

DE GEZONDHEIDSTOESTAND VAN KLAVERZAAD, IN VERBAND MET DE KEURING VAN DIT ZAAD EN DE INVLOED VAN ONTSMETTING OP DEZEN TOESTAND

*Voordracht gehouden tijdens de landbouw-
week te Wageningen 3 t/m 7 Juli 1933.*

Herhaaldelijk hoort men in de praktijk de meening uitspreken, dat de schimmel, die den klaverkanker veroorzaakt, *Sclerotinia trifoliorum* Eriks., met het zaaizaad zou kunnen worden overgebracht. Ofschoon de infectie in hoofdzaak in den grond zetelt, zijn er toch feiten, die er inderdaad op schijnen te wijzen, dat de aantasting ook met het zaaizaad kan overgaan. Als zulke feiten noem ik: het optreden van klaverkanker op velden, waar vroeger nooit klaver of andere leguminosen groeiden en het verschil in aantasting, dat soms waargenomen wordt op parallelvelden, waar naast elkaar klaverzaden van verschillende herkomst zijn uitgezaaid.

Het eerste verschijnsel kan echter ook verklaard worden, doordat men aanneemt een verspreiding van sporen dezer ziekteschimmel door de lucht, terwijl het tweede verschijnsel kan berusten op een verschil in vatbaarheid voor klaverkanker, die klaver van verschillende herkomst eigen kan zijn.

Slaat men de literatuur over deze quaestie na, dan vindt men even dikwijls de meening uitgesproken, dat overbrenging der infectie met zaaizaad wél, als dat deze niet mogelijk moet worden geacht. Naast deze vage veronderstellingen zijn echter enkele positieve gegevens te vinden en het zijn deze, die ik hier wil noemen.

Vóór hiertoe over te gaan, dient er evenwel eerst op gewezen te worden, in welken vorm de besmetting mogelijkerwijze overgebracht kan worden. *Sclerotinia trifoliorum* vormt in de klaverplanten, behalve schimmeldraden en mikrosporen, ook sclerotiën, die meestal op de stengelbasis, soms ook hooger op bladeren of stengels, naar buiten treden.

Nu kan men zich het overbrengen der infectie met het zaaizaad op twee wijzen denken:

1. door de aanwezigheid van sclerotiën tusschen de zaden;
2. door mycelium of sporen in of op de zaadhuid.

Gegevens over de aanwezigheid van sclerotiën tusschen klaver-

zaad, vindt men herhaaldelijk in de literatuur. Met zekerheid zijn door PAPE ¹⁾ sclerotiën van *Sclerotinia trifoliorum* in monsters klaverzaad aan de Biologische Reichsanstalt te Kiel aangetoond. Volgens zijn opgave vond men daar bij het onderzoek van handelszaad tot een maximum van 70 sclerotiën per kg zaad. Men moet aannemen, dat deze sclerotiën bij het dorschen tusschen het zaad zijn terecht gekomen.

PAPE bespreekt in deze publicatie nog twee andere sclerotiënvormende schimmels, die de klaver eveneens kunnen doen uitwinteren, nl. *Mitrla sclerotiorum* ROSTR., welke schimmel, voor zoover bekend, alleen in Denemarken wordt aangetroffen en *Typhula trifolii* ROSTR., die in sommige streken de klaver sterk aantast. In oudere phytopathologische werken ²⁾ vindt men vermeld, dat de klaverkanker, behalve door *Sclerotinia trifoliorum*, ook door beide bovengenoemde schimmels kan veroorzaakt worden.



Sclerotinia trifoliorum Eriks.



Mitrla sclerotiorum ROSTR.



Typhula trifolii ROSTR.

Bij het nagaan van de verschillen, die deze drie schimmels vertoonen, kan het volgende opgemerkt worden. De sclerotiën van *Sclerotinia trifoliorum* zijn zwart, onregelmatig gegroeefd en

¹⁾ PAPE, H.: Das Auswintern des Klees. Mitt. Deutsch. Landw. Ges. XLVI, 12/13, 1931.

²⁾ KIRCHNER, O.: Die Krankheiten und Beschädigungen unserer landwirtschaftlichen Kulturpflanzen, 1906.

vrij groot; op den grond gevallen, vormen zij op het eind van den herfst of ook wel in den winter vruchtlichamen, apotheciën genaamd. Deze apotheciën dragen talrijke asci, waarin zich de ascosporen bevinden, die de infectie verder kunnen verspreiden.

De sclerotiën van *Mitrula sclerotiorum* gelijken in vorm en grootte veel op die van *Sclerotinia trifoliorum*; uit deze sclerotiën ontstaan echter geen apotheciën, doch vleeschkleurige, knotsvormige vruchtlichamen, wier oppervlakte weder bezet is met asci.

De sclerotiën van *Typhula trifolii* zijn geheel anders van uiterlijk dan die der beide vorige schimmels. Zij zijn kleiner (± 1 mm), rolrond, regelmatig geaderd en donkerbruin van kleur. Bij kieming vormen zij eenigszins knotsvormige vruchtlichamen, die aan hun oppervlakte basidiën dragen. *Typhula* behoort dan ook, in tegenstelling met de twee andere schimmels, tot de basidiomyceten. Het feit, dat PAPP in deze mededeeling bovengenoemde drie schimmels in bijzonderheden bespreekt, geeft de zekerheid, dat hij wel degelijk de sclerotiën van *Sclerotinia trifoliorum* heeft gevonden. Dit is daarom van belang, omdat meermalen ten onrechte sclerotiën van *Typhula trifolii* voor die van *Sclerotinia trifoliorum* zijn aangezien. Het is onmogelijk deze vergissing te maken, wanneer men de beide typen van sclerotiën werkelijk kent, want het verschil is zeer groot. (Plaat III, fig. 1).

Worden de sclerotiën van *Typhula trifolii* echter vermeld als de veroorzakers van den klaverkanker, dan kan dit niet bepaald een fout genoemd worden, mits men daarbij het begrip klaverkanker uitbreidt tot de drie bovengenoemde schimmels.

Doch TRUSSOWA¹⁾ wijst erop, dat wel degelijk de fout begaan wordt, sclerotiën van *Typhula trifolii* voor die van *Sclerotinia trifoliorum* aan te zien; zij voegt hier als haar meening aan toe, dat zij de aanwezigheid van sclerotiën van *Sclerotinia trifoliorum* tusschen klavertzaden onmogelijk acht, daar de planten door de ziekte geheel te gronde gaan. Gezien de mededeelingen van PAPP, blijkt deze mogelijkheid echter wel degelijk te bestaan.

En nu het tweede punt, wat betreft het overgaan der infectie direct met de klavertzaden zelve. Dienaangaande is een positieve mededeeling te vinden van N. L. ALCOCK en M. S. MARTIN²⁾.

¹⁾ TRUSSOWA, N.: Zur Frage über die Möglichkeit des Vorfindens von Sclerotien der *Sclerotinia trifoliorum* in Kleesamen (Russisch). La défense des plantes. Leningrad IV, I, 1927. Ref. Bot. Centralb. XII 13/14, 1928.

²⁾ ALCOCK, N. L. en MARTIN, M. S.: A seed-borne disease of Clover (*Trifolium repens* L.). Trans. & Proc. Bot. Soc. of Edinburgh XXX, I, 1928.

Bij zaad van witte klaver, dat in 1927 in Schotland werd ingevoerd uit Midden-Europa en Nieuw-Zeeland, werd een „Dauermyzel” van deze schimmel onder de zaadhuid aangetroffen. Deze schimmel werd in reincultuur gebracht; in de cultuur vormden zich kleine zwarte sclerotiën, waaruit zich later roodachtig-bruine apotheciën ontwikkelden. De maat der asci en ascosporen stemde goed overeen met die van *Sclerotinia trifoliorum*, de apothecien waren wat kleiner dan normaal. Kunstmatige infectie van klaverplanten met deze isolatie lukte echter en zoo staat het wel vast, dat dit witte klaverzaad inderdaad besmet was met mycelium van *Sclerotinia trifoliorum*. Zoowel door de mededeeling van PAPE, als door die van ALCOCK en MARTIN, is het dus bekend, dat de mogelijkheid van overbrenging dezer infectie door het zaaizaad bestaat.

Aan het Rijksproefstation voor Zaadcontrôle te Wageningen werd deze infectie slechts een enkele maal geconstateerd en dat wel in den vorm van sclerotiën. Voor een onderzoek naar den oorsprong van roode klaver worden nl. eenige parallelbepalingen telkens in 125 gram zaad gedaan, bij welke bepalingen alle onkruiden en bijmengsels worden genoteerd. Bij een twintigtal van zulke oorsprong-monsters werd de aanwezigheid van sclerotiën aangeteekend. In verreweg de meeste gevallen bleken dit echter *Claviceps*-sclerotiën te zijn, dus Moederkoren en wel van een klein type, waarschijnlijk afkomstig van grassen, als *Lolium* of andere. In deze *Claviceps*-sclerotiën mag men evenwel allerm minst een gevaar voor de klaver zelf zien, integendeel, *Claviceps* is een vijand der grassen, die als onkruid tusschen de klaver gevonden worden. Bij drie der bedoelde monsters werden voorts *Typhula*-sclerotiën gevonden en dat wel telkens slechts één in 125 gram klaverzaad, terwijl in één monster roode klaver een sclerotium van *Sclerotinia trifoliorum* werd aangetroffen en wel één op 250 gram klaverzaad.

Wat de aanwezigheid van mycelium in de zaadhuid betreft, zoo werd dit aan het Rijksproefstation voor Zaadcontrôle nog nooit geconstateerd, hetgeen echter niet zoo heel veel zegt, daar deze aantasting bij het gewone kiemkrachtsonderzoek waarschijnlijk in den regel aan de aandacht zal ontsnappen. Bij dit onderzoek worden nl. bij de bepaling der kiemenergie (na 3 dagen) alle gekiemde zaden uit de kiembedden verwijderd; het is niet aan te nemen, dat een duidelijke schimmelontwikkeling na zulk een kort tijdsverloop reeds plaats gehad kan hebben. Voor een gezondheidsonderzoek is het wenschelijk zoowel de gekiemde als niet-gekiemde zaden toch minstens een week in de kiembedden te laten liggen. Daar een dergelijk onderzoek voor

klaverzaad tot nu toe slechts bij uitzondering werd aangevraagd, beschikken wij slechts over de resultaten van die onderzoeken, die ter eigen oriëntering werden aangezet. Hoewel bij deze laatstbedoelde onderzoeken herhaaldelijk andere schimmelaantastingen werden gevonden, werd die door *Sclerotinia trifoliorum* nog nooit geconstateerd. Het blijft echter wenschelijk dit aantal onderzoeken, juist met het oog op deze laatste infectie, nog uit te breiden.

Voor het bestrijden der infectie met *Sclerotinia trifoliorum*, voor zoover dit zaaizaad-besmetting betreft, dient men, indien sclerotïën in de partij worden aangetroffen, herhaalde schooning toe te passen, om zodoende te trachten de partij vrij van deze sclerotïën te krijgen. Heeft men met directe besmetting van de zaden zelf te doen, dan is het aangewezen het zaad te ontsmetten vóór uitzaai.

Deze ontsmetting van klaverzaad is niet alleen wenschelijk tegen mogelijke infectie met *Sclerotinia trifoliorum*, maar ook tegen andere schimmelaantastingen, die in de onderzochte monsters klaverzaad aan het Proefstation wel degelijk herhaaldelijk worden aangetroffen. Als zulke infecties noem ik:

Botrytis cinerea PERS.

Botrytis trifolii v. BEYMA.

Fusarium sp.

Macrosporium sp.

Verder vindt men in de literatuur nog aanwijzingen, dat de volgende schimmelinfecties mogelijkterwijls eveneens met het klaverzaad worden overgebracht:

Sphaerulina trifolii ROSTR.¹⁾

Macrosporium sarciniforme CAV.²⁾

Ook is het niet uitgesloten, dat *Gloeosporium caulivorum* KIRCH. met het zaaizaad wordt overgebracht, ofschoon de kans daarop niet groot schijnt te zijn, gezien de resultaten van een nauwgezet onderzoek door WELLENSIEK³⁾ hierover verricht.

Na hetgeen hierboven over de infectiekans van klaverzaden is gezegd, zal het begrijpelijk zijn, dat het gewenscht was den invloed van ontsmetting op dit zaad na te gaan.

Als natontsmetters werden voor deze ontsmettingsproeven

¹⁾ HOPKINS, E. F.: The *Sphaerulina* leaf spot of Clover. *Phytop.* XIII, 1, 1923.

²⁾ GENTNER, G.: Über durch *Macrosporium sarciniforme* Cav. hervorgerufene Erkrankungen der Luzerne und des Klees. *Prakt. Blätter Pflanzenbau und -Schutz* 1918.

³⁾ WELLENSIEK, S. J.: Waarnemingen over de klaverstengelbrand-ziekte. *Tijdschrift over Plantenziekten* XXXII, 10, 1926.

gekozen: Germisan-oplossing en Ceresan-oplossing, beide in een sterkte van $\frac{1}{4}$ %, waarin het zaad 1 uur werd ondergedompeld, waarna het terug werd gedroogd. Als droogontsmetter werd genomen Ceresan-droogontsmetter. Deze proeven werden genomen met een viertal roode en een viertal witte klavers, van welke in den loop van het seizoen bij het kiemkrachtsonderzoek was gebleken, dat zij een vrij sterke schimmelaantasting vertoonden. Bij deze reeks kiemprouven bleek ten eerste, dat van de ontsmetting in den regel geen vertragende invloed op de kieming uitging, integendeel werd de kieming soms vrij aanmerkelijk versneld. Dit kwam uit in het cijfer voor de kiemenergie, d.i. het percentage gekiemde zaden op den derden dag na den aanvang der kiemprouf. Ook de kiemkracht was in de meeste gevallen gestegen na de behandeling (zie tabel). Aanmerkelijk gestegen was ook, op een enkele uitzondering na, het aantal gezonde, normale kiemplanten. Maar wat het meest opviel bij deze proeven was, dat de aanwezige schimmelaantastingen, die in de kiembedden te constateeren vielen, na de ontsmetting geheel verdwenen waren of soms als uitzondering nog in zeer verminderde hevigheid werden aangetroffen. Zonder uitzondering was echter de gezondheidstoestand buitengewoon verbeterd (zie Plaat II, fig. 2 en Plaat III, fig. 3).

Aan deze kiemprouven werden ook uitzaaiprouven in tuingrond verbonden. In het laboratorium genomen, schenen de kiemplantjes al gauw te lijden onder een gebrek aan licht, zoodat zoowel in de bakjes, waarin ontsmette als waarin niet-ontsmette zaden waren uitgezaaid, er verschillende spoedig omvielen. Deze proeven werden daarom voor een deel herhaald in de kas; in den regel waren ook hier de resultaten der ontsmetting gunstig. Het duidelijkst kwam deze gunstige invloed echter uit bij een uitzaaiprouf met roode klaver in bakjes, waarin telkens 400 zaden al of niet ontsmet waren uitgezaaid (zie Plaat IV, fig. 4). Deze bakjes stonden eerst eenigen tijd in de kas, waar zij goed licht hadden. Van het begin af aan was de gunstige invloed der ontsmetting zeer duidelijk zichtbaar, vooral de beide bakjes, waarin nat-ontsmet zaad was uitgezaaid, waren veel beter dan dat met het onbehandelde zaad. Na eenige weken werden deze bakjes buiten gezet en het gunstige resultaat van ontsmetting bleef zeer duidelijk zichtbaar. Vijf weken na uitzaai werden de planten uitgetrokken en geteld. In het bakje met niet-ontsmet zaad was 46% opgekomen; vele van deze planten waren bovendien zwak ontwikkeld. Met droog ontsmet zaad was het resultaat 51% opkomst, waarvan de planten over 't algemeen wat forscher ontwikkeld waren. In de bakjes met nat-ontsmet zaad

($\frac{1}{4}\%$ Ceresan-oplossing en $\frac{1}{4}\%$ Germisan-oplossing gedurende 1 uur) waren successievelijk 64% en 60%, over het algemeen krachtig ontwikkelde planten, opgekomen. Niet alleen in het percentage dus een toename, doch ook in de ontwikkeling der planten was de gunstige invloed, vooral van nat-ontsmetting, zeer duidelijk te zien.

Ofschoon bij deze reeks proeven de indruk van ontsmetting beslist gunstig was, dient hier ook vermeld te worden, dat er bij een reeks ontsmettingsproeven met 25 verschillende monsters roode klaver in 1924 bij enkele dezer monsters een duidelijke daling van het kiemkrachtcijfer te zien was na ontsmetting. De ontsmetting werd toen uitgevoerd met $\frac{1}{4}$ en $\frac{1}{2}\%$ Germisan- en Uspulun-oplossing gedurende 1 uur. Een oplossing van $\frac{1}{2}\%$ bleek te sterk te zijn en kan zeker niet aanbevolen worden. Doch ook oplossingen van $\frac{1}{4}\%$ gaven soms al een daling te zien, hetgeen er op wijst, dat klaverzaad niet steeds ongevoelig is voor ontsmetting. Misschien hangt dit samen met een min of meer beschadigd zijn der zaadhuid, waardoor de ontsmettingsmiddelen te intensief kunnen gaan inwerken. Het is dus wel wenschelijk voor iedere partij een oriënteerend onderzoek te doen, alvorens men tot ontsmetting der geheele partij overgaat.

De ondervinding echter, dit voorjaar met de ontsmetting van klaverzaad opgedaan, is zeker van dien aard, dat deze proeven aan het Proefstation voor Zaadcontrôle zullen worden voortgezet en dat den verbouwers van klaverzaad de raad gegeven wordt ook in de praktijk eens de proef te nemen met deze ontsmetting.

L. C. DOYER.

Wageningen, 28 November 1933.

PLAATVERKLARING

Fig. 1. Links: Sclerotiën van *Typhula trifolii* Rostr. Rechts: Sclerotiën van *Sclerotinia trifoliorum* Eriks.

Fig. 2. Kiemproof met zaad van roode klaver (*f*) door *Botrytis* en *Fusarium* aangetast.

Boven: ontsmet $\frac{1}{4}\%$ Germisan-oplossing 1 uur.

Onder: niet ontsmet.

Fig. 3. Kiemproof met zaad van witte klaver (*c*) door *Fusarium* en *Botrytis* aangetast.

Boven: ontsmet $\frac{1}{4}\%$ Ceresan-oplossing 1 uur.

Onder: niet ontsmet.

Fig. 4. Uitzaaioproef met roode klaver (*h*).

Links: ontsmet met $\frac{1}{4}\%$ Ceresan-oplossing 1 uur.

Rechts: niet ontsmet.

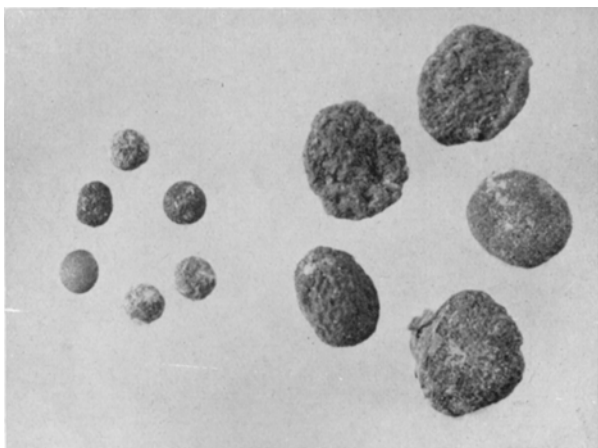


Fig. 1

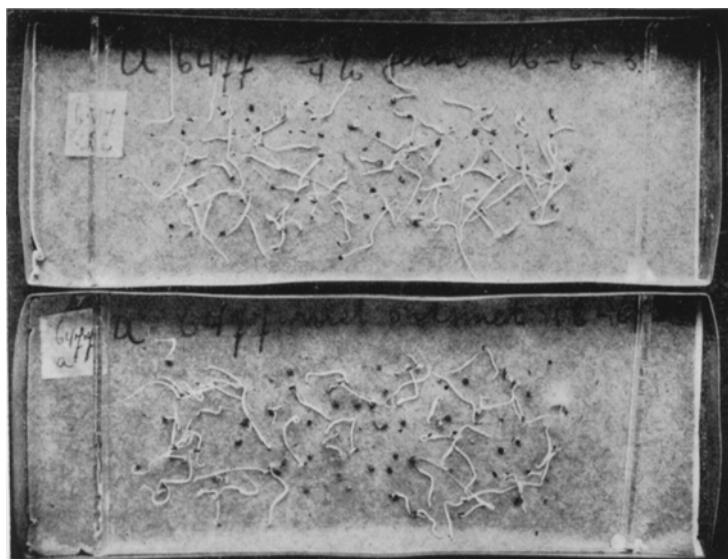


Fig. 2

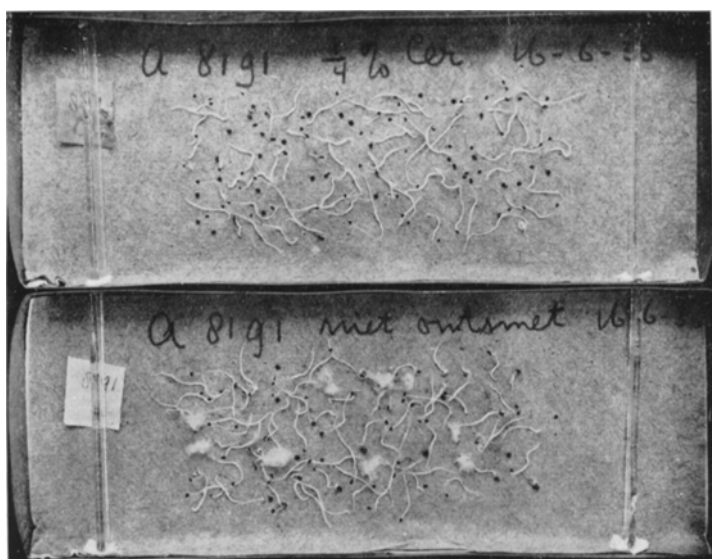


Fig. 3

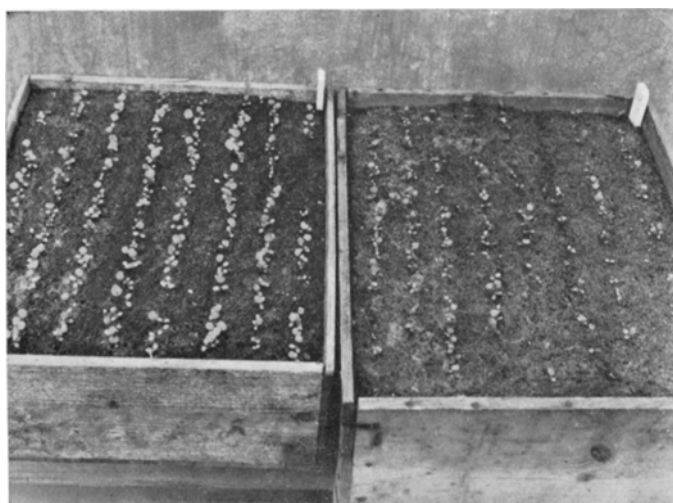


Fig. 4

	WITTE KLAVER <i>a</i>					WITTE KLAVER <i>b</i>				
	kiem-energie	kiem-kracht	gezond	schimmel-aantasting	op-komst-proef	kiem-energie	kiem-kracht	gezond	schimmel-aantasting	op-komst-proef
niet ontsmet	59%	79%	59%	± 3% Fusarium	—	61%	68%	60%	± 6% Fusarium	59%
droog ontsmet Ceresan	66%	81%	67%	0%	—	66%	73%	63%	0%	66%
$\frac{1}{4}$ % Ceresan oplossing 1 uur	65%	84%	75%	0%	—	62%	71%	63%	0%	66%
$\frac{1}{4}$ % Germisan-opl. 1 uur	68%	83%	71%	0%	—	66%	76%	67%	0%	68%
	WITTE KLAVER <i>c</i>					WITTE KLAVER <i>d</i>				
	kiem-energie	kiem-kracht	gezond	schimmel-aantasting	op-komst-proef	kiem-energie	kiem-kracht	gezond	schimmel-aantasting	op-komst-proef
niet ontsmet	73%	82%	74%	± 10% Fusarium en 1% Botrytis	—	62%	70%	64%	± 6% Fusarium	—
droog ontsmet Ceresan	75%	88%	83%	0%	—	62%	77%	66%	0%	—
$\frac{1}{4}$ % Ceresan oplossing 1 uur	70%	85%	79%	0%	—	65%	74%	65%	0%	—
$\frac{1}{4}$ % Germisan-opl. 1 uur	72%	85%	77%	1% Botrytis	—	62%	70%	60%	0%	—
	ROODE KLAVER <i>e</i>					ROODE KLAVER <i>f</i>				
	kiem-energie	kiem-kracht	gezond	schimmel-aantasting	op-komst-proef	kiem-energie	kiem-kracht	gezond	schimmel-aantasting	op-komst-proef
niet ontsmet	56%	66%	59%	± 4% Botrytis	—	68%	73%	58%	± 11% Botrytis ± 3% Fusarium	—
droog ontsmet Ceresan	57%	74%	70%	1% Botrytis	—	77%	85%	79%	0%	—
$\frac{1}{4}$ % Ceresan oplossing 1 uur	56%	68%	65%	0%	—	75%	81%	75%	0%	—
$\frac{1}{4}$ % Germisan opl. 1 uur	61%	73%	71%	0%	—	71%	74%	72%	0%	—
	ROODE KLAVER <i>g</i>					ROODE KLAVER <i>h</i>				
	kiem-energie	kiem-kracht	gezond	schimmel-aantasting	op-komst-proef	kiem-energie	kiem-kracht	gezond	schimmel-aantasting	op-komst-proef
niet ontsmet	84%	80%	70%	± 4% Fusarium	73%	58%	66%	56%	± 9% Botrytis 1% Fusarium	46%
droog ontsmet Ceresan	90%	90%	81%	1% Fusarium	81%	63%	72%	65%	± 3% Botrytis	51%
$\frac{1}{4}$ % Ceresan oplossing 1 uur	85%	87%	80%	± 2% Fusarium	78%	55%	68%	64%	± 2% Botrytis	64%
$\frac{1}{4}$ % Germisan opl. 1 uur	80%	90%	83%	± 2% Fusarium	79%	46%	57%	54%	1% Botrytis	60%