

KALKERWTEN EN BROEIERWTEN

DOOR

DR. K. ZIJLSTRA

Met deze benamingen worden twee, in natte oogsttijden dikwijls in de groene erwten — d. w. z. in de zaden — optredende afwijkingen aangeduid. Het zijn in de practijk gebruikelijke termen. Bij sommige landbouwers staan de *kalkerwten* of „verkalkte” *erwten* ook wel onder den naam van „witte” erwten bekend en men weet, dat ze steeds ontstaan bij nat weder, wanneer de erwten moeilijk droog te krijgen zijn.

Broeierwten ontstaan o. a. in de schuur, wanneer de ongedorschte erwten dicht opeengepakt zitten en niet volkomen droog zijn; ook worden ze vaak aangetroffen op de plek, waar de elevator, bij het in de schuur brengen van de ongedorschte erwten, voortdurend alles heeft neergeworpen, zoodat daar een dichte samenpakking van fijne deelen tot stand is gekomen, waarin soms hooge temperaturen kunnen gaan optreden. Ook schijnt broei zich wel voor te doen in spoorwagens, bij vervoer van partijen erwten, die niet voldoende droog zijn. Een Deutsche vermelding spreekt in dit verband van „Brennerbsen”.

Dat deze afwijkingen in de groene erwten voorkomen, is wel algemeen bekend, vooral omdat zij zeer groote schade kunnen veroorzaken. In ongunstige gevallen kan wel de helft van het niet geschoonde oogstproduct uit kalkerwten bestaan en het percentage aan broeierwten kan stellig wel tot 10 % stijgen. De kalkerwten zijn geheel en al waardeloos, zooals wij ook in hetgeen hier volgt zullen zien. Broeierwten worden door de splitters en de peulvruchtenhandelaren gevreesd, omdat ze slecht van smaak zijn en daardoor zelfs reeds in zeer kleine hoeveelheden een goede partij erwten voor de consumptie ongeschikt maken. Bovendien zullen wij in het onderstaande zien, dat ze als zaaigoed waardeloos zijn.

Omtrent het wezenlijke karakter van deze afwijkingen tastte men tot dusver echter nog in het duister. Het schijnt mij daarom niet van belang ontbloot, hierover iets naders mee te deelen.

Kalkerwten

In de eerste plaats wil ik de kalkerwten of de z.g. „verkalking” der erwten bespreken. Hierover is in 1940 een artikel van de hand van S. J.

(1) B 1

454 246

WELLENSIEK verschenen in het Landbouwkundig Tijdschrift, Jaargang 52, pag. 680—685, getiteld: *Verkalking en zwakke rimpeling bij erwten*. In dat opstel wordt een overzicht gegeven van proeven, door WELLENSIEK gedaan, om na te gaan, welke factoren gunstig of ongunstig zijn voor het optreden van de verkalking bij erwten. Hierbij bleek, dat het percentage aan kalk-erwten veel geringer was, wanneer men de erwten op ruiters liet narijpen, dan wanneer men ze liet narijpen door ze op den grond te laten liggen, of in een kas op te hangen.

Wat de oorzaak is van de verkalking, is door WELLENSIEK echter niet nagegaan. Hij vermeldt alleen, dat hem er geen literatuur over bekend is, en dat hem bij informatie, speciaal bij den Plantenziektenkundigen Dienst, gebleken is, dat de juiste oorzaak niet bekend is, doch dat men een verband vermoedde tusschen het optreden van dit verschijnsel en ongunstige weersomstandigheden in den oogsttijd.

Toen mij van de zijde van de Peulvruchten-Studiecombinatie een monster kalkkerwten ter hand werd gesteld met de mededeeling, dat het wenschelijk zou zijn, hieromtrent wat naders te weten, heb ik er dan ook een onderzoek naar ingesteld. Het resultaat ervan zal in het onderstaande worden medegedeeld.

Wanneer men de verkalkte erwten nader bekijkt, blijkt al dadelijk, dat de uiterlijke kenmerken goed door deze benaming worden getypeerd. Zooals WELLENSIEK het ook uitdrukt, schijnen de erwten in een harde, kalkachtige massa te zijn veranderd. Ook bij beschouwing onder de loupe zien ze er uit, alsof ze inderdaad uit kalk bestaan.

Toch is er hier geen sprake van aanwezigheid van kalk.

Gewoonlijk zijn deze erwten een weinig hoekig en wat klein van stuk; ze zijn aanmerkelijk lichter dan normale en daardoor laten ze zich bij het reinigen van den oogst na het dorschen gemakkelijk verwijderen. In goed geschoonde partijen erwten komen ze dan ook zoo goed als niet voor. Verder zijn zij hard en bros, zoodat ze zich tusschen de vingers laten verpulveren. Op de breuk zijn ze melig of kalkig. De kleur is nogal verschillend, meestal lichtgeel tot kalkachtig grijs, maar soms lichtbruin tot donkerbruin. Wanneer de zaadhuid nog aanwezig is, is deze soms glad, soms echter geheel of gedeeltelijk ruw en dof en vaak ook kalkachtig van uiterlijk. Is de zaadhuid geheel of gedeeltelijk verloren gegaan, dan vertoonen zich de zaadlobben, die meestal hun bladgroen geheel hebben verloren en lichtgeel of lichtgrijs, of soms min of meer bruin getint zijn. (In de normale, goed rijpe groene erwt is de zaadhuid kleurloos; deze erwten hebben hun kleur te danken aan de zaadlobben, die groen zijn door het in hun cellen voorkomende bladgroen). Op de platte zijde zijn de zaadlobben soms nog min of meer groen in het

midden, doch grijs of grauw aan de randen. Met een loupe kan men duidelijk waarnemen, dat de oppervlakte van de zaadlobben, zoowel op de bolle als op de platte zijde, geheel of gedeeltelijk bedekt is met een dof, lichtgrijs laagje.

Van het worteltje en het pluimpje is meestal niets meer aanwezig; in enkele gevallen echter kan men nog een abnormaal klein worteltje ontdekken.

Gaan we normale en verkalkte groene erwten in water weeken, dan zien we een groot verschil, vooral indien we de erwten vooraf gehalveerd hebben. Terwijl bij normale erwten de zaadhuid, die weliswaar de zaadlobben eng omsluit, doch er niet mee verbonden is, van de zaadlobben los raakt, blijft zij er bij de kalkerwten grootendeels aan vastgehecht. De zaadlobben zelf worden bij de kalkerwten door het weeken zeer zacht en sponsachtig week, zoodat ze zich zeer gemakkelijk stuk laten drukken, of met naalden uiteenpluizen; geheel anders dan bij de normale erwt, waar de zaadlobben in geweechten toestand vrij stevig blijven. Bij de kalkerwt is het onderling verband tusschen de zaadlobcellen verloren gegaan, tengevolge waarvan ze gemakkelijk van elkander los laten. Wat hiervan de oorzaak is, zal blijken uit het microscopisch onderzoek.

Voordat wij nader op de bijzonderheden der kalkerwt ingaan, zullen wij eerst een beknopte beschrijving geven van den bouw van de *normale groene erwt* (*Pisum sativum* L), voorzooer dat voor een goed begrip van het daarna volgende noodig is.

Wij onderscheiden dan: 1e. de **zaadhuid**, die bij droog zaad ruim 1/10 mm dik is en nagenoeg kleurloos, met een zeer lichtgele tint; 2e. de **klem**, bestaande uit het worteltje, het pluimpje en de beide zaadlobben.

Het *worteltje* is lang kegelvormig, in dwarse doorsnede ovaal, in drogen toestand 3 mm lang, in zijn dikste gedeelte 1 mm dik, en lichtgeel gekleurd; het ligt geheel aan den buitenkant, tusschen de randen der beide zaadlobben, in een, door de binnenste lagen der zaadhuid gevormd, zakje. Daar het worteltje onmiddellijk onder de zaadhuid ligt en de erwt daar ter plaatse meestal een weinig afgeplat of zelfs eenigszins ingedeukt is, is het van buiten af duidelijk zichtbaar. Het eindigt met zijn top juist bij het begin van de navelspleet.

Het *pluimpje*, dat zich na het kiemen van het zaad tot den bebladerden stengel ontwikkelt en in de erwt reeds, behalve uit den kleinen vegetatiekegel, uit een vijftal zeer kleine blaadjes bestaat, is ongeveer 2 mm lang en, evenals het worteltje, lichtgeel getint; het ligt, naar binnen gebogen, tusschen de zaadlobben verborgen; pas wanneer men het zaad voorzichtig splijt, wordt het pluimpje zichtbaar.

De beide *zaadlobben* maken verreweg het grootste deel van de erwt uit; zij zijn ongeveer halfbolvormig, in drogen toestand hoornachtig en hard

en bij de groene erwt groen van kleur. De grootste dikte bedraagt ongeveer $3\frac{1}{2}$ mm. Met de platte zijden liggen ze tegen elkander aan, bijna geen ruimte tusschen zich latende. Zij bevatten veel reservevoedsel, n.l. zetmeel, eiwit en vet, waarop het jonge kiemplantje teren moet, zoolang het nog niet in staat is, zelf zijn bouwstoffen te bereiden.

Ik meen hier de gelegenheid niet te mogen verzuimen, eens uitdrukkelijk te wijzen op een verkeerde benaming, waarvan in de practijk dikwijls gebruik wordt gemaakt en die zonder twijfel te wijten is aan een verkeerde voorstelling van de beteekenis der verschillende onderdeelen van de erwt. Men spreekt n.l. vaak van de *kiem* van de erwt, terwijl men slechts het worteltje bedoelt (b.v. in het splitterijbedrijf, waar, tegelijk met de zaadhuid, ook het overgrootste deel der worteltjes wordt verwijderd). Dat dit onjuist is en daardoor misverstand kan scheppen, blijkt wel voldoende uit het voorgaande, waar ik heb vermeld, dat bij de erwt alles tezamen, wat door de zaadhuid wordt omsloten, als de *kiem* moet worden beschouwd. Worteltje, pluimpje en zaadlobben zijn alle onderdeelen van de kiem, welker gewicht meer dan 90 % van het gewicht der geheele erwt bedraagt.

Wij zullen nu nog nagaan, hoe de verschillende deelen van de erwt zijn opgebouwd. Daarbij zal ik geen volledige beschrijving van den microscopischen bouw geven, doch volstaan met de hoofdtrekken, voorzoover deze voor ons onderwerp van belang zijn.

Bij deze beschrijving zullen wij wederom de volgorde van buiten naar binnen in acht nemen.

In de **zaadhuid** (zie fig. 1) kunnen wij verschillende lagen onderscheiden. De buitenste laag, de *opperhuid*, is slechts 1 cel dik (alleen in den navel is zij 2 cellen dik), en bestaat uit de zoogenaamde *palissadencellen*, dat zijn zeer dikwandige, langgerekte bijna cilindrische of prismatische, naar binnen een weinig dunner toeloopende, ongeveer $18\ \mu$ dikke cellen, die allen vast aaneenschuiten en met hun grootste afmeting loodrecht gericht staan op het oppervlak der zaadhuid. Deze opperhuid is in geweekten toestand ongeveer $90\ \mu$ dik. De wand der cellen, die uit 8 à 10 lijsten bestaat, is zoo sterk verdikt, dat er van het cellumen slechts een spleet is overgebleven. Alleen in het binnenwaarts gerichte uiteinde is de wand dunner, zoodat het lumen aldaar ruim $10\ \mu$ wijd is. De geheele wand bestaat uit cellulose, zonder verhouting. Over de opperhuid ligt een dunne verkurkte cuticula. Alleen tusschen de naar binnen gerichte uiteinden der palissadencellen worden kleine intercellulaire holten aangetroffen. Onmiddellijk onder deze laag van palissadencellen treffen wij weer een 1 cel dikke laag van cellen aan, die echter geheel anders van vorm zijn. Het zijn de zoogenaamde *zandloopercellen*, welken naam zij hebben te danken aan den vorm, die ze in dwarse doorsneden

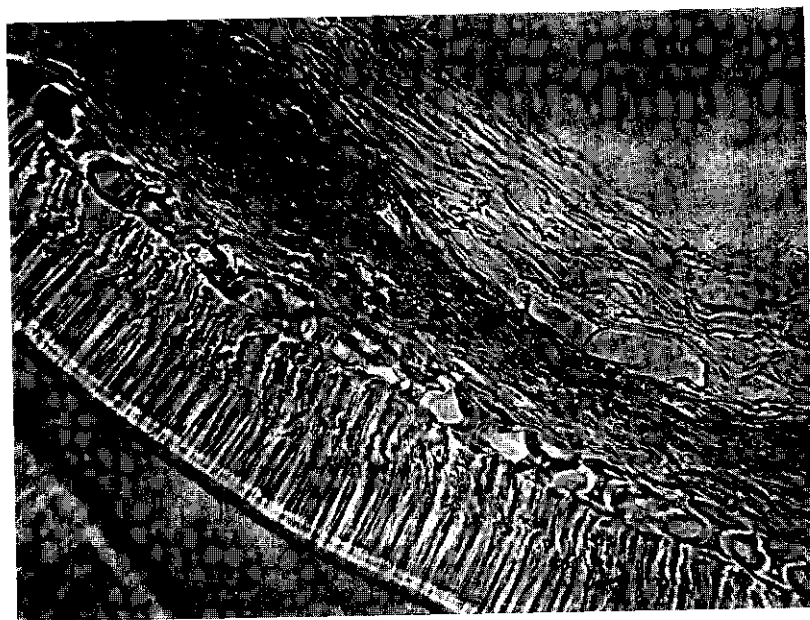


Fig. 1.
Zaadlob van normale erwte. Dwarse doorsnede. Het donker gedeelte in den rechter bovenhoek is de doorsnede door de zaadnerf



Fig. 2
Zaadlob van normale erwte. Dwarse doorsnede der platte zijde. Vergrooting als fig. 1.

van de zaadhuid vertoonen. De cellen sluiten vast aan de palissadenlaag, doch onderling zijn ze niet zonder groote tusschenruimten aaneengesloten; deze laag is gekenmerkt door groote intercellulaire holten. Ook van deze cellen is de wand verdikt, ofschoon niet in die mate als bij de palissaden-cellen. De dikte der zandloopercellenlaag is bij geweeekt zaad ongeveer $60\ \mu$. In hun wijdeste gedeelten zijn de cellen veelhoekig en ongeveer $35\ \mu$ in diameter; in het smalle middengedeelte zijn ze rond op doorsnede, met een diameter van $20\ \mu$; de wanddikte bedraagt $4\ \mu$. Ook hier bestaat de celwand uit cellulose.

Van inhoud is bij deze beide soorten cellen niet veel meer te bespeuren; soms treft men er alleen nog gedesorganiseerde resten in aan.

Tenslotte volgt nu een vrij los, sponsachtig weefsel, dat uit verscheiden lagen van cellen is samengesteld en in geweekten toestand 50 tot $120\ \mu$ dik is. De cellen zijn vrij dun van wand en in sterke mate platgedrukt in de richting, loodrecht op de oppervlakte der zaadhuid. Hier en daar worden nog min of meer geel gekleurde resten van den celinhoud aangetroffen, overigens zijn slechts de wanden overgebleven, die nog de cellulosereacties geven. In deze sponsachtige, platgedrukte laag ligt in het midden, boven de scheiding der beide zaadlobben, een vaatbundel, de zaadnerf, als voortzetting van de navelstreng in de zaadhuid. Hierop behoeven wij hier echter niet verder in te gaan, evenmin als op den bouw van den navel, daar dit alles voor een goed begrip van het volgende van geen belang is. De sponsachtige laag is het dikst in de nabijheid van de zaadnerf en den navel; zij vormt bovendien nog (zooals in het voorgaande al is vermeld) een zakje, waarin het kiemworteltje is gestoken. Hiermede hebben wij de zaadhuid in hoofdtrekken afgehandeld.

Wij gaan nu over tot de **kiem** en bespreken daarvan eerst de *zaadlobben*, die van de zaadhuid slechts door een zeer kleine tusschenruimte zijn gescheiden. Het zijn de eerste bladeren van de kiem; de platte zijde is de bovenkant, de bolle zijde de onderkant van dit bladorgaan.

De zaadlob is bekleed door een dunne *opperhuid*, die niet overal gelijk is; aan den bovenkant der zaadlob is zij ongeveer $20\ \mu$ dik (zie fig. 2), aan den onderkant slechts ongeveer $8\ \mu$ (zie fig. 3). Wanneer wij lapjes opperhuid van boven bezien onder den microscoop, dan blijken de cellen zeer langgestrekt te zijn, n.l. die van de bovenopperhuid tot een lengte van $150\ \mu$, die van de benedenopperhuid tot ongeveer $80\ \mu$; zij zijn in groepen gelijk gericht.

Beschouwen wij eerst de bovenopperhuid. De dikte is ongeveer $20\ \mu$, en de cellen hebben een buisvormige gedaante; de grootste zijn ongeveer $150\ \mu$ lang. Hun wand is ongeveer $1\ \mu$ dik, behalve de buitenwand, waarvan

de dikte $6\ \mu$ is. Deze cellen zijn gevuld met protoplasma, waarin een ronde kern van $8\ \mu$ en kleine plastiden, waarvan vele een zetmeelkorrel bevatten van een afmeting van ten hoogste $3\ \mu$.

De cellen van de benedenopperhuid zijn iets dunner van wand; ook de buitenwand is dunner, n.l. $3\ \mu$. De inhoud bestaat uit zeer fijnkorrelig protoplasma, dat de cel geheel vult en een ronde kern van $7\ \mu$ bevat, doch geen zetmeel.

Aan de benedenopperhuid grenst een enkelvoudige *hypodermale laag* (zie fig. 3) van parenchymcellen, die zich door hun vrij regelmatig, vrijwel isodiametrischen vorm en betrekkelijk kleine afmetingen (ongeveer $30\ \mu$) van de cellen van het grondweefsel der zaadlob onderscheiden. Hun wand is ongeveer 1 à $1\frac{1}{2}\ \mu$ dik. De intercellulaire holten zijn zeer klein. Deze cellen zijn gevuld met protoplasma, waarin een ronde kern van 10 à $12\ \mu$, vele aleuronkorreltjes en een aantal spoelvormige zetmeelkorrels, waarvan de grootste $15\ \mu$ lang en $4\ \mu$ dik zijn. In een cel telde ik er een twaalfstal van die zetmeelkorrels. Deze hypodermale laag ontbreekt aan den bovenkant (platte kant) van de zaadlob (zie fig. 2).

Het *grondweefsel* (zie fig. 4), verreweg de hoofdmassa van de zaadlob, is samengesteld uit veelhoekige, afgeronde, veelal langwerpige parenchymcellen van verschillende grootte, b.v. 140 bij $100\ \mu$, 170 bij $90\ \mu$; met een wand ter dikte van 2 à $3\ \mu$, die voorzien is van talrijke zeer fijne stippels en uit cellulose bestaat. De intercellulaire holten zijn vrij groot. Het protoplasma is helder, en hierin ligt de zeer onregelmatig gevormde kern, waarvan de grootste diameter ongeveer $25\ \mu$ is, steeds vrijwel in het midden der cel; dit protoplasma is zeer rijk aan kleine, ongeveer $1\ \mu$ groote aleuronkorreltjes; ook bevat het vet. De hoofdmassa van de celinhoud bestaat uit een groot aantal zetmeelkorrels van sterk uiteenlopenden vorm en afmetingen; in 2 cellen van gemiddelde grootte heb ik het aantal zoo nauwkeurig mogelijk bepaald; in de eene cel bevonden zich 24 groote en 60 kleine, in de tweede cel 19 groote en 71 kleine korrels. De kleine korrels zijn gewoonlijk in het midden der cel opgehoopt en daar omheen liggen de groote. Laatstgenoemde zijn ovaal, soms min of meer niervormig, de grootste ongeveer $50\ \mu$ lang en $27\ \mu$ breed, meestal met een centrale langwerpige spleet; in de kleine, vrijwel ronde, 5 à $10\ \mu$ groote, soms kleinere korrels ziet men gewoonlijk een centrale driestralige spleet. In verse preparaten zijn de zetmeelkorrels vaak lichtgroen getint door de chloroplasten, waarin ze liggen; vooral bij de kleine zetmeelkorrels in de cellen der hypodermale laag is dit zeer duidelijk waar te nemen.

In het grondweefsel verspreid worden hier en daar, uit zeer dunwandige elementen bestaande, procambiumstrengen aangetroffen, de vaatbundels van dit bladorgaan (de zaadlob) vertegenwoordigend.

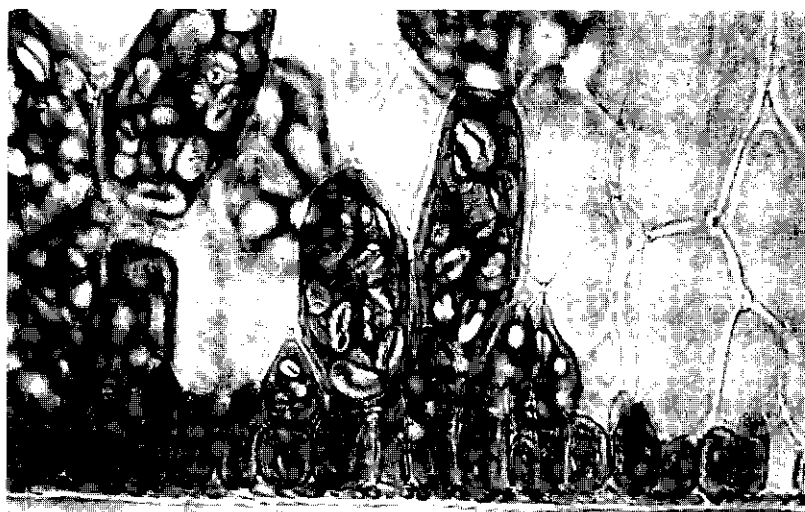


Fig. 3
Zaaddlob van normale erw. Dwarso doorsnede der bolle zijde. Vergrooing als fig. 1

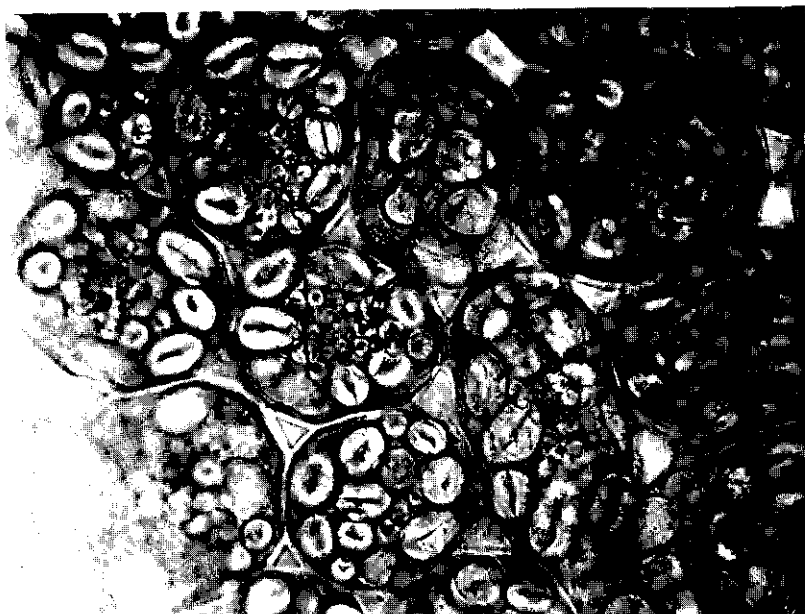


Fig. 4
Zaaddlob van normale erw. Dwarso doorsnede door het middengedeelte. Vergrooing als fig. 1

Het *kiemworteltje* is geheel uit embryonale cellen opgebouwd (zie fig. 5), waarin echter toch wel reeds eenige differentiatie is opgetreden. De *opperhuid* bestaat uit 1 laag van zeer gelijkmatig gevormde, vrijwel rechthoekige, dunwandige cellen, waarvan alleen de buitenwand ongeveer $7\ \mu$ dik is. Ze zijn geheel gevuld met een zeer fijnkorrelig protoplasma, waarin een ronde kern van $10\ \mu$; zetmeel komt er niet in voor. Het *grondweefsel*, het latere schorsparenchym, is samengesteld uit veelhoekige, afgeronde, bijna isodiametrische cellen met circa $30\ \mu$ diameter, met dunnen wand. De intercellulaire holten zijn zeer duidelijk ontwikkeld en driehoekig. Het protoplasma, dat de cellen geheel vult, is zeer fijnkorrelig; het bevat vet. De kern is rond en ongeveer $10\ \mu$ groot. Zeer talrijke uiterst kleine aleuronkorreltjes en vele ronde en ovale zetmeelkorreltjes van 1 tot $7\ \mu$ worden in deze cellen aangetroffen. De *centrale cylinder* is reeds duidelijk kenbaar, doch nog slechts weinig gedifferentieerd. De cellen zijn in dwarse doorsneden in hoofdzaak rond, met een diameter van $15\ \mu$, in overlangsche doorsneden blijken ze rechthoekig en 25 tot $50\ \mu$ lang te zijn; hun wand is zeer dun. De intercellulaire holten zijn zeer klein. De inhoud der cellen is zeer fijnkorrelig, de kern rond met een diameter van $5\ \mu$. Zetmeel is hier niet aanwezig.

Van het *pluimpje* komen de cellen overeen met de gelijknamige cellen van het worteltje. Ook hier komen kleine zetmeelkorreltjes voor in de grondweefselcellen, doch niet in de opperhuid en de procambiumstrengen.

Waardoor onderscheidt de kalkerwt zich nu van de normale erwten? Dit zullen wij nu nagaan door microscopisch onderzoek van alle boven besproken weefsels.

Het blijkt dan, dat de kalkerwt in alle deelen doorwoekerd is door schimmelhyphen. Op welke wijze de hyphen zich in de weefsels verbreiden, zullen wij in het volgende bespreken, waarbij wij weer de volgorde van buiten naar binnen in acht nemen.

Voor dit onderzoek heb ik gebruik gemaakt van gedurende 24 uren geweekte erwten, die daarna gefixeerd waren met formaline (1 deel formaline op 8 deelen water), of met de oplossing van Bouin (15 deelen verzadigde oplossing van pikrinezuur in water, 5 deelen formaline en 1 deel ijsazijn). Hiervan werden dwarse en tangentiale doorsneden gemaakt; van de zaadhuid afzonderlijk werden ook lapjes bestudeerd. Om de hyphen duidelijker zichtbaar te maken, en ook om ze op te sporen in preparaten, waar ze zonder hulpmiddelen niet, of moeilijk met volkomen zekerheid te vinden waren, heb ik sommige der preparaten gekleurd met een oplossing van methyblauw 0 (Baumwollblau, bleu coton) in melkzuur. Hierin kleurt zich het protoplasma van alle cellen intensief blauw, ook dat van de hyphen. Nadat een goede kleuring is tot stand gekomen, krijgt men de duidelijkste preparaten, door

het meeste der kleurstofoplossing weg te zuigen en de doorsneden te bestudeeren in lactophenol van Amann (1 g phenol, 1 g melkzuur, 2 g glycerine, 1 g water).

Buiten op de opperhuid van de *zaadhuid* vinden wij bij de kalkerwt gewoonlijk een dichte, ongeveer 15 tot 25 μ dikke laag van dicht dooreengestrengelde hyphen, die zelf nogal ongelijk van dikte zijn; men treft er aan van 3 tot 7 μ dikte. Septa zijn er duidelijk in te onderscheiden. De hyphen dringen de opperhuid binnen, tusschen de palissadencellen door en evenwijdig aan de as dezer cellen, totdat zij de plaats bereiken, waar de celwand dunner wordt en het lumen wijder. Op deze hoogte verbreiden de hyphen zich ook zijwaarts in de zich aldaar bevindende nauwe intercellulaire holten; tevens dringen ze hier ook het lumen binnen. Door de talrijke zich tusschen de cellen dringende hyphen wordt het onderlinge celverband minder hecht. Wij kunnen dan ook bij het maken der microscopische preparaten duidelijk constateeren, dat de palissadenlaag van de kalkerwt vrij gemakkelijk in stukken breekt, in tegenstelling met de normale erwt, waar deze cellaag buitengewoon vast en stevig is.

Vervolgens verbreiden de hyphen zich in de *zandloopercellenlaag* en wel in de cellen, zoowel als in de groote intercellulaire holten. De hyphen slingeren zich in vele kronkelingen tusschen de cellen der beide juist besproken cellagen door, zoodat er bijna nergens een recht stuk aan te ontdekken is en het dus ook moeilijk is, de lengte en dikte der hyphencellen vast te stellen. In een paar gevallen bleken zij de volgende afmetingen te hebben: lengte 20, 40 en 35 μ bij een dikte van 3, resp. 8 en 7 μ .

In de derde, *sponsachtige*, uit platgedrukte en nagenoeg inhoudlooze parenchymcellen bestaande *laag der zaadhuid* vinden wij zulk een ophooping van hyphen, dat er van de wanden van deze laag soms moeilijk iets is terug te vinden.

Deze hyphenmassa zet zich nu zonder onderbreking voort in de *zaadlob*. Vandaar, dat de zaadhuid, ook bij het weken, zoo vast aan de zaadlob blijft hechten.

In de *opperhuid* der zaadlob zijn de hyphen tusschen de cellen en tevens in de cellen doorgedrongen. De celwanden zijn meestal niet meer te vinden en de cellen zijn min of meer van elkander gedrongen en meestal geheel misvormd. Het protoplasma blijkt gecoaguleerd en samengetrokken te zijn; de zetmeelkorrels worden blijkbaar niet aangetast.

Ook het *grondweefsel* der zaadlob is doorwoekerd door de hyphen. Deze bevinden zich in de intercellulaire holten, omhullen in dichte strengen elke cel (zie fig. 6) en dringen tevens ook de cel binnen, waar ze vaak zeer duidelijk tusschen de zetmeelkorrels zijn waar te nemen. Van den wand der grond-

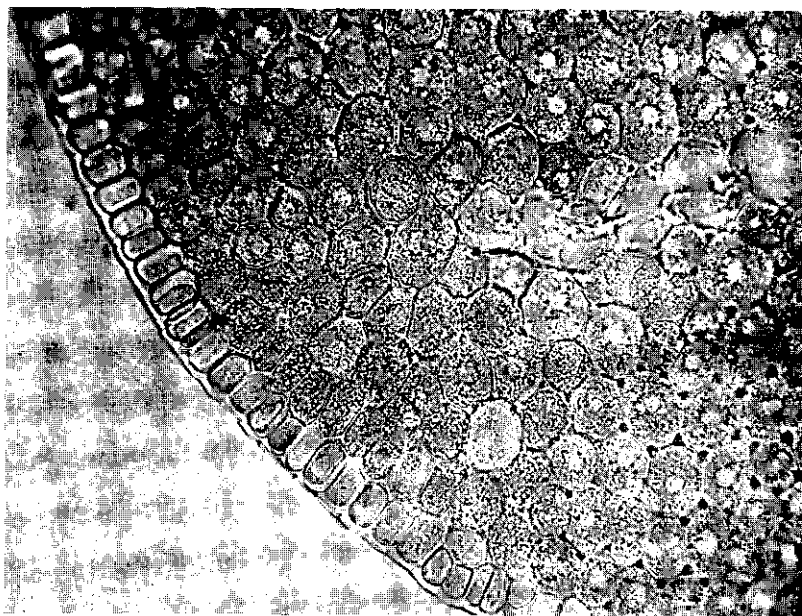


Fig. 5
Worteltje van normale erw. Dwaars doorsnede. Vergrooing
als fig. 1

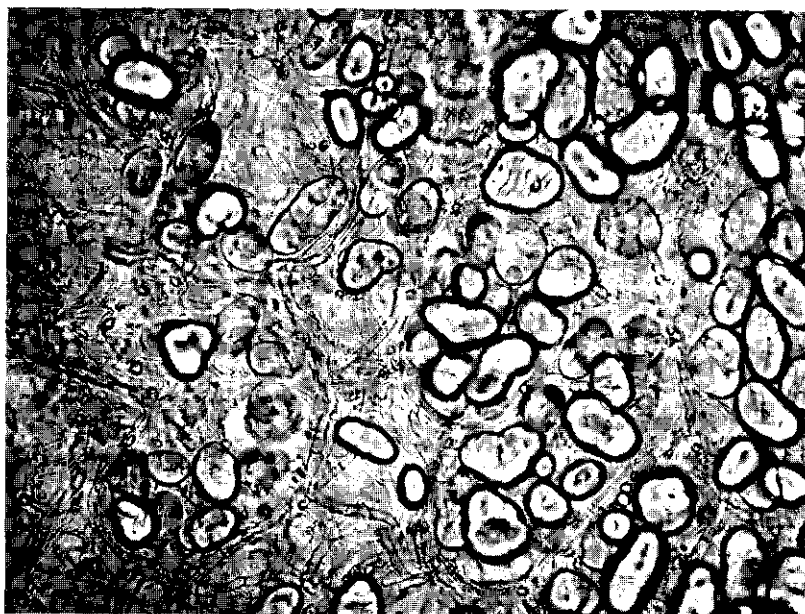


Fig. 6
Zaadlob van kalkerwt. Dwaars doorsnede door het midden-
gedeelte. Te vergelijken met fig. 4. Vergrooing als fig. 1

(De bovenbeschreven verschijnselen doen zich eveneens voor bij andere peulvruchten. Ik heb ze waargenomen bij de *tuinboon* *Vicia Faba* L, de *stamboon* *Phaseolus vulgaris* L (zie fig. 8) en bij de Sojaboon *Glycine hispida* Maxim. of Soja *hispida* Mneh).

Uit dit onderzoek mogen wij m.i. wel met groote waarschijnlijkheid afleiden, dat het verschijnsel der „verkalking” bij erwten moet worden toegeschreven aan een infectie door een schimmel, of door verschillende soorten van schimmels. De resultaten, door WELLENSIEK verkregen bij zijn proeven over den invloed van verschillende omstandigheden op de narijping van erwten, worden hierdoor mijns inziens ook verklaarbaar.

Wanneer het nu gelukt, de „verkalking” te doen ontstaan door normale gezonde erwten met een schimmel te besmetten, dan wordt de bovengenoemde waarschijnlijkheid vrijwel tot zekerheid.

Dit is nu aan het Rijksproefstation voor Zaadcontrôle door Mejuffr. Dr. L. C. DOYER gedaan. Zij onderzocht in de eerste plaats, welke schimmelsoorten voorkwamen in een aantal haar door ons ter beschikking gestelde kalkerwten, met het volgende resultaat. Negen van de tien met sclerotiën bezette kalkerwten vertoonden resten van conidiëndragers van *Botrytis cinerea*, zoodat het waarschijnlijk is, dat die erwten, waarop zich sclerotiën hebben gevormd, door *Botrytis cinerea* aangetast zijn geweest. Zeven kalkerwten, een uur lang uitwendig ontsmet met een 1/4 % Ceresanoplossing en daarna op een voedingsbodem van kers-agar gebracht, vertoonden een weligen schimmelgroei, waarbij de volgende soorten konden worden onderscheiden:

- Erwt N°. 1 — *Botrytis cinerea* en *Rhizopus nigricans*;
 „ „ 2 — *Trichothecium roseum* en *Rhizopus nigricans*;
 „ „ 3 — *Trichothecium ros.*, *Penicillium spec.* en *Rhiz. nigr.*;
 „ „ 4 — *Botrytis cin.*, *Penicill. spec.* en *Rhiz. nigr.*;
 „ „ 5 — *Penicill. spec.* en *Rhiz. nigr.*;
 „ „ 6 — *Botryt. cin.* en *Rhiz. nigr.*;
 „ „ 7 — *Penicill. spec.* en *Rhiz. nigr.*

Vijf niet ontsmette kalkerwten ontwikkelden, eveneens op kers-agar, de volgende schimmels:

- Erwt N°. 1 — *Botrytis cinerea*, *Penicillium spec.* en *Rhizopus nigricans*;
 „ „ 2 — *Botryt. cin.*, *Penicill. spec.*, *Acremoniella atra* en *Rhiz. nigr.*;
 „ „ 3 — *Botryt. cin.*, *Penicill. spec.* en *Rhiz. nigr.*;
 „ „ 4 — *Penicill. spec.*, *Acremoniella atra* en *Rhiz. nigr.*;
 „ „ 5 — *Botryt. cin.* en *Rhiz. nigr.*

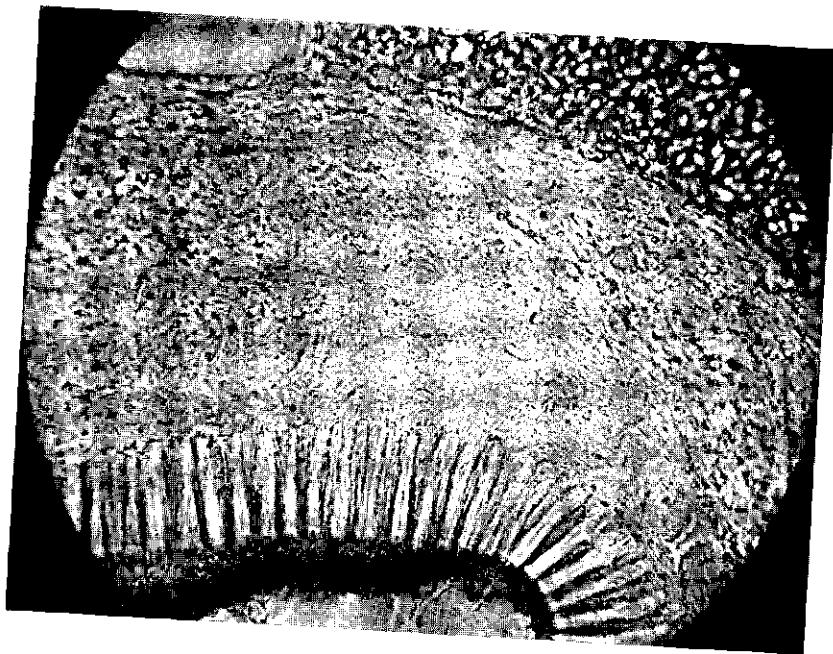


Fig. 7
Sclerium van kalkerwt. Dwarze doorsnede. Links de palis-
decellen der zaadhut; in het midden het pseudoparenchym,
waarin enkele zaadhoopcellen zichtbaar; geheel rechts een
deel der zaadlob

0 100 200 μ

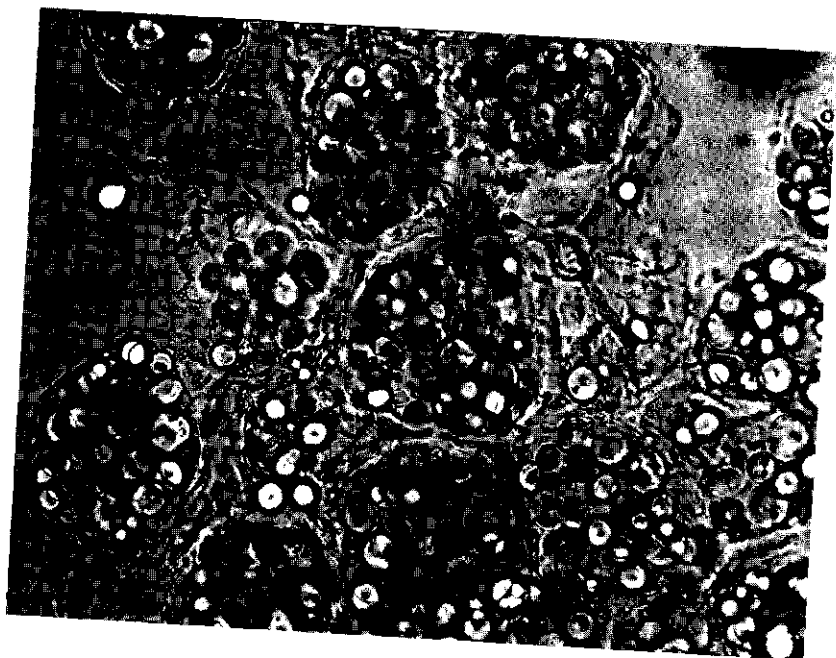


Fig. 8
Zaadlob van kalkboom (stamboom). Dwarze doorsnede door
het middengedeelte. Vergrooting als fig. 1

0 100 200 μ

Van deze 12 op een voedingsbodem van kers-agar onderzochte erwten ontwikkelde zich dus uit 7 *Botrytis cinerea*, terwijl voorts diverse andere saprophytische schimmels optraden, waaronder *Rhizopus nigricans* geen enkele keer ontbrak.

Bij microscopisch onderzoek van eenige doorsneden van een droge kalkerwt trof Dr. DOYER, behalve een net van myceliumdraden, nog sporen aan van de schimmels: *Penicillium spec.*, *Cladosporium herbarum*, *Macrosporium spec.*, *Alternaria spec.* en *Acremoniella atra*. Haar indruk was op grond van deze resultaten, dat het optreden van kalkerwten samengaat met aantasting door verschillende saprophytische en half-saprophytische schimmels, waaronder *Botrytis cinerea* herhaaldelijk voorkomt; en ook dat *Botrytis cinerea* waarschijnlijk niet als de uitsluitende oorzaak van dit verschijnsel mag worden beschouwd, aangezien kalkerwten met sclerotiën er op tamelijk schaarsch zijn.

Dat *Botrytis cinerea* het „verkalken” der erwt inderdaad kan tot stand brengen, bleek uit een door Dr. DOYER genomen proef, waarbij zij bevochtigde en ontsmette gezonde erwten infecteerde met een zuivere cultuur van laatstgenoemde schimmel. De erwten veranderden in kalkerwten, die zich, zooals mij bij microscopisch onderzoek bleek, van de in de praktijk aangetroffen kalkerwten alleen onderscheidden, doordat de desorganisatie der besmette erwten nog veel verder was voortgeschreden. Verscheidene van deze lieten zich ook in drogen toestand gemakkelijk stuk knippen en verpulveren. Van de celwanden bleek in de zaadlobben vrijwel niets te zijn overgebleven; zij waren geheel en al verteerd en hun plaats was ingenomen door de hyphen. Het komt mij voor, dat de eiwitachtige bestanddeelen der cellen hetzelfde lot ondergaan. Alleen de zetmeelkorrels ondergaan blijkbaar geen verandering. Op enkele van de geïnfecteerde erwten zag ik ook sclerotiën ontwikkeld, zooals men ook bij de kalkerwten uit de praktijk kan aantreffen.

Naar Dr. DOYER mij tenslotte nog meedeelde, acht zij het zeer goed mogelijk, dat het ontstaan van de kalkerwten moet worden toegeschreven aan aantasting door verschillende saprophytische en half-saprophytische schimmels, en dat dit verschijnsel zou kunnen ontstaan, doordat de erwten, tengevolge van ongunstige uitwendige omstandigheden, hun levenskracht en daarmee hun weerstandsvermogen tegen schimmelaantasting verloren hebben. Daardoor konden de het meest voorkomende saprophytische en half-saprophytische schimmels deze erwten gemakkelijk aantasten en doorwoekeren.

Broeierwten

In de inleiding is reeds vermeld, onder welke omstandigheden die afwijkingen in partijen groene erwten ontstaan, welke met den naam broeierwten worden aangeduid.

De broeierwt onderscheidt zich van de normale groene erwt door een verkleuring, die van een lichtgele tint tot bruin kan variëren. Aangezien de zaadhuid der broeierwt kleurloos is, evenals bij de normale groene erwt, of in ernstige gevallen slechts een gele tint bezit, moet de verkleuring vrijwel uitsluitend berusten op een verlies van de groene kleur der zaadlobben. Wanneer wij de zaadhuid verwijderen, zien wij dan ook, dat de zaadlobben, in plaats van donkergroen te zijn, een vaalgroene tint of een bepaald bruine kleur bezitten. De oppervlakte der zaadlobben is echter nog even glanzend als bij de normale erwt (dit in tegenstelling met hetgeen wij bij de kalkerwt waarnemen, waar immers de zaadlobben een doffe oppervlakte hebben).

Op één bepaalde plaats echter is ook de zaadhuid vaak afwijkend van kleur, n.l. daar, waar zij het worteltje overdekt. Daar is ze meestal min of meer bruin getint. Dat deze verkleuring werkelijk de zaadhuid zelf betreft, blijkt indien men deze van het zaad losmaakt. Zeer dikwijls zijn de broeierwten gerimpeld, of eigenlijk beter gezegd, van talrijke putjes voorzien; vooral is dit in sterke mate het geval, wanneer de erwt bruin is geworden.

Het meest echter is het *worteltje* veranderd. Het is n.l. niet meer lichtgeel, zooals bij de normale erwt, maar roestbruin en zeer bros. Tevens valt het meestal duidelijk op, ook zonder dat vooraf de zaadhuid wordt verwijderd, dat het worteltje meer of minder ingezonken is, niet meer „gevuld”, zooals bij de normale erwt. Bij nadere beschouwing blijkt het ingeklonken en wel alleen in de richting loodrecht op de oppervlakte van het zaad. De dwarse doorsnede van het worteltje is dan niet meer ovaal, doch niervormig met de concave zijde naar buiten gekeerd.

Het *pluimpje* heeft eveneens meestal een bruine kleur aangenomen.

Wij zullen nu eens nagaan, wat het microscopisch onderzoek leert omtrent de broeierwt. We maken hierbij gebruik van in water geweekte zaden, die daarna gefixeerd zijn in 1 deel formaline en 8 deelen water. Het blijkt dan, dat de *zaadhuid* niet veranderd is. In die gevallen, waar zij in de omgeving van het worteltje geel of bruin is getint, zetelt deze kleur grootendeels in de wanden der palissadencellen en in mindere mate ook in die der binnenste lagen.

Duidelijke veranderingen zien we echter opgetreden in de *zaadlobweefsels*, n.l. wat den inhoud der cellen betreft.

De inhoud der *opperhuidcellen* is gecoaguleerd en tevens geschrompeld en daarbij van den celwand teruggetrokken en vervormd. Zoo ook de celinhoud der *hypodermale laag*, welke direct onder de opperhuid van de bolle zijde is gelegen.

Het parenchym van het *grondweefsel* vertoont nog duidelijker veranderingen (zie fig. 9). Ook hier is het protoplasma gecoaguleerd en geelachtig gekleurd. Tevens is het gewoonlijk zeer duidelijk gecontraheerd, zoodat het

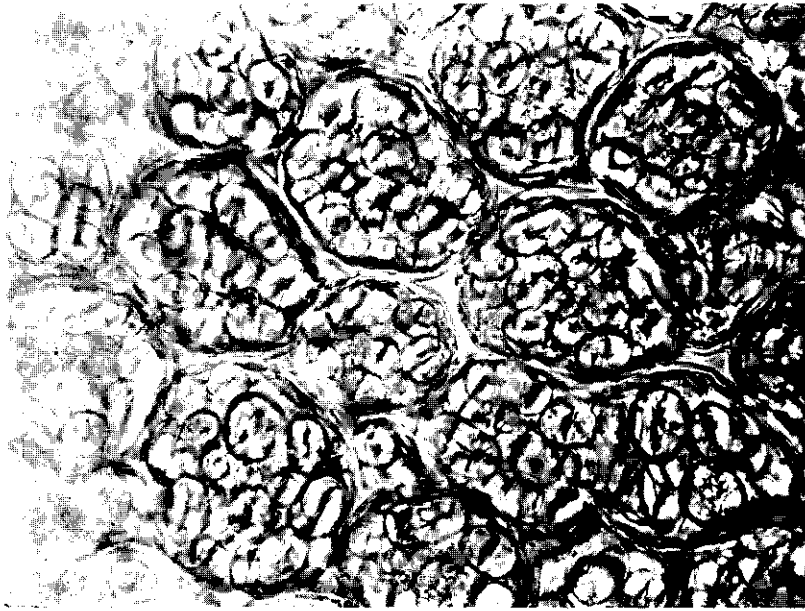


Fig. 9
Zaadlob van brocierwt. Dwarze doorsnede door het midden-
gedeelte. Te vergelijken met fig. 4. Vergroting als fig. 1

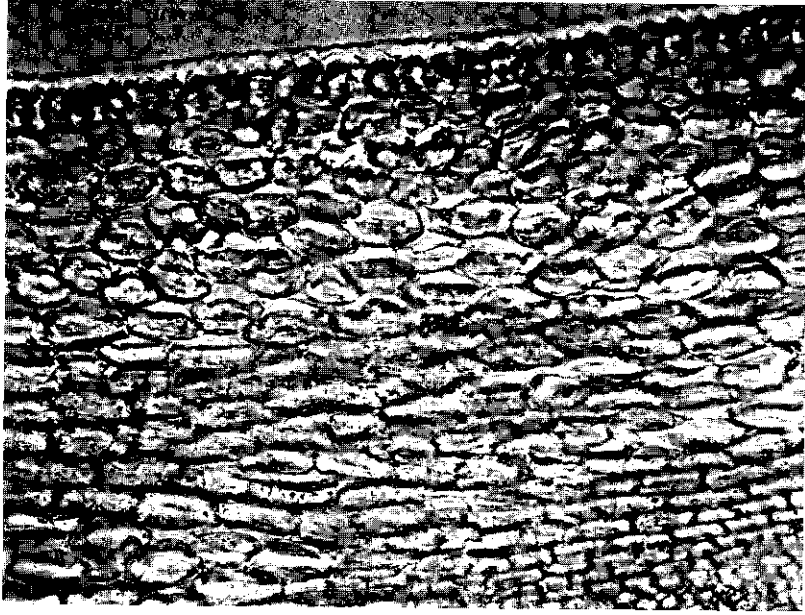


Fig. 10
Worteltje van brocierwt. Dwarze doorsnede. Te vergelijken
met fig. 5. Vergroting als fig. 1

zich vaak van den celwand heeft losgemaakt. De zetmeelkorrels die in de normale cel tamelijk los ten opzichte van elkander in het protoplasma liggen, zijn in de broeierwtcel, tengevolge van de contractie van het protoplasma, dicht opeengepakt; ook komt het dikwijls voor, dat zij elk voor zich in een iets te groote ruimte liggen, klaarblijkelijk ook een gevolg van de contractie van het protoplasma, welk laatste zich daarbij heeft losgemaakt van de zetmeelkorrel. Het protoplasma zien we het sterkst gecontraheerd, het meest van den celwand teruggetrokken en daarbij de zetmeelkorrels het dichtst opeengepakt in die deelen van de zaadlob, welke het donkerst bruin gekleurd zijn.

De zetmeelkorrels zien er ook eenigszins abnormaal uit; dikwijls is hun centrale spleet aanmerkelijk langer en wijder geworden; in de ernstigste broeiegevallen zijn de korrels zelfs min of meer opgezwollen; zij zijn echter nog altijd dubbelbrekend. In de *procambiumstrengen* zijn de cellen in sterke mate vervormd en de inhoud is ook hier gecoaguleerd en ingeschrumpeld.

Het is echter in het worteltje en het pluimpje, dat de opvallendste veranderingen zijn ingetreden. In het *worteltje* is de inhoud der *opperhuidcellen* gecoaguleerd en tot een vormlozen klomp samengeschrumpeld, geelachtig gekleurd en losgeraakt van den buitenwand. De cellen van het *grondweefsel* zijn in sterke mate vervormd (zie fig. 10), n.l. samengedrukt in de richting, loodrecht op de oppervlakte der erwt en verlengd in tangentiale richting. Het protoplasma is gecoaguleerd en zeer sterk samengetrokken; gewoonlijk ligt het los, als een langgerekte klomp, ver van de tangentiale wanden teruggetrokken; het is geelachtig getint. De zetmeelkorrels zijn er meestal nog wel flauw in te onderscheiden. Ook in de *centrale cylinder* blijken de cellen vervormd te zijn en tevens samengedrukt in dezelfde richting als die van het grondweefsel. De inhoud is ook gecoaguleerd en daarbij een weinig teruggetrokken van den celwand; de kleur is geelachtig. De cellen van het *pluimpje* hebben dezelfde verandering ondergaan als die van het worteltje.

Uit dit onderzoek van de microscopische structuur, dat een zoo ernstige desorganisatie van de kiem aan het licht bracht, kon direct met groote waarschijnlijkheid worden afgeleid, dat de broeierwten dood zijn. Bij de met broeierwten genomen kiemprouven bleek dan ook niet één erwt te kiemen. Wat de doodsoorzaak betreft, lag het ook voor de hand, deze te zoeken in een te hooge temperatuur, waaraan de zaden in vochtigen toestand blootgesteld waren geweest. Aan beschadiging door parasieten behoeft hier niet gedacht te worden: schimmels of andere micro-organismen heb ik in de broeierwten niet aangetroffen.

Wanneer nu broei werkelijk de oorzaak is van de in het voorgaande beschreven veranderingen, moest het ook wel mogelijk zijn, deze verschijnselen

in het laboratorium te voorschijn te roepen, door normale groene erwten onder omstandigheden te doen verkeerren, die met den broei in de praktijk overeenkomen.

Dit is mij inderdaad gelukt en wel op de volgende wijze bij een drietal proeven. Hierbij werden luchtdroge erwten, waarvan het vochtgehalte 13,3 % bedroeg en ook erwten met een hooger vochtgehalte een tijdlang in een oventje op een constante, vrij hooge temperatuur gehouden.

Proef I. In een gesloten glazen buisje A bevonden zich een 50-tal, een weinig bevochtigde, normale groene erwten. Het vochtgehalte was in dit geval onbekend, doch zeker lager dan 30 %. In een dergelijk buisje B bevonden zich een even groot aantal luchtdroge erwten met een vochtgehalte van 13,3 %. Beide buisjes werden gedurende 44 uren in een oventje op 70 ° C gehouden. Daarna werden de erwten langzaam in open schaaltes boven op het oventje gedroogd.

De erwten A hadden het uiterlijk van broeierwten verkregen; een weinig gerimpeld en lichtbruin; het worteltje een weinig ingezonken.

De zaden B waren weinig veranderd, alleen iets lichter van kleur geworden, tot zeer lichtgrijs; het worteltje was ook een weinig ingezonken, doch de zaadlobben waren nog groen getint.

Een kiemproof wees uit, dat beide porties hun kiemkracht hadden verloren. (De kiemkracht van onbehandelde erwten bedroeg 82 %). Bij microscopisch onderzoek bleken de erwten van beide partijtes inwendig de kenmerken van broeierwten te bezitten, hoewel B in mindere mate dan A. Niettegenstaande de hooge temperatuur, waaraan ze blootgesteld waren geweest, waren de zetmeelkorrels, ook die van partij A, niet opgezwollen en optisch nog normaal dubbelbrekend.

Proef II. Van twee partijtes van 100 g groene erwten werd het eene (A) 7 uren in water geweekt, totdat alle zaden waren opgezwollen. Het vochtgehalte was daarmede op 93,8 % gekomen. Het andere partijtje (B) werd niet geweekt; het vochtgehalte hiervan bedroeg 13,3 %.

Beide partijtes werden, elk in een gesloten Erlenmeyerfles van 50 cm³ inhoud, gedurende 16 uren in een oventje op 85° C gehouden. Bij het einde der proef waren de erwten der geweekte partij A grauw-bruin geworden; ze waren bijna gaar en hadden ongeveer de geur van gare grauwe erwten, waarop ze ook sterk geleken, alleen met een iets lichtere kleur. De zaadlobben waren bruin geworden. Na het drogen was de kleur zeer ongelijk, varierende van licht vaalbruin tot bruin. Rimpeling trad nagenoeg niet op; wel was van vele zaden de zaadhuid gescheurd en het worteltje diep ingezonken.

De zaden van partij B waren alle zeer gelijkmatig lichtgeelgrijs verkleurd, soms licht gerimpeld en het worteltje was bij de meeste duidelijk ingezonken. Ook van deze waren de zaadlobben bruin geworden. De kiemkracht bleek bij beide partijen verloren te zijn gegaan.

Van de erwten B waren de inwendige kenmerken die van broeierwten; de zetmeelkorrels waren, ondanks de hoge temperatuur, nog niet opgezwollen; de dubbele breking was nog zeer duidelijk.

Partij A had echter grootere wijziging ondergaan: de zetmeelkorrels waren sterk opgezwollen en vaak in hoge mate vervormd en de spleten waren verdwenen; ze waren ook niet meer dubbelbrekend.

Proef III. Drie partijtjes A, B en C, elk van 50 groene erwten, werden 48 uren in een oventje op 60° C gehouden en wel:

A met een *vochtgehalte* van 35,6 %, in een *gesloten Erlenmeyer*kolfje van 100 cm³ inhoud.

B *luchtdroog*, met *vochtgehalte* 13,3 %, eveneens in een *gesloten Erlenmeyer*-kolfje van 100 cm³ inhoud.

C *luchtdroog*, met *vochtgehalte* 13,3 %, in een *open bakje*.

Na de proef werden de zaden in open schaalpjes boven op het oventje gedroogd.

Het resultaat was als volgt:

A: de erwten gelijkmatig geelgrijs, meestal een weinig gerimpeld; het worteltje meestal ingezonken en de zaadlobben bruin.

B: de zaden weinig van kleur veranderd, alleen iets lichter geworden en enkele erwten geelgrijs getint; daardoor het partijtje eenigszins ongelijkmatig van kleur. Het worteltje bij sommige zaden een weinig ingezonken. De zaadlobben nog groen, doch iets te licht van tint.

C: niet van kleur veranderd; de zaadlobben normaal groen. Van A en B bleek de kiemkracht na de proef 0 te zijn, van C 37 % en van een partijtje onbehandelde erwten 82 %.

Microscopisch onderzoek leerde, dat partij A alle kenmerken van broeierwten bezat. De zaden van B vertoonden alleen geringe afwijkingen van de normale, door een lichte contractie van den celinhoud der buitenste lagen van het worteltje. Partij C kwam vrijwel overeen met B, alleen was de contractie van den celinhoud in het worteltje nog geringer.

Door de boven beschreven proeven blijkt dus, dat men broeiverschijnselen bij de erwten te voorschijn kan roepen, door de zaden in vochtigen toestand en bij belemmering van verdamping bloot te stellen aan een matige verwarming, die echter boven de temperatuur-grens van het leven der plantencel ligt. Een temperatuur van 60° C gedurende twee etmalen is reeds in staat, broeiverschijnselen bij niet al te droge erwten op te wekken, vooral indien het vocht daarbij niet kan ontwijken.