

INSTITUUT VOOR PLANTEZIEKTENKUNDIG ONDERZOEK
WAGENINGEN

DE BIOLOGIE EN DE BESTRIJDINGSMOGELIJKHEDEN
VAN DE VEROORZAKERS VAN SPIKKELZIEKTE
(*ALTERNARIA SPEC.*)
IN KOOLZAAD (*BRASSICA NAPUS L.*)

WITH A SUMMARY

THE BIOLOGY AND POSSIBLE CONTROL MEASURES
OF *ALTERNARIA* LEAF SPOT
IN *BRASSICA NAPUS L.*

FRED^a. QUAK



STAATSDRUKKERIJ

UITGEVERSBEDRIJF

VERSL. LANDBOUWK. ONDERZ. No. 62.8 - 'S-GRAVENHAGE - 1956

197436

INHOUD¹

	Blz.
I. INLEIDING	5
II. DE ZIEKTEVERWEKKERS	7
III. INOCULATIEPROEVEN	8
1. Invloed van temperatuur en vochtigheid	9
2. Pathologie	12
IV. VERSPREIDING VAN DE ZIEKTEVERWEKKERS	18
1. Verspreiding in het gewas	18
2. Verspreiding boven het gewas	19
V. GEVOELIGHEID VAN ENKELE KOOLZAADRASSEN	24
VI. INVLOED VAN BEMESTING	25
VII. BESTRIJDING	26
1. „Vroegtijdige” bestrijding	26
2. Bestrijding in het houwstadium	28
a. Proeven in vitro, ook met hechters	28
b. Potproeven	32
c. Veldproeven	32
VIII. CONCLUSIE	36
SAMENVATTING	38
SUMMARY	39
LITERATUUR	40

¹ De auteur, mejuffrouw dra. F. Quak, is als fytopathologe verbonden aan het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek te Wageningen.

I. INLEIDING

De voornaamste ziekte, die in Nederland in het koolzaad voorkomt, is de spikkelziekte of het „verslag”.

De ziekte openbaart zich in de regel omstreeks juni in de vorm van kleine, zwart-bruine of grijsachtig zwarte vlekjes, die op de hauwen en bladeren rond en op de stengels langgerekt van vorm zijn. Al naar gelang de weersomstandigheden meer of minder gunstig zijn, breiden de vlekjes zich sneller of minder snel uit. Op de hauwen kunnen zij zó groot worden, dat ze de gehele breedte van de hauw bedekken en één of meer cm lang zijn.

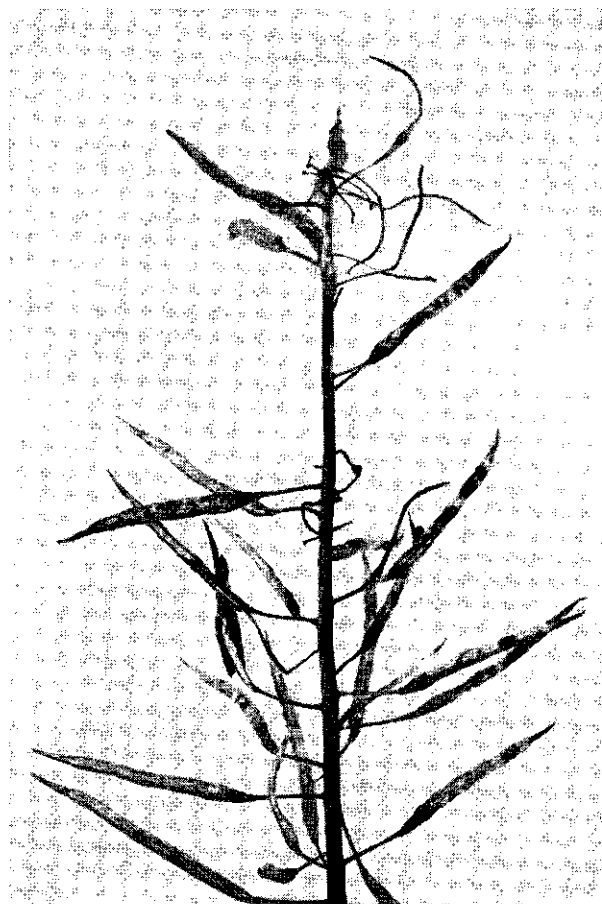


FIG. 1. Spikkelziekte bij koolzaad

FIG. 1. *Dark leaf spot in colza*

Treedt de aantasting vroeg in het seizoen op, wanneer de hauwen in een jong stadium verkeren, dan krullen deze om en worden sterk in hun groei geremd. De zaden in dergelijke hauwen ontwikkelen zich slecht en verschrompelen.

Bij aantasting in een later stadium kan „noodrijpheid” het gevolg zijn, d.w.z. dat, terwijl de korrels nog groen zijn, de houw vanaf de top enigszins begint te verdrogen. De houw kan dan óf spontaan, óf bij de geringste aanraking openspringen, waardoor het zaad verloren gaat.

In beide gevallen kan de schade zeer groot zijn. Men heeft in bepaalde jaren verliezen geconstateerd van 75-90% van de opbrengst.

Hoewel het verslag vrijwel ieder jaar in koolzaad wordt aangetroffen, veroorzaakt het slechts een enkele maal ernstige schade, zoals b.v. in 1950 in het oostelijk deel van de Noordoostpolder, toen de geleden schade op ca. 1 miljoen gulden werd getaxeerd (10).

Naar aanleiding hiervan werd, in opdracht van de Commissie voor Oliehoudende zaden, in 1952 een begin gemaakt met een onderzoek naar de biologie en de bestrijdingsmogelijkheden van de veroorzakers van de spikkelziekte. Het onderzoek werd uitgevoerd op het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek te Wageningen.

II. DE ZIEKTEVERWEKKERS

De ziekte is al jarenlang bekend en reeds in 1815 ontdekte Kühn, dat de veroorzaker een schimmel was, die door hem *Sporidesmium exitiosum* werd genoemd. Na sindsdien vele malen van naam te zijn veranderd, heet de schimmel, die KÜHN destijds isoleerde, thans *Alternaria brassicae* (BERK.) SAGG. (15). Dit organisme is evenwel niet het enige, dat spikkelziekte teweeg brengt. Sterk pathogeen is ook *Alternaria brassicicola* (SCHWEIN.) WILTSH., die dikwijls van ziek materiaal geïsoleerd kan worden.

Behalve dat deze beide schimmels uit aangetast materiaal zijn te verkrijgen, kunnen ze worden aangetoond op afgestorven bladresten, die omstreeks april op het veld te vinden zijn. Daarop bevinden zich eveneens de sporen van de zeer algemeen voorkomende saprofiet *Alternaria tenuis* AUCT., die dan wel geen rol speelt bij het ontstaan van het ziektebeeld, doch die zo dikwijls uit koolzaadmateriaal geïsoleerd wordt, dat zijn vermelding gerechtvaardigd is.

Het onderscheiden van de drie *Alternaria*-soorten gaat vaak met moeilijkheden gepaard, omdat de conidiosporen een grote mate van variabiliteit vertonen en men alle overgangen kan aantreffen tussen de karakteristieke vormen, die in fig. 2 zijn afgebeeld. Slechts het nauwkeurig vaststellen van de sporematen en het aantal lengteschotten maken in gevallen van twijfel het met zekerheid bepalen van de soort mogelijk. (Voor uitvoerige taxonomische gegevens over de verschillende *Alternaria*-soorten zie NEERGAARD (1945)).

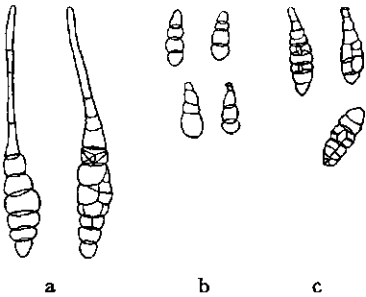


FIG. 2. Conidiosporen

- a. *A. brassicae* 76–350 μ \times 11–42 μ
- b. *A. brassicicola* 18–130 μ \times 8–30 μ
- c. *A. tenuis* 20–60 μ \times 10–15 μ

III. INOCULATIEPROEVEN

Uit isolaties van ziek materiaal werden cultures verkregen van *A. brassicicola*, *A. brassicae* en *A. tenuis*, waarmee inoculatieproeven werden uitgevoerd.

Kiemplanten, afgesneden bladeren en hauwen vertonen binnen twee dagen na bespuiting met suspensie van sporen van *A. brassicae* en *A. brassicicola* kleine zwarte aantastingen, die na enige tijd overgaan in vlekken, zoals die bij natuurlijke infectie ontstaan.

Voor het verdere onderzoek was vooral het inoculeren van hauwen van praktische waarde.

Dit werd als volgt uitgevoerd: in petrischalen werden op vochtig filtreerpapier telkens vier even grote hauwen gelegd. Deze werden met behulp van een „DeVilbiss” atomizer met een sporensuspensie van *Alternaria brassicicola* van bekende concentratie (2400 sp./mm³) bespoten en wel zo uniform mogelijk, zodat de dosering per petrischaal vrijwel gelijk geacht mocht worden. Na incubatie gedurende 48 uur bij 22° C werd het aantal vlekjes, dat op de hauwen ontstaan was, geteld. Dit getal verschaft ons een zeer bruikbare maat voor de aantasting.

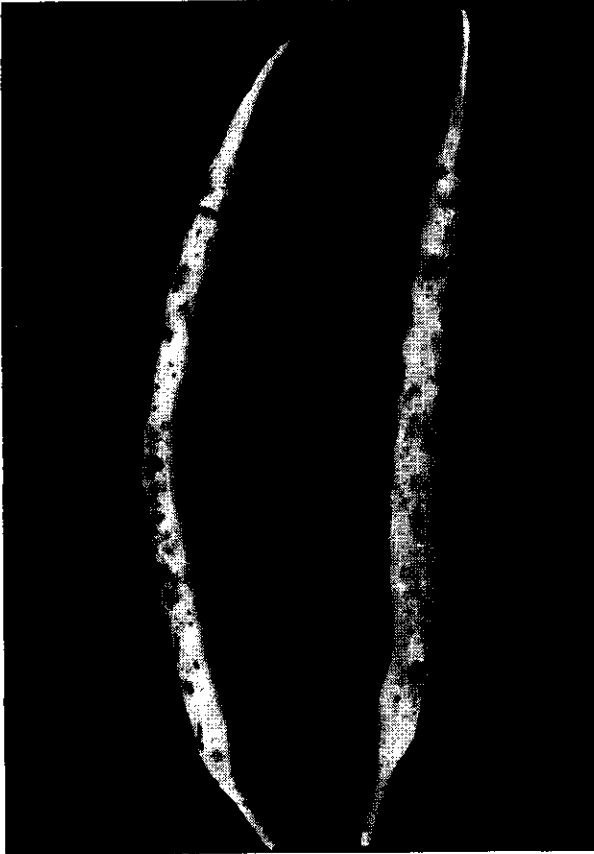


FIG. 3.

Koolzaadhauwen, twee dagen na inoculatie met conidiosporen van *A. brassicicola*

FIG. 3.

Pods, two days after inoculation with conidiospores of *A. brassicicola*

A. brassicicola kan op veel verschillende plantesoorten voorkomen en dan in de regel op verzwakt blad. Een uitzondering vormen de verschillende koolsoorten, waarop deze schimmel zuiver parasitair is. Omstreeks 1920 was het transport van sluitkool en bloemkool door de Verenigde Staten een probleem. In de gesloten wagons der treinen werden temperatuur en vochtigheid gunstig voor aantasting door *A. brassicicola*, zodat de kolen vol zwarte vlekken hun plaats van bestemming bereikten (14).

De grootste economische betekenis van deze schimmel ligt echter in de „explosieve” ontwikkeling op rijpende vruchten van Cruciferen, waarvan zowel een kwalitatief als kwantitatief groot verlies het gevolg kan zijn. Dat deze schimmel „damping off” van kiemplanten kan veroorzaken, is, voor Nederland althans, niet van praktische betekenis.

A. brassicae komt gewoonlijk op dezelfde wijze en onder dezelfde omstandigheden voor als *A. brassicicola*. *A. brassicicola*, eenmaal in het gewas voorkomend, is echter in staat meer schade aan te richten dan *A. brassicae*, omdat de eerstgenoemde schimmel zich, als gevolg van een snelle en zeer overvloedige sporenproductie, gemakkelijker verspreidt.

A. tenuis is in hoofdzaak een saprofiet. Deze schimmel blijkt evenwel bij een temperatuur van ca. 26° C ook levend weefsel van koolzaad te kunnen aantasten. Niettemin speelt *A. tenuis* geen rol bij het veroorzaken van de spikkelziekte in dit gewas.

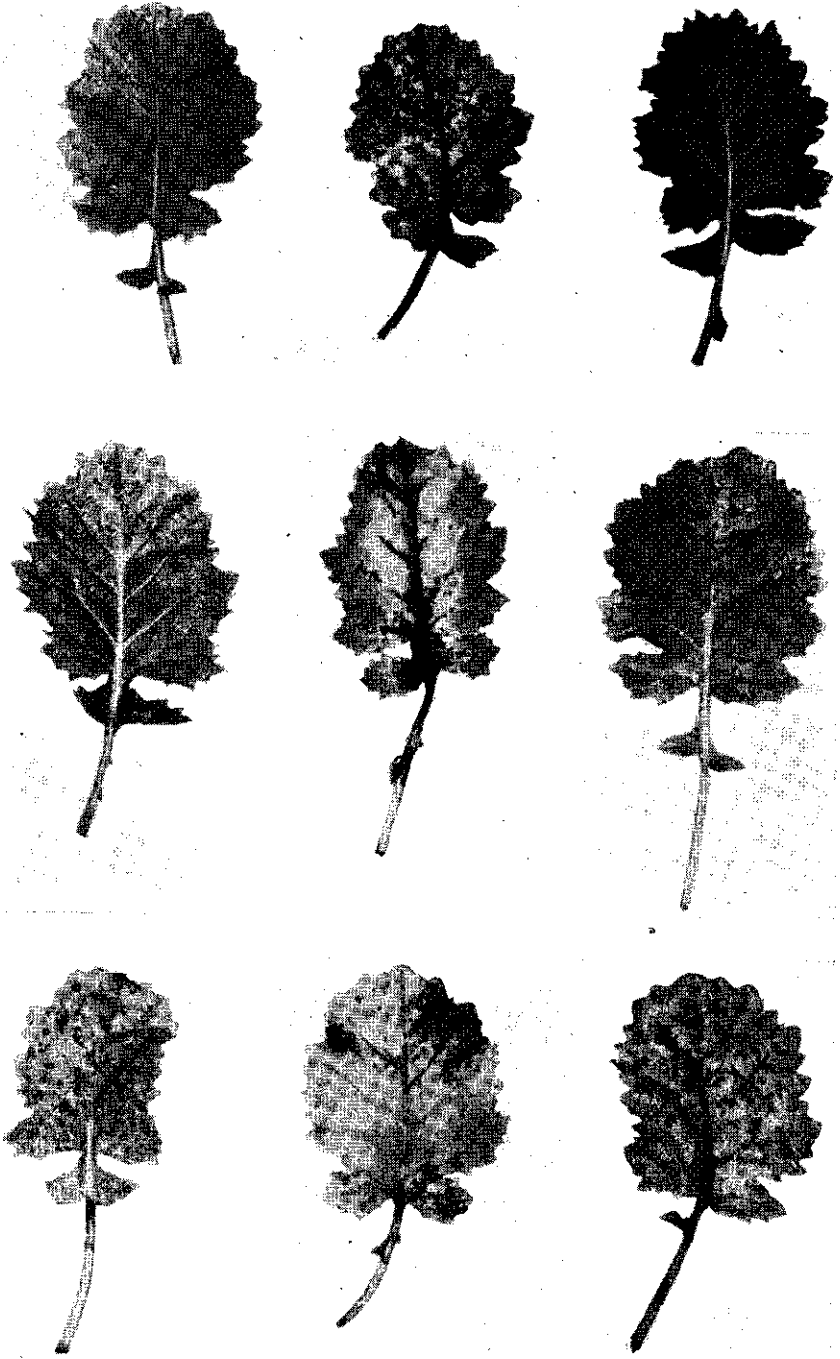
Sporen van *A. tenuis* komen zeer veel op zaad voor. Dit kan van betekenis zijn, omdat onder bepaalde omstandigheden, waarbij in de eerste plaats een hoge temperatuur genoemd moet worden, het optreden van „damping off” der kiemplanten mogelijk is. In onze streken wordt deze mogelijkheid nooit gerealiseerd.

1. INVLOED VAN TEMPERATUUR EN VOCHTIGHEID

Alternaria-sporen zijn zeer resistent: ze doorstaan zonder nadelige gevolgen uitdroging of bevriezing gedurende langere tijd. Wat hun ontwikkeling betreft stellen ze echter bepaalde eisen aan temperatuur en vochtigheid.

De optimale temperatuur voor de sporekieming ligt tussen 20° C en 23° C; dit is ook het temperatuurtraject, waarin de geïnoculeerde hauwen het sterkst worden aangetast.

Een waterdruppeltje vormt het meest geschikte milieu voor ontkieming der sporen. Reeds enkele uren nadat de sporen in water gebracht zijn, verschijnen de kiembuizen. Dat ook de duur van de aanwezigheid van water in vloeibare vorm van betekenis is voor de mate van aantasting, blijkt uit fig. 6. De geïnoculeerde hauwen werden natgehouden gedurende resp. 4, 8 en 12 uur. Daarna kwam geen water in vloeibare vorm meer op de hauwen voor, doch was de luchtvochtigheid 100%. De aantasting is heviger naarmate de periode dat de hauwen nat zijn langer is.



← FIG. 4. Bladeren van koolzaad, 2 dagen na inoculatie met conidiosporen van *Alternaria*
 Bovenste rij: incubatietemperatuur 16° C
 Middelste rij: incubatietemperatuur 21° C
 Onderste rij: incubatietemperatuur 26° C
 Van links naar rechts: *A. brassicae*, *A. brassicicola*, *A. tenuis*

← FIG. 4. Leaves of colza, two days after inoculation with conidiospores
 First row: kept at temperature of 16° C
 Second row: kept at temperature of 21° C
 Third row: kept at temperature of 26° C
 Columns left to right: *A. brassicae*, *A. brassicicola*, *A. tenuis*

FIG. 5. Invloed van de temperatuur op de mate van aantasting van geïnoculeerde hauwen.
 Dat de curven van 20° C en 22° C na enkele dagen een daling vertonen betekent niet, dat de aantasting in hevigheid afneemt, doch dat de vlekjes zó talrijk zijn, dat een aantal ervan samen-
 vloeit en ze niet afzonderlijk geteld kunnen worden.

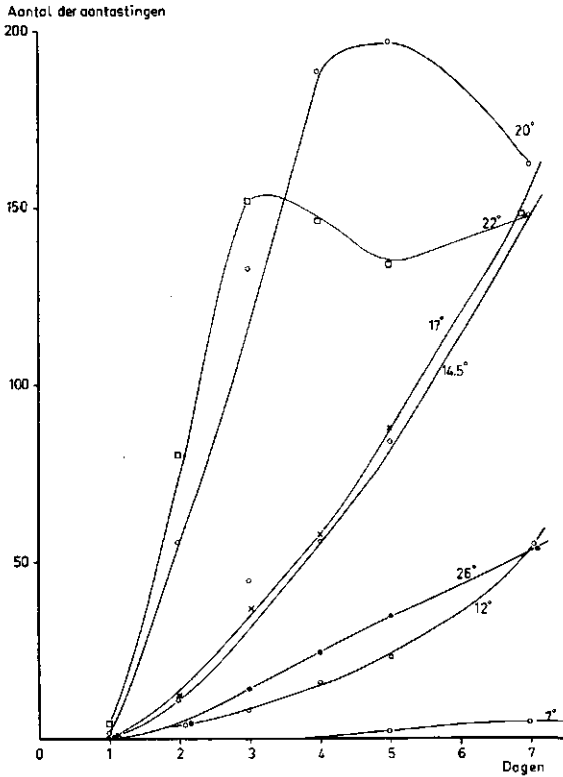


FIG. 5. Effect of temperature on the rate of infection in inoculated pods.
 A decrease in number of lesions was observed when the pods were kept at 20° and 22° C. This is because the lesions were so numerous that they coalesced, thus making accurate counts impossible.

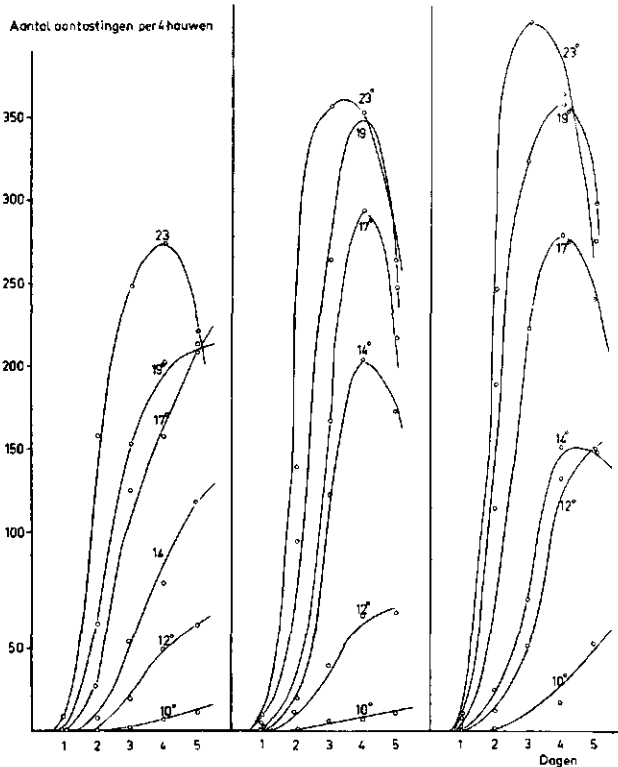


FIG. 6.
Invloed van aanwezigheid van water op de aantasting van hauwen door *A. brassicicola*.
Mate van aantasting na 1, 2, 3, 4, 5 en 6 dagen, waarbij in de serie voorgesteld in de linker grafiek de geïnoculeerde hauwen gedurende 4 uur natgehouden werden, in die van de middelste 8 uur en in die van de rechter 12 uur. Daarna werd de relatieve luchtvochtigheid op 100% gehouden.

FIG. 6.
*Effect of water on the infection of pods by *A. brassicicola*.*
The graphs show the rate of infection after 1, 2, 3, 4, 5 and 6 days. The pods used in the experiment shown in graph I were kept moist for 4 hrs, those in graph II for 8 hrs and those in graph III for 12 hrs. The humidity was 100% after these periods.

Uit de gevonden optima is, wat betreft de veldcondities, de volgende conclusie te trekken: wanneer vanaf de tweede helft van juni tot het moment van de oogst het weer afwisselend zonnig en regenachtig is, zijn de voorwaarden voor aantasting gunstig. Bij constant zonnig weer met hoge temperatuur is gewoonlijk de vochtigheid te laag en tijdens lange perioden van regenval zal in de regel de temperatuur niet hoog genoeg zijn om de spikkelziekte in ernstige mate te doen optreden.

Zoals hieronder aangetoond zal worden, heeft regen niet alleen invloed op de kieming der sporen, doch ook op de verspreiding ervan.

2. PATHOLOGIE

Aan de hand van inoculatieproeven werd het verloop van de aantasting gevolgd. Worden hauwen, die met sporensuspensie bespoten zijn, bij hoge luchtvochtigheid gehouden, dan ontkiemen de sporen snel. Uit meercellige sporen ontwikkelt zich gewoonlijk meer dan één kiembuis. De kiembuizen dringen via de stomata de plant binnen en na 4 tot 8 uur is te zien, hoe de celwanden van de sluitcellen bruinzwart verkleuren en de inhoud van deze cellen samenbalt en bruingeel van kleur wordt.

Weldra wijzigt zich de gedaante der sluitcellen: zij verschrompelen enigszins, waardoor het huidmondje wijd open komt te staan. Het sluitingsmechanisme is volkomen gestoord en de stomata kunnen zich niet meer sluiten.

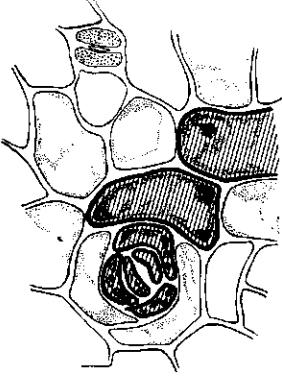


FIG. 7.
De eerste symptomen van *Alternaria*-aantasting. Verbruining van celwanden der cellen rondom het stoma, waarvan de sluitcellen verschrompelen.

FIG. 7.
Transverse section of a pod showing the initial stages of Alternaria infection. The walls of the stomatal guard cells first turn brown and some shrinkage occurs. The cell contents later coagulate.

Vervolgens verkleuren de cellen, die de ademholte omgeven en ten slotte gaat het parenchym bruinkleuring vertonen. De vaatbundels worden bij voortschrijden der aantasting geheel of gedeeltelijk door een bruine substantie geblokkeerd.

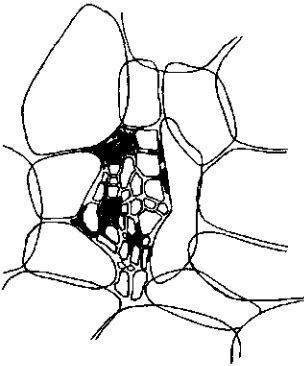


FIG. 8.
Vaatbundel in hauw, gedeeltelijk geblokkeerd als gevolg van aantasting der hauw door *Alternaria*

FIG. 8.
A partially blocked vascular bundle caused by the Alternaria infection

Tijdens dit proces, dat zich onder laboratoriumcondities in ca. 24 uur afspeelt, zijn in het weefsel geen hyphen aan te tonen. Blijkbaar werken de dunne myceliumdraden zich tussen de celwanden en de intercellulair door, terwijl ze door het afscheiden van toxische stoffen reactie van de cellen teweegbrengen. Pas wanneer de aantasting zo ver voortgeschreden is, dat het parenchym er in belangrijke mate bij betrokken is, is het mogelijk, met behulp van een oplossing van katoenblauw in

lactophenol, mycelium aan te tonen. In het beschadigde weefsel bevindt zich dan een vlechtwerk van myceliumdraden. Van hieruit werken zich conidiophoren door de epidermis heen naar de oppervlakte, waarna op de hauw conidiën ontstaan. De conidiënontwikkeling begint, wanneer het weefsel in ernstige mate verzwakt is en wordt gestimuleerd door hoge luchtvochtigheid. Ook beschadiging van het weefsel, door b.v. de hauwen gedurende 2 min. in aether- of alcohol damp te houden, bevordert de conidiënvorming.

Het is duidelijk dat de schimmel, althans wanneer de weersomstandigheden daartoe gunstig zijn, het inwendige van de hauw hevig kan beschadigen. Het is dan ook aanvankelijk verwonderlijk, dat in het algemeen slechts een klein percentage der zaden geïnfecteerd wordt. Van hauwen, die met sporensuspensie van *A. brassicicola* waren geïnfecteerd en gedurende 8 dagen in vochtige petrischalen bij 22° C waren geïncubeerd, werden de zaden verzameld. Deze uit zwaar aangetaste, doch niet opengesprongen hauwen afkomstige zaden werden op kersagar uitgelegd. Van de 500 zaden bleken er 8 of 1,6 % met *A. brassicicola* te zijn geïnfecteerd.

De verklaring van dit verschijnsel ligt in de anatomie der hauwen. De binnenste epidermis van de koolzaadhauw wordt beschermd door een laag sclerenchymcellen. Het is de hyphen vrijwel niet mogelijk tussen deze dikwandige, nauw aaneengesloten cellen door te groeien. (Het is interessant in dit verband te wijzen op radijshauwen, die geen sclerenchym laag bezitten en waarin het zaad gewoonlijk voor een zeer hoog percentage met *Alternaria* is geïnfecteerd.)

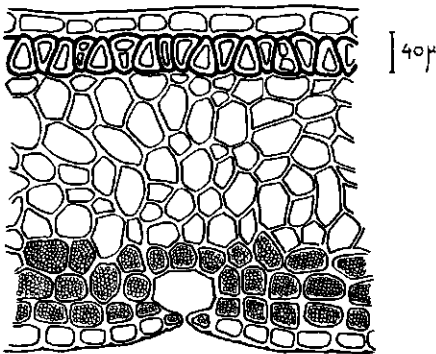


FIG. 9.
Schematisch weergegeven dwarsdoorsnede van een volgroeide hauwklep

FIG. 9.
Schematic representation of a T.S. of one half of a pod

Toch kan zaadinfectie voorkomen. De sclerenchym laag loopt nl. naar de zaadlijsten toe dun uit, zodat op die plaatsen een smalle doorgang van dunwandige cellen voor eventuele passage van de schimmel naar binnen toe, aanwezig is.

De tweede mogelijkheid is praktisch van meer belang dan de vorige. Zoals hierboven werd vermeld, zijn de aangetaste huidmondjes constant geopend. De cuticulaire verdamping van de hauw is dus niet reguleerbaar en te groot. Verder zijn de

vaatbundels van de aangetaste hauw geheel of gedeeltelijk geblokkeerd, zodat het watertransport verminderd is. Het gevolg zal een uitdroging zijn, waardoor de hauw aan de topzijde openspringt: noodrijpheid. (Dit verloop wijkt principieel af van het normale rijpingsproces, waarbij de hauwkleppen aan de basis loslaten van het septum.) Dit openspringen gebeurt gewoonlijk in beperkte mate: dikwijls is de spleet nauwelijks zichtbaar. Voor schimmelsporen vormt hij niettemin een ruime toegangspoort, die leidt naar de rijpende zaden en het septum, dat bovendien een uitstekende voedingsbodem vormt. De ziekte heeft in de laatste 4 jaren nergens in ons land dit laatste stadium kunnen bereiken.

Een derde mogelijkheid tot aanzienlijke zaadinfectie ligt in vroege aantasting van het gewas. In de jonge hauw is de sclerenchym laag zeer dun en bestaat uit smalle, dunwandige cellen, die, zoals uit proefnemingen bleek, door de schimmel gemakkelijk te passeren is. Pas wanneer de hauw ongeveer 4 cm lang is, groeien de sclerenchymcellen sterk uit en beletten de hyphen de binnenste epidermis en de zaden te bereiken.

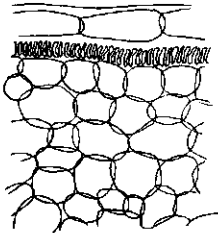


FIG. 10.
Aanleg van de sclerenchym laag in een zeer jonge hauw

FIG. 10.
A similar T.S. of a young pod showing the weakly developed sclerenchymatous layer

In de regel is het zaad dus slechts in zeer geringe mate geïnfecteerd. Zaadontsmetting zal alleen dan nuttig kunnen zijn, wanneer het zaad afkomstig is van een zwaar aangetast gewas, daar in dat geval tijdens het dorsen een aanzienlijk deel van de zaden met op andere plantedelen aanwezige sporen besmet zal worden.

In het beginstadium der aantasting zijn in de cellen geen hyphen aan te tonen. Wel treden sterke veranderingen op in de inhoud der cellen, welke samenbalt en een geelbruine verkleuring gaat vertonen. Daar het waarschijnlijk is, dat hier door de schimmel geproduceerde toxische stoffen een rol spelen, werden enkele proeven genomen om hierover zekerheid te verkrijgen. *A. brassicicola* werd gedurende 3 weken in een vloeibaar milieu (Czapek) gekweekt. Daarna werd de cultuurvloeistof door een filterkaars L 7 gefiltreerd. In de zo verkregen celvrije vloeistof met pH 7 werden koolzaadkiemplantjes geplaatst. Deze vertoonden na 8 uur verwelking (fig. 11) en na ± 20 uren waren de vaten in de voet van de stengel als zwarte lijnen zichtbaar.

Volwassen koolzaadbladeren reageerden niet in de eerste plaats met verwelking, doch hun vaten werden tot in hun uiterste vertakkingen zwart, zodat de bladschijf een fijn netwerk van zwarte lijntjes te zien gaf.

FIG. 11. Invloed van cultuurvloeistof van *A. brassicicola* op kiemplanten van koolzaad na 8 uur. Rechts: controle in Czapek's.



FIG. 11. *Effect of cellfree filtrate of A. brassicicola on colza seedlings, after 8 hrs. The two tubes on the right are controls in Czapek's medium.*

Bij tomatenbladeren leidt de cultuurvloeistof na 4 uur tot hevige verwelkingsverschijnselen (fig. 12).

FIG. 12. Invloed van cultuurvloeistof van *A. brassicicola* op tomatenbladeren na 4 uur. Rechts: controle in Czapek's.



FIG. 12. *Effect of cellfree filtrate of A. brassicicola on tomato leaves, after 4 hrs. Right: control in Czapek's medium.*

De cultuurvloeistof kan gedurende 10 min. verwarmd worden tot 100° C zonder zijn activiteit te verliezen.

Over de aard van de bruine substantie, die onder invloed van de toxinen in de weefsels der plant ontstaat, is weinig met zekerheid te vermelden: behandeling met methyleenblauw doet de bruine kleur overgaan in zwart, terwijl na enkele uren koken in 20 % KOH-oplossing een opheldering optreedt. De eerste reactie zou kunnen wijzen op de aanwezigheid van pectinaatachtige verbindingen; de tweede op die van melaninen.

Uit het voorafgaande mag worden afgeleid, dat evenals bij *A. solani* ook bij *A. brassicicola* de afscheiding van toxinen een rol speelt bij de aantasting van de waardplant.

Hoewel de door de cultuurvloeistof van *A. brassicicola* veroorzaakte verschijnselen sterke overeenkomst vertonen met die welke het door *A. solani* gevormde *Alternaria*-zuur teweegbrengt, is het niet zeker dat we hier met dezelfde substantie te doen hebben.

IV. VERSPREIDING

Daar de verspreiding van een schimmel van groot belang is in verband met de mogelijkheden tot bestrijding, werd aandacht besteed aan de verspreiding van *Alternaria*-sporen, zowel van perceel tot perceel als in het gewas.

Uit onderzoek van afgestorven bladmateriaal, dat zich in het voorjaar tussen de planten op de grond bevindt, blijkt, dat in veel gevallen reeds in april sporen van *A. brassicicola* en/of *A. brassicae* in het gewas aanwezig zijn. In de loop van het seizoen wordt een populatie opgebouwd en bereikt de aantasting, wanneer de weersomstandigheden daartoe gunstig zijn, de hauwen. Het vermoeden was, dat de bij zonnig weer optredende convectiestromingen in de lucht voor dit transport van sporen verantwoordelijk zouden zijn. Daarnaast leek het waarschijnlijk, dat ook de regen en de koolzaadinsecten *Ceuthorrhynchus assimilis* PAYK. en *Meligethes aeneus* F. een rol zouden spelen. Dat inderdaad in de lucht tussen het gewas een voortdurend transport van sporen plaats vindt, bleek uit de resultaten der sporenvangproeven, welke hieronder worden vermeld.

1. VERSPREIDING IN HET GEWAS

Om een indruk van de eventuele invloed van regen en insecten te verkrijgen werden de volgende proeven uitgevoerd.

Op 12 mei 1953 werden kaasdoekkooien van $70 \times 70 \times 150$ cm geplaatst op proefveldjes te Bennekom en Wageningen. In beide series werden in één van de kooien enkele honderden snuitkevers gebracht; een andere kooi werd voorzien van een groot aantal glanskevers. In beide gevallen werd de kooi met een glazen plaat afgedekt. Een derde kooi bleef aan de bovenzijde open. Hierin had de regen vrij spel, terwijl tevens op verschillende tijdstippen de planten in deze kooi overvloedig besproeid werden. Wel afgedekt was een vierde kooi waarin alleen de wind een rol speelde. In alle kooien werd zwaar geïnfecteerd bladmateriaal op de grond gelegd. Begin juli werden hauwen uit alle kooien verzameld en wel van de toppen der planten en van plaatsen dieper in het gewas.

Tabel 1 geeft het gemiddelde aantal aantastingen per hauw in de verschillende kooien. Het beschut liggende veldje in Bennekom geeft over het geheel hogere aantastingscijfers te zien dan het open liggende Wageningse veld.

Duidelijk blijkt, dat de koolzaadinsecten geen aandeel hebben in de verspreiding van de spikkelziekte. Ook de wind alleen doet geen sterke aantasting ontstaan. Wel, wanneer hij gepaard gaat met regenval. Of regenval alleen ontwikkeling van sporen bevordert of tevens de verspreiding er van, werd aan de hand van de volgende proef nagegaan.

Op 14 mei 1954 werd op de grond tussen de stengels van enkele m^2 koolzaad ziek materiaal met sporen gebracht. Tegelijkertijd werden twee plastic kooien van $70 \times 70 \times 150$ cm (A en B) aangebracht, terwijl een kleine oppervlakte (C) niet in een kooi gehuld werd.

Kooi A werd tweemaal per week met 2 l water *op de grond* begoten.

Kooi B kreeg dezelfde hoeveelheid water, doch *van boven af* per gieter toegediend.

Veldje C werd eveneens van boven begoten en kreeg tevens regen.

Op 9 juli werden alle hauwen van de kooien A en B en van veldje C verzameld en op aantasting beoordeeld (tabel 2).

TABEL 1. Invloed van insecten en weersomstandigheden op de mate van aantasting van koolzaad door *Alternaria spec.*

No. proef		Aantal aantastingen per hauw (gemiddelde van 50 bepalingen)			
		Bennekom		Wageningen	
		hoog	laag	hoog	laag
1	Glanskevers (<i>pollen beetles</i>) (weinig wind, geen regen)	5	6	— ¹	— ¹
2	Snuitkevers (<i>seed pod weevils</i>) (weinig wind, geen regen)	1	1	2	2
3	Regen (<i>rain</i>) (weinig wind)	81	108	10	16
4	Wind (<i>wind</i>) (weinig wind, geen regen)	1	11	0	7
5	Geen kooi (wind en regen) (<i>wind and rain</i>)	30	62	— ¹	— ¹
Nr. experiment		<i>top of plants</i>	<i>bottom of plants</i>	<i>top of plants</i>	<i>bottom of plants</i>
		<i>Number of lesions per pod (average of 50 pods)</i>			

¹ Telling niet mogelijk als gevolg van de sterke galmug-aantasting.

TABEL 1. *Effect of insects and climate on the rate of infection of colza by A. spec.*

TABEL 2. Invloed van regenval op de mate van aantasting van koolzaad door *Alternaria spec.*

	Aantal hauwen			
	aangetast	gezond	totaal	% aangetast
Kooi A	40	357	397	10
Kooi B	216	370	586	37
Veldje C	401	557	958	41
	<i>infected</i>	<i>healthy</i>	<i>total</i>	<i>% infected</i>
<i>Number of pods</i>				

TABEL 2. *Effect of rain on the rate of infection of colza by A. spec.*

Het blijkt dus, dat niet alleen de aanwezigheid van water van belang is, doordat de ontwikkeling van de schimmel hierdoor wordt gestimuleerd, doch dat het neerkomen van dit water in de vorm van neerspattende regen bovendien de verspreiding van de sporen bevordert.

2. VERSPREIDING BOVEN HET GEWAS

Van evenveel betekenis is de verspreiding in het groot.

Het lag voor de hand, aan te nemen dat het gewas in de zomer vanuit de lucht geïnfecteerd zou worden. Dit is inderdaad het geval, doch het is in vele gevallen niet

de enige en niet de belangrijkste besmettingswijze. Een niet te onderschatten infectiebron is in het voorjaar reeds op het veld aanwezig. Uit een reeds vermeld onderzoek van materiaal, verzameld van koolzaadpercelen in verschillende delen van het land, kwam vast te staan, dat in alle gevallen reeds vroeg in het voorjaar *Alternaria*-sporen aanwezig waren. Het waren voornamelijk sporen van *A. tenuis*, doch ook *A. brassicicola* en *A. brassicae* werden aangetroffen.

Dat een gewas reeds zeer vroeg geïnfecteerd kan worden, wordt duidelijk wanneer men eind juli geogoste koolzaadpercelen aantreft, waarvan de stoppels overvloedig bedekt zijn met een bruine poederige laag, die bij nadere beschouwing uit sporen van *Alternaria* blijkt te bestaan. Gewoonlijk worden de stoppels niet onmiddellijk na de koolzaadoogst ondergeploegd. Men wacht enkele weken, zodat de kiemplantjes, afkomstig van het achtergebleven zaad, ondergewerkt kunnen worden opdat geen koolzaadplanten in groten getale tussen het volgende gewas zullen verschijnen. Bovendien hecht men soms enige waarde aan deze kiemplanten als groenbemesting. De wind krijgt dus enkele weken lang de gelegenheid sporen over grote afstanden te verspreiden. De percelen in de omgeving van het stoppelveld, welke in augustus worden ingezaaid, lopen een niet geringe kans al spoedig te worden geïnfecteerd. De schimmel kan op afgestorven bladmateriaal overwinteren om zich het volgend seizoen, zodra de weersomstandigheden dit toelaten, te ontwikkelen en ten slotte de hauwen te bereiken.

Opmerkelijk is in dit verband het feit dat zomerkoolzaad, dat in het voorjaar gezaaid wordt, steeds in veel mindere mate van spikkelziekte heeft te lijden dan winterkoolzaad (vgl. VAN SCHREVEN, pag. 107, tabel 1).

Sporen vangen

Om een indruk te krijgen van het aantal *Alternaria*-sporen, dat zich in het gewas en er boven in de lucht bevindt, werden op eenvoudige wijze sporenvangsten gedaan.

Dit geschiedde op een perceel koolzaad van 1 ½ ha te Wageningen. Op de z.o.-hoek en de n.w.-hoek werden 4 objectglasjes opgesteld: A en C boven het gewas, op 1 ½ m hoogte, verticaal staand en op de wind draaiend; B en D in het gewas, op 50 cm hoogte en horizontaal bevestigd.

De glasjes, die met „Stop-cock-grease” waren ingevet, werden om de andere dag door nieuwe vervangen.

Microscopisch onderzoek van de glasjes wees uit, dat het voornamelijk sporen van *A. tenuis* waren, die zich boven het koolzaad in de lucht bevonden. Sporen van *A. brassicicola* werden slechts op enkele dagen aangetroffen, nl. na 13 april en 8 mei, toen een gedeelte van het perceel kunstmatig werd geïnfecteerd met behulp van een sporensuspensie. Dat op de glasjes in de n.o.-hoek in augustus sporen van *A. brassicicola* werden gevangen, moet worden toegeschreven aan het dorsen, dat op 6 augustus plaats vond tijdens zuidwestenwind.

Over het geheel blijkt het aantal *Alternaria*-sporen, dat in mei en juni boven het gewas voorkomt, zeer gering te zijn. (Zie fig. 13 en 14).

In de grafieken zijn ook aangegeven: regenval en de dagen waarop de temperatuur en luchtvochtigheid bijzonder gunstig waren voor ontwikkeling van *Alternaria*.

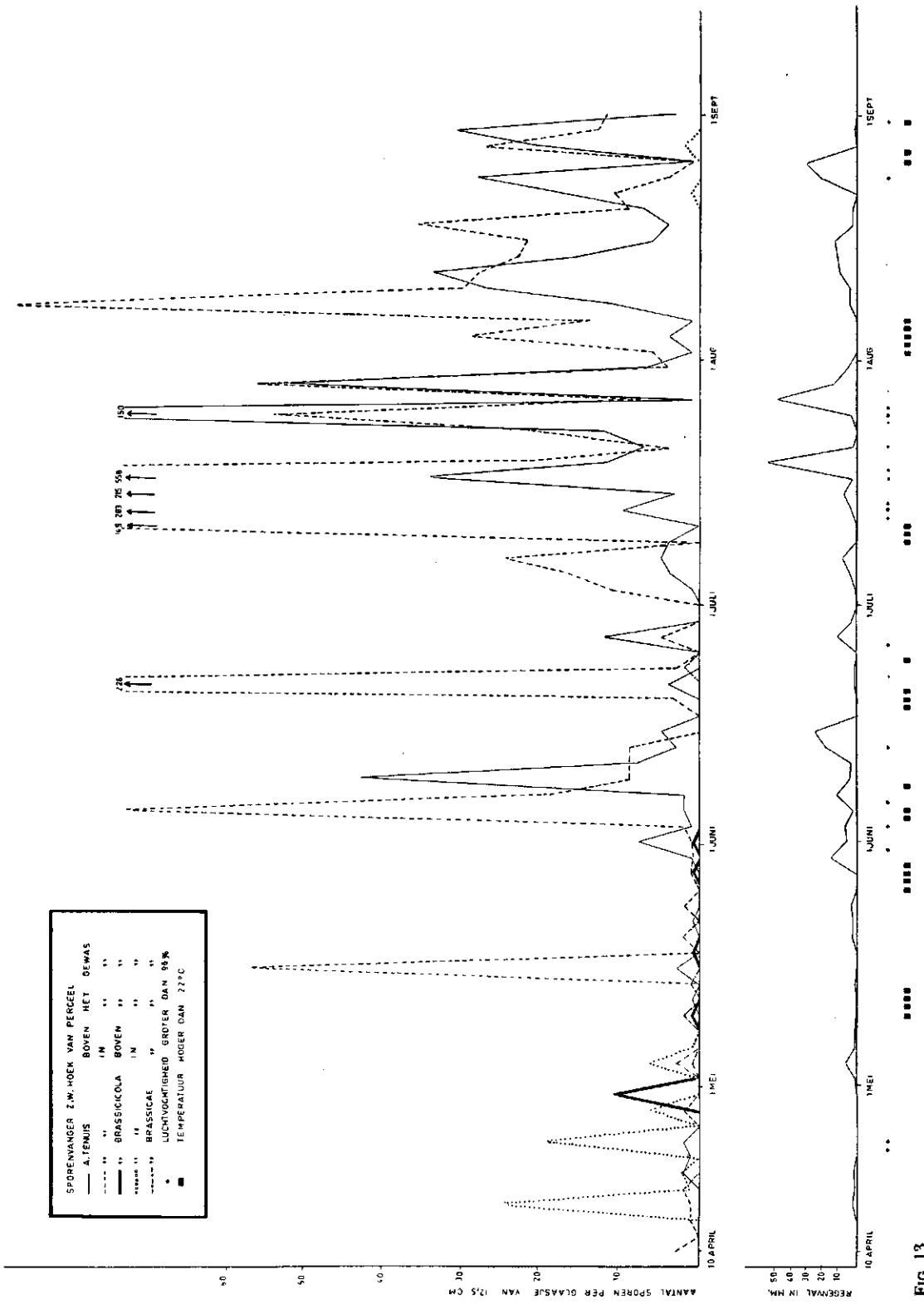
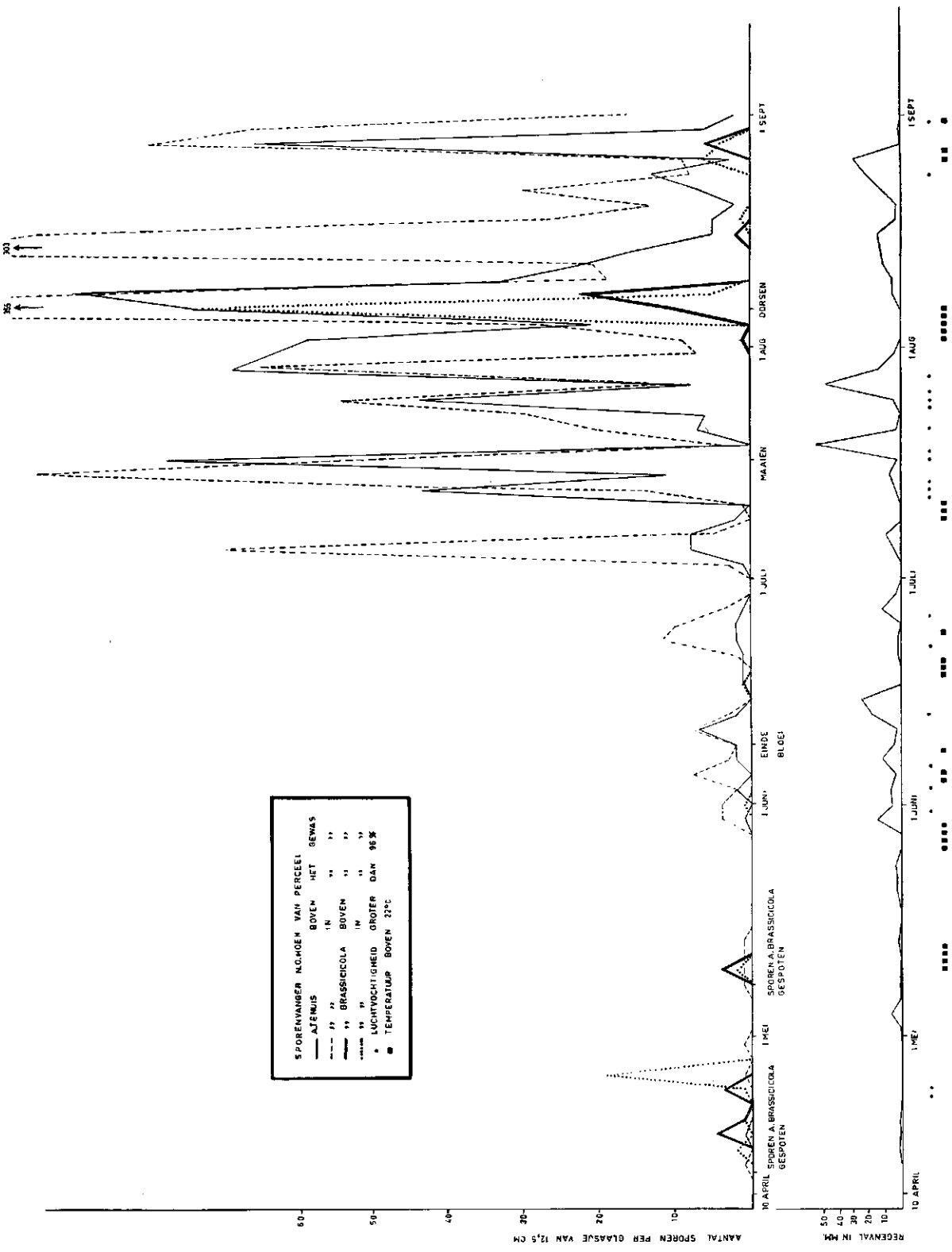


FIG. 13.

SPORENVANMER MICHEN VAN PERCEEL
 BOVEN HET GEWAS
 — AJEINUS 1 N 11 12
 — 13 14 15 16
 — BRASSICICOLA BOVEN 11 12
 — 13 14 15 16
 • LUCHTYCHTIGHEID GROTER DAN 95%
 ■ TEMPERATUUR BOVEN 22°C



Van een duidelijk verband tussen deze gegevens en de sporenvangsten is geen sprake. Opmerkelijk is, dat de pieken in de lijn van sporen boven het gewas voorkomend, dikwijls gelijktijdig optreden met pieken in de lijn der in het gewas aanwezige sporen. Hieruit is af te leiden, dat de zich boven het gewas bevindende sporen uit het gewas zelf afkomstig zijn en slechts voor een klein gedeelte of in het geheel niet van buiten af worden aangevoerd.

Hoewel voor een volledig inzicht in de wijze van verspreiding van *Alternaria* voortgezet onderzoek wenselijk is, zijn er thans voldoende gegevens om het aannemen van een vroegtijdige infectie van het gewas te rechtvaardigen. De sporen, die het gewas hereiken tijdens de rijping der hauwen, zijn van ondergeschikt belang voor het optreden van de spikkelziekte.¹ Het zijn de weersomstandigheden in die periode, die de mate van aantasting beheersen.

¹ SCHRÖDTER (11) trachtte veldjes van 7×7 m, waarop bloemkool voor zaad geteeld werd, te vrijwaren voor *Alternaria*-infectie door het aanbrengen van windschermen bestaande uit 6 rijen maïs. Sporenvangsten gaven resultaten te zien tegengesteld aan de verwachting: het aantal aan de lijszijde van het scherm gevangen *Alternaria*-sporen was vele malen groter dan dat aan de loefzijde. Het scherm was voldoende winddoorlatend om sterke wervelingen en dus ophoping van aangevoerde sporen achter het scherm te voorkomen. De verklaring van het verschijnsel ligt waarschijnlijk hierin, dat het microklimaat aan de lijszijde door het windscherm sterk ten gunste van de reeds aanwezige schimmels veranderde, waardoor deze overvloedig sporen produceerden.

V. GEVOELIGHEID VAN ENKELE KOOLZAADRASSEN

Ter beantwoording van de vraag, of er onder een aantal bekende koolzaadrassen enkele zijn met een zekere mate van resistentie tegen de spikkelziekte, werden enkele proeven genomen. Van de volgende rassen werden op een proefveld in Wageningen enige rijen uitgezaaid: Lembke, Mansholt's Hamburger, Matador, Firlbeck en Dippe. Op 30 mei, 2 en 13 juni 1953 werden monsters hauwen verzameld, welke met *A. brassicicola* werden geïnoculeerd. De bepaling van de mate van aantasting vond twee dagen later plaats. Tabel 3 geeft het resultaat van deze tellingen.

TABEL 3. Gevoeligheid van verschillende koolzaadrassen t.o.v. *A. brassicicola*

Rassen	Aantal aantastingen per hauw (gemiddelde van 20 bepalingen)		
	30 mei	2 juni	13 juni
Lembke	40	42	38
Mansh. Hamburger	41	34	39
Matador	44	43	42
Firlbeck	65	52	67
Dippe	91	82	86
Varieties	30 May	2 June	13 June
	Number of lesions per pod (average of 20 pods)		

TABEL 3. Susceptibility of several colza varieties to *A. brassicicola*

De gevoeligheid van de rassen Lembke, Mansh. Hamburger en Matador is vrijwel dezelfde. Firlbeck blijkt iets gevoeliger te zijn, terwijl Dippe duidelijk als het gevoeligste ras naar voren komt. Dit laatste is in overeenstemming met Bericht 149 (aug. 1953) over Rassenkeuze van het I.V.R.O., waarin van „Dippe platzwiderstandsfähiger” wordt gezegd: „wordt meer door spikkelziekte aangetast”. VAN SCHREVEN, (10), die zaadaantasting bepaald heeft van verschillende rassen, vindt voor Dippe verreweg het hoogste percentage *Alternaria* (pag. 107, tabel 2). In hoeverre de mogelijkheid tot vergroting van de resistentie in Lembke, Mansh. Hamburger en Matador bestaat, zal nader dienen te worden onderzocht.

VI. INVLOED VAN BEMESTING

Om mogelijke aanwijzingen te verkrijgen, of door bemesting met bepaalde elementen de mate van aantasting van koolzaad door spikkelziekte wordt beïnvloed, werd de volgende oriënterende proef uitgevoerd.

In betonnen bakken van 70 × 70 × 70 cm, met kleigrond gevuld, werden koolzaadplanten gekweekt. Op 9 april, 1 en 21 mei 1953 werden hoge doses N, P en K toegediend in de vorm van chilisaalpeter (1000 kg/ha), superfosfaat (1200 kg/ha) en patentkali (1200 kg/ha). Op 29 mei vond inoculatie van afgesneden hauwen plaats, terwijl 3 dagen later de mate van aantasting werd bepaald. Deze inoculatie werd herhaald met een monster hauwen, dat op 2 juni was verzameld.

De uitkomsten (tabel 3) bleken wisselvallig. Een duidelijke invloed van een der elementen blijkt er niet uit en de enige conclusie, die er uit getrokken kan worden, is een voor de hand liggende, nl. dat een gewas met een volledige N-, P- en K-bemesting het minst gevoelig is voor aantasting door *A. brassicicola*.

TABEL 4. Invloed van bemesting op de gevoeligheid van koolzaad voor aantasting door *A. brassicicola*

Meststoffen	Aantal aantastingen per hauw (gemiddelde van 10 bepalingen)	
	29 mei	2 juni
N	85	95
P	71	68
K	102	83
NK	75	75
NP	103	99
PK	87	75
NPK	38	35
Controle	53	78

Fertilizers	29 May	2 June
	Number of lesions per pod (average of 10 pods)	

TABLE 4. Effect of fertilizers on the susceptibility of colza to infection by *A. brassicicola*

VII. BESTRIJDING

1. „VROEGTIJDIGE” BESTRIJDING

Op het constateren van de zeer vroegtijdige infectie van het koolzaad, volgde een poging om tot een eveneens vroegtijdige bestrijding te komen. De mogelijkheid bestond immers, dat door het toepassen van sterk werkende fungiciden in het voorjaar, het reeds aanwezige sporendepot onschadelijk gemaakt zou kunnen worden. Een voordeel van deze methode zou zijn, dat men, zonder moeite en zonder schade aan het gewas te veroorzaken, hier met landmachines doorheen zou kunnen rijden.

Een proef werd als volgt ingericht.

Op een koolzaadveld te Wageningen werden 12 veldjes van 4×6 m uitgezet. Daar het onwaarschijnlijk geacht moest worden, dat een belangrijke natuurlijke infectie zou plaatsvinden, werden de veldjes op 13 april 1954 met een sporensuspensie van *A. brassicicola* bespoten. Op 20 april werden op de veldjes de volgende middelen in drievoud toegepast:

Aacumex stuif, 320 g per veldje (= 128 kg/ha)

Aamerko spuit, 10 g in 300 cc water per veldje (= 4 kg/ha)

Spergon spuit, 20 g in 300 cc water per veldje (= 8 kg/ha)

Bemonstering vond plaats op 8 juli en wel zodanig, dat van ieder veldje binnen een raam van 1 m^2 alle aangetaste hauwen werden verzameld. Het aantal hauwen per m^2 was ± 2000 .

TABEL 5. Effect van „vroegtijdige” bestrijding

	Aantal aangetaste hauwen	Aantal vlekjes daarop
Spergon A	33	161
B	14	131
C	19	86
Aamerko A	—	— ¹
B	19	84
C	21	176
Aacumex A	28	195
B	33	178
C	—	— ¹
Onbehandeld A	48	509
(untreated) B	46	501
C	64	586
	<i>Number of infected pods</i>	<i>Number of lesions on infected pods</i>

¹ Geen waarneming (no observation)

TABEL 5. Effect of “early” control measures, applied early in the year

Het blijkt, dat behandeling met Aamerko en Spergon een belangrijke reductie geeft van het sporendepot in het gewas. Daar uit de sporenvangsten is gebleken, dat zich in de maanden mei en juni boven het proefveld praktisch geen sporen van *A. brassicicola* en *A. brassicae* in de lucht bevonden, moet worden aangenomen, dat de

aantasting der behandelde veldjes veroorzaakt is door niet gedode sporen. Het effect van deze vroegtijdige behandeling is dus niet geheel bevredigend: de aantasting wordt niet volledig teruggedrongen. Daar van te voren vaststond, dat de behandeling, ook wanneer deze bijzonder gunstige resultaten mocht geven, kostbaar zou zijn, werd getracht de toepassing van een fungicide te combineren met die van een bestrijdingsmiddel voor in de grond aanwezige larven van de koolzaadgalmug *Dasyneura brassicae* WINN. Hiertoe werd in samenwerking met ir. G. W. ANKERSMIT een proef in drievoud uitgevoerd, waarbij op 16 maart 1954 een aantal veldjes van 2×2 m behandeld werden met sporensuspensie van *A. brassicicola*, galmuglarven, het koperkwikpreparaat Aamerko en Chloordane, en wel in alle combinaties welke met deze 4 objecten mogelijk zijn. Op 4 juni werden kooien van $70 \times 70 \times 150$ cm overtrok-

TABEL 6. „Vroegtijdige” bestrijding, gecombineerd met galmugbestrijding

		Aantal hauwen per kooi				
		aangetast	gezond	totaal	% aangetast	gem. % aangetast
Galmug (<i>gallmidge</i>) + chloordane (+ <i>chlordan</i>)	1	60	534	594	10	14
	2	73	491	564	13	
	3	106	481	587	18	
Galmug (<i>gallmidge</i>) onbehandeld (<i>untreated</i>)	1	52	625	677	8	8
	2	13	259	272	5	
	3	55	405	460	12	
Alternaria + kwik (+ <i>organic mercury compound</i>)	1	72	753	825	8	10
	2	44	391	435	10	
	3	58	469	527	11	
Alternaria onbehandeld (<i>untreated</i>)	1	225	366	591	38	47
	2	357	200	557	64	
	3	245	386	631	39	
Alternaria + galmug + kwik + chloordane (+ <i>gallmidge</i> + <i>organic mercury compound</i> + <i>chlordan</i>)	1	111	729	840	13	7
	2	40	506	546	7	
	3	56	508	564	1	
Alternaria + galmug (+ <i>gallmidge</i>) onbehandeld (<i>untreated</i>)	1	333	463	799	42	38
	2	206	383	589	35	
	3	235	397	632	37	
		<i>infected</i>	<i>healthy</i>	<i>total</i>	% <i>infected</i>	<i>mean % infected</i>
<i>Number of pods per plot</i>						

TABEL 6. „Early” control, combined with control of gall midges

ken met doorschijnend plastic en kaasdoek opgezet, zodat de galmuggen niet konden ontsnappen. Bovendien begunstigt omhulling van het gewas aantasting door *Alternaria*, waardoor duidelijker verschillen verwacht konden worden.

Op 7 juli werden alle hauwen in elke kooi geoogst en beoordeeld op aanwezigheid van galmuglarven en *Alternaria*-aantasting. Voor de *Alternaria*-aantasting is het resultaat weergegeven in tabel 6.

Ook in deze proef komt een duidelijk effect van de vroegtijdige behandeling tot uiting. Wat de galmug betreft, deze werd volgens ir. G. W. ANKERSMIT voor niet meer dan 50 % teruggedrongen, wat te weinig is om aan deze gecombineerde bodembehandeling praktische waarde te kunnen toekennen. De vroegtijdige bestrijding heeft een uitgesproken preventief karakter, want hoewel het mogelijk zou zijn in het voorjaar de aanwezigheid van sporen op het veld door microscopisch onderzoek vast te stellen, zijn het toch de weersomstandigheden in de volgende maanden, die bepalend zijn voor de mate van aantasting. Hieruit volgt, dat de vroegtijdige bestrijding van geringe praktische waarde is.

2. BESTRIJDING IN HET HAUWSTADIUM

a. Proeven *in vitro*, ook met hechters

Hierbij werden afgesneden hauwen in petrischalen op vochtig filtreerpapier gebracht en met sporensuspensie van *A. brassicicola* (2400 sp./mm³) geïnoculeerd volgens een methode, die op pag. 8 is beschreven. De schalen bleven zolang geopend, dat de hauwen gedroogd waren. Telling van het aantal vlekjes na 48 uur verschaftte gegevens, aan de hand waarvan men een vergelijking kan treffen aangaande de werkzaamheid van de verschillende getoetste middelen. Op deze wijze werden allereerst enkele fungiciden van zeer uiteenlopende aard vergeleken, zoals koper- en zwavelpreparaten, organische kwikverbindingen en carbamaten.

Uit de resultaten (fig. 15) bleek in de eerste plaats, dat het effect van door sommigen aanbevolen zwavelmiddelen nihil is.

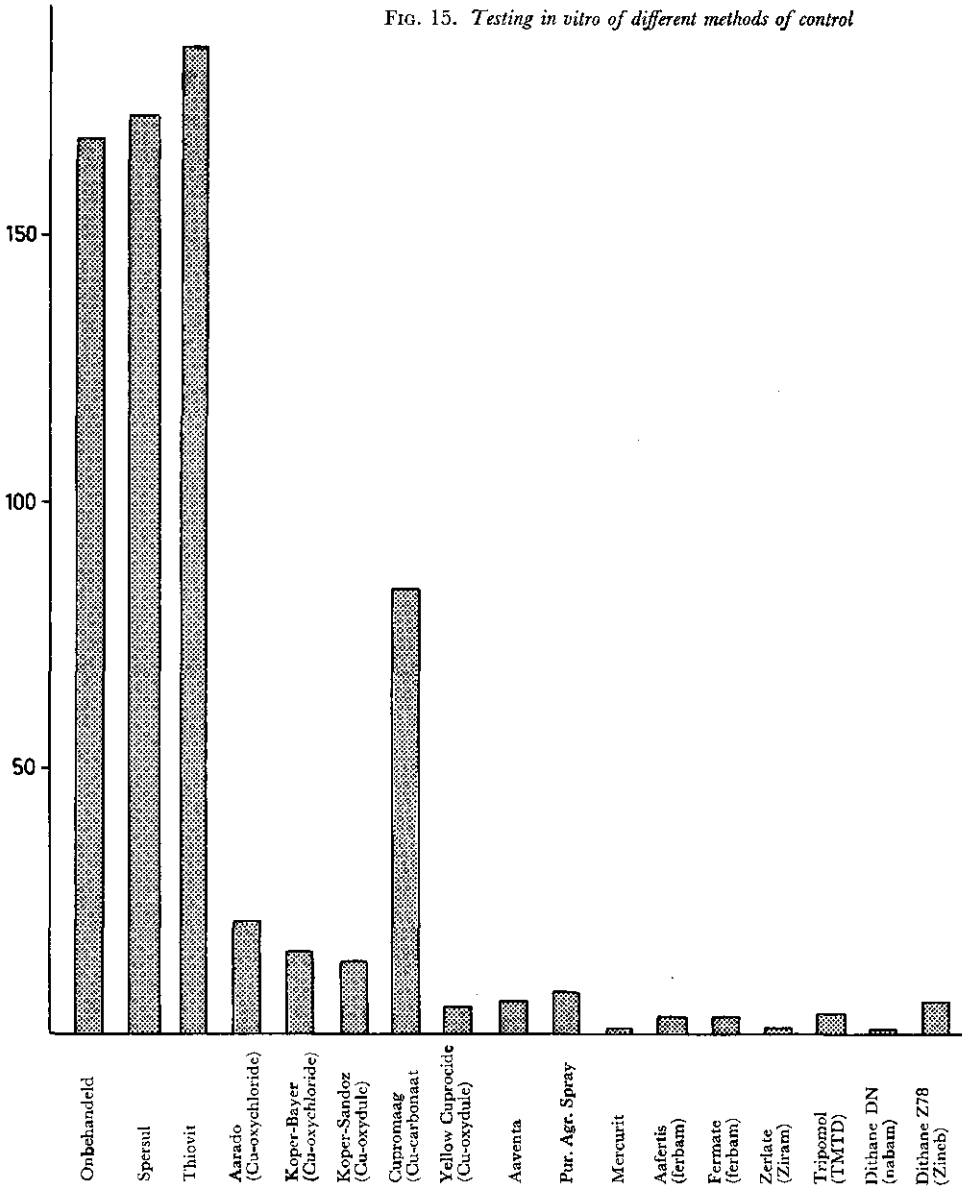
Kopermiddelen verminderen de aantasting merkbaar, doch hebben een ongunstig effect op de algemene conditie van de hauw: ze brengen een beschadiging in de vorm van bruine vlekjes teweeg. Vooral wat dit laatste betreft voldoen organische kwikmiddelen beter; zij zijn minder fytoxisch. Bijzonder hoopvol was echter het resultaat van behandeling met verschillende carbamaten. Niet alleen dat bij dit object het aantal vlekjes zeer gering was, doch bovendien bleken de hauwen er, in vergelijking tot de onbehandelde controles, zeer fris en groen uit te zien. Bij het verdere onderzoek werden dan ook in de eerste plaats carbamaten betrokken. De werking van carbamaten bleek zuiver preventief te zijn: zelfs een geringe voorsprong van de schimmel op het bestrijdingsmiddel beïnvloedt de werking hiervan in ongunstige zin. Worden carbamaten toegepast nadat de geïnoculeerde hauwen 4 uur bij 22° C zijn geïnoculeerd, dan is hun effect nihil.

Hechtingsproeven. Daar een waslaag van aanmerkelijke dikte de koolzaadplant bedekt, is het toevoegen van de juiste uitvloeier-hechter aan de spuitvloeistof van doorslaggevend belang voor het succes van de bestrijding. De vraag rees, of er in

Aantal aantastingen per houw

FIG. 15. Toetsing in vitro van verschillende bestrijdingsmiddelen

FIG. 15. Testing in vitro of different methods of control

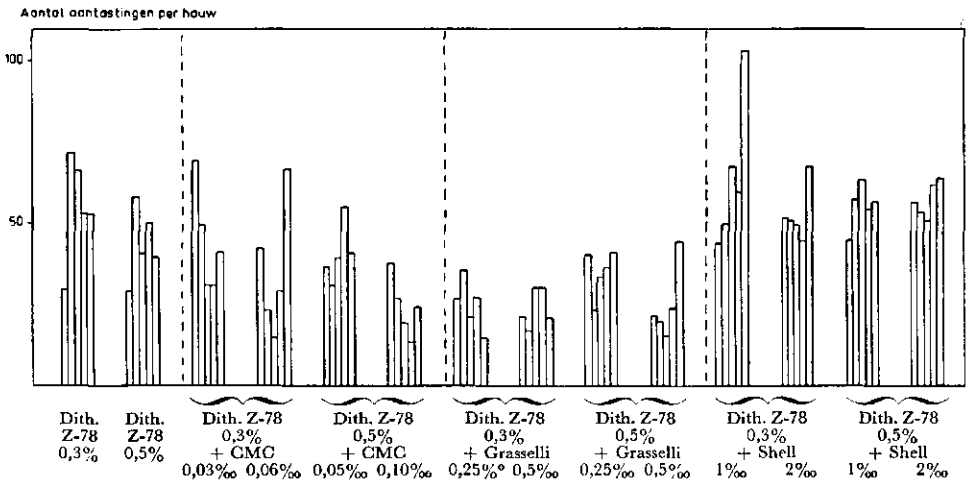


de werking van in de handel verkrijgbare hechtingsmiddelen verschillen zouden zijn te constateren. Hiertoe werden drie uitvloeiër-hechters van geheel verschillende aard en samenstelling getoetst: Grasselli spreader-sticker van Dupont, carboxy-methylcellulose en een Shell-sticker, die voor kopermiddelen wordt aanbevolen, doch ook voor carbamaten geschikt zou zijn.

Het toetsen geschiedde op de volgende wijze: er werd een groot aantal rekjes gemaakt, houten raampjes van 16×22 cm, met plastic gaas er in. Op ieder rekje werden 10 hauwen gelegd. Met behulp van een door de P.D. ontworpen spuitapparaat, die een constante dosering mogelijk maakt, werden deze rekjes met hauwen behandeld met Dithane Z-78, een handelspreparaat van Zineb, dat geen hechter bevat. Aan de spuitvloeistof waren resp. Grasselli, CMC en Shell-sticker in verschillende concentraties toegevoegd. De rekjes werden na de behandeling naast elkaar buiten gezet, zodat ze een groot deel van de dag waren blootgesteld aan zon en regen. Door het nathouden van een strook watten op de steeltjes werd getracht de hauwen zo lang mogelijk in goede conditie te houden. Na resp. 0, 3, 6, 9 en 12 dagen werden van een aantal rekjes de hauwen verzameld en geïnoculeerd met een sporensuspensie van bekende concentratie. Het bepalen van de mate van aantasting gebeurde twee dagen later.

In fig. 16 is het gemiddelde aantal vlekjes per hauw weergegeven, zoals dat verkregen werd uit tellingen van 10 hauwen (1953).

FIG. 16. Effect van enkele hechters op de werking van Dithane Z-78, toegepast op koolzaadhauwen (10 hauwen per bepaling)

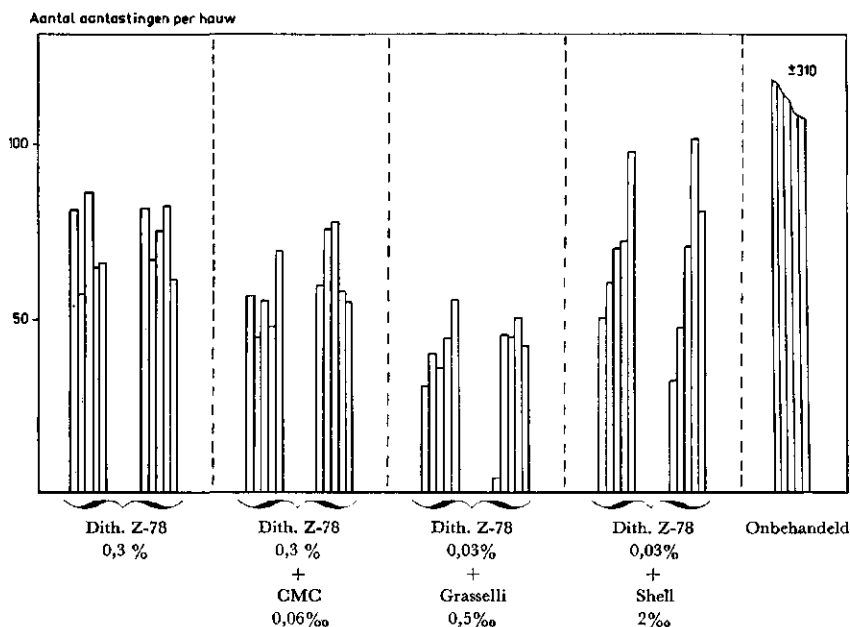


Van elk blok is:
 1ste kolom: met sporen behandeld na 0 dagen
 2de " " " " " 3 " "
 3de " " " " " 6 " "
 4de " " " " " 9 " "
 5de " " " " " 12 " "

FIG. 16. Effect of some stickers on the activity of Dithane Z-78 on colza pods

Het grillige verloop, dat de waarden van de bepalingen na 0, 3, 6, 9 en 12 dagen vertonen, duidt aan, dat het aantal van 10 hauwen per bepaling te klein is geweest. De proef werd in 1954 herhaald met 60 hauwen per bepaling. Door dit grote aantal was het niet meer mogelijk de drie hechters in meer dan één concentratie toe te passen; er werd gewerkt met gebruikelijke en aanbevolen concentraties.

FIG. 17. Effect van enkele hechters op de werking van Dithane Z-78, toegepast op koolzaadhauwen (60 hauwen per bepaling).



Van elk blok is:

1ste kolom:	met sporen behandeld na	0	dagen
2de	"	3	"
3de	"	6	"
4de	"	9	"
5de	"	12	"

FIG. 17. Effect of some stickers on the activity of Dithane Z-78 on colza pods

De nauwkeurigheid der bepalingen was aanmerkelijk groter. De toch nog optredende schommelingen moeten waarschijnlijk toegeschreven worden aan factoren buiten onze invloed, zoals weersomstandigheden en heterogeniteit van het gebruikte materiaal. Wat reeds bij de proef van 1953 werd vermoed, vond bij de herhaling bevestiging, nl. dat Grasselli een beter effect heeft dan beide andere middelen. Natuurlijk zouden zowel van Shell-sticker als van CMC andere concentraties beproefd

dienen te worden, doch in het bijzonder het verloop van de curve van het Shell-produkt, dat duidelijk een afnemende werking vertoont, stemt niet zeer hoopvol daaromtrent. Bovendien blijkt tussen Dith. Z-78 en Dith Z-78 + Shell-sticker geen reëel verschil te bestaan. Wel reëel zijn de verschillen tussen Dith. Z-78, Dith Z 78 + CMC en Dith. Z-78 + Grasselli. Van de drie getoetste hechters verdient Grasselli de voorkeur.

b. Potproeven

Voordat overgegaan werd tot het uitvoeren van veldproeven, werden enkele middelen getoetst op potplanten, die met sporen van *A. brassicicola* waren geïnoculeerd. Om zeker te kunnen zijn van het slagen van de infectie werden de potten in plastic kooien gehouden. Na verloop van twee weken werd bemonsterd en de aantasting der verzamelde hauwen bepaald (tabel 7).

TABEL 7. Toetsing van enkele bestrijdingsmiddelen op geïnoculeerde potplanten

	Aantal aantastingen per hauw (gemiddelde van 20 bepalingen herleid op blanco 100)
Ziram 0,3 %	43
0,5 %	26
Zineb 0,3 %	51
0,5 %	36
Ferbam 0,3 %	42
0,5 %	39
TMTD 0,25 %	41
0,5 %	38
Org. kwik 0,2 %	33
Zineb 0,3 % + Cu-oxyduul 0,75 %	14
Onbehandeld (<i>untreated</i>)	100
	<i>Number of lesions per pod (average of 20 pods in % of control)</i>

TABLE 7. Testing of some fungicides on inoculated potplants

Opmerkelijk goed komt de combinatie van 0,3 % Zineb en 0,75 % Cu-oxyduul uit deze proef te voorschijn.

c. Veldproeven

Veldproef 1953. Vrijwel hetzelfde aantal bestrijdingsmiddelen werd op beperkte schaal in veldproeven getoetst op percelen te Aalsmeer, Nieuweschans, Noordhorn, Usquert en Zetten.

Blokken van 16 m² werden elk in 4 gelijke veldjes verdeeld.

Elk blok werd met behulp van een Saval rugspuit met één bestrijdingsmiddel behandeld en wel in twee verschillende concentraties; de ene helft van het blok werd eenmaal, de andere tweemaal bespoten.

De proef omvatte drie parallellen, waarvan de objecten waren:

1. Zineb 0,2% + Cu-oxyduul 0,5% + Shell-sticker
Zineb 0,4% + Cu-oxyduul 0,75% + Shell-sticker
2. Ferbam 0,3%
Ferbam 0,5%
3. Ziram 0,3%
Ziram 0,5%
4. Blanco
5. Zineb 0,3% + Grasselli spreader-sticker
Zineb 0,5% + Grasselli spreader-sticker
6. TMTD 0,2%
TMTD 0,4%
7. Cu-oxyduul 0,75% + Shell-sticker
Cu-oxyduul 1% + Shell-sticker

De eerste bespuiting vond midden juni plaats, de tweede 9 dagen later. Op 3 juli werd bemonsterd.

De *Alternaria*-aantasting is in 1953 in ons land over het geheel zeer licht of licht geweest, zodat wiskundig betrouwbare verschillen tussen de middelen niet te constateren waren, terwijl bovendien op enkele der velden de aantasting zeer plaatselijk was. De gevolgtrekkingen, die desondanks uit de gegevens van huuwaantasting waren te maken, zijn:

1. Tweemalige behandeling is beter dan eenmalige.
2. De hogere concentratie heeft beter effect dan de lagere.
3. Bij de twee proefvelden (Aalsmeer en Nieuweschans) die een gelijkmatige, zij het lichte aantasting vertonen, werd het beste resultaat verkregen met Zineb + Cu-oxyduul en het slechtste met Cu-oxyduul, dat bovendien beschadiging van het gewas veroorzaakte in de vorm van bruine vlekjes op de hauwen.

Worden de verschillende middelen gerangschikt naar hun werking op de proefvelden te Aalsmeer en Nieuweschans en in de potproef, dan blijkt steeds de combinatie van Zineb en Cu-oxyduul bovenaan te staan (tabel 8).

TABEL 8. Enkele bestrijdingsmiddelen gerangschikt naar hun werking in verschillende proeven.

Middel	Rangnummers		
	Aalsmeer	Nieuweschans	Potproef
1. Zineb + Cu-oxyduul	1	1	1
2. Ferbam	5	3	5
3. Ziram	2	2	2
4. Blanco	7	7	6
5. Zineb	4	4	3
6. TMTD	3	5	4
7. Cu-oxyduul	6	6	-
Fungicide	Aalsmeer	Nieuweschans	Potexperiment
	Numbers		

TABLE 8. Some fungicides arranged in order of their activity in different experiments. A score of 1 being the highest activity.

Veldproef 1954. In deze proef, die op een koolzaadperceel te Wageningen werd uitgevoerd, werden op veldjes van 6×4 m de volgende middelen verneveld:

1. Zineb 3% + Grasselli spreader-sticker
Zineb 5% + Grasselli spreader-sticker
2. Zineb 3% + Cu-oxyduul 5% + Grasselli
Zineb 5% + Cu-oxyduul 5% + Grasselli
3. Cu-oxyduul 5% + Grasselli
4. Onbehandeld
5. Manzate 1,5%
Manzate 3%
6. Captan 3%
Captan 5%

TABEL 9. Effect van enkele bestrijdingsmiddelen op hauwaantasting in kunstmatig geïnfecteerde veldjes

Middel	Conc. %	Aantal behandelingen	Parallellen		
			A	B	C
Zineb	3	2	14	12	21
"	3	3	11	7	15
"	5	2	28	8	17
"	5	3	16	16	13
Zineb	3 + Cu 5	2	10	19	13
"	3 + Cu 5	3	15	8	15
"	5 + Cu 5	2	11	24	16
"	5 + Cu 5	3	10	10	15
Cu-prep.	5	2	28	61	22
"	5	3	39	34	36
Manzate	1,5	2	15	26	24
"	1,5	3	10	12	36
"	3	2	9	12	36
"	3	3	10	5	9
Captan	3	2	22	19	15
"	3	3	6	4	4
"	5	2	15	11	12
"	5	3	6	7	9
Onbehandeld			221	248	157
"			180	90	157
Fungicide	Conc. %	Number of dealings	A	B	C
			Parallels		

TABEL 9. Effect of some fungicides on pod infection in artificially infected plots

Het effect der middelen werd bepaald na twee- en drievoudige behandeling. Om zekerheid te hebben, dat het perceel een gelijkmatige aantasting zou gaan vertonen, werd het op 13 april en 8 mei met een sporensuspensie van *A. brassicicola* bespoten.

De behandeling met bestrijdingsmiddelen vond plaats met behulp van een 4 m lange sproeiboom met 7 neveldoppen. Het tempo van de twee dragers van de boom, beiden uitgerust met een Saval rugspuit, werd zo gekozen, dat per veldje van 24 m² 300 cc vloeistof verneveld werd.

De helft van het totaal aantal veldjes werd behandeld op 12, 19 en 28 juni, de andere helft op 19 en 28 juni.

De bemonstering werd uitgevoerd op 7 en 8 juli, waarbij binnen een raam van 1 m² alle aangetaste hauwen werden verzameld. Het totaal aantal hauwen per m² was \pm 3000.

Het resultaat der tellingen is in tabel 9 weergegeven.

Ondanks de kunstmatige infectie van het perceel vertoonden de onbehandelde veldjes niet meer dan een lichte aantasting. Het effect van de gebruikte middelen is niettemin duidelijk, hoewel pas na wiskundige verwerking der gegevens de onderlinge verschillen in uitwerking naar voren komen.

De middelen kunnen naar afnemend effect als volgt gerangschikt worden:

1. Captan
2. Zineb + Cu-oxyduul
3. Zineb
4. Manzate
5. Cu-oxyduul

Cu-oxyduul heeft, evenals in de andere proeven, beschadigingen teweeggebracht. Wat echter in deze proef, in tegenstelling tot de vorige, tevens werd opgemerkt, was, dat ook bij behandeling met de combinatie Zineb + Cu-oxyduul in lichte mate koperbeschadiging optrad.

De hoge concentratie heeft in alle gevallen een gunstiger uitwerking dan de lage, behalve in dat van Manzate, waarbij deze conclusie statistisch niet verantwoord is.

De driemaalige behandeling is effectiever dan de tweemaalige.

VIII. CONCLUSIE

Het is mogelijk om in vrijwel ieder perceel koolzaad de aanwezigheid van sporen van *A. brassicicola* of *A. brassicae* vast te stellen door afgestorven bladmateriaal microscopisch te onderzoeken, vooral wanneer in de omgeving andere Cruciferen verbouwd worden. Dat het toch slechts in bepaalde jaren tot een zware aantasting komt, moet worden toegeschreven aan de weersomstandigheden, die van doorslaggevende betekenis zijn voor de ontwikkeling van de genoemde schimmels. Vooral een periode, waarin warm, zonnig weer met regenachtig weer afwisselt, zal kunnen leiden tot een plotselinge, sterke uitbreiding van de parasieten.

De schimmels vertonen reeds groei bij vrij lage temperaturen. Bij geleidelijk stijgen van temperatuur en vochtigheid stijgt ook hun activiteit geleidelijk. Bovendien reageren de sporen snel op een plotselinge verandering der condities: het ontkiemen van de sporen en het binnendringen van de kiembuizen in de plant kunnen zich binnen enkele uren na een regenbui afspelen.

Als gevolg van deze twee omstandigheden kan van een doeltreffend waarschuwingssysteem geen sprake zijn.

Zoals uit inoculatieproeven bleek, gaat het effect van een bestrijdingsmiddel voor een groot deel verloren, wanneer het toegepast wordt nadat de sporen gekiemd zijn en de schimmel de plant is binnengedrongen. Een absoluut preventieve bestrijding, dus uitgevoerd voordat aantasting van de plant zichtbaar is, is evenwel niet aan te bevelen, daar ieder jaar de kans bestaat, dat de aantasting slechts licht of zeer licht zal blijven. Hoewel uit verschillende gegevens kan worden afgeleid, dat dikwijls reeds in het voorjaar een depot van *Alternaria*-sporen in het gewas aanwezig is, is het voorkomen van een ernstig optreden van spikkelziekte, door vernietiging van dit sporendepot, behalve uit bovengenoemde overwegingen ook als gevolg van het niet afdoende effect van deze methode, niet praktisch uitvoerbaar. Dit alles betekent, dat men in de praktijk eerst in actie zal komen, wanneer aantasting in verontrustende mate aanwezig is. Dit is gewoonlijk het geval in juni of begin juli wanneer het gewas rijpende is en men er, bij het gebruik van landmachines, aanzienlijke schade in aanricht. De toepassing van vliegtuigen ligt dus voor de hand. Helaas was er in het kader van dit onderzoek geen gelegenheid de mogelijkheden van bestrijding vanuit de lucht na te gaan. Uit waarnemingen, door dr. J. J. FRANSEN gedaan, bleek dat Dithane Z-78 (5 kg per ha, toegediend in 600 l water) vanuit een vliegtuig verneveld, slecht in het gewas doordrong: niet meer dan 20 tot 8% van het bestrijdingsmiddel passeert de hauwlaag, die \pm 30 cm dik is.

Wanneer men hierbij in aanmerking neemt, dat de schimmels in het algemeen niet bovenop, maar dieper in het gewas voorkomen, waar temperatuur en vochtigheid betrekkelijk hoog zijn, dan zal men waarschijnlijk van bestrijding met behulp van vliegtuigen niet zonder meer afdoend resultaat mogen verwachten. In dit opzicht zal het gebruik van helicopters, met hun dikwijls sterkere "down wash" misschien de voorkeur verdienen.

In laboratorium- zowel als in veldproeven werden verschillende bestrijdings-

middelen getoetst. Hierbij hadden carbamaten een gunstige uitwerking. Zij zijn effectiever dan b.v. koperpreparaten, welke bovendien in werkzame concentraties beschadiging van de houw teweegbrengen in de vorm van bruine vlekjes. De met carbamaten behandelde houwten daarentegen vertonen een opvallend heldere groene kleur.

De proefresultaten, in het bijzonder die van de veldproeven, zijn zodanig, dat duidelijke verschillen tussen de gebruikte carbamaten niet overtuigend aan de dag treden. Opmerkelijk is echter, dat de combinatie Zineb + Cu-oxyduul steeds het beste resultaat oplevert, beter dan Cu-oxyduul en zelfs beter dan Zineb. Dit is in tegenspraak met de gangbare mening dat Zineb niet met koperpreparaten gemengd zou kunnen worden.

Middelen als Captan en Manzate, beide zeer effectief (Manzate zelfs in zeer lage concentraties), hebben als bezwaar hun hoge kostprijs. Bij een dreigende ernstige aantasting moet men rekening houden met de noodzaak van drie behandelingen, waarbij men telkens tot 5 kg/ha zal moeten toedienen. De vraag rijst of een dergelijke behandeling economisch verantwoord zou zijn. In dit verband verdient het aanbeveling veldproeven uit te voeren met Nirit, een weinig kostbaar produkt, dat bij proeven op kleine schaal heel goede resultaten te zien gaf.

Hiervoor werd reeds de nadruk gelegd op het preventieve karakter dat chemische bestrijding van de spikkelziekte heeft. Bestrijding door middel van cultuurmaatregelen heeft dit karakter in nog sterkere mate. De stoppels van een geogst koolzaadgewas kunnen een belangrijke infectiebron voor de omtrek vormen. Het is dus aan te bevelen de periode tussen het oogsten en het ploegen zo kort mogelijk te houden, al zal dit slechts voordeel opleveren voor de pas ingezaaide percelen in de omgeving.

Ook zaadkool kan aangetast worden door *A. brassicicola* en *A. brassicae*. Het is van belang te voorkomen, dat deze planten een infectiebron vormen voor nabijgelegen koolzaad, door ze, in geval van aantasting door spikkelziekte, regelmatig met b.v. Zineb 0,5 % te bespuiten.

SAMENVATTING

1. De veroorzakers van de spikkelziekte in koolzaad zijn *A. brassicae* (BERK.) SAGG. en *A. brassicicola* (SCHWEIN.) WILTSH. Alle delen van de plant kunnen worden aantast. De schade ontstaat echter doordat in de hawen, bij aantasting vroeg in het seizoen, de zaden verschrompelen, terwijl bij later intredende ernstige aantasting noodrijpheid kan optreden. De mate van aantasting is sterk afhankelijk van de weersomstandigheden. Aantasting wordt bevorderd door afwisselend warm en regenachtig weer tijdens de hawrijping.
2. Aan de hand van inoculatieproeven werd het verloop van de aantasting nagegaan. Hierbij bleek, dat de hyphen aanvankelijk tussen de cellen groeien en door afscheiding van toxische stoffen reactie van de celinhoud teweeg brengen.
3. Gegevens, verkregen uit sporenvangsten in en boven het gewas, tonen aan, dat tijdens het hawstadium infectie vanuit de lucht slechts in zeer geringe mate optreedt. Gewoonlijk zijn reeds in het voorjaar sporen op het veld aanwezig, die een aantasting van de jonge planten teweegbrengen, welke in de loop van het seizoen de hawen bereikt.
4. Bij het transport van sporen in het gewas spelen regen en convectiestromingen der lucht een rol.
5. De gevoeligheid van verschillende koolzaadrassen t.o.v. *Alternaria* bleek weinig te verschillen, hoewel Dippe's platzwiderstandsfähiger merkbaar gevoeliger bleek dan Lembke's, Mansholt's Hamburger, Matador en Firlbeck.
6. Uit een oriënterende bemestingsproef bleek geen invloed van één der elementen N, K en P op de gevoeligheid van de hawen. Slechts planten, die een volledige N-, K- en P-bemesting hadden gehad, waren minder gevoelig.
7. Bestrijding in het vroege voorjaar, gericht tegen het reeds aanwezige sporendepot, bleek niet afdoende.
8. Bij proeven in vitro, pot- en veldproeven werd een goede bestrijding verkregen met carbamaten.
Van enkele getoetste hechters bleek Grasselli het beste te voldoen.

SUMMARY ¹

THE BIOLOGY AND POSSIBLE CONTROL MEASURES OF ALTERNARIA LEAF SPOT IN *BRASSICA NAPUS* L.

1. The causal organisms of dark leaf spot in colza are *A. brassicae* (BERK.) SACC. and *A. brassicicola* (SCHWEIN) WILTSH. All parts of the plant can become infected. However, the great losses are caused when the seeds shrink in the pods after infection early in the growing season. When a heavy infection occurs later in the season, the seed is shed prematurely. The rate of infection is dependent on the weather conditions. Infection is favoured by alternating warm and rainy weather during the period of ripening of the pods.
2. The course of infection was followed in detail by means of inoculation experiments. In the initial stages of the infection the hyphae grow between the cells. They secrete a toxic substance which causes the cell walls to turn black and the contents of the cells to coagulate.
3. Data obtained from trappings in and above the crop, show that at time of pod formation infection from the air seldom occurs. Infection of the young plants is usually caused by spores already present in the field in spring. In the course of the season the infection may reach the pods.
4. Rain and convection streamings of the air play an important role in the spread of spores in the crop.
5. With one exception, there are practically no differences in susceptibility to infection of the different colza varieties tested. The variety Dippe's is more susceptible than the others.
6. A pilot experiment on the influence of fertilizer application showed no effect of the elements N, P and K on the susceptibility of the pods to infection. Only those plants that had received a complete N P K treatment were more resistant.
7. Control in early spring aimed against the spores already present in the field, proved to be unsatisfactory.
8. In experiments done in vitro, with pot plants and in the field, a good control was effected with carbamates.
Of some spreader-stickers tested, Grasselli proved to be the best.

¹ The author is greatly indebted to dr. T. W. Tinsley, for much help in the preparation of the English text.

LITERATUUR

1. BOLLE, P. C., Die durch Schwärzepilze (Phaeodictyae) erzeugten Pflanzenkrankheiten. Phytop. Lab. Willie Commelin Scholten, Baarn, 7 (1924) 1-77.
2. BRIAN, P. W., G. W. ELSON, H. C. HEMMING & J. M. WRIGHT, The phytotoxic properties of Alternaric acid in relation to the etiology of plant diseases caused by *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) Jones & Grout. *Ann. Appl. Biol.* 39 (1952) 308-321.
3. DARPOUX, H., Contributions à l'étude des maladies des plantes oléagineuses en France. *Ann. des Epiphyt.* XI (1945) 71-103.
4. NEERGAARD, P., Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium*. Einar Munksgaard, Publ. Copenhagen. Humphrey Millford, Oxford Univ. Press, London, 1945, p. 1-560.
5. NIELSEN, O., Forsøg med Bekæmpelse af Skulpesvamp. *Tidsskr. Planteavl.* 39 (1933) 437-452.
6. PAPE, H., Untersuchungen über die Rapsschwärze (Alt. brass.). *Mitt. Biol. Reichsanst. Berlin* 65 (1941) 80-81.
7. RAABE, A., Untersuchungen über pilzparasitäre Krankheiten von Raps und Rüben. *Zentr. Bl. für Bakt. II Abt. Bd 100 no. 1/3* (1939) 35-52.
8. RANGEL, J. F., Two *Alternaria* diseases of cruciferous plants. *Phytopathology* 35 (1945) 1002-1007.
9. RITZEMA BOS, J. en T. A. C. SCHOEVERS, De spikkelziekte van het koolzaad, veroorzaakt door *Leptosphaeria Napi* Fuck. Ziekten en beschadigingen der Landbouwgewassen. Wolters, Groningen, 1923. Deel V p. 119.
10. SCHREVEN, D. A. VAN, *Alternaria*, *Stemphylium* en *Botrytis* aantasting bij koolzaad (*Brassica Napus*). *Tijdschr. over Plantenziekten* 59 (1953) 105-136.
11. SCHRÖDTER, H., Untersuchungen über die Wirkung einer Windschutzpflanzung auf den Sporenflug und das Auftreten der *Alternaria*-Schwärze an Kohlsamenträgern. *Angewandte Meteorologie* 1 (1952) 154-158.
12. STOLL, K., Über die *Alternaria*-Schwärze der Kohlarten. *Nachrichtenbl. für den Deutschen Pflanzenschutzdienst* 2 (1948) 174-178.
13. ———, Die Kohlschwärze; Entstehung, Schadwirkung und Bekämpfung. *Nachrichtenbl. für den Deutschen Pflanzenschutzdienst* 6 (1952) 81-90.
14. WEIMER, J. L., *Alternaria* leafspot and brownrot of cauliflower. *J. Agr. Research* 29 (1924) 421-441.
15. WILTSHIRE, S. P., Species of *Alternaria* on Brassicaceae. *Imp. Mycol. Inst. Kew, Mycol. Pap.* 20 (1947) 1-15.