

INHOUDSOPGAVE.

	Blz.
INLEIDING.	1
De huidige stand onzer inzichten	3
Beschrijving der ziekteverschijnselen	7

HOOFDSTUK I.

STERILISATIE EN INFECTIEPROEVEN	10
Formaline-sterilisatie van zieke gronden	10
Infectieproeven:	
1. Steriele zandcultures	13
2. Steriele watercultures	23
3. Aseptische cultures (germisan)	29

HOOFDSTUK II.

HET WORTELSTELSEL VAN MANGAANARME PLANTEN . . .	35
Het aantal bacteriën in de worteltoppen	36
Het oxydasegehalte van de wortels	38
Het katalasegehalte van de wortels	40
Het voorkomen van nitriet	42
Het voorkomen van ammoniak	44

HOOFDSTUK III.

DE BLADEREN VAN GEZONDE EN ZIEKE HAVERPLANTEN	47
De oorzaken van het optreden der typische bladvlekken.	48

HOOFDSTUK IV.

HAVERZIEKTEVERSCHIJNSELEN OP MENGSELS VAN ZAND EN KLEI.	51
--	----

HOOFDSTUK V.

DE MICROBIOLOGISCHE PRECIPITATIE VAN MANGAAN . . .	57
SAMENVATTING EN BESPREKING DER RESULTATEN	60
ZUSAMMENFASSUNG.	65

1133

RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION TE GRONINGEN.

EEN ONDERZOEK NAAR DE OORZAKEN DER VEENKOLONIALE HAVERZIEKTE,

DOOR

DR. F. C. GERRETSEN.¹⁾

(Ingezonden 4 December 1935.)

INLEIDING.

Het belangrijkste resultaat, dat de verschillende onderzoeken betreffende de Veenkoloniale Haverziekte voor de practijk hebben opgeleverd, is wel het feit, dat deze ziekte in de meeste gevallen door toediening van Mn-verbindingen te genezen is.

Voor al door de uitnemende onderzoeken van SAMUEL en PIPER (zie onder) is komen vast te staan, dat behalve haver ook in tal van andere gewassen, bij gebrek aan assimileerbare Mn-verbindingen, analoge ziekteverschijnselen optreden.

Dit neemt niet weg, dat zich bij het verdere onderzoek der Veenkoloniale Haverziekte zoowel in de practijk als in het laboratorium een aantal feiten voordoen, die op grond van Mn-gebrek alleen niet te verklaren zijn. Dat onderzoekers als POPP en medewerkers²⁾ boven een hunner recente publicaties nog als titel zetten: „Das Rätsel der Dörrfleckenkrankheit” wijst er wel op, dat men ook elders op waarnemingen is gestuit, waarvoor men geen afdoende verklaring heeft weten te vinden.

Van deze waarnemingen noem ik o. m. de volgende: Wanneer men een haverzieken grond met formaline steriliseert, blijven op dezen gesteriliseerden grond de planten volkomen gezond, niettegenstaande het Mn-gehalte van den grond onveranderd is gebleven.

Dit wijst er ongetwijfeld op, dat bij het tot stand komen der ziekteverschijnselen ook andere factoren een rol spelen dan alleen Mn-gebrek.

Wat betreft den invloed van den kalktoestand op het optreden der ziekteverschijnselen doen zich eveneens eigenaardige tegenstrijdigheden voor. Dat de oplosbaarheid der mangaanverbindingen in den bodem toeneemt

¹⁾ Bij deze onderzoeken ben ik zeer actief ter zijde gestaan door den Heer H. DE HOOP, analist aan het Rijkslandbouwproefstation.

²⁾ *Zeitschr. f. Pflanzen Ernährung und Düngung*. B. XIII, blz. 66 e.v. 1934.

als de pH daalt, is te verwachten, en het is in overeenstemming daarmee, dat het Mn-gehalte van verschillende planten stijgt naarmate de grond, waarop zij gegroeid zijn, zuurder was, zooals door OLSEN ¹⁾ is aangetoond. Echter zand- en kleigronden vertoonen in dit opzicht een zeer uiteenlopend gedrag, in dien zin dat zelfs op alcalisch reageerende kleigronden gezonde haver groeit met een normaal Mn-gehalte, terwijl op zandgronden van een zelfde pH de planten de Veenkoloniale Haverziekte in sterke mate vertoonen.

De verklaring van OLSEN ²⁾ dat dit veroorzaakt zou worden, doordat in kleigronden minder zuurstof aanwezig zou zijn en hierin reductieprocessen zouden optreden, die de vorming van oplosbare manganoverbindingen uit onoplosbare manganverbindingen zouden bevorderen, is m. i. onjuist. Men zou in dat geval wel haverziekteverschijnselen moeten aantreffen op analoge goed geaëreerde, flink bewerkte, in kruimelstructuur verkeerende kleigronden, wat met de praktijkervaringen geheel in strijd is.

Zeer merkwaardig is in dit verband de waarneming van MASCHHAUPT ³⁾, dat sommige kleigronden, die haverziekteverschijnselen vertoonden, na bekalking met CaO een volkomen gezond gewas leverden, om eerst na eenige jaren de ziekteverschijnselen opnieuw in hevige mate te vertoonen.

Geheel hiermede in overeenstemming stelde POPP c. s. ⁴⁾ vast, dat in een aantal gevallen door een rijkelijke kalkbemesting op zwaardere gronden de haverziekteverschijnselen volkomen verdwenen. Zij maken echter het voorbehoud, evenals MASCHHAUPT, dat men dit resultaat niet met CaCO₃ bereikt, doch alleen met CaO: „Da, wo die volle Gabe Kalk als *Branntkalk* gegeben war, trat keine Dörrfleckenkrankheit mehr auf." Ongetwijfeld in nauw verband hiermede staat de interessante waarneming van HUDIG ⁵⁾, dat op bepaalde mengsels van gezonden zandgrond en gezonden kleigrond de Veenkoloniale Haverziekte in meerdere of mindere mate kan optreden. Ook in de praktijk heeft men waargenomen ⁶⁾, dat op den overgang van klei naar zandgrond in een scherp omgrensde zone de haver typisch haverziek wordt, terwijl zoowel op de aangrenzende klei als op het zand de haver geheel normaal is.

¹⁾ OLSEN, *Comptes Rend. d. Trav. Lab. Carlsberg*, 20, n°. 2, blz. 7, e.v. 1934.

²⁾ Idem, blz. 28.

³⁾ *Zeitschr. f. Pflanzen Ern. u. D.*, Das Rätsel der Dörrfleckenkrankheit, XX, J. G. MASCHHAUPT, B. XIII, blz. 313—320. 1934.

⁴⁾ POPP, 1 c., blz. 67.

⁵⁾ HUDIG, *Verslagen Rijkslandb. Proefstation*, Groningen, dl. XV, Over het optreden der zoogenaamde „Veenkoloniale Haverziekte" op zand en kleigronden, blz. 74 e.v. 1914.

⁶⁾ Persoonlijke mededeeling van Dr. OORTWIJN BOTJES te Oostwold.

Over de wijze, waarop de typische ziekteverschijnselen tot stand komen, is tot nu toe niets bekend; het is echter duidelijk, dat men geen inzicht kan krijgen in de mangaangebrekverschijnselen, zoolang men omtrent de rol, die het mangaan in de gezonde plant speelt, nog volkomen in het duister tast.

Zowel door SÖHNGEN ¹⁾ als door ABERSON ²⁾ en ook door HUDIG ³⁾ is de veronderstelling naar voren gebracht, dat micro-organismen een rol zouden spelen bij het tot stand komen der ziekteverschijnselen.

Hoe deze veronderstelling echter in verband te brengen zou zijn met de mangaangebrek-theorie is vooralsnog niet duidelijk.

Het is de bedoeling van het onderzoek een bijdrage te leveren tot de verklaring van een aantal der bovengenoemde verschijnselen, in het bijzonder in hun onderlingen samenhang.

Gezien echter de groote verscheidenheid der verschijnselen en de experimentele moeilijkheden, aan sommige deelen van het onderzoek verbonden, was het niet te vermijden, dat het onderzoek op meerdere punten onvolledig is gebleven.

De huidige stand onzer inzichten.

Niettegenstaande reeds in 1774 door SCHEELE ⁴⁾ was aangetoond, dat de planten sporen mangaan uit den bodem opnemen, heeft het bijna anderhalve eeuw geduurd, alvorens men door exacte proeven het bewijs heeft kunnen leveren, dat Mn een voor de plant onontbeerlijk element is. Zelfs in 1930 concludeerden CLARK en FLY ⁵⁾ uit hun proeven met *Lemna* nog, dat Mn niet essentieel is voor een goeden groei, alleen stimuleerend werkt. In 1933 toonen zij aan, dat dit onjuist is, en dat voor een goeden groei van *Lemna* een hoeveelheid mangaan in het cultuurmedium van minstens één op 3000 miljoen in ieder geval noodzakelijk is.

Dat men door Mn-bemesting in een aantal gevallen de opbrengst van verschillende gewassen aanmerkelijk kon vergrooten en men anderzijds bepaalde ziekteverschijnselen in geheel verschillende gewassen met behulp van Mn-verbindingen kon genezen, is door tal van onderzoekers overtuigend

¹⁾ N. L. SÖHNGEN. Umwandlungen von Manganverbindungen unter Einfluss mikrobiologischer Prozesse. *Centr. Bl. f. Bakteriologie* II, Bd. XL, blz. 545—554. 1914.

²⁾ J. H. ABERSON. Bijdrage tot de kennis der zoogen. physiologisch zure en alkalische zouten en hun beteekenis voor de verklaring der Bodemziekten. *Mededeelingen v. d. Rijks Hoogere Land-, Tuin- en Boschbouwschool*, Wageningen, dl. XI, afl. I—III, blz. 1—93.

³⁾ J. HUDIG en C. MEYER. De Veenkoloniale Haverziekte. 3de Mededeeling. *Verslagen v. Landbouwk. Onderzoekingen der Rijkslandb. Proefstations*, n°. XXIII, blz. 22. 1919.

⁴⁾ Gecit. n. W. BISHOP, *Austr. Journ. of Experimental Biol. and Medical Science*, Vol. IV, blz. 125. 1928.

⁵⁾ N. CLARK en C. FLY. *Plant Physiology*, 5, blz. 241. 1930. Idem, 8, blz. 157. 1933.

aangetoond ¹⁾. Dit leidde echter aanvankelijk *niet* tot de conclusie, dat men in al die gevallen te doen had met de symptomen van Mn-gebrek.

Door SJOLLEMA en HUDIG ²⁾ werden reeds in 1909 de verschijnselen der zgn. „Veenkoloniale Haverziekte” beschreven en in verband gebracht met voortgezette alcalische bemesting van den grond. Zij gaven tevens de twee voornaamste middelen ter genezing aan, nl. zure bemesting en toediening van mangaansulfaat.

Door dit verband met alcalische bemesting zocht men aanvankelijk de oorzaak van de ziekte in deze richting: volgens HUDIG ³⁾ waren het „scheikundige veranderingen, die optreden in sommige nog onbekende humus-lichamen na alcalische bemesting”, waardoor de ziekte veroorzaakt werd. Volgens KRÜGER en WIMMER ⁴⁾ waren het „schadelijke physiologische omzettingen, die door de alcalische rest van bepaalde kunstmeststoffen optreden”, waardoor de ziekte tot stand kwam. In overeenstemming hiermede is de waarneming van SJOLLEMA en HUDIG ⁵⁾, dat het optreden der ziekteverschijnselen samenvalt met de periode, waarin de plant de maximale hoeveelheid N opneemt (waarbij dan ook de maximale hoeveelheid alcali vrijkomt).

Zeër opmerkelijk is, dat reeds in 1914 SÖHNGEN ⁶⁾ het voor waarschijnlijk houdt, dat de haverziekte een gevolg is van mangaangebrek bij de planten. De gunstige werking van zure bemestingen schrijft hij niet toe aan de verlaging van de pH van den grond zonder meer, doch aan het door hem bewezen feit, dat hierdoor microbiologische processen mogelijk worden, die onoplosbare mangaanverbindingen in oplosbare manganozouten overvoeren.

Door ABERSON ⁷⁾ werd in 1916 geconstateerd, dat in en rond de wortels van alle zieke planten nitriet voorkomt, hetgeen hem tot de conclusie voert, dat men de eigenlijke oorzaak der ziekteverschijnselen moet zoeken in de aanwezigheid van HNO_2 of nitrieten, welke door een door hem geïsoleerde bacterie, *Bac. nitrosus*, gevormd zijn geworden.

¹⁾ Een uitnemend overzicht der oudere litt. tot 1920 vindt men bij D. A. OLARU. *Rôle du Manganèse en Agriculture*, Paris 1920.

²⁾ SJOLLEMA en HUDIG. Onderzoek naar de vruchtbaarheidsafname van enkele gronden in de Groningsche en Drentsche veenkoloniën. *Verslagen landbouwk. onderzoekingen der Rijkslandb. Proefstations*, n°. V, blz. 29—130. 1909.

³⁾ J. HUDIG. Het ontstaan van schadelijke afwijkingen in humusrijke zandgronden als gevolg van bemesting met minerale stoffen. *Versl. Landbouwk. Onderz. Rijkslandb. Proefstations*, n°. XII, blz. 132. 1912.

⁴⁾ KRÜGER en WIMMER. *Zeitschr. Ver. D. Zuckerind.* Bd. 64, blz. 707. 1914.

⁵⁾ L. c., blz. 73.

⁶⁾ L. c., blz. 553.

⁷⁾ L. c., blz. 92 en 93.

HUDIG en MEYER¹⁾ doen in 1919 een tweetal waarnemingen, die in verband met ons onderzoek eveneens van belang zijn, nl. dat haverbladeren in het cultuurzand gebracht, een genezende werking uitoefenen, terwijl de wortels van een vorige zieke cultuur de ziekteverschijnselen in hevige mate te voorschijn roepen. Ook zouden in aërobe ontleding verkeerende stoffen, zooals watten, aardappelmeel, filtreerpapier, de ziekte zoo niet veroorzaken, dan toch zeer verergeren. Alhoewel zij nog steeds op het standpunt staan, dat organische stof in alcalisch milieu bij het ziekteproces een rol speelt, ruimen zij op grond van hun talrijke proeven aan de mogelijkheid, dat ook de bacteriën bij het tot stand komen der ziekteverschijnselen een rol spelen, een belangrijke plaats in.

In overeenstemming hiermede vinden ABERSON en EVERSMAN²⁾, dat men door middel van stoomsterilisatie zieke gronden gezond kan maken. Zij toonen tevens aan, dat in meerdere gevallen het Mn-gehalte van planten, die op gesteriliseerden grond gegroeid zijn, belangrijk hooger, tot zelfs het tienvoudige, is van planten, die op dezelfde ongesteryliseerden grond gegroeid zijn. Hiermede was dus de vraag of de bacteriën al dan niet een rol spelen nog niet opgelost, daar de mogelijkheid bleef bestaan, dat de betere stand van de planten veroorzaakt was door een ontsluiting van Mn-verbindingen uit de bodemmineralen tijdens de verhitting.

Inmiddels was het groote belang van Mn voor de plant door een aantal onderzoekers, Mc HARGUE³⁾, Mc LEAN en GILBERT⁴⁾ e. a., overtuigend aangetoond. Baanbrekend voor een beter inzicht in het steeds toenemend feitenmateriaal zijn de onderzoekingen van SAMUEL en PIPER⁵⁾ geweest. In de eerste plaats stelden zij vast, dat de bekende verschijnselen der Veenkoloniale Haverziekte (Grey Speck disease) geheel dezelfde waren als die, welke optreden wanneer men Mn uit de voedingsvloei-stof weglaat. Ook zij vinden, dat zieke gronden door stoomsterilisatie gezond worden, terwijl zij overtuigend aantonen, dat door deze sterilisatie in den grond zelf assimileerbaar Mn wordt vrijgemaakt, tot zelfs het veertienvoudige van de oorspronkelijke hoeveelheid toe.

¹⁾ L. c., n°. XXIII, blz. 19, 25.

²⁾ ABERSON en EVERSMAN. *Landbouwkundig Tijdschr.* 1927, blz. 270 e.v.

³⁾ Mc. HARGUE. The role of Manganese in Plants. *Journ. Am. Chem. Soc.* Vol. 44, blz. 1592—1598. 1922.

⁴⁾ B. E. GILBERT en F. T. McLEAN. A deficiency disease. *Soil Science*, XXVI, blz. 27—31. 1928.

⁵⁾ SAMUEL en PIPER, Grey Speck disease of oats, *Journal of the Dept. of Agriculture*, Vol. XXXI, blz. 696—705 en 789—799. 1927—28.

Idem. Manganese as an essential element for plant growth. *Annals of applied biology*. Vol XVI, blz. 493—524. 1929.

Zij wijten dan ook het gunstige effect van deze stoombehandeling in de eerste plaats aan deze Mn-ontsluiting en *in geen geval aan een eventuele vernietiging van schadelijke micro-organismen*. In overeenstemming hiermede vermelden zij nadrukkelijk, dat van een sterilisatie met formaline geen enkel effect sorteert (blz. 705).

Ook andere planten, als spinazie, tomaten, suikerriet, erwten, tarwe en gerst, vertoonen analoge verschijnselen. Bijzondere aandacht verdient het door hen vermelde feit dat ook in zure oplossingen (pH 5,5), mits Mn vrij, dezelfde ziekteverschijnselen optreden, waarmede is aangetoond dat de reactie van den grond voor het tot stand komen der ziekteverschijnselen slechts secundaire betekenis heeft.

Als directe oorzaak voor het optreden der ziekte beschouwen zij de moeilijk opneembaarheid van Mn in een aantal gronden, alhoewel zij de mogelijkheid openlaten dat er nog onbekende factoren in het spel zijn.

Een tweetal waarnemingen interesseeren ons bijzonder, ten eerste dat planten, die gegroeid zijn op een Mn arme grond, die eenige tijd onder water gestaan had, volkomen gezond bleven. Een zelfde waarneming was ook reeds door GODDE en GRIMMETT¹⁾ gedaan, en maakt het volgens PIPER wenschelijk aan de redoxpotentiaal van Mn arme gronden de noodige aandacht te schenken.

De tweede waarneming is dat op Mn arme gronden, waarvan de pH door toevoeging van alcali verhoogd was tot 7,8 en 8,0, de planten weer gezond werden, terwijl het Mn gehalte normaal was. In overeenstemming hier mede en met de reeds vermelde waarnemingen van MASCHHAUPT en POPP c. s. dat de aanwending van ongebluschte kalk op haverzieke kleigronden gunstig werkt vindt LUNDEGARDH²⁾ dat de oplosbaarheid van Mn in natuurlijke gronden een minimum vertoont rond het neutrale punt samenvallende met het grootste aantal ziektegevallen op het veld, terwijl zoowel naar de zure als naar de alcalische zijde de oplosbaarheid toeneemt en de haverziekte afneemt.

De poging van LUNDEGARDH om de ziekteverschijnselen met de ionenbalans in de plant in verband te brengen, hetgeen reeds in 1914 door KELLEY³⁾ was getracht, heeft m. i. voor de verklaring der verschijnselen voorloopig nog geen resultaat opgeleverd dat in eenige verhouding staat tot de aan dit onderzoek besteedde moeitevolle arbeid. Dit moet ongetwijfeld geweten worden aan het feit, dat aan de microbiologische zijde van het vraagstuk

¹⁾ W. GODDEN en R. GRIMMETT. Factors affecting the iron and manganese content of plants. *J. Agr. Science*, XVIII, blz. 363—368. 1928.

²⁾ LUNDEGARDH. Die Nährstoff-Aufnahme der Pflanze, blz. 201. 1932.

³⁾ W. P. KELLEY. The function of manganese in Plants. *Bot. Gaz.* 57, n°. 3, blz. 211. 1914.

onvoldoende aandacht besteed is. Vermeldenswaard is echter het feit dat LUNDEGARDH zieke planten vindt met hooger Mn gehalte (tot 420 p. p. m. Mn toe) dan gezonde (met slechts 1 p. p. m. Mn), wat hem, mede op grond van talrijke analyses van zieke en gezonde haverplanten van het veld, tot de belangrijke conclusie voert dat in geen geval Mn gebrek alleen de ziekte kan veroorzaken, alhoewel ook hij in tal van gevallen een onmiskenbare samenhang constateert tusschen Mn opname en ziektebeeld.

In verband met de mogelijkheid dat microorganismen een belangrijke rol spelen bij het tot stand komen der ziekteverschijnselen, verdient de waarneming van RADEMACHER ¹⁾, dat verschillende haverrassen, wat hun gevoeligheid voor de Veenkoloniale Haverziekte betreft, groote verschillen vertoonen, onze bijzondere aandacht. Deze duidelijke invloed van genetische factoren op de immuniteit van de haverplant, gecombineerd met de klaarblijkelijke samenhang tusschen resistentie en mangaanvoeding, opent interessante mogelijkheden voor een nadere bestudeering van het wezen der immuniteit.

Beschrijving der ziekte-verschijnselen.

Daar gebleken is, dat de aard der ziekteverschijnselen afhangt van de hoeveelheden mangaan, die de planten ter beschikking staan, moet men bij de beschrijving hiermede rekening houden.

Als eerste symptoom van een gering mangaan tekort neemt men waar dat de planten in lengte groei achterblijven, terwijl ook het wortelstelsel van geringer omvang is. Het uiterlijk van de planten is overigens normaal en er treden nog geen bladvlekken of chlorose verschijnselen op. Deze vertraagde groei is het gevolg van een geremde koolzuurassimilatie, zooals in het volgende zal worden aangetoond.

Door het toedienen van mangaan herstelt de plant zich spoedig. Krijgt de plant daarentegen niet de beschikking over het noodige mangaan, dan ziet men na 4 tot 6 weken het ziektebeeld allengs meer geprononceerd worden; de jongste bladeren worden meer en meer chlorotisch, sommige oudere bladeren vertoonen geïnfilteerde vlekjes, vaak aan de randen en grauwgroen van kleur, welke na korten tijd licht bruineel indrogen. Deze vlekjes zijn te beschouwen als het meest opvallende kenmerk van Mn gebrek; op de aangetaste plekken knikken de bladeren op typische wijze om. De oudste bladeren, die nog het meest Mn bevatten, vertoonen de verschijnselen niet of eerst later.

Er dient echter nadrukkelijk op te worden gewezen dat een plant een te kort aan Mn kan hebben, zonder dat dit nu direct zichtbaar is door het optreden

¹⁾ RADEMACHER. Genetisch bedingte Unterschiede in der Neigung zu physiologische Störungen beim Hafer. *Zeitschr. f. Züchtung A.* Bd. 20, blz. 210 e.v. 1935.

dezer typische verschijnselen. In overeenstemming hiermede is door RADEMACHER ¹⁾ geconstateerd dat het zgn. resistente haverras „Weibulls Argus” ondanks het sporadisch voorkomen van bladvlekken, op een haverziek perceel 1200 kg korrel (45 %) en 3000 kg stroo (37,5 %) minder opbracht dan op het nabijgelegen gezonde perceel.

Raakt de Mn voorraad uitgeput, wat bijv. gemakkelijk kan voorkomen wanneer men meerdere haverplanten in een zelfde cultuurvat kweekt, dan verergert de chlorose der jongste bladeren snel; soms, doch niet altijd, ontstaat een typische strepenchlorose, terwijl in een verder stadium necrose der tusschen de groene strepen gelegen celreeksen optreedt en de plant vrij spoedig te gronde gaat.

Herhaaldelijk is door mij geconstateerd dat bij beginnende chlorose geen strepenchlorose, doch een zgn. tijgering optreedt, die veelal als typisch kenmerk voor de Hooghalensche ziekte gold, doch ook bij matig Mn gebrek in lichte mate kan optreden.

In tegenstelling met potcultures ziet men in het vrije veld soms de ziekteverschijnselen na eenigen tijd weer verdwijnen. De oorzaak hiervan is dat de planten de beschikking over meer mangaan krijgen, hetzij doordat de wortels de ondergrond bereiken, hetzij doordat ten gevolge van een langere regenperiode ook in de bovengrond microbiologische reductieprocessen mogelijk worden, die onoplosbare manganverbindingen in oplosbare manganoverbindingen overvoeren.

Dit herstel kan ook eenvoudig het gevolg zijn van het feit, dat naarmate het wortelstelsel zich uitbreidt, een steeds grooter volumen grond en daarmede ook meer Mn ter beschikking van de plant komt.

Op goed bemeste meest zwaardere gronden ziet men vooral, wanneer de plant zich herstelt, in de cellen rondom de reeds gevormde vlekjes sterke anthocyaanvorming optreden, zoodat het vlekje met een rood randje omgeven is en oogenschoonlijk een eenigszins ander ziektebeeld ontstaat, wat HUDIG aanleiding gaf om te spreken van „pseudo-haverziekte verschijnselen”. Dezelfde waarneming is ook door RADEMACHER (l. c. blz. 229) gedaan: volgens hem is „die Rotfleckigkeit eine besondere Form der Dörrfleckenkrankheit und tritt allein dort auf, wo die Pflanze sich in *erfolgreicher Abwehrstellung befindet*”.

Het ziektebeeld bij *sterke* Mn armoede is veel geprononceerder, de jonge plantjes kwijnen reeds na enkele weken, er worden bleeke spichtige bladeren gevormd, soms met sterke strepenchlorose, soms zelfs vrijwel geheel geëtioloëerd. Vlekken treden wel op, maar erger is de necrose van heele celreeksen in de geëtioloëerde bladeren, waardoor de bladspitsen verdorren en de plantjes bij een lengte van 25—30 cm reeds te gronde gaan.

¹⁾ L. c., blz. 221.

De meeste in het volgende vermelde onderzoekingen zijn verricht aan planten, die in den aanvang van hun groei over een kleine hoeveelheid mangaan beschikten en niet aan planten die leden onder een extreem mangaangebrek, zooals in het veld niet of slechts sporadisch voorkomt.

Bij haver zoowel als bij suikerbieten werd geconstateerd dat het wortelstelsel van de zieke planten kleiner is dan van de evenoude gezonde planten en talrijke, meer of minder verrotte worteltoppen vertoont. Dit is een typisch kenmerk, waaraan tot nu toe geen aandacht is geschonken en waarop in het volgende uitvoerig zal worden terug gekomen.

HOOFDSTUK I.

STERILISATIE- EN INFECTIE-PROEVEN.

Formaline-sterilisatie van zieke grond.

De eerste waarneming, die gerechte twijfel deed opkomen aan de juistheid van de veronderstelling, dat de Veenkoloniale Haverziekte verschijnselen uitsluitend ontstaan tengevolge van mangaangebrek, was dat in een reeks proeven met een sterk haverzieke grond, afkomstig van Westerwolde (Gr.), niet alleen de met stoom gesteriliseerde grond, doch ook die, welke met formaline behandeld was, gezond bleef.

Voor de sterilisatie werd de grond eenigermate gedroogd en per 5 kg grond $7\frac{1}{2}$ c. c. handelsformaline opgelost in 150 c. c. water toegevoegd ¹⁾. Bij het steriliseeren van den grond met formaline is het uiterst moeilijk om de formaline weer volledig uit den grond te verwijderen, zonder dat de grond opnieuw geïnfecteerd wordt. Dit is m. i. ook de oorzaak van het feit, dat SAMUEL en PIPER met formaline desinfectie geen positieve resultaten verkregen.

Ten einde herinfectie te voorkomen, werd door ons de met formaline behandelde, reeds bemeste, grond in een met formaline gesteriliseerd kamertje op rekken electrisch gedroogd bij een temperatuur van $\pm 35^{\circ}$ C. De versehe lucht werd door een wattenfilter naar binnen gelaten. De grond werd na verwijdering der formaline gebracht in gesteriliseerde en geparaffineerde bloempotten; de bemesting bestond uit CaHPO_4 2aq 1 g, NaNO_3 1,4 g, KCl 0,5 g, MgSO_4 7aq 0,6 g, CaCO_3 4 g en 8 dr. FeCl_3 5 % per 5 kg grond ²⁾. De zaden werden met germisan gesteriliseerd.

Het is duidelijk, dat de sterilisatie met formaline de ziekte volledig genezen heeft en de planten zich uitstekend ontwikkeld hebben (zie foto n°. 1). Opmerkelijk is ook, dat, alhoewel door de toevoeging van MnSO_4 de planten wel iets beter zijn gaan staan dan de onbehandelde, de opbrengst aan stroo slechts een derde en aan korrel slechts een zesde bedraagt van de met formaline behandelde. Dit wijst er op, dat tijdens de proef MnSO_4

¹⁾ Zie betreffende formaline-sterilisatie van den grond: GERRETSEN c.s., Een onderzoek naar de oorzaken etc. van het van de wortel gaan van narcissen en hyacinthen. *Landbouwk. onderz. Rijksl. Proefst.* n°. XXXV, blz. 333—345.

²⁾ Zie voor uitvoerige beschrijving van steriele potcultures F. C. GERRETSEN, Das Katadynverfahren zur sterilen Kultur höherer Pflanzen. *Planta*, 1935, dl. 23, blz. 601. 1935.

Verder zij opgemerkt dat de bemesting tijdens het onderzoek kleine wijzigingen heeft ondergaan, waardoor het cultuurmedium beter aangepast werd aan de behoeften van de haverplant. Speciale verzorging eischt de ijzervoorziening, die men het best tot stand brengt door eenige herhaalde toedieningen van een mengsel van ferri-citraat en ferri-chloride, verkregen door electrolytisch bereid FeCl_3 , met citroenzuur in te dampen.

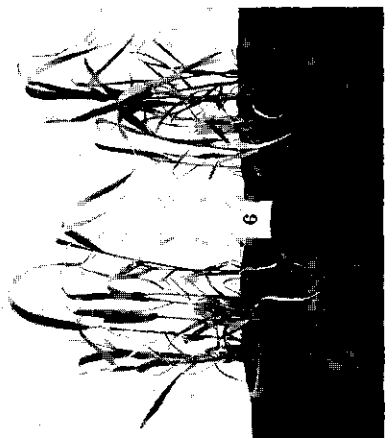
Afb. 1. STERILISATIE-PROEF.



1. Zieke grond onbehandeld.



4. Dezelfde grond met formaline gesteriliseerd.



6. Het geringe effect van de toevoeging van 75 mg $MnSO_4$.

TABEL I.

Haverzieke grond van Westerwolde (Gr.) op 12 Juni bezaaid met 8 zaden per pot.

Ziektebeeld op 6 September.	Gem. hoogte planten.	Totaal aantal korrels per pot.	Dr. gew. stroo per pot.	Dr. gew. korrel in g.
Onbehandeld:				
A. } Alle bladeren vlekjes, meestal	52 cm	27	3,4	1,0
B. } geknikt.	58 cm	71	5,6	1,5
Bij 150° droog gesteriliseerd:				
A. } Bladeren gezond.	81 cm	204	11,5	8,4
B. }	72 cm	217	10,4	5,5
Met formaline gesteriliseerd:				
A. } Bladeren gezond, breeder dan	89 cm	346	18,5	12,2
B. } vorige.	91 cm	326	19,5	13,1
Bij aanvang proef 75 mg $MnSO_4$ toegevoegd:				
A. } Planten klein, bladeren strepen	60 cm	123	6,6	2,3
B. } chlorose, enkele vlekjes.	69 cm	104	6,1	1,8

immobiel is gemaakt en tevens dat het niet waarschijnlijk is, dat de betere stand op de met formaline behandelde gronden te wijten is aan een vrijmaken van oplosbaar Mn, daar dit dan eveneens immobiel gemaakt zou zijn geworden tijdens de proef.

Een van de oorzaken, waardoor planten op gesteriliseerden grond vaak beter gaan staan dan op ongesteiliseerden, is dat de voedingsstoffen, die in de lichamen der micro-organismen zijn vastgelegd, ter beschikking van de plant komen. Daarnaevens bestaat de mogelijkheid, dat door de formaline-behandeling Mn werd vrijgemaakt. Om dit na te gaan, werd van enkele gronden het in water en in verdund zuur oplosbare Mn bepaald vóór en na het steriliseeren met formaline.

Mangaanbepaling in grond.

1. In H_2O oplosbaar. 400 g luchtdroge grond worden met 1 l water in een extractie apparaat met overvloed inrichting gedurende 3 achtereenvolgende dagen, in totaal 24 uur, geëxtraheerd.

Het extract wordt gefiltreerd, gecentrifugeerd als het niet voldoende helder is, ingedampt en gegloeid. Overigens geschiedt de bepaling op dezelfde wijze als bij de analyse van plantenmateriaal is beschreven.

2. In $\frac{1}{10}$ n. HNO_3 oplosbaar Mn. 100 g luchtdroge grond wordt in een 0,5 l kolf met 300 cc $\frac{1}{10}$ n. HNO_3 geschud, en na 8 uur staan afgefiltreerd. Dit wordt een tweede en een derde maal herhaald.

(11) A. 11.

De verzamelde filtraten worden tot ongeveer 20 cc ingedampt, in een kleine schaal overgespoeld, verder tot droog ingedampt en gegloeid. Daarna ter precipitatie van het SiO_2 met sterk HCl overgoten, ingedampt, opgekookt met 15 cc 30 %ig HNO_3 en gefiltreerd. Overigens als boven.

3. *Uitwisselbaar Mn.* 100 g luchtdroge grond wordt met 300 cc 1 % ig NaNO_3 gedurende 8 uur geschud, afgefiltreerd en deze bewerking daarna nog tweemaal herhaald. Daarna indampen, gloeien, etc.

TABEL II.

GRONDSOORT.	Mg. Mn per kg droge grond opl. in CO_2 vrij water.	Mg. Mn per kg grond opl. in 1/10 n. HNO_3 .
I. Sterk haverzieke humeuze zandgrond on-, gesteriliseerd	0,035	170
II. Idem met formaline	0,032	162
III. Haverzieke lichte kleigrond (Middelstum.) Ongesteriliseerd	0,022	64,5
IV. Idem met formaline behandeld	0,018	70,7
V. Gezonde zware kleigrond. Proefboerderij Nieuw Beerta	0,135	87,0
VI. Idem met formaline behandeld	0,146	88,0
VII. Haverzieke kalkrijke tuingrond, onbemest, ongesteriliseerd	0,024	—
VIII. Idem na bemesting	0,023	—
IX. Idem, onbemest gesteriliseerd	0,022	—

Uit deze cijfers blijkt wel, dat noch het in water oplosbare, noch het in $\frac{1}{10}$ n. HNO_3 oplosbare Mn door formalinesterilisatie noemenswaard veranderd zijn. Vergelijkt men daarbij den zieken Mount Gambier-grond van SAMUEL en PIPER ¹⁾, waarvan het in water oplosbare Mn door stoomsterilisatie steeg van 0,14 mg tot 1,88 mg, of den Penola-grond, waarin dit toenam van 0,016 tot 0,060 mg, dan blijkt wel, dat er een essentieel verschil tusschen beide sterilisatiemethoden bestaat en men het frappante effect van de formalinesterilisatie niet kan toeschrijven aan het in oplossing gaan van Mn.

STEENBJERG ²⁾ heeft bij zijn proeven over de werking van reduceerende stoffen op haverzieke gronden ook formaline betrokken. Hij constateert eveneens, dat door formalinebehandeling de planten gezond worden, wijdt dit echter aan de reduceerende werking

¹⁾ *Journ. of Agric.*, 15 Mrt., 1928, blz. 795.

²⁾ F. STEENBJERG. Undersøgelser over Manganindholdet i dansk Jord. *Tidsskrift for Planteavl* 40, blz. 337—368. 1934.

waardoor meer Mn in oplossing zou gaan. Bij nadere beschouwing van zijn cijfermateriaal blijkt echter dat dit voor formaline niet de verklaring kan zijn, in tegenstelling met b.v. methol, zooals uit onderstaande tabel duidelijk blijkt.

TABEL III. (Ontleend aan STEENBJERG.)

	Opbrengst aan droge stof in g.	Mg. Mn per kg droge stof.	S. ¹⁾
Onbehandelde grond	32,2	11,4	0,06
493 mg Mn als MnSO ₄ toegevoegd per pot van 23 kg grond	86,4	98,9	—
De grond met methol behandeld	104,7	134,5	—
De grond met formaline behandeld . . .	81,7	13,5	0,04

Wij zien hier ook een belangrijke opbrengstvermeerdering ten gevolge van de formalinebehandeling, *niettegenstaande het Mn gehalte der droge stof vrijwel onveranderd is gebleven*, terwijl methol het Mn gehalte meer als vertienvoudigd heeft.

In beide gevallen zijn dus verschillende oorzaken aan het werk geweest; al hoewel m.i. de verklaring van STEENBJERG wat betreft de genezende werking van formaline niet juist is, bevestigen zijn proeven in ieder geval de door mij verrichte waarnemingen. Dat de S-waarde na de formaline behandeling zelfs iets gedaald is, is een duidelijke aanwijzing dat de betere stand van de haver *niet* te wijten is aan het in oplossing gaan van Mn. door de formaline behandeling.

Het meest voor de hand ligt om te veronderstellen, *dat bij het tot stand komen der haversekziekteverschijnselen micro-organismen een rol spelen*. Dit geeft tevens een verklaring voor het feit, dat sommige zeer zieke gronden, die op een toevoeging van mangaansulfaat nauwelijks reageeren, na stoomsterilisatie een belangrijk beteren groei vertoonen.

Om nader te onderzoeken welk aandeel de micro-organismen bij het tot stand komen der ziekteverschijnselen hebben, is het in de eerste plaats noodig om de planten in Mn-arme voedingsmedia te kweken bij volledige afwezigheid van bacteriën en dan na te gaan wat er gebeurt, wanneer dergelijke steriele cultures opnieuw geïnfecteerd worden.

Infectie-proeven.

1. Steriele zandcultures.

Aangezien bij het steriliseeren van grond bij hooge temperatuur mangaan vrijkomt, lag het voor de hand voor deze proeven kwartstrand te gebruiken.

¹⁾ S = Som van de uitwisselbare Mn-verbindingen in milli-mol. per 100 gr. droge grond.

Bij de beoordeeling van onze proeven moet men in het oog houden, dat het cultuurmedium niet volkomen mangaanvrij was, doch wel zoo weinig mangaan bevatte, dat onder normale omstandigheden de haverziekteverschijnselen in groote hevigheid optraden.

Gegloeid kwartzand werd met sterk zoutzuur uitgewasschen, het zuur door gedestilleerd water verdrongen totdat de chloorreactie geheel verdwenen was; het zoo behandelde zand werd droog gesteriliseerd bij ongeveer 150°.

De te gebruiken bloempotten werden eveneens droog gesteriliseerd, nog warm in heete paraffine gedoopt en in een steriel entkamertje met het steriele zand gevuld. Het gebruik van geëmailleerde Mitscherlich-potten is te prefereren boven de poreuse bloempotten. De voedingsoplossing bevatte op 4 kg zand: 1,3 g KNO_3 , 0,3 g KH_2PO_4 , 0,7 g Na_2HPO_4 , 0,1 g CaSO_4 , 0,1 g MgSO_4 en 5 dr. ferricitraat 5 % (electrolytisch van Mn. gezuiverd). pH = 6,5.

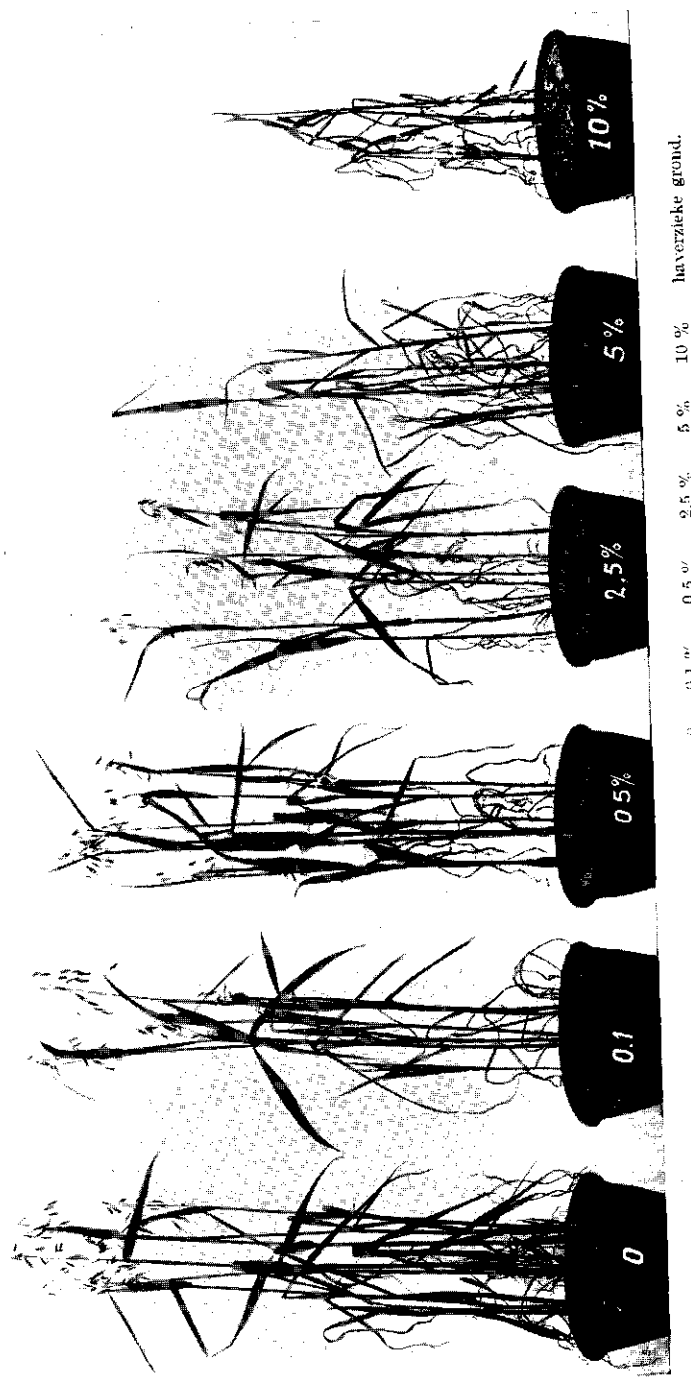
De met germisan gesteriliseerde zaadjes werden, nadat zij in steriele glasdozen ontkiemd waren, in het zand gepoot en het geheel afgedekt met een bacterienfilter, bestaande uit een laag geparaffineerd zand (ter verbreking van het capillair contact), waaroverheen een laagje kurkvijzel gemengd met katadyne-bolus (infusorien-aarde met 10 % zilver). De potten werden op constant gewicht gehouden, het water werd bijgevuld door een daartoe aangebracht glazen buisje.

Per pot werden 5 zaadjes gepoot, terwijl alles in duplo werd aangezet. Het gesteriliseerde zand werd opnieuw geïnfecteerd door het te mengen met stijgende hoeveelheden van een haverzieken grond. Het resultaat van deze proef is in onderstaande tabel weergegeven.

TABEL IV.

Toegevoegde hoeveelheid haverzieke grond.	Stand van de haver na 4 weken.	Stand van de haver na 6 weken.
Steriel zand zonder grond.	Planten gezond, geen haver- zieke bladeren.	Planten gezond, zwakke chlorose.
Idem gemengd met:		
0,01 %	Idem, een enkel ziek blad.	Idem, idem.
0,1 %	Idem, een enkel ziek blad.	Planten blijven achter, spichtig en zwak chloro- tisch.
0,5 %	Planten vertoonen eerste ziekteverschijnselen, in totaal 5 zieke bladeren.	6 van de 10 planten ziek. Deel van de zieke bladeren reeds verdroogd.
2½ %	Planten duidelijk kleiner dan de vorige, in totaal 10 zieke bladeren.	Alle planten op een na ziek, op 28 bladeren talrijke typische bladplekken en geknikt.
5 %	Planten klein, in totaal 7 zieke bladeren.	Alle planten ziek, in totaal 33 sterk aangetaste bladeren.
10 %	Planten klein, 9 zieke blade- ren.	Alle planten sterk ziek, in totaal 45 zieke bladeren.

Afb. 2. INFECTIE-PROEF.



Steriel, mangaan arm kwartsand, geïnfecteerd met resp. 0 0.1 % 0.5 % 2.5 % 5 % 10 % haverzieke grond.

Reeds bij een infectie met 0,1 % vertoonden zich in den beginne ziekteverschijnselen, bij 0,5 % eveneens, doch de planten herstelden zich later eenigermate. Bij een infectie met 2,5 % zieken grond was het ziektebeeld zeer overtuigend, terwijl bij 5 en 10 % het beeld vrijwel geheel overeenkwam met dat van den zieken grond zelf. De foto n°. 2 op blz. 15 geeft een beeld van den toestand op het tijdstip van den bloei, waarbij opgemerkt dient te worden, dat alle planten, ook de steriele, zeer geleden hadden van het warme weer tijdens het laatste deel van de proef.

Ten einde het gebleken verband tusschen infectie en het optreden der ziekteverschijnselen nader te onderzoeken, werden nog eenige proeven aangezet, waarbij ook Mn-bepalingen verricht werden.

Van een kwartszandcultuur, welke dezelfde bemesting ontving als de vorige proef, werd een gedeelte der potten steriel gehouden, een ander deel werd met 5 % zieken grond geïnfecteerd, terwijl enkele potten een hoeveelheid van 20 mg Mn als MnSO_4 ontvingen per pot van 4 kg. Gezaaid werd 18 Mei, geoogst werd 22 Juni op het oogenblik, dat de planten de eerste ziekteverschijnselen overtuigend vertoonden. De gemiddelde lengte der gezonde steriele planten bedroeg op dat oogenblik 65 cm, van de Mn-planten 69,5 cm en van de geïnfecteerde zieke planten 53 cm. De planten werden afzonderlijk geanalyseerd.

TABEL IVa.

I. Steriele Mn arme zandcultuur. Planten volkomen gezond.		II. Idem geïnfecteerd met 5 % zieke grond. Planten duidelijk haverziek.		III. Als I, met toevoeging van 20 mg Mn als MnSO_4 . Planten volkomen gezond.	
Dr. gew. per plant. mg.	Mn in groene dln. mg per kg.	Dr. gew. per plant. mg.	Mn in groene dln. mg per kg.	Dr. gew. per plant. mg.	Mn in groene dln. mg per kg.
455	21,0	289	23,9	510	50,3
443	15,3	233	33,1	485	82,2
408	8,7	107	21,5	476	109,5
511	16,6	280	21,6	358	101,8
364	13,4	244	24,7	455	95,9
—	—	154	35,8	—	—
—	—	270	31,3	—	—
—	—	149	21,1	—	—
Gemiddeld 436	15,0	216	26,6	457	87,7
Per plant gem. 6,5 μ g. Mn.		5,7 μ g Mn.		40,1 μ g Mn.	

Wij zien ook hier de resultaten van vorige experimenten bevestigd, nl. dat de infectie met 5 % zieken grond voldoende is om de planten onder overigens volkomen dezelfde omstandigheden ziek te maken en het gemiddelde gewicht per plant tot op 49,5 % terug te brengen van dat der steriele planten. Tevens blijkt dat het gewicht van de steriele planten vrijwel even groot is (95,5 %) als dat der mangaanplanten, *niettegenstaande het mangaangehalte slechts een zesde bedraagt*.

Opmerkelijk is dat het Mn-gehalte van de droge stof bij de steriele planten *lager* is dan bij de geïnfecteerde zieke planten; ook dit is bij vorige proeven voorgekomen en laat zich verklaren uit het feit, dat de kleine hoeveelheid mangaan in het zand en de voedingsstoffen, aanwezig bij de steriele planten, over een veel grotere hoeveelheid droge stof verdeeld is dan bij de zieke plantjes. Naarmate de steriele planten ouder worden, zal ook het wortelstelsel, doordat het intact is, met meer grond in aanraking zijn dan de korte aangetaste wortels der zieke planten en kan verwacht worden, dat ten slotte per plant iets meer Mn aanwezig is, waarop de gevonden cijfers reeds wijzen.

Mangaanbepaling in plantenmateriaal.

1—2 g bij 105° gedroogd materiaal wordt verascht en gegloeid, daarna opgenomen in sterk HCl, ingedampt, opgekookt met ongeveer 15 cc HNO₃ 30 % en gefiltreerd.

Daarna wordt het HNO₃ afgedampt, tot droog, het residu opgenomen in 10 cc 5 % H₂SO₄, in een erlenmeyerflesje gebracht en ter vermindering van storing door eventueel aanwezig ijzer 1 druppel H₃PO₄ toegevoegd waarna met 0,3 g KJO₄ wordt opgekookt waarbij het aanwezige Mn in KMnO₄ wordt omgezet.

Daarna wordt in een klein maatkolfje van 10 of 20 cc, overgespoeld en tot merkstreep aangevuld met H₂SO₄ houdend water waaraan iets KJO₄ is toegevoegd.

In sommige gevallen ontstaat bij afkoeling een precipitaat van CaSO₄, dat afgecentrifugeerd moet worden.

De kleur wordt met behulp van een eenvoudige colorimeter vergeleken met die van een drietal standaardoplossingen die respectievelijk 0,0625 mg, 0,0313 mg en 0,0063 mg bevatten per 5 c.c.

Voor de bepaling was 5 cc vloeistof nodig welke gebracht werd in een buis van 30 cm lengte en een diameter van ongeveer 7 mm, welke juist deze hoeveelheid bevatte.

Op deze wijze kon gemakkelijk 0,001 mg Mn worden bepaald.

De inrichting van de derde proef was geheel als de vorige; de planten werden echter in den winter grootgebracht in een verwarmde kas, terwijl met een Philips-Neonlamp van 500 watt gedurende 6—8 uur per dag belicht werd. De planten bleven vrij spichtig, de eerste haverziekteverschijnselen traden op nadat in begin Februari de temperatuur van de kas gedurende eenige achtereenvolgende dagen op 20° gestegen was.

Het steriele zand werd vergeleken met steriel zand, hetwelk geïnfecteerd was met 5 % zieken tuingrond; daarnaast steriel zand, geïnfecteerd met

Afb. 3. INFECTIE-PROEF.



1. *Links.* Mn arm kwartsand, steriel.
2. *Midden.* Idem geïnfecteerd met 5 % zieke grond.
3. *Rechts.* Als 1, na toevoeging van MnSO_4 .

enkele fijngewreven aangetaste worteltoppen van haverzieke planten. Ten einde na te gaan of naast microbiologische invloeden de toevoeging van 5 % grond het cultuurmedium ook nog op andere wijze veranderde, werd tevens een proef ingezet, waarbij het steriele zand gemengd werd met 5 % met formaline gesteriliseerden zieken tuingrond. De resultaten zijn in onderstaande tabel vereenigd.

TABEL V.

Cultuurmedium.	Droog gewicht 10 plantjes.	Mn gehalte planten mg/kg droge stof.	Mn in cultuurmedium. In water opl. 0,001 mg/kg.	Ziektebeeld.
I. Steriel zand I.	12,8 g	7,9 mg	8,3	Planten gezond, spichtig doch goed gegroeid, geen haverziekte, weinig chlorotisch.
II. Steriel zand. Spontaan geïnfecteerd.	4,6 g	13,7 mg	8,3	Planten klein, zeer ziek, met typisch haverzieke vlekjes, geknikte bladeren, sterke strepenchlorose.
III. Steriel zand met 5 % zieke tuingrond.	6,7 g	3,7 mg	15,1	Planten klein, met typisch haverzieke vlekken.
IV. Steriel zand met 5 % gesteriliseerde zieke tuingrond.	16,6 g	17,0 mg	6,5	Planten goed gegroeid, beter uitgestoeld dan I, niet haverziek, bladeren goed groen.
V. Steriel zand geïnfecteerd met 0,5 gr. zieke worteltoppen.	7,3 g	7,5 mg	8,3	Planten klein, spichtig en chlorotisch met enkele, doch typische haverzieke vlekjes.
VI. Zieke tuingrond.	9,3 g	5,5 mg	16,5	Planten klein, met typische haverziekeverschijnselen.

De beide steriele cultures I en IV geven de grootste opbrengsten, de planten zijn gezond gebleven, zelfs bij een zeer laag gehalte van 7,9 mg Mn per kg droge stof (fig. 3, links).

De cultuur, welke met 5 % zieken tuingrond was geïnfecteerd, werd duidelijk haverziek en leverde minder dan de helft aan droge stof dan de overigens geheel analoge steriele cultuur n°. IV.

Verder is het duidelijk, dat de infectie met 0,5 g zieke haverworteltoppen de planten eveneens ziek gemaakt heeft; de cultuur echter, die in dit verband wellicht het meest interessant is, is n°. II. Door den langen duur van de proef was deze cultuur spontaan geïnfecteerd, uit het wortelstelsel konden een drietal bacteriën geïsoleerd worden. Doordat deze cultuur volkomen gelijk behandeld is geworden als n°. I, behoudens de infectie, levert zij in samenhang met de overige proeven m. i. het overtuigende bewijs, *dat voor het optreden der haverziekteverschijnselen in Mn-arme media de medewerking van micro-organismen vereischt is.*

Het Mn-gehalte der verschillende planten verdient ook in dit geval onze bijzondere aandacht. Allereerst zien wij, dat, evenals in de vorige proef, het Mn-gehalte in de droge stof van de steriele gezonde planten in kwartszand belangrijk lager is dan dat der spontaan geïnfecteerde cultuur. De oorzaak is, dat de gezonde planten in totaal 2,8 maal zooveel droge stof produceerden als de geïnfecteerde en slechts 1,6 maal zooveel Mn konden absorbeeren.

De cultures met tuingrond vertoonden het tegenovergestelde verschijnsel: de geïnfecteerde zieke planten van III en VI bevatten belangrijk minder Mn dan de steriele gezonde IV. Hiervoor kunnen twee oorzaken zijn, nl. met den tuingrond, welke 2 maal zooveel Mn bevatte als het kwartszand, is iets Mn aangevoerd, zoodat de planten ook meer Mn ter beschikking stond. De steriele planten konden dit ongehinderd opnemen, de geïnfecteerde planten niet, zeer waarschijnlijk doordat bovendien met den zieken tuingrond ook mangaanbacteriën zijn aangevoerd, die in staat zijn het Mn onoplosbaar te maken, in het bijzonder in de rhizospheer en in de omgeving van de door de wortelrot-bacteriën aangetaste worteltoppen.

Tot zekere hoogte is hiermede de vraag, waarin het aandeel der micro-organismen bij het tot stand komen der ziekteverschijnselen bestaat, beantwoord. Het is echter wenschelijk hierop dieper in te gaan. Bekijkt men het wortelstelsel der typisch haverzieke planten, dan ziet men dat dit meer of minder sterk aangetast is en soms zelfs grootendeels is weggerot, terwijl het wortelstelsel van even oude, Mn-rijke planten volkomen gaaf is. Het ligt daarom voor de hand te veronderstellen, dat de bacterieele aantasting van het wortelstelsel bij het tot stand komen der ziekteverschijnselen een belangrijke rol speelt. Waar zonder deze aantasting de typische ziekteverschijnselen achterwege blijven, kan men m. i. de bacterieele aantasting van het wortelstelsel niet zonder meer als secundair en van ondergeschikt belang beschouwen.

Hoewel ik aanvankelijk meende, dat het wortelstelsel de eenige plaats was, waar micro-organismen bij het ziekteproces ingrijpen, hebben mijn onderzoekingen betreffende het optreden van haverziekte op mengsels van

gezonde klei en gezonde zandgronden overtuigend aangetoond, dat de bacteriën een tweede, niet minder belangrijke rol vervullen. Deze bestaat daarin, dat zij in staat zijn om binnen bepaalde pH-grenzen in tegenwoordigheid van sporen organische stof, oplosbare Mn-verbindingen in onoplosbare over te voeren.

Behalve in deze nog te beschrijven proeven werd hiervoor in de beide hier volgende infectieproeven een duidelijke aanwijzing verkregen. Hierbij werd, evenals in de vorige proeven, uitgegaan van steriel, Mn-arm kwartszand, dat met stijgende hoeveelheden van een zeer zieken grond geïnfecteerd was.

Gezaaid werd 4 Mei, geoogst 24 Juli, op welk tijdstip de korrels zich reeds hadden gevormd. De resultaten zijn in de volgende tabel vereenigd.

TABEL VI.

Cultuurnummer.	Stroo-opbrengst Dr. gew. 10 pl.	Korrel- opbrengst Dr. gew. 10 pl.	Mg Mn/kg stroo.	Mg Mn/kg korrel.	H ₂ O opl. Mn 0.001 mg/kg grond.	Ziektebeeld.
I. Kwartzsand + Mn . .	23 g	15,9 g	300	172	126,3	Gezond, hoog
II. Idem	20 g	15,2 g	344	227	126,3	93 cm.
III. Kwartzsand geïnfecteerd met 1 % zieke grond .	8 g	2,4 g	37,5	16,5	36,7	Typisch haverziek, hoog 60 cm.
IV. Idem met 5 % zieke grond	4,6 g	geen korrel	27,4	geen korrel	19,9	Planten zieker dan III. Hoog 40 cm.
V. Idem met 10 % zieke grond	1,8 g	Idem	19,2	Idem	25,7	Planten zeer ziek, hoog 15 cm.

Men ziet ten eerste, dat de ziekteverschijnselen erger en de opbrengsten veel minder worden, naarmate met meer zieken grond geïnfecteerd is geworden. De korrelvorming is zelfs bij IV en V geheel achterwege gebleven. Daarnaast blijkt, dat het mangaangehalte van het stroo minder wordt naarmate de planten zieker zijn. Oppervlakkig zou men kunnen veronderstellen, dat dit veroorzaakt werd, doordat de zieke grond minder Mn bevatte dan het steriele zand, doch dit is niet het geval. Zelfs wanneer de zieke grond heelemaal geen Mn bevatte, zou het gehalte van de ziekste planten hoogstens met 10 %, dus op 33,7 moeten dalen, terwijl in werkelijkheid het gehalte

tot 19,2 afneemt. Het is dus waarschijnlijk, dat hier andere invloeden in het spel zijn: of de zieke planten nemen uiteraard minder Mn op, of ze worden juist zoo ziek, doordat bij stijgende infectie de Mn-opname verhinderd wordt, wat zou kunnen worden veroorzaakt door een microbiologische precipitatie van het Mn, in het bijzonder in de rhizosfeer.

Verder wijs ik er op, dat wij hier zeer zieke planten hebben met betrekkelijk hoog Mn-gehalte, zoodat ook deze proeven, evenals die van LUNDGARDH, er op wijzen, dat de door SAMUEL en PIPER opgegeven minimumwaarden niet onder alle omstandigheden van toepassing zijn.

De volgende proef, waarbij zieke tuingrond eerst met formaline werd gesteriliseerd en daarna opnieuw werd geïnfecteerd met denzelfden on-geïnfecteerden grond, bevestigde de hierboven verkregen resultaten. Geïnfecteerd werd met 1 %, 5 % en 10 % zieken grond, terwijl de bemesting dezelfde was als in de vorige proeven. De grond bevatte 11,4 % CaCO_3 ; gezaaid werd 4 Mei met 5 planten per pot. Geoogst 24 Juli. De resultaten zijn in de volgende tabel vereenigd.

TABEL VII.

Herinfectieproef.

Cultuurnummer.	Stroopbrengst droog gewicht 5 plantjes (in g)	Korrelopbrengst droog gewicht 5 plantjes (in g)	Mn stroo (mg/kg.)	Mn korrel (mg/kg.)	H ₂ O opl. Mn in de grond (μ/kg.)	Toestand cultuur.
Ia. Oorspronkelijk zieke grond	3,2	0,65	19,3	17,2	22,0	Alle planten zeer ziek. Lang 55 cm.
Ib. Idem	2,5	0,45	13,2	22,4	—	
Ic. Idem	3,6	0,85	18,3	23,5	15,0	
Totale opbrengst korrel + stroo gemiddeld . .	3,75 g					
Mn-gehalte groene deelen, gemiddeld . . .			17,6 mg/kg			
Mn per plant, gemiddeld					0,013 mg	
IIa. Deze grond met forma- line gesteriliseerd . .	13,5	6,1	50,8	59,7	14,5	Alle planten ge- zond, lang 75 cm.
IIb. Idem	9,5	7,1	72,7	59,5	29,0	
Totale opbrengst korrel + stroo, gemiddeld	19,0 g					
Mn-gehalte groene deelen, gemiddeld . . .			51,5 mg/kg			
Mn per plant					0,196 mg	

Cultuurnummer.	Stroopbrengst droog gewicht 5 plantjes (in g)	Korrelopbrengst droog gewicht 5 plantjes (in g)	Mn stroo (mgr/kg.)	Mn korrel (mgr/kg.)	H ₂ O opl. Mn in de grond (μ/kg.)	Toestand cultuur.
IIIa. Met formaline gesteriliseerde grond opnieuw geïnfecteerd met 1% zieke grond	6,0	2,5	66,5	64,0	20,0	Planten duidelijk haverziek met typische vlekken. Lang 55—60 cm.
IIIb. Idem	7,2	1,8	53,8	63,5	17,3	
Totale opbrengst korrel + stroo, gemiddeld . .	8,8 g					
Mn-gehalte groene deelen, gemiddeld			59,7 mg/kg			
Mn per plant gemiddeld					0,105 mg	
IVa. Met formaline gesteriliseerde grond opnieuw geïnfect. met 5% zieke grond	6,9	6,5	22,3	34,3	22,0	Planten haverziek als III.
IVb. Idem	6,5	6,4	25,0	45,0	15,5	
Totale opbrengst korrel + stroo, gemiddeld . .	13,2 g					
Mn-gehalte groene deelen, gemiddeld			31,6 mg/kg			
Mn per plant gemiddeld					0,082 mg	
Va. Als boven geïnfecteerd met 10 % zieke grond	5,5	3,5	17,5	32,0	12,5	Planten haverziek als III.
Vb.	6,1	7,3	13,8	19,3	27,5	
Totale opbrengst korrel + stroo, gemiddeld . .	11,2 g					
Mn-gehalte groene deelen, gemiddeld			19,3 mg/kg			
Mn per plant gemiddeld					0,043 mg	

Allereerst zien wij, dat ook hier de sterilisatie met formaline de ziekteverschijnselen geheel heeft doen verdwijnen, terwijl zij bij herinfectie weer terugkomen, zij het in veel mindere mate. Opmerkelijk is, dat infectie met 1 % zieken grond de opbrengst met meer dan 50 % doet dalen, terwijl met 5 en 10 % de opbrengst weer iets groter is, alhoewel in alle gevallen de planten typische haverziekteverschijnselen vertoonden.

Men krijgt den indruk, dat de infectie, waardoor zoowel het Mn geprecipiteerd wordt als de wortelrotverschijnselen tot stand kunnen komen,

tot zekere hoogte wordt opgeheven ten gevolge van de gunstige werking, die in het algemeen een partieele sterilisatie van den grond uitoefent. Duidelijk is in ieder geval, dat de hoeveelheid Mn, in de groene deelen aanwezig, zoowel als de totale hoeveelheid Mn per plant bij de infecties met 5 en 10 % belangrijk is achteruitgegaan, vergeleken met den met formaline gesteriliseerden grond. Tevens zien wij, dat de Mn-opname in den met formaline gesteriliseerden grond het drievoudige is van dat in den ongestertiliseerden grond. Waar in het waterige extract van den gesteriliseerden grond niets blijkt van een mobilisatie van het Mn, terwijl bij vorige proeven ook het uitwisselbaar Mn onveranderd is gebleven, moet men wel aannemen, dat door deze sterilisatie de plant in staat gesteld is van het in den grond aanwezige Mn meer op te nemen.

Het blijft immers onverklaarbaar, dat, zelfs al zou door de sterilisatie met formaline het uitwisselbaar Mn toenemen, een vermenging van den gesteriliseerden grond met slechts 10 % van denzelfden, niet gesteriliseerden grond, de per plant opgenomen hoeveelheid Mn met 78 % doet dalen. Hiervoor is m. i. maar één verklaring mogelijk, nl. *dat in den niet gesteriliseerden grond de Mn-opname van de plant door micro-organismen belemmerd wordt.* Het is waarschijnlijk, dat in dezen gesteriliseerden, zoowel als in den ongestertiliseerden grond vrijwel gelijke hoeveelheden opneembaar Mn aanwezig zijn en dat deze hoeveelheden voldoende zijn om in de behoefte van de planten te voorzien bij *afwezigheid* van micro-organismen. Door de Mn-bacteriën wordt echter het oplosbare Mn neergeslagen, waarschijnlijk in de rhizospheer, ten gevolge waarvan de opname er van door de wortels bemoeilijkt wordt.

In dit verband is de volgende opmerking van SAMUEL en PIPER ¹⁾ niet zonder beteekenis: „The disease would appear to result from *unavailability* of manganese in the affected soils, but what *factor or combination of factors* it is, that renders the manganese unavailable to the plants has still to be determined.

De mogelijkheid van een precipitatie van oplosbare mangaanverbindingen door micro-organismen is reeds in 1914 door SÖHNGEN ²⁾ en door BEYERINCK ³⁾ aangetoond; in het volgende zal hierop nader worden teruggekomen, in bijzonder in verband met de Veenkoloniale Haverziekte en met de uiterlijke omstandigheden, die deze precipitatie mogelijk maken of beletten.

¹⁾ *Journ. of Agr.*, 1928, blz. 798.

²⁾ L. c.

³⁾ *Folia Microbiologica*. Vol. 2, blz. 122—125. 1913.

2. *Steriele watercultures.*

Ten einde een beter inzicht te krijgen in de rol, die de micro-organismen spelen bij de Mn-opname van de plant, was het wenschelijk het gedrag van de plant te kunnen nagaan in steriele watercultures. Bovendien kan op deze wijze de ontwikkeling van het wortelstelsel en de eventuele aantasting daarvan bij afwezigheid van Mn vervolgd worden, evenals het effect van kunstmatige infecties met uit de zieke planten geïsoleerde bacteriën.

Daar de methodiek der steriele watercultures nog onvoldoende ontwikkeld was om deze zonder meer in het onderhavige geval toe te passen, was het noodig hieraan speciale aandacht te schenken, alvorens tot het eigenlijke onderzoek kon worden overgegaan.

*Methodiek steriele watercultures.*¹⁾

In de hals van een Pyrex erlenmeyer van 1 l wordt een dikke glazen buis gebracht van $\pm 3\frac{1}{2}$ cm diameter en 10 cm lengte. Even boven de vloeistofspiegel is deze buis afgesloten met een stukje getaande tule, waarop het steriele voorgekiemde zaadje wordt gelegd, bedekt met steriele glaskogeltjes. Zoodra het coleoptiel tegen de wattenprop, waarmede de dikke buis is afgesloten, aangroeit, wordt deze wattenprop in een steriel entkamertje verwijderd en op de glaskogeltjes een laagje van ± 15 tot 20 mm geparafineerd kurkvijzel gebracht; hierop volgt een laagje van 25 tot 30 mm kurkvijzel, vermengd met katadynebolus of infusoriënaarde, waarop zilver is neergeslagen. Met een laagje van enkele mm katadynekwarts (2 tot 3 mm diameter) wordt de kurk rond de opgroeiende stengel aangedrukt.

Door de oligodynamische werking van het zilverhoudende afdek materiaal wordt voorkomen, dat schimmels of bacteriën naar binnen groeien, terwijl kurkvijzel als bacterienfilter boven zand het voordeel heeft om niet nat te worden door condenswater.

De plant groeit zonder moeite door de steriele afsluiting heen zonder daarbij van het katadynepreparaat hinder te ondervinden.

Wel moet men er op letten, dat de plaats, waar de stengel uit het kurkvijzel komt, niet direct door de zon beschenen wordt. Het kurkvijzel geleidt de warmte niet weg, isoleert zeer sterk, met het gevolg dat in de bovenlaag de temperatuur zoo hoog kan worden, dat de plant er door beschadigd wordt, wat dan abusievelijk aan de nadeelige werking van het katadynepreparaat zou worden toegeschreven.

Bijwortels, die vanuit de bovenste geïnfecteerde zone naar beneden zouden groeien en de cultuur zouden infecteren, zooals dit bij zandafsluiting herhaaldelijk voorkomt, groeien niet door het katadynefilter heen en verdrogen spoedig.

Een infectiekans, die bij de cultures van Gramineëen de steriliteit in gevaar brengt wanneer de cultures ouder worden, ligt in het afsterven van het coleoptiel. Hierlangs kunnen schimmels en bacteriën gemakkelijk hun weg vinden naar de steriele zone; men kan dit in een aantal gevallen voorkomen door het coleoptiel tijdig met een heet, geflammeerd scheermesje even onder de oppervlakte af te snijden.

Het steriliseeren der zaden geschiedt in een Petri-apparaat door de zaden gedurende

¹⁾ *Planta*, 23, blz. 598. 1935.

enkele seconden in het luchtledige met alcohol te behandelen, met steriel water af te spoelen en 2 uur in een 1 %ige germisanoplossing te laten staan. Elk zaadje wordt afzonderlijk in een reageerbuisje met steriel vochtig zand te kiemen gezet en voor de cultuur worden de best gekiemde zaden uitgezocht.

Het bijvullen van het verdampte water geschiedt door middel van een hevel, welke aan een gesteriliseerde voorraadkolf van 2 l verbonden is.

De cultuurvloeistof bevatte per l: 0,5 g KNO_3 , 0,25 g KH_2PO_4 , 0,075 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ aq.}$, 0,38 g CaSO_4 , 0,38 cc 2½ %ige FeCl_3 -Fe-citraat-oplossing (bereid door electrolytisch neergeslagen Fe op te lossen in HCl dat in kwarts was gedestilleerd) en 0,25 cc van het mengsel van SOMMER en SOROKIN¹⁾, waarin sporen Cu, J en B.; geneutraliseerd werd met 0,55 cc KOH 10 % tot een pH van 6,4.

De chemicalien werden tweemaal omgekristaliseerd. Alhoewel het op deze wijze gelukte cultuurvloeistoffen te verkrijgen, die zoo arm waren aan Mn, dat een enkele haverplant er ziek in werd, slaagden wij er niet in om de cultuurvloeistof volkomen Mn.vrij te maken, ook niet na filteren over NORIT, zoodat onze proeven betrekking hebben op Mn. arme en niet op Mn.vrije cultures.

Een methode, die ons in staat stelde het Mn tot groote hoogte te verwijderen, bestond daarin dat door middel van een voorcultuur uit een cultuurvloeistof, welke iets geconcentreerder was dan de hierbovenvermelde, het beschikbare Mn. door de haverplanten zelf verwijderd werd.

Infectieproeven. Bij de hiervolgende proef werden aanvankelijk alle plantjes steriel opgekweekt; ter contrôle werd aan een der cultures 0,5 mg Mn als MnSO_4 toegevoegd. De proef werd ingezet 20 Juni, de plantjes ontwikkelden zich aanvankelijk normaal en vertoonden op den 10den van de 7de nog geen enkel teeken van haverziekte. Op dien datum werden een tweetal cultures geïnfecteerd, de een met een enkel fijngewreven aangetast worteltopje van een typisch haverzieke plant, de ander met een ruwcultuur van bacteriën, geïsoleerd uit een dergelijk worteltopje. Elf dagen later was de cultuur, met het worteltopje geïnfecteerd, typisch haverziek, terwijl bij de andere plant 14 dagen na de infectie met de ruwcultures der bacteriën de eerste typische bladplekken optraden; de steriele planten bleven gezond (fig. 4, blz. 24).

Op 30 Juli blijkt het ziektebeeld bij de beide geïnfecteerde cultures verergerd te zijn; de *steriele* cultures vertoonden geen typische ziekteverschijnselen, zelfs geen strepenchlorose, alhoewel de kleur der bladeren lichter is dan van die met Mn. Wel blijven zij merkbaar in ontwikkeling achter bij de normale plant met Mn, uitstoeling en grootte der bladeren zijn geringer, terwijl ook de omvang van het wortelstelsel kleiner is; de wortels zijn echter niet aangetast.

Op 14 Augustus wordt de proef afgebroken, de contrasten zijn verscherpt, de beide geheel steriele cultures zijn volkomen gezond gebleven; het wortel-

¹⁾ *Plant Physiology* 3. 1928.

ABD. 4. STERIELE WATERCULTUUR VAN HAYER.



Nº. 1. Mn arme cultuur, steriel gehouden.

Nº. 2. Aan het cultuurmedium 0,5 mg Mn als $MnSO_4$ toegevoegd.

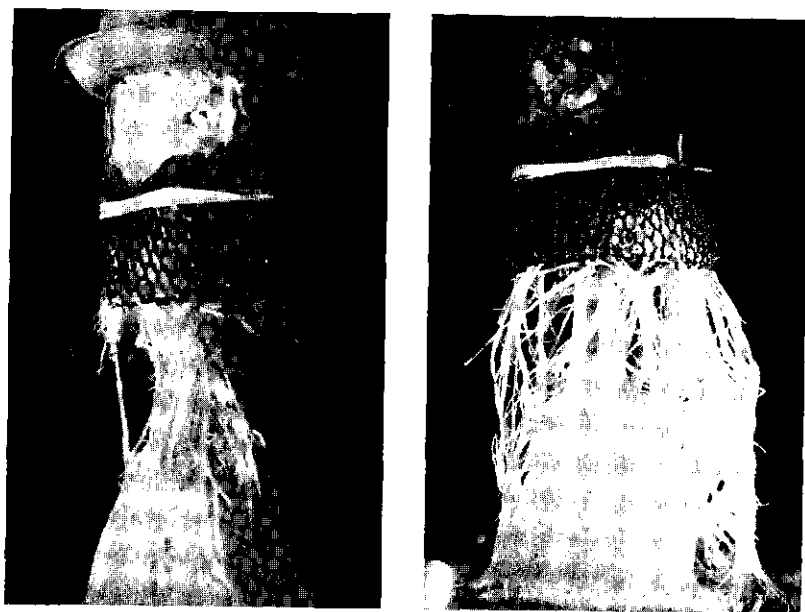
Nº. 3. Mn arme cultuur als 1, geïnfecteerd met ruw-cultuur van bacterien afkomstig uit ziek worteltje.

De cultures werden den 18den Augustus alle op dezelfde wijze aangezet als de vorige, ontwikkelden zich aanvankelijk normaal en werden den 15den September, terwijl ze nog alle gezond waren, met een 9-tal verschillende bacteriën, welke uit zieke worteltoppen in reincultuur verkregen waren geïnfecteerd. De resultaten zijn in onderstaande tabel vereenigd.

TABEL IX.

Aard der cultuur.	Dr. gew. heele plant in g.	Totaal Mn in groene deelen per plant in mg.	Mn mg/kg groene deelen.	Stand der planten.
I. Steriel	2,1	0,073	51,7	Plant klein, blad gaaf chlorotisch, wortelstel goed ontwikkeld, niet aangetast, (zie foto 5, rechts), geen enkel ziekteverschijnsel.
II. Steriel	2,2	0,065	32,4	Idem.
III. 1 mg Mn op $3\frac{1}{4}$ l	4,5	0,326	77,6	Forsche plant met 2 flinke uitstoeelingen, blad groen, wortel stelsel goed ontwikkeld, geen haverziekte.
IV. Als III met 1 mg Mn	3,1	0,206	79,4	Forsche plant, met 3 uitstoeelingen, wortelstelsel goed ontwikkeld, tegen eind van de proef zijn echter een aantal toppen weggerot, terwijl 2 bladeren haverziekteverschijnselen vertoonen.
V. Geënt met alle bact. I—IX.	1,7	0,087	43,3	Plant flink haverziek, vrij sterk uitgestoeld, jongste blad strepenchlorose, meerdere bladen met typische vlekjes en geknakt.
VI. Geënt met de bact. I, II en III.	1,7	0,046	30,9	Plant klein, stijl, bladeren chlorotisch, geen uitstoeeling, wortelstelsel klein, niet aangetast, geen haverziekte.
VII. Geënt met de cultures IV en VI.	2,0	0,076	50,9	Als VI, geen enkel symptoon van haverziekte.
VIII. Geënt met de cultures VII en VIII (gele bact. en fluoresc.).	1,9	0,088	58,6	Als VI, wortels iets geel, doch geen haverziekte.
IX. Geënt met de cultures V (fluoresc.) en IX (andere gele bact.).	2,2	0,063	33,4	Plant klein, 3 bladeren met typische vlekjes en geknakt, wortels boven de vloeistof sterk aangetast (zie foto N°. 5 links), flink haverziek.

Afb. 5. DE WORTELSTELSELS VAN EEN TWENTAL MANGAAN-ARME PLANTEN.



- Links :* Eenige weken na infectie met een mengcultuur van twee bacterien afkomstig uit zieke wortel.
- Rechts :* Volkomen analoge watercultuur, nu echter steriel.

Deze proef bevestigt het resultaat van de vorige, nl. dat ook in watercultures met een tekort aan Mn de planten gezond blijven zoolang men het wortelstelsel steriel houdt, terwijl door infectie met combinaties van bacteriën, uit zieke wortels geïsoleerd, opnieuw de typische haverziekteverschijnselen ontstaan.

Alhoewel, zooals reeds vermeld, ook LUNDEGARDH haverzieke planten heeft aangetroffen, met een hoog Mn-gehalte, (420 m.gr./kg) is m.i. het betrekkelijk hoge Mn-gehalte der planten in deze proef toch onbevredigend. Waarschijnlijk vindt dit zijn oorzaak in het feit, dat voor het bedekken der zaadjes ditmaal geen geparaffineerde glaskogeltjes gebruikt waren, doch kleine kiezelsteentjes, die tijdens de proef Mn hebben afgestaan. Dit neemt niet weg, dat nog enkele merkwaardige verschijnselen aan het licht komen. Allereerst zien wij planten met vrij hoge Mn-gehalten toch ziek worden. Mijn veronderstelling in deze is, dat de eerste bladeren het beschikbare Mn in haar geheel opnemen en verantwoordelijk zijn voor het hoge Mn-gehalte der plant. De volgende bladeren vinden steeds minder Mn en daar het Mn niet binnen de plant van het eene blad naar het andere getransporteerd wordt, kunnen deze bladeren wel haverziek worden. Dit wordt eenigszins aannemelijk gemaakt door het feit, dat het laatste blad van cultuur V typische strepenchlorose vertoont en het vooral de uitstelingen zijn, die de ziekteverschijnselen vertoonen. De bacteriëncultures I, II, III, IV, VII en VIII bleken onwerkzaam te zijn onder deze omstandigheden, niettegenstaande met vrij groote hoeveelheden bacteriën materiaal geënt was (enkele cc van een dikke bacterie-suspensie). De combinatie van alle cultures, evenals een combinatie van de cultures V en IX, deed de planten typisch ziek worden.

Zeer opmerkelijk was de sterke aantasting van het wortelstelsel der geïnfecteerde cultures; er waren tal van wortels, waarvan het topje verslijmd was en die vooral op de grens lucht—water geheel waren weggerot.

Daartegenover staat, dat de wortels van de steriele cultures gaaf bleven, wat zich o.m. uitte door het merkwaardige verschijnsel, dat tegen het einde van de proef talrijke wortels over hun geheele lengte met intacte lange wortelharen bedekt waren. Of de lengte en ontwikkeling dezer wortelharen verband houdt met het Mn-tekort of alleen komt, doordat in deze steriele cultures de microben ontbreken, die de wortelharen aantasten, is zonder meer niet te zeggen. Het microscopisch onderzoek van een aantal zieke planten bracht aan het licht, dat in de beginstadia het vooral de worteltoppen met wortelmutsjes zijn, die aangetast worden, en dat zich vaak op en rond de wortelharen bacteriënkoloniën bevinden (zie foto 8, blz. 35).

Alhoewel het aantal dezer infectieproeven te klein is om zekere conclusies toe te laten, mede door de groote moeilijkheden, die verbonden zijn aan

het gedurende langeren tijd steriel houden van watercultures, vormen zij toch een waardevolle aanvulling van de resultaten, met de steriele zandcultures verkregen.

Deze komen op het volgende neer: In Mn-arme (geen Mn-vrije) cultures kunnen de planten zich ontwikkelen zonder de typische Veenkoloniale haverziekteverschijnselen te vertoonen, mits men deze cultures steriel houdt. Bij aanwezigheid van microorganismen worden de planten in dezelfde oplossing ziek.

Op grond van de verrichte waarnemingen moet men onderscheid maken tusschen de verschijnselen der Veenkoloniale Haverziekte en mangaangebrek. Bij afwezigheid van bacteriën uit het Mn-gebrek zich in een vertraagden groei, geringe uitstoeeling, gereduceerd wortelstelsel en kleinere korrelopbrengst. De typische infiltratieplekjes, welke in bladvlekken overgaan, ontbreken geheel; deze treden wel op bij aanwezigheid van bacteriën, die het wortelstelsel aantasten. Het komt mij echter voor, dat men uit het welslagen der infecties niet mag besluiten met een typische parasitaire ziekte te doen te hebben. Veeleer moet men tot de conclusie komen, dat het weerstandsvermogen van het wortelstelsel tegenover een combinatie van bepaalde saprophytische bacteriën (bijv. rottingsbacteriën en cellulose-aantasters) bij Mn-gebrek afneemt. Op de oorzaken van dit verband tusschen Mn-gebrek en resistentie wordt in het volgende nog nader teruggekommen.

Daarnevens komt, dat een andere groep bacteriën, de Mn-bacteriën, onder bepaalde omstandigheden door precipitatie van het toch al in geringe hoeveelheid aanwezige Mn als MnO_2 het voor de plant beschikbare Mn sterk kunnen doen verminderen, zoodat men door infectie van Mn-arme steriele cultures, in het bijzonder met zieken grond of reincultures, een tweetal factoren invoert, die het welzijn van de plant ongunstig beïnvloeden.

Tevens laat zich uit het bovenstaande de gevolgtrekking maken, dat onder steriele omstandigheden de plant met veel minder mangaan volstaan kan dan onder normale bestaansvoorwaarden.¹⁾

Beschrijving van de geïsoleerde bacteriën n°. V en IX.²⁾

Bact. N°. V, blz. 23.

Groei op vleeschagar met 1 % pepton, 0,1 % K_2HPO_4 bij 25°: kol. 3 mm diam., vlak, glinsterend, doorschijnend fluoresceerend met onaangename reuk. Optimum bij pH 6,5.

Op vleeschagar zonder pepton is de groei langzamer: vegetatieve cellen zijn staafjes met ronde uiteinden, 1,5—2 μ lang, 0,5 μ breed, beweeglijk, zonder sporen, Gramm negatief, aerobe, echter wel in staat methyleenblauw te reduceeren in melk.

¹⁾ Door CLARK en FLY, (*Plant Physiol.*, 8, blz. 157, 1933 en *SoilSc.*, 31, blz. 299, 1931) was eveneens geconstateerd dat bij hun proeven met *Lemna* de plantjes bij afwezigheid van micro-organismen met minder Mn gezond bleven dan in tegenwoordigheid ervan.

²⁾ Hierbij werd gevolgd de „Manual of Methods for the pure culture study of bacteria van de Soc. of American Bacteriologists.

Vervloeit de gelatine, en groeit daarop in de vorm van witte troebele kolonies, die vrijwel niet fluoresceeren.

Op glucose vleeschagar gaat eveneens het vermogen te fluoresceeren snel verloren.

Op zetmeel agar, vlak onder de kolonies, aantasting van het zetmeel, echter geen diffusie der diastase tot ver buiten de kolonies.

In vleeschbouillon goede groei, sterke ammoniakvorming, fluorescentie.

In vleeschbouillon glucose goede groei, sterke zuurvorming, geen gas.

Idem lactose goede groei, geen zuur of gasvorming evenals in saccharose bouillon.

Salpeterbouillon geen nitriet of gasvorming, iets ammoniak.

Melk wordt alcalisch, gepeptoniseerd, niet gestremd.

Op aardappel bruin, glinsterend slijmig.

In pepton water behoorlijke groei, geen H_2S , geen indol.

De bacterie behoort tot de *Bact. Fluorescens liquefaciens* groep en werd herhaaldelijk geïsoleerd uit de wortels van haverzieke planten.

Bact. N°. IX.

Op vleeschagar-pepton kol. 1—1,5 mm goede groei, kol. eenigszins kegelvormig, met vlakke rand en doorschijnend, glinsterend, rond en bruin-geel van kleur. Slijmerige consistentie. Zeer onaangename mestgeur, optimum pH omstreeks 6,5 temp. 25—30°. Beweeglijk in peptonwater.

Op vleeschagar zonder pepton langzamere groei; vegetative cellen korte staafjes met ronde uiteinden 1—1,5 μ lang, 0,5 μ dik. Sporen afwezig. Streng aerobe. Gramm negatief. Reduceert methyleenblauw in melk. Vervloeit gelatine niet, en groeit daarop met kleine bruingele ronde kolonies, met vlakke rand.

Op zetmeel agar wordt iets diastase gevormd, echter alleen vlak onder de kolonies.

In vleeschbouillon goede groei, geen NH_3 vorming, vormt zich een vlokkig sediment op den bodem.

In glucosebouillon goede groei, geen gas, wel zuur, pH daalt van 7,0 tot 4,1.

In lactosebouillon idem, pH daalt tot 4,8.

In salpeterbouillon goede groei, geen gas, sterke nitriet en NH_3 vorming.

In lakmoesmelk sterke zuurvorming, stremming, geen peptonisatie.

Op aardappel goede groei, slijmerig geel, overgaande in sepiabruin.

In 1 % peptonwater wordt H_2S en indol gevormd.

In gelatine steek slechts geringe groei in de diepte.

Geïsoleerd uit wortels van haverzieke planten. In combinatie met de vorige bacterie gebracht in de cultuur vloeistof van een overigens steriele Mn arme plant ontstonden de typische haverzieke verschijnselen.

3. *Aseptische cultures* (germisan).

Wanneer de hierboven vermelde conclusies juist zijn, ligt de vraag voor de hand of het niet mogelijk is om het optreden der symptomen van de Veenkoloniale Haverziekte in Mn arme cultures te voorkomen, door maatregelen te nemen die de ontwikkeling van microorganismen tegengaan of tot een minimum beperken.

Hiervoor zijn in hoofdzaak twee mogelijkheden, nl. aan het cultuurmedium bactericide stoffen toe te voegen of wel de temperatuur van het wortelstelsel

zoo laag te houden, dat de bacteriën zich niet of slechts langzaam ontwikkelen¹⁾.

Een poging om langs oligodynamischen weg het gestelde doel te bereiken door aan de vloeistof een hoeveelheid katadyne-kwarts met 10 % zilver toe te voegen, mislukte. Het zilver dat in oplossing gaat wordt door de wortels geadsorbeerd en onwerkzaam gemaakt, terwijl de nalevering van Ag-ionen niet snel genoeg geschiedt om de vloeistof steriel te houden. Bovendien ontwikkelen de planten zich slecht tengevolge van zilver vergiftiging.

Lage temperatuur. De volgende waarneming geeft een aanwijzing dat men het optreden der ziekteverschijnselen belangrijk kan vertragen door de temperatuur van het wortelstelsel laag te houden.

In de koude kas werd op 14 November een tablet, gevuld met sterk haverzieke grond bezaaid met haver. Tegelijk werd een tweede tablet, gevuld met gezonde grond bezaaid. De planten kwamen geregeld op en werden gedurende de maanden Januari en Februari 6—8 uur per dag belicht met een Philips-Neonlamp (500 watt) voor kasbelichting. De grondtemperatuur schommelde tusschen 5 en 9 ° C. en werd door middel van electrische verwarmingskabels op temperatuur gehouden.

De lucht in de kas werd eenigermate verwarmd, zoodat een gemiddelde temperatuur van 10—15° C. overdag bereikt werd. Uit den aard der zaak groeiden de planten slechts langzaam, doch zij zagen er overigens gezond uit. Op 11 Februari vertoonde geen der planten ook maar de geringste ziekteverschijnselen en waren de planten op de zieke grond minstens twee maal zoo groot als die welke op dezelfde grond in den zomer de eerste ziekteverschijnselen vertoonden (hetgeen meestal na 4—6 weken het geval is).

Wel zijn de planten op de gezonde grond aanmerkelijk grooter en uit de analyses blijkt dat deze een 20-maal grootere hoeveelheid mangaan bevatten op dit tijdstip.

Eenige weken later, als de temperatuur in den grond boven 10° stijgt en vooral na de eerste warme dagen in Maart worden de planten snel zeer ziek; den 16den Maart wordt de proef afgebroken en nogmaals een gemiddeld monster van de planten op Mn onderzocht.

TABEL X.

Grondsoort.	Dr. gew. 10 planten op 11 Febr. (in g).	Mg Mn/kg droge stof.	Stand planten op 11 Februari.	Dr. gew. 10 planten op 16 Maart (in g).	Mg Mn/kg droge stof.	Stand planten op 16 Maart.
I. Zeer zieke hu- meuze zand- grond.	1,27	14,1	Gezond blad smal chloro- tisch, niet haverziek.	2,40	10,7	Zeer ziek, tal- looze gevlekte en geknakte bladeren.
II. Gezonde zavelgrond.	3,95	333	Planten gezond, breede groene bladeren.	6,66	226	Als op 11 Febr.

¹⁾ De mogelijkheid hiervan is door JONES en TISDALE aangetoond. Zij constateerden dat de vorming van wortelknolletjes sterk belemmerd wordt wanneer men het wortelstelsel der leguminosen bij lage temperatuur houdt terwijl de bladeren zich bij normale temperatuur ontwikkelen. *Cecit. n. FRED. Root-Nodule Bact. Madison 1932, biz. 196—7.*

Uit de analyse van de planten op 11 Februari blijkt dat zij zeer weinig Mn bevatten en toch nog geheel gezond zijn, terwijl enkele weken later, als de temperatuur gestegen is, de ziekte in alle hevigheid optreedt.

Deze waarneming sluit zich aan bij analoge waarnemingen in het veld; men kan in de praktijk herhaaldelijk constateeren dat in het voorjaar een perceel haver oogenschijnlijk goed staat, terwijl direct na de eerste warme dagen in Mei de ziekte plotseling in hevige mate uitbreekt. Deze afhankelijkheid van de temperatuur van het optreden der ziekte laat zich m.i. op ongedwongen wijze verklaren door de aanname dat zoolang de temperatuur in den grond laag is, de micro-organismen het wortelstelsel niet of slechts langzaam aantasten, terwijl ook de Mn bacteriën niet of minder actief zijn.

Wordt de bodemtemperatuur voor de ontwikkeling van deze bacteriën gunstig, dan kunnen ze het wortelstelsel aantasten en het weinige Mn dat er nog is in onoplosbare vorm overvoeren. ¹⁾

Germisan-cultures. Een andere mogelijkheid om de ontwikkeling der micro-organismen te beperken bestaat in het toevoegen van chemische stoffen, die echter voor de plant onschadelijk moeten zijn. Bij een oriënteerende proef bleek dat malachietgroen, methylviolet en uspulun niet voldeden, daar ook bij zwakke concentratie de planten te gronde gingen. Germisan daarentegen gaf hoopvoller resultaten: bij een concentratie van 0,001 — 0,002 % bleven de planten gezond terwijl de wortelstelsels veel minder werden aangetast.

De gebruikte voedingsoplossing verschilde eenigszins van de vorige en bevatte 0,5 gr KNO_3 , 0,5 gr NH_4NO_3 , 0,15 gr MgSO_4 7 aq., 0,2 gr CaSO_4 , 0,75 cc FeCl_3 -citraat 2,5 %, 0,5 gr KH_2PO_4 , 0,5 cc B. Cu en J standaardoplossing, met 1,1 cc 10 % KOH gebracht op pH 6,4.

Een eerste oriënteerende proef werd ingezet met germisan concentraties van 0, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005, 0,001 en 0,0005 %. Na 6 weken bedroeg de verhouding van de gemiddelde lengten der planten, vergeleken met de onbehandelde (= 100 gesteld) resp. 100 : 12 : 29 : 57 : 104 : 121 : 95.

De concentraties boven 0,005 % bleken dus giftig voor de plant; bij een concentratie van 0,001 % was een gunstige werking te constateeren, de planten waren aanmerkelijk forscher ontwikkeld dan de blanco en waren vrij van ziekteverschijnselen. Daar de proef laat in het seizoen was aangezet, en de mogelijkheid bestond dat het effect te danken was aan een stimuleerende werking van het kwik uit het germisan, werd het experiment herhaald ²⁾.

In geparaffineerde glazen cylinders van 2,5 l inhoud, gevuld met de hierboven genoemde cultuurvloeistof kwamen 6 haverplanten. Bij den aanvang der proef werd het germisan toegevoegd in concentraties van resp. 0, 0,001 en 0,002 % terwijl aan een der cultures ter controle 2 mg Mn als MnSO_4 werd toegevoegd.

¹⁾ Geheel in overeenstemming hiermede is de waarneming van ZIMMERLY Va. *Truck Exp. St. St. Bull.*, 57, 1926, dat de „manganese deficiency chlorosis of spinach never develops in the fall and wintercrops“.

²⁾ Ten overvloede zij vermeld dat het germisan zelf op de aanwezigheid van mangaan onderzocht werd en dat dit zelfs in sporen niet aanwezig bleek te zijn.

Reeds spoedig bleek, dat de blanco bij de germisan en Mn-cultures achterbleef, typische haverziekteverschijnselen traden reeds na eenige weken op en 2 maanden na den aanvang der proef was de toestand zooals op de foto (n°. 6) is aangegeven. Het wortelstelsel van de Mn-arme planten zonder germisan was zeer sterk aangetast, bruin, terwijl dat van de cultuur met 0,001 % germisan aanmerkelijk grooter en vrijwel niet aangetast was. De cultuur met 0,002 % germisan zag er het beste uit, alhoewel bij de opbrengstbepaling toch bleek, dat er minder groene massa gevormd was dan in de cultuur met 0,001 %; vooral het wortelstelsel onderscheidde zich door een veel betere ontwikkeling en doordat het in het geheel niet was aangetast.

De Mn-cultuur zag er gezond uit, toch bleek dat de toegevoegde hoeveelheid Mn onvoldoende was om een volkomen normalen groei toe te staan. Het wortelstelsel dezer planten was, alhoewel zeer blank en niet aangetast, belangrijk kleiner als dat van de planten met 0,002 % germisan, terwijl de bladomvang eveneens geringer was.

Hieronder volgen de resultaten van een tweetal proeven, waarvan de eene afgebroken werd op het oogenblik, dat de zaden gevormd waren, terwijl de andere werd beëindigd zoodra de verschillen duidelijk aan het licht waren getreden.

TABEL XI.

1ste Cultuur, 6 planten 21 Mei— 23 Augustus.	Germisan toegevoegd.	Dr. gew. stroo (van 6 planten). (in g).	Dr. gew. korrel (van 6 planten). (in g).	Dr. gew. wortel (van 6 planten). (in g).	Ziektebeeld.
I. Controle .	0 %	7,0	1,4	1,0	Alle planten zeer ziek met typische blad-vlekken en sterk aangetaste wortels.
II.	0,001 %	12,2	7,5	2,0	Alle planten volkomen gezond.
III.	0,002 %	10,5	7,9	3,0	Idem.
IV.	0 %, + 2 mg Mn als MnSO ₄	9,1	1,8	2,2	Planten gezond, later in de aar.
2de Cultuur, 6 Juli— 23 Augustus.		Drooggewicht van 6 planten (in hun geheel).			
V. Controle .	0 %		4,2		Alle planten zeer ziek.
VI.	0,001 %		7,7		Planten gezond behoudens enkele bladeren, die een vlekje vertoonden.
VII.	0 % + 1,5 mg Mn.		17,7		Als VI.

Abb. 6. INVLOED VAN EEN DESINFECTANS OP DE
ONTWIKKELING VAN HAYER IN NIET STERIELE
WATERCULTUUR.



- N°. 3. Oorspronkelijke cultuurvloeistof zonder Mn.
N°. 1. Dezelfde oplossing zonder Mn met 0,001 % Germisan.
N°. 2. Idem, met 0,002 % Germisan.
N°. 4. Idem, met 2 mg Mn, zonder Germisan.

De opbrengst van de eerste 0,001 % germisancultuur was het hoogst en belangrijk meer dan de blanco. Een opmerkelijk onderscheid tusschen de Mn-cultuur en de germisancultures was, dat de laatste sterker waren uitgestoeld en een grooter korrelopbrengst vertoonden, niettegenstaande de Mn-cultuur een volkomen gezonden indruk maakte.

Dat echter de cultuur met Mn slechts 1,8 g korrel opbrengt tegen die met germisan 7,5 en 7,9, is hoogstwaarschijnlijk te wijten aan het feit, dat de planten met Mn aanmerkelijk later in de aar kwamen dan die met germisan. Een dergelijke vertragende werking van Mn op de aarvorming is ook bij rijst geconstateerd ¹⁾).

Zeër opmerkelijk zijn de verschillen in de wortelstelsels: het wortelgewicht is door de germisanbehandeling vertwee- en zelfs verdrievoudigd, hetgeen ook duidelijk op de foto te zien is.

Dit wijst er op, dat de gunstige werking van het germisan in de eerste plaats gezocht zal moeten worden in de beschermende werking, die het op het wortelstelsel uitoefent, dat zich, ondanks de Mn-armoede, overvloedig kan ontwikkelen. In de Mn-arme cultures zonder germisan is het wortelstelsel klein en voor een groot deel verrot, terwijl de planten reeds spoedig haverziek werden.

In dit verband moet ik er op wijzen, dat de toegevoegde hoeveelheid germisan niet voldoende is om de vloeistof volledig steriel te maken; in de cultuurvloeistof waren nog wel degelijk bacteriën aanwezig, zij het ook in geringen getale.

Wij zien hier, dat maatregelen, die de microbiologische aantasting van het wortelstelsel tegengaan, zooals in het onderhavige geval de toevoeging van een mild desinfectans als germisan, het optreden der ziekteverschijnselen beperken en een goede plantengroei mogelijk maken bij concentraties van Mn, die onder normale omstandigheden van infectie geheel onvoldoende zouden zijn.

In dit verband is het duidelijk, dat men uit het feit, dat zoowel toediening van Mn als van germisan de planten weer gezond maakt, niet mag besluiten, dat zij dezelfde rol in de plant vervullen.

Het onderzoek zou dan ook niet volledig geweest zijn, indien niet positief was aangetoond, dat geen Hg-ionen uit het germisan in de plant waren overgegaan en daar wellicht de rol van het Mn hadden overgenomen.

Kwikk bepaling in het plantenmateriaal. ²⁾ 1 gr. droog materiaal werd in een mengsel van 20 cc HCl 25 % en 20 cc verzadigde KClO₃ oplossing nat verascht. De massa werd

¹⁾ Pers. mededeeling van Dr. ASHUTOSH SEN, *University of Dacca, India*.

²⁾ Zie o.a. ABDERHALDEN, *Handb. Biol. Arb. Methoden*. Abt. I, dl. 3, blz. 804—808. 1921. A. STOCK, *Zeitschr. Angew. Chemie.*, 39, blz. 461—466 en 791—792. 1926.

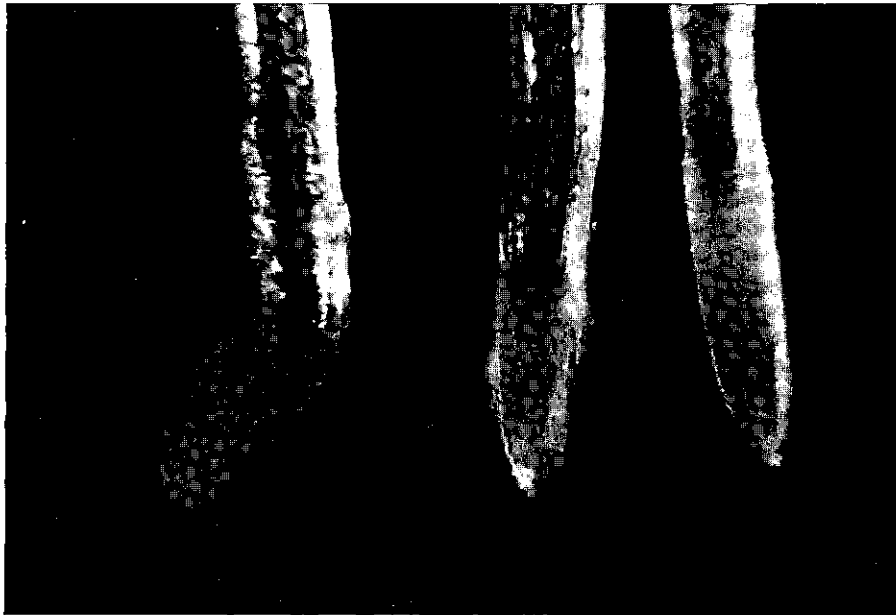
op een waterbad verhit en af en toe iets $KClO_3$ erbij gedruppeld tot alles gedestruëerd was. Na filtreren, uitwasschen van het filter, werd het gevormde Cl_2 met CO_2 verdreven, het zuur met NH_4OH tot zwak zuur afgestompt en het kwik op een blank koperdraadje neergeslagen.

In een capillair werd het kwik eraf gesublimeerd, door inleiden van Cl_2 in $HgCl_2$ overgevoerd, in 5 cc H_2O opgenomen; hierin werd toegevoegd 1 cc verz. Na Acetaat opl. en 0,1 cc verz. alcoholische diphenylcarbazon oplossing. Na 1 uur werd de ontstane kleur vergeleken met die van standaard oplossingen die op dezelfde wijze bereid waren, uitgaande van afgemeten hoeveelheden $HgCl_2$.

Bij zeer zwakke reacties kan men de kleurstof met chloroform uitschudden. Met deze methode kan men in plantenmateriaal 0,01 mg Hg nog duidelijk aantoonen.

Het bleek dat de planten geen aantoonbare hoeveelheid Hg bevatten en de werking van het germisan dus uitsluitend moest worden toegeschreven aan de beschuttende werking op het wortelstelsel.

ABD. 7. WORTELTOPPEN VAN NIET STERIELE MANGAAN-ARME HAVERPLANTEN,
IN OPEENVOLGENDE STADIA VAN AANTASTING.



(Men lette op de insnoering ter hoogte van de meristematische zone van de eerste wortel.)

ABD. 8. EEN TWEETAL WORTELHAREN MET BACTERIEN-KOLONIEN BEZET, AFKOMSTIG
UIT EEN MET ZIEKE GROND GEINFECTEERDE ZANDCULTUUR.



HOOFDSTUK II.

HET WORTELSTELSEL VAN MANGAAN-ARME HAVERPLANTEN.

De meeste onderzoekers hebben zich bij de beschrijving van de verschijnselen der haverziekte beperkt tot de bovenaardsche deelen. Behoudens een enkele mededeeling van een slecht ontwikkeld wortelstelsel, o. a. bij MC HARGUE ¹⁾, vindt men over den invloed van Mn-gebrek op het wortelstelsel geen bijzonderheden.

Bij een der infectieproeven, waarbij aan steriel kwartszand 10 % van een zieken grond was toegevoegd, viel het op, dat op het oogenblik dat de 3 weken oude plantjes ziek werden, van tallooze wortels het worteltopje aangetast was. Dit uitte zich in een glazig uitzien der worteltoppen, wat zich allengs over een grooter deel van den wortel uitstreckte, terwijl vaak het worteltopje geel of bruin verkleurd was. In een verder stadium was het worteltopje in meerdere gevallen verdwenen en waren de wortels zelve voor een deel weggerot. Deze verschijnselen doen zich niet alleen voor in zand- of watercultures, doch ook in het veld bleken de wortelstelsels van haverzieke planten in een slechten toestand te verkeerren, terwijl ook bij zieke bieten, waarvan geconstateerd was dat zij aan Mn-gebrek leden, het wortelstelsel tallooze verrotte worteltoppen vertoonde.

In fig. 7 ziet men een afbeelding van enkele worteltoppen in opeenvolgende stadia van aantasting; opmerkelijk is, dat in een aantal gevallen juist op de grens tusschen meristeem en strekkingszone een bruinzwart vlekje optreedt, terwijl op die plaats tevens een insnoering blijkt te zijn ontstaan, die er op wijst, dat de normale strekking op de een of andere wijze geremd is geworden.

Bij microscopische waarneming (fig. 9) ziet men, dat bij het begin der aantasting het wortelmutsje en de bijbehorende afgestootten cellen van de Mn-arme planten door tallooze micro-organismen omgeven en doorgroeid zijn, terwijl van de even oude Mn houdende gezonde watercultuur het wortel topje en het mutsje geheel intact zijn.

Vermeldenswaard is ook, dat herhaaldelijk geconstateerd werd, dat in Mn-arme cultures de wortelharen door tallooze bacteriën omgeven zijn, terwijl men soms rond deze wortelharen zeer typische bacteriënkolonien kan aantreffen, zooals in fig. 8 te zien is.

De tallooze vaak schitterend ontwikkelde wortelharen in Mn-arme steriele cultures ontbreken geheel in de niet steriele en verdwijnen meestal reeds enkele weken nadat de cultures kunstmatig geïnfecteerd zijn.

¹⁾ L. c., blz. 1597.

Het afsterven der worteltoppen is aanleiding, dat de plant nieuwe wortels uitzendt, die echter na korteren of langeren tijd eveneens aangetast worden. Het wortelstelsel van de Mn-arme haverplanten blijft zoowel in den grond als in watercultures klein en dit is tevens een oorzaak, die het optreden der ziekte verergert. Immers hoe kleiner het wortelstelsel, des te kleiner is ook het volume grond, waarmede de wortels in aanraking zijn, en des te kleiner is de hoeveelheid Mn, die zij in dit toch al Mn-arme milieu kunnen opnemen.

In fig. 10, rechts, ziet men de wortelstelsels van een 25-tal haverplanten, gekweekt in een zelfde cultuurvat (watercultuur) bij een pH van 6,0 zonder Mn-toevoeging; daarnaast ziet men het wortelstelsel van een even oude volkomen analoge cultuur, waaraan 1 : 500 000 Mn was toegevoegd.

Bij een Mn-gehalte als dat der door ons gebruikte voedingsoplossingen worden de planten zonder speciale voorzorgen steeds sterk haverziek; het Mn-gehalte is echter niet zoo klein, dat de planten in het geheel niet kunnen groeien en onder verschijnselen van algeheele weefselnecrose na eenige weken te gronde gaan.

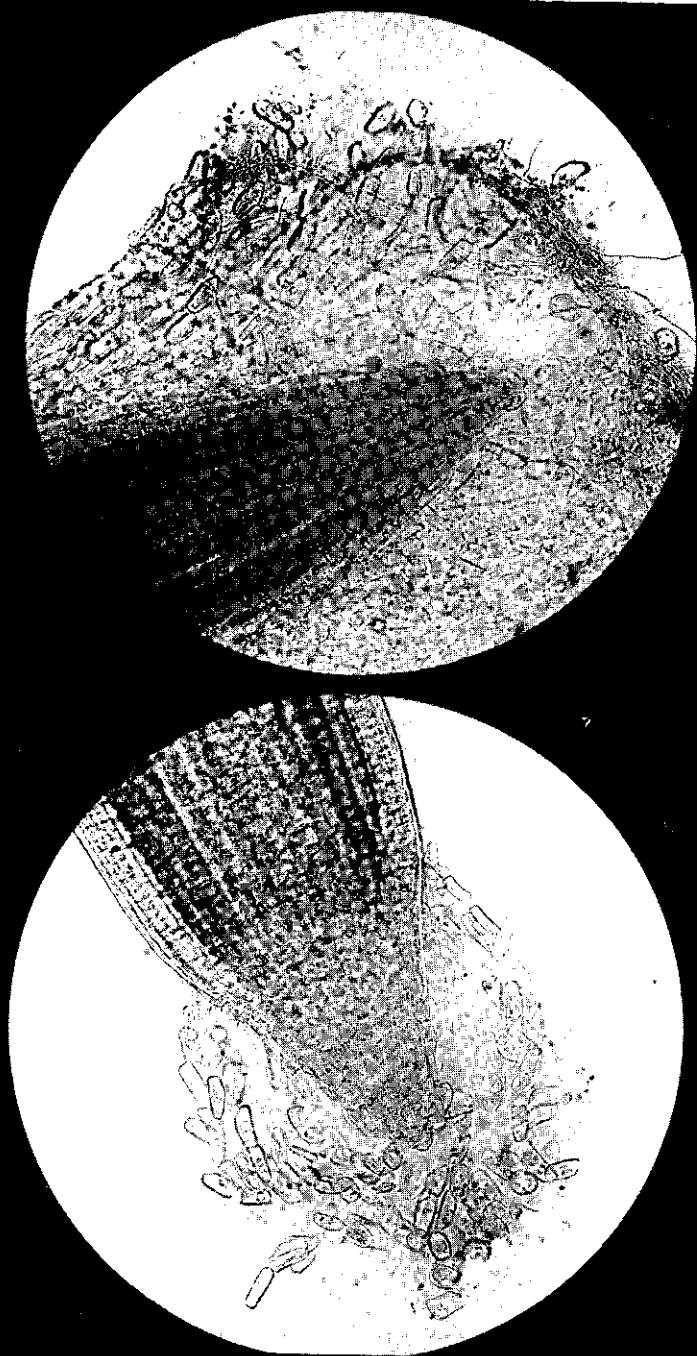
Onder deze omstandigheden is het nimmer door mij waargenomen, dat de typische bladvlekken optraden zoolang het wortelstelsel nog volledig intact was; eerst nadat één of meer wortels aangetast zijn, wat vooral in geïnfecteerde, aanvankelijk steriele, watercultures zeer duidelijk te constateeren is, treden ook de typische haverziekteverschijnselen op. *Deze waarneming zou er toe kunnen leiden de haverziekte te beschouwen als een combinatie van Mn-gebrek en wortelrot*; bij matig Mn-gebrek met uitsluiting van microorganismen blijven de planten en de wortels gezond, alhoewel klein. Opmerkelijk is dat wanneer bij overvloed van Mn een aantal worteltoppen verrotten, wat in watercultures kan voorkomen, de planten volkomen gezond blijven.

Ten einde tot een verklaring van de hier geconstateerde verschijnselen te komen, was het wenschelijk na te gaan in hoeverre men langs bacteriologische of biochemische weg verschillen in de wortels van zieke en gezonde planten kon aantonen.

Het aantal bacteriën in de worteltoppen van Mn-arme planten.

Ten einde quantitatief een indruk te krijgen van het voorkomen van bacteriën in de worteltoppen van haverzieke planten, werd als volgt te werk gegaan. Op een steriel preparaatglas werd met een mesje een lengte van precies 2 cm van een worteluiteinde afgesneden. Dit stukje werd in een mortiertje met een weinig infusoriënaarde en iets water fijngevreven en daarna met de rest van de 100 cc water in een kolfje gespoeld (ingrediënten,

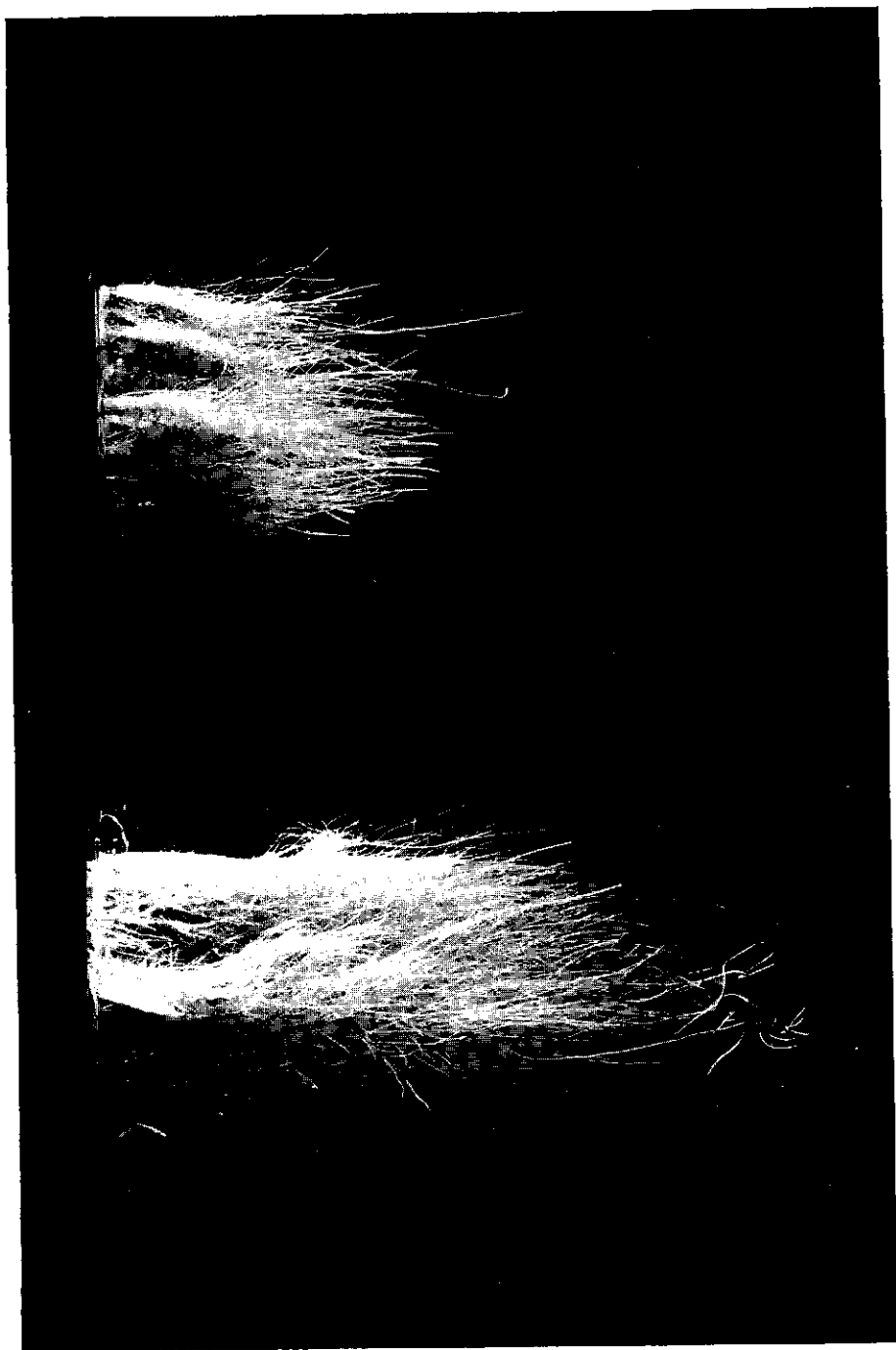
Abb. 9. WORTELTOPPEN MET WORTELMUTSJE AFKOMSTIG UIT EVEN OUDE WATERCULTURES VAN HAYER.



Links: Mangenabouende cultuur.

Rechts: Niet steriele mangenabouende cultuur.

AB. 10. WORTELSTELSELS VAN 25 HAYERPLANTEN IN WATERCULTUUR.



Links : Met 1 : 500 000 mangaan.

Rechts : Zonder toevoeging van mangaan.

water, etc. steriel). Hiervan werd een 10-voudige en een 100-voudige verdunning gemaakt en van deze verdunningen werd 1 cc gemengd met een voedingsoplossing, welke bestond uit verdunde vleeschbouillon (2 : 1 water), 0,5 % glucose, 0,05 % K_2HPO_4 en 2 % agar.

Na 3 dagen bij 25° gestaan te hebben, werden de koloniën geteld en vergeleken met het aantal koloniën, opgekomen uit de wortels van even oude planten, welke in dezelfde voedingsoplossing gekweekt waren, doch nu met toevoeging van 1 : 500 000 Mn.

TABEL XII.

	Totale aantal bacteriën in een 2 cm lang worteluiteinde van	
	Mn arme haverplanten.	Mn rijke haverplanten (watercultuur 3 weken oud).
1ste worteltje	290 000	72 000
2de „	332 000	26 000
3de „	98 000	50 000
4de „	147 000	30 000
Gemiddeld . .	217 000	44 500
Idem, van dezelfde watercultuur, na 9 weken:		
1ste worteltje	1 640 000	41 000
2de „	1 300 000	52 000
3de „	875 000	200 000
4de „	1 690 000	49 000
5de „	1 250 000	1 240 000
Gemiddeld . .	1 351 000	316 000

In de eerste plaats zien wij, dat op twee verschillende tijdstippen de worteltoppen van de Mn-arme planten vrijwel zonder uitzondering aanzienlijk meer bacteriën bevatten dan die van de Mn-rijke planten. Dat na 3 weken minder bacteriën gevonden worden dan na 9 weken, komt doordat in het laatste geval de aantasting verder voortgeschreden is. Het is duidelijk dat een van de worteltjes van de gezonde plant ook aangetast is geweest (n°. 5), wat bij oudere planten gemakkelijk voor kan komen. Laat men deze buiten beschouwing, dan zou het gemiddelde voor de gezonde planten geweest zijn 85,500, alzoo nog geen vijftiende van dat der Mn-arme planten. Ook is het aantal bacteriën in de meeste gevallen bij de Mn-arme cultuur in de tusschen beide bepalingen gelegen tijd van 6 weken beduidend sterker toegenomen dan bij de Mn-rijke cultuur.

Het oxydase-gehalte van de wortels.

Door ABERSON en EVERSMA¹⁾ is verband gezocht tusschen het optreden van de haverziekte en de hoeveelheid oxydase in de wortels. Gezien het reeds door BERTRAND²⁾ aangetoonde verband tusschen Mn en oxydase-werking, lijkt het à priori niet onmogelijk, dat er in de Mn-arme planten minder oxydase voorkomt dan in de Mn-rijke. Het is echter de vraag of men naar het voorkomen dezer oxydase moet zoeken in de wortels of in de bladeren, of wel in beide.

Hoewel in een aantal door beide genoemde onderzoekers aangehaalde gevallen men wel den indruk krijgt alsof de haverziekte gepaard zou gaan met een laag oxydasegehalte der wortels, komt het mij toch voor, dat de algemeene conclusie, dat de genezende werking van het mangaan parallel loopt met een verhooging van het oxydasegehalte der wortels, in genen dele door het cijfermateriaal gedekt wordt.

Beschouwt men tabel V op blz. 282 nader en laat men de twijfelachtige gevallen buiten beschouwing, dan blijkt dat het oxydase getal van de zieke planten gemiddeld 0,28 verschilt van dat der gezonde, terwijl de middelbare fout van alle bepalingen onderling 0,51 bedraagt. Het leek mij daarom gewenscht nog eens na te gaan of er tusschen het al of niet ziek zijn der planten en het oxydasegehalte der wortels een aantoonbaar verband bestond.

Voor de bepaling werd de indophenolmethode van VERNON gebruikt, welke eveneens door ABERSON c. s. werd aangewend. De methode werd voor ons doel in zooverre gewijzigd, dat het oxydasegehalte betrokken werd op een gram droog wortelmateriaal en uitgedrukt werd in milligrammen gevormd indophenol.

Methodiek oxydasebepaling.

Van de te onderzoeken afgespoelde, versche wortels werd, nadat ze voorzichtig tusschen filtreerpapier waren afgedroogd, 100 à 200 mg afgewogen, terwijl voor de bepaling van het drooggewicht een evengroote hoeveelheid werd genomen.

De wortels werden in een mortiertje met een weinig droog kwartzand fijngevreven en daarna 1 cc van de reactievloeistof toegevoegd. Deze bestond uit een mengsel van 1 cc 1 % α naphтол + 1 cc 1 % parafenylenendiamine-hydrochl. + 1 cc 1½ % Na_2CO_3 oplossing, aangevuld tot 10 cc.

Het mortiertje werd afgedekt en gedurende precies een uur aan zich zelf overgelaten. Daarna werd alles met alcohol 96 % in een klein maatkolfje van 10 cc gespoeld, aangevuld en na digereeren gefiltreerd. De ontstane kleur werd in een colorimeter vergeleken met die eener standaardoplossing.

¹⁾ Landbk. Tijdschrift, 39, blz. 274 e.v. 1927.

²⁾ Compt. Rend. Acad. Sc., Paris, T. 124, blz. 1332 en 1355. 1927.

Deze bestond uit een 0,01 %-ige oplossing van indophenolblauw, hetwelk was verkregen door afweging van de zuivere kleurstof. Deze was bereid door oxydatie van de bovenstaande oplossing met H_2O_2 , waaruit het indophenol zich gemakkelijk laat afscheiden en drogen.

De gevonden waarden werden met behulp van de verkregen drooggewichten na aftrek van de blanco bepaling, omgerekend in mg indophenol, ontstaan door de oxydase uit 1 g (droge) wortels, welke waarde het oxydase-getal genoemd werd.

De onderzochte planten waren 45 dagen oud en, voor zoover het de zieke planten betreft, afkomstig van een humeuzen zandgrond, die sinds jaren zeer haverziek was.

TABEL XIII.

Afgewogen mg.	Drooggewicht. %	Geproduceerd mg indophenol.	Oxydasegetal. mg/g droge stof.
I. Wortels van haverzieke planten.			
170	7,2	0,44	36
96	7,2	0,68	98
167	7,6	0,88	71
142	5,6	0,80	100
149	7,2	0,70	65
108	8,1	0,64	74
98	10,2	0,56	56
93	11,5	0,46	43
124	11,1	0,44	32
92	14,2	0,74	57
89	16,2	0,74	53
			Gemiddeld 62
II. Wortels van gezonde planten.			
231	8,9	0,80	38
295	10,8	0,60	18
245	4,3	0,45	39
202	10,7	0,52	24
127	46,5	1,2	20
133	42,6	1,0	17
			Gemiddeld 26

Uit deze waarden krijgt men den indruk, dat de wortels van de haverzieke planten meer oxydase bevatten dan die der gezonde planten, en wel ongeveer $2\frac{1}{2}$ maal zooveel. Voor een definitieve conclusie zou het wenschelijk zijn, dat een grooter aantal planten van verschillende ouderdom en herkomst met elkaar vergeleken werd. In ieder geval is hiermede wel aangetoond, dat de wortels van gezonde haverplanten niet in alle gevallen meer oxydase bevatten dan die der zieke planten.

Dat het celsap van zieke planten vaak een *grooter* oxydasegehalte bezit dan dat der gezonde planten is door verschillende onderzoekers aangetoond. Zoo vond WOODS ¹⁾, dat de bladeren van mozaïekzieke tabak meer oxydase bevatten dan die van gezonde tabak; BUNZEL ²⁾ toonde aan, dat het sap van suikerbieten, die leden aan zgn. „curley top” 2 à 3 maal zooveel oxydase bevatten dan van normale bieten, terwijl een abnormaal hoog oxydasegehalte voorkwam bij bieten, die in groei achterbleven. Zolang men over de rol van de oxydase in de plant niet nader is ingelicht, heeft het m. i. geen nut het onderzoek in deze richting voort te zetten, te meer daar onze onderzoekingen betreffende de rol van het Mn bij de koolzuur-assimilatie het waarschijnlijk maken, dat men het zwaartepunt van de mangaanwerking in de bladeren moet zoeken.

Het katalasegehalte der wortels.

Het lag in dit verband voor de hand te onderzoeken in hoeverre het katalasegehalte der wortels onder invloed van Mn-gebrek een wijziging zou ondergaan, te meer daar verschillende onderzoekers de werkzaamheid der katalase in nauw verband brengen met den algemeenen toestand, waarin de plant verkeert. Opmerkelijk is bijv., dat EZEL en CRIST ³⁾ bij hun studie over den invloed van voedingscondities op het katalasegehalte van radijs, sla en spinazie vonden, dat het katalasegehalte steeg bij verslechtering der voedingscondities.

Methodiek der katalasebepaling.

Gezien het feit, dat de katalase vrij spoedig in activiteit achteruitgaat wanneer zij uit de cellen is vrijgemaakt, werden alle bepalingen nauwkeurig in een zelfde tijdsverloop verricht. 5 Worteltoppen, ter lengte van 1,5—2 cm. worden afgewassen, snel tusschen filtreerpapier afgedroogd en gewogen. In een mortiertje, waarin 2 cc water, worden de wortels gedurende 1 minuut zonder zand fijngevreven en met 2 cc water in het betreffende erlenmeijertje (inhoud 15 cc) van de thermobarometer van BARCROFT ⁴⁾ gespoeld.

Nadat het erlenmeijertje met de capillaire manometer verbonden is, wordt het een oogenblik in het waterbad geplaatst tot de vloeistof er binnen in op temperatuur is gekomen. Nu wordt snel 2 cc van een 3 %-ige H_2O_2 oplossing toegevoegd, welke oplossing geneutraliseerd is en met een weinig Na_2HPO_4 gebufferd, ten einde te voorkomen dat de katalase onder invloed van de in het celsap voorkomende zuren geschaad zou worden.

Het is noodzakelijk de bepalingen alle bij dezelfde temperatuur te doen (20° C), daar de temperatuurcoëfficiënt van de katalase groot is. 10 seconden na het invullen van de katalase wordt de kraan gesloten; vanaf het fijnmaken tot op dit tijdstip verlopen juist 6 minuten. De chronometer wordt nu op nul gezet en de stand van de vloeistof in de manometerbuis op geregelde tijden afgelezen.

¹⁾ U. S. Dept. of Agric. Bur. of Plant Industry Bull., 18. 1902.

²⁾ Idem, 277. 1913.

³⁾ Agric. Experiment Station. Michigan. Bull., 78. 1927.

⁴⁾ Zie ABDERHALDEN, Handb. biol. Arb. Methoden. Abt. IV, Tl. 10, blz. 213 en 262. 1926.

De waarden zijn omgerekend op de hoeveelheid zuurstof van 760 mm en 20° en uitgedrukt in cm³, welke door 1 g verse wortelsubstantie in 20 minuten zijn vrijgemaakt.

De planten waren afkomstig van watercultures met en zonder Mn, en waren 7—8 weken oud; in de eerste plaats werden *gezonde* wortels van zieke en gezonde planten met elkaar vergeleken. Daarnaast werden enkele bepalingen verricht met aangetaste worteltoppen, om te zien of deze aantasting op de katalase-activiteit van invloed was.

TABEL XIV.

Toestand plantenmateriaal.	Mn.	pH.	Katalase getal cc O ₂ , gave toppen.	Meer in de haverzieke planten.	Katalase getal cc O ₂ , aangetaste toppen.
1a. Planten gezond, wortels goed ontwikkeld, gaaf.	aanw.	6,0	12,6 12,7		8,6
1b. Planten zeer haverziek, slecht ontwikkeld wortelstelsel, veel aangetaste toppen.	afw.	6,0	37,1	+ 195 %	60,3
2a. Planten gezond, iets chlorotisch, wortelstelsel goed ontwikkeld, enkele aangetaste toppen.	aanw.	7,8	42,0		150,3
2b. Planten zeer ziek, als 1b.	afw.	7,8	86,5	+ 106 %	110,0
3a. Planten gezond, wortels goed ontwikkeld en gaaf.	aanw.	7,8	28,8 25,0		
3b. Planten haverziek, wortels vrij goed ontwikkeld en matig aangetast.	afw.	7,8	22,0 23,1	— 16 %	
4a. Planten gezond, wortels goed ontwikkeld en gaaf.	aanw.	6,0	12,6 7,3 12,5 13,6 15,6		
4b. Planten haverziek, wortels tamelijk goed ontwikkeld.	afw.	6,0	30,6 38,3	+ 144 %	
5a. Planten gezond, zeer goed ontwikkeld wortelstelsel, gaaf.	aanw.	6,0	25,4 25,5		
5b. Planten juist haverziek, wortelstelsel vrij goed ont- wikkeld met enkele aangetaste toppen.	afw.	6,0	164,5 79,0	+ 395 %	

(De telkens bij elkaar behorende cultures, die volkomen met elkaar vergelijkbaar zijn, zijn *a* en *b* genoemd).

Op een enkele uitzondering na (3 a en b) bevatten de wortels van de Mn-arme zieke planten duidelijk meer katalase dan die der Mn-rijke gezonde cultures. Door gave wortels te nemen, is gepoogd den invloed van eventueel op en in de wortels aanwezige bacteriën zoo gering mogelijk te doen zijn. In 3 van 4 onderzochte gevallen bevatten aangetaste worteltoppen be-
duidend meer katalase dan de niet aangetaste, wat er op wijst, dat op de grootte van dit getal de microben een merkbaren invloed uit kunnen oefenen, en het aandeel, dat zij in het tot stand komen der reactie hebben, zeer belangrijk kan zijn.

Daar over den aard van het verband tusschen de werking van de katalase en de physiologische processen in de plant nog zeer weinig bekend is ¹⁾, werd met bovenstaande oriënteerende waarnemingen volstaan.

Het voorkomen van nitriet in de wortels.

Het feit, dat ook in het veld de wortels van haverzieke planten sterk door micro-organismen zijn aangetast, opent de mogelijkheid, dat het in den grond voorkomende nitraat door deze bacteriën gereduceerd wordt, waarbij de wortelsubstantie als C-bron dienst doet.

Door ABERSON ²⁾ is herhaaldelijk zoowel in als om de wortels van zieke planten nitriet aangetoond, terwijl ook in de bladeren somtijds nitriet is gevonden. De oorzaak hiervan werd gezocht in de aanwezigheid van een bepaalde bacterie, de *Bact. nitrosum*.

Methodiek nitrietbepaling.

Evenals bij de oxydasebepaling werd het nitriet gehalte van de wortels quantitatief bepaald; 0,1—0,2 g wortels werden met een weinig kwarszand en een cc water fijn-gewreven, op een filtertje gebracht en geleidelijk met 9 cc water geëxtraheerd. Bij het filtraat werd 2 cc Griess reagens gevoegd en na ½ uur staan werd de kleur in een colorimeter vergeleken met een standaardoplossing, die evenlang gestaan had en die 0,0002 mg KNO₂ per 100 cc bevatte. In een analoog monster wortels werd het drooggewicht bepaald.

Uit de cijfers in tabel XV krijgt men den indruk, dat sporen nitriet in de wortels van zieke zoowel als van gezonde planten voorkomen, doch dat de eerste ongeveer 2 maal zooveel bevatten dan de laatsten. De hoeveelheden zijn echter zoo gering, dat er van eenige schade voor de plant geen sprake kan zijn. Het voorkomen van aantoonbare hoeveelheden nitriet kan verschillende oorzaken hebben. Tal van bacteriën zijn nl. in staat om in tegenwoordigheid van organische stof nitraat te reduceeren. De in rotting verkeerende wortel-toppen van haverzieke planten bieden een voortreffelijk medium voor een dergelijke reductie; door mij is meerdere malen geconstateerd, dat bijv.

¹⁾ *Miller Plant physiology*, 1931, blz. 779 e.v.

²⁾ *L. c.*, blz. 92—93.

TABEL XV.

Afgewogen mg.	Drooggewicht mg.	Totale hoeveelheid nitriet μ g.	Mg nitriet 1000 g wortel.
I. Wortels van haverzieke planten.			
102	7,3	7,2	1,0
83	6,0	16,8	2,8
105	8,0	15,6	2,0
123	6,9	16,8	2,3
194	14,0	37,6	2,7
130	10,5	17,6	1,7
97	9,9	21,2	2,1
88	10,1	15,5	1,6
111	12,3	16,0	1,2
80	11,2	22,0	2,0
125	20,0	26,0	1,3
			Gemiddeld 1,9
II. Wortels van gezonde haverplanten.			
205	18,2	21,6	1,2
358	38,7	23,2	0,6
155	6,7	8,8	1,3
223	23,9	19,2	0,8
113	52,5	28,8	0,06
150	63,9	28,0	0,4
			Gemiddeld 0,8

de voedingsoplossing eener Mn-arme watercultuur nitriet bevatte, terwijl de analoge steriele cultuur, of die met mangaan, nitrietvrij waren. Dit is ongetwijfeld ook de oorzaak, dat door ABERSON ¹⁾ herhaaldelijk nitriet is gevonden in den grond vlak rond de wortels van zieke planten; m. i. heeft men hier niet te doen met een verschijnsel, dat in direct verband tot de ziekte staat, noch moet het worden toegeschreven aan de werkzaamheid van een enkele bepaalde bacteriënsoort.

Het is louter een begeleidend verschijnsel van het verrotten der aangetaste wortels in een nitraathoudend milieu, terwijl de optredende concentraties zoo gering zijn, dat de plant hiervan geen schade kan ondervinden.

Een andere mogelijkheid voor het voorkomen van aantoonbare hoeveelheden nitriet in planten ligt in het feit, dat NO_3' zoowel in de plant als door het perssap van plantendeelen tot NO_2' gereduceerd kan worden, om eerst daarna, na eventueele verdere reductie, te worden geassimileerd ²⁾. Een

¹⁾ L. c.

²⁾ KLEIN en KISSER, *Sitz. Ber. Ak. v. Wiss., Wien, Math. Kl., Abt. I*, 134, blz. 101. 1925. MEVIUS en DIKUSSAR, *Jahrb. Wiss. Botanik*, 73, blz. 633. 1930.

ophooping van nitriet zou kunnen worden veroorzaakt, doordat de assimilatie in de plant vertraagd is geworden. Daar hiervoor bij Mn-gebrek aanwijzingen gevonden zijn, bestaat de mogelijkheid, dat deze omstandigheid tot het ophoopen van sporen nitriet in de zieke plant mede aanleiding geeft.

Het voorkomen van ammoniak in de wortels.

Gezien het feit, dat de worteltoppen rijk aan eiwitstoffen zijn, bestaat de mogelijkheid, dat bij de microbiologische aantasting ammoniakale ontledingsproducten gevormd worden. De volgende waarneming gaf een eerste aanwijzing in deze richting. Het wortelstelsel van een 3 weken oud, juist ziek haverplantje, afkomstig uit een Mn-arme watercultuur, pH 6,0, werd gedurende een minuut in een 0,1 %-ige phenolroodoplossing gelegd. Na snel afspoelen in gedistilleerd water blijkt, dat de worteltoppen de kleurstof vasthouden en fel rood gekleurd zijn.

Herhaalt men de proef met een even oud gezond plantje, dan blijven de worteltoppen blank. Het zijn vooral de eenigszins glazige aangetaste worteltoppen, die een duidelijk roodgekleurde zone vertoonen, ten teken dat op die plaats het weefsel de kleurstof doorlaat, terwijl de inhoud van de cellen vrij sterk alcalisch is ($> 8,2$).

In verband hiermede werd getracht om zoowel in zieke als in gezonde planten de hoeveelheid ammoniak quantitatief te bepalen. De kwalitatieve reactie van NESSLER is voor dit doel niet voldoende betrouwbaar, alhoewel herhaaldelijk kon worden geconstateerd, dat aangetaste haverzieke wortels, in NESSLER's reagens gebracht, zich snel bruin kleurden, in tegenstelling met gezonde wortels, die meestal slechts zwak geel werden.

Methode voor de ammoniakbepaling in planten.

Van een aantal jonge planten, die de haverziekte-verschijnselen duidelijk vertoonden, werden de wortels snel afgespoeld en tusschen filtreerpapier afgedroogd, samen met de bladeren fijngeknipt en gewogen. Voor de bepaling werd ± 10 g versch plantenmateriaal gebruikt; in een ander deel van de massa werd het watergehalte bepaald.

De afgewogen wortels en bladeren werden in een rondkolfje van 250 cc gebracht, hieraan werd 100 cc NH_3 vrij water toegevoegd.

Bepaald werd: 1°. de ammoniak die met 50 cc water zonder eenige verdere toevoeging bij 100° overgedestilleerd werd, 2°. de NH_3 die bij toevoeging van 0,5 g MgO bij een temperatuur van 40—45° tijdens de destillatie onder verminderde druk, overging.

Zooals bekend worden verschillende aminozuren reeds door MgO ontleed, indien de destillatie boven 50° C plaats heeft, zoodat het noodzakelijk was om in het luchtledige te destilleeren. De koelbuizen van het half-micro apparaat bestonden uit pyrexglas en het geheel werd voor elke bepaling uitgestoomd.

Het bleek wenschelijk te zijn om tijdens het destilleeren een ammoniakvrije luchtstroom voorzichtig door een capillair in het kookkolfje te leiden.

Opgevangen werd in erlenmeijertjes van 100 cc welke 5 cc 1/70 n. HCl bevatten; in totaal werd 50 cc overgedestilleerd. Ten einde een controle te hebben werd in het destillaat na de titratie nog eens met Nessler gereageerd.

Verder wordt er op gewezen, dat het voor vergelijkende proeven wenschelijk is de uitwendige factoren zooveel mogelijk gelijk te nemen. Het is m. i. niet juist om bijv. de zieke planten 's morgens te oogsten en de gezonde 's middags, daar men dan de kans loopt, dat onder invloed van het zonlicht een deel van de ammoniak geassimileerd is.

Een gedeelte van deze proeven werd verricht met planten, die in den winter in een verwarmde kas gegroeid waren en gedurende 4—6 uur per dag belicht waren geworden met gewone Philips-lampen met een totale lichtsterkte van 7000 kaarsen per m². Deze planten hadden zich vrijwel normaal ontwikkeld en die op den zieken grond vertoonden na 4 weken de eerste ziekteverschijnselen. De gebruikte planten waren 7—8 weken oud.

TABEL XVI.

Toestand der planten.	Afge- wogen in g.	Droog gewicht %	Mg NH ₃ afge- destilleerd met		Mg NH ₃ per 100 g droge stof.		
			H ₂ O.	MgO.	H ₂ O.	MgO.	totaal.
1a. Plantjes haver- ziek, wortels aangetast.	9,025	8,1	0,134	0,222	18,4	32,2	50,6
	8,551	10,0	0,131	0,255	15,3	29,8	45,1
1b. Normale gezonde plantjes van zelfde grondsoort.	9,185	10,0	0,0	0,107	0,0	11,6	11,6
	9,292	10,3	0,0	0,126	0,0	13,2	13,2
2a. Zeer zieke plantjes.	11,327	11,0	0,158	0,510	12,6	40,7	53,3
	9,596	11,0	0,155	0,325	14,7	30,9	45,6
2v. Plantjes gezond, wortels iets aangetast.	9,727	11,0	0,061	0,260	5,7	24,2	29,9
	9,565	11,3	0,068	0,241	6,3	22,2	28,5
3a. Plantjes ziek, afkomstig van alkalische tuingrond.	9,308	10,26	0,0	0,648	0,0	68,3	68,3
	9,912	10,1	0,046	0,515	4,6	51,3	56,1
3b. Gezonde plantjes afkomstig van zelfde grond.	2,894	10,2	0,0	0,066	0,0	22,3	22,3
4. Gezonde plantjes afkomstig van zure zandgrond.	11,8	9,3	0,0	0,058	0,0	4,6	4,6

De contrôle met Nessler's reagens verliep geheel parallel met de verkregen cijfers. Men krijgt inderdaad den indruk dat in deze onderzochte gevallen de zieke plantjes meer ammoniak bevatten dan de gezonde; het zou echter

wenschelijk zijn een grooter aantal planten te onderzoeken, liefst in verschillende stadia van ontwikkeling en aantasting.

Dat het mogelijk is om met water uit enkele zieke plantjes NH_3 te destilleren is ongetwijfeld merkwaardig. De aanwezigheid ervan kan een gevolg zijn van de bacterieele aantasting van het wortelstelsel en gezien de groote giftigheid van deze stof is het niet uitgesloten dat NH_3 bij het tot stand komen van het ziektebeeld een rol speelt.

Volgens ENGEL ¹⁾, die uitvoerige onderzoeken verrichtte over de stikstofomzettingen in groene planten, kan inderdaad in de plant ammoniak opgehoopt worden en wel in de eerste plaats bij extreme *koolhydraathonger*. Hij kon o.m. aantonen dat bij koolhydraatbehoefte jonge maisscheuten eiwit ontleed wordt om oxydeerbare stof te winnen, waarbij ten slotte ammoniak overblijft.

SMIRNOW en ERYGIN ²⁾ toonden aan dat de hoeveelheid ammoniak in de wortels van *Vicia Sativa* verdubbelde wanneer de voedingsoplossing nitriet bevatte (334 mgr. NH_3 stikstof in 100 plantjes van 1 week oud in het donker) en tevens zijn volgens deze onderzoeker ammoniumverbindingen voor de plant des te giftiger naarmate er minder koolhydraten ter beschikking staan. In de plant wordt NH_3 als zoodanig ontgift door aminozuren of door andere organische zuren tot neutrale zouten overgevoerd; wanneer de vorming dezer zuren belemmerd wordt door C gebrek (onvoldoende belichting, narcose) dan is er kans op NH_3 ophooping.

Behalve de reeds vermelde mogelijkheid dat de NH_3 ontstaat door bacterieele afbraak van de eiwitten in de aangetaste wortels der zieke planten zou deze *overmaat van ammoniak tevens gevolg kunnen zijn van onvoldoende koolzuurassimilatie*.

In dit verband verdient het door mij aangetoonde verband tusschen koolzuur-assimilatie en Mn-gehalte van de plant de bijzondere aandacht en zal hierop in het volgende nog nader worden teruggekomen.

¹⁾ Planta 7, blz. 133 e. v. 1929.

²⁾ Gecit. naar Mevius. l. c.

HOOFDSTUK III.

DE BLADEREN VAN GEZONDE EN ZIEKE HAYERPLANTEN.

In verband met de hierboven aangetoonde mogelijkheid van ammoniak-oophoping in de plant leek het wenschelijk na te gaan of wellicht ook de reactie van het celvocht in de zieke bladeren verschilde van die der gezonde.

Het bleek mogelijk om de bladeren snel verschillende indicator-kleurstoffen te doen opzuigen, wanneer men ze na het afsnijden onmiddellijk in de oplossing plaatst. Van de beschikbare indicator-kleurstoffen voldeed broomthymolblauw niet, daar het blauw van de alcalische configuratie niet voldoende bij het bladgroen afsteekt; zeer bruikbaar bleek een 0,1 % oplossing van phenolrood, welke door toevoeging van enkele druppels $\frac{1}{10}$ n. HCl zoo gesteld was, dat de kleur rood-oranje was.

Reeds onmiddellijk bleek, dat men uiterst opvallende verschillen krijgt tusschen de bladeren van gezonde en zieke planten.

De jonge gezonde bladeren behouden hun turgor en blijven in de phenolroodoplossing staande, zeker 3, doch soms wel 4 à 5 dagen frisch, niettegenstaande de bladeren vol kleurstof zitten.

(Dit laatste is zonder meer niet te zien, daar het celsap der gezonde bladeren zuur reageert en het phenolrood er in de gele vorm in aanwezig is, welke niet bij het bladgroen afsteekt. Men kan echter de aanwezigheid van het phenolrood in deze bladeren gemakkelijk demonstreeren door de bladeren eenige oogenblikken in NH_3 damp te leggen. Men ziet ze dan spoedig egaal rood worden.)

Het gedrag der bladeren van zieke planten is geheel verschillend: reeds enkele minuten, nadat ze in de phenolroodoplossing gezet zijn, zinkt hun turgor merkbaar; zij gaan snel hangen en worden slap, terwijl zij vaak reeds binnen 24 uur verschrompelen. Na 2×24 uur zijn de meeste bladeren reeds uitgedroogd en verdord.

Nog niet aangetaste bladeren van zieke planten, die op het oog zich niet van de even oude bladeren van gezonde planten onderscheiden, vertoonen hetzelfde verschijnsel in iets mindere mate.

Ik wijs er met nadruk op, dat voor deze proef geen sterk aangetaste bladeren gebruikt werden, doch bladeren, die in het begin der aantasting verkeerden en juist enkele vlekjes of beginnende infiltraties vertoonden.

Een verklaring voor dit opvallende onderscheid tusschen de bladeren van Mn-arme en normale planten heb ik tot nu toe niet kunnen vinden.

De snelle vermindering van den turgor wijst op een verandering in de permeabiliteit van het protoplasma. In dit verband is de waarneming van

WENT Jr. ¹⁾, dat de permeabiliteit van plantencellen bij gestoorde koolzuur-assimilatie sterk toeneemt, vooral bij koolhydraatarmoede, bijzonder interessant, omdat, zooals in het volgende nog zal worden aangetoond, een van de voornaamste gevolgen van Mn-gebrek te zoeken is in een verminderde koolzuur-assimilatie.

Het zou ongetwijfeld wenschelijk zijn de proef met een aantal andere stoffen te herhalen.

Nevensgaande foto n°. 11 geeft een overzicht van enkele opeenvolgende stadia van het experiment.

De oorzaken van het optreden der typische bladvlekken.

Bij nauwkeurige beschouwing van bladeren, die eenigen tijd in phenolrood hebben gestaan, ziet men, dat op bepaalde plekjes in het blad de kleurstof is opgehoopt. In de eerste plaats rond reeds bestaande haverzieke vlekjes; men krijgt den indruk, dat in de geïnfiltreerde randen dezer vlekjes de verdamping sneller gaat dan op het overige blad en zich hierdoor de kleurstof concentreert.

Merkwaardig is echter, dat, alhoewel in de meeste gevallen deze kleurstof-ophooping geel gekleurd zijn, ten teken dat de pH daar beneden 6,5 is, in een aantal gevallen, speciaal bij kleine, jonge vlekjes, de randen donker-rood zijn ten teken, dat daar, in tegenstelling met de normale reactie in de cellen, de pH boven 8,2 is.

Eenmaal op dit verschijnsel opmerkzaam gemaakt, gelukt het zonder moeite om in oogenschijnlijk gezonde bladeren van zieke planten of in juist zieke bladeren, die nog slechts sporadisch een klein vlekje vertoonden, kleine plekjes te vinden, 0,5 à 2 mm lang en enkele tiende millimeters breed, waar oogenschijnlijk niets aan mankeerde, *doch waarvan de celinhoud paars-rood getint was en de pH dus boven 8,2 lag*. Bladeren van Mn-rijke planten gaven dit verschijnsel niet te zien.

Tevens is mij opgevallen, dat, wanneer de planten in het felle zonlicht staan, reeds gevormde vlekjes na eenige uren weer kunnen verdwijnen en dat het verschijnsel het duidelijkst is waar te nemen, wanneer de plant eenigen tijd in het donker gestaan heeft.

Daar, wanneer men het blad in NH_3 -damp legt, meestal het heele blad van de kleurstof doortrokken blijkt te zijn, heeft men hier dus te doen met cellen, wier inhoud belangrijk alcalischer is dan die van de omgevende cellen.

Vaak ziet men, dat het juist de cellen aan de randen der bladeren zijn, die rood gekleurd zijn, in het bijzonder die, welke met de typische bladnagels voorzien zijn. In nevengaannde foto is een en ander weergegeven. (Afb. 12.)

¹⁾ Persoonlijke mededeeling.

Afb. 11. EEN MERKWAARDIG VERSCHIL, TUSSCHEN GEZONDE EN ZIEKE HAYVERBLADEREN.



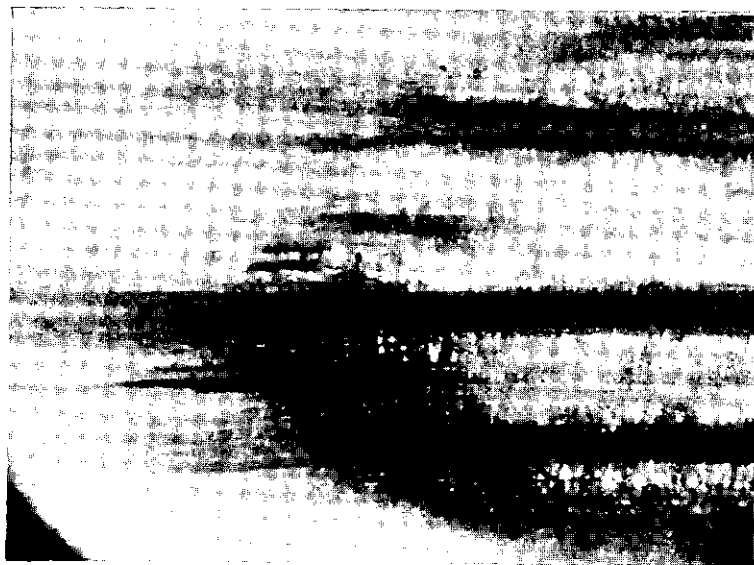
Van rechts naar links: I. Gezonde bladeren, van Mn rijke planten. II. Gezonde bladeren van Mn arme planten. III. Juist zieke bladeren van Mn arme planten.

Boven, onmiddellijk na plaatsing in een 0,1 % phenolrood oplossing.

Onder: Hetzelfde na 24 uur.



Ab. 12. HET ONTSTAAN DER BLADVLEKKEN.



Bladeren van juisl zieke haverplanten nadat zij eenigen tijd in phenolrood hebben gestaan.

Links : Een juist ziek blad, 24 uur in phenolrood gestaan, vertoont een roode zone rond het aangroeiende vlekje.

Rechts : Een aantal randeellen bevatten het phenolrood in de roode configuratie, een teken dat daar de pH boven 8,2 is.

Opmerkelijk is in dit verband, dat men dikwijls het eerste optreden der vlekjes waarneemt aan de bladranden. Het komt mij voor, dat deze vrij sterk alkalische reactie van het celsap de eerste oorzaak is, waardoor deze cellen afsterven en een centrum vormen voor het ontstaan der vlekjes. Daar in gezonde bladeren van Mn-rijke planten deze sterk alkalische cellen niet werden aangetroffen, ligt het voor de hand het optreden er van in verband te brengen met de aantasting der wortels door microben, waarbij alkalische ontledingsproducten gevormd worden.

De volgende proef gaf hiervoor een duidelijke aanwijzing. Uit een 3 weken oude Mn-arme watercultuur werd een haverplantje genomen, dat juist ziek was en enkele geïnfilteerde vlekjes vertoonde. Tegelijk met een volkomen gezond Mn-houdend plantje werd het met het wortelstelsel in een oplossing van phenolrood (0,1 %) gezet.

Na ongeveer 40 uur werden beide er uitgehaald; reeds onmiddellijk viel op, dat de worteltoppen van het zieke plantje, ook na het afspoelen met gedestilleerd water, de kleurstof vasthielden en fel rood waren, terwijl die van het gezonde plantje niet gekleurd bleken te zijn. Ten tweede was het duidelijk te zien, dat de kleurstof in het zieke plantje was doorgedrongen, in het bijzonder in de aangetaste bladeren, wat vooral duidelijk werd, nadat het plantje even in NH_3 -damp vertoefd had. Het gezonde plantje daarentegen bevatte geen spoor kleurstof.

Bij een volgende proef werd het wortelstelsel van een juist ziek plantje, waarbij nog slechts één topje zichtbaar was aangetast, gedurende 1 minuut in phenolrood gelegd en daarna onmiddellijk afgespoeld: de gave wortels bleken ongekleurd, terwijl alleen het topje van den aangetasten wortel rood was. Ditzelfde plantje werd nu wat korter dan de vorige maal, nl. 24 uur, in een phenolroodoplossing geplaatst; zeer duidelijk was nu te zien, dat de kleurstof zich juist rond de haverzieke vlekjes had opgehoopt, gedeeltelijk in de roode configuratie. Doordat de proef korter geduurd had dan de vorige, was in rest van het blad nog maar weinig kleurstof binnengedrongen.

Een zelfde proef werd herhaald met een juist ziek, 2 weken oud haverplantje (uit watercultuur), waarvan de zieke worteltop verwijderd werd; ook nu bleek, dat na 24 uur de kleurstof zich rond de vlekjes op het blad had opgehoopt. In dit geval echter was de kleur geel, in tegenstelling met de vorige maal, hetgeen ongetwijfeld veroorzaakt werd doordat een van de oorzaken voor het ontstaan van alkalische producten, nl. de rottingsbacteriën in den aangetasten worteltop, verwijderd was.

Deze proeven wijzen er op, dat de door de bacteriën in de wortels gemaakte alkalische ontledingsproducten in het blad opstijgen, daar blijkbaar op sommige plaatsen onvoldoende geneutraliseerd en niet verwerkt kunnen worden, zich

ophoopen en tot necrose der betrokken cellen aanleiding geven. Rond deze cellen ontstaan de typische haverziekte-vlekjes.

Wanneer dit het geval is, moet men door het onderbreken van den opstijgenden sapstroom het optreden der haverziekte-vlekjes kunnen beïnvloeden. Voor dit doel werden in een aantal bladeren van zieke planten insnijdingen aangebracht tot aan de middennerf. Hierdoor wordt bereikt, dat al de vloeistof, die door het boven het sneedje gelegen deel van het blad wordt verbruikt, door een veel geringer aantal vaatbundels moet gaan. Wanneer de boven geuite veronderstelling juist is, dan ligt het voor de hand, dat de aangrenzende cellen in mindere mate in staat zullen zijn deze tweemaal grotere hoeveelheid vloeistof met de alcalische ontledingsproducten te verwerken en men kan dus een spoediger afsterven der cellen in de nabijheid van de snede verwachten.

Het resultaat van een dergelijke proef ziet men op nevengeande foto n°. 13, een maand na het aanbrengen der sneedjes. Het gezonde blad is onveranderd gebleven, behoudens een klein strookje van nog geen millimeter ter weerszijden van de snee, hetwelk verdroogd is. Geheel anders is het met de beide andere bladeren. Het middelste blad was nog gezond op het oogenblik, dat de snee is aangebracht; het is duidelijk te zien, dat de heele strook boven de snee en een driehoekig stukje er onder gespaard zijn gebleven. Ook zien wij, dat boven de snee de ziekteverschijnselen naar de bladpunt toe alleen op de rechterhelft van het blad ontstaan zijn, terwijl onder de snee op *beide* zijden van het blad de typische bladvlekken voorkomen.

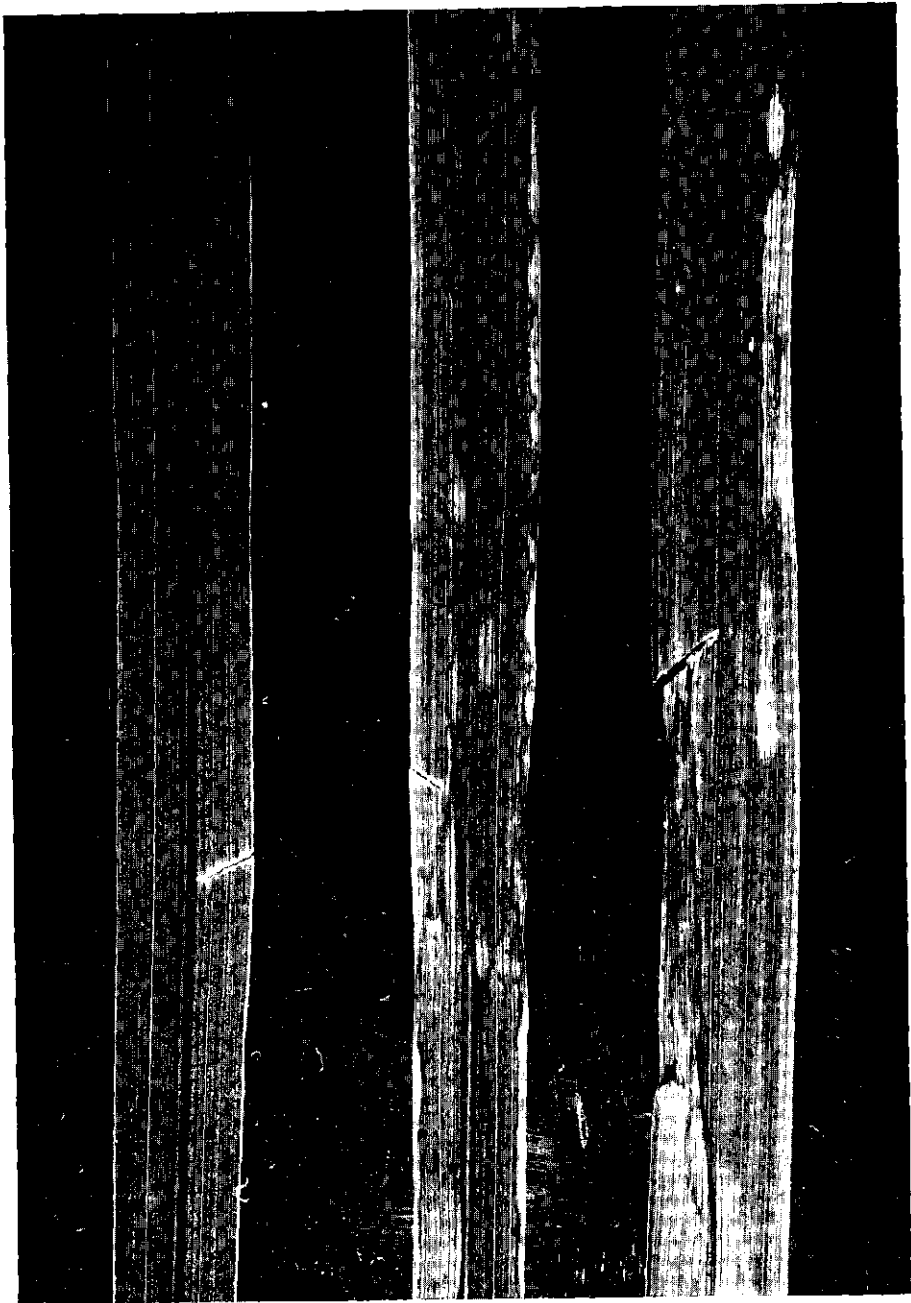
Het derde oudere blad geeft een dergelijke beeld en was waarschijnlijk bij de aanvang van de proef al in een verder stadium dan het middelste.

Wij zien dat aanvankelijk door de snellere verdamping aan de rand van de snee de giftige stoffen zich links hebben opgehoopt; door de snee gedwongen verplaatst de sapstroom zich naar rechts en we zien dan ook dat de ziekteverschijnselen boven de snee aan de tegenover liggende zijde optreden. Het komt mij voor dat deze proeven een belangrijke steun geven aan de veronderstelling dat een van de *belangrijkste oorzaken voor het optreden der bladvlekken gezocht moet worden in het opstijgen van schadelijke, alcalische stoffen, die tijdens de microbiologische aantasting van het wortelstelsel gevormd zijn.*

Het aanvankelijke vermoeden dat de bladvlekken wellicht veroorzaakt werden door bacterieele aantasting ter plaatse, zooals dit bij de infectie van haver met *Bacterium coronafaciens* het geval is ¹⁾ (de zgn. „Halo Blights of oats”) is niet juist gebleken, te meer daar herhaalde pogingen om met fijngewreven juist zieke geïnfilterde vlekjes andere bladen te infecteeren, nimmer succes opleverden (wat bij halo ziekte wel lukt).

¹⁾ CHARLOTTE ELLIOTT, *Journ. of Agric. Research*, Vol. XIX, blz. 139—172. 1920. Zie ook E. PETERSEN, *Haverbacteriosis*, *Tidskrift for Planteavl*, 39, blz. 401. 1933.

Afb. 13. HET EFFECT VAN EEN INSNIJDING IN HET BLAD OP DE VERSPREIDING DER
HAVERZIEKTE VLEKJES.



Links. Gezond blad, een maand na de insnijding.

Midden. Ziek blad, idem, onder insnijding bladvlekken aan weerszijden van het blad, boven insnijding alleen rechts.

Rechts. Ziek blad, idem, onder insnijding bladvlekken links, boven insnijding rechts.

HOOFDSTUK IV.

HAVERZIEKTE-VERSCIJNSELEN OP MENGSELS VAN ZAND EN KLEI.

Voor de interessante waarneming van HUDIG, MEIJER en anderen, ¹⁾ dat op de overgang tusschen gezonde kleigrond en gezonde zandgrond vaak haverziekte optreedt, welk verschijnsel zich ook in potcultures laat reproduceeren, was tot nu toe geen bevredigende verklaring gevonden.

Ten einde dit probleem nader te onderzoeken werden verschillende mengsels gemaakt van steriel Mn arm kwartszand en stijgende hoeveelheden klei. Uitgegaan werd van kwartszand en niet van een willekeurige zandgrond ten einde de omstandigheden zoo eenvoudig mogelijk te houden. De bemesting bestond uit 3,0 gr. KNO_3 , 2 gr Na_2HPO_4 , 0,7 gr ferrophosphaat, 0,2 gr MgSO_4 , en 0,2 gr CaSO_4 per pot van 5 kilo; hierin kwamen 10 zaadjes. Voor de hier volgende proef werd genomen een sterk CaCO_3 houdende recente kleigrond van de Carel Coenraadt Polder (Gr.).

TABEL XVII.

Aard der cultuur.	Droog gewicht stroo 10 planten. gr.	Droog gewicht korrel. gr.	Mn gehalte stroo. mg/kg.	Mn korrel mg/kg.	Stand planten.
1a. Steriel Mn arm kwartszand	14,3	10,0	7,7	23,0	Gezond, flink gegroeid.
1b. Idem	13,0	4,6	10,8	20,3	
1c. Idem	14,5	9,5	5,7	15,8	
Totale opbrengst per pot gemiddeld: korrel en stroo	22,0 g				
Mn gehalte bovengrondsche deelen gem.			12,3 mg per kg		
Mn gehalte per plant			0,027 mg		
2a. Idem gemengd met 10 % klei	5,2	2,5	7,3	46,0	Klein, echter zonder haverziekte verschijnselen.
2b. Idem	7,2	3,6	—	68,3	
Totale opbrengst per pot: korrel en stroo gemiddeld	9,3 g				
Mn gehalte bovengrondsche deelen gem.			19,9 mg/kg		
Mn per plant gemiddeld			0,019 mg		

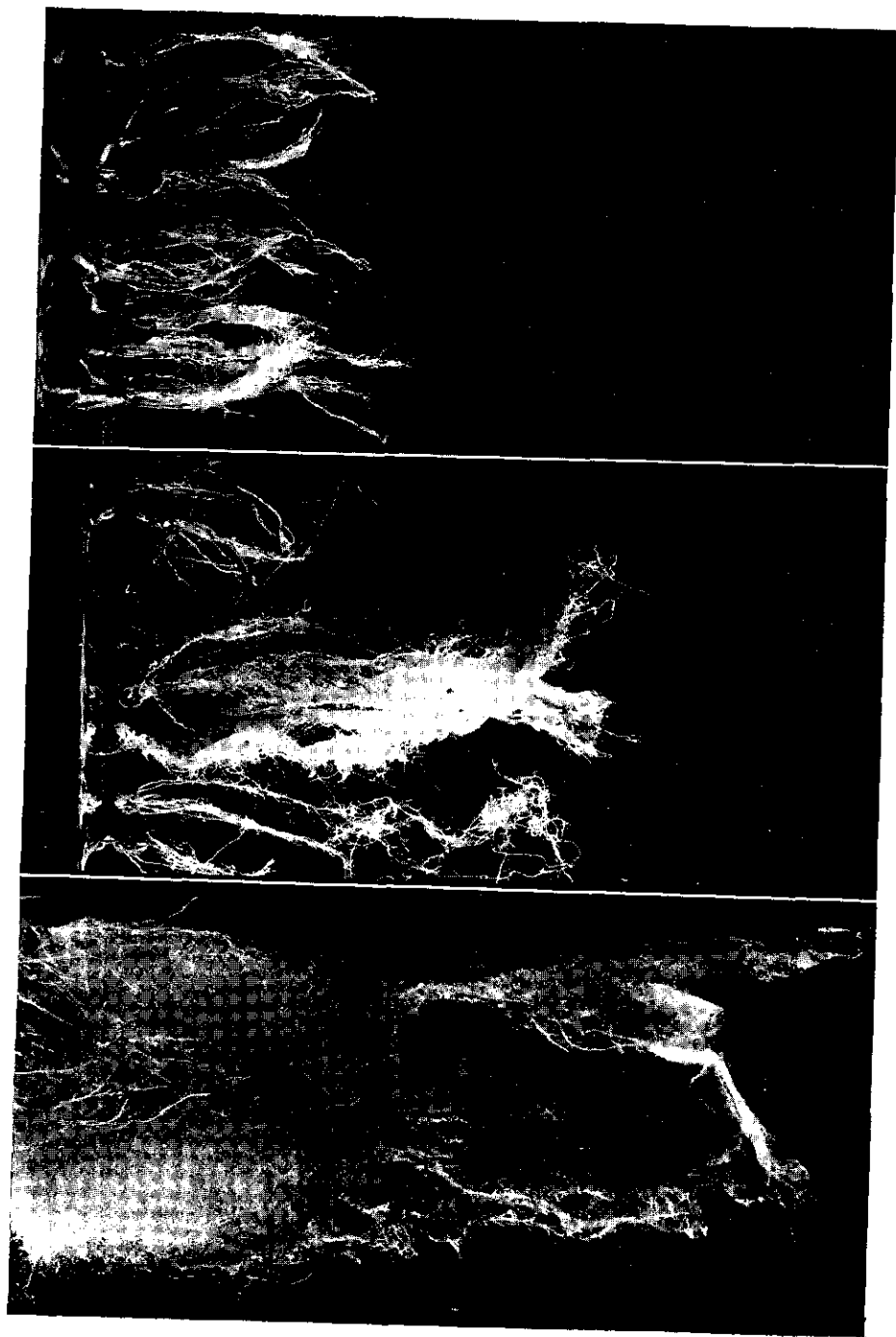
¹⁾ L. c.

Aard der cultuur.	Droog gewicht stroo 10 planten.	Droog gewicht korrel.	Mn gehalte stroo.	Mn korrel mg/kg.	Stand planten.
3a. Idem gemengd met 25 % klei	7,4	4,7	15,3	48,1	Klein, nu wel typische ziekte- verschijnselen, die niet erger worden als plant ouder wordt.
3b. Idem	5,5	3,4	16,9	33,0	
Totale opbrengst per pot: korrel en stroo gemiddeld	10,5 g				
Mn gehalte boven- grondsche deelen gem.			25,6 mg/kg		
Mn per plant gemiddeld				0,027 mg	
4a. Idem gemengd met 50 % klei	7,5	4,5	19,1	59,7	Planten volkomen gezond, doch klein
4b. Idem	6,2	3,1	7,9	46,7	
Totale opbrengst per pot: korrel en stroo gemiddeld	10,7 g				
Mn gehalte boven- grondsche deelen gem.			27,6 mg/kg		
Mn per plant gemiddeld				0,029 mg	
5a. 100 % klei	6,0	4,0	22,9	46,8	Planten volkomen gezond, doch klein.
5b. Idem	6,5	2,7	29,4	57,8	
Totale opbrengst per pot: korrel en stroo gemiddeld	9,6 g				
Mn gehalte boven- grondsche deelen gem.			35,3 mg/kg		
Mn per plant gemiddeld				0,034 mg	

De proef geeft tot zekere hoogte het verschijnsel waar het om gaat te zien; in het zand blijven de planten gezond, op een mengsel van zand met 25 % klei worden zij ziek, niettegenstaande het Mn gehalte der groene deelen verdubbeld is, terwijl de planten weer gezond worden als het percentage klei stijgt. Daartegenover bedraagt de opbrengst van de gezonde planten op de 100 % klei nog minder dan de helft van die op het zand, zoodat hier ongunstige invloeden in het spel zijn geweest, die het beeld vertroebeld hebben. Duidelijk is echter dat het Mn gehalte van de groene deelen stijgt naarmate er meer klei in het mengsel zit. Opmerkelijk is ook dat het in de eerste plaats de korrel blijkt te zijn waar zich het mangaan concentreert, zoodra het in meerdere mate ter beschikking van de plant staat.

In de volgende proef echter werd een veel geprononceerder beeld verkregen; de hier gebruikte kleigrond was afkomstig van Oosterwijtwert, (Gr.)

AD. 14. DE HAVERZIEKTE OP MENGSELS VAN ZAND EN KLEI.



steriel zand met slijpende bovevelinden klei. De wortelstelsels der volwassen planten. Van links naar rechts: 100 % zand; 10 % klei; 25 % klei.

De bemesting was dezelfde als in de vorige proef, behalve dat aan 2 der 4 potten met 100 % klei ook nog 0,1 % CaO werd toegevoegd.

Wij zien hier dat de planten op het zand gezond zijn, dat reeds bij een kleigehalte van 10 % de opbrengst met een derde daalt, zonder dat de planten nog erg ziek worden. Op het mengsel met 25 % klei komen de ziekteverschijnselen duidelijker voor den dag: reeds na 6 weken vertoonen een 6 tal bladen typische bladvlekken. Bij 100 % klei is de opbrengst weer duidelijk toegenomen, de planten zijn gezond, de toevoeging van CaO heeft geen noemenswaardige invloed gehad. De meest frappante verschillen vertoonen de wortelstelsels. Door langdurig spoelen werden de wortels van de aanhechtende zand- en kleideeltjes bevrijd, gedroogden gewogen. De nevengaande foto n°. 14 geeft de toestand weer van het wortelstelsel in de eerste der beide series. Wij zien hier dat in het steriele Mn arme zand de wortels mooi gaaf en frisch ontwikkeld zijn, ondanks het geringe Mn gehalte van de plant. Bij 10 % klei is de omvang reeds belangrijk minder en zien wij een aantal aangetaste worteltoppen, bij 25 % is het wortelstelsel bijzonder slecht ontwikkeld met talloze verrotte worteltoppen, bij 50 % wordt het wortelstelsel weer vrijwel normaal evenals bij 100 % klei zonder en met CaO. Bij de tweede serie was het wortelstelsel bij 50 % slecht ontwikkeld, alhoewel zich dit niet zoo sterk in de bovengrondsche deelen uitte. De resultaten der beide series zijn in onderstaande tabel vereenigd.

TABEL XVIII.

Aard der cultuur.	Droog gewicht 16 planten korrel en stroo in g.	Totaal Mn daarin aanwezig 0,001 mg.	Mn gehalte mg/kg (korrel en stroo).	Mn gehalte grond		Toestand planten na 5 weken.
				H ₂ O mg.	1/10 n. HNO ₃ kg droge grond.	
Kwartzand . .	30,5	467,5	15,3	0,0	0,4	Gezonde plant, flink ontwikkeld.
Idem met 10 % klei	20,3	298,7	14,7	0,03	6,7	Chlorotisch, 2 bladeren typisch ziek.
Idem met 25 % klei	24,4	275,8	11,6	0,00	24,5	6 bladeren typisch ziek.
Idem met 50 % klei	22,5	397,5	17,7	0,15	51,0	Geen ziekteverschijnselen.
100 % klei . .	26,8	469,9	17,6	0,36	120,0	Goed gegroeid, gezond.
Idem met 0,1 % CaO	27,0	492,8	18,3	0,12	119,5	Idem.

Wat betreft de mangaangehalten is wel het meest opvallend dat niet-tegenstaande met de 25% klei ongeveer 30 mg Mn is toegevoerd, de planten in totaal zoowel als per kg droge stof *minder* Mn bevatten dan die van het kwartszand. Verder zien wij eerst een daling van het Mn gehalte der planten ondanks de bijmenging met de klei en daarna weer een stijging.

In plaats van de te verwachten hoeveelheid van ongeveer 0,09 mg in water oplosbaar Mn in den grond bevat het mengsel met 25 % klei in het geheel geen in water oplosbaar Mn. Daar dit Mn ook niet in de planten teruggevonden wordt, ligt het voor de hand te veronderstellen dat het geprecipiteerd is en wel door micro-organismen, zooals door het verdere onderzoek aannemelijk zal worden gemaakt.

Het in 1/10 n. HNO_3 oplosbare Mn vertoont een regelmatige stijging zooals te verwachten was.

Een nadere beschouwing van de wortelstelsels der beide series doet zien dat zich hier de verschijnselen het duidelijkst manifesteren.

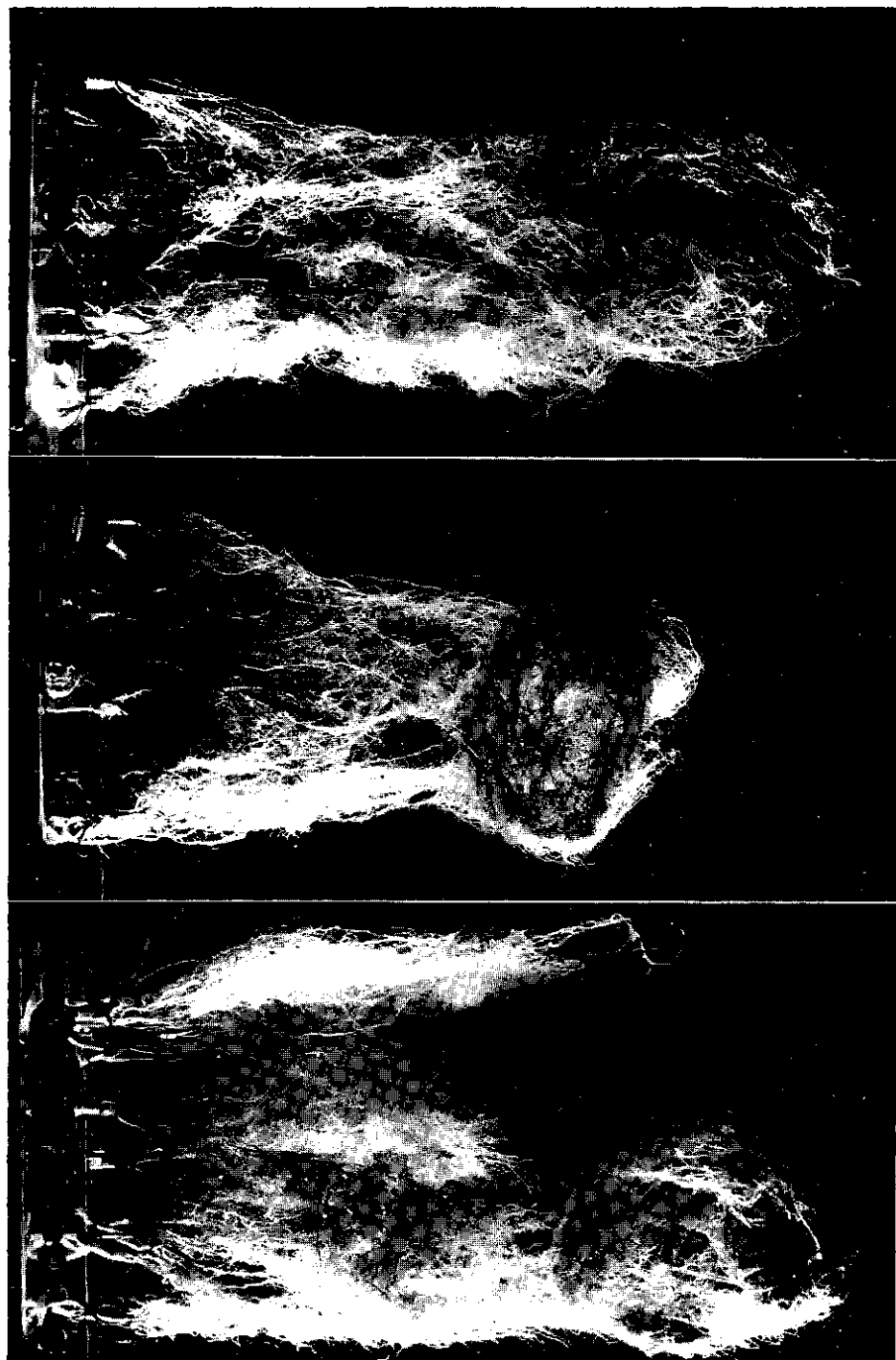
TABEL XIX.

% Klei.	Wortelgewicht en Mn-gehalte klei-zand mengsels.			
	1ste Serie wortelgewicht 8 planten droge stof in g.	Totaal Mn gehalte in de wortels in mg.	2de Serie wortelgewicht 8 planten droge stof in g.	Totaal Mn gehalte in de wortels in mg
0 %	2,75	0,00	2,10	0,00
10 %	0,90	0,02	1,40	0,00
25 %	0,60	0,02	1,95	0,06
50 %	1,95	0,10	0,70	0,02
100 %	1,45	0,06	1,50	0,08
100 % CaO	1,65	0,09	1,30	0,06

Ook in het wortelgewicht zien wij een maximum bij de steriele cultuur, daarna een minimum in de eerste serie bij 25 % klei, in de 2e bij 50 % klei waarna het wortelgewicht weer belangrijk omhoog gaat. Ook zien wij in bijna alle gevallen een laag Mn gehalte daar waar de wortels zich slecht ontwikkeld hebben. Het meest opmerkelijk is m. i. het feit dat de wortels der steriele cultuur zich maximaal ontwikkeld hebben ondanks de geringe hoeveelheid Mn en uitsluitend dank zij de afwezigheid van micro-organismen.

Dat de planten en vooral ook de wortelstelsels weer gezond worden als het percentage klei stijgt is verklaarbaar omdat met de klei ook meer Mn wordt aangevoerd. Bij 10 en 25 % is deze hoeveelheid blijkbaar nog niet voldoende

ABD. 14. DE HAVERZIEKTE OP MENGSELS VAN ZAND EN KLEI.



Stijfel zand met stijgende hoeveelheden klei. De winderzichten der verdanssen plannen. Van links naar rechts: 50 % klei; 100 % klei en 100 % klei met 0,1 % CaO.

om de nadeelige activiteit der tevens aangevoerde microben tegen te gaan. Wanneer echter de gebruikte kleigrond zelf groote hoeveelheden Mn bevat, dan bestaat de kans dat reeds met 10 % klei zooveel Mn wordt aangevoerd, dat het verschijnsel niet waarneembaar is en de planten gezond blijven. Dit bleek o. a. bij een analoge proef waarbij een kleigrond van Nw. Beerta (Gr.) werd gebruikt en de planten op alle mengsels gezond bleven. Het Mn gehalte van het stroo op het mengsel met 10 % klei bedroeg dan ook reeds 86,8 mgr. Kg dr. stof voor het stroo en 74,2 mgr voor de korrel.

In verband hiermede bestaat de mogelijkheid dat het welslagen van deze proef in nauw verband staat met het Mn gehalte van de gebruikte kleigrond en dat ook in het veld het verschijnsel niet op alle overgangen tusschen klei en zandgronden zal zijn waar te nemen.

Dat niet chemische of fysisch chemische invloeden in het spel zijn doch dat inderdaad micro-organismen in de eerste plaats voor het optreden der ziekteverschijnselen verantwoordelijk zijn wordt door de volgende proef nog eens ten overvloede gedemonstreerd.

Op een mengsel van steriel zand en 25 % klei (Middelstum Gr.) werden de planten zeer ziek; werd daarentegen de klei met formaline gesteriliseerd waarbij het Mn gehalte van den grond practisch hetzelfde bleef, dan waren de planten volkomen gezond. Bemesting als voren. Op 13 Juni 10 pl. gezaaid. Geoogst 5 September.

TABEL XX.

Aard der cultuur.		Dr. gew. stroo 10 pl. (in g).	Dr. gew. korrel 10 pl. (in g).	Mn stroo mg/kg.	Mn korrel mg/kg.	Mn in klei voor de proef.		Stand haver.
						H ₂ O.	1/10 HNO ₃ mg/kg.	
Zand met 25 % klei.	A	3,2	2,0	10,7	32,8	0,022	64,5	Reeds na 4 weken duidelijk haver- ziek.
	B	3,0	1,5	23,1	54,3			
Zand met 25 % met formaline gesteriliseerde klei.	A	7,0	4,5	25,0	56,4	0,018	70,1	Tot eind toe gezond gebleven.
	B	6,0	3,2	48,0	¹⁾			

Daar in dit geval de beide mengsels volkomen analoog zijn, uitgezonderd dat in het tweede geval de micro-organismen gedood zijn, moet men het optreden der ziekteverschijnselen wel aan hun aanwezigheid toeschrijven.

¹⁾ Bepaling verloren gegaan.

Alhoewel men aanvankelijk in het hogere Mn gehalte der gezonde planten een bewijs zou kunnen zien dat het Mn in den grond door de sterilisatie gemobiliseerd is geworden, is dit m. i. een *onjuiste* gevolgtrekking, te meer daar de analyses aantonen dat de hoeveelheid in H_2O oplosbaar Mn in beide gevallen vrijwel even groot is. In het steriele milieu kunnen de wortels tot een veel grootere omvang uitgroeien dan in het niet steriele klei-zand mengsel, zooals dit op de foto van de vorige proef ook duidelijk zichtbaar was. Het is van zelf sprekend dat hierdoor het wortelstelsel met een veel grooter volumen grond in aanraking is dan in het geïnfecteerde milieu en dientengevolge ook de beschikking geeft over een grootere hoeveelheid Mn.

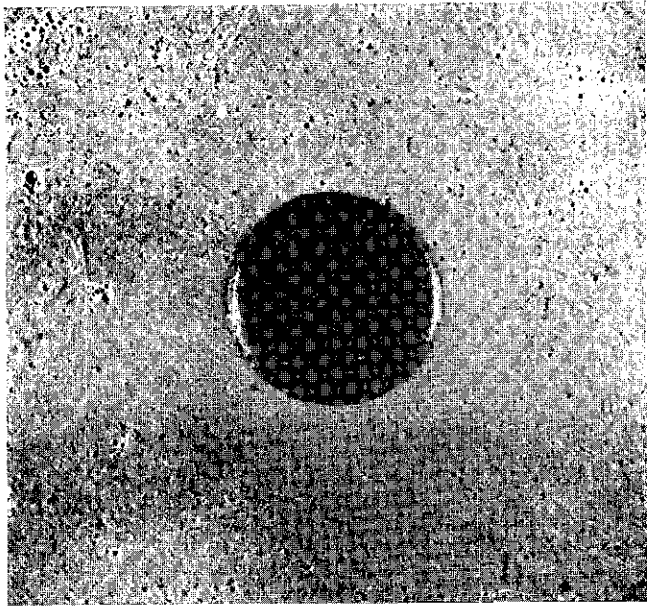
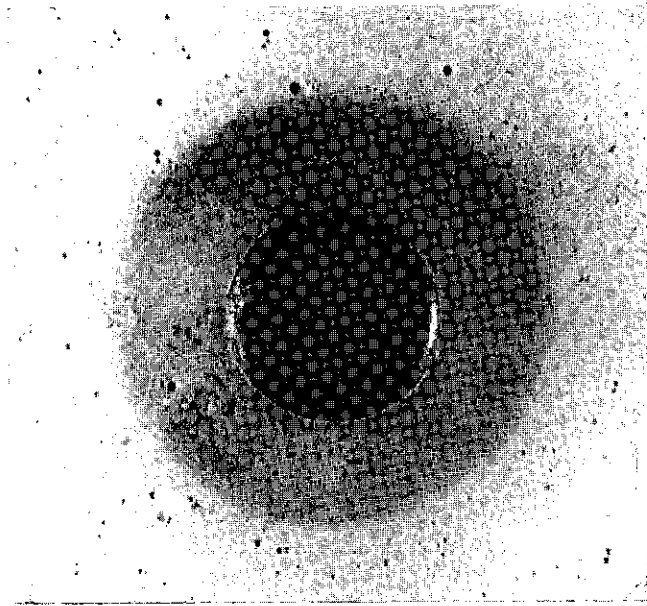
Alhoewel deze proeven ongetwijfeld op het gestelde probleem een zeker licht werpen, verschillen de omstandigheden toch dermate van de situatie in het veld, dat het wenschelijk is hieraan de noodige aandacht te schenken. In het veld hebben wij niet te doen met een steriele zandgrond eenerzijdsch en kleigrond anderzijdsch, doch met een niet steriele Mn houdende zandgrond die geleidelijk in klei overgaat. Daar voorop gezet is dat de planten op het zand ook gezond zijn, is het zeker dat de zandgrond zuur reageert, daar op alcalische zandgronden haverziekte vrijwel onvermijdelijk is.

Ook ligt het voor de hand om te veronderstellen dat de aangrenzende kleigrond alcalisch is of althans neutraal zal zijn.

Een belangrijk verschil tusschen de hierboven genomen proeven en de situatie in het veld is dus ongetwijfeld dat men daar juist in de grenslaag een geleidelijke overgang van de pH van het zure gebied naar het alcalische aantreft. Ook bestaat de mogelijkheid dat door de beweging van het grondwater het alcalische bodemvocht tot op zekere diepte in het zand doordringt.

Gezien het feit dat de planten op de mengzone ziek worden, ligt het voor de hand aan te nemen dat in dat gebied het voor de plant beschikbare Mn een minimum vertoont. Het is nu de vraag of wij hier te doen hebben met een zuiver chemisch of physisch chemisch verschijnsel, of wel dat hier de micro-organismen een rol spelen.

Abb. 15. DE PRECIPITATIE VAN MANGAANDIOXYDE DOOR MICROORGANISMEN.



Klei in agard gesuspendeerd; in het midden zand met 1 % MnSO_4 . Na 1 week ontstaat een brune diffusiering van MnO_2 . Aan de plaat rechts werd chloroform toegevoegd.

HOOFDSTUK V.

DE MICROBIOLOGISCHE PRECIPITATIE VAN HET MANGAAN.

Om na te gaan of in dergelijke klei-zand mengsels de microbiologische precipitatie van Mn van eenige beteekenis zou kunnen zijn, werd de volgende proef ingezet: 30 gr van een CaCO_3 houdende kleigrond (Carel Coenraadt polder) werd in een mortier met 25 cc water fijngevreven en deze suspensie werd met 100 cc snel afgekoelde H_2O agar (2 %) gemengd en in een cultuurodoos van 11 cm diam. uitgegoten. Nadat ~~een en ander~~ vast geworden was werd in het midden een uitholling gemaakt van $2\frac{1}{2}$ cm diam.; hierin werd een suspensie in agar van een zure zandgrond uit Hooghalen gegoten, welke 1 % MnSO_4 bevatte. De proef werd in triplo gedaan, een cultuurschaal werd in de thermostaat van 25° geplaatst, een tweede werd in de ijskast bij 0° gezet, een derde werd na toevoeging van chloroform eveneens bij 25° weggezet. Na 8 dagen bleek op de eerste plaat een bruine diffusie ring te zijn ontstaan van een diameter van 58 mm. Deze ring was bruin gekleurd, aan de buitenkant scherp begrensd, aan de binnenkant meer diffuus verloopend.

Noch in de doos met chloroform, noch in die welke bij 0° had gestaan was een dergelijke ring gevormd. De laatste doos, bij 25° gezet, vertoonde na ongeveer een week eveneens een dergelijke ring, waarvan de diameter groter was dan van de eerste doos. Eenige malen herhaald, ook met andere gronden, werden dezelfde resultaten verkregen. Een afbeelding van een dezer proeven vindt men in nevensgaande fig. 15.

Deze proef leverde het overtuigende bewijs dat onder deze omstandigheden de precipitatie van het Mn van microbiologischen aard was, te meer daar het in enkele gevallen voorkwam dat de ring niet egaal bruin was, doch uit een opeenhooping van kleine bruine stipjes ter grootte van 0,5 à 1 mm bleek te bestaan. Een enkele maal was zelfs duidelijk te zien dat in het mycelium van een schimmelkolonie MnO_2 geprecipiteerd was (zie foto 15a blz. 58).

Dat het precipitaat inderdaad uit Mn verbindingen bestond kon gemakkelijk worden aangetoond door een weinig van het materiaal in en buiten de ring te analyseren, nadat zoowel het in water oplosbaar Mn als het tegen MnNO_3 uitwisselbaar Mn verwijderd was geworden.

De ring bevatte 8,5 maal zooveel onoplosbaar Mn als de daarom heen liggende grondsuspensie. Ook was het mogelijk om uitgaande van een dergelijke suspensie in agar met 0,1 % MnSO_4 van vooraf gesteriliseerde kleigrond en na enting daarvan met een der genoemde bruine koloniën, in deze massa na eenige weken een groot aantal identieke koloniën te zien ontstaan, terwijl de niet geënte controle plaat geen verandering vertoonde.

Het was mogelijk om uit deze koloniën op kunstmatige voedingsbodems bacteriën te isoleeren die in staat waren op deze voedingsbodems eveneens Mn te precipiteeren, hetzij in de koloniën of wel in het cultuurmedium.

De beste resultaten werden verkregen met een voedingsbodem welke bevatte 2 % citroenzure calcium, 0,5 % MnSO_4 en 0,2 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$. Tevens werd een spoor MgNH_4PO_4 toegevoegd; toevoeging van P in een oplosbare vorm resulteert in een precipitatie van mangaanphosphaat, waardoor de vorming van MnO_2 onmogelijk wordt ¹⁾.

Door SÖHNGEN ²⁾ was reeds in 1914 het bestaan van dergelijke Mn precipiteerende bacteriën aangetoond en tevens was door hem vastgesteld dat de aanwezigheid van organische stoffen, zooals cellulose, zouten van organische zuren e. d. een van de voorwaarden is voor de ontwikkeling dezer bacteriën. Ook vond hij dat hun ontwikkeling nauw samenhang met de pH van het voedingsmedium, zonder dat echter grenzen werden aangegeven, (wat waarschijnlijk toen ook nog niet mogelijk was).

Ten einde over deze pH grenzen iets meer te weten te komen werd de volgende proef ongezet. Met een klei-agar suspensie van dezelfde samenstelling als hierboven aangegeven, doch nu met een CaCO_3 arme oude kleigrond, afkomstig van de proefboerderij te Nieuw Beerta, werd een reeks proeven aangezet. Aan de kleisuspensies waren stijgende hoeveelheden 1/10 n. HCl eenerzijds en stijgende hoeveelheden 1/10 n. NaOH anderzijds toegevoegd. Na twee dagen, als zich het evenwicht had ingesteld, werd in het midden agar met 1 % MnSO_4 aangebracht. De pH's bewogen zich tusschen 6,3 en 8,1. Het resultaat van een dergelijke proef blijkt het duidelijkst uit nevengeande foto's welke ongeveer twee weken na aanvang der proef genomen werd (zie foto 16 ~~en 17~~ blz. 59).

Wij zien dat de ringvorming tusschen betrekkelijk nauwe pH grenzen beperkt blijft en dat boven 7,8 en beneden 6,3 zij practisch van geen betekenis meer is, terwijl het maximum om en bij pH 7,0 wordt waargenomen.

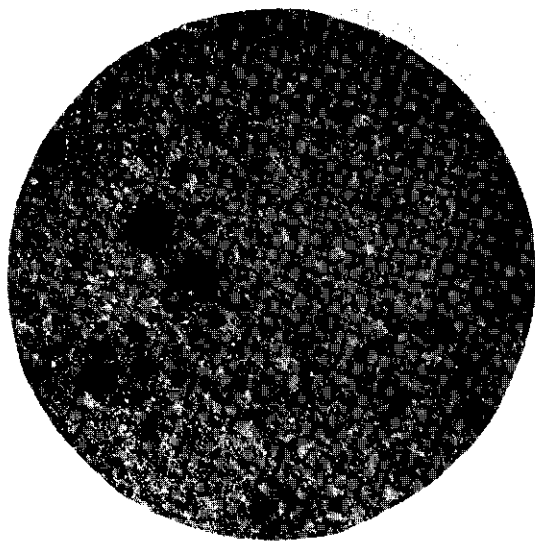
Alhoewel het wenschelijk is deze proeven te herhalen met klei-zand mengsels zonder agar, komt het mij toch voor dat zij in beginsel aanwijzingen geven, die voor de oplossing van het probleem der haverziekte op de overgang tusschen klei en zand waardevol zijn.

Zooals reeds aangetoond, zullen in deze overgang verschillende pH gradaties voorkomen, ook die waarbij het Mn door de micro-organismen geprecipiteerd kan worden. In de zandgrond gebeurde dit niet, aangezien daar de minimum pH grens nog niet bereikt is, in de kleigrond kan zoowel de hoogere pH als

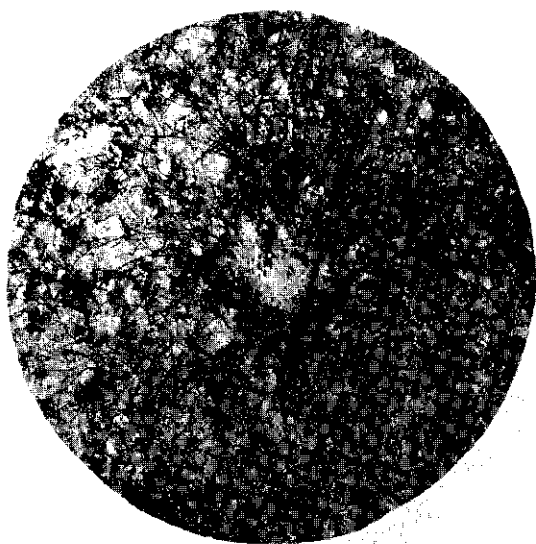
¹⁾ Een uitvoeriger verslag dezer onderzoekingen wordt elders gepubliceerd.

²⁾ L. c.

Afb. 15a. DE PRECIPITATIE VAN MANGAANDIOXYDE DOOR MICROORGANISMEN.

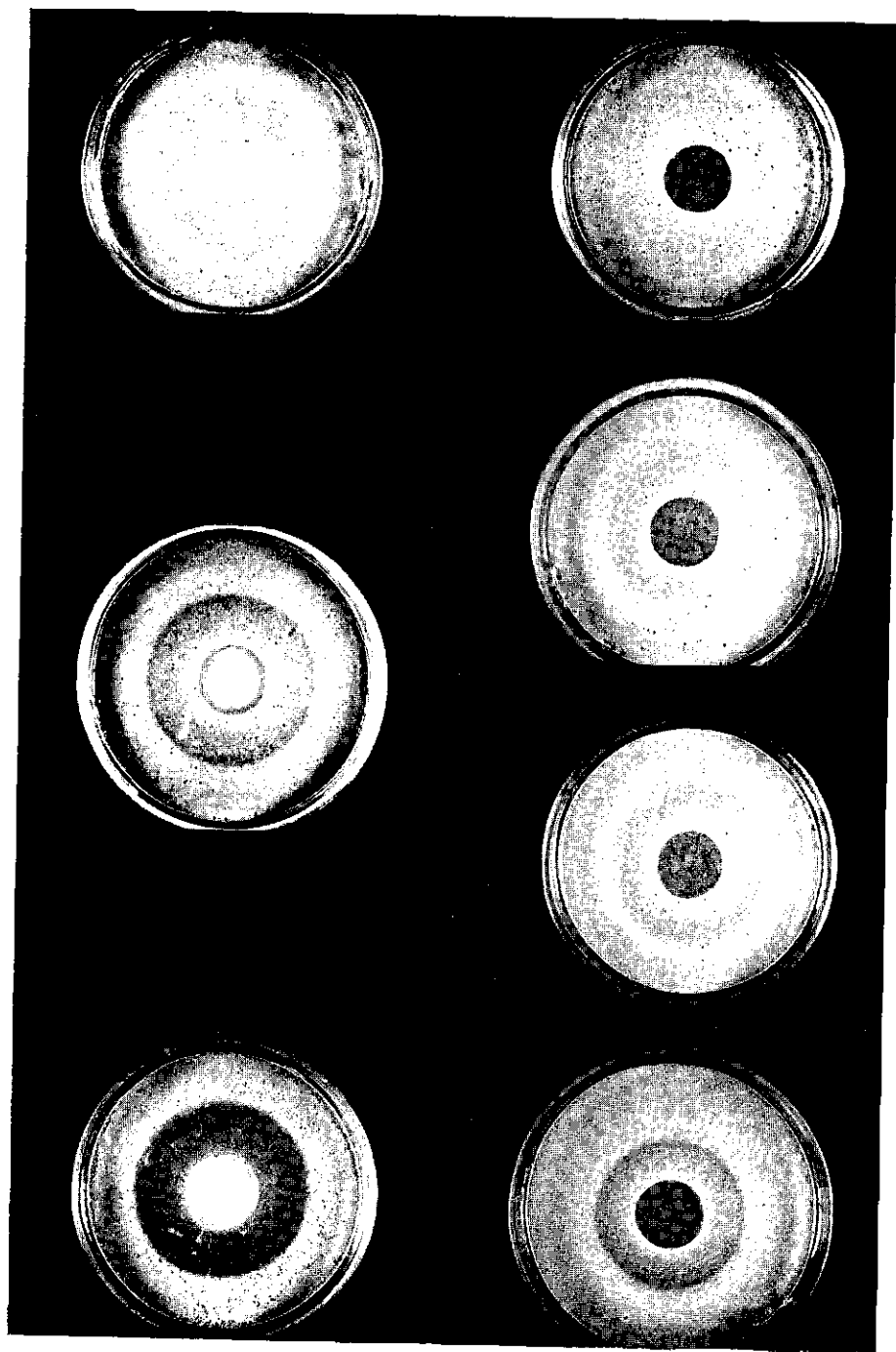


Linkse. Een aantal bacteriën koloniën in een dergelijke diffusiering,
10 X vergroot.



Rechts. Een schimmelkolonie met mangaandioxyde in het mycelium
geprecipiteerd.

Abb. 16. DE INVLOED VAN DE pH OP DE MICROBIOLOGISCHE PRECIPITATIE VAN IJZET MANGAAN-DIOXYDE.



Links boven oorspronkelijke grond, pH 7.0, *middelen* na toevoeging van 2 cc 1-10 n. NaOH, pH 7.3, *rechts* met 6 cc NaOH, pH 7.8. In het centrum agar met 1 % $MnSO_4$. *Links* onder oorspronkelijke grond pH 7.0, *rechts* *daarop* met 5 cc 1-10 n HCl, pH 6.5, *daarop* met 6 cc, pH 6.4, *rechts* met 7 cc pH 6.3. In het centrum der platen agar - zure zandgrond - 1 % $MnSO_4$.

het feit, dat het grootste deel van het Mn (in de onderhavige grond van Nieuw Beerta zelfs 90 %) aan het complex gebonden is, voor deze precipitatie ongunstig zijn.

In dit verband is de waarneming van LUNDEGARDH ¹⁾, dat het Mn gehalte van haverbladeren zoowel bij lage pH (5,0 — 5,5) als ook bij hoge pH (8,0 — 8,5) hoog is en een minimum vertoont tusschen pH 6,5 en 7,5, interessant.

Ook is zijn waarneming dat het grootste aantal gevallen van haverziekte voorkomt op gronden waarvan de pH ligt tusschen 6,5 en 7,5 en dat eveneens tusschen die grenzen de gronden een minimum oplosbaar Mn gehalte vertoonen (l. c. blz. 291) aan de hand van het bovenstaande op eenvoudige wijze te verklaren.

Ook het tot nu toe onverklaarbare verschijnsel, dat een behandeling van kleigronden met CaO, de haverziekte doet verdwijnen, wat zoowel door MASCHHAUPT ²⁾ als door POPP ³⁾ en medewerkers is geconstateerd, is aan de hand van het feit dat de betreffende micro-organismen reeds boven een pH van 7,8 geen Mn meer precipiteeren gemakkelijk te begrijpen.

Dat echter een toediening van CaO slechts een tijdelijke verbetering teweeg kan brengen laat zich op grond van het bovenstaande eveneens voorstellen.

Het is nl. te verwachten dat het toegediende CaO zich tot CaCO₃ zal omzetten, dat de pH geleidelijk zal dalen tot binnen de grenzen waarbij het Mn door de bacteriën kan worden geprecipiteerd en dat men dan de ziekte opnieuw en waarschijnlijk heviger zal zien optreden.

Door MASCHHAUPT ²⁾ is dan ook inderdaad geconstateerd dat op een haverzieke kleigrond, waarop na toediening van CaO de haver geen ziekteverschijnselen meer vertoonde, na verloop van enkele jaren de haver opnieuw ziek werd. De raad van POPP, om door een reeks kleinere kalkgiften de grond geleidelijk met kalk te verzadigen en op die manier de haverziekte op zwaardere gronden te bestrijden, lijkt mij uiterst gevaarlijk en op grond van bovenstaande inzichten absoluut te verwerpen.

Aan de door MASCHHAUPT geopperde veronderstelling, dat door het toedienen van CaO wellicht een partieele sterilisatie van den grond bewerkstelligd werd is door mij aandacht geschonken. Bij vermenging van 100 gr kleigrond met 1 gr CaO, hetgeen overeenkomt met een gift van 30 000 kg per H. A. (POPP) bleek dat het aantal bacteriën in de bemeste grond niet noemenswaard

¹⁾ H. LUNDEGARDH, *Die Nährstoff-Aufnahme der Pflanze*, blz. 290. 1932.

²⁾ H. MASCHHAUPT, *Das Rätsel der Dörrfleckenkrankheit. Z. f. Pflanzenern. und Düngung*, Teil B. 13, blz. 313—320. 1934.

³⁾ M. POPP, J. CONTZEN, S. GERIKE, *Das Rätsel der Dörrfleckenkrankheit. Zelfde Tijdschr.*, Teil B. 13, blz. 66 e.v.

van dat der onbehandelde verschilde en dat dit zelfs na korten tijd hooger was dan in de oorspronkelijke grond. Alhoewel ik de mogelijkheid van eenige invloed van het toegediende CaO op het complex met als gevolg een vrijmaken van Mn, zooals door POPP e. s. verondersteld wordt niet volledig uitsluit, komt het mij toch voor dat men de eigenlijke oorzaak van het verschijnsel ook in dit geval moet zoeken in de eigenschap der mangaanbacteriën, om boven een pH van omstreeksch 8 niet meer in staat te zijn het Mn te precipiteeren. In hoeverre dit onvermogen der mangaanbacteriën om buiten deze nauwe pH ^{6.5}groeven Mn te precipiteeren van zuiver biologische aard is of wel in hoofdzaak door chemische factoren wordt beïnvloed, moet nog nader onderzocht worden.

SAMENVATTING EN BESPREKING DER RESULTATEN.

Alhoewel tot nu toe vrijwel algemeen werd aangenomen dat de eenige oorzaak voor het optreden der Veenkoloniale haverziekte eenvoudig gelegen was in mangaangebrek, is door het onderhavige onderzoek komen vast te staan dat het verschijnsel van veel gecompliceerder natuur is.

Sterilisatie-proeven met behulp van formaline, waarbij het Mn gehalte van den grond ongewijzigd bleef, hadden tot effect dat zelfs op zeer zieke gronden weer haver kon groeien.

Omgekeerd bleek het mogelijk om op met formaline gesteriliseerde grond weer haverziekte te voorschijn te roepen, door deze grond met 5 tot 10 % van de oorspronkelijke ongesteryliseerde grond te vermengen.

Op steriel Mn arm kwartszand kon haver gekweekt worden zonder dat de typische ziekteverschijnselen te voorschijn kwamen, evenals in steriele Mn arme watercultures.

Infecties van steriele cultuurmedia met grond, zieke worteltoppen, of mengsels van reïncultures van verschillende bacteriën uit zieke wortels geïsoleerd, hadden tengevolge dat de ziekteverschijnselen in alle hevigheid optraden.

Ook bleek het mogelijk om door toevoeging van geringe hoeveelheden *desinfectica* (Germisan 0,001 à 0,002 %) aan Mn arme watercultures gezonde planten te krijgen, terwijl in de controle cultures zonder germisan de planten vroegtijdig te gronde gingen.

Dit alles wees er op dat *bij het tot stand komen der haverziekte micro-organismen een belangrijke rol spelen.*

Het aandeel der micro-organismen bij het tot stand komen der ziekteverschijnselen bleek tweeledig te zijn. In de eerste plaats bleek het *wortelstelsel van Mn arme planten buitengewoon gevoelig te zijn voor de aantasting door microben.* Zoodra het wortelstelsel aangetast is, worden de ammoniakale

ontledingsproducten der micro-organismen met de sapstroom naar de bladeren getransporteerd, alwaar zij niet verwerkt kunnen worden en mede een van de belangrijkste oorzaken zijn voor het ontstaan der bladvlekken.

Het was mogelijk om met behulp van phenolrood in de bladeren van zieke planten pleksgewijze reeksen van cellen aan te toonen, waar de pH hooger was dan 8,2 (in tegenstelling met de normale cellen waar de pH beneden 6,5 was) en welke cellen klaarblijkelijk de kernen vormden van de later optredende bladvlekken.

Het is echter niet de bedoeling de haverziekte te beschouwen als een parasitaire ziekte; wel blijkt dat *de immuniteit van de plant ten nauwste samenhangt met het Mn gehalte*. In geval de plant arm is aan Mangaan worden verschillende bacteriën, die onder normale omstandigheden saprophyten zijn, parasieten en richten gezamenlijk de plant te gronde.

Op grond van hetgeen werd waargenomen moet men onderscheid maken tusschen de verschijnselen van fysiologisch mangaangebrek en die van de Veenkoloniale haverziekte. Het eerste symptoom van een gering Mn gebrek uit zich in een achterblijven van de groei van de plant, zonder meer.

In dat stadium behoeft ook van chlorose nog geen sprake te zijn. Het is niet uitgesloten dat ook in het veld mangaangebrek in lichte graad zich voordoet, zonder dat zich haverziekte verschijnselen vertoonen en de toediening van Mn de stand van het gewas zichtbaar zou kunnen verbeteren.

Zijn onder deze omstandigheden tevens in groote getale bacteriën aanwezig, die het wortelstelsel gemakkelijk aantasten, zooals bijv. in pas gescheurd grasland te verwachten is, dan ziet men de haverziekte optreden op perceelen, die anders oogenschijnlijk steeds gezond waren.

Daalt het Mn gehalte der planten nog verder, dan treedt haverziekte onder natuurlijke omstandigheden spoedig op, vooral wanneer door warm weer de groei der micro-organismen bevorderd wordt en de verhoogde verdamping de geproduceerde ammoniakale ontledingsproducten sneller in de bladeren omhoog voert.

Het is echter mogelijk om bij eenzelfde laag mangaangehalte *gezonde* planten te kweken, mits men het wortelstelsel steriel houdt; het eenige verschil met planten die een hooger Mn gehalte hebben is dat de laatsten grooter zijn, beter uitgestoeld zijn en meer zaad opbrengen.

Daalt het Mn gehalte van de plant nog verder, dan wordt de groei ontijdig stilgezet, vooral de jongste bladeren zijn chlorotisch, wat veroorzaakt wordt doordat de oudere bladeren het Mn uit het zaad en de sporen uit het cultuurmedium geabsorbeerd hebben, terwijl bekend is dat het mangaan niet van het eene blad naar het andere getransporteerd wordt. Onder deze omstandigheden ziet men langs de bladnerven heele rijen cellen afsterven. Alhoewel door mij tot

nu toe steeds geconstateerd werd, dat wanneer de typische bladvlekken ontstonden ook het wortelstelsel geïnfecteerd was, lijkt het mij zeker mogelijk dat in gevallen van extreem Mn gebrek in het blad zelf necrotische plekken kunnen ontstaan. De koolhydraat-armoede, die door andere onderzoekers geconstateerd is als gevolg van Mn gebrek, kan tot autolyse der eiwitverbindingen in de cellen voeren met als eindproduct ammoniak, waardoor ook langs deze weg de reactie van het celvocht alcalisch zou kunnen worden.

Tusschen Mn gebrek en *oxydase gehalte der wortels* kon geen positief verband worden aangetoond, eerder een negatieve correlatie. Het *katalase gehalte* van de wortels van haverzieke planten was in meerdere gevallen duidelijk hoger dan dat der gezonde planten. De aantasting van het wortelstelsel door bacteriën had een zeer merkbare verhooging van het katalase gehalte ten gevolge.

Opmerkelijk was dat rond de worteltoppen van Mn arme planten in watercultures het *aantal bacteriën* zeker $5 \times$ zoo groot was dan bij de evenoude Mn houdende planten.

Sporen nitriet konden in en rond de aangetaste wortels van Mn-arme planten worden aangetoond; in een nitraathoudend medium is dit vanzelfsprekend, daar tal van bacteriën in tegenwoordigheid van gemakkelijk aantastbare organische stof nitraten tot nitrieten reduceeren. Dit is te beschouwen als een secundair verschijnsel, dat, gezien de geringe concentraties van het nitriet, voor het tot stand komen der ziekteverschijnselen geen betekenis heeft.

Een indicatie werd verkregen, dat in Mn-arme planten duidelijk aantoonbare *sporen ammoniak* kunnen voorkomen, waarschijnlijk ten gevolge van de aantasting van het wortelstelsel door micro-organismen, wellicht ook ten gevolge van de reeds vermelde autolyse der cellen.

Wat betreft het merkwaardige *verband tusschen Mn-gebrek en de verlaagde resistentie van de plant* zij opgemerkt, dat door een reeks proeven (welke elders uitvoerig zullen worden beschreven) betreffende den invloed van Mn op de reductiepotentiaal van bladmoessuspensies tijdens belichting, is komen vast te staan, dat het *Mn grooten invloed heeft op de oxydatie-reductieprocessen, die tijdens de koolzuur-assimilatie plaats vinden*. Deze omzettingen zijn minimaal in de bladeren van Mn-arme planten en worden door toevoeging van enkele tiende milligrammen Mn onmiddellijk buitengewoon versneld. Men krijgt den indruk, dat het Mn niet zoozeer als prikkelstof dienst doet, doch een *belangrijke rol vervult als katalysator bij de koolzuur-assimilatie*.

Dit vastgesteld zijnde, is het verklaarbaar dat als eerste gevolg van Mn-armoede de bladontwikkeling van de plant achterblijft. Daar ook de wortels minder assimilaten toegevoerd krijgen, blijft het wortelstelsel klein. Regeneratie van de eventueel aangetaste cellen der worteltoppen is uitgesloten, terwijl een duidelijke insnoering ter hoogte van de meristematische zone

er op wijst, dat de celdeeling belangrijk vertraagd is. Dat onder deze omstandigheden ~~de~~ wortels gemakkelijk aan micro-organismen ten prooi vallen, is vanzelfsprekend.

Het verband tusschen verlaagde resistentie en Mn-gebrek is niet direct, doch heeft als tusschenschakel de onvoldoende koolzuur-assimilatie. Het lage gehalte aan reduceerende suikers, o. a. door MILLER ¹⁾ geconstateerd bij tal van Mn-arme gewassen en hetwelk door toediening van Mn spoedig wordt opgeheven, laat zich uit den invloed, die het Mn op de koolzuur-assimilatie heeft, gemakkelijk verklaren.

Het omknikken der bladeren en de sterke neiging tot legeren, hetwelk vooral door RADEMACHER (l. c. blz. 230) als een typisch symptoom der ziekte wordt beschouwd, worden m. i. veroorzaakt door de zwakke ontwikkeling der celwanden, wat een direct gevolg is van de verminderde koolzuur-assimilatie.

Deze onvoldoende koolzuur-assimilatie is tevens de oorzaak, dat de bladeren de kleine hoeveelheden ammoniak en alcalische splitsingsproducten, die in de aangetaste wortels gevormd worden, niet kunnen verwerken, in tegenstelling met normale, Mn-rijke planten, die van het in rotting verkeerend van een aantal worteltoppen in de meeste gevallen geen nadeelige gevolgen ondervinden. De opbouw van eiwitten en de vorming van organische zuren is vertraagd of zelfs geheel stopgezet, zoodat ammoniakale verbindingen zich plaatselijk kunnen ophoopen en ongeneutraliseerd blijven, wat mede een belangrijke oorzaak is voor het ontstaan der typische bladplekken.

Tevens is gebleken, dat *micro-organismen* een tweede, niet minder belangrijk aandeel hebben in het tot stand komen der ziekteverschijnselen, doordat zij *in staat zijn oplosbare Mn-verbindingen in onoplosbare over te voeren.*

De pH-grenzen, waartusschen deze processen zich afspelen (6,3—7,8), blijken geheel overeen te komen met die, waarbij de haverziekteverschijnselen op het veld het meest intensief optreden.

Aangetoond is, dat planten uit sterielen grond belangrijk meer Mn kunnen opnemen dan uit den oorspronkelijken zieken grond, alhoewel in beide gevallen het Mn-gehalte van den grond hetzelfde was.

Behalve door de grootere uitgebreidheid van het wortelstelsel is dit mede te verklaren door het feit, dat bij afwezigheid van mangaanbacteriën de *precipitatie van mangaan, speciaal in de organische stof houdende rhizospheer, uitgesloten is.*

Het merkwaardige verschijnsel, dat op den overgang tusschen gezonden kleigrond en gezonden zandgrond vaak haverziekte geconstateerd wordt, laat

¹⁾ *American Journ. of Botany.*, Vol. 20, blz. 621. 1933.

zich aan de hand van de verkregen kennis op eenvoudige wijze verklaren. In de klei treedt geen precipitatie op, doordat het grootste deel van het Mn aan het complex gebonden is en aan microbiologische omzetting onttrokken; in een aantal gevallen is ongetwijfeld tevens de pH voor de precipitatie te hoog.

In den gezonden zandgrond daarentegen kunnen de mangaanbacteriën niet werkzaam zijn, omdat daar de pH te laag is. Op den overgang tusschen klei en zand komen echter tal van pH-gradaties voor, en moet er een zone zijn, die juist voor de microbiologische precipitatie optimaal is. Op deze plaats zullen zich de verschijnselen van haverziekte gemakkelijk voor kunnen doen.

Dat een sterke bemesting met CaO de haverziekte tijdelijk kan doen verdwijnen, terwijl een toevoeging van een even groote hoeveelheid CaCO_3 van geen invloed is, laat zich aan de hand van de verzamelde gegevens eveneens ongedwongen verklaren. Door het CaO wordt de pH van den grond tijdelijk boven de grens gebracht, waarbij de mangaanbacteriën werkzaam zijn, zoodat de mangaanopname van de plant niet belemmerd wordt.

Wanneer echter na verloop van tijd het CaO in CaCO_3 is overgevoerd en daarmede de pH weer gekomen is binnen de optimale zone, kunnen de mangaanbacteriën zich weer ontwikkelen en treedt haverziekte op.

Op grond van deze feiten is het toedienen van CaO, zelfs als tijdelijk geneesmiddel, ten zeerste te ontraden.

Ten slotte wil ik ook op deze plaats aan Dr. M. A. J. GOEDEWAAGEN, botanicus aan het Rijkslandbouwproefstation, mijn dank betuigen voor zijn talrijke raadgevingen op het gebied der plantenphysiologie, waardoor het mij mogelijk is geworden in dit labyrint van physiologische problemen een weg uit te stippelen.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Die Sterilisation Dörrflecken-kranker Böden mittels Formalin hat zufolge dass auf diesen sterielen Böden wieder gesunde Haferpflanzen wachsen können. (Der Mangangehalt des Bodens wird durch die Sterilisation mit Formalin nicht geändert.)

2. Die Neuinfektion von sterilisierten kranken Böden mit 5—10 % des ursprünglichen Bodens führt zum Wiederauftreten der Dörrfleckenkrankheit.

3. In Mn-armen Medien wie Quarzsand, oder Wasserkulturen, welche mit einigen erkrankten Wurzelspitzen oder mit Mischkulturen von verschiedenen Bakterien, aus kranken Wurzeln isoliert, infiziert worden sind, erkranken die Haferpflanzen, während sie in den völlig analogen Kulturen, welche steriel gehalten sind, gesund bleiben, sogar bei einem Mn-Gehalt von 6—10 mg pro kg Trockensubstanz.

4. Durch Hinzufügung von 0,001—0,002 % Germisan- an Mn-armen Wasserkulturen kann man die Entwicklung der Wurzelfäule-bakterien hemmen und das Auftreten der Krankheit unter gewissen Umständen vorbeugen.

5. Die Dörrfleckenkrankheit ist ein kompliziertes Phenomen, dessen Auftreten nicht nur vom Manganmangel bestimmt wird, sondern auch von der An-oder Abwesenheit gewisser Bakterien abhängig ist.

Deshalb gibt es Unterschiede zwischen den Symptomen von reinem physiologischen Manganmangel bei Abwesenheit von Bakterien und von der Dörrfleckenkrankheit.

6. Die Widerstandsfähigkeit der Haferwurzeln gegenüber Bakterien wird vom Mangangehalt der Pflanze bestimmt und dieser Gehalt entscheidet ob gewisse Bakterien entweder als Saprophyten oder als Parasiten zu betrachten sind.

7. Die ammoniakhaltigen Zersetzungsprodukte, von den Bakterien in den Wurzeln Manganarmer Pflanzen produziert, steigen in die Blätter empor und können zum Entstehen typischer Blattflecken Anlass geben.

8. Es hat sich gezeigt dass der Katalase-gehalt der Wurzel erkrankter Pflanzen in vielen Fällen höher ist als derjenige gesunder Pflanzen; was den Oxydasen-gehalt anbelangt, so konnte keine positive Korrelation festgestellt werden.

9. In erkrankten Pflanzen wurden deutlich nachweisbare Mengen Ammoniak aufgefunden. Das Vorkommen von Spuren salpetrigsauren Ver-

bindungen in nitrathaltigen Medien in erkrankten Wurzeln und deren Umgebung steht nur in indirektem Zusammenhang mit der Krankheit und hat für deren Auftreten keine Bedeutung.

10. Das Mangan ist als ein unentbehrlicher Nährstoff (kein Reizstoff) für die Haferpflanze zu betrachten und spielt eine hervorragende Rolle bei den Oxydations-Reduktionsphenomenen, welche während der Kohlensäure-assimilation stattfinden. Mangan-mangel hat eine Verringerung der Photosynthese zufolge, wodurch die Produktion von Blättern, Wurzeln und Körnern herabgesetzt wird; dies ist zugleich die Ursache für die Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit.

11. Die Ueberführung von löslichen Manganverbindungen in unlösliche Mangani-oxyde durch die Mangan-Bakterien des Bodens geschieht nur zwischen bestimmten pH Grenzen ($\pm 6,3-7,8$), welche mit denjenigen des Auftretens der Dörrfleckenkrankheit im Felde übereinstimmen.

13. Das Vorkommen der Dörrfleckenkrankheit in der Übergangszône zwischen gesunden alkalischen Lehm Böden und gesunden sauren Sandböden wird wenigstens zum Teil durch die Mangan-Bakterien verursacht, welche gerade in dieser Übergangszône die richtigen pH Grenzen finden, welche sie für die Präzipitation des Mangans bedürfen.

13. Die Anwendung von Branntkalk zur Bekämpfung der Dörrfleckenkrankheit auf Lehm Böden ist zu entraten. Das zeitliche Verschwinden der Krankheit beruht auf einer Erhöhung des pH über eine Grenze hinaus, wobei die Mangan-Bakterien noch wirksam sind. Sobald der CaO in CaCO_3 übergeführt ist tritt die Krankheit wieder auf.

TAFEL-ERKLÄRUNG.

Abb. 1. Sterilisationsversuch.

1. Dörrfleckenkranker Boden unbehandelt.
2. Mit Formalin sterilisiert.
3. Geringer Erfolg einer Verabreichung von 75 m. gr MnSO_4 pro Gefäß.

Abb. 2. Infektionsversuch.

Steriler Mn-armer Quarzsand, infiziert mit resp. 0, 0,1 %, 0,5 %, 2,5 %, 5 % und 10 % erkranktem Boden.

Abb. 3. Infektionsversuch.

1. Mn-armer Quarzsand, steril.
2. Derselbe infiziert mit 5 % erkrankten Boden.
3. Derselbe als Nr. 1, MnSO_4 hinzugefügt.

- Abb. 4. **Sterile Wasserkultur von Hafer.**
 1. Mn-arme Kultur, steril gehalten.
 2. Dem Kulturmedium 0,5 mgr MnSO_4 hinzugefügt.
 3. Mn-arme Kultur wie Nr. 1, infiziert mit einer aus einer erkrankten Wurzelspitze isolierten Rohkultur von Bakterien.
- Abb. 5. **Die Wurzelsysteme von zwei Mn-armen Pflanzen.**
Links: Einige Wochen nach der Infektion mit einer Mischkultur von 2 Bakterien, welche aus einer erkrankten Wurzel isoliert wurde.
Rechts: Entsprechende Mn-arme Kultur, steril gehalten.
- Abb. 6. **Einfluss eines desinfizierenden Stoffes auf die Entwicklung von Haferpflanzen in nicht steriler Wasserkultur.**
 3. Ursprüngliches Kulturmedium ohne Mn.
 1. Dasselbe mit 0,001 % Germisan.
 2. „ „ 0,002 % Germisan.
 4. „ „ 2 mgr Mn ohne Germisan.
- Abb. 7. **Oben. Wurzelspitzen von nicht sterilen Mn-armen Haferpflanzen in aufeinander folgenden Stadien der Zersetzung.**
- Abb. 8. **Unten. Bakterien-kolonien auf den Wurzelhaaren Mn-armer Pflanzen.**
- Abb. 9. **Wurzelspitze mit Wurzelhaube.**
Links: Aus einer Mn haltenden Kultur, nur wenig Mikroben.
Rechts: Aus einer Mn-armen Wasserkultur, von Zahllosen Bakterien und Pilzen befallen.
- Abb. 10. **Die Entwicklung der Wurzelsysteme von 25 Haferpflanzen in Wasserkultur.**
Links: Mit 1 : 500 000 Mn.
Rechts: Ohne Mn.
- Abb. 11. **Ein auffallender Unterschied zwischen gesunden und Mn-armen Pflanzen.**
 Von rechts nach links: I. Gesunde Blätter von Mn-reichen Pflanzen. II. Gesunde Blätter von Mn-armen Pflanzen. III. Eben erkrankte Blätter von Mn-armen Pflanzen.
Oben: Unmittelbar nach dem Einsetzen in eine 0,1 % ige Phenolrot-Lösung.
Unten: Dasselbe nach Verlauf von 24 Stunden.
- Abb. 12. **Das Entstehen der Blattflecken.**
 Blätter von eben erkrankten Haferpflanzen nachdem sie 24 Stunden im Phenolrot gestanden haben. In den dunkel gefärbten Zellen ist die Reaktion alkalisch ($> 8,2$).
- Abb. 13. **Der Einfluss von einem Einschnitt auf die Verbreitung der Blattflecken.**
Links: Gesundes Blatt, eine Monat nach dem Einschnitt.
Mitte: Krankes Blatt, unter den Einschnitt Blattflecken auf beiden Seiten, darüber nur auf die rechte Seite.
Rechts: Unter den Einschnitt Blattflecken nur links, darüber nur rechts.
- Abb. 14. **Dörrfleckenkrankheit auf Gemischen von Sand und Lehm.**
 Steriler Sand mit steigenden Mengen Lehm gemischt. Von links nach rechts: 0 %, 10 %, 25 %, 50 %, 100 %, und 100 % Lehm mit 0,1 % CaO.
 Nur bei 25 % Lehm sind die Pflanzen erkrankt und haben ein sehr mangelhaftes Wurzelsystem.
- Abb. 15. **Die Precipitation des Mangandioxyds durch Microorganismen.**
 Lehm Boden mit Agar-agar erstarrt. In der Mitte Sand-agar mit 1 % MnSO_4 .
 Nach einer Woche bei 25° entsteht ein brauner Diffusionsring von MnO_2 , welcher bei 0° oder bei Chloroform-Zusatz (*Rechts*) unterbleibt.
- Abb. 15a. *Links*: Bakterienkolonien aus einem derartigen Diffusionsring.
Rechts: Im Mycelium eines Pilzes ist MnO_2 precipitiert worden.
- Abb. 16. **Der Einfluss des pH auf die mikrobiologische Precipitation des Mangans.**
Oben: Lehmagar mit 1 % MnSO_4 Agar in der Mitte. Von l.n.r. steigende Alkalität und abnehmende Precipitation.
Unten: Zunehmender Säuregrad und ebenso schnell abnehmende Precipitation.