

# Undersøgelser over Bønnebakterioser i Sommeren 1931.

Ved  
Erik J. Petersen.

I Sommeren 1931 hjemsogetes talrige Planterkoler og Gartnerier af en ondartet Bønnesygdom, der ikke tidligere har været kendt her i Landet. Paa Grundlag af orienterende Undersøgelser, foretaget i Slutningen af Juli Maaned af Statens plantepatologiske Forsøg, blev det konstateret, at det formodentlig drejede sig om en Bakteriose. I Slutningen af Juli Maaned udsendtes fra Statens plantepatologiske Forsøg en Rundskrivelse til de førende Frøfirmaer, hvori man anmodede om velvillig Hjælp til Fremskaffelse af Oplysninger vedrørende Sygdommens Natur og Udbredelse. Til Vejledning vedlagdes pressede og tørrede Bønneblade, angrebne af den paagældende Sygdom. Samtidig hermed oversendtes Sagen til Statens Planteavls-Laboratoriums bakteriologiske Afdeling til nærmere Undersøgelse vedrørende de rent bakteriologiske Forhold.

Nærværende Undersøgelse tog saaledes først sin Begyndelse paa et Tidspunkt, da de fleste af de angrebne Arealer allerede var ryddet for Plantebestanden, og paa en enkelt Undtagelse nær, et Forsøgsgartneri ved København, har Forfatteren derfor ikke selv haft Lejlighed til at studere Sygdomsangrebene direkte i Marken. Som Følge af disse Forhold er det paa nærværende Tidspunkt ikke muligt at give fyldestgørende Svar paa alle de Spørgsmaal af teoretisk og praktisk Natur, der knytter sig til Fremkomsten af en for Landet ny Plantesygdom. Undersøgelserne er dog nu ført saa vidt frem, at deres Offentliggørelse formentlig vil være af Betydning til Vurdering og eventuel Imødegaelse af de Angreb, som man vistnok maa være forberedt paa at møde i de kommende Aar.

### I. Sygdomsbeskrivelse.

Det mest karakteristiske Sygdomstegn viser sig paa Bladene, idet der her optræder større eller mindre, som oftest uregelmæssigt begrænsede Pletter, der i de første Stadier udviser nogen Lighed med Mosaiksyge (Tavle I, Fig. 1). I gennemfaldende Lys fremtræder disse Partier oftest med en noget lysere Farve end det omgivende Væv (Tavle I, Fig. 2); senere antager de en gulbrun og sluttelig en ren brun Farve, ofte med mørkere farvet Periferi. Uden om disse Pletter ses i gennemfaldende Lys ofte et delvis affarvet eller gulgrønt Parti, der gaar jævnt over i det normale Bladvæv (Tavle I, Fig. 3). Hyppigt optræder disse Pletter i saa stort et Antal, at Bladene ser ud som svedne af Kulde eller Frost (Tavle II, Fig. 1). Ogsaa Stængler og Bladstilke angribes af Sygdommen, der her optræder som rødlig eller brune, oftest aflange Pletter af tilsvarende Karakter som paa Bladene. Ved tidlige og stærke Angreb naar Planterne ikke at danne Bælge, men samtlige Blade og Blomster visner helt bort, saaledes at kun de nøgne Stængler og Bladstilke bliver tilbage. Saafremt Angrebet først begynder paa et lidt senere Tidspunkt, kan Planterne vel naa at danne Smaabælge, men disse angribes da stærkt, bliver brunplettede eller helt brune og visner bort uden at have dannet Frø.

En mikroskopisk Undersøgelse af de angrebne Plantedele viser, at samtlige Celler er inficerede med korte, stavformede Bakterier, der ofte opfylder hele det Indre af de angrebne Celler.

### II. Isolation — Infektion — Re-Isolation.

Som Grundlag for Isolationsforsøgene benyttedes dels det af Statens plantepatologiske Forsøg indsamlede Herbariemateriale, dels friske Plantedele direkte indsamlet i det ovenfor omtalte Forsøgsgartneri nær København.

Fra det tørrede Plantemateriale udførtes Spredninger paa Kød-Pepton-Agar: De paagældende Plantedele renses først og skylles stærkt under en kraftig Vandstraale, og derefter udgnides de i en Draabe steril Bouillon, hvorfra Spredningen foretages paa sædvanlig Vis (Fortyndingsmetoden). Som det var at vente, fremkommer herved en Del forskellige Koloniformer, af

hvilke dog langt det overvejende Flertal (90 pCt. eller mere) repræsenteres af en temmelig kort, livligt bevægelig Stavform, dannende æggegule, kredsrunde, fugtigt glinsende og slimede Kolonier. For at prøve Virulensen af den saaledes isolerede Bakteriestamme indpodes (ved Stik med en steril Naal) en ringe Mængde af Agarbelægningen fra en et Døgn gammel Kultur paa en Række Bønnebælge (Voks Flageolet) af forskellig Udviklingsgrad. I intet Tilfælde fremkommer imidlertid det ringeste Tegn paa patogen Virkning. Podning paa unge Stængler samt Bladinfektion ved Stik eller Paabrasning med en vandig Bakterieopslemning giver ligeledes negativt Resultat. — Sluttelig udføres Podningsforsøg (Stinkinfektion paa unge Bælge) under Anvendelse af selve de angrebne Plantedele, der udgnides i et Par Draaber sterilt Vand. Til Trods for, at den saaledes fremstillede Opslemning ved en mikroskopisk Undersøgelse viser sig at være overordentlig rig paa Bakterier, giver de dermed udførte Podningsforsøg dog ligeledes negativt Resultat.

Det negative Udfald af Podningsforsøgene kan forklares paa to forskellige Maader. Enten maa det antages, at den isolerede Bakterie virkelig er Aarsag til Sygdommen, men at den under Udtørringen har mistet sine patogene Egenskaber. Eller den egentlige sygdomsforaarsagende Bakterie er helt uddød som Følge af Udtørringen, og den isolerede Bakterieform maa da antages at være en saprofytisk Bakterieart, en »Følgelbakterie«, der har bredt sig stærkt i de allerede tidligere uddøde Vævspartier. Hvilken af disse Tydninger, der er den rigtige, lader sig ikke afgøre paa nærværende Tidspunkt. Den paagældende Bakteriestamme, der opbevares til eventuel senere Sammenligning, er ikke identisk med *Phytomonas phaseoli* saa lidt som med andre af de nedenfor (Side 848) omtalte Bakterierformer.

Undersøgelsen af det friske Plantemateriale udførtes paa ganske tilsvarende Vis. Spredninger fra saavel angrebne Blade som en henvisnende Knop fra en ganske ung Bønneplante resulterede i Fremkomsten af flere forskellige Koloniformer, af hvilke dog nogle straks kunde lades ude af Betragtning som aabenbare Forureninger eller tilfældige saprofytiske Former. Efter en saadan kritisk Gennemgang af samtlige Spredninger reduceredes Antallet af Former, der kunde antages at være Aarsag

til Sygdommen, til tre forskellige Arter, alle sporeløse Smaastave, der vokser ret livligt paa Kød-Pepton-Agar under Dan-nelsen af en hvidlig-gul eller rent gul Belægning. Orienterende Infektionsforsøg (Stikinfection paa halvmodne Bønnebælge) gav for de to af Stammerne stedse negativt Resultat, hvorimod den tredje allerede efter et Par Dages Forløb udviste en meget tydelig patogen Virkning. — Med denne sidstnævnte Bakterie-art udførtes derefter mere indgaaende Infektionsforsøg med følgende Resultat:

**Infektionsforsøg paa Bælge.** Som Plantemateriale benyttedes sunde og veludviklede, ca. 6 Uger gl. Bønneplanter (Voks Flageolet) med Bælge i forskellige Udviklingstrin. Infektionen udførtes ved et let Stik med en steril Staalnaal, indgnedet med lidt af Belægningen fra en ung Agarkultur. Paa enkelte af Bælgene udførtes Kontrolstik med steril Naal. — Efter 2 Døgns Henstand i Drivhus fremkommer paa de med Bakteriekulturen podede Bælge karakteristiske, rustbrune Forraadningspletter, 5—7 mm i Diameter, der i et enkelt Tilfælde helt gennemhuller Bælgvæggen og breder sig til den modstaaende Væg (Tavle I, Fig. 5). En mikroskopisk Undersøgelse af Vævet fra Periferien af de inficerede Pletter viser, at de hændende Cel-ler indeholder talrige Bakterier, der i morfologisk Henseende ganske svarer til den til Forsøget benyttede Bakterieart. Ved Spredning paa Kød-Pepton-Agar fra disse Partier fremkommer allerede efter et Døgns Forløb talrige Kolonier, ganske svarende til Udgangsformen. Fra disse Kolonier anlægges nye Infek-tionsforsøg paa friske Bønnebælge, der ligeledes giver positivt Udfald. Kontrollforsøgene giver derimod stedse negativt Resultat.

**Infektionsforsøg paa Stængler.** Til Podningen benyttedes Be-lægningen fra en et Døgn gl. Agarkultur, der ved en Række lette Stik indpodes paa ganske unge Stængelstykker umiddelbart over de endnu bevarede Kimblade. Allerede efter 2—3 Dages Forløb antager det podede Parti en karakteristisk rød-brun Farve, der de følgende Dage breder sig mere og mere, idet det angrebne Stængelstykke skrumper lidt sammen, an-tager en blødere Konsistens og som oftest sluttelig knækker fuldstændig over (Tavle I, Fig. 4 og 8). Den mikroskopiske Undersøgelse viser, at Infektionen har bredt sig gennem samtlige Vævsdele, saavel transversalt som vertikalt. Angrebet op-

naar dog sjældent en bælteformet Udbredelse, inden Stængelen knækker. Selv efter at de oven over Podestikket beliggende Plantedele helt er bortvisnede, bevarer de paagældende Planter dog stadig deres Vitalitet, idet der fra den tilbageværende Del af Stængelen ofte uddannes nye, normalt udviklede Sideskud (Tavle I, Fig. 6 b). Paa saadanne Planter optræder undertiden efter 1—2 Maaneders Henstand en meget ejendommelig Galle- eller Tumordannelse, udgaaende fra de tilbageblevne Rester af det podede Stængelstykke. Fænomenet er iagttaget saavel i Tilfælde, hvor Stængelen er helt knækket og Toppen visnet bort (Tavle I, Fig. 6 b), som ved noget lettere Angreb, hvor Stængelen vel er stærkt angrebet uden dog derfor at være knækket fuldstændig (Tavle I, Fig. 6 a). — Re-Isolation fra Periferien af de angrebne Stængelstykker foretages med samme Lethed som fra Bælgene. Samtlige Kontrollforsøg giver negativt Resultat.

**Infektionsforsøg paa Blade.** Forsøgene udførtes under Anvendelse af ganske unge Bønneplanter (Voks Flageolet), der inden Forsøgets Paabegyndelse havde henstaaet i to Døgn under en Glasklokke, der indvendig var beklædt med fugtigt Filtreppapir. Til Infektionen benytttes en vandig Opslemning af en et Døgn gl. Agarkultur, der i fin Draabeform paasprøjtes Bladenes Over- og Underside ved Hjælp af et af de sædvanlige Forstøvningsapparater. De saaledes inficerede Planter henstaar yderligere i to Døgn under Glasklokken, hvorefter de anbringes frit i Væksthuset. — I dette Tilfælde foregaar Infektionen aabenbart noget vanskeligere. Til Trods for, at Forsøget udførtes gentagne Gange, gav det kun i to Tilfælde positivt Resultat, idet der efter 2—3 Ugers Forløb paa enkelte af Bladene fremkom brunlige Pletter, fra hvilke det lykkedes at rendyrke den til Infektionen benyttede Bakterieform. Det skal dog bemærkes, at de angrebne Partier under disse Forhold hverken opnaar samme Størrelse eller Antal som frit i Naturen. — I enkelte Tilfælde er der opnaaet et positivt Resultat ved at udgnide nogle Draaber af en Bakterieopslemning paa Bladene, hvorefter Planterne henstilles under fugtig Glasklokke. Angrebene viser sig efter 4—6 Dages Forløb i Form af gulgraa, visnende Pletter (Tavle I, Fig. 7), men ifølge Sagens Natur opnaas her ikke det for de naturlige Infektioner karakteristiske Sygdomsbillede.

Aarsagen til, at den eksperimentelle Spalteabningsinfektion kun giver ret ringe Udslag, maa formodentlig søges i forskellige ydre Betingelser. I Naturen vil Planten jo som oftest være udsat for flere paa hinanden følgende Infektioner, forårsaget af Dugdraaber, der fra allerede angrebne Bladpartier er i Stand til at brede Smitten videre til Nabolokaliteter, eller gentagne kraftige Regnskyl kan sprøjte den med Bakterierne inficerede Jord over paa friske Blade. Ogsaa Insektangreb vil kunne medvirke til Udbredelse af Smitten (sml. *Buchanan* 1932). Og endelig maa det fremhæves, at den eksperimentelt fremkaldte Spalteabningsinfektion ved Paabrusning ifølge andre Iagttagelser ofte giver ret lunefulde Resultater. Eksempelvis skal nævnes, at *Burkholder* (1926) angiver, at *Phytomonas medicaginis* var. *phaseolicola* ikke er i Stand til at fremkalde Spalteabningsinfektion til Trods for, at Iagttagelserne i Marken netop synes at tyde paa, at denne Infektionsmaade er af største Betydning i Naturen. Senere er det da ogsaa lykkedes *Zaumeyer* (1930) at fremkalde en eksperimentel Spalteabningsinfektion med den paagældende Bakterie. Endvidere skal nævnes, at nyere Undersøgelser af *Lehmann* (1931) har vist, at Udfaldet af en Spalteabningsinfektion hos Sojabønne, inficeret ved Paabrusning med *P. phaseoli sojense*, er afhængig af Blade-nes Alder, idet Resistensen forøges med Alderen. Ogsaa Temperaturen spiller en Rolle, idet Infektionen lykkes bedst ved ca. 30° C. Ved Temperaturer svingende mellem 15 og 25° C. opnaas ingen eller kun ringe Infektion. — Hele Spørgsmaalet om Spalteabningsinfektion er saaledes af ret kompliceret Natur.

Som Hovedresultat af Infektionsforsøgene fremgaar, at den paagældende Bakterie er i Besiddelse af stærkt udtalte plante-patogene Egenskaber. Da den endvidere let kan re-isoleres fra de kunstigt inficerede Plantedele, er Ringen »Isolation — Infektion — Re-Isolation« hermed sluttet.

Da der i Hovedtrækkene er god Overensstemmelse mellem de fra forskellig Kilde hidrørende Oplysninger vedrørende Angrebene i Marken og mine egne Iagttagelser i det tidligere omtalte Forsøgsgartneri, er der overvejende Sansynlighed for, at samtlige Angreb er af ensartet Karakter og alle forårsaget af

een og samme Bakterieart. — Den saaledes foretagne Generalisering sker dog ikke uden en vis Reservation, idet der i Litteraturen foreligger talrige Eksempler paa, at der i en enkelt Bønnebevoksning ofte kan optræde parallelt forløbende Angreb af to eller flere af de nedenfor beskrevne Bakterierformer, hvorved hele Sygdomsbilledet antager en mere kompliceret Karakter. Sml. Efterskriften Side 854.

### III. Den sygdomsforaarsagende Bakterie.

Da den paagældende Bakterie, der i det følgende betegnes som »*Phytomonas X*«, vistnok ikke tidligere har været beskrevet, skal i det følgende gives en mere indgaaende Beskrivelse af dens vigtigste morfologiske og biologiske Egenskaber.

#### 1. Morfologiske Karaktertræk.

Cellerne er typisk stavformede med afrundede eller svagt tilspidsede Cellepoler, lejrede enkeltvis eller parvis (Tavle II, Fig. 4—5). De farves let af de basiske Anilinfarvestoffer (Fuksin, Metylenblaat o. a.). De er gramnegative og ikke syrefaste.

I et Døgn gl. Kulturer paa Kød-Pepton-Agar antager Cellerne følgende Dimensioner (Resultat af 114 Enkeltmaalinger i et tyndt Kollargol-Præparat):

	Middeltal	Maks.	Min.
Længde .....	2.3 $\mu$	3.5 $\mu$	1.3 $\mu$
Diameter.....	0.8 $\mu$		

I ældre Kulturer aftager Cellerne dog betydeligt i Længde og nærmer sig en kort Ellipsoidform. — Undtagelsesvis fremkommer enkelte tøndeformet opsvulmede Celler eller længere Traadformer.

I de først isolerede Originalkulturer fandtes i et Døgn gl. Agarkulturer et forholdsvis stort Antal bevægelige Celler forsynede med 1 eller 2 polære Cilier, der farves let under Anvendelse af *Zettnows* Ciliifarvningsmetode. I Løbet af nogle Maaneder gik Evnen til at danne Cilier dog gradvis tabt, saaledes at Bakterien ved Afslutning af nærværende Undersøgelse fremtraadte som en fuldstændig ubevægelig Bakterieart, der i øvrigt i samtlige andre Karaktertræk var i fuldstændig Overensstemmelse med den oprindelige Stamkultur.

Nogen Kapseldannelse forekommer ikke; ofte undergaaer dog det ydre Lag af Cellevæggen en mere eller mindre stærk Forslimning (navnlig ved Dyrkning paa Druesukker-Agar), uden at man dog kan tale om en »Kapseldannelse« i Ordets sædvanlige Betydning.

## 2. Kulturelle Karaktertræk.

**Agar-Streg.**<sup>1)</sup> Paa Kød-Pepton-Agar er Væksten ret god, glat stregformet men ved stærkere Podning bredende sig over det meste af Agarfladen. Belægningen er ret flad, fugtigt glinsende med jævn Overflade. Farven er i tykkere Lag graalig-gul, i gennemfaldende Lys med svag Fluorescens. Efter nogle Dages Henstand afbleges Kulturen dog kendeligt, og Belægningen bliver nærmest transparent. Paa 1 pCt. Druesukker-Agar er Væksten yppigere og den slimede Belægning nedglidende ad den skraa Agarflade. Farvestofdannelsen er her meget stærkere fremtrædende: i unge Kulturer er selve Bakteriebelægningen af en snavset, grønlig-gul Farve og Agar-substratet gult med svag grønlig Fluorescens. Ogsaa i dette Tilfælde afbleges Kulturerne dog noget med Alderen, saaledes at de efter ca. 3 Dages Forløb fremtræder med en transparent, vandet eller tyndslimet Belægning og graalig Kondensvandsvækst, der senere — navnlig i de dybere beliggende Partier — antager en tydelig rødbrun Farve, ligesom Agarsubstratet fremtræder med en mørkere, brunlig Farvetone.

**Gelatinestik** (20° C.). Efter 2 Dage: Svag Overfladevækst omkring Podestikket og ringe eller ingen Vækst i de dybere liggende Partier. Tydelig Gelatinesmeltning, begyndende efter ca. 2 Døgn Forløb som en svag skaalformet Fordybning, der senere bliver kraterformet og sluttelig (efter ca. 1 Uges Forløb) breder sig gennem hele Reagensglasset. Ingen Farveændring af Gelatinen.

**Agarkolonier.** Ved Spredning paa Kød-Pepton-Agar fremkommer allerede efter 24 Timers Forløb en makroskopisk

<sup>1)</sup> Hvor intet andet anføres, er Dyrkningsforsøgene udført ved 25° C og under Anvendelse af *Difcos* Standard-Næringssubstrater. Den fuldstændige Beskrivelse saavel som den benyttede Terminologi er i Overensstemmelse med »Manual of Methods«, udarbejdet og udgivet af »Society of American Bacteriologists«, samt det af samme Selskab udgivne »Descriptive Chart«.



**Kolonidannelse.** Dybdekolonierne er linseformede, de unge Overfladekolonier cirkulære, flade eller svagt konvekse; de har glat, jævn Overflade, glat Rand, finkornet indre Struktur, smøragtig eller slimet Konsistens og gulgraa Farve. Efter yderligere nogle Dages Forløb tiltager Kolonierne i Størrelse (3—5 mm i Diameter), den bølgede Periferi bliver noget mere fremtrædende og den indre Tegning traadagtig eller »marmorert«, ofte med koncentriske Ringe. Med Alderen afbleges Kolonierne og bliver fladere, medens samtidig den koncentriske Tegning bliver mere fremtrædende og sluttelig antager Karakter af en perifer Ringvolddannelse (Tavle II, Fig. 2 og 3).

**Gelatinekolonier.** Ret hurtig Vækst ved 20° C. Kolonierne cirkulære, efter 5 Dage 5—10 mm i Diameter, helrandede og med finkornet Struktur. Kraterformet, senere skaalformet Smeltning.

**Bouillon.** Ingen Overfladevækst, men allerede efter 18—24 Timers Forløb en tydelig diffus Plumring, der 4—6 Dage senere giver Anledning til Dannelsen af et lille homogent eller finkornet Bundfald. Kulturen er ganske lugtløs.

**Kartoffel.** God Vækst under Dannelse af en vel afgrænset, fugtig og ret flad Belægning af graalig-gul Farve. Kartoffelstykket undergaar ingen væsentlige Forandringer, hverken med Hensyn til Farve eller Konsistens.

**Mælk.** Efter 2—3 Døgns Forløb iagttages en ringe Hinde-dannelse. Ingen Koagulation men en forholdsvis stærk Peptonisering. Mælk med Tilsætning af Brom-Kresol-Purpur udviser de første Peptoniseringstegn efter 4—5 Dages Forløb, og 3—4 Uger senere er Mælken omdannet til en klar purpurviolet eller vinrød Vædske med et mindre Bundfald. Reaktionsændringerne bestemmes elektrometrisk under Anvendelse af *Büilmanns* Kinhydronelektrode og 3 Fællesbestemmelser med følgende Resultat:

Reaktion i upodede Kontrolglas:  $p_H$  6.2  
do. i 3 Uger gl. Kulturer:  $p_H$  7.7

### 3. Fysiologiske Egenskaber.

Forholdet over for Temperaturen. Undersøgelser over Temperaturens Indflydelse paa Væksten udføres under Anvendelse af Bouillonkulturer samt Kulturer paa 1 pCt. Dekstrose-Agar, der podes svagt (een Normaløsken fra en et Døgn gl. Bouillonkultur) og henstilles i to Døgn i Termostater ved de paagældende Temperaturer.<sup>1)</sup>

Forsøgene giver følgende Resultater (Krydsenes Antal angiver Vækstintensiteten):

	3—5°	7—8°	16—18°	20°	25°	30°	35°	38°	42°
D-Agar ..	÷	x	xx	xxx	xxx	xxx	xx	x(?)	÷
Bouillon	÷	x	xxx	xxx	xxx	xxx	xx	x(?)	÷

Det fremgaar heraf, at Minimum for Vækst ligger mellem 5 og 7° C., medens Maksimumsværdien ligger saa lavt som mellem 38 og 42° C. Der synes ikke at være nogen skarpt afgrænset Optimumsværdi, men »Bonalvidden« spænder fra ca. 15 til 30° C.

Til Undersøgelse af Bakteriens Termoresistens benyttes tyndvægede Dværg-Reagensglas (Agglutinationsglas), indeholdende 0.5 cm<sup>3</sup> af en fysiologisk Kogsaltopløsning, hvori er opslemmet en saa ringe Mængde af Belægningen fra en et Døgn gl. Agarkultur, at Vædsken netop antager et svagt mælket Udseende. Glassene nedsænkes sammen med et Termometer i 10 Minutter i en Dewar-Flaske helt fyldt med Vand af den ønskede Varmegrad. Umiddelbart efter Optagelsen herfra skylles Glassene hurtigt under koldt, rindende Vand, hvorefter der med en steril Pipette overføres 5 Draaber i henholdsvis almindelig Difco-Bouillon og 1 pCt. Dekstrose-Agar. Efter 5 Dages Henstand ved 25° C. undersøges de saaledes podede Glas med følgende Resultat:

Begyndelsestemp., C.°....	40	41	42	43	44	45	46	47	48
Sluttemperatur, C.°.....	40.0	41.0	42.0	43.0	43.9	44.9	45.8	46.9	47.7
Vækst paa D-Agar.....	xxx	xxx	xxx	xx	xx	xx	÷	÷	÷
Vækst i Bouillon.....	xxx	xxx	xxx	xxx	xx	xx	÷	÷	÷

<sup>1)</sup> Temperaturerne under 20° C. repræsenterer kun Tilnærmelsesværdier, idet de ønskede Forsøgsbetingelser her er opnaaet ved at anbringe Kulturerne sammen med et Termometer i dobbeltvægede, bomuldslukkede Cylinderglas, der henstilles i forskellige Kælderrum eller nedgraves i det Fri i fugtig Havejord (3—5° C.). — Forsøgene er udførte i Begyndelsen af December Maaned). Temperaturen, der aflæses Morgen og Aften, er under disse Forhold nogenlunde konstant.

Det fremgaar heraf, at Temperaturen i Dewar-Flasken under denne kortvarige Forsøgsperiode ikke undergaar noget væsentligt Fald. — Et Kontrollforsøg, udført ved  $48^{\circ}$  C., med et Termometer stukket ned i et af Reagensglassene, viser, at Bakterieopslemningen under disse Forhold allerede efter ca.  $1\frac{1}{2}$  Minuts Forløb antager den ønskede Temperatur (efter 10, 20, 40, 60 og 100 Sekunders Opvarmning konstateres Temperaturer paa henholdsvis 37, 41, 46, 47 og  $48^{\circ}$  C.<sup>o</sup>).

Dræbningstiden for unge vegetative Celler kan herefter ansættes til ca.  $46^{\circ}$  C. i 10 Minutter.

**Forholdet over for Ilt.** Som ovenfor omtalt, foregaar der kun en meget ringe Vækst i de dybere liggende Partier af Gelatinestikket. Til nærmere Belysning af Iltkrauet anlægges Kulturer paa saavel almindelig Nærings-Agar som Dekstrose-Agar (2 Glas af hvert Substrat), der anbringes i lukkede Beholdere, fra hvilken Ilten fjernes paa sædvanlig Vis ved Hjælp af Pyrogallussyre (1 g Pyrogallussyre +  $10\text{ cm}^3$  10 pCt. KOH pr.  $100\text{ cm}^3$  Luftrumfang). Efter 10 Dages Henstand ved  $25^{\circ}$  C. udtages Glassene af Beholderen til nærmere Undersøgelse. I intet af Glassene iagttages dog den ringeste Vækst. Bakterien er altsaa typisk obligat aerob.

**Forholdet over for Brintionkoncentrationen.** Til nøjere Bestemmelse af Kardinalpunkterne for Vækst ved forskellige  $p_{\text{H}}$ -Værdier benyttes den sædvanlige Difco-Bouillon med Tilsætning af 1 pCt. Mannit. Substratets naturlige Stødpudevirkning forøges yderligere ved Tilsætning af 0.5 pCt.  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  + 0.5 pCt. sek. Natriumcitrat. Af det saaledes fremstillede Substrat optages paa sædvanlig Vis en elektrometrisk Titreringskurve (under Anvendelse af *Bilmanns* Kinhydronelektrode). Brintionkoncentrationen varieres derefter ved til afpipetterede Portioner af Substratet at sætte de Syre- resp. Basemængder, der ifølge Titreringskurven netop er i Stand til at fremkalde de ønskede  $p_{\text{H}}$ -Værdier<sup>1)</sup>. Sterilisationen foretages derefter ved steril Filtre-

<sup>1)</sup> Der maa dog her selvfølgelig drages Omsorg for, at der i alle Tilfælde opnaas samme Koncentration af de egentlige Næringsstoffer, hvilket bedst sker ved i samtlige Portioner at fortynde den tilsatte Mængde Syre eller Base med destilleret Vand til et og samme Rumfang, f. Eks.  $5\text{ cm}^3$ . Eksempelvis faar de to Portioner af Substratet, der skal have en Syretilsætning af henholdsvis 0.25 og  $3.50\text{ cm}^3$ , altsaa samtidig en Tilsætning af 4.75 resp.  $1.50\text{ cm}^3$  destilleret Vand.

ring gennem et *Seitz's* »E. K.-Filter«, monteret paa *Maassens* Aftapningsapparat. Ved selve Filtreringen, der gennemføres paa faa Minutter, anvendes et Undertryk paa ca.  $\frac{1}{2}$  Atm., og den saaledes steriliserede Vædske aftappes umiddelbart derefter paa sterile Reagensglas, der henstilles til Kontrol ved  $25^{\circ}$  C. i 10 Dage. Herefter udtages for hver  $p_H$ -Værdi to Glas til Bestemmelse af Begyndelsesreaktionen. Som det fremgaar af nedenstaaende Sammenstilling, afviger de saaledes maalte Reaktions-tal ikke væsentlig fra de paa Grundlag af Titreringskurven beregnede. De øvrige Glas (2 eller 3 for hver  $p_H$ -Værdi) podes svagt fra en et Døgn gl. Agarkultur og henstilles i Termostat. Efter 10 Dages Forløb foretages den sammenlignende Bedømmelse af Væksten i de forskellige Glas, og Slutningsreaktionen bestemmes elektrometrisk. Forsøget giver følgende Resultater<sup>1)</sup>:

Beregnete $p_H$ -Værdier ..	8.4	8.0	7.7	7.4	7.0	6.7	6.4	5.7	5.4	5.0	4.7
Fundne $p_H$ -Værdier .....	8.4	8.2	8.0	7.6	7.3	6.8	6.4	5.8	5.3	5.1	4.6
Vækst efter 10 Dage ....	x(x)	x(x)	x(x)	x(x)	xx	xx	xxx	xxx	xx	x	÷
$p_H$ efter 10 Dage .....	(9.1)	(8.9)	(8.6)	(8.6)	8.4	7.6	7.1	6.7	6.1	4.9	4.5

Det fremgaar heraf, at der under Væksten foregaar en ret tydelig Reaktionsforskydning i alkalisk Retning. Den optimale Zone for Vækst ligger mellem  $p_H$  6.4 og 5.7, altsaa ret lavt. Minimumsværdien er beliggende ved  $p_H$  5.0, medens den maksimale Grænseværdi endnu ikke er naaet ved  $p_H$  8.4.

**Syreagglutination.** Som bekendt bliver mange Bakteriearter udfnugget eller »agglutineret« af en homogen Opslemning, naar dennes Surhedsgrad antager en bestemt  $p_H$ -Værdi, der er forskellig for de forskellige Bakteriearter. — Til nærmere Belysning af dette Forhold, der i visse Tilfælde kan være af Betydning for den diagnostiske Bakteriesystematik, benyttes følgende af *Michaelis* (1923) angivne Metodik:

De til Forsøget anvendte Stødpudeblandinger fremstilles efter følgende Skema:

n Na-acetat, cm <sup>3</sup> ...	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
n/10Eddikesyre, cm <sup>3</sup>	0.75	1.5	3.1	6.2	—	—	—	—	—	—	—
n do.	—	—	—	—	1.25	2.5	5	10	20	40	80
Vand .....	94.25	93.5	91.9	88.2	93.75	92.5	90	85	75	55	15
$p_H$ -Værdi .....	6.5	6.2	5.9	5.6	5.3	5.0	4.7	4.4	4.1	3.8	3.5

<sup>1)</sup> Krydsenes Antal angiver Vækstintensiteten. De i Sammenstillingen opførte  $p_H$ -Værdier repræsenterer Middeltallet af Maalingerne i samtlige Parallelglas. Reaktionstallene i de podede Reagensglas med de højeste  $p_H$ -Værdier tør kun betragtes som Tilnærmelsesværdier.

Forsøgene udføres under Anvendelse af et Døgn gl. Agarkulturer, opslemmet i destilleret Vand, der aspippettes i en Række Reagensglas med 2.5 cm<sup>3</sup> Bakterieopslemning pr. Glas. Til hvert af Glassene sættes yderligere 1 cm<sup>3</sup> af en af de ovenfor nævnte Stødpudeblandinger, og samtlige Glas henstilles til Iagttagelse ved 25° C. — Selv efter 24 Timers Forløb er der dog ikke i noget af Glassene foregaaet en egentlig Agglutination, hvorimod der overalt ses en typisk Sedimentering af de tilsatte Bakterieceller.

**Vækst i syntetiske Næringsopløsninger.** Undersøgelsen udføres under Anvendelse af henholdsvis *Uschinskys*, *Cohns* og *Fermis* Næringsopløsninger<sup>1)</sup>. Af hvert Substrat podes 2 Glas, og Bedømmelsen af Væksten foregaaer efter henholdsvis 5 og 10 Dages Forløb med følgende Resultat:

	5 Dage	10 Dage
Uschinskys Opløsning.....	÷	÷
Cohns do. ....	(x)	(x)
Fermis do. ....	xx	xxx

Som det ses, foregaaer der overhovedet ingen Udvikling i *Uschinskys* Opløsning, og i *Cohns* Opløsning er Væksten kun meget ringe. Derimod er Væksten i *Fermis* Opløsning særdeles kraftig og karakteristisk: allerede efter 1—2 Døgn Forløb optræder en diffus, mælket Plumring, der de følgende Dage tiltager stærkt, idet Vædsken samtidig antager en meget tydelig gulgrøn Farve. Ved længere Tids rolig Henstand fremkommer en gulgrøn, temmelig løs Hinde samt et voluminøst, slimet Bundfald.

**Farvestofdannelse og Fluorescens.** Som ovenfor omtalt, dannes paa de sædvanlige Agarsubstrater en snavset, graagul Belægning, der ved en mikroskopisk Undersøgelse viser sig fuldstændig fri for udskilte Pigmentkorn. Paa Kød-Pepton-

<sup>1)</sup> *Uschinskys* Opløsning: NaCl 5 g, CaCl<sub>2</sub> 0.1 g, MgSO<sub>4</sub> 0.2 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2.0 g, Glycerin 30.0 g, Am. laktat 6.0 g, Natriumasparaginat 3.0 g og Aq. dest. 1000 cm<sup>3</sup>.

*Cohns* Opløsning: Ammoniumtartrat 10.0 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 5.0 g, KCl 0.5 g, MgSO<sub>4</sub> 5.0 g, Aq. dest. 1000 cm<sup>3</sup>.

*Fermis* Opløsning: MgSO<sub>4</sub> 0.2 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 10.0 g, Glycerin 45.0 g, Aq. dest. 1000 cm<sup>3</sup>.

Agar, der sædvanligvis benyttes som »Standardsubstrat«, iagttages kun meget svage og usikre Spor af Fluorescens. Spørgsmaalet om Forekomsten af et vandopløseligt, fluorescerende Farvestof, der er af Betydning for den systematiske Gruppeinddeling af *Phytomonas*-Arterne, lader sig imidlertid ikke besvare med Sikkerhed paa Grundlag af Væksten i et enkelt Substrat, idet denne Egenskab i Almindelighed er af meget labil Karakter. Ifølge de nyeste Undersøgelser af *Georgia* og *Poe* (1932) kan een og samme Bakterieart endog være snart stærkt fluorescerende, snart ganske mangle denne Egenskab, alt efter Sammensætningen af det benyttede Peptonpræparat. Selv forskellige Handelspartier af samme Præparat, stammende fra samme Fabrik, kan med een og samme Bakterie give indbyrdes afvigende Resultater.

Da Tilstedeværelsen af passende Magnium- og Fosforforbindelser saavel ifølge ældre Erfaringer (sml. f. Eks. *Benecke* 1912) som de ovennævnte Undersøgelser af *Georgia* og *Poe* er af afgørende Betydning for Fremkomsten af Fluorescens, udførtes en ny Forsøgsrække efter følgende Plan:

1. Difcos Kød-Pepton-Agar
2. » » + 0.5 pCt.  $K_2HPO_4$
3. » » + 0.2 »  $MgSO_4$
4. » » + 0.2 »  $MgSO_4$  + 0.5 pCt.  $K_2HPO_4$

Glassene podes ensartet og henstaar ved 25° C. i 5 Dage under stadig Tilsyn. De tilsatte Stoffer udøver imidlertid ingen kendelig Virkning hverken m. H. t. Vækst eller Fremkomsten af Fluorescens.

Til Trods for det negative Udfald af disse Forsøg maa den foreliggende Bakterie dog utvivlsomt betegnes som fluorescerende. Paa det til Forsøgene benyttede Præparat af *Difcos* Druesukker-Agar iagttages en svag men dog uomtvistelig Fluorescens, ligesom den brunlige Farve, der optræder i ældre Kulturer, jo ligeledes er et hos de fluorescerende Bakterier almindeligt forekommende Fænomen. I *Fermis* Opløsning er Fluorescensen endelig hævet over enhver Tvivl; ved stærk Centrifugering af 10 Døgn gl. Kulturer faas et graalig-gult Bundfald af Bakterieceller samt et ovenstaaende, ganske klart, cellefrit Lag med meget tydelig grønlig Fluorescens.

**Enzymatiske Egenskaber.** Som allerede tidligere omtalt, er Bakterien i Stand til at smelte Gelatine og peptoniserende i Mælkekulturer.

Til Undersøgelse for Diastasedannelse anlægges Stregkulturer i almindelige Petriskaaale, indeholdende *Difcos* Stivelses-Agar. Efter 3, 5 og 10 Dages Forløb prøves Diastasedannelsen ved Paahældning af Jod-Jodkalium; en eventuel Diastasedannelse vil da vise sig ved Fremkomsten af en klar, ufarvet Zone omkring Bakteriebelægningen, medens de ubevoksede Partier af Agarfladen antager en dyb blaasort Farve. — En saadan ufarvet Randzone fremkommer imidlertid ikke, og Bakterien er altsaa ikke i Besiddelse af diastasedannende Egenskaber.

**Forgæringsforhold.** Forsøgene udføres i de saakaldte Durhamrør, bestaaende af et almindeligt Reagensglas (Jenaglas), indeholdende et Dværg-Reagensglas, hvilende i omvendt Stilling paa Bunden af det større Glas, saaledes at de under Forgæringen dannede Luftarter delvis vil blive opsamlede i Toppen af Dværg-Reagensglasset. Som Næringssubstrater benyttes *Difcos* Standardpræparater med Tilsætning af Fenolrødt.

Allerede efter et Par Døgn's Forløb er der stærk Vækst i samtlige Glas. Kulturernes Reaktionstal før og efter Forsøget bestemmes elektrometrisk under Anvendelse af *Bilmanns* Kynhydronmetode. Forsøgsresultaterne fremgaar af nedenstaaende Sammenstilling:

	d-Glu- kose	Lak- tose	Saccha- rose	Mal- tose	Man- nit
Luftudvikling. ....	÷	÷	÷	÷	÷
pH-Værdi ved Forsøgets Begyndelse ...	7.4	7.4	7.4	7.5	7.3
pH-Værdi ved Forsøgets Afslutning ...	7.1	8.0	8.0	7.9	7.6
Reaktionsændr. tydelig efter Ant. Døgn —	—	3	3	3	—

I intet Tilfælde iagttages nogen Luftudvikling, og med Undtagelse af Glukose-Bouillon er der sket en tydelig Reaktionsforskydning i alkalisk Retning, formentlig hidrørende fra, at Bouillonens kvælstofholdige Bestanddele sønderdeles under Dannelsen af Ammoniak, der kan paavises i samtlige Glas ved Hjælp af *Nesslers* Reagens. Naar Reaktionstallet ikke desto mindre er dalet tydeligt i Kulturerne med Druesukker Bouillon, maa der her være foregaaet en Syreproduktion, der har mere end opvejet Ammoniakdannelsen. — For at fremskaffe et kvantitativt Maal for denne Syredannelse anstilles et nyt Forsøg

under Anvendelse af Portioner paa 50 cm<sup>3</sup> af henholdsvis almindelig Bouillon og 0.5 pCt. Druesukker-Bouillon. Der benyttes 5 Parallelkolber, som henstaar i 5 Dage ved 25° C., hvorefter der foretages Titring under Anvendelse af Bromthymolblaat som Indikator; Middeltallet af Titertallene fra Kolberne, indeholdende almindelig Bouillon (der altsaa er et Udtryk for den i samtlige Kolber foregaaede Ammoniakdannelse), indføres som Korrektion paa Titertallene i Druesukker-Bouillon. Det saaledes korrigerede Forsøg giver følgende Resultat:

I alm. Bouillon: Alkalidannelse ... 0.8 cm<sup>3</sup> n/10 NaOH pr. 50 cm<sup>3</sup> Substrat  
 I Drues.-Bouillon: Syredannelse.. 1.7 » » HCl » 50 » »

Korrigeret Syredannelse

i Druesukker-Bouillon:  $0.8 + 1.7 = 2.5$  cm<sup>3</sup> n/10 HCl. pr. 50 cm<sup>3</sup> Substrat

**Reduktionsprocesser.** Til Undersøgelse af Evnen til Nitratreduktion benyttedes Stik- og Stregkulturer paa *Difcos* Nitrat-Agar samt Kulturer i Durhamrør med 0.1 pCt. Salpeterbouillon. Forsøgstid: 5 Dage ved 25° C. Hverken i Agarkulturerne eller i Durhamrørene iagttages den ringeste Luftudvikling. Undersøgelsen for Nitrit, foretaget med *Gries'* Reagens ( $\alpha$ -Naftylamin og Sulfanilsyre i eddikesur Opløsning), giver ligeledes negativt Resultat. Det fremgaar heraf, at Bakterierne hverken er denitrificerende eller i Besiddelse af nitratreducerende Egenskaber.

Endvidere undersøgtes Reduktionsevnen over for Salte af Selensyrning, der af talrige Bakterier under passende Forsøgsbetingelser reduceres til elementært Selen. Til Forsøgene benyttes *Difcos* Kød-Pepton-Agar, til hvilken der efter Autoklaveringen (men inden Afkølingen) sættes en ringe Mængde steril Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> (4 Draaber af en steril 2 pCt. vandig Opløsning af Natrium selenosum puriss pr. 10 cm<sup>3</sup> Agar), der sammenblandes godt med det flydende Agarsubstrat. Efter at være stivnet skraat, henstaar de saaledes fremstillede Substrater ved 25° C. i 5 Dage (Kontrol for Sterilitet), hvorefter de podes med Materiale fra en et Døgn gl. Agarkultur (tynd Stregkultur). Som Kontrollkulturer podes et Par Glas med *Bacterium radicicola*, der vides at være i Stand til at udføre den nævnte Reduktionsproces. I de med Knoldbakterier podede Kontrolglas foregaar i Løbet af 1—2 Døgn en ret livlig Vækst, ledsaget af det typiske Reduktionsfænomen, hvorved Bakteribelægningen antager en rødbrun Farve paa Grund af det ved



Reduktionsprocessen udskilte elementære Selen. Efter yderligere nogle Dages Henstand er Reaktionen overordentlig tydelig i samtlige Kontrolglas. I Kulturerne af »*Phytomonas X*« foregaar Bakterieudviklingen meget langsomt, og først efter en Uges Forløb fremkommer paa den podede Flade en spredt, kolonivis Bevoksning, der dog efterhaanden breder sig over det meste af Agarfladen. Ogsaa i disse Glas iagttages en meget tydelig Reduktionsproces.

**Svovlbrintedannelse.** Som Næringssubstrat benyttedes *Difcos* Blyacetatagar, hvor en eventuel Svovlbrintedannelse vil medføre Udskilning af Svovlbly i og omkring Podestregen. Kulturerne, der anlægges som Stregkulturer i Petriskaale, henstaar i alt i 2 Uger, uden at der fremtræder mere end ganske svage Tegn paa Svovlbrintedannelse.

**Indoldannelse.** Til Undersøgelse af Indoldannelse benyttedes en Række Kulturer i *Difcos* Tryptophan-Bouillon. Som Kontrol anlægges Kulturer af *Bacterium coli* i samme Substrat. Efter 1, 2 og 5 Dages Henstand ved 25° C. undersøges Kulturerne for Indoldannelse under Anvendelse af *Ehrlichs* Indol-Reagens. I Kontrolkulturerne af *Bacterium coli* fremkommer den for en positiv Indolreaktion karakteristiske Farve, hvorimod de øvrige Kulturer er ganske uændrede. Den paagældende Bakterie er saaledes ikke i Stand til Indoldannelse.

---

Paa Grundlag af samtlige ovenfor anførte Undersøgelsesresultater skulde det herefter være muligt at foretage en sikker Artsbestemmelse af den paagældende Bakterie.

#### 4. Diskussion af Bakteriens systematiske Stilling.

Der foreligger allerede i Litteraturen beskrevet et ikke helt ringe Antal Bakteriearter, der angives at være af patogen Karakter over for de forskellige Bønnearter. I det følgende skal gives et kort Uddrag af de vigtigste herhen hørende Undersøgelser, idet der i øvrigt henvises til *Burkholders* i 1930 fremkomne sammenlignende Studier over Bønebakterioserne.

Den først beskrevne og hidtil bedst undersøgte af de herhen hørende Bakteriearter er *Phytomonas phaseoli*, der først

isoleredes af *Blach* i 1892 og senere undersøgtes mere indgaaende af *Erwin Smith* i 1897 og 1898 (se *Erwin Smith* 1920, Side 280). Som et af Sygdommens mest iøjenfaldende Symptomer maa nævnes Fremkomsten af lokalt begrænsede Bladangreb, visende sig som skarpt afgrænsede nekrotiske Læsioner af varierende Størrelse, omgivet af en gullig farvet Periferi. Ogsaa Bælgene kan angribes, hvorved fremkommer skarpt begrænsede Pletter, der først er mørkegrønne og »vanddrukne« i gennemfaldende Lys; undertiden bevares denne Tilstand uændret, men ofte tørrer Pletterne noget ind under Dannelsen af rødligt farvede, indsunkne Partier. Bakterierne er endvidere i Stand til at brede sig gennem Ledningsvævet, hvilket medfører en almindelig Henvisnen af Bladene (*Burkholder* 1921). Frøene smittes ved Infektion gennem Karsystem og Mikropyle (sml. *Zaunmeyer* 1929); ved Frøets Spiring trænger Bakterien atter ud i Ledningsvævet og giver Anledning til nye primære Angreb. Desuden optræder Angreb af sekundær Natur (Insektangreb eller Spalteaabningsinfektioner under fugtige Vejrforhold), hvorved Sygdommen eventuelt kan overføres paa Planter, stammende fra sunde Frø. Sygdommen er meget udbredt i U. S. A. og i de senere Aar ogsaa rapporteret fra forskellige europæiske Lande. — Nær til *Phytomonas Phaseoli* slutter sig en af *Burkholder* isoleret Bakterief orm, *Phytomonas Phaseoli* var. *fuscans*, der udmærker sig ved at farve Næringssubstratet tydelig brunt, men som i øvrigt i alle væsentlige Karaktertræk udviser Overensstemmelse med *Phytomonas phaseoli*. (Sml. *Burkholder* 1930, Side 22). — En af *Hedges* (1924) isoleret Bakterie kan ligeledes betragtes som en særlig Varietet af Hovedarten (var. *sojense* *Hedges*).

Af mere afvigende Karakter er *Phytomonas flaccumfaciens* først isoleret og nøjere beskrevet af *Hedges* (l. c. 1922, 1926). Den er praktisk talt udelukkende knyttet til Ledningsvævet og fremkalder en almindelig Henvisnen af Bladene og kun undtagelsesvis bestemt lokaliserede Pletter. For at Infektionen kan finde Sted, kræves en forudgaaende Beskadigelse af Planterne (*Hedges* 1926), hvorfor de meteorologiske Forhold er uden Betydning for Sygdommens Udbredelse, der menes at foregaa under Medvirken af Insekter (sml. *Burkholder* 1930).

En meget ondartet Bønnesygdom forarsages af *Phytomonas medicaginis* var. *phaseolicola*, der nøjere er beskrevet af

*Burkholder* (1926). Med Hensyn til Smitteforhold staar den nær *Phytomonas phaseoli* (Frøsmitte, Karinvasion m. m.). Blandt de for denne Bakterie særlig karakteristiske makroskopiske Symptomer maa nævnes, at de sekundære Bladinfektioner ofte optræder som nekrotiske, tørre, brune Pletter med en klorotisk bleg-grøn Periferi, der varierer i Overensstemmelse med Størrelsen af de nekrotiske Partier, men ofte opnaar en meget anseelig Udbredelse. I denne meget karakteristiske Form («halo blight») adskiller denne Sygdom sig kendeligt fra alle andre Former af Bønnebakteriose. Desværre svigter dette Symptom ret ofte, idet de sekundære Bladinfektioner kan optræde som talrige smaa, kantede Pletter uden omgivende klorotisk Zone. I den førstnævnte Form («halo blight») optræder Sygdommen navnlig i koldere Vejrperioder. — I de primært angrebne Planter viser Sygdommen sig ved nekrotiske Pletter paa Bladene lignende dem, der fremkaldes af *Phytomonas phaseoli*: de er ret store og ikke omgivet af klorotiske Partier men undertiden af en smal, gullig Periferi. I Tilfælde, hvor der i Xylemet foregaar en livlig Bakteriereforming, iagttages ofte, inden Fremkomsten af de egentlige nekrotiske Pletter, en mosaiklignende Blanding af lysere og mørkere Partier af meget karakteristisk Udseende. Som et andet meget ejendommeligt Symptom, hvorved denne Sygdom adskiller sig fra de andre Bønnebakterioser, maa nævnes Fremkomsten af karakteristiske Eksudater, der navnlig viser sig paa Stænglerne af primært inficerede Planter i Form af farveløse eller mælkeagtige Draaber, indeholdende talrige Bakterieceller<sup>1)</sup>. — Meget nærstaaende *P. medicaginis* var. *phaseolicola* er den af *Hedges* (l. c. 1928) beskrevne *P. puerariae*; ifølge senere Meddelelser (sml. *Elliott* 1930, Side 192) maa de to Bakteriearter endog betragtes som identiske.

En særlig Gruppe inden for Slægten *Phytomonas* repræsenteres af forskellige grønligt fluorescerende Former, af hvilke flere udviser patogen Virkning over for Bønner eller andre Bælgplanter. Saaledes har *Tisdale* og *Williamson* (1921, 1923) beskrevet en svagt fluorescerende Stavbakterie, *Phytomonas viridifaciens*, der hos Lima-Bønnen o. a. giver Anledning til

---

<sup>1)</sup> *Zaunmeyer* (1930) angiver dog, at ogsaa *Phytomonas phaseoli* undertiden fremkalder lignende Eksudater paa eksperimentelt inficerede Bønneplanter (l. c. Side 6 og Tavle 1, Fig. A, a.).

Fremkomsten af karakteristiske, uregelmæssigt formede, graa Pletter, omgivet af violette Rande. Meget nærstaaende eller muligvis identisk med sidstnævnte Art er den af *Gardner* og *Kendrick* (1925) isolerede *Phytomonas vignae*. Ingen af de to sidstnævnte Former er dog hidtil truffet paa Havebønne. Derimod har *Burkholder* (l. c. 1930, Side 51) fra angrebne Bønneblade isoleret en svagt fluorescerende Bakterieart, der betragtes som en Varietet af *Phytomonas vignae*, speciel patogen for Havebønnen og nærstaaende Former (*P. vignae* var. *leguminophila*). Og endelig har *Burkholder* (l. c. 1930, Side 59) under Navnet *P. viridiflava* beskrevet en ny Art, der navnlig ved Stikinfektioner paa unge Bønneplanter udviser meget stærk patogen Virkning, idet det podede Stængelstykke knækker helt over efter et Par Dages Forløb. Den af Bakterien fremkaldte Sygdom er i øvrigt næsten udelukkende studeret ved eksperimentel Infektion i Drivhusforsøg. Bakterien blev isoleret fra rødplettede Bælge, indsamlede i Schweiz, og fra Blade stammende fra England. Nærmere Undersøgelser vedrørende Angreb i Marken mangler indtil videre. — Som fælles Karaktertræk for de to sidstnævnte Bakterierformer (*P. vignae* var. *leguminophila* og *P. viridiflava*) maa fremhæves, at de eksperimentelle Stængelinfektioner ikke — saaledes som Tilfældet er med de øvrige, ovenfor beskrevne Former — er forbundet med en specifik Karinvasjon. Infektionen er af mere almen Karakter, og samtlige Vævselementer angribes med lige stor Styrke. Som et for de to Bakterioser indbyrdes adskillende Karaktertræk maa nævnes, at *Phytomonas viridiflava* ved eksperimentel Stængelinfektion foraarsager en karakteristisk Galle- eller Svulstdannelse umiddelbart neden for det inficerede Stængelparti, hvorimod *P. vignae* var. *leguminophila* ikke er i Besiddelse af denne Egenskab. Endvidere kan nævnes, at saavel de naturligt forekommende som eksperimentelt fremkaldte Bælginfektioner i begge Tilfælde viser sig som rødlig eller brunlige, tørre Partier, men aldrig først som mørkegrønne »vanddrukne« Pletter, saaledes som Tilfældet er hos samtlige andre bønnepatogene *Phytomonas*-Arter. I Modsætning til *P. viridiflava* antager de af *P. vignae* var. *leguminophila* fremkaldte Bælginfektioner ofte senere en ringformet Karakter.

Paa Grundlag af de symptomatiske Karaktertræk vil vi

herefter kunne opstille følgende Oversigt over de hidtil beskrevne Bakterioseformer hos Havebønne:

I. Bakterioser forbundet med Karinvasion. Angreb paa Bælgene først visende sig som grønne, »vanddrukne« Pletter.

A. Fakultative Snyltere i Karsystemet. Saavel almen Henvisnen som lokalt begrænsede Bladlæsioner.

1. Ingen Eksudatdannelse og ingen klorotisk Randzone paa sekundære Bladlæsioner.

*P. phaseoli* (med forskellige Varieteter).

2. Bakteriehoidige Eksudater paa Stænglerne. Sekundære Bladinfektioner ofte omgivet af bred, klorotisk Zone (»halo-blight«).

*P. medicaginis* var. *phaseolicola*.

B. Bakterierne obligat knyttet til Karsystemet, fremkaldende almene Henvisningsfænomener.

*P. flaccumfaciens*.

II. Bakterioser af almen Karakter. Ingen speciel Karinvasion. Rødlig-brune Læsioner paa Bælgene, men aldrig »vanddrukne« Pletter.

A. Ofte Galle- eller Svulstdannelse efter eksperimentel Stængelinfektion.

*P. viridiflava*.

B. Ingen Galledannelse. Læsioner paa Bølge ofte som ringformede Pletter.

*P. vignae* var. *leguminophila*.

Med Hensyn til de i nærværende Arbejde omtalte Angreb tør det siges med Sikkerhed, at Sygdommen ikke er obligat knyttet til Karsystemet, og at det altsaa ikke kan være Angreb af *P. flaccumfaciens*. Ganske enkelte af de tørrede Blade, hidrørende fra det disponible Herbariemateriale, udviser en bred klorotisk Randzone omkring de angrebne Bladpartier, altsaa et af de Karaktertræk, der angives at være typisk for *Phytonomonas medicaginis* var. *phaseolicola* (»halo blight«). Det drejer sig dog næppe om Angreb af denne Bakterie, idet det andet Karaktertræk — Forekomsten af bakteriehoidige Eksudater paa Stængeloverfladen — ikke er iagttaget og næppe kan antages at være blevet overset. Men i øvrigt repræsenterer hele Herbariematerialet utvivlsomt kun en enkelt Side af Sygdommen, nemlig sekundære Bladinfektioner, der ikke umiddelbart tillader en sikker Sygdomsdiagnose. — Med Hensyn til Angrebet i det ovenfor omtalte Forsøgsgartneri ved København ligger Sagen mere klar, idet der paa Grundlag af den mikroskopiske Undersøgelse af Stængler og Bladstilke samt de eksperimentelle

Infektionsforsøg med Sikkerhed kan fastslaaes, at der ikke foreligger nogen specifik Karinvasion. I god Overensstemmelse hermed har Forsøgslederen ved det paagældende Gartneri gjort den Iagttagelse, at de første Sygdomstegn som Regel fremkommer paa Bladene; senere breder Smitten sig videre til Bladstilke og Blomsterslængler, hvorefter Planten snart visner fuldstændig bort. — Disse Kendsgerninger placerer Bakteriosen som hørende til Gruppe II i den ovenfor opstillede Tabel. Den meget karakteristiske Galledannelse ved eksperimentel Stængelinfektion udviser slaaende Lighed med *Burkholders* Fotografi af samme Fænomen, fremkaldt af *Phytomonas viridiflava* (l. c. 1930, Side 62, Fig. 13). Ogsaa med Hensyn til Bælginfektionerne er der god Overensstemmelse med denne Bakteriose.

Vender vi os dernæst til de morfologiske og fysiologiske Karaktertræk, vil samtlige ovenfor omtalte Bakterierformer kunne sammenstilles til den i Tabel 1 opførte skematiske Artsoversigt. — Det fremgaar heraf, at *Phytomonas phaseoli* med tilhørende Varieteter udgør en i systematisk-diagnostisk Henseende vel afgrænset Gruppe, der er karakteriseret ved stærk Diastasedannelse og stærk Vækst paa sterile Kartoffelstykker, der efter et Par Dages Forløb omdannes til en stærkt slimet, grødagtig Masse. (Slutter sig derved til *Phytomonas campestris*-Gruppen.) Ogsaa *P. flaccumfaciens* adskiller sig paa Grund af sit Forhold over for Gram-Farvningen skarpt fra de øvrige i Tabellen opførte Bakterierformer (slutter sig derved nær til *P. Stewartii*). Begge disse Grupper adskiller sig saaledes skarpt fra den foreliggende »*Phytomonas X*«, som derimod paa flere Punkter udviser nogen Lighed med *Phytomonas medicaginis* var. *phaseolicola* (Kolonier paa Kød-Pepton-Agar med meget tydelig koncentrisk Tegning — sml. *Burkholder* 1930, Pl. VI, Fig. E). Med Hensyn til visse biokemiske Egenskaber (Vækst i Mælk, Syredannelse i Saccharose-Bouillon) er der imidlertid saa væsentlige Uoverensstemmelser, at de to paagældende Bakterierformer ikke tør betragtes som identiske<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Det skal i denne Forbindelse anføres, at det omtalte Forsøgsgartneri ved København som Svar paa en Reklamation til Leverandøren af Udsædsmaterialet (et tysk Firma) modtog Meddelelse om, at Sygdommen ogsaa var konstateret paa Avlsstedet, og at det drejede sig om Angreb af *Phytomonas medicaginis* var. *phaseolicola*. Saavel de makroskopiske Sygdomssymptomer (sml. ovenfor) som sammenlignende bakteriologiske Undersøgelser viser dog klart Urigtigheden af denne Opfattelse.

Tabel 1. Skematisk Oversigt over bønnepatogene *Phytomonas*-Arter.

Bakterieart	Gram	Vækst paa Kød-Pepton-Agar	Fluorescens	Vækst paa Kartoffel	Vækst i Mælk			Vækst i proteinfrie Substrater		Gelatinemeltning	Diastasedannelse	Nitratreduktion	Syredannelse i Kulhydrat-Bouillon				Svovlbrinte
					Reaktion	Koagulation	Peptonisering	Ushinsky	Fermi				Dekstrose	Laktose	Saccharose	Indol	
<i>Phytomonas phaseoli</i> .....	+	gul	·	yppig, slimet	alk.	·	+	svag	·	+	·	·	·	·	·	·	sv. el. ·
<i>P. flaccumfaciens</i> .....	+	bleggul	·	svag	sur	·	+	svag	usikker	svag	·	·	·	·	·	·	usikker
<i>P. medicaginis var. phaseolicola</i>	·	hvidlig	·	svag	alk.	·	+	+	sv., gulgrøn	sv. el. ·	·	·	·	·	·	·	sv. el. ·
<i>P. pueraria</i> .....	·	blaa-hvid	·	graalig-gul	alk.	·	+	+	grønblaa	+	·	·	·	·	·	·	·
<i>P. viridifaciens</i> .....	·	opaliserende	sv.	stærk, graalig	alk.	·	+	+	—	svag	+	(?)	·	·	·	·	·
<i>P. vignae</i> .....	·	graalig	+	stærk, graalig	—	·	+	+	gulgrøn	—	·	·	·	·	·	·	—
<i>P. vignae var. leguminophila</i> ..	·	hvidlig	+	svag	alk.	·	+	+	mælket	+	·	·	·	·	·	·	+++
<i>P. viridiflava</i> .....	·	gullig	+	svag	alk.	·	+	+	Fluorescens	+	·	·	·	·	·	·	+++
<i>»Phytomonas X«</i> .....	·	graagul	+	ret god, gulgraa	alk.	·	+	+	Fluorescens	+	·	·	·	·	·	·	+

I det store og hele kan der næppe være Tvivl om, at den foreliggende Bakterie staar i nøje systematisk Forbindelse med de grønligt fluorescerende *Phytomonas*-Arter. Navnlig med *Burkholders P. viridiflava* er der en ret god Lighed, idet de konstaterede Uoverensstemmelser her kun berører tre Forhold, nemlig Fluorescensen paa Kød-Pepton-Agar, Væksten i *Uschinskys* Opløsning samt Koloniformen. — M. H. t. den førstnævnte af disse Afvigelser maa det fremhæves, at Evnen til Fluorescens er en meget labil Karakter (sml. ovenfor, Side 839), og da »*Phytomonas X*« jo dog saavel paa Druesukker-Agar som i *Fermis* Opløsning udviser tydelig Fluorescens, tør denne Forskel ikke betragtes som afgørende for Artsadskillelsen. Større Betydning bør derimod tillægges Forskellen m. H. t. Vækst i *Uschinskys* Opløsning, idet dette Forhold sædvanligvis betragtes som en »god« systematisk Karakter. Og som en sidste afgørende Uoverensstemmelse maa sluttelig fremhæves, at Kolonierne af *P. viridiflava* er forsynede med radiære Furer og saa stærkt bølgede i Randen, at de næsten maa betegnes som »lappede« (sml. *Burkholder* 1930, Tavle VI, Fig. B), hvorimod den koncentriske Tegning, der er saa karakteristisk for »*Phytomonas X*«, ganske mangler. — Som Følge af de her fremdragne Forskelligheder tør de to paagældende Bakterierformer derfor ikke betragtes som identiske, om end de staar hinanden meget nær saavel under Hensyntagen til deres Forhold over for Værtplanten (almen Vævsinfektion, Galledannelse m. m. — sml. ovenfor, Side 845—46) som med Hensyn til morfologiske, kulturelle og fysiologiske Karaktertræk.

Selv om »*Phytomonas X*« saaledes ikke kan identificeres med nogen af de hidtil beskrevne bønnepatogene Bakteriearter, foreligger dog endnu den Mulighed, at det kan dreje sig om en speciel bønnepatogen Form eller Varietet af en eller anden af de allerede tidligere beskrevne *Phytomonas*-Arter. En indgaaende Sammenligning med alle de i de større Haandbøger (*Bergey* 1923, *Stapp* 1928, *Elliot* 1930) opførte *Phytomonas*-Arter giver dog kun negativt Resultat.

Sluttelig skal kort undersøges de foreliggende Muligheder, saafremt den paagældende Bakterie betragtes som en fakultativ Parasit, der i saa Fald maatte indrubriceres under Slægten *Pseudomonas*. Ingen af de hos *Bergey* (1923) opførte Artsbeskrivelser udviser dog fuldstændig Overensstemmelse med den foreliggende Bakterie. Den



tabellariske Artsnøgle peger i Retning af *P. fluorescens*, der dog adskiller sig ved Evnen til Nitratreduktion. Men i øvrigt er samtlige *Pseudomonas*-Arter indbyrdes forbundet ved talrige Overgangsformer, hvortil yderligere kommer, at mange af de til Artsadskillelsen benyttede Karaktertræk øjensynlig er af lidet stabil Natur, ligesom de i de forskellige Haandbøger (*Matzuschila* 1902, *Bergey* 1923, *Lehmann* og *Neumann* 1927) opførte Artsbeskrivelser heller ikke er i fuldstændig indbyrdes Overensstemmelse. — *Lehmann* og *Neumann* (l. c. 1927, Side 467—74) anfører, at *P. aeruginosa* (= *Bact. pyocyanea*) og *P. fluorescens* kun vanskeligt lader sig adskille, medens samtidig sidstnævnte Art er saa nøje forbundet med den ikke-gelatinesmeltende *P. putida*, at det vilde være fuldt berettiget at samle dem til een Art med de to Varieter *forma α liquefaciens* og *forma β non liquefaciens*. Paa Grundlag af indgaaende Studier, omfattende et større Antal forskellige Stammer, foreslaar *Aoki* (1926) endog at forene *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* og *P. putida* til en eneste kollektiv Art. — Saafremt man tiltræder denne meget rummelige Opfattelse af Artsbegrebet, vil man eventuelt kunne betragte den foreliggende Bakterie som en ret afvigende plante-patogen Stamme af *P. fluorescens* (taget i videste Betydning). Dog maa det virke paafaldende, at samtidig to af de for »Arten« karakteristiske Egenskaber, nemlig Farvestofdannelse og Evnen til Nitratreduktion, er henholdsvis meget lidt udviklet eller helt manglende, selv om det maaske kunde forklares under Henvisning bl. a. til Undersøgelser af *Lantzsch* (1922), ifølge hvilke *P. fluorescens* udviser overordentlig stærk Variation m. H. t. Farvestofdannelse, Gelatinesmeltning og Nitratreduktion, repræsenterende alle Overgange fra fuldstændig Mangel til fuld Udvikling af den paagældende Egenskab. Men mod en saadan Henføring til *Fluorescens*-Gruppen taler yderligere Forgæringsforhold (Syredannelse i Dekstrose-Bouillon) samt Formen af Gelatinekolonierne, der ikke udviser ringeste Antydning af den »Haarkrans«, som af *Lehmann* og *Neumann* (l. c. Side 302) angives som Karaktertræk for de gelatinesmeltende *Fluorescens*-Former. Ogsaa de for »*Phytomonas X*« saa ejendommelige Agarkolonier med Ringvolddannelse udgør et tydeligt adskillende Karaktertræk. Alle Forhold taget i Betragtning mener jeg derfor ikke at kunne indrubricere Bakterien under *Pseudomonas fluorescens*-Gruppen, om end der ganske utvivlsomt findes talrige Lighedspunkter.

Til Trods for Utilbøjelighed til at berige den i Forvejen saa tungt belastede Bakteriesystematik med nye Arter vil det vistnok indtil videre være naturligt at betragte den foreliggende Bakterie som en hidtil ubeskrevet Art eller Varietet, der indtager en intermedier Stilling mellem *P. medicaginis var. phaseolicola* og *P. viridiflava*, men dog staaende nærmest sidstnævnte. Som systematisk Betegnelse foreslaas

*Phytomonas viridiflava* var. *concentrica*.

I Overensstemmelse med det amerikanske »Descriptive Chart« bliver Bakteriens Index Nr.: 5020—31101—0200. Bakterien faar altsaa ganske samme Index Nr. som *Burkholders P. viridiflava*, idet de adskillende Egenskaber (Vækst i *Uschinskys* Opløsning samt Koloniformen) ikke indgaar som Led i Indexbetegnelsen. Sluttelig skal dog bemærkes, at samtlige hidtil beskrevne, grønligt fluorescerende *Phytomonas*-Arter ganske øjensynligt udgør en Gruppe, hvis enkelte »Arter« ikke alene er jævnt forbundet med hinanden ved intermediære Overgangsformer, men tillige med nøje Tilknytning til den rent saprofytiske *Pseudomonas fluorescens*-Gruppe. Fortsatte systematiske Undersøgelser, baserede paa et større Antal forskellige Stammer, vil muligvis resultere i en mere rummelig systematisk Inddeling med ganske enkelte kollektive Hovedarter. Men indtil en saadan Undersøgelse foreligger, vil det være naturligt efter Evne at holde de enkelte Former ude fra hinanden som særlige Arter, idet man dog samtidig understreger denne Inddelings rent foreløbige Karakter.

## IV. Forholdet mellem Bakterie og Værtplante.

Udfaldet af en naturlig eller eksperimentel Infektion er afhængig af S sammenspillet mellem den paagældende Bakteries Virulens, Planternes naturlige Resistens samt de til enhver Tid foreliggende ydre Faktorer (Dyrkningsforhold).

**Virulens.** I Løbet af det halve Aar, der er hengaaet mellem de første Infektionsforsøg og Udarbejdelsen af nærværende Beretning, er der ganske utvivlsomt foregaaet en Afsvækkelse af Bakteriens Virulens. Dette Forhold træder navnlig tydeligt frem ved Infektionsforsøg paa unge Stængler, idet Bakterien paa nærværende Tidspunkt ganske vist stadig er i Stand til at angribe Plantevævet omkring Podestikket, men Angrebet naar ikke et saadant Omfang, at Planten knækker totalt, saaledes som Tilfældet var ved Anvendelse af den frisk isolerede Stamkultur. Ved eksperimentel Bælginfektion synes Virulensen derimod praktisk talt usvækket. Saavel ved Stængel- som Bælginfektion foregaar Re-Isolationen let fra Periferien af de angrebne Partier. Forsøg paa at opnaa en Virulensforøgelse ved

fortsatte »Passager« gennem Bønneplanter (d. v. s. serievis fortsatte Forsøg med skiftevis Re-Isolation og Ny-Infektion med de frisk isolerede Kulturer) er endnu ikke bragt til en endelig Afslutning.

Forsøgene tyder saaledes paa, at de patogene Egenskaber i det foreliggende Tilfælde ikke er af særlig stabil Natur. Dette er i øvrigt et Karaktertræk, til hvilket der vil kunne fremdrages talrige Paralleler saavel fra den medicinske Bakteriologi som fra den bakteriologiske Plantepatologi. Eksempelvis skal nævnes, at *Phytomonas phaseoli* ved længere Tids Dyrkning paa kunstigt Substrat (et Aar eller mere) undergaar en meget væsentlig Svækkelse af Virulensen, og for *Burkholders Phytomonas viridiflava*, med hvilken den foreliggende Bakterie, som tidligere omtalt, paa flere Punkter udviser en meget stor Lighed, er Virulensen af saa ustabil Natur, at man stadig maa foretage Ny-Infektion og Re-Isolation for at bevare Virulensen nogenlunde usvækket.

**Resistens.** Af de forskellige Plantedele udviser Bælgene ganske utvivlsomt den ringeste Resistens over for eksperimentel Infektion, hvilket navnlig er stærkt fremtrædende ved Forsøg med de virulenssvækkede ældre Stamkulturer. I øvrigt spiller Alderen en ikke uvæsentlig Rolle, idet halvmodne Bælge — under i øvrigt ensartede Betingelser — synes at være mere modtagelige end Bælge i Modningsstadiet. For Stænglernes Vedkommende synes Resistensen ligeledes at tiltage med Alderen, idet Infektion af de ældste Stængeldele af en modnende Bønneplante som oftest kun giver Anledning til Fremkomsten af smaa, rødlige Pletter omkring Podestikket, ikke væsentlig større end efter Kontrolstik med steril Naal.

Til Belysning af Spørgsmaalet om Sortsresistens er foretaget Forsøg med ca. 30 forskellige Sorter og Varieteter. Forsøgene udførtes umiddelbart efter de første Isolationsforsøg, altsaa paa et Tidspunkt, hvor Stamkulturen endnu var i Besiddelse af fuld Virulens. Forsøgene udførtes paa sædvanlig Vis som Stikinfektioner paa Stænglerne af ganske unge Bønneplanter, umiddelbart over de endnu bevarede Kimblade. — Allerede efter et Par Dages Henstand i Drivhus iagttages de første Sygdomstegn, idet de podede Stængelstykker antager en rødbrun Farve, ganske paa samme Vis som i de orienterende

Infektionsforsøg med Voks Flageolet. Efter ca. 10 Dages Forløb er samtlige podede Stængler knækkede, uden at der i øvrigt mellem de i Forsøget indgaaede Sorter kan spores nogen sikker Forskel med Hensyn til Resistens. I et senere udført Infektionsforsøg paa halvmodne Bælge og under Anvendelse af virulenssvækkede Stamkulturer synes de grønne Bønnesorter at udvise nogen større Resistens end Voksbønner. Ogsaa Erfaringer fra Praksis peger i samme Retning, idet det angives, at Voksbønner angribes med langt større Voldsomhed end grønne Bønner, hvorimod der ikke synes at være nogen større Forskel paa de forskellige Sorter inden for hver af disse Hovedgrupper.

**Dyrkningsforhold.** Paa Grundlag af de fra Praksis indhentede Erfaringer kan der ikke siges noget sikkert m. H. t. Dyrkningsforholdenes Indflydelse paa Sygdommen. I et enkelt Tilfælde (Angreb i en privat Have) blev det fremhævet, at Jorden var let og sandet, hvorimod man fra anden Side har iagttaget, at Smitten lettest indtræder paa kolde og stive Jorder og at ogsaa de meteorologiske Forhold ganske utvivlsomt spiller en væsentlig Rolle, idet Sygdommen ifølge samtlige Oplysninger fortrinsvis optræder efter fugtige og kolde Vejrperioder.

**Smittekilder og Bekæmpelsesforanstaltninger.** Sygdommen opstaar formodentlig ved Frøsmitte, idet der i Praksis er gjort den Erfaring, at Udsæd fra visse Frøpartier, der i øvrigt ikke viser ringeste makroskopiske Sygdomstegn, stedse giver stærkt angrebne Afgrøder, medens samtlige Afgrøder fra andre Frøpartier viser en normal og sund Udvikling. Ved nøjere Gennemgang af saadanne formentlig smittebefængte Frøpartier er det dog hidtil ikke lykkedes hverken mikroskopisk eller ved Spredningsforsøg at paavise noget Bakterieangreb. I denne Forbindelse maa det endvidere understreges, at Frø, stammende fra saadanne formentlige smittebefængte Partier, ved Udsæd i Drivhus altid giver tilsyneladende sunde og normale Planter. Forholdet er da formodentlig dette, at Smitten ikke direkte hidrører fra det udsaaede Frø, hvilket jo ogsaa er i Overensstemmelse med det negative Resultat af den mikroskopiske Eftersøgning af Bakterier i Ledningsvævet. Det maa antages, at de sygdomsforaarsagende Bakterier enten hæfter paa Ydersiden af Frøet, eller muligvis er til Stede inden for Frøskallen,

men i saa ringe et Antal, at de tilfældigvis ikke har været repræsenteret i de undersøgte Præparater. Efter at Bakterierne med Udsæden er overført til den paagældende Jord, vil de der hurtigt kunne formere sig videre og derefter med Støvet overføres til de forskellige Plantedele. Ved indtrædende fugtigt Vejr vil der hermed være Mulighed for en Spalteaabningsinfektion, og er der først fremkommet enkelte angrebne Planter i en Bønnebevoksning, vil Sygdommen ved sekundær Infektion hurtigt kunde brede sig til hele Marken, dels ved Regn- eller Dugdraabers Fald fra angrebne Plantedele paa friske, dels under Medvirken af Insekter.

I Øjeblikket er det næppe muligt at angive fuldt ud effektive Bekæmpelsesforanstaltninger. Den bedste Garanti mod Sygdommens Opstaaen ligger selvfølgelig i Anvendelse af smittefri Udsæd. Dette frembyder dog store praktiske Vanskeligheder, idet Sygdommen vil kunne udbredes ved et ganske ringe Antal Frø fra en enkelt, svagt inficeret Bønneplante, der kan have unddraget sig Opmærksomheden ved en eventuel Kontrol i Marken. Har Sygdommen først vist sig i en Bønnebevoksning, vil man i nogen Grad kunne formindske dens videre Udbredelse ved saa hurtigt som muligt at fjærne og ødelægge syge Planter og Plantedele. Da der endvidere maa regnes med en kombineret Frø- og Jordsmitte, maa det fraaades at foretage nyt Udlæg af Bønner paa eller i umiddelbar Nærhed af Arealer, der tidligere har været hærgnet af Sygdommen. Endelig er der en Mulighed for at fremskaffe sund Udsæd ved Varmvandsbehandling af Frøet, idet Bakterien jo, som ovenfor paavist, er meget følsom over for højere Varmegrader. En nærmere Undersøgelse af dette Forhold vil dog kræve mere indgaaende praktiske Forsøg, der delvis falder uden for Rammen af nærværende Fremstilling. Indtil videre maa man i øvrigt med Opmærksomhed følge Sygdommens videre Udbredelse og derefter om fornødent skride til mere indgaaende Bekæmpelsesforanstaltninger.

---

#### Efterskrift.

Ved fortsatte Undersøgelser, udførte i Sommeren 1932, har det kunnet paavises, at de i dette Tidsrum undersøgte Bønnebakterioser har været foraarsaget af flere forskellige *Phytoplasmas*

Arter. Det er ved disse Undersøgelser lykkedes at paavise de paagældende Bakterier direkte i de til Udsæd indkøbte Bønner, der i et Par enkelte Tilfælde endog har været saa stærkt angrebne, at Flertallet af Frøene raadnede helt bort under Spiringsforsøgene. Nærmere Enkeltheder vedrørende disse fortsatte Undersøgelser vil fremkomme i en senere Beretning.

#### Litteraturfortegnelse.

- 1) Aoki, K.: Agglutinat. Eint. v. Pyocyanus-Baz. o. s. v. Centrbl. f. Bakt. I. Org., 98, 1926, Side 186.
- 2) Benecke, W.: Bau und Leben der Bakterien. Leipzig-Berlin 1912.
- 3) Bergey: Manual of Determinative Bacteriology. Baltimore 1923.
- 4) Buchanan, D.: A Bacterial Disease of Beans transmitted by Heliothrips ferromalis Reut. Journ. of Economic Entomology. 25. Bd., 1932, Side 49.
- 5) Burkholder, Walther H.: The Bacterial Blight of Bean: a Systemic Disease. Phytopathology 11, 1921, Side 61.
- 6) Burkholder, Walther H.: A New Bacterial Disease of the Bean. Phytopathology 16, 1926, Side 915.
- 7) Burkholder, Walther H.: The Bacterial Diseases of the Bean. A Comparative Study. Cornell University. Agricultural Experiment Station. Memoir 127, 1930.
- 8) Elliot, Charlotte: Manual of Bacterial Plant Pathogens. London 1930.
- 9) Gardner, Max W. og Kendrick, James B.: Bacterial Spot of Cowpea and Lima Bean. Journ. of Agr. Res. 31, 1925, Side 841.
- 10) Georgia, F. R. og Poe, Charles: Study of Bacteria Fluorescence in Various Media. I. Journ. of Bacteriology 22, 1931, Side 349. — II. Journ. of Bact. 23, 1932, Side 135.
- 11) Hedges, Florence: A Bacterial Wilt of the Bean caused by *Bacterium flaccumfaciens* nov. sp. Science 55, Side 433, 1922.
- 12) Hedges, Florence: A Study of Bacterial Pustule of Soybean. Journ. of Agric. Res. 29, 1924, Side 229.
- 13) Hedges, Florence: Bacterial Wilt of Beans (*Bacterium flaccumfaciens* Hedges) including comparisons with *Bacterium phaseoli*. Phytopathology 16, 1926, Side 1.
- 14) Hedges, Florence: Bacterial Halo Spot of Kudzu caused by *Bacterium puerariae* Hedges. Journ. Agric. Res. 36, 1928, Side 419.
- 15) Lantzsch, K.: Beitr. z. Kenntnis d. Fluorescens-Gruppe. Centrbl. f. Bakt. I. Org. 87, 1922, Side 81.
- 16) Lehman, S. G.: Observations and Experiments Relating to the Bacterial Pustule Disease of Soybean. Journ. of the Elisha Mitchell Scientific Society. Vol. 46, 1931, Side 179.
- 17) Lehmann, K. B. og Neumanu R. O.: Bakteriologie, insbesondere bakteriologische Diagnostik. Münschen 1929.
- 18) Matzschita, T.: Bakteriologische Diagnostik. Jena 1902.
- 19) Michaelis, L.: Technik der Säureagglutination. — Kraus-Uhlenhuth: Handb. der mikrobiol. Technik, Bind 2, Side 1449. Berlin-Wien 1923.

- 20) *Smith, Erwin F.*: An Introduction to Bacterial Diseases of Plants Philadelphia-London 1920.
- 21) Society of American Bacteriologists: Manual of Methods for Pure Culture Study of Bacteria. 1923—29.
- 22) *Tisdale, W. B.* og *Williamson, M. M.*: Bacterial Leaf Spot of Lima Bean. *Phytopathology* 11, 1921, Side 52.
- 23) *Tisdale, W. B.* og *Williamson, M. M.*: Bacterial Spot of Lima Bean. *Journ. of Agric. Res.* 25, 1923, Side 141.
- 24) *Zaumeyer, J.*: The Bacterial Blight of Beans caused by *Bacterium Phaseoli*. United States Dep. of Agric., Washington. Technical Bulletin Nr. 186, 1930.

### Figurforklaring.<sup>1)</sup>

#### Tavle I.

- Fig. 1—3. Naturlig Bladinfektion (Herbariemateriale). Fig. 1 i paafaldende, 2 og 3 i gennemfaldende Lys. (Fig. 1—2: ca.  $\frac{2}{1}$ , Fig. 3: ca.  $\frac{3}{1}$ .)
- » 4. Infektionsforsøg paa ungt Stængelstykke, 4 Dage efter Infektionen (ca.  $\frac{1}{3}$ ).
  - » 5. Infektionsforsøg paa halvmoden Bælg, 3 Dage efter Infektionen (ca.  $\frac{1}{1}$ ).
  - » 6. Galledannelse efter eksperimentel Stængelinfektion, 2 Mdr. (ca.  $\frac{3}{2}$ ).
  - » 7. Eksperimentel Bladinfektion, Udgnidning af Bakterieopslemning, særlig langs Hovedribbe og nederste Sideribber. 5 Dage efter Infektionen (ca.  $\frac{1}{2}$ ).
  - » 8. Eksperimentel Stængelinfektion, 5 Dage efter Infektionen. a. ungt Stængelstykke, podet med Bakterier, b. Kontrolforsøg (ca.  $\frac{1}{1}$ ).

#### Tavle II.

- Fig. 1. Naturlig Bladinfektion. Gennemfaldende Lys (ca.  $\frac{2}{3}$ ).
- » 2. Agarkolonier, to Dage gl. — Linseformede Dybdekolonier og cirkulære Overfladekolonier (ca.  $\frac{70}{1}$ ).
  - » 3. Agarkolonier med Ringvolddannelse, ca. en Uge gl. ( $\frac{1}{1}$ ).
  - » 4. Bakterier fra en et Døgn gl. Agarkultur. Kollargolpræp. ( $\frac{1200}{1}$ ).
  - » 5. Som foregaaende, men farvet med fortyndet Karbolfulksin ( $\frac{1200}{1}$ ).

<sup>1)</sup> Tavle I, Fig. 5, 6 a og 7: Fot. af Dr. phil. C. A. Jørgensen.

» II, » 1: Fot. af Frk. A. Weber.

De øvrige Fotografier optaget af Forf.

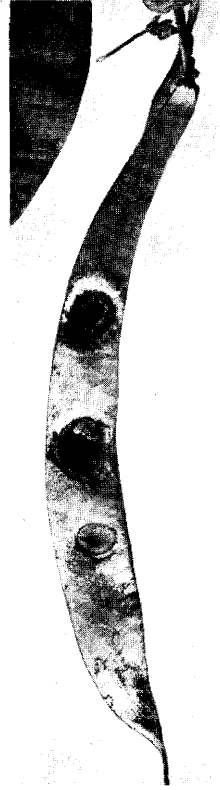
Table I.



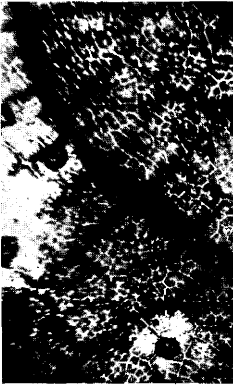
1



2



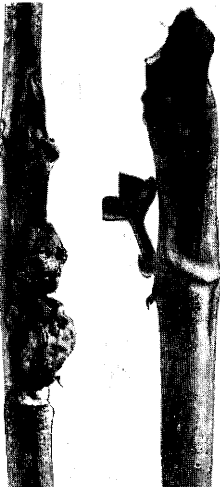
5



3



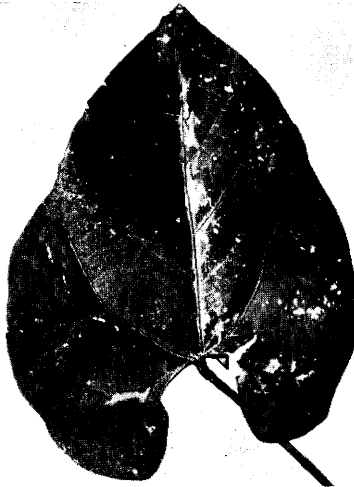
4



a

6

b



7

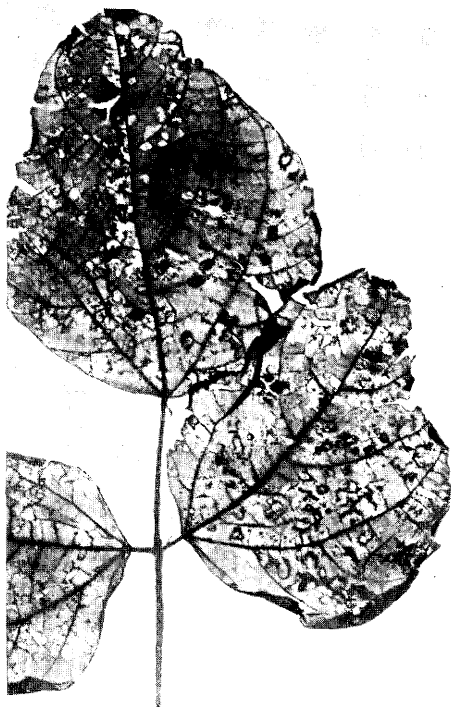


a

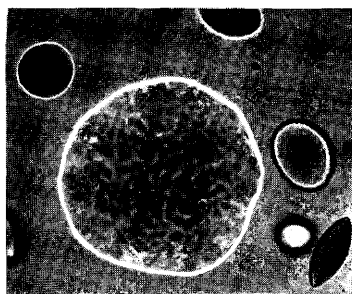
8

b

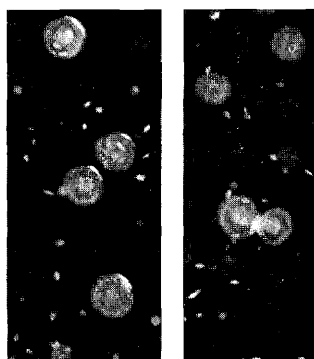




1



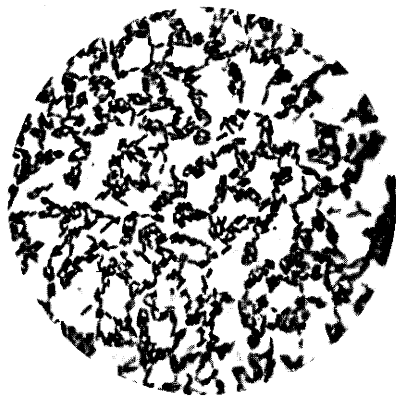
2



3



4



5