betekenis hebben. Het penicilline is hiervan het reeds klassiek geworden voorbeeld.

De vorming van antibiotica is echter volstrekt niet beperkt tot micro-organismen; ook hogere planten kunnen dergelijke stoffen maken.

Bekend is, dat *Artemisia absinthum* een stof vormt, die door de bladeren wordt uitgescheiden en de groei van andere planten in de onmiddellijke nabijheid onmogelijk maakt. Ook de noteboom *Juglans regia* vormt in de wortelschors, de bladeren en vruchtwanden een stof, die andere planten kan doen verwelken. Dit zijn dus voorbeelden van antagonisme tussen hogere planten onderling. Antagonisme tussen hogere planten en micro-organismen komt ook voor; in de bladeren van de tropische plant *Crotalaria crispata* komt een stof voor, die identiek bleek te zijn

met het citrinine, een antibioticum gevormd door *Penicillium citrinum* (en enige andere schimmels), dat werkzaam is tegen bacteriën. Stoffen met fungicide werking komen zeer algemeen voor bij hogere planten; een onderzoek hierover is door GILLIVER gedaan (11). Uit honderden soorten hogere planten kon hij extracten bereiden, die de kieming van schimmelsporen konden beletten; perssap uit klimopbladeren was zelfs in 128-voudige verdunning nog werkzaam, en verloor zijn activiteit niet bij koken gedurende twee uur. Dat de schors van sommige populierensoorten stoffen bevat, die de groei van houtrottende schimmels, o.a. ook van *Stereum purpureum* kunnen tegengaan, werd bij het loodglansonderzoek te Wageningen gevonden. Ook deze stoffen zijn tegen langdurig koken bestand.

Dit alles in aanmerking genomen, schijnt de veronderstelling niet gewaagd te zijn, dat resistentie van hogere planten tegen schimmelaantastingen in zeer veel gevallen berust op de aanwezigheid van bepaalde stoffen in de plant. Er zijn trouwens gevallen, waarin dit verband bewezen is: de resistentie van bepaalde uiensoorten tegen rotting door *Colletotrichum circinans* (22) werd reeds genoemd; de resistentie van een aantal plantensoorten tegen aantasting door *Phymatotrichum omnivorum* werd door GREATHOUSE en RIGLER bestudeerd (13), en zij vonden een duidelijk verband tussen deze resistentie en het voorkomen van bepaalde alkaloiden in de planten.

Of antibiotica bij de bestrijding van plantenziekten een belangrijke rol zullen gaan spelen hangt natuurlijk in de eerste plaats daarvan af, of men er in slaagt antibiotica te vinden met een sterke werking juist tegen die organismen, die wij wensen te bestrijden, en van de prijs, waartegen deze kunnen worden geleverd. Daar de thans meest bekende antibiotica, zoals penicilline en streptomycine alleen werkzaam zijn tegen bepaalde bacteriën en niet tegen schimmels, lag het voor de hand, dat men hiermee de bestrijding van bacteriële plantenziekten is gaan beproeven. BROWN en BOYLE (2) behandelden de gezwellen, veroorzaakt door *Phytophthora tumefaciens*, met penicilline en streptomycine, en zagen, dat het gezwelweefsel afstierf; door HAMPTON (14) werd dit resultaat later bevestigd.

Het is merkwaardig, dat in dit geval de werking niet in de eerste plaats tegen de ziekteverwekker gericht scheen te zijn, doch tegen het zieke weefsel van de hogere plant, want ook gezwellen, waarin de bacterie niet was aan te tonen (de secundaire tumoren) stierven na deze behandeling af, terwijl het gezonde weefsel onaangetast bleef. Een andere bacterieziekte waartegen streptomycine werkzaam bleek te zijn, is een rotting van aardappelen, veroorzaakt door *Corynebacterium sepedonicum*. Penicilline was hier onbruikbaar, daar de aardappelknollen hierdoor werden vergiftigd. Hiermede is echter niet gezegd, dat streptomycine in het algemeen een bruikbaar middel is bij de bestrijding van bacteriële plantenziekten; tegen *Xanthomonas phaseoli* in bonen, die zo sterk werd beïnvloed door behandeling met salicylzuur, had streptomycine geen uitwerking, hoewel het goed door de planten werd opgenomen.

Antibiotica, die werkzaam zijn tegen schimmels, zijn ook bekend; van *Trichoderma lignorum* weet men reeds lang, dat hij een stof afscheidt, gliotoxine genaamd, die de groei van verscheidene schimmels remt of onmogelijk maakt. Door P. A. VAN DER LAAN (19) werd enige jaren geleden een onderzoek gedaan naar de mogelijkheid tot bestrijding van een bladvlekkenziekte in tabak met behulp van deze stof. Onze landgenoot VAN LUIJK (23) toonde twaalf jaar geleden aan, dat uit culturen van *Penicillium expansum* filtraten konden worden bereid, die de groei van *Pythium*- en *Fusarium*-soorten konden tegengaan. De stof, die in dit geval de remmende werking uitoefende, werd later chemisch geïdentificeerd en kreeg de naam „expansine”, doch was intussen in de Verenigde Staten reeds bekend onder de namen clavacine en patuline. Volgens TIMONIN (36) heeft deze stof een zeer sterke werking tegen

Ustilago tritici. De actinomyceet *Streptomyces griseus* verschaft ons de streptomycine, die geen fungicide werking heeft, doch bleek ook een stof met zeer sterk fungicide eigenschappen te produceren. Deze stof, waaraan men de naam actidione heeft gegeven, is tegen sommige schimmels reeds werkzaam in een concentratie van enkele delen per miljoen. Helaas werkt het ook in zeer lage concentratie reeds phytotoxisch, waardoor de mogelijkheid van praktische toepassing zeer wordt beperkt.

Bestrijding van enige schimmels, die in grasvelden schade kunnen veroorzaken, bleek hiermee echter mogelijk te zijn. Bij verneveling van deze stof was de schade aan de planten minder groot dan bij bespuiting, en op deze wijze toegepast, kon ook meeldauw in rozen ermee worden bestreden. De gevoeligheid van *Stereum purpureum* voor actidione is onderzocht; bij een concentratie van 10 delen per miljoen in de voedingsbodem was duidelijk groeiremming te constateren; bij 100 d.p.m. werd de groei geheel tegengehouden.

De hoge kosten, aan de bereiding van antibiotica verbonden, zullen dikwijls een bezwaar zijn voor de toepassing tegen plantenziekten, vooral wanneer wij bij de chemotherapie de methode van de aarde-behandeling toepassen, waarbij maar een klein gedeelte van de stof, die men in de grond brengt, door de wortels zal worden opgenomen. In dit opzicht verkeert de phytopatholoog dus in ongunstiger positie dan de medicus. Hier staat echter tegenover, dat bij bestrijding van plantenziekten soms de mogelijkheid bestaat, het organisme dat het antibioticum vormt, zelf de bestrijding te doen uitvoeren, als antagonist tegen de ziekteverwekker. Dat van antagonisme tussen bodemorganismen wel eens gebruik kan worden gemaakt teneinde de groei of de agressiviteit van pathogenen tegen te gaan, is reeds lang bekend (25); het begint thans duidelijk te worden, dat men ook in andere gevallen de organismen soms beter zelf aan het werk kan zetten, dan dat wij er eerst een antibioticum aan onttrekken, en hiermee een bestrijding gaan trachten uit te voeren. Zo zagen DARPOUX en FAIVRE-AMIOT (5) dat ontsmetting van tabakszaad, geïnfecteerd met *Phytophthora tabaci*, mogelijk was met een cultuurfiltraat van een *Streptomyces*-soort, doch dat deze ontsmetting veel beter slaagde, wanneer men het zaad met de sporen van deze *Streptomyces* zelf in aanraking bracht. Verder vonden GOTTLIEB en SIMINOFF (12), dat men de groei van *Bacillus subtilis* in aarde niet kon onderdrukken door streptomycinebehandeling, doch wel door *Streptomyces griseus* zelf in de grond te brengen. Zo zijn er waarschijnlijk op het gebied van het antagonisme nog veel meer mogelijkheden dan wij thans weten. Dat *Trichoderma lignorum* een sterke antagonist is tegen andere schimmels, is bekend genoeg; dat hij echter zelfs in staat is, bij naaldbomen, die door *Fomes annosus* zijn aangetast, de ziekteverwekker in de boom te achtervolgen en te doden, is pas sinds korte tijd bekend (27); men maakt hiervan in Amerika reeds gebruik om bomen die door honingzwam zijn aangetast, van deze parasiet te bevrijden. Bij het loodglansonderzoek zullen wij onderzoeken, of hiervan misschien ook profijt kan worden getrokken.

De vooruitgang in onze kennis omtrent antibiotica kan ons misschien bij dit alles de weg wijzen. Het is mogelijk, dat wij hier staan aan het begin van een nieuwe ontwikkeling in onze ziektebestrijdingsmethoden. Wat deze voor de praktijk zullen opleveren, moeten wij afwachten, doch een vruchtbaar veld voor onderzoek ligt hier open.

SAMENVATTING

Chemotherapie bij plantenziekten is een eeuwenoud denkbeeld, dat echter eerst in de laatste decennien van de vorige eeuw tot praktische toepassing begon te komen. De eerste resultaten werden verkregen bij de bestrijding van gebrekziekten; bestrijding van parasitaire ziekten heeft pas gedurende de laatste tien jaar enig succes opgeleverd. De keus van de toe te dienen stof is bij gebrekziekten bepaald, wanneer men weet aan welke stof een tekort bestaat; bij parasitaire ziekten komen alle stoffen die de hogere plant niet beschadigen, in aanmerking voor beproeving.

Voor de opname van de chemicaliën maakte men vroeger in hoofdzaak gebruik van „injectie” in speciaal hiervoor gemaakte wonden; men streeft er naar deze wijze van toediening te vervangen door methoden waarbij geen verwonding nodig is, bijvoorbeeld opname door de wortels.

Behalve bij de behandeling van gebrekziekten zijn ook successen verkregen bij de bestrijding van insectenplagen en ziekten veroorzaakt door schimmels, viren en bacteriën.

De werking van antibiotica is ook onderzocht; soms hebben deze gunstig resultaat. De hoge prijs van deze stoffen zal misschien dikwijls een bezwaar zijn voor plantenziektenbestrijding; wellicht bestaan er nog vele mogelijkheden, de organismen die antibiotica tegen bepaalde ziekteverwekkers produceren, zelf als antagonist de bestrijding te doen uitvoeren.

PUNTEN UIT DE DISCUSSIE

Aangezien de hier besproken behandelingsmethoden door het woord „chemotherapie” niet geheel juist worden gekarakteriseerd, wordt voorgesteld hiervoor de term „interne therapie” te gaan gebruiken, zoals o.a. LEEFMANS reeds heeft gedaan. Dit verdient inderdaad aanbeveling.

Een chemisch onderzoek naar de stoffen met fungicide werking in de schors van balsempopulieren is begonnen; voortzetting hiervan moet echter wachten tot grotere hoeveelheden van deze schors beschikbaar zijn dan thans het geval is. Of deze stoffen ook bruikbaar zijn ter bestrijding van andere schimmels dan *Stereum purpureum*, is nog niet onderzocht.

Bij aanwending van chemotherapeutica in oplossing in de grond worden tegelijk min of meer belangrijke hoeveelheden water aan de planten gegeven. In het algemeen behoren hier dus controleproeven met zuiver water bij te worden genomen.

Dat stip in appels soms kan worden bestreden door injectie van kleine hoeveelheden borax is door MULDER aangetoond; voor praktische toepassing komt dit echter nog niet in aanmerking, aangezien gebleken is dat toediening van borax ook juist het optreden van stip kan bevorderen, indien de omstandigheden niet goed worden gekozen.

De toepassingsmogelijkheid van oxychinolinesulfaat wordt begrensd door de kostbaarheid van deze stof, vooral wanneer men de methode van de grondbehandeling wil volgen, waarbij verlies aan chemotherapeuticum onvermijdelijk is. Bij injectie in boorgaten is het verbruik veel geringer, en daarom is bij het loodglansonderzoek tot nu toe oxychinolinesulfaat alleen op deze wijze beproefd. Over het algemeen had dit wel verbetering in de toestand van de bomen ten gevolge; totaal herstel werd echter nog te zelden bereikt om deze methode voor de praktijk aan te bevelen.

Brengt men vaste stof in boorgaten, dan bestaat de mogelijkheid, dat in de naaste omgeving van het gat een hoge concentratie aan deze stof ontstaat, hetgeen aanleiding zou kunnen geven tot weefselbeschadigingen. Tot nu toe zijn deze echter niet waargenomen.

Hoe hoog de concentratie van een chemotherapeuticum in de plant werkelijk wordt is moeilijk te schatten, deze hangt af van de intensiteit van de sapstroom, en deze wordt zeer sterk beïnvloed door de omstandigheden.

Aangezien te verwachten is dat stekken, die men in een oplossing van een chemotherapeuticum plaatst, deze stof gemakkelijk en gelijkmatig zullen opzuigen, ligt het voor de hand de inwendige desinfectie van stekken op deze wijze te beproeven. Bij het onderzoek van FRON (10) werd getracht aldus anjerstekken te bevrijden van *Fusarium*. Door ROODENBURG is deze methode beproefd tegen *Phialophora cinerescens* in anjers, echter zonder succes; tegen *Fusarium oxysporum* worden de proeven nog voortgezet.

Zieke delen van planten worden dikwijls moeilijker door water doorstroomd dan gezonde delen, zoals proeven met kleurstoffen hebben aangetoond. Ziekteverwekkers in de meest agressieve toestand bevinden zich echter gewoonlijk aan de grens tussen het zieke en gezonde weefsel, soms zelfs in het schijnbaar gezonde weefsel, en dus toch niet onbereikbaar voor een chemotherapeuticum. Bovendien is voor het transport hiervan water niet altijd onmisbaar, daar in water onoplosbare stoffen soms ook therapeutisch kunnen werken. De thyllenvorming van de iep als reactie op infectie en verwonding zal de toegankelijkheid voor interne chemotherapie niet ten goede komen; bij andere plantensoorten heeft deze thyllenvorming veel minder of in 't geheel niet plaats. Men kan zich afvragen of stoffen, waarvan de molecuulgrootte bepaalde afmetingen te boven gaat, de kleinste vaten wel kunnen passeren, of misschien aanleiding kunnen geven tot verstoppingen. In principe is dit niet onmogelijk; andere factoren dan molecuulgrootte zullen hier ook van invloed op zijn, zoals adsorptie door oppervlakken en binding van watermoleculen.

Aangezien sommige ziekteverwekkers gelocaliseerd voorkomen, is het soms niet noodzakelijk dat alle delen van een plant worden bereikt. Zo zijn sommige vaatparasieten beperkt tot de wijde vaten; dan vervalt dus de noodzakelijkheid van transport door de fijnste vaten.

Naar aanleiding van STODDARD's eerste publicaties over bestrijding van virusziekte door chemotherapie werden te Lisse dergelijke proeven genomen bij hyacinten, echter zonder resultaat.

Reeds lang geleden werden injectiebehandelingen tegen iepenziekte aanbevolen door ILISCH. De Plantenziektenkundige Dienst heeft deze beproefd, zonder resultaat. Met aftreksels van *Coprinus*-soorten is geëxperimenteerd tegen *Stereum purpureum*; doch ook deze bleken bij beproeving alhier geen resultaat op te leveren.

Koper wordt door bladeren opgenomen en kan aldus een zekere nawerking uitoefenen; voor sommige cultures is hierdoor koper echter onbruikbaar, zoals voor tabak, daar het blad er wankeurig door wordt.

Interne bestrijding van insecten is vooral bij kruidachtige planten beproefd; het toepassingsgebied van de interne therapie is dus niet beperkt tot bomen.

Gunstige resultaten met Pestox III als „systemic insecticide” zijn zeer kort geleden vermeld door RIPPER e.a., Bull. Ent. Res., Februari 1950. Als contactinsecticide heeft het slechts een zeer zwakke werking, zodat de natuurlijke vijanden van de zuigende insecten gespaard blijven. Het is aan te bevelen, dit middel te beproeven in de aardbeicultuur, ter bestrijding van insecten, die virus overbrengen.

SUMMARY

CHEMOTHERAPY OF PLANT DISEASES

The conception of controlling plant diseases by chemotherapy dates from long ago, but practical application has not been started before the last decades of the 19th century. The first results were attained by controlling deficiency diseases; when it is known what nutrient is deficient, the choice of the substance to be applied can be determined. Only since the last ten years the control of parasitical diseases yielded some results. Any substance which does not damage the higher plant can be tried in this case.

Injection through bore holes is the oldest method of introducing chemotherapeutants into plants; now efforts are being made to replace this way of supply by methods of application without wounding e.g. by root absorption.

Not only the treatment of deficiency diseases has been succesful, but also the control of insect pests and of diseases caused by fungi, viruses and bacteria. Also the action of antibiotics has been investigated; sometimes they render favourable results. However, the high costs of these substances will often be a drawback for their application.

In future it may be possible to leave the control of a disease to the organisms itself that produce antibiotic activity against the pathogens.

LITERATUUR

1. ARK, P. A.: Chemical eradication of crown gall on almond trees. *Phytopath.* **31**; 1941: 956—957.
 2. BROWN, J. G. en A. M. BOYLE: Effect of penicillin on a plant pathogen. *Phytopath.* **34**; 1944: 760—761.
 3. CHANDLER, W. H. e.a.: Little leaf or rosette of fruit trees. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* **30**; 1933: 70—86.
 4. CHAPMAN, R. A., A. E. DIMOND en E. M. STODDARD: Assaying chemotherapeutants in the greenhouse. *Phytopath.* **40**; 1950: 4.
 5. DARPOUX, H. en A. FAIVRE-AMIOT: Sur un Actinomycète doué de propriétés bacteriolytiques remarquables. *Compt. Rend. Acad. Sciences t.* **226**; 1948: 1046—1048.
 6. DIMOND, A. E.: Chemotherapeutic action of 8-quinolinol benzoate against Dutch elm disease. *Phytopath.* **38**; 1948: 7.
 7. DIMOND, A. E. en E. M. STODDARD: Common blight of beans as a screen for testing therapeutic activity. *Phytopath.* **38**; 1948: 313.
 8. DIMOND, A. E. en E. M. STODDARD: Combating bean blight chemotherapeutically with benzoic acid and the salicylates. *Phytopath.* **39**; 1949: 6.
 9. FORD, J. H. en B. E. LEACH: Actidione, an antibiotic from *Streptomyces griseus*. *Journ. Am. Chem. Soc.* **70**; 1948: 1223—1225.
 10. FRON, G.: La maladie de la Fusariose des Ouillets. *Rev. Path. Veg.* **23**; 1936: 131—144.
 11. GILLIVER, K.: The effect of plant extracts on the germination of conidia of *Venturia inaequalis*. *Ann. Appl. Biol.* **34**; 1947: 136—143.
 12. GOTTLIEB, D. en P. SIMINOFF: The role of antibiotics in soil. *Phytopath.* **40**; 1950: 11.
 13. GREATHOUSE, G. A. en N. RIGLER: The chemistry of resistance of plants to *Phymatotrichum* root rot. *Phytopath.* **30**; 1940: 475—485.
 14. HAMPTON, J. E.: Cure of crown gall with antibiotics. *Phytopath.* **38**; 1948: 11.
 15. HORSFALL, J. G. en G. A. ZENTMEYER: Antidoting the toxins of plant diseases. *Phytopath.* **32**; 1942: 22—23.
 16. HOWARD, F. L.: Antidoting of toxins of *Phytophthora cactorum* as a mean of plant disease control. *Science* **94**; 1941: 345.
 17. IRVING, G. W. en H. T. HERRICK: *Antibiotics*. 273 p. Chem. Publ. Co. Brooklyn 1949.
 18. VAN KOOT, Y.: Bestrijding van chlorose bij perziken en pruimebomen onder glas door middel van boorgat-behandeling. *De Tuinbouw* **3**; 1948: 7—10.
 19. VAN DER LAAN, P. A.: Antibiotische stoffen als fungicide tegen *Cercospora Nicotianae* op tabak. *Tijdschr. Plantenziekten* **53**; 1947: 180—187.
 20. LEEFMANS, S.: Interne therapie bij planten tegen phytophage insecten en mijten in de V.S. *Meded. Dir. Tuinb.* **10**; 1947: 130—135.
 21. LEBEN, C. en G. W. KEITT: The effect of antibiotic substances on apple leaf infection by *Venturia inaequalis*. *Phytopath.* **37**; 1947: 14.
 22. LINK, K. P. e.a.: The isolation of protocatechuic acid from pigmented onion scales. *Journ. Biol. Chem.* **81**; 1929: 369—375.
 23. VAN LUYK, A.: Antagonism between various microorganisms and different species of the genus *Pythium*, parasitizing on grasses. *Meded. „Willie Commelin Scholten”* **14**; 1938: 43—83.
 24. VAN MARLE, G. S.: Nieuws betreffende de bestrijding van ziekten en plagen in Engeland. *Meded. Dir. Tuinb.* **13**; 1950: 96—106.
- MEREDITH, C. H.: The antagonism of soil organisms to *Fusarium oxysporum cubense*. *Phytopath.* **34**; 1944: 426—429.

26. MULDER, D.: Voorlopige mededeling over bestrijding van siip in appel door toediening van borium in de vorm van borax. Meded. Dir. Tuinb. 11; 1948: 315—319.
27. RISHBETH, J.: Fomes annosus Fr. on pines in East Anglia. Forestry 22; 1948: 174—183.
28. ROACH, W. A.: Plant injection as a physiological method. Ann. Bot. 3; 1939: 155—226.
29. RUDOLPH, B. A.: Attempts to control bacterial blights of pear and walnut with penicillin. Phytopath. 36; 1946: 717—725.
30. VAN SCHAAK, V.: Antibiotics and potato ring rot. Phytopath. 38; 1948: 27.
31. STODDARD, E. M.: X-disease of peach and its chemotherapy. Conn. Agr. Exp. Sta., Bull. 506. 1947.
32. STODDARD, E. M. en A. E. DIMOND: The chemotherapy of plant diseases. Bot. Rev. 15; 1949: 345—376.
33. SZKOLNIC, M.: Antagonistic activity of a species of Actinomyces against Ceratostomella ulmi. Phytopath. 38; 1948: 85—87.
34. TAKAHASHI, W. N.: The inhibition of virus increase by malachite green. Science 107; 1948: 226.
35. TEHON, L. R.: Experimental immunisation of American elm from infection by Verticillium albo-atrum. Phytopath. 34; 1944: 1012.
36. TIMONIN, M. S.: Activity of patulin against Ustilago tritici. Sci. Agr. (Canada) 26; 1946: 358.
37. VAUGHN, J. R. e.a.: The action of actidione on plant tissue and upon certain fungi. Michig. Agr. Exp. Sta. 31; 1949: 456—464.
38. WAKSMAN, S. A.: Microbial antagonisms and antibiotic substances. 415 p. New York, 1947.
39. WIEBOSCH, W. A.: Bespuiting van vruchtbomen met mangaan- en boriumzouten. Meded. Dir. Tuinb. 11; 1948: 320—324.
40. ZENTMEYER, G. A.: Inhibition of metal catalysis as a fungistatic mechanism. Science 100; 1944: 294—295.
41. ZENTMEYER, G. A. e.a.: Dutch elm disease and its chemotherapy. Conn. Agr. Exp. Sta., Bull. 498. 1946.
42. HART, H. en J. LEWIS ALLISON: Toluene compounds to control plant disease. Phytopath. 29; 1939: 978—981.