

SW  
A  
63

ISN = 594039

# KURKWORTELVERSCHIJNSELEN VAN TOMAAT, VEROORZAAKT DOOR EEN STERIEL MYCELIUM. II<sup>1)</sup>

*With a summary: Corky root of tomato caused by a sterile mycelium. II*

DOOR

G. P. TERMOHLEN<sup>2)</sup>

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

## INLEIDING

De reeds in de jaren dertig bekende kurkwortel is de meest gevreesde ziekte van de tomaat. Uit de literatuur blijkt, dat meermalen een steriel mycelium uit tomatewortels met kurkwortel is geïsoleerd (WILLIAMS, 1929; ANONYMUS, 1939; RICHARDSON & BERKELEY, 1944; GRAM & WEBER, 1944; EBBEN, 1950; ANONYMUS, 1954; EBBEN & WILLIAMS, 1956). Slechts RICHARDSON & BERKELEY meenden de oorzaak van kurkwortel primair aan de door hen onderzochte steriele schimmel te moeten toeschrijven. ANONYMUS (1954) vermeldt, dat een steriel mycelium misschien de veroorzaker van kurkwortel is. NOORDAM, TERMOHLEN & THUNG (1957) maakten waarschijnlijk, dat een steriel mycelium kurkwortel teweegbrengt. Voortgezet onderzoek heeft deze veronderstelling bevestigd en tevens een verklaring gegeven voor het feit, dat in vroegere onderzoekingen niet vaker een steriel mycelium als primaire oorzaak van kurkwortel werd gevonden.

## ZIEKTEBEELD

Kurkwortel kan zowel op zandgrond, als op veen- of kleigrond in elke graad van hevigheid worden aangetroffen. Het is vrijwel niet mogelijk een bedrijf te vinden, waar de ziekte niet voorkomt, tenzij in het jaar, direct voorafgaande aan de teelt, een zorgvuldige grondontsmetting is toegepast.

In het ziektebeeld kunnen in hoofdzaak twee typen worden onderscheiden. Het meest voorkomende beeld is het optreden van bruin gekleurde verdikkingen met kurklijsten op gedeelten of over de gehele lengte van de wortel (De Mos, 1954; TERMOHLEN, 1956). Bij het tweede beeld ontbreken deze verdikkingen en typische kurklijsten en worden de wortels geheel of gedeeltelijk donkerbruin gekleurd. Niet zelden kan men de schors van de wortels afschuiven (NOORDAM, TERMOHLEN & THUNG, 1957, fig. 2 en 3). Soms wordt een derde type aantasting gevonden, waarbij een bruinkleuring optreedt en kurklijsten worden gevormd aan het basale gedeelte van de stengel, even boven en onder de grondoppervlakte.

Het eerste type wordt overwegend op de zwaardere gronden aangetroffen, het tweede type komt meer op de lichtere gronden voor. Het loslaten van de schors wordt voornamelijk op de nattere gronden gevonden. Enerzijds houdt dus het optreden van verdikkingen met kurklijsten verband met het grond-type, anderzijds met de waterhuishouding van de grond. De bruinkleuring is een

<sup>1)</sup> Aangenomen voor publikatie 2 december 1957.

<sup>2)</sup> Gedetacheerd bij het Proefstation voor de Groenten- en Fruitteelt onder Glas te Naaldwijk.

verkurking als reactie op de aantasting door het steriele mycelium, dat als primaire oorzaak van kurkwortel moet worden beschouwd. Afhankelijk van de uitwendige omstandigheden kunnen secundaire bodemorganismen het afstervingsproces van de wortels versnellen.

Behalve tomaat kunnen ook andere Solanaceeën worden aangetast. Dit is waargenomen bij paprika, spaanse peper, aubergine, doornappel en zwarte nachtschade. De aantasting is echter op dezelfde besmette grond het hevigst bij tomaat. Kurkwortel bij de andere gewassen wordt ook door het steriele mycelium veroorzaakt.

#### SCHIMMELS, GEÏSOLEERD UIT TOMATEWORTELS MET KURKWORTEL EN INFECTIEPROEVEN MET DEZE SCHIMMELS

In vroegere onderzoeken zijn behalve een steriel mycelium tal van andere bodemschimmels uit zieke wortels geïsoleerd. Kenmerkend hierbij was, dat de meeste andere schimmels veelvuldiger voorkwamen dan de steriele schimmel. EBBEN & WILLIAMS (1956) noemen behalve een steriel mycelium o.a. *Colletotrichum atramentarium*, *Volvetella ciliata*, *Cephalosporium*-soorten en *Chaetomium cochlioides*, terwijl RICHARDSON & BERKELEY (1944) naast een steriel mycelium voornamelijk *Trichoderma*-, *Fusarium*-, *Cylindrocarpon*- en *Pythium*-soorten vinden. Zowel EBBEN & WILLIAMS als RICHARDSON & BERKELEY deden infectieproeven; alleen laatstgenoemden hebben de vijf schimmels in alle combinaties in hun proeven betrokken en komen tot de conclusie dat slechts aantasting wordt verkregen als het steriele mycelium in het object voorkomt.

Uit ons onderzoek is gebleken, dat de ontsmettingsmethodiek bepalend is voor de mate, waarin het steriele mycelium uit aangetaste wortels kan worden geïsoleerd. RICHARDSON & BERKELEY ontsmetten de wortelstukjes in leidingwater, EBBEN & WILLIAMS deden dit achtereenvolgens in alcohol 96% en calciumhypochloriet 7%. Wij hebben ontsmet in alcohol 75% en sublimaat 1‰, afhankelijk van de dikte der wortelstukjes respectievelijk tien tot dertig seconden en één tot vijf minuten. Hierna werd tien minuten gespoeld in leidingwater.

Laatstgenoemde ontsmetting is ongeveer even sterk als die, toegepast door EBBEN & WILLIAMS. Naarmate zwakker wordt ontsmet, worden de verscheidenheid der geïsoleerde schimmels en de bacterie-verontreiniging groter. De groei van het steriele mycelium is langzaam in verhouding tot de groei der andere geïsoleerde schimmels. Hierdoor wordt het bij een te zwakke ontsmetting gemakkelijk door andere organismen overgroeid. Bij een te sterke ontsmetting wordt de groei van de zich oppervlakkiger bevindende schimmels weliswaar onderdrukt, doch ook het steriele mycelium wordt dermate beschadigd, dat het niet kan worden geïsoleerd. Door het toepassen van een middelmatig sterke ontsmetting, wordt een te grote verscheidenheid van schimmels vermeden, terwijl het steriele mycelium een voldoende aantal malen kan worden geïsoleerd om conclusies omtrent de oorzaak van kurkwortel te rechtvaardigen. Hiermede is waarschijnlijk ook de oorzaak aangegeven, waarom niet eerder in hoofdzaak een steriel mycelium uit zieke wortels is geïsoleerd.

Met hulp van de assistenten van de Voorlichtingsdienst zijn in het Zuidhollands Glasdistrict 132 monsters van „kurkwortel” verzameld. Per monster zijn gemiddeld 20 wortelstukjes (elk ongeveer 1 cm lang), verdeeld over vier

petrischalen op kersagar uitgelegd. Uit de stukjes groeien verscheidene typen steriele mycelia; de grijze kleur en de groeiwijze zijn verschillend.

Tabel 1 vermeldt het resultaat van de isolatie-proeven; in deze tabel zijn de typen steriele grijze schimmels tot één groep verenigd.

TABEL 1. Isolaties uit verkurkte wortels.<sup>1)</sup>  
*Isolates from corky roots.<sup>1)</sup>*

aantal monsters <i>number of samples</i>	aantal stukjes <i>number of pieces</i>	steriele grijze mycelia <i>sterile grey mycelia</i>		andere schimmels <i>other fungi</i>		negatief <sup>2)</sup> <i>negative</i>	
		aantal <i>number</i>	%	aantal <i>number</i>	%	aantal <i>number</i>	%
132	2603	2097	67,5	525	17	483	15,5

<sup>1)</sup> Uit één stukje groeiden soms verschillende schimmels.  
*Sometimes different fungi grew from one piece.*

<sup>2)</sup> Geen groei, of alleen groei van bacteriën.  
*No growth at all, or only bacterial growth.*

Indien bij de berekening van de percentages de laatste kolom buiten beschouwing wordt gelaten, zijn de percentages voor „steriele grijze mycelia” en „andere schimmels” respectievelijk 80 en 20. Van de „andere schimmels” kunnen o.a. worden genoemd: *Cylindrocarpon radiculicola*, *Colletotrichum atramentarium*, *Cephalosporium longisporum*, *Fusarium*- en *Rhizoctonia*-soorten. Dr. J. A. VON ARX te Baarn was zo welwillend deze schimmels te determineren.

Infectieproeven zijn gedaan met 88 isolaties van steriele grijze mycelia en met 39 isolaties van andere schimmels, waaronder alle gedetermineerde. In beide groepen kwamen verscheidene, op het oog identieke schimmels voor. Combinaties van schimmels zijn niet gemaakt. Elke schimmel is op vier petrischalen kersager gedurende twee tot drie weken bij 24 °C gekweekt en daarna gemengd met steriele grond, die over drie potjes van elk 250 ml is verdeeld. De tomatewortels zijn acht weken na het poten van de planten beoordeeld. Alleen met de steriele grijze mycelia zijn kurkwortelsymptomen verkregen. Het is gelukt deze schimmels te herisoleren. Daartoe werden de dunne worteltjes uit deze potproeven zwakker ontsmet (enkele seconden alcohol en 30 tot 60 seconden sublimaat). Het percentage was gelijk aan of iets lager dan dat in tabel 1 vermeld. Het percentage andere schimmels was zeer klein.

Behalve infectieproeven in grond, die kunstmatig met schimmel is besmet, zijn overeenkomstige proeven genomen met besmette grond uit de praktijk en met grond, besmet met tot poeder gemalen verkurkte wortels. De ziekteverschijnselen zijn steeds dezelfde. De wortels zijn bruin gespikkeld. De eerste symptomen zijn na drie tot vier weken zichtbaar. Met de duur van de proef neemt de bruinkleuring toe en worden de bruine vlekjes groter. Onder de binoculaire loupe zijn niet zelden geringe verdikkingen met kurklijstjes waar te nemen. Een hevig aangetast wortelgestel heeft minder fijne wortels dan de gezonde controle in gestoomde grond, terwijl wortelharen dikwijls geheel ontbreken (NOORDAM, TERMOHLEN & THUNG, 1957, fig. 1).

Tussen de drie genoemde infectiemethoden bestaan slechts verschillen in

mate van aantasting. Deze verschillen zijn afhankelijk van de hoeveelheid inoculum en van de pathogeniteit van de schimmel.

#### HET STERIELE MYCELIUM

De bij 24 °C op kersagar gekweekte schimmel vormt geen sporen, heeft een grijze kleur en groeit langzaam. Soms worden microsclerotieën gevormd. Door het Centraal Bureau voor Schimmelcultures te Baarn kon de schimmel nog niet worden gedetermineerd.

Binnen de isolaties van het grijze steriele mycelium kunnen ongeveer 10 typen worden onderscheiden. Het is nog niet duidelijk of deze als zodanig in de grond aanwezig zijn, of dat ze onder invloed van uitwendige omstandigheden (b.v. kweken op kunstmatige voedingsbodem) ontstaan. Opvallend is wel de waarneming, dat meermalen uit één wortelstukje twee typen groeien, die elk steriel en constant zijn. Alle typen gaven in infectieproeven kurkwortelsymptomen. Soms kwamen vrij grote pathogeniteitsverschillen naar voren, zowel tussen schimmels van één type, als tussen schimmels van verschillend type.

Het mycelium van een zeven dagen oude cultuur is dikwijls lichtgrijsgroen; de rand is wit. Het oudere mycelium heeft een grijze kleur. Het mycelium vormt een dichte, meestal effen mat, tot ongeveer 4 mm van de voedingsbodem omhoog komend. De onderkant van de cultuur is meestal groenzwart gekleurd, soms bruinzwart. De verschillende typen worden o.a. gekenmerkt door een verschillende kleur grijs, doch donker-grijs overheerst. Bij één der licht-grijze isolaties verschijnt in het oudere mycelium een paarsrose kleur. Dit type komt volgens de beschrijving overeen met het steriele mycelium, dat RICHARDSON & BERKELEY (1944) hebben geïsoleerd.

De snelste groeiers beslaan in twee tot drie weken de oppervlakte van een petrischaal van 10 cm, de langzaamste ongeveer 50% van deze oppervlakte. De schimmel met de paarsrose kleur in het mycelium groeit langzaam en is door ons, na een donker-grijs sneller groeiend type, het meest geïsoleerd. De groei is maximaal tussen 23° en 27 °C en neemt sterk af boven 30 °C en beneden 15 °C.

Jong mycelium is 2 tot 4  $\mu$  dik, zeer weinig gesepteerd en betrekkelijk weinig vertakt. Soms liggen een aantal hyfen dicht opeengepakt en vormen een soort koord (fig. 1). Het oudere mycelium is donker gekleurd, niet zelden veelvuldig gesepteerd en ook sterker vertakt. Het doet denken aan kettingen van tamelijk dunwandige chlamydosporen (fig. 2). Deze cellen kunnen rond zijn (7 tot 10  $\mu$ ), langwerpig (breedte 3 tot 8  $\mu$ ; lengte 10 tot 18  $\mu$ ), of onregelmatig van vorm. Zeer waarschijnlijk is dit een inleidende fase tot de vorming van microsclerotieën, die in verscheidene culturen zijn waargenomen (fig. 3). De sclerotieën zijn zwart en kunnen in grootte van ongeveer 100  $\mu$  tot ongeveer 400  $\mu$  variëren; ze zijn rond tot onregelmatig van vorm. In een twee tot drie weken oude cultuur zijn ze met het blote oog te zien.

#### SAMENVATTING

Bevestigd werd, dat een steriel mycelium de primaire oorzaak van kurkwortel is. Van het aantal uit zieke wortels geïsoleerde schimmels was ongeveer 70% steriel. Het is zonder verder onderzoek niet mogelijk uit te maken of de groep



FIG. 1. Koorden van dicht opeengepakte hyfen, 150 ×.

*Strands of parallel hyphae, × 150.*



FIG. 2. Dunne hyfen en kettingen van donkerder gekleurde kortere cellen, 150 ×.

*Thin hyphae and chains of darker coloured closely septate cells, × 150.*

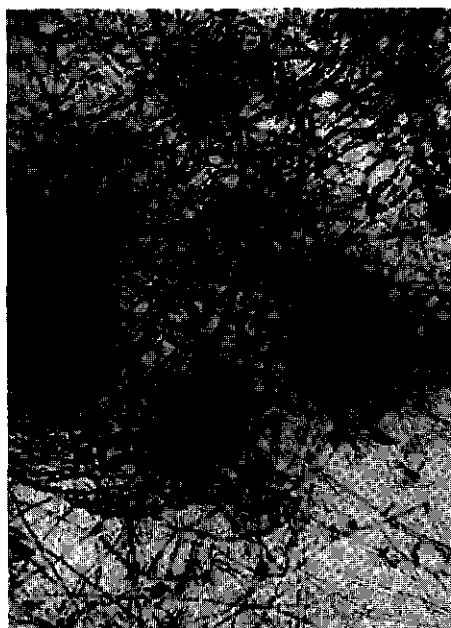


FIG. 3. Microscerotien, 100 ×.

*Microscerotia, × 100.*

„steriel mycelium” bestaat uit afzonderlijke steriele typen. De mate van ont-smetting van de wortelstukjes bepaalt het aantal malen dat steriel mycelium wordt geïsoleerd.

Hoewel secundaire bodemorganismen het afstervingsproces van de wortels kunnen versnellen, moeten de verschillende ziektebeelden, die in de praktijk worden aangetroffen, aan dezelfde primaire oorzaak worden toegeschreven.

#### SUMMARY

The disease occurs on every soil-type. The most common symptoms on heavier soils are thickened corky roots. On light soils the roots are frequently for the greater part brown without the typical corky appearance; sometimes the cortex loosens. This may also be the case on wet heavy soils.

The primary cause of the disease is a sterile mycelium. Secondary soil organisms may accelerate the disorganisation of the roots.

Isolation experiments pointed out that 70% of the isolates grown from diseased roots, consist of a sterile fungus. Pieces (1 cm) of diseased roots were disinfected successively in alcohol 75% and mercuric chloride 1<sup>0</sup>/<sub>100</sub>, depending on the thickness of the root 10 to 30 seconds and 1 to 5 minutes respectively, and afterwards they were washed in running water.

In inoculation experiments 127 isolates have been used, including 88 isolates of sterile mycelia and 39 isolates of other fungi. Several fungi of both groups were identical. All fungi were grown on cherry agar in petri dishes for three weeks at 24 °C and mixed with steamed soil in 250 ml clay pots. Tomatoes were planted in these pots and after eight weeks the roots were scored. Inoculation experiments were successful only with the sterile type fungi. Young roots showed brown patches. The older ones were partly or mostly brown with sometimes the beginning of a corky appearance. The fungus could easily be re-isolated from diseased roots. Control plants in steamed soil showed no sign of infection.

Within the sterile group, about 10 strains could be distinguished, differing in growth rate and colour. Differences in pathogenicity occurred not only between fungi of one type, but also between fungi of different types.

The fungus is non-sporulating, dark-coloured and slow-growing. So far it could not yet be determined at the Centraal Bureau voor Schimmelcultures at Baarn, the Netherlands.

Aerial mycelial growth is tight-cottony, mostly smooth and raised to 0.4 cm above the surface of the medium. The colour of the mycelium varies from light to dark gray; in some light gray isolates the mycelium is tinted with subdued pink-purple.

The reverse of the colony varies from grayish-green to greenish-black and is sometimes dark brown. More than once different „colour-types” grew from one piece of disinfected root.

Young mycelium is 2 to 4  $\mu$  thick, sparsely branched, with very few septae. Sometimes the mycelium forms strands of parallel hyphae (fig. 1). Apart from the thin hyphae one could find (with increasing age of the culture) closely septate, more branched, thicker hyphae. The cells are oval (7 to 10  $\mu$ ), oblong (3 to 8  $\mu$   $\times$  10 to 8  $\mu$ ), or irregularly shaped and look somewhat like chlamydo-spores (fig. 2). To some extent this description is in agreement with the one given by RICHARDSON & BERKELEY (1944). They do not mention microsclerotia.

Those chlamydospore-like cells probably are the beginning of the formation of microsclerotia, which could be found in several cultures after two to three weeks. The sclerotia are black and vary from 100 to 400  $\mu$  (fig. 3).

#### LITERATUUR

- ANONYMUS, - 1939. Kurkwortel bij tomaten. Jaarverslag Proeftuin Z.H. Glasdistrict Naaldwijk, 1938: 34-35.
- ANONYMUS, - 1954. Leaflet 384/11-54, Rijksstation voor Plantenziekten, Gent.
- EBBEN, M. H., - 1950. Brown root rot of the tomato. Rep. Exp. Res. Sta. Cheshunt, 1949: 28-32.
- EBBEN, M. H. & P. H. WILLIAMS, - 1956. Brown root rot of tomatoes I. The associated fungal flora. Ann. appl. Biol. 44: 425-436.
- GRAM, E. & A. WEBER, - 1944. Plante sygdomme. Kopenhagen.
- MOS, D. DE, - 1954. Kurkwortel in tomaten. Groenten en Fruit 10: 242.
- NOORDAM, D., G. P. TERMOHLEN & T. H. THUNG, - 1957. Kurkwortelverschijnselen van tomaten, veroorzaakt door een steriel mycelium. T. Pl. Ziekten 63: 145-152.
- RICHARDSON, J. K. & G. H. BERKELEY, - 1944. Basal rot of tomato. Phytopath. 32: 615-621.
- TERMOHLEN, G. P., - 1956. Kurkwortel, de meest gevreesde tomatenziekte. Groenten en Fruit 12: 605-606.