

ALTERNARIA, STEMPHYLIUM EN BOTRYTIS AANTASTING BIJ KOOLZAAD (BRASSICA NAPUS)¹⁾

*With a Summary: Alternaria, Stemphylium and Botrytis, affecting colza
(Brassica napus)*

DOOR

Dr Ir D. A. VAN SCHREVEN

(Microbiologische Afdeling van de Directie der Wieringermeer (Noordoostpolderwerken),
te Kampen)

I. INLEIDING

Naar aanleiding van de enorme schade, welke in 1950 werd toegebracht aan het koolzaad in de Noordoostpolder door de spikkelziekte, of het zgn. „verslag”, werd op verzoek van de Directie van de Wieringermeer (Noordoostpolderwerken) een onderzoek ingesteld naar de oorzaak van deze ziekte en gezocht naar bestrijdingsmiddelen. In 1949 had deze ziekte de oogst van het stoppelknollenzaad in de Noordoostpolder van ± 1700 kg tot ± 500 kg per ha gereduceerd, een oogstderiving dus van gemiddeld 1200 kg per ha. De schade toegebracht aan de 1800 ha winterkoolzaad in 1950, toen de spikkelziekte in deze polder in hevige mate optrad, werd geraamd op ± 1 miljoen gulden²⁾. Wanneer men de opbrengsten van 1950 vergelijkt met die van 1951, toen, voornamelijk als gevolg van het gunstige weer tijdens de rijping van de hauwen, in de Noordoostpolder over het algemeen weinig aantasting werd geconstateerd, lijkt een schade van 1 miljoen gulden in 1950 op het eerste gezicht reëel. In 1951 was de gemiddelde opbrengst in de Noordoostpolder per ha nl. ± 1000 kg hoger dan in 1950, ofschoon de schade, welke werd toegebracht door de koolzaadsnuitkever (*Ceuthorrhynchus assimilis* PAYK.) in 1951 groter was dan in 1950.

Het is echter onjuist alle schade in 1950 toe te schrijven aan de spikkelziekte, aangezien als gevolg van de slechte weersomstandigheden tijdens de oogst, ongetwijfeld ook grote verliezen zijn opgetreden door te laat oogsten, of te lang laten liggen van het gemaaide gewas.

In de beide volgende jaren werd in de Noordoostpolder geen belangrijke schade aangericht door de spikkelziekte.

II. HET ZIEKTEBEELD

Ofschoon RITZEMA BOS (1923) een verkeerde diagnose stelde t.a.v. de oorzaak van de spikkelziekte, gaf hij een goede beschrijving van het ziektebeeld. Op de stengel, bloemsteel en hauwen ontstaan kleine, zwartbruine of grijsachtig zwarte plekjes, min of meer streepvormig op de stengels en ongeveer rond op de hauwen (fig. 1). Langzamerhand nemen deze plekjes in omvang toe en wordt hun omtrek onregelmatiger. Op de hauwen worden zij soms zo groot, dat zij de hauw meer dan halverwege omgeven. De plekken vertonen zich meestal eerst op hauwen welke wel reeds volgroeid, maar toch nog groen zijn. Wanneer de ziekte sterk in hevigheid toeneemt worden ook de jongere hauwen aangetast. In het begin blijven de delen rondom de zwarte vlekken fris en groen; spoedig echter

¹⁾ Ontvangen voor publicatie 18 Febr. 1953.

²⁾ Op 1100 ha werd Lemke's en op 700 ha werd Janetsky verbouwd.

wordt ook de omgeving van de plekken grauwwachtig of geelachtig; het weefsel schrompelt daar ineen. Is het in deze tijd van het jaar droog weer, dan worden de hauwen veel vroeger dan gewoonlijk geel, zgn. „noodrijp” en kunnen zij eerder openspringen, zodat de korrels uit de hauwen vallen. Vertoont de ziekte zich vrij laat in de tijd, dan bereiken de korrels de normale grootte; verschijnt ze vroeger, dan worden vele korrels schrompelig, grijsbruin, soms beschimmeld. Reeds vanuit de verte is een door spikkelziekte aangetast veld te herkennen aan de vuilgrijze kleur. Dikwijls ziet men, voordat de beschreven verschijnselen op de hauwen en vertakkingen van de bloemstengel optreden, ook op de bladeren vlekken ontstaan, rondachtig van vorm en bruin van kleur, meestal door een gele of rode kring omgeven. Op de hauwen ziet men gewoonlijk eerst hier en daar een enkel plekje ontstaan, terwijl de ziekte later pleksgewijs sterker tot uiting kan komen.

Wanneer de voorwaarden voor het verbreiden van de ziekte gunstig zijn, kan deze snel om zich heen grijpen. Een veelbelovend gewas kan dan enkele weken later tot de helft van de waarde zijn gereduceerd. De schade wordt niet alleen veroorzaakt door een verminderde kwaliteit en productie, doch ook doordat vele korrels vóór en tijdens de oogst op de grond vallen. Een der methoden om de schadelijke gevolgen zo gering mogelijk te doen zijn, welke in de practijk wordt toegepast, is het oogsten van het koolzaad wanneer het nog niet de volle graad van rijpheid heeft verkregen. Men laat het dan op het veld narijpen.

III. ISOLATIES VAN SCHIMMELS UIT ZAAD

Doordat het verzoek van de Directie om de ziekte te bestuderen, eerst kwam nadat het koolzaad in 1950 was gedorst, werden in dat jaar geen isolaties verricht uit aangetaste hauwen of stengels. Wel waren er nog enige partijen zaad van oogst 1950 voorhanden, waarvan monsters werden onderzocht op de aanwezigheid van *Alternaria brassicae* en *Alternaria brassicicola*. Van elk monster werden hiertoe een aantal willekeurige zaden op kersenager gebracht. De zaden werden in de voedingsbodem gedrukt, en na 6 à 7 dagen werden de schimmels, welke zich hadden ontwikkeld, microscopisch onderzocht. In overeenstemming met de sterke aantasting door de spikkelziekte in 1950, bleek een groot percentage van het geoogste zaad van het winterkoolzaad *Alternariakiemen* te bevatten (tabel 1).

TABEL 1. Onderzoek van enkele partijen zaad uit de Noordoostpolder van oogst 1950.
Examination of some seed samples from the North-Eastern polder of harvest 1950.

Monster Sample	Aantal zaden Number of seeds	<i>A. brassicae</i>		<i>A. brassicicola</i>	
		Aantal Number	%	Aantal Number	%
1. Janetsky	89	13	14,6	10	11,2
2. Janetsky	149	20	13,4	2	1,3
3. Zomerkoolzaad <i>Summer colza</i>	103	3	2,9	0	0

Opvallend is het hoge percentage *A. brassicae* in de beide Janetsky-monsters. Het percentage *A. brassicicola* bedroeg in het eerste monster 11,2% en in het tweede monster 1,3%. Uit de cijfers blijkt, dat in het jaar 1950, toen de

omstandigheden voor de spikkelziekte gunstig waren, zowel *A. brassicae* als *A. brassicicola* een aantasting van het gewas hebben teweeggebracht, zodat bij de bestrijding van de ziekte met beide *Alternaria*'s rekening dient te worden gehouden.

Het zomerkoolzaad dat te velde veel minder sterk was aangetast, bevatte in tegenstelling met het winterkoolzaad een veel geringer percentage *A. brassicae*.

In tabel 2 zijn gegevens van enkele partijen winterkoolzaad uit de oogst van 1951 ondergebracht, waarbij tevens het voorkomen van *Alternaria tenuis*, *Botrytis cinerea* en *Stemphylium spec.* zijn vermeld.

TABEL 2. Onderzoek van enkele partijen winterkoolzaad uit de Noordoostpolder, Oogst 1951.
Examination of some samples of winter rape-seed from the North-Eastern polder, Harvest 1951.

Kavel Parcel	Variëteit Variety	Aantal zaden Number of seeds	AB	Ab	At	Botr.	St	Botr. + AB	Botr. + At	Botr. + St	Botr. + AB + At	Botr. + AB + At + St	At + St	AB %	At %	Botr. %	St %
E 97	Lembke's (1)	150	0	-	4	17	-	-	-	-	-	-	-	0	2,7	11,3	0
S 37	Hamburger	204	2	-	39	20	17	-	-	1	-	-	-	1,0	19,6	10,3	9,3
S 37	Dippe	204	20	-	70	12	4	1	4	1	-	-	2	10,3	37,2	8,3	2,9
S 37	Colzanain	204	3	-	56	15	8	1	6	1	-	-	-	1,9	30,4	11,2	4,4
S 37	Lembke's (2)	205	6	-	92	15	12	-	4	-	1	1	4	3,9	47,8	10,2	6,3
S 37	Lembke's (3)	300	15	-	59	24	2	1	7	-	-	-	1	5,3	22,3	10,7	1,0

AB = *A. brassicae*; Ab = *A. brassicicola*; At = *A. tenuis*; Botr. = *Botrytis cinerea*; St = *Stemphylium spec.*

Het monster Lembke's (1) was afkomstig van kavel E 97 en zag er zeer goed gezuiverd uit. De overige monsters waren afkomstig van de proefboerderij op kavel S 37 en waren slechts matig geschoond. Het schonen zal zeker van invloed zijn geweest op het percentage gevonden schimmels, aangezien de aangetaste zaden, welke in het algemeen een lichter gewicht zullen hebben dan de gezonde, bij het schonen gemakkelijker worden weggeblazen. Opvallend is het hoge percentage *A. brassicae* bij de Dippe-variëteit. Mogelijk hebben we hier te maken met een ras dat bijzonder gevoelig is voor de spikkelziekte. In enkele gevallen kwam *Botrytis cinerea* tezamen voor met *A. brassicae*, *A. tenuis* of *Stemphylium*, in een hoogst enkel geval tegelijk met twee of meer van deze schimmels. In de meeste gevallen kwamen deze 4 schimmels afzonderlijk, dus niet in combinatie met elkaar op de zaden voor. Opmerkelijk is, dat in de onderzochte zaden van 1951 geen *Alternaria brassicicola* werd aangetroffen, doch hierbij moet wel in aanmerking worden genomen, dat de zaadmonsters slechts van 2 percelen afkomstig waren.

Teneinde vast te stellen in hoever de schimmels in het inwendige dan wel aan de buitenkant der zaden voorkwamen, werd een deel van de monsters Dippe en Lembke's (3), vermeld in tabel 2, ontsmet volgens het volgende voorschrift: 3 minuten krachtig schudden in een zeepoplossing, daarna 2 × spoelen met leidingwater;

4 minuten schudden met alcohol 96 %, daarna 2 × spoelen met leidingwater; 7 minuten in 1 % broomoplossing laten staan (1 deel verzadigde broomoplossing + 2 delen water), daarna 3 tot 4 maal spoelen met steriel water.

Van het aldus behandelde zaad werden van elk der beide monsters 204 zaden op kersenagar uitgelegd met het resultaat vermeld in tabel 3.

TABEL 3. Onderzoek van de partijen koolzaad Dippe en Lembke's (3), vermeld in tabel 2, na ontsmetting.

Examination of the seed samples Dippe and Lembke's (3) presented in table 2, after disinfection.

Monster Sample	Aantal zaden Number of seeds	A. brassicae	A. tenuis	Botrytis cinerea	AB %	At %	Botr. %
Dippe	204	4	6	0	1,9	2,9	0
Lembke's (3) . . .	204	5	11	1	2,5	5,4	0,5

Na de ontsmetting is het percentage *A. brassicae*, *A. tenuis*, en *Botrytis cinerea* dus duidelijk verminderd. Het ligt voor de hand, dat tijdens het dorsen de schimmels welke aanwezig zijn op stengels en hauwen, voor een belangrijk deel op de zaden terecht komen. Op deze wijze kan worden verklaard, dat de meeste schimmels zich aan de buitenkant der zaden bevinden.

In 1952 werden van een aantal percelen, verspreid over de Noordoostpolder, gemiddelde zaadmonsters onderzocht. Het resultaat is aangegeven in tabel 4.

TABEL 4. Onderzoek van partijen koolzaad afkomstig van verschillende percelen in de Noordoostpolder in 1952.

Examination of seed samples from different parcels in the North-Easternpolder in 1952.

Kavel Parcel	Variëteit Variety	Aantal zaden Number of seeds	AB	Ab	At	Botr.	St	AB %	Ab %	At %	Botr. %	St %
B 57	Lembke's	300	0	0	37	5	2	0	0	12,3	1,7	0,7
F 26	Lembke's	300	0	4	39	9	1	0	1,3	13	3	0,3
E 77	Lembke's	360	2	1	21	58	7	0,6	0,3	7	19,3	2,3
E 155	Lembke's	300	0	0	9	45	0	0	0	3	15	0
C 23	Lembke's	300	0	0	26	74	0	0	0	8,7	24,7	0
C 52	Lembke's	300	1	0	38	16	4	0,3	0	12,7	5,3	1,3
G 3	Lembke's	300	0	2	28	0	0	0	0,6	9,3	0	0
A 4	Lembke's	300	0	2	70	15	10	0	0,6	23,3	5	3,3
A 50	Lembke's	300	0	0	6	6	0	0	0	2	2	0
D 27	Lembke's	300	1	0	4	9	0	0,3	0	1,3	3	0
D 58	Lembke's	300	0	0	4	10	0	0	0	1,3	3,3	0
J 119	Lembke's	300	0	0	6	14	1	0	0	2	4,7	0,3
R 43 en												
S 44	Lembke's	300	4	1	34	34	2	1,3	0,3	11,3	11,3	0,7
T 106	Lembke's	300	6	2	42	41	7	2	0,6	14	13,7	2,3

AB = *Alternaria brassicae*; A b = *Alternaria brassicicola*; At = *Alternaria tenuis*; Botr. = *Botrytis cinerea*; St = *Stemphylium spec.*

In overeenstemming met het feit, dat de spikkelziekte in 1952 vrijwel nergens een rol van enige betekenis heeft gespeeld, is het percentage zaden met *Alternaria brassicae* overal zeer gering. Opvallend is, dat in verscheidene monsters in 1952 eveneens in geringe mate *A. brassicicola* aanwezig was.

De afwezigheid van *A. brassicae* in 300 onderzochte zaden betekent overigens niet, dat deze schimmel geheel afwezig was op het desbetreffende perceel. Kort voor de oogst kwamen b.v. op verscheidene onderzochte percelen in een rij over een afstand van ± 50 m slechts 4 tot 11 hauwen voor met een enkel vlekje. Het is duidelijk dat de kans van het vinden van *A. brassicae* bij 300 zaden van dergelijke percelen uitermate gering is.

Opvallend is het hoge percentage *A. tenuis* en *B. cinerea* dat in sommige partijen werd gevonden. In tegenstelling hiermee zijn de percentages *Stemphylium* veel lager. Een verband tussen de percentages *A. brassicae* en *A. brassicicola* enerzijds en de percentages *A. tenuis*, *B. cinerea* en *Stemphylium* anderzijds is hier niet aanwezig.

IV. ISOLATIES VAN SCHIMMELS UIT SPIKKELZIEKE HAUWEN EN STENGELS

In 1951 werden uit spikkelziek materiaal, dat op 30 Juni en 11 Juli was verzameld op ver uit elkaar gelegen velden in de Noordoostpolder de schimmels geïsoleerd, welke zijn vermeld in tabel 5.

TABEL 5. Geïsoleerde schimmels uit necrotische vlekken op hauwen en stengels uit het topgedeelte van de plant in 1951.

Fungi isolated in 1951 from necrotic spots in siliquas and stalks from the upper part of the plant.

Aantal onderzochte vlekken op: Number of examined spots on:		AB	Ab	At	Botr.	St	Botr. + AB	Botr. + At	Botr. + At + St	AB + At	AB + St
Hauwen Siliquas	Stengels Stalks										
51	21	21 6	2 —	1 3	18 7	— —	4 3	2 —	1 —	1 1	1 1
Totaal Total	72	27	2	4	25	—	7	2	1	2	2

AB = *A. brassicae*; Ab = *A. brassicicola*; Botr. = *Botrytis cinerea*; At = *A. tenuis*; St = *Stemphylium spec.*

Uit de 72 onderzochte vlekken werd dus in 27 gevallen alleen *A. brassicae*, in 25 gevallen alleen *Botrytis cinerea*, in 2 gevallen alleen *A. brassicicola* en in 4 gevallen alleen *A. tenuis* geïsoleerd. In totaal kwam *A. brassicae* in 38 gevallen (53 %) voor en *B. cinerea* in 35 gevallen (48 %). Behalve deze schimmels werden nog een aantal niet pathogene schimmels uit de vlekken geïsoleerd, welke hier niet zijn vermeld.

In de zomer van 1952 werden nogmaals isolaties verricht uit spikkelzieke vlekken van hauwen en stengels van koolzaad.

Het resultaat is vermeld in tabel 6.

TABEL 6. Geïsoleerde schimmels uit necrotische vlekken op hauwen en stengels in 1952.

Fungi isolated in 1952 from necrotic spots on siliquas and stalks.

Datum Date	Aantal vlekken Number of spots	AB ²⁾	Ab	At	Botr.	St	AB + At	Botr. + AB
11-6	22	14	—	1	6	1	—	—
23-6	46 ¹⁾	7	—	5	33	1	—	—
1-7	58	37	—	3	15	1	2	—
Totaal Total	126	58	—	9	54	3	2	—

¹⁾ veel kleine vlekken (many small spots).

²⁾ vergelijk voor de afkortingen tabel 5 (compare for the abbreviations table 5).

Evenals in tabel 5 valt het hoge aantal *Botrytis* op naast *A. brassicae*. Tevens valt in de tabellen 5 en 6 op, dat de combinatie *Botrytis* en *A. brassicae* slechts weinig voorkomt, m.a.w. *B. cinerea* dringt hoofdzakelijk in op plekken, welke niet van te voren zijn bezet door *A. brassicae*. Dit sluit natuurlijk niet uit, dat *Botrytis* binnen kan dringen in weefsels welke sterk zijn verzwakt, doordat op een andere plaats aantasting door *A. brassicae* voorkomt. In tegenstelling met 1951 werd geen *A. brassicola* uit zieke vlekken geïsoleerd, ofschoon uit het onderzoek van de zaadmonsters bleek, dat deze schimmel ook in 1952 plaatselijk in het koolzaad voorkwam (tabel 4). Het onderzoek van de vlekken wijst er op, dat *A. brassicae* in 1951 en 1952 in de Noordoostpolder van veel groter betekenis is geweest voor de spikkelziekte dan *A. brassicicola*.

Evenals in 1951 werd uit een klein aantal vlekken uitsluitend *A. tenuis* geïsoleerd en in 1952 was dit in een nog kleiner aantal ook voor *Stemphylium* het geval. Wat boven is opgemerkt over het binnendringen van *B. cinerea* in verzwakte weefsels geldt ook voor deze beide schimmels.

Naar aanleiding van de isolaties uit zaden en uit spikkelzieke hawen en stengels werden proeven genomen met de verschillende *Alternaria*'s en *Botrytis cinerea*. Bovendien werden enige inoculatieproeven genomen met *Stemphylium consortiale*. In de volgende hoofdstukken worden de proeven behandeld, welke hierop betrekking hebben.

V. ALTERNARIA BRASSICAE (BERK.) SACC.

Voor een beschrijving van deze schimmel kan worden verwezen naar NEERGAARD (1945) en WILTSHIRE (1947). De vorm en afmeting der grootsporige *Alternaria*'s, welke uit zaden en spikkelzieke hawen van koolzaad werden geïsoleerd, kwamen met deze beschrijving overeen (fig. 2). Het macroscopische beeld van de verschillende isolaties bleek zowel op kersenagerplaten (fig. 3) als op pruimen- en moutagarplaten niet steeds gelijk te zijn. Allerlei vormen kwamen voor, waarbij de ontwikkeling van de sporen sterk bleek te variëren.

Variatie in pathogeniteit

Bij een aantal van deze isolaties werd de pathogeniteit nagegaan bij zaailingen van winterkoolzaad in cultuurbuizen. Daartoe werden per buis 3 ontsmette zaden op vochtige watten te kiemen gelegd en na 6 dagen bij de stengelbasis geïnoculeerd met een stukje agar waarop de schimmel zich had ontwikkeld. Hierbij werden steeds even oude schimmelcultures gebruikt en er werd voor gezorgd, dat elk plantje in contact kwam met de schimmel. De buizen werden in een kas geplaatst en geregeld werd de aantasting gecontroleerd, waarbij per object (4 buizen) werd genoteerd hoeveel plantjes resp. dood, zwaar, licht of niet waren aangetast. In fig. 4A is het resultaat weergegeven van de aantasting door een aantal isolaties van *A. brassicae*, 16 dagen na de inoculatie. Ter vergelijking diende een *A. brassicae*-cultuur van het Centraalbureau voor Schimmelcultures te Baarn (fig. 4B).

Aangezien het mogelijk was dat verschillende isolaties bestonden uit meer dan één stam, werden een vrij groot aantal eensporecultures gemaakt volgens de methode van ATKINSON (1950). Hieruit bleek, dat de isolaties in enkele gevallen inderdaad uit verschillende typen bestonden, b.v. de isolaties Z 33 B en Z 33 D (fig. 5) uit de oorspronkelijke cultuur Z 33, doch bij de meeste isolaties was dit

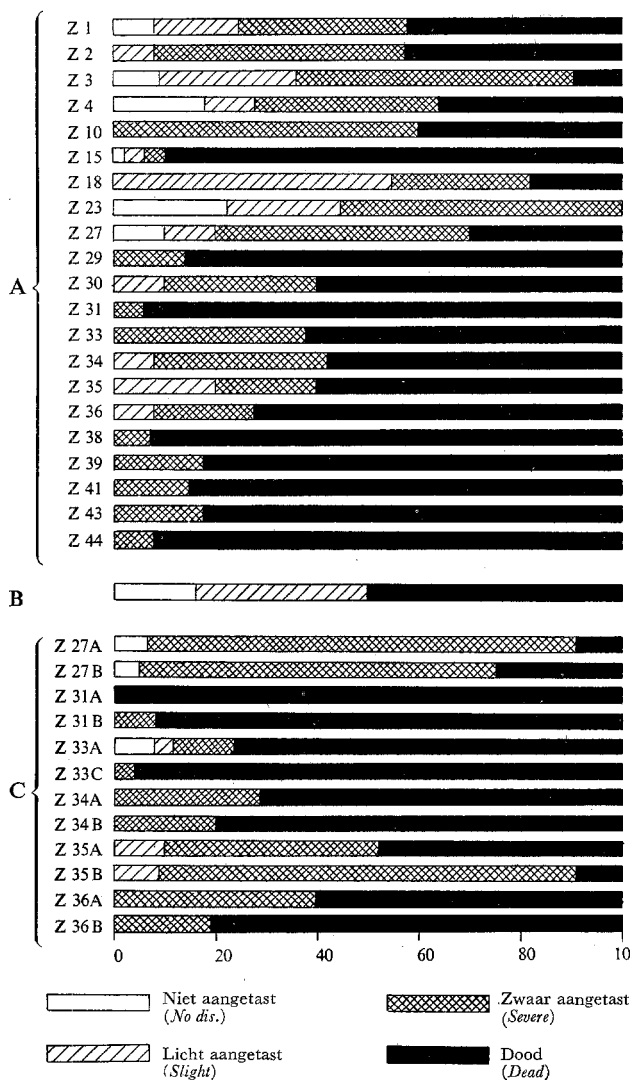


Fig. 4

(A). Het pathogene vermogen van 21 isolaties van *A. brassicae*; (B). van een *A. brassicae* cultuur van het Centraal bureau voor Schimmelcultures te Baarn en (C) van 12 monospore cultures van *A. brassicae* getoetst op zaailingen die onder overigens aseptische omstandigheden werden gekweekt in cultuurbuizen: (A) en (B) 16 dagen, (C) 14 dagen na de inoculatie. (A) 4, (B) 5 en (C) 10 buizen per object.

(A) The relative pathogenic vigor of 21 isolates of *A. brassicae*, (B) of an *A. brassicae* culture of the „Centraalbureau voor Schimmelcultures in Baarn”, and (C) of 12 monospore cultures of *A. brassicae* tested on seedlings grown under aseptic conditions in test tubes: (A) and (B) 16 days; (C) 14 days after the inoculation. (A) 4, (B) 5 and (C) 10 tubes per object.

niet het geval, aangezien de eensporecultures macroscopisch niet afwijken van de cultures waarvan was uitgegaan. In deze figuur zijn enige typen van eensporecultures op kersenagar te zien.

Bij een aantal eensporecultures werd bij zaailingen van zomerkoolzaad in cultuurbuizen (10 buizen per object) de pathogeniteit als bo-

ven beschrevengetoetst (fig. 4C). Deze proef bevestigt de voorgaandedat er verschillende stammen van *A. brassicae* zijn, waarbij de pathogeniteit varieert. Bij de toetsing van de werkzaamheid van verschillende fungiciden is hiermee rekening gehouden door gebruik te maken van de meest agressieve vormen.

Invloed van de temperatuur op het binnendringen van de schimmel in de hawwen

Volgens RANGEL (1945) ligt de optimale kieming van de sporen van *Alternaria herculea* (ELL. & MART.) ELLIOT, welke identiek is aan *A. brassicae* (BERK.) SACC., tussen 17,2° en 21°C en van de sporen van *A. brassicicola* (door hem abusievelijk *A. brassicae* genoemd) tussen 25° en 30° bij 27°C. Voor *A. brassicicola* vond hij dus een lagere kiemingstemperatuur dan WEIMER (1926), die bij

deze schimmel vaststelde, dat de optimale kiemingstemperatuur ligt bij 33–35 °C en de optimale groei van het mycelium bij 27 °C.

De invloed van de temperatuur op het binnendringen van *A. brassicae* bij hauwen van koolzaad (var. Lembke's) werd nagegaan door vers afgeplukte hauwen te inoculeren met een sporensuspensie en deze vervolgens op vochtig filtreerpapier te leggen bij verschillende temperaturen. Het resultaat is neergelegd in tabel 7.

TABEL 7. Invloed van de temperatuur op de aantasting van hauwen door *Alternaria brassicae*.
Influence of temperature on the attack of siliques by Alternaria brassicae.

Temperatuur <i>Temperature</i>	Gem. aantal vlekken per hauw na 2 dagen <i>Mean number of spots per silique after 2 days</i>	Gem. aantal vlekken per hauw na 4 dagen <i>Mean number of spots per silique after 4 days</i>
5 °C (in het donker: <i>in the dark</i>)	0	0
15 °C (in het donker: <i>in the dark</i>)	43	60
20–24 °C (in het donker: <i>in the dark</i>)	41	98
20–24 °C (in het licht: <i>in the light</i>)	47	88
30 °C (in het donker: <i>in the dark</i>)	39	75

Aantasting van hauwen kan dus nog bij 15 °C plaats vinden. In het algemeen zijn de vlekken hierbij echter iets kleiner dan bij de hogere temperaturen, zodat de hauwen minder aangetast lijken te zijn. Bij deze proef bleken temperaturen van 20–24 °C vooral gunstig te zijn voor het binnendringen van de schimmel in de hauwen.

Proeven met fungiciden

Door verschillende onderzoekers werd een gunstige werking van koperhoudende middelen gevonden bij de bestrijding van *Alternaria*'s [DORAN (1923), FAJARDO en PALO (1934), MC LEOD (1928, 1929, 1930), NIELSEN (1933), PAPE (1940)].

Voor een bestrijding in het groot zouden voornamelijk kopermiddelen in aanmerking komen, welke in oplossing per vliegtuig kunnen worden verneveld, nl. koperoxychloride en koperoxyduul, voorzover ze voldoende fijn zijn en voldoende zweefvermogen bezitten. Aan deze middelen werd dan ook de nodige aandacht geschonken.

a. Vergelijking van de werking van koperoxychloride (Kopeprox) en koperoxyduul (Koper Sandoz) bij toevoeging aan gesmolten kersenagar.

Een serie platen met kersenagar werd gegoten waaraan vooraf resp. 0,25, 0,5 en 1 % Koneprox was toegevoegd en een andere serie met resp. 0,25, 0,5 en 1 % Koper Sandoz. In het centrum van de platen werd een stukje agar overgebracht waarop zich *A. brassicae* (isolatie Z 31) had ontwikkeld. Twee overeenkomstige series werden voorzien van een stukje agar met *A. brassicicola* (isolatie Y 28). Op dezelfde dag werden ook enige series zonder toevoeging van een fungicide met deze beide *Alternaria*'s geënt. De series werden in 5 voud aangezet.

Na 11 dagen werd het volgende genoteerd (vergl. fig. 6): Op de platen met Koneprox heeft *A. brassicae* zich niet ontwikkeld. Op de overgebrachte stukjes agar lijkt *A. brassicae* vrijwel te zijn afgestorven. Op de platen met 0,25 % Koneprox heeft *A. brassicicola* zich nog $\pm$ 0,5 cm uitgebreid naast het stukje agar dat er op gebracht is. Bij de concentraties van 0,5 en 1 % Koneprox heeft deze schimmel zich nog op de overgebrachte stukjes agar weten te handhaven,



Fig. 1. Spikkelziekte (Verslag) bij koolzaad.
Dark Leaf Spot in colza.

Foto T. Hiemstra

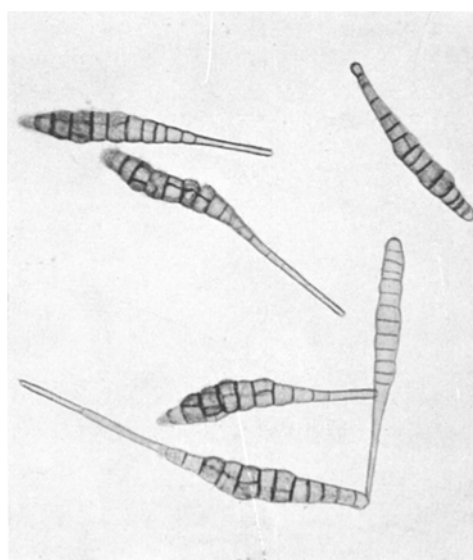


Foto D. Otzen

Fig. 2. Conidiën van *Alternaria brassicae* van een
 4 dagen oude cultuur op kersenagar (125
 ×).
*Conidia of Alternaria brassicae from a 4
 days old cherry-agar culture (125 ×).*

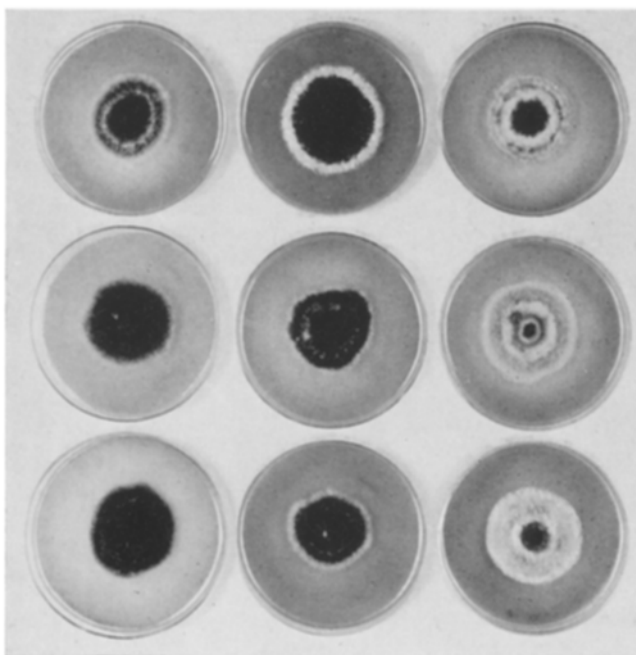


Foto T. Hiemstra

Fig. 3. Verschillende isolaties van *A. brassicae* op kersenagar.
Different isolates of *A. brassicae* on cherry-agar.

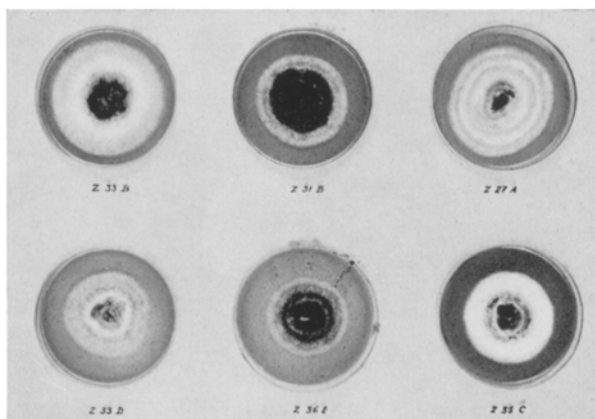


Foto T. Hiemstra

Fig. 5. Monospore culturen van *A. brassicae* op kersenagar. De typen Z 33 B en Z 33 D werden verkregen van de isolatie Z 33.

Monospore cultures of A. brassicae on cherry-agar. The types Z 33 B and Z 33 D were obtained from isolate Z 33.

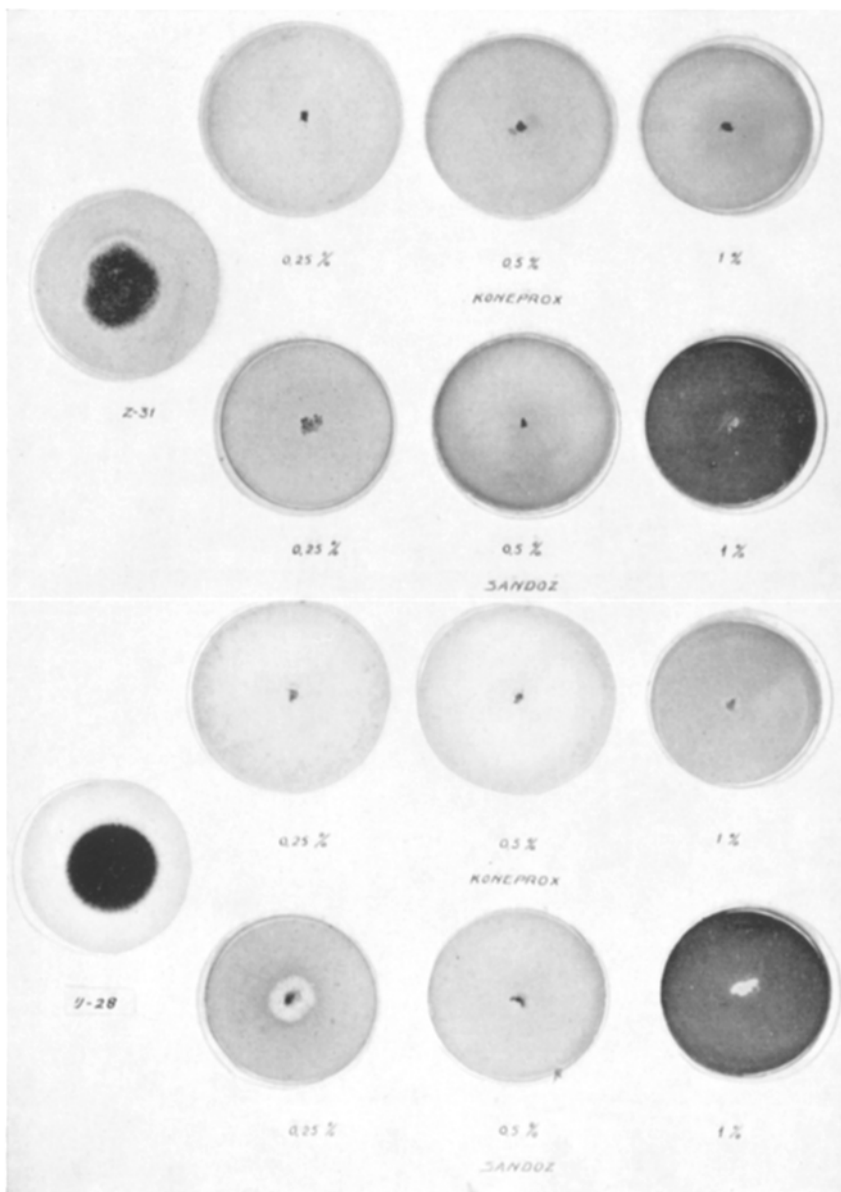


Foto T. Hiemstra

Fig. 6. Invloed van verschillende concentraties Koneprox en Koper Sandoz op de groei van *A. brassicae* (isolatie Z 31) en *A. brassicicola* (isolatie Y 28) op kersenagar.
Effect of different concentrations of Koneprox and Copper Sandoz on the growth of A. brassicae (isolate Z 31) and A. brassicicola (isolate Y 28) on cherry-agar.

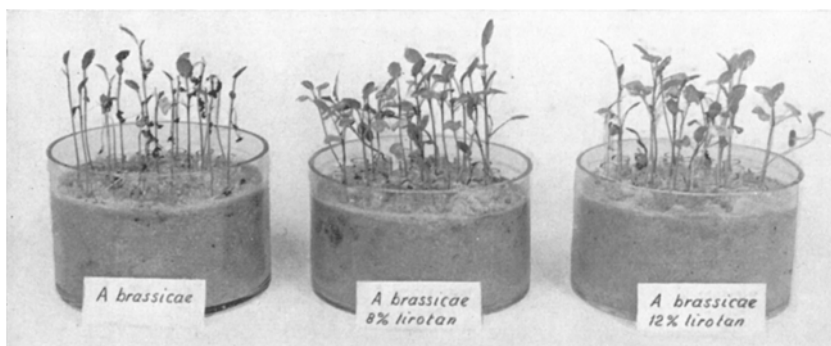


Foto T. Hiemstra

Fig. 7. Invloed van een verneveling van 8 en 12% Lirotan in een hoeveelheid van 10 cc/m² op de aantasting van cotyledonen van koolzaad zaailingen door *A. brassicae*. Links: Geïnoculeerd en niet bespoten; cotyledonen afgestorven, doch vele der eerste blaadjes welke niet werden geïnoculeerd hebben zich nog ontwikkeld.

Influence of atomizing 8 and 12% Lirotan at the rate of 10 ml/m² on the attack of cotyledons of colza seedlings by A. brassicae. At the left: Inoculated and not sprayed; the cotyledons were killed, but many of the first leaflets which were not inoculated have developed.

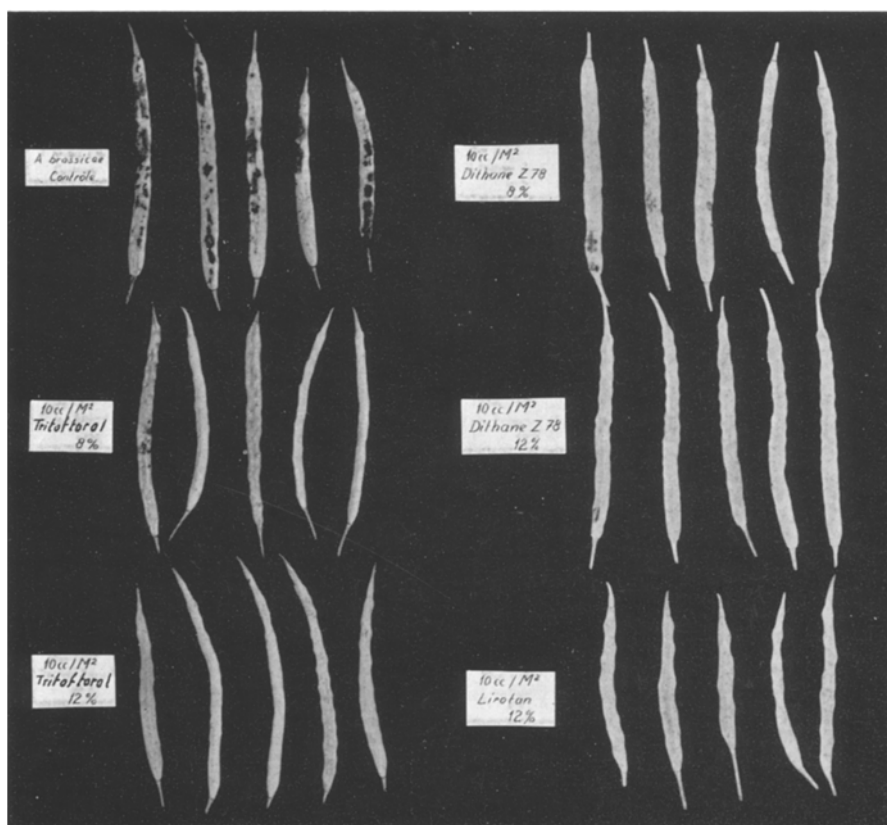


Foto T. Hiemstra

Fig. 8. Invloed van een verneveling van 8 en 12% Tritoflorol, 8 en 12% Dithane en 12% Lirotan in een hoeveelheid van 10 cc/m² op de aantasting van koolzaad hawen door *A. brassicae*.

Effect of atomizing 8 and 12% Tritoflorol, 8 and 12% Dithane Z 78 and 12% Lirotan at the rate of 10 ml/m² on the attack of siliques of colza by A. brassicae.

doch er vond geen groei plaats naast deze stukjes op de voedingsbodem. *A. brassicicola* bleek hier minder gevoelig te zijn t.o.v. Koneprox dan *A. brassicae*.

Op de platen met Koper Sandoz heeft *A. brassicae* zich nergens ontwikkeld, doch op de overgebrachte stukjes agar was de schimmel nog niet afgestorven; *A. brassicicola* heeft zich nog wel kunnen ontwikkelen op de platen met 0,25 % en 0,5 % Koper Sandoz, ofschoon de groei hierbij duidelijk was geremd. Op deze platen had de schimmel een witachtig uiterlijk en conidiën ontbraken vrijwel geheel. De diameter van de cultuur bedroeg op de platen met 0,25 % Koper Sandoz $\pm \frac{1}{3}$ van die van de contrôle platen zonder koperverbindingen. Op de platen met 1 % Koper Sandoz was de groei van *A. brassicicola* vrijwel te verwaarlozen. Na 11 dagen was de schimmel nog in leven op het overgebrachte stukje agar.

Uit deze proef blijkt, dat *A. brassicae* (onder de gegeven omstandigheden) gevoeliger is voor Koper Sandoz dan *A. brassicicola*. Ten opzichte van beide schimmels werkte Koneprox beter dan Koper Sandoz. Bij proefnemingen met planten-materiaal werden deze feiten bevestigd.

b. Proeven met afgeplukte bladeren

Nadat uit oriënterende proeven was gebleken, dat afgeplukte bladeren van koolzaad met succes konden worden geïnfecteerd wanneer zij na inoculatie, met de bladsteel in vochtige watten werden geplaatst op vochtig filtreerpapier in grote Petri-schalen, werd op 7 Maart '51 een vernevelingsproef genomen met een organische koperverbinding van de B.P.M. (preparaat F 602), die wij door tussenkomst van de Heer MONTAGNE ontvingen. Op zijn advies werden hoeveelheden beproefd van 40 l per ha in een concentratie van 8 % en van 80 l per ha in een concentratie van 4 %, overeenkomend met resp. 4 en 8 cc per m². Het vernevelen geschiedde met behulp van een lakverstuiver bij een luchtdruk van 3 atmosfeer.

Per object werden 6 à 7 bladeren gebruikt, welke aan de onderzijde met een sporensuspensie van resp. *A. brassicae* of *A. brassicicola* werden bespoten. Bij geen der objecten bleek de behandeling afdoende te hebben gewerkt.

Aangezien het niet eenvoudig was om steeds over een voldoende aantal bladeren te beschikken, werd voor oriënterend serieonderzoek over de werking van een groot aantal fungiciden, in het vervolg gebruik gemaakt van koolzaadzaailingen.

c. Proeven met koolzaadzaailingen

Ontsmette zaden van koolzaad werden op gelijke diepte en afstand gezaaid in vochtig glasand in glazen bakjes met een inwendige diameter van 10 cm en een diepte van 6 cm.

De bakjes werden in de kas gezet op glazen platen en over elk bakje werd een groot bekglas geplaatst om te voorkomen dat het zand spoedig zou uitdrogen en te zorgen voor een hoge luchtvochtigheid. Een goede belichting is hierbij vereist om een geëtioleerde groei te voorkomen, daar het voor de proef van belang is, dat de plantjes niet omvallen, want hierdoor wordt onderlinge infectie mogelijk. Met een ring van roestvrij metaaldraad, van $\pm$ dezelfde omtrek als het glazen bakje, geplaatst op pootjes welke in het zand werden gestoken, werd het contact van de zaailingen met de binnenwand van het bekglas voorkomen. Na een week werden de cotyledonen met behulp van een platte entnaald aan de

bovenzijde geïnoculeerd met een sporen-suspensie van *A. brassicae*. Plantjes welke zich onvoldoende hadden ontwikkeld, werden verwijderd.

De werkzaamheid van een groot aantal fungiciden werd beproefd. In sommige gevallen werden combinaties van verschillende fungiciden verneveld. De resultaten zijn weergegeven in tabel 8 (zie blz. 115).

Hieruit volgt, dat het best hebben voldaan 10 cc 12% en 10 cc 16% Lirotan (zinkaethyleen-bis-dithiocarbamaat), 5 cc 8% Lirotan + 8% Koneprox, 10 cc 8% Aufuma en 10 cc 12% Aafuma (pentachloornitrobenzeen houdend). De tetramethylthiuramdisulfide houdende preparaten Tripomol en Pomarsol hebben bij de hoogste concentraties de aantasting door *A. brassicae* duidelijk vermindert en dit was ook het geval bij de combinatie van Tripomol + Aafuma, doch deze middelen bleken ook een schadelijk effect uit te oefenen op de zaailingen, zich uitend in een insnoeren van de stelen en omknikken der plantjes. In fig. 7 is het effect te zien van de behandeling met resp. 8 en 12% Lirotan.

Naar aanleiding van het onderzoek van FATTINGER (1950), waaruit bleek, dat zinkverbindingen de werking van koper t.o.v. *Alternaria tenuis* in bepaalde verhoudingen (1:1, of 2:1) zodanig kunnen versterken, dat de werking van het mengsel sterker is dan de som van de werkingen van de afzonderlijke middelen, werden de combinaties van Lirotan en Koneprox beproefd. Inderdaad bleek 5 cc per m² 8% Lirotan + 8% Koneprox beter te werken dan 10 cc per m² 8% Koneprox, of 10 cc per m² 8% Lirotan, doch 10 cc 6% Lirotan + 6% Koneprox werkte minder goed dan 10 cc 12% Lirotan.

Geïnoculeerde zaailingen werden eveneens bespoten met verschillende concentraties van een aftreksel van een cultuur van *Actinomyces flavus* Krainsky, een actinomyceet welke antagonistisch bleek te werken t.o.v. *Alternaria brassicae* en *A. brassicicola*. Deze vernevelingen bleken de aantasting echter niet te voorkomen.

d. Proeven met jonge koolzaadplanten

In een proef met jonge koolzaadplanten werd de gecombineerde werking van Koneprox en Lirotan nog eens nagegaan.

Bij een aantal planten werden 4 à 6 bladeren aan de bovenzijde geïnoculeerd met *A. brassicae* en daarna behandeld met Koneprox, Lirotan of een combinatie van Koneprox en Lirotan. In tabel 9 zijn de resultaten van de proef vermeld.

TABEL 9. Invloed van Koneprox (Cu-oxyduul) en Lirotan (Zineb) afzonderlijk, of in combinatie verneveld, in een hoeveelheid van 10 cc per m² na inoculatie der planten met *A. brassicae*.

Effect of Koneprox (Cu-oxydule) and Lirotan (Zineb), sprayed separately or in combination, at the rate of 10 ml per m² after inoculation with A. brassicae.

Nevelvloeistof <i>Fungicide</i>	Aantal bladeren <i>Number of leaves</i>	Aantal zieke bladeren <i>Number of attacked leaves</i>
8% Koneprox	4	1
10% Koneprox	4	1
4% Kon. + 4% Lir.	6	0
5% Kon. + 5% Lir.	6	1
6% Kon. + 6% Lir.	6	0
4% Kon. + 8% Lir.	6	0
8% Lirotan	6	0
10% Lirotan	5	0
Contrôle	6	6

TABEL 8. Vergelijking van de werking van een aantal fungiciden welke werden verneveld kort nadat cotyledonen van koolzaadzaailingen aan de bovenzijde werden geïnoculeerd met *A. brassicae*.

Comparison of the effect of a number of fungicides which were atomized shortly after inoculating the upper side of the cotyledons of colza seedlings with A. brassicae.

cc/m ² ml/m ²	Fungicide	Aantal cotyledonen Number of cotyledons	Aantal cotyledonen aangetast na dagen Number of cotyledons attacked after days							
			4	5	7	9	10	11	21	
10	8% Koneprox (Cu. oxyduul)	32					7		15	
10	8% Lirotan (Zineb)	46					1		7	
10	12% „	44	0	0	0			0	0	
10	16% „	46	0	0	0			0	0	
10	5% Lir. + 5% Kon.	56					3		6	
10	6% Lir. + 6% Kon.	46					1		8	
10	4% Lir. + 8% Kon.	36					4		7	
5	8% Lir. + 8% Kon.	50	0				0		1	
5	6% Tripomol (TMTD)	50	12			12				
5	9% „	42	13			13				
5	12% „	40	5			5				
10	12% „	42	0		0 (5)			0 (5)		
10	6% Trip. + 6% Aafuma	48	0		0			0 (15)		
5	6% Trip. + 6% Aafuma	62	0		0			0 (22)		
5	6% Triscabol (Ziram)	38	10			13				
5	6% „	46	11			11				
5	12% „	23	3			5				
10	12% „	46	0			3		3		
5	6% Aafertis (Fe-carbamaat)	36	25			33				
5	9% „	46	26			26				
5	12% „	46	14			26				
5	6% Fermate (Ferbam)	30	10			15				
5	9% „	42	14			23				
5	12% „	42	16			23				
5	6% Aafuma (Pentachloor- nitrobenzeen)	38	7			7				
5	9% „	40	10			14				
5	12% „	38	12			12				
10	8% „	38	0			0		0		
10	12% „	40	0			0		0		
10	9% Brassicol (Pentachloor- nitrobenzeen)	36		17	17			17		
5	12% „	64		5	5			5 (4)		
10	12% „	72		0	11			11 (6)		
5	4% Pomarsol TMTD	28		14	21			25		
10	4% „	36		20	20			24		
5	6% „	28		10	16			17		
10	6% „	32		6	14			14		
5	8% „	64		28	46			51		
10	9% „	28		0 (9)	0 (9)			0 (9)		
5	12% „	36		6	6			6		
10	12% „	30		0 (7)	2 (30)			2 (30)		
—	Contrôle	182		167	167			167		

() Aantal planten ingesnoerd door giftige werking van de nevelvloeistof.

() Number of plants constricted by the poisonous effect of the fungicide.

Lir. = Lirotan; Kon. = Koneprox; Trip. = Tripomol.

Na de verneveling werden de planten in een vochtige omgeving in glazen kastjes geplaatst. De 6 bladeren van de geïnoculeerde controleplant werden alle zwaar ziek. De aantasting werd noch door 8% Koneprox, noch door 10% Koneprox, noch door 5% Koneprox + 5% Lirotan geheel voorkomen. In de overige gevallen bleven de bladeren gezond. De werkzaamheid van 5% Koneprox + 5% Lirotan was hier gelijk aan die van 10% Koneprox.

Bij de cotyledonen werd de aantasting eerst bij 10 cc/m² 12% Lirotan geheel voorkomen en kwamen na behandeling met 8% Lirotan nog enkele ziektegevallen voor (vergl. tabel 7), waarschijnlijk door de grotere gevoeligheid van de cotyledonen t.a.v. *A. brassicae*.

e. Proeven met hauwen

Een aantal fungiciden werd beproefd op hun werkzaamheid ten aanzien van *Alternaria brassicae*, waarbij de spuitvloeistof met behulp van een lakverstuiver werd verneveld bij een druk van 3 atmosfeer in hoeveelheden van 5 of 10 cc per m². De koolzaadhauwen werden vooraf met behulp van een platte entnaald aan de bovenzijde geïnoculeerd met een geconcentreerde sporensuspensie. Na het vernevelen werden de planten geplaatst in goed afgesloten kastjes (inh. 40 × 40 × 130 cm) in de kas. In de kastjes werd een hoge luchtvochtigheid gehandhaafd door de bodem en binnenwanden geregeld nat te spuiten met water.

Aangezien bij kiemprouwen was gebleken, dat een hoge luchtvochtigheid op zichzelf niet voldoende is om de meeste sporen van *A. brassicicola* te doen ontkiemen, werden de planten gedurende de proef ook enige malen licht besproeid met behulp van een bloemenspuitje, waardoor de plantendelen tijdelijk met zeer kleine waterdruppeltjes werden bedekt.

De hauwen der geïnoculeerde controleplanten werden zonder uitzondering zwaar aangetast.

Naar aanleiding van de gunstige resultaten met Lirotan werden de Zinebpreparaten beproefd, welke zijn vermeld in tabel 10. Van belang is, dat Tritoforol en M 555 gemakkelijker kunnen worden verneveld dan Lirotan bij een concentratie van 12%.

Bij de concentraties van 8% bleken M 555, Lirotan en Tritoforol duidelijk beter te werken dan APhytora en Dithane Z 78, zodat de beide laatste middelen op het veld waarschijnlijk minder werkzaam zullen zijn dan de overige zinkcarbamatën.

Bij de concentraties van 12% bleken alle zes middelen goed te voldoen in een hoeveelheid van 10 cc per m² (tabel 10 en fig. 8).

Uit tabel 10 blijkt, dat 8% M 555 de ziekte geheel heeft voorkomen. Of in de praktijk zal kunnen worden volstaan met 8% M 555 in een hoeveelheid van 10 cc per m² zal nader moeten worden onderzocht. Vooralsnog lijkt een concentratie van 12% ook voor dit middel gewenst.

Naar aanleiding van de proeven met zaailingen werden verder de middelen beproefd vermeld in tabel 11.

Uit de proeven blijkt, dat een verneveling van 8% Koneprox in een hoeveelheid van 10 cc per m² de aantasting niet geheel heeft voorkomen, aangezien 5 van de 20 hauwen werden aangetast. Bij 2 hauwen was de aantasting zeer duidelijk. Een eenmalige verneveling van 12% Koneprox in een hoeveelheid van 10 cc per m² bleek bij niet geïnoculeerde hauwen koperschade te bewerkstelligen, zich uitend in talrijke necrotische vlekjes op de stelen en hauwen (fig. 9). Een meer-

TABEL 10. Vergelijking van de werking van een aantal (merk-)middelen op basis van zink-aethyleen-bis-dithiocarbamaat (Zineb), verneveld in een hoeveelheid van 10 cc per m² bij hawen van koolzaad, welke aan de bovenzijde werden geïnoculeerd met een sporensuspensie van *A. brassicae*.

Comparison of the effect of a number of Zineb-compounds, containing zinc ethylene-bis-dithiocarbamate, atomized at the rate of 10 ml per m² on colza siliques, which were inoculated at the upper side by means of a flat needle with a spore-suspension of A. brassicae.

Bespuiting Spray	Concentratie Concentration %	Aantal hawen Number of siliques	Aantal aangetaste hawen Number of attacked siliques
Lirotan	8	80	4
Lirotan	12	108	0
Tritoflorol	8	108	3
Tritoflorol	12	92	0
AAphytora	8	42	22
AAphytora	12	80	0
Dithane Z 78	8	83	7
Dithane Z 78	12	60	1 ¹⁾
Triscabol (Ziram)	12	55	0
M 555	8	64	0
M 555	12	108	0
Contrôle		100	100
(Control)			

¹⁾ = zwak aangetast
(slightly diseased)

TABEL 11. Invloed van een aantal bespuitingen op de aantasting van hawen door *A. brassicae*.
Effect of a number of sprayings on the attack of siliques by A. brassicae.

ml/m ²	Fungicide	Aantal behandelde hawen Number of treated siliques	Aantal zieke hawen Number of attacked siliques
5	8% Lirotan + 8% Koneprox	56	5 ¹⁾
10	8% Lirotan + 8% Aafuma	54	0
10	8% Koneprox	20	2 (3) ¹⁾
10	15% Aafuma	105	59
10	9% Pomarsol	71	10
10	12% Pomarsol	41	5
10	12% Tripomol	55	5
	Contrôle (Control)	91	91

¹⁾ zwak aangetast
slightly attacked.

malige behandeling met 8% Koneprox had hetzelfde effect, hetgeen ook op het veld werd geconstateerd.

Uit tabel 11 blijkt, dat de combinatie 8% Lirotan + 8% Koneprox in een hoeveelheid van 5 cc per m² vrij goed heeft gewerkt. Er kwam slechts een lichte aantasting tot uiting bij 5 van de 56 hawen. De combinatie 8% Lirotan + 8% Aafuma in een hoeveelheid van 10 cc per m² heeft goed voldaan (fig. 11). Aafuma en de beide TMTD-houdende middelen Pomarsol en Tripomol hebben de aantasting echter niet geheel voorkomen.

VI. ALTERNARIA BRASSICICOLA (SCHWEIN.) WILTSHIRE

Volgens WILTSHIRE (1947) werd deze schimmel oorspronkelijk in 1832 genoemd *Helminthosporium brassicicola* SCHWEIN. In 1875 werd de schimmel in de Ver. Staten door BERKELEY & CURTIS beschreven onder de naam van *Macrosporium cheiranthi* v. *circinans* B & C. SACCARDO (Syll. Fung. 4:524) beschreef *M. cheiranthi* v. *circinans* in 1886 onder de naam van *M. commune* v. *circinans*. (B & C) SACC. MILLBRAITH (1922) noemde de schimmel *Alternaria oleracea*, welke naam in Amerika nog in 1944 werd gebruikt door GROVES & SKOLKO (1944). Eerst door de onderzoeken van WEIMER (1924) en BOLLE (1924) werd het duidelijk, dat men hier met een belangrijke parasiet heeft te maken. Vaak werd deze schimmel verward met *A. brassicae* en ook WEIMER (1924) bezigde *A. brassicae* abusievelijk voor de kleinsporige *Alternaria* op kool.

BOLLE (1924) noemde de schimmel *Alternaria circinans* (BERK. & CURT.) BOLLE, welke naam ook werd gebruikt door NIELSEN (1933) en NEERGAARD (1945).

Volgens WILTSHIRE (1947) komt het herbarium materiaal van SCHWEINITZ overeen met deze schimmel en hij stelde derhalve de naam voor van *Alternaria brassicicola* (SCHWEIN.) comb. nov.

De kleinsporige agressieve *Alternaria*, welke uit zaadmonsters en soms uit hauwen van koolzaad uit de Noordoostpolder werd geïsoleerd (tabellen 1, 4, 5, 15, 16) kwam geheel met de beschrijving van WILTSHIRE (1947) overeen (fig. 10). Op kersenagar zijn de jonge fluweelachtige cultures donker olijfgroen van kleur. Oudere cultures zijn vrijwel zwart. Op deze voedingsbodem is de groei voorspoedig en er worden talrijke conidiën in kettingen gevormd. In tegenstelling met *A. brassicae* en *A. tenuis* vertoonden de verschillende isolaties van *A. brassicicola* op kersenagar hetzelfde macroscopische beeld (fig. 11, links), hoewel ook bij deze isolaties vormen bleken voor te komen, waarvan de pathogeniteit t.o.v. zaailingen van koolzaad uiteenliep (fig. 12).

Het sterk pathogene karakter van *A. brassicicola*, komt hier 9 dagen na de inoculatie goed tot uiting. Alle zaailingen waren na 16 dagen afgestorven, in

tegenstelling met die welke geïnoculeerd waren met *A. brassicae* (fig. 4).

Bij één der eenspore cultures ontstond op kersenagar een variant (fig. 11, rechts). Het op-

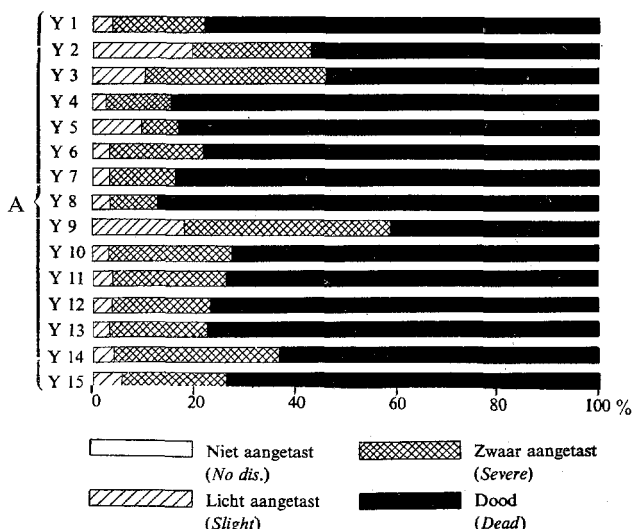


Fig. 12

(A) Het pathogene vermogen van 15 isolaties van *A. brassicicola* getoetst op zaailingen die werden gekweekt onder overigens aseptische omstandigheden in cultuurbuizen, 9 dagen na de inoculatie (10 buizen per object).

(A) The relative pathogenic vigor of 15 isolates of *A. brassicicola* tested on seedlings in test tubes, 9 days after the inoculation (10 tubes p. obj.).

treden van varianten bleek bij deze schimmel een uiterst zeldzaam verschijnsel te zijn. Dergelijke varianten bij *Alternaria*'s, welke op een kunstmatige voedingsbodem uit eenspore cultures ontstonden, werden reeds eerder beschreven, o.a. bij *A. tenuis* door NEERGAARD (1945) en bij *A. raphani* door ATKINSON (1950).

Proeven met fungiciden

a. Vergelijking van Koneprox en Koper Sandoz bij toevoeging aan gesmolten kersenagar.

Hiervoor kan worden verwezen naar pag. 112.

b. Proeven met afgeplukte bladeren van koolzaad.

Met het BPM-preparaat F 602 (een organische koperverbinding) werd een vernevelingsproef genomen. Voor de opzet en resultaten van deze proef kan worden verwezen naar pag. 113. Tegelijk met deze proef werd op dezelfde wijze, ook de werking nagegaan van Koneprox, waarbij bladeren vooraf werden behandeld met resp. 8, 12 en 16% van het middel in een hoeveelheid van 8 cc per m² en daarna geïnoculeerd. Hoewel de aantasting duidelijk minder was dan bij de geïnoculeerde niet bespoten controlebladeren, ontstonden bij al deze objecten nog een aantal vlekken, welke bij nader onderzoek bleken te zijn veroorzaakt door *A. brassicicola*.

c. Proeven met koolzaadzaailingen in glaszand

Met behulp van de methode waarbij zaailingen in glaszand werden gekweekt en na inoculatie vernevelingen werden toegepast met een lakverstuiver, werden de objecten vergeleken, welke zijn vermeld in tabel 12. De beste resultaten werden verkregen met Lirotan. Zowel 8, 12 en 16% Lirotan hebben bij

TABEL 12. Aantasting van cotyledonen door *A. brassicicola*, 16 dagen na de behandeling.

Attack of cotyledons by A. brassicicola, 16 days after treatments.

ml/m ²	Fungicide	Aantal cotyledonen <i>Number of cotyledons</i>	Aantal aangetast <i>Number of diseased cotyledons</i>	Aantal dood <i>Number of dead cotyledons</i>	Aantal gezond <i>Number of healthy cotyledons</i>	Gezond <i>Healthy</i> %
	Contrôle (<i>control</i>)	44	44	41	0	0
10	Lirotan 8%	48	2	2	46	96
10	Lirotan 12%	44	0	0	44	100
10	Lirotan 16%	60	2	2	58	97
10	Koneprox 12%	44	9 ¹⁾	9	36	82
10	Koneprox 16%	58	26 ¹⁾	15	32	55
10	Org. Cu verb. 16% (Organic Cu comp)	54	54 ¹⁾	20	0	0
10	Koper Sandoz 8%	54	15	7	39	72
10	+ Aasulfa 4%					
10	Koper Sandoz 8%	50	26	19	24	48
10	+ Aasulfa 8%					
10	Koper Sandoz 16%	46	28 ¹⁾	22	18	39
10	Koper Sandoz 16%	46	37 ¹⁾	23	9	20
10	+ Aasulfa 4%					
10	Aaventa 1,5%	50	22	2	28	56
10	Aaventa 3%	54	11 ²⁾	0	43	79
10	Aaventa 6%	50	18 ²⁾	12	32	64

¹⁾ Koperschade aanwezig (*Injury by copper present*).

²⁾ Kwikschade aanwezig (*Injury by mercury present*).

een hoeveelheid van 10 cc per m² de aantasting vrijwel geheel voorkomen. De gevoelige zaailingen ondervonden van het middel zelf geen schade, hetgeen wel het geval was bij 12 en 16 % Koneprox, bij 16 % van de organische koperverbinding en bij 16 % Koper Sandoz. Bij deze proeven werd Koper Sandoz beproefd in combinatie met een zwavelhoudend middel, in dit geval Aasulfa, op aanraden van de landbouwscheikundige afdeling van de firma SANDOZ, A.G. te Bazel. Toevoeging van Aasulfa bleek de werking van Koper Sandoz echter ongunstig te beïnvloeden.

Het kwikhoudende middel Aaventa oefende bij de concentraties van resp. 3 en 6 % eveneens een nadelige invloed uit op de ontwikkeling der zaailingen. Er werd nog een kwikhoudend middel beproefd, nl. Aretan, waarbij in een hoeveelheid van 5 cc per m² concentraties werden aangewend van resp. 3, 4,5 en 5 % en in een hoeveelheid van 10 cc per m² concentraties van resp. 0,75, 1,25 en 2,5 %. Aanvankelijk werd een sterke vermindering van de aantasting geconstateerd, doch de ziekte werd niet geheel voorkomen en de aantasting door *A. brassicicola* nam geleidelijk in hevigheid toe, waarschijnlijk mede als gevolg van een verzwakking van de weerstand door een schadelijke werking van kwik.

d. Proeven met hauwen

Op 13 April 1951 werden de hauwen van twee koolzaadplanten aan de bovenzijde met behulp van een penseel stuk voor stuk voorzien van een groot aantal sporen van *A. brassicicola* (stam Y 28b, geïsoleerd uit koolzaad van de Noord-oostpolder). Vele sporen kwamen hierbij ook terecht op de lager geplaatste bladeren. De beide planten werden in glazen kastjes (in de kas) geplaatst, waarvan de binnenwanden vooraf waren nat gesproeid met een bloemenspuit, zodat werd gezorgd voor een grote luchtvochtigheid. Na 3 dagen waren de hauwen en bladeren reeds overdekt met talrijke zwarte necrotische vlekjes en na 10 dagen waren de planten zeer sterk aangetast. Na 3 weken waren alle hauwen geheel met de schimmel overdekt. Vooral de zeer jonge hauwen van ± 1 à 2 cm lengte en $\frac{1}{2}$ à 1 mm dikte en de oudste bijna volgroeide hauwen bleken zeer gevoelig te zijn. De hauwen, welke in ontwikkeling tussen de zeer jonge en oudste in lagen, waren minder sterk ziek. Ook de stengels en de stelen der hauwen waren plaatselijk sterk aangetast, waardoor de groei der hauwen sterk werd benadeeld. Verschillende oudere hauwen waren reeds opengesprongen voordat het zaad rijp was. De aantasting der hauwen verliep bij de beide planten niet even snel: bij de plant die over het algemeen jongere hauwen had minder snel dan bij de plant met oudere hauwen. De bladeren waarop sporen waren terecht gekomen werden sterk aangetast, bij de oudere schreed de aantasting naar verhouding sterker voort dan bij de jongere. Een contrôleplant welke niet werd geïnoculeerd bleef gezond.

Op 17 Mei '51 werden een aantal koolzaadplanten in potten, waaraan zich talrijke hauwen bevonden, op dezelfde wijze geïnoculeerd met sporen van *A. brassicicola* (isolatie Y 28b), waarna de volgende behandelingen werden toegepast:

1. niet verneveld.
2. verneveld met 8 % Koneprox.
3. verneveld met 8 % Cuproxol.
4. verneveld met 12 % Cuproxol.

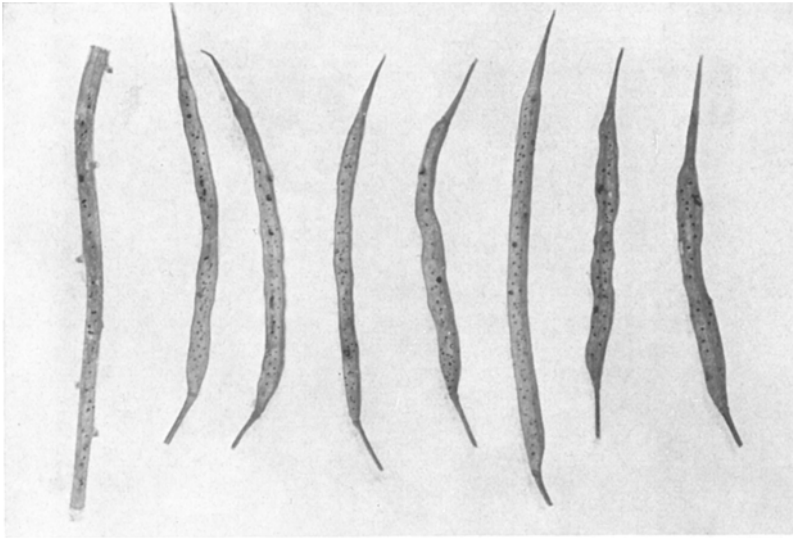


Foto T. Hiemstra

Fig. 9. Koperschade bij koolzaad hawwen door een verneveling van 10 cc/m² Koneprox.

Damage by copper in colza siliquas by atomizing 10 ml/m² 12% Koneprox.

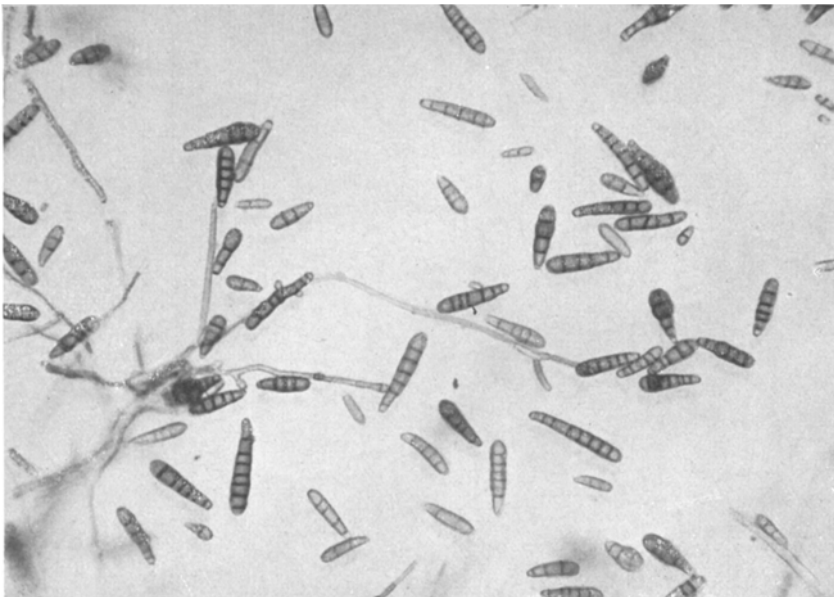


Fig. 10. Conidiën van *A. brassicicola* (200 ×).

Conidia of A. brassicicola (200 ×).

Foto D. Otzen

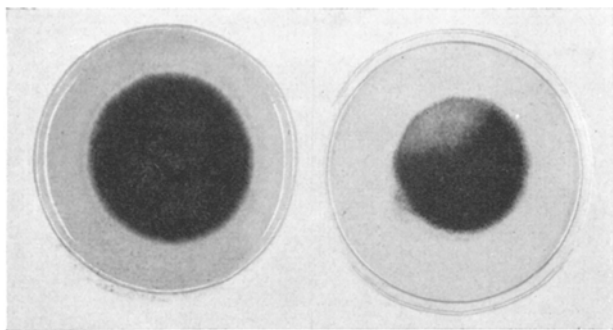


Foto T. Hiemstra

Fig. 11. Links: een cultuur van *A. brassicicola* op kersenagar, rechts: een monospore cultuur van *A. brassicicola* waarin een variant is ontstaan.

On the left: a culture of A. brassicicola on cherry agar, on the right: a monospore culture of A. brassicicola in which a saltation has occurred.

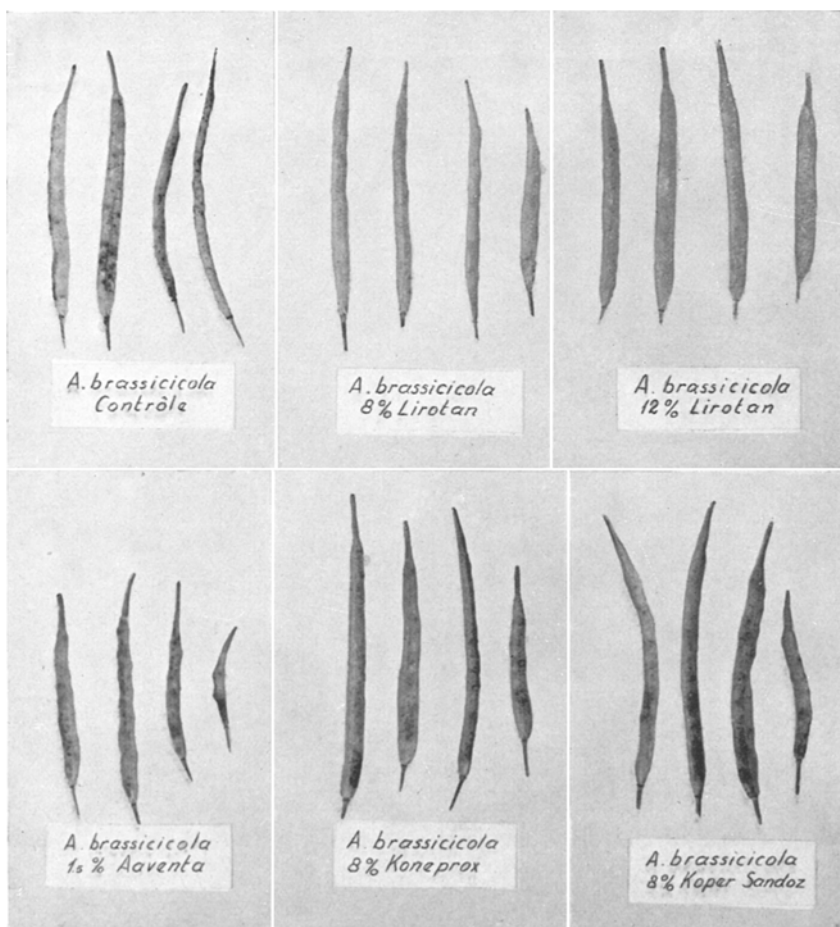


Foto T. Hiemstra

Fig. 13. Invloed van een verneveling van 8 en 12% Lirotan, 1,5% Aaventa, 8% Koneprox en van 8% Koper Sandoz in hoeveelheden van 10 cc per m² op de aantasting van koolzaad hawen door *A. brassicicola*.

Effect of atomizing 8 and 12% Lirotan, 1,5% Aaventa, 8% Koneprox and 8% Copper Sandoz at the rate of 10 ml per m² on the attack of colza siliquas by A. brassicicola.

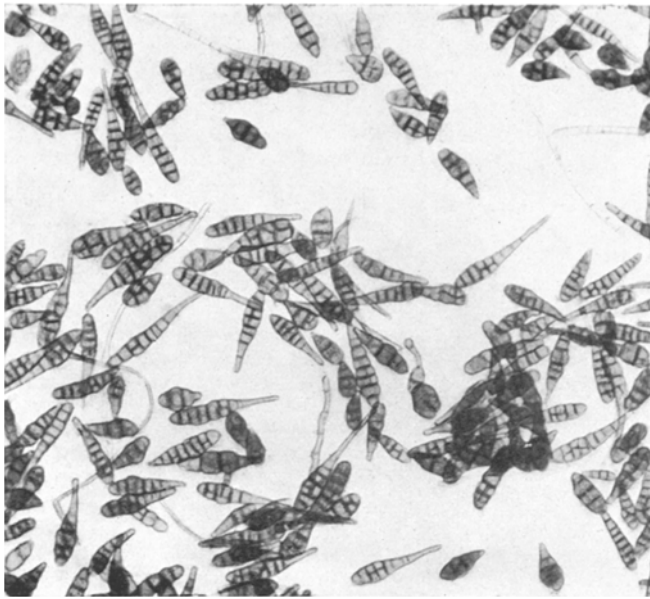


Fig. 14. Conidiën van *A. tenuis* (200 $\times$).
Conidia of A. tenuis (200 $\times$).

Foto D. Otzen

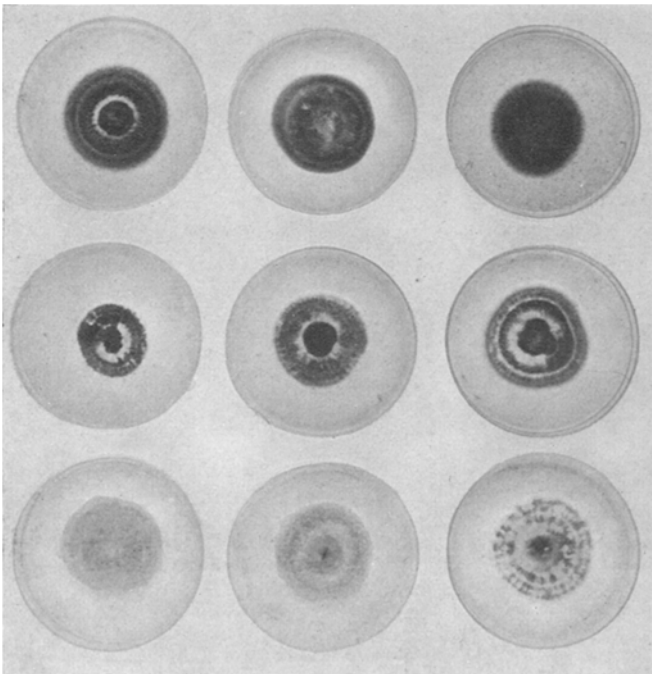


Foto T. Hiemstra

Fig. 15. Verschillende isolaties van *A. tenuis* op kersenagar.
Different isolates of A. tenuis on cherry agar.

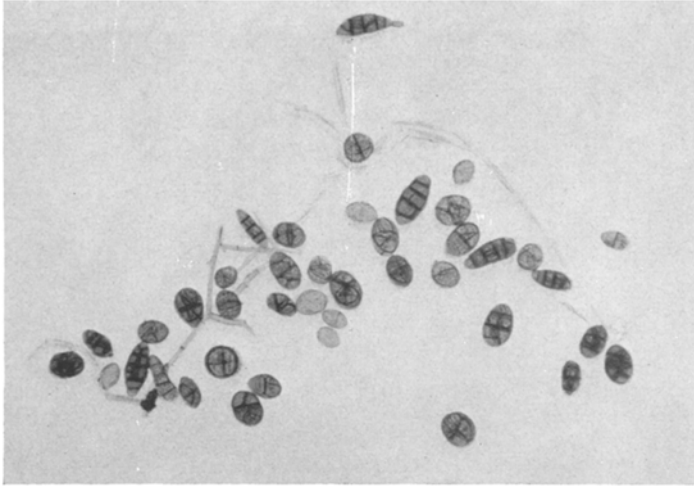


Foto D. Otzen

Fig. 17. Conidiën van een enkelspore-cultuur van *Stemphylium consortiale* (Thüm.) GROVES et SKOLKO (200 ×).

Conidia of a monospore culture of Stemphylium consortiale (Thüm.) GROVES et SKOLKO (200 ×).

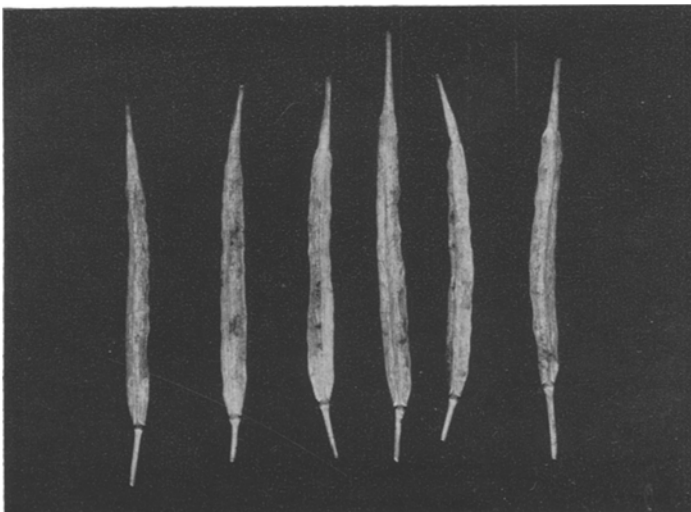


Foto T. Hiemstra

Fig. 18. Aantasting van bijna rijpe koolzaad hawwen door *Stemphylium consortiale*, 2 weken na de inoculatie.

Attack of not yet fully ripe colza siliques by Stemphylium consortiale, 2 weeks after the inoculation.

5. verneveld met 8% Koper Sandoz.
6. verneveld met 12% Koper Sandoz.
7. verneveld met 12% Koper Sandoz + 4% Aasulfa.
8. verneveld met 8% Lirotan.
9. verneveld met 12% Lirotan.
10. verneveld met 1½% Aaventa.

Aan de oplossing werd 10/100 Shell-uitvloeier toegevoegd. De middelen werden verneveld in een hoeveelheid van 10 cc vloeistof per m².

Bovendien werden ook niet geïnoculeerde planten met hauwen behandeld met de middelen 3, 4, 5 en 6 om na te gaan of er koperschade bij de hauwen zou optreden. Dit bleek inderdaad het geval te zijn bij de concentraties van 12%, zich uitend in kleine necrotische stippen en vlekken op de hauwen en stengels.

Bij de bovengenoemde proef werden de beste resultaten verkregen met 8 en 12% Lirotan (fig. 13). Door 8% Koneprox of 8% Cuproxol werd de aantasting wel verminderd, doch niet geheel voorkomen. Een aantal hauwen werd nog tamelijk sterk aangetast (fig. 13). Koneprox en Cuproxol werkten echter duidelijk beter dan Koper Sandoz. Koper Sandoz (obj. 5, 6 en 7) hielp vrijwel niets: bladeren, stengels en hauwen werden tenslotte zwaar aangetast (fig. 13). De oplossing van 1½% Aaventa werkte ook onvoldoende: vele hauwen werden tamelijk ernstig ziek (fig. 13). Er trad bij een gering aantal hauwen een zwakke aantasting op na behandeling met 8% Lirotan, doch bij de concentratie van 12% behielden de hauwen een gezond uiterlijk.

VII. ALTERNARIA TENUIS AUCT. SENSU STR.

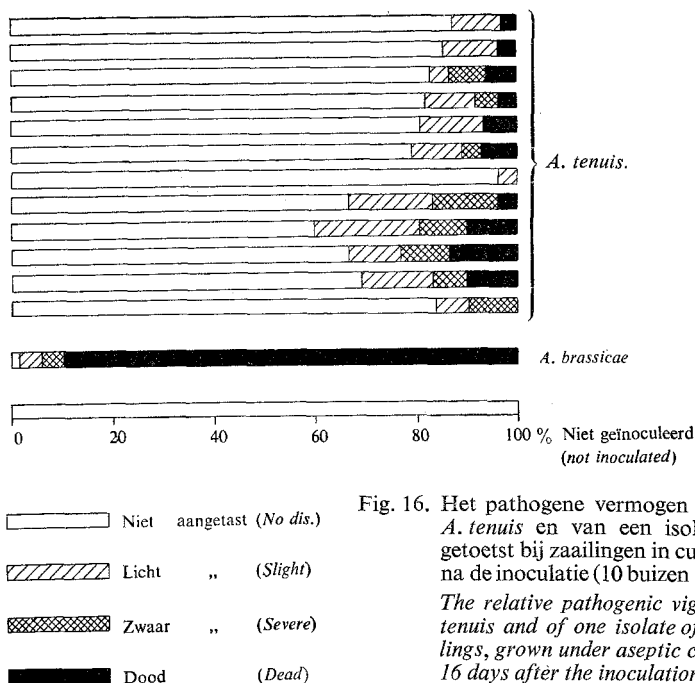
Het veelvuldige voorkomen van *A. tenuis* op zaden van koolzaad (tabellen: 2, 3, 4, 15, 16) en het feit, dat deze schimmel soms uit dode vlekjes op hauwen en stengels werd geïsoleerd, bij afwezigheid van andere pathogene schimmels in het vlekje (tabel 5), maakte het gewenst enige aandacht aan deze schimmel te besteden.

Volgens de literatuur komt *A. tenuis* zeer wijd verspreid op een groot aantal plantensoorten voor, doch ze heeft slechts een gering aantastingsvermogen. In het algemeen heeft ze weinig vat op een gezond gewas, maar wanneer de planten door een bepaalde oorzaak belangrijk zijn verzwakt, kan de schimmel binnendringen, bij sommige plantensoorten vlekken veroorzaken en er toe bijdragen, dat verzwakte plantendelen worden aangetast. Gewoonlijk beperkt deze schimmel zich tot dode en verzwakte plantendelen waarop ze saprophytisch leeft. Bij een aantal plantensoorten gedraagt *A. tenuis* zich als een zwakke parasiet (YOUNG, 1926). Naar aanleiding van infectieproeven concludeert NEERGAARD (1945), dat deze *Alternaria* te beschouwen is als een uitgesproken polyphage facultatieve parasiet. Voor de literatuur welke op deze schimmel betrekking heeft, kan naar zijn werk en naar dat van WILTSHIRE (1933, 1947) worden verwezen.

Een afbeelding der sporen van *A. tenuis* van een isolatie uit zaad van *Brassica napus* is te zien in fig. 14. In tegenstelling met de regelmatige vorm der conidiën van *A. brassicicola* (fig. 10), bestaat er niet alleen een zeer grote variatie in de vorm der conidiën bij *A. tenuis*, doch ook een grote variatie in de groei en kleur van het luchtmycelium (fig. 15). Het vermogen om conidiën te maken bij de verschillende vormen loopt op kersenagar sterk uiteen.

Variatie in pathogeniteit

Met behulp van zaailingen in cultuurbuizen werd bij 12 verse isolaties de pathogeniteit nagaan. Per object werden 29 tot 32 zaailingen gebruikt. Ter vergelijking werd een serie geïnoculeerd met *A. brassicae* en een serie niet geïnoculeerd. Het resultaat dat 16 dagen na de inoculatie werd verkregen, is weergegeven in fig. 16.



Evenals bij *A. brassicae* en *A. brassicicola* blijken er dus verschillen voor te komen in pathogeniteit. Het veel sterkere pathogene karakter van *A. brassicae* komt goed tot uiting. Onder de gegeven omstandigheden gedroeg *A. tenuis* zich als een zwakke parasiet.

b. Proeven met hauwen

Bij twee koolzaadplanten met een groot aantal hauwen werd nagegaan of het mogelijk was aantasting te verkrijgen na inoculatie met *A. tenuis*. De hauwen werden daartoe afzonderlijk aan de bovenkant bestreken met een geconcentreerde sporensuspensie, waarna de planten in glazen kasten werden geplaatst waarin een hoge luchtvochtigheid werd gehandhaafd. In tegenstelling met de resultaten, verkregen bij inoculatie met *A. brassicae* of *A. brassicicola*, bleven de hauwen geruime tijd gezond. Eerst na het afrijpen werden zij door de schimmel overwoekerd en werden zij geheel zwart gekleurd door de talrijke conidiën die zich ontwikkelden. Het is dus wel duidelijk, dat deze schimmel van weinig betekenis is voor normaal opgroeiende koolzaadplanten, die niet door de één of andere oorzaak, b.v. door afsterving, of als gevolg van aantasting door patho-

gene schimmels of insecten, zijn verzwakt. Wanneer een rijp gewas te lang op het veld blijft staan in een regenrijke periode, zijn de omstandigheden gunstig voor uitbreiding van de schimmel op de hauwen.

VIII. STEMPHYLIUM CONSORTIALE (THÜM.) GROVES ET SKOLKO

In verband met het feit dat uit dode vlekjes op hauwen en stengels in een aantal gevallen *Stemphylium* spec. werden geïsoleerd, bij afwezigheid van andere pathogene schimmels in het vlekje (tabel 6), werden enkele proeven genomen met meerdere isolaties van *Stemphylium consortiale* (THÜM.) GROVES ET SKOLKO. Volgens de literatuur is de schimmel geïsoleerd van alle mogelijke niet kiemende zaden en moet zij worden beschouwd als een zeer algemene, zeer zwakke, facultatieve parasiet.

Een afbeelding der sporen is te zien in fig. 17.

a. Proeven met zaailingen

Met een eenspore cultuur werden 6 dagen oude zaailingen van koolzaad (var. Lembke's), welke werden gekweekt op vochtige watten in cultuurbuizen, geïnoculeerd. Bij een serie (A) geschiedde de inoculatie met een sporensuspensie, bij een serie (B) door plaatsing van een stukje kersenagar waarop de schimmel zich had ontwikkeld bij de stengelbasis. Een derde serie (C) werd niet geïnoculeerd. De proef werd aangezet op 17 Juli 1952. Op 2 Augustus was nog geen aantasting te bespeuren. Op 5 September was de toestand als aangegeven in tabel 13.

TABEL 13. Aantasting van koolzaadzaailingen (in cultuurbuizen gekweekt op vochtige watten) door *Stemphylium consortiale*, 50 dagen na de inoculatie.

Attack of colza seedlings (grown on moist cottonwool in culture tubes) by Stemphylium consortiale, 50 days after inoculation.

Behandeling <i>Treatment</i>	Dood <i>Dead</i>	Zwaar ziek <i>Seriously diseased</i>	Licht ziek <i>Slightly diseased</i>	Gezond <i>Healthy</i>	Totaal <i>Total</i>
Spore inoculatie (<i>Spore-inoculation</i>)	28 (31,8%)	3	—	57	88
Agar inoculatie (<i>Agar-inoculation</i>)	34 (37%)	4	1	53	92
Niet geïnoculeerd (<i>Not inoculated</i>)	8 (2,7%)	3	—	271	282

In tegenstelling met *Alternaria brassicae* en *A. brassicicola* werden de jonge plantjes in de eerste weken dus niet aangetast. Bij afnemning van de weerstand door voedselschaarste was aantasting echter zeer wel mogelijk.

b. Proeven met hauwen

Op 1 Juli 1952 werden de hauwen van een koolzaadplant elk afzonderlijk met een sporensuspensie geïnoculeerd, met behulp van een penseel om verwonding uit te sluiten. De plant werd in een glazen kast geplaatst in een omgeving met grote luchtvochtigheid. Op 9 Juli bleken een aantal oudere nog niet afgerijpte hauwen duidelijk te zijn aangetast. Op 15 Juli waren 42 van de 95 hauwen aangetast en wel voornamelijk de oudere hauwen. Gewoonlijk begon de aantasting ter weerszijde van de middennaad van de hauw, gevolgd door een verdroging en inkrimping van het zieke weefsel, dat plaatselijk grijs verkleurde en

als plekjes en streepjes duidelijk afstak tegen het licht geelgroene of groene overige weefsel (fig. 18). Op 21 Juli waren de aangetaste hauwen geheel door de schimmel overwoekerd en leken zij zwart bepoederd door de talrijke conidiën. Op 15 Juli werden de hauwen van 2 koolzaadplanten met dezelfde *Stemphylium*cultuur geïnoculeerd. Bij de ene plant waren de hauwen nog jong. Op 21 Juli waren hierbij nog geen ziekteverschijnselen aanwezig, wel op de oudere hauwen van de andere plant. Op deze datum werden de hauwen van nog twee andere planten geïnoculeerd, de ene met een verse isolatie van *Stemphylium consortiale* uit zaad, de andere met een éénspore cultuur van een verse isolatie uit een dode vlek. Op 26 Juli waren verscheidene oudere hauwen van de laatste plant duidelijk aangetast. De aantasting was het sterkst in het middengedeelte en aan de basis van de hauw; de uiteinden van de hauwen bleven over een afstand van 1 à 1½ cm het langst gezond en groen. Bij de andere plant was de aantasting veel geringer, ofschoon duidelijk aanwezig op een aantal oudere hauwen. Uit zaden afkomstig van de aangetaste hauwen kon de schimmel opnieuw worden geïsoleerd. Uit deze proeven blijkt dus wel, dat onder omstandigheden welke gunstig zijn voor de infectie, oudere hauwen kunnen worden aangetast door *Stemphylium consortiale*. Waarschijnlijk zal ook verzwakt weefsel, b.v. na aantasting door *A. brassicae*, gemakkelijker worden aangetast dan gezond weefsel. Als gevolg van het feit dat niet meer potplanten met hauwen beschikbaar waren, werd slechts bij één plant nagegaan, of de ziekte na inoculatie der hauwen kon worden voorkomen door een verneveling met 12% Tritoforol in een hoeveelheid van 10 cc per m². Een week na de inoculatie waren 5 van de oudere hauwen door de schimmel aangetast. Uit deze proef werd de indruk verkregen, dat *Stemphylium consortiale* resistentier is t.o.v. Tritoforol dan *A. brassicae* en *A. brassicicola*.

IX. BOTRYTIS CINEREA, PERS.

Uit zaden (tabellen 2 en 4) en uit spikkelzieke hauwen en stengels (tabellen 5 en 6) werd talrijke malen de „grauwe” schimmel *Botrytis cinerea* PERS. geïsoleerd. Op kersen- en pruimenagar vormt deze schimmel, evenals *Sclerotinia sclerotiorum*, kristallen in de voedingsbodem (fig. 24).

Van de geïsoleerde schimmels uit spikkelzieke hauwen en stengels uit het topgedeelte van de plant bleken in 1951 *A. brassicae* en *B. cinerea* voor te komen in een verhouding van 38 tot 35 (tabel 5) en in 1952 in een verhouding van 60 tot 54 (tabel 6). Opgemerkt moet worden, dat deze onderzochte hauwen niet door insecten waren beschadigd. Op het veld bleken de hauwen, welke door snuitkevers waren beschadigd, voor een groot percentage door *B. cinerea* te zijn aangetast. De aantasting was hierbij veelal goed te volgen vanaf het door de kever veroorzaakte gaatje in de hauw. Zo bleken kort voor de oogst van 1951 van 196 door snuitkevers beschadigde hauwen, afkomstig van verschillende kavels, er 129 secundair te zijn aangetast door *B. cinerea*, d.i. 66%. Het ziektebeeld teweeggebracht door *B. cinerea*, zoals dit voorkomt bij hauwen op het veld, hangt van de weersomstandigheden af. Zijn deze voor de schimmel gunstig, dan kan zich een wollig mycelium op de hauw ontwikkelen, waarop talrijke conidiën ontstaan. De schimmel kan dan snel voortwoekeren en soms via het steeltje van de hauw de stengel en andere hauwen aantasten (fig. 20). Wanneer eenmaal de stengel is aangetast, sterft het gedeelte hierboven vroegtijdig af. Door regen en wind kan het uitwendige mycelium, na het afsterven van de

hauw, verdwijnen (fig. 20: 2e, 3e, 4e en 5e hauw van links). Er kunnen al naarmate de omstandigheden enigszins ingezonken plekken ontstaan, welke wit, grijs of donker gekleurd zijn. Wanneer de gehele hauw is aangetast, verdroogt de hauw vroegtijdig. Op fig. 21 zijn hauwen afgebeeld, afkomstig van het veld met witte ingezonken plekken waaruit *B. cinerea* werd geïsoleerd.

Op 30 Juni 1951 werden met de isolaties 4, 11, 17 en 59 inoculaties verricht bij koolzaadzaailingen, welke werden gekweekt op vochtige watten in cultuurbuizen. Tegelijk werden ook een aantal inoculaties verricht met de schimmel *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) MASSEE, welke uit een dood vlekje op een hauw was geïsoleerd. De schimmels werden vooraf op kersenagar gekweekt. Voor de inoculaties werden jonge cultures gebruikt van dezelfde leeftijd, waarbij een stukje agar, voorzien van de schimmel, bij de voet van de zaailingen werd geplaatst.

In tabel 14 is het resultaat van de aantasting vermeld na resp. 7, 8 en 16 dagen.

TABEL 14. Aantasting van koolzaadzaailingen, gekweekt in buizen op vochtige watten, door *Botrytis cinerea* (isolaties 4, 11, 17 en 59) en door *Sclerotinia sclerotiorum*, na 7, 8 en 16 dagen.

Attack of colza seedlings, grown in tubes on moist cotton-wool, by Botrytis cinerea (isolates 4, 11, 17 and 59) and by Sclerotinia sclerotiorum, after 7, 8 and 16 days.

Schimmel <i>Fungus</i>	Aantal zaail. <i>Number of seedlings</i>	Na 7 dagen <i>After 7 days</i>			Na 8 dagen <i>After 8 days</i>			Na 16 dagen <i>After 16 days</i>		
		Dood <i>Dead</i>	Ziek <i>Diseased</i>	Gezond <i>Healthy</i>	Dood <i>Dead</i>	Ziek <i>Diseased</i>	Gezond <i>Healthy</i>	Dood <i>Dead</i>	Ziek <i>Diseased</i>	Gezond <i>Healthy</i>
<i>B. cinerea</i> No 4	30	0	0	30	0	0	30	14	12	4
<i>B. cinerea</i> No 11	28	0	0	28	0	7	21	23	1	4
<i>B. cinerea</i> No 17	24	0	0	24	0	9	15	22	2	0
<i>B. cinerea</i> No 59	30	0	16	14	0	30	0	29	1	0
<i>S. sclerotiorum</i>	28	0	6	22	0	9	17	15	1	12
Contrôle (Control)	30	0	0	30	0	0	30	0	0	30

Duidelijk blijkt hieruit, dat isolatie No 59 van *B. cinerea* aggressiever was dan de gebruikte *Sclerotinia sclerotiorum*. Isolatie No 59 onderscheidde zich ook van de isolaties 4, 11 en 17 doordat veel eerder en meer kleine zwarte sclerotiën werden gevormd tussen de watten en de glaswand (fig. 22, 2e buis van rechts) en ook tegen de glaswand boven de watten. Sclerotiën werden eveneens gevormd door *S. sclerotiorum* (fig. 22, rechtse buis).

b. Inoculatieproeven bij hauwen

Op 6 Juli 1951 werden met 7 verse isolaties van *B. cinerea* hauwen van koolzaad geïnoculeerd door een stukje kersenagar, voorzien van de schimmel, op de hauwen te brengen, waarbij er voor werd gezorgd de hauwen niet te beschadigen. De planten werden in de kas in glazen kasten met grote luchtvochtigheid geplaatst. Reeds na 3 dagen waren de hauwen duidelijk aangetast. De aantasting bleek hierbij een stormachtig verloop te hebben en 5 tot 7 dagen na de inoculatie waren de hauwen over het gehele oppervlak aangetast en overdekt met het karakteristieke wollige mycelium, waarop een groot aantal conidiën was ontstaan. Opvallend hierbij was, dat de uitbreiding van de aantasting een veel

sneller verloop had dan die door *Alternaria brassicae*. De aangetaste delen droogden spoedig in en namen hierbij een grijze tot bruine kleur aan.

Op 23 Juli 1951 werden op dezelfde wijze inoculaties van hauwen verricht met *B. cinerea* No 59. Drie dagen later was reeds een duidelijke aantasting te zien (fig. 24). Het aangetaste gedeelte nam hierbij een grijswitte kleur aan en stak als ingezonken plekken duidelijk af tegen de rest van het weefsel. De plekken werden geleidelijk groter tot de gehele hauw was aangetast. Wanneer het vochtige milieu bleef gehandhaafd, ontstond het wollige mycelium op de hauw (fig. 20, links); onder droge omstandigheden was dit niet het geval.

De proef werd op 31 Juli 1951 nogmaals herhaald met de nummers 11, 17, 59 en 60, met hetzelfde resultaat.

Met de verse conidiën, afkomstig van de geïnoculeerde hauwen, gelukte het niet een duidelijke aantasting te bewerkstelligen bij gezonde hauwen. In een vochtige omgeving gelukte sporeninfectie echter wel bij planten, welke vooraf waren aangetast door *A. brassicae* of *Stemphylium consortiale*.

X. VELDRESULTATEN

Op het gebied van de bestrijding ontbrak aanvankelijk vrijwel elke ervaring. Aangezien de spikkelziekte volgens de Plantenziektenkundige Dienst wordt veroorzaakt door *Alternaria brassicae* en Alternariaschimmels volgens de literatuur (DORAN (1923), FAJARDO en PALO (1934), MC LEOD (1928, 1929, 1930), NIELSEN (1933), PAPE (1940)) met gunstig gevolg kunnen worden bestreden met Bordeauxse of Bourgondische pap, werden in 1950 koperpreparaten aangewend, nl. koperoxyduul en koperoxychloride. Zowel verstuiven als vernevelen werd toegepast. Het stuiven geschiedde met normale machines, welke per ha 35 kg van een der genoemde middelen verstoven, nadat vooraf banen in het koolzaad waren gemaaid met zelfrijdende voormaaiers. De onderlinge afstand van deze banen waarover de verstuivers reden, bedroeg 25 m. De resultaten vielen, gezien de mate van aantasting, niet mee.

Het vernevelen geschiedde in 1950 met twee vliegtuigen onder leiding van Dr W. J. MAAN. In totaal werden 1967, 72 ha behandeld. Bij de verneveling werd gebruik gemaakt van koperoxyduul (Koper Sandoz), 4 kg koper in 50 liter water per ha, of van koperoxychloride (Koneprox), 7 kg koper in 50 liter water per ha. Het resultaat van de verneveling was onbevredigend. Dit werd vooral toegeschreven aan het feit, dat de aantasting al vrij ver was voortgeschreden toen met de verneveling werd begonnen.

In 1951 werd een deel van het koolzaad eveneens per vliegtuig behandeld, nl. $\pm$ 60 ha met 12 kg Koneprox en $\pm$ 90 ha met Zineb (Lirotan) 8 kg per ha. De hoeveelheid van 12 kg Koneprox per ha bleek te hoog te zijn, aangezien talrijke zwarte vlekjes op de hauwen en stengels ontstonden als gevolg van kopervergiftiging. In verband met het sporadisch optreden van de spikkelziekte konden in dat jaar geen conclusies ten aanzien van de werking van Lirotan op het veld worden getrokken.

In 1952 werd op kavel S 71 een aantal banen met een vliegtuig behandeld met 12 kg Lirotan per ha, waarbij dubbel werd gevlogen, daar het vliegtuig in een keer niet voldoende vloeistof kwijt kon. Door de verneveling werd voornamelijk de bovenkant der hauwen geraakt. De verdeling van de vloeistof op de hauwen was bovendien tamelijk onregelmatig en de meeste lager geplaatste

hauwen bleken onvoldoende te zijn geraakt. Op deze kavel kwam de spikkelziekte plaatselijk duidelijk voor, doch de aantasting was te gering om verschillen te constateren tussen de behandelde en onbehandelde stroken.

In de jaren 1951 en 1952 werd in samenwerking met de Biologische afdeling de werking van een aantal fungiciden op een proefveld nagegaan. De aantasting was in 1951 op het proefveld echter zo gering, dat geen conclusies konden worden getrokken met betrekking tot een gunstige werking van één der middelen. Wel bleek verneveling van Koneprox in een hoeveelheid van 12 kg per ha nadelig te hebben gewerkt, want er ontstonden talrijke zwarte vlekjes op de hauwen en stengels als gevolg van kopervergiftiging. Naar aanleiding van de resultaten in de kas werden in 1952 op kavel E 153 op een proefveld bij de variëteit Lembke's de volgende objecten vergeleken:

1. onbehandeld.
2. 5 cc/m² 8% Lirotan + 8% Koneprox (geen uitvloeier).
3. 10 cc/m² 12% Lirotan (geen uitvloeier).
4. 10 cc/m² 8% Lirotan + 8% Aafuma + uitvloeier.
5. 10 cc/m² 12% Triscabol (geen uitvloeier).

Het proefveldschema is overzichtelijk weergegeven in fig. 25.

De veldjes waren 4 m breed en 10 m lang en van elkaar gescheiden door een pad van een halve meter breed. De achterste en voorste helft van het proefveld werd resp. twee en drie maal behandeld. De vernevelingen geschieden resp. op 5, 11 en 25 Juni. In dit verband moet worden opgemerkt, dat in 1952 in de Noord-oostpolder de eerste spikkelziekteverschijnselen in de hauwen werden waargenomen op 8 Juni. Voor het vernevelen werd een sproeiboom gebruikt met 3 verneveldoppen, met een werkbreedte van 2 meter, welke was gemonteerd op een rugpulverisator.

Op 17 Juli waren duidelijke verschillen te zien. Bij de objecten 3, 4 en 5 (2 × en 3 × behandeld) vertoonden de planten vrijwel geen aantasting; op de onbehandelde veldjes waren vooral op de stengeldelen in de top van de plant duidelijke spikkelziekteverschijnselen te zien, vooral op het voorste gedeelte van het proefveld. In fig. 26 is bij enkele willekeurig uitgekozen stengels uit de middenstroken van de veldjes het effect te zien van een 2 en 3 malige behandeling met resp. 10 cc per m² 12% Lirotan en 10 cc per m² 12% Triscabol.

Op de veldjes waar 3 × Koneprox was aangewend werd enige beschadiging door koper geconstateerd. De aantasting van de hauwen door de spikkelziekte was echter over het algemeen niet groot genoeg om een opbrengstvermindering te verwachten. Op 18 Juli werd van elk veldje een overlangse middenrij met de hand geoogst voor onderzoek op de aanwezigheid van *Alternaria*'s en andere schimmels.

Op 19 Juli werd de rest geoogst en op 24 Juli ter plaatse gedorst met een maai-dorser. Wanneer de opbrengsten van de apart geoogste middenrijen hierbij in rekening werden gebracht, waren de totale opbrengst en 1000 korrelgewichten van 3 veldjes als volgt:

	Opbrengst in kg	1000 korrel gew. in gr
<i>Achterste strook</i>		
Object 1 (onbehandeld)	42,3	5,1585
Object 2, 2 × behandeld	41,3	5,1162
Object 3, 2 × behandeld	40,5	5,0492
Object 4, 2 × behandeld	43,7	5,0865
Object 5, 2 × behandeld	43,7	5,4536
<i>Voorste strook</i>		
Object 1 (onbehandeld)	39,1	4,9607
Object 2, 3 × behandeld	41,4	5,2444
Object 3, 3 × behandeld	39,5	5,3281
Object 4, 3 × behandeld	40,1	5,3218
Object 5, 3 × behandeld	38,7	5,4995

Hoewel een meeropbrengst als gevolg van de behandelingen niet kon worden vastgesteld, leverde het zaadonderzoek interessante bijzonderheden op. Van de afzonderlijk geoogste middenstrook van elk veldje werden 300 zaden onderzocht op de aanwezigheid van *Alternaria's*, *Botrytis cinerea* en *Stemphylium spec.*, van elk object dus 900 zaden. De resultaten zijn te vinden in tabel 15.

TABEL 15. Onderzoek van zaad van het proefveld E 153 in 1952.

Examination of seeds in 1952 from the experimental field E 153.

Behandeling <i>Treatment</i>	Aantal zaden <i>Number of seeds</i>	AB	Ab	At	Botr.	St
<i>Achterste strook (Farther strip)</i>						
Object 1 onbehandeld (<i>Untreated</i>) . .	900	5	12	39	20	4
Object 2, 2 ×	900	0	3	31	24	5
Object 3, 2 ×	900	1	5	47	15	0
Object 4, 2 ×	900	1	2	25	12	8
Object 5, 2 ×	900	1	3	31	15	
<i>Voorste strook (Foremost strip)</i>						
Object 1, onbehandeld (<i>Untreated</i>) . .	900	12	15	28	31	1
Object 2, 3 ×	900	1	95	50	32	13
Object 3, 3 ×	900	0	0	38	41	4
Object 4, 3 ×	900	0	1	35	11	4
Object 5, 3 ×	900	0	3	12	0	8

AB = *Alternaria brassicae*; Ab = *A. brassicicola*; At = *A. tenuis*; Botr. = *Botrytis cinerea*; St = *Stemphylium spec.*

Uit de gegevens blijkt dat de 2-malige behandeling bij alle objecten het aantal *A. brassicae*- en *A. brassicicola*-kiemen duidelijk heeft verminderd. Bij de 3-malige behandeling blijkt bij alle objecten het aantal *A. brassicae*-kiemen duidelijk te zijn afgenomen en bij de objecten 3, 4 en 5 ook het aantal *A. brassicicola*-kiemen. Opvallend is, dat bij de 3-malige behandeling met 8% Lirotan en 8% Koneprox in een hoeveelheid van 5 cc per m², het aantal gevallen van *A. brassicicola*, vergeleken bij het onbehandelde object, belangrijk groter is. Wanneer dit cijfer reëel is, ligt het voor de hand de gevolgtrekking te maken, dat de sterkere aantasting door *A. brassicicola* een gevolg was van de koperschade welke bij dit object optrad. Het is denkbaar, dat na het afspoelen van de koperverbindingen deze schimmel zich gemakkelijker heeft kunnen vermeerderen op de

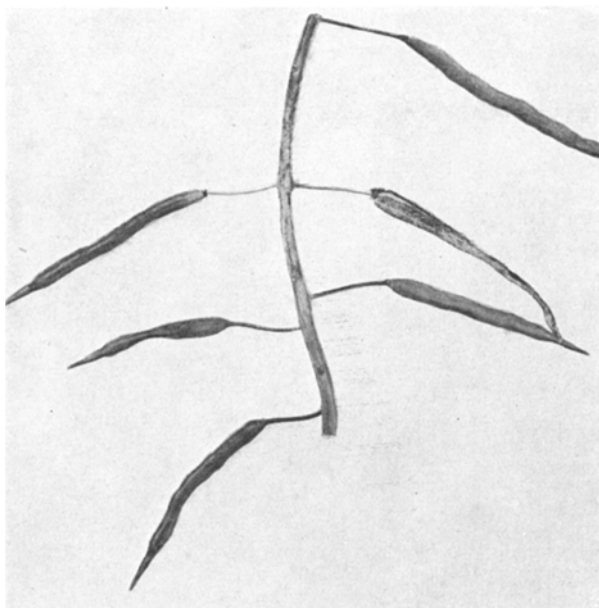


Fig. 19.

Aantasting van hauwen en stengel van koolzaad door *B. cinerea* in het veld. De infectie begon bij de middelste hauw rechts en schreed voort via de stengel in de tegenovergeplaatste hauw. Het deel van de stengel boven de aangetaste plaats was gedoemd vroegtijdig te sterven.

Attack of siliques and stalk of colza by B. cinerea in the field. The infection began in the middle siliqua on the right and spread via the stalk into the opposite siliqua. The part of the stalk above the infected point was doomed to die early.

Foto T. Hiemstra

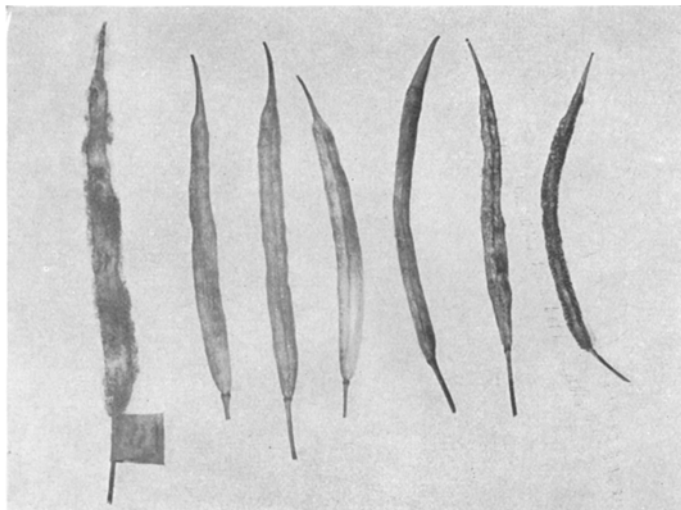


Fig. 20.

Hauwen van koolzaad aangetast door *B. cinerea*. De linker hauw werd kunstmatig geïnfecteerd. De andere hauwen werden op het veld geïnfecteerd. Bij de meeste hauwen zijn de sporen verwijderd door de wind of regen.

Siliques of colza, attacked by B. cinerea. Siliqua on the left, artificially inoculated. Other siliques infected in the field. On most siliques the spores were removed by wind or rain.

Foto T. Hiemstra

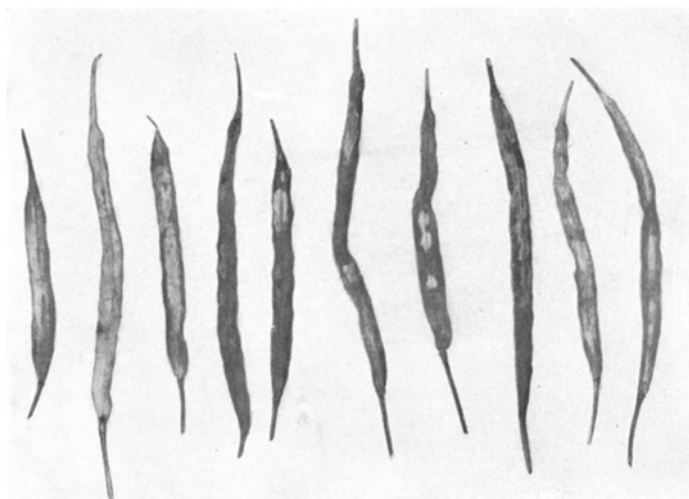


Fig. 21.

Aantasting van hauwen van koolzaad op het veld door *B. cinerea*, welke tot uiting kwam als grijswitte ingezonken plekken.

Attack of colza siliques in the field by B. cinerea, manifesting as grey-white sunk spots.

Foto T. Hiemstra

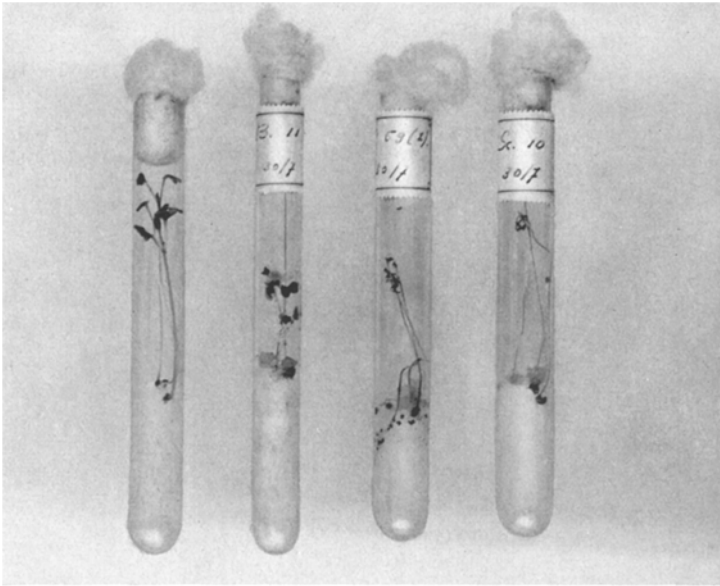


Foto T. Hiemstra

Fig. 22. Zaaillingen van koolzaad gekweekt in cultuurbuizen op vochtige watten. Linker buis: onbehandeld, 2e en 3e buis geïnoculeerd met *B. cinerea* (resp. met de isolaties B 11 en B 59); rechter buis geïnoculeerd met *Sclerotinia sclerotiorum*. Isolatie B 59 produceerde meer sclerotiën dan isolatie B 11.

Seedlings of colza, grown in tubes on moist cotton-wool. Left tube: untreated, 2nd and 3rd tube inoculated with B. cinerea (with the isolates B 11 and B 59, respectively); tube on the right: inoculated with Sclerotinia sclerotiorum. Isolate B 59 produced more sclerotia than isolate B 11.

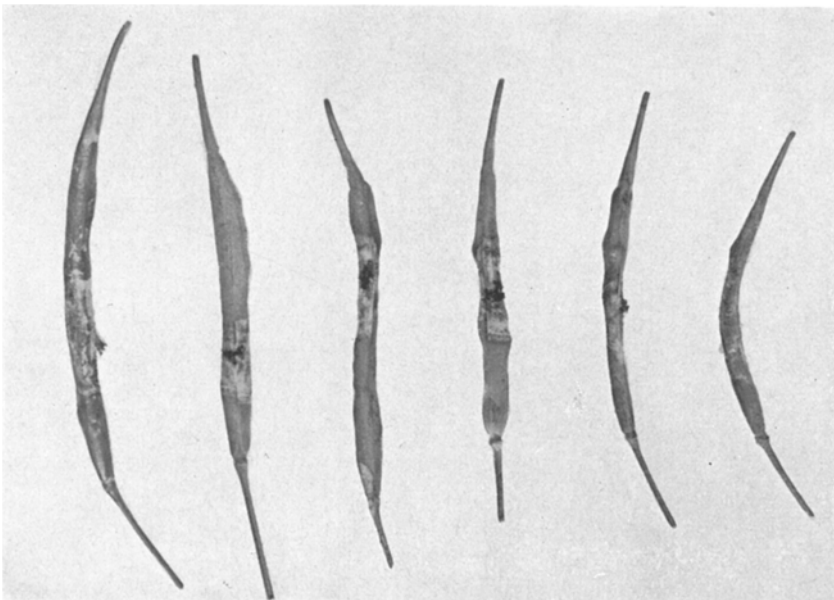


Foto T. Hiemstra

Fig. 23. Aantasting van koolzaad hauwen door *B. cinerea* (isolatie B 59), 4 dagen na de inoculatie met een klein stukje agar waarop de schimmel was gekweekt.

Attack of colza siliques by B. cinerea (isolate B. 59), 4 days after inoculation with a bit of agar upon which the fungus had been grown.

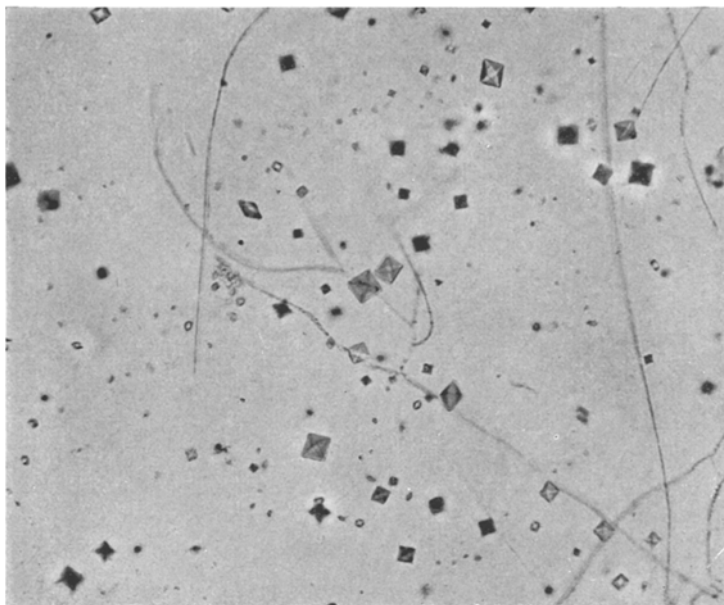


Foto: D. Otzen

Fig. 24. Kristallen van Ca-oxalaat gevormd door *B. cinerea*, welke werd gekweekt op kersenagar (Phase-contrast, 200 $\times$).

Crystals of Ca-oxalate, formed by B. cinerea grown on cherry agar (Phase-contrast, 200 $\times$).

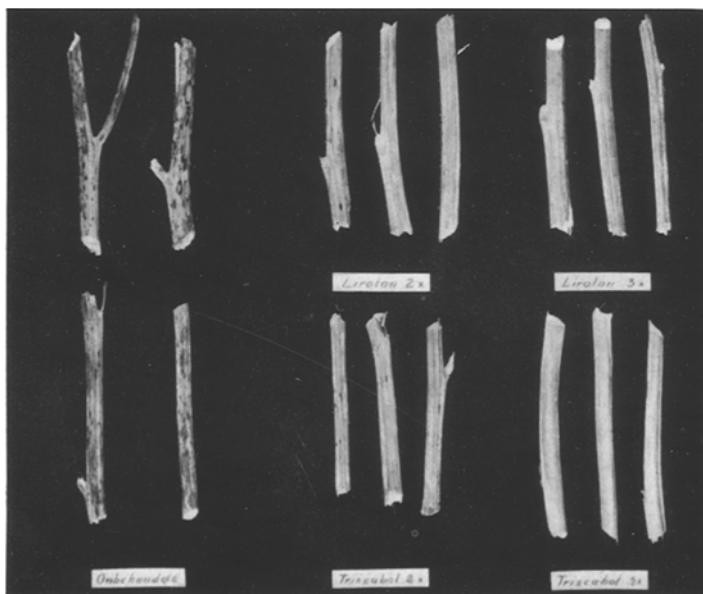


Foto T. Hiemstra

Fig. 26. Invloed van een twee- en driemaalige verneveling op het veld van 12% Lirotan en 12% Triscabol in een hoeveelheid van 10 cc per m² op de aantasting van de stengels van koolzaad door de spikkelziekte.

Influence of a two- and threefold atomizing in the field of 12% Lirotan and 12% Triscabol at the rate of 10 ml per m² on the attack of the stalks of colza by the „Dark Leaf Spot” disease.

plaatsen waar het weefsel was afgestorven of verzwakt, dan op gezonde plantendelen. In elk geval is het opmerkelijk, dat bij object 2 *A. brassicicola* blijkbaar meer weerstand heeft kunnen bieden t.o.v. de bespuitingen dan *A. brassicae*. In overeenstemming met de resultaten van de kasproeven (tabel 8) bleek deze combinatie voldoende effectief te zijn voor de bestrijding van *A. brassicae*. Het aantal kiemen van *A. tenuis* bleek door geen der behandelingen te zijn verminderd. Blijkbaar is deze *Alternaria* veel resistentier t.o.v. de gebruikte fungiciden dan *A. brassicae*. Het aantal gevallen van *B. cinerea* was bij de objecten 4 (3 × behandeld) en 5 (3 × behandeld) verminderd. Door de bespuitingen nam het aantal *Stemphylium* niet af.

Om meer zekerheid te krijgen t.a.v. de vraag of de grotere aantasting door *A. brassicicola* bij object 2 voorste strook een gevolg was van koperschade, werden nogmaals zaden van dit object en eveneens van de onbehandelde veldjes in de voorste strook onderzocht, dit maal echter 900 zaden per veldje. Het resultaat is te vinden in tabel 16.

TABEL 16. Onderzoek van zaden (3 maanden na de oogst) van het onbehandelde object 1 (voorste strook) en van het object 2 (3 maal behandeld met 5 cc/m² 8% Lirotan + 8% Koneprox), welke lagen op het proefveld E 153.

Examination of seeds (3 months after the harvest) from the untreated plots 1 and the plots 2 (treated 3 times with 5 ml/m² 8% Lirotan + 8% Koneprox), on the experimental field E 153.

Behandeling Treatment	Aantal zaden Number of seeds	AB	Ab	At	Botr.	St
Onbehandeld (Untreated)						
Veldje 1A (Plot 1A) . . .	900	10	11	8	1	5
Veldje 1B (Plot 1B) . . .	900	5	34	27	1	1
Veldje 1C (Plot 1C) . . .	900	13	6	11	1	3
Gem. (Mean)	900	9±4	17±15	15±10	1	3±2
Object 2						
Veldje 2A (Plot 2A) . . .	900	0	98	17	3	0
Veldje 2B (Plot 2B) . . .	900	0	63	22	1	15
Veldje 2C (Plot 2C) . . .	900	0	32	22	3	4
Gem. (Mean)	900	0	64±33	20±3	2±1,2	6±7,7

AB = *A. brassicae*; Ab = *A. brassicicola*; At = *A. tenuis*; Botr. = *B. cinerea*;

St = *Stemphylium spec.*

Het verschil in voorkomen van *Alternaria brassicae* in de zaden van de objecten 1 en 2 kan voor meer dan 95% toegeschreven worden aan de behandeling bij object 2. Ten aanzien van het verschil in voorkomen van *A. brassicicola* bij deze beide objecten kan worden opgemerkt, dat dit niet geheel vast staat, daar dit voor minder dan 95% mag worden toegeschreven aan de bespuitingen.

Bij vergelijking van de tabellen 15 en 16 valt het op, dat de aantallen van *B. cinerea* in tabel 16 zo veel lager zijn. Blijkbaar waren de meeste conidiën afgestorven in de periode van ± 1½ maand, welke lag tussen het zaadonderzoek vermeld in beide tabellen.

XI. BESCHOUWING DER RESULTATEN EN SAMENVATTING

Volgens de Plantenziektenkundige Dienst wordt de spikkelziekte bij koolzaad, of het zgn. „verslag” (fig. 1), veroorzaakt door *Alternaria brassicae*. NIELSEN (1933) beschouwde *Alternaria circinans* (*A. brassicicola*) als de belangrijkste *Alternaria*, welke in Denemarken stengels en hauwen van koolsoorten aantast. RAABE (1939) merkte op, dat in Duitsland slechts een klein aantal schimmels van belang is voor de aantasting van *Brassica napus* en *Brassica rapa*, nl. *Alternaria brassicae*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Plasmodiophora brassicae* en *Albugo candida*.

Uit dode donkergekleurde vlekjes, voorkomend op stengels en hauwen van spikkelzieke koolzaadplanten in de Noordoostpolder, werden in de meeste gevallen *A. brassicae* (BERK.) SACC. (fig. 2) en *Botrytis cinerea* PERS. geïsoleerd en in een veel geringer aantal gevallen *A. brassicicola* (SCHWEIN.) WILT. (fig. 10), *A. tenuis* (fig. 14) en *Stemphylium spec.*, o.a. *Stemphylium consortiale* (THÜM.) Groves et Skolko (fig. 17) (tabellen 5 en 6).

Bij het onderzoek van een groot aantal zaden van *Brassica napus* werden dezelfde schimmels aangetroffen (tabellen 1, 2, 4, 15, 16.). In sommige gevallen kwam in het zaad vrijwel evenveel *A. brassicicola* voor als *A. brassicae*, soms overtrof het aantal gevallen van *A. brassicicola* dat van *A. brassicae*. In 1950, toen de spikkelziekte in hevige mate optrad, was het zaad voor een belangrijk percentage door deze beide agressieve *Alternaria*'s geïnfecteerd (tabel 1). Men moet hierbij echter wel bedenken, dat wanneer in een zaadmonster evenveel kiemen van deze beide *Alternaria*'s voorkomen, dit niet betekent dat de aantasting door beide schimmels van dezelfde orde is geweest. Per oppervlakte eenheid van een vlek worden nl. door *A. brassicae* veel minder conidiën gevormd dan door *A. brassicicola*. De conidiën van *A. brassicae* komen in de meeste gevallen niet in kettingen voor, die van *A. brassicicola* worden in kettingen gevormd, waarbij wel 10 of meer conidiën aan elkaar zijn bevestigd. Bij het dorsen vallen deze kettingen uiteen en de afzonderlijke conidiën worden dan over de zaden verspreid. Hierdoor kan bij het zaadonderzoek de indruk worden gewekt, dat het gewas sterker was aangetast door *A. brassicicola* dan door *A. brassicae*. Mogelijk heeft NIELSEN dit niet voldoende gerealiseerd en kwam hij zodoende tot de conclusie, dat in Denemarken *A. circinans* (= *A. brassicicola*) de belangrijkste *Alternaria* is bij koolsoorten. Bovendien gebruikte hij bij het onderzoek van de zaden op schimmels (na kieming onder glazen klokken) een loupe, welke 6 × vergrootte. Bij een dergelijke vergroting is het onmogelijk conidiën van *A. brassicicola* te onderscheiden van *A. tenuis*.

Er blijken verschillende vormen van *A. brassicae* voor te komen, welke op kersenagar macroscopisch van elkaar verschillen, doordat het aantal en de ligging van de sporen sterk kan variëren (fig. 3 en 5). Ook de pathogeniteit van sommige vormen varieert, hetgeen kon worden aangetoond bij zaailingen van koolzaad, welke op vochtige watten in cultuurbuizen werden gekweekt (fig. 4). Bij de toetsing van de werkzaamheden van verschillende fungiciden werden steeds sterk pathogene stammen gebruikt. Het effect van een groot aantal fungiciden werd nagegaan t.o.v. *A. brassicae* en *A. brassicicola* (tabellen 8, 9, 10, 11, 12), waarbij zowel bladeren, zaailingen, jonge planten en hauwen met een verse geconcentreerde sporensuspensie waren geïnoculeerd. Bij de vernevelingsproeven in het laboratorium werd gebruik gemaakt van een lakverstuiver bij een luchtdruk van 3 atmosfeer.

De aantasting door *A. brassicae* of *A. brassicicola* werd duidelijk verminderd, doch niet geheel voorkomen na een verneveling van 10 cc 8% Koneprox of Cuproxol per m². Een concentratie van 12% van deze middelen veroorzaakte bij een hoeveelheid van 10 cc per m² koperschade bij hauwen en stengels, zich uitend in talrijke necrotische vlekjes (fig. 9). Een dergelijke beschadiging kan op het veld worden verwacht bij een twee of driemaalige verneveling met 8% Koneprox, Cuproxol, of Koper Sandoz in een hoeveelheid van 10 cc per m².

A. brassicae blijkt t.o.v. koperoxychloride (Koneprox) gevoeliger te zijn dan *A. brassicicola*. Ten opzichte van beide schimmels heeft Koneprox beter gewerkt dan koperoxyduul (Koper Sandoz).

Na inoculatie van de bovenzijde van cotyledonen van zaailingen of hauwen met een geconcentreerde sporensuspensie met behulp van een platte entnaald, bleken zowel *A. brassicae* als *A. brassicicola* goed te kunnen worden bestreden met zinkaethyleen-bis-dithiocarbamaten in een hoeveelheid van 10 cc per m² bij een concentratie van 12%. Bij concentraties van 8% in een hoeveelheid van 10 cc per m² bleken APhytora en Dithane Z 78 minder effectief te zijn dan vier andere Zinebverbindingen, t.w. Lirotan, Tritoforol, Triscabol en M 555, zodat kan worden verwacht, dat de beide eerste middelen op het veld waarschijnlijk minder werkzaam zullen zijn dan de vorige. Bij een kasproef werden met 8% M 555 in een hoeveelheid van 10 cc per m² reeds goede resultaten verkregen (Tabel 10). Van belang is dat Tritoforol en M 555 bij een concentratie van 12% gemakkelijker worden verneveld dan Lirotan.

Bij kiemprouwen is gebleken, dat de sporen van *A. brassicae* veel gemakkelijker ontkiemen in vochtige lucht dan die van *A. brassicicola*. Waarschijnlijk wordt hierdoor verklaard, dat uit de vlekken veel meer *A. brassicae* dan *A. brassicicola* werd geïsoleerd.

Het grote aantal conidiën dat door *A. brassicicola* wordt gevormd, brengt echter de mogelijkheid met zich mee, dat deze schimmel zich onder bepaalde omstandigheden sneller zal kunnen uitbreiden dan *A. brassicae*. Beide *Alternaria*'s kunnen bladeren, stengels en hauwen in een regenrijke periode gemakkelijk aantasten. Een langdurige vochtige periode is dan ook bevorderlijk voor de uitbreiding van de aantasting. Binnen enkele dagen ontstaan necrotische vlekjes na het binnendringen van deze schimmels. Hoewel uit de vlekken van spikkelziek materiaal veel meer *A. brassicae* werd geïsoleerd dan *A. brassicicola* en het ziektebeeld, experimenteel opgewekt door *A. brassicae* (fig. 8) het meest overeenkomt met het ziektebeeld op het veld, is het raadzaam bij de bestrijding middelen te gebruiken welke effectief zijn t.o.v. beide *Alternaria*'s.

Alternaria tenuis blijkt in een groot aantal vormen voor te komen (fig. 15). Met conidiën van deze schimmel gelukte het niet gezonde onrijpe hauwen of stengels van koolzaad aan te tasten. Wel bleken rijpe hauwen te kunnen worden aangetast bij een hoge luchtvochtigheid. Wanneer een rijp gewas te lang op het veld blijft staan in een regenrijke periode, zijn de omstandigheden derhalve gunstig voor een uitbreiding van de schimmel op de hauwen.

Stemphylium consortiale bleek in staat te zijn onder omstandigheden welke gunstig zijn voor de kieming van de sporen, oudere, nog niet geheel rijpe hauwen, aan te tasten (fig. 18).

Met sporen van *Botrytis cinerea* gelukte het niet hauwen en stengels van koolzaad aan te tasten, wanneer zij niet door de een of andere oorzaak waren verzwakt. Wel slaagde de infectie nadat de planten vooraf waren aangetast door

A. brassicae of *Stemphylium consortiale*. Hauwen welke waren aangetast door de koolzaadsnuitkever, bleken op het veld gemakkelijk te worden geïnfecteerd door *B. cinerea*. Met stukjes agar waarop *B. cinerea* was gekweekt, gelukte de infectie van hauwen van elke leeftijd bij grote luchtvochtigheid gemakkelijk zonder verwonding (fig. 23). Onder gunstige ontwikkelingsvoorwaarden breidt deze schimmel zich snel in de plant uit en kan dan via de hauw voortwoekeren in de stengel. Dit kan tot gevolg hebben, dat het gedeelte van de stengel boven deze plaats afsterft (fig. 19). Bij *B. cinerea* blijken stammen voor te komen, waarvan de pathogeniteit uiteenloopt (tabel 14).

Bij een veldproef (fig. 25) hebben Lirotan en Triscabol, verneveld in een hoeveelheid van 10 cc per m² bij een concentratie van 12%, de aantasting door *A. brassicae* en *A. brassicicola*, zowel bij een twee- als driemaalige behandeling in Juni, met een tussenpoos van $\pm$ 1 week, duidelijk verminderd (fig. 26 en tabel 15).

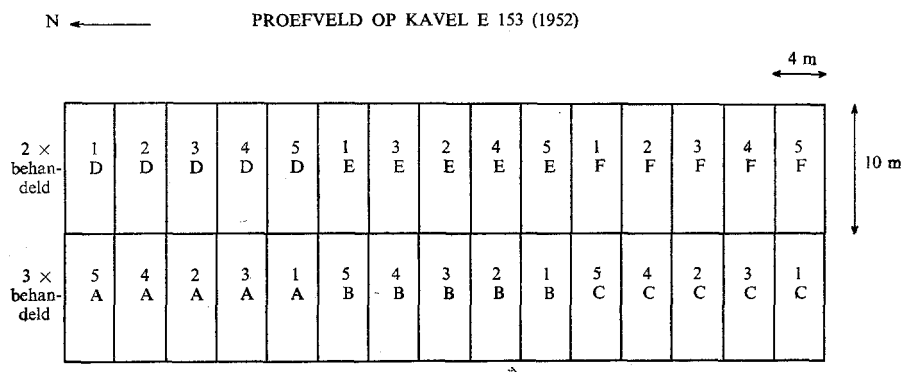


Fig. 25. Proefveld op kavel E 153 (1952). De achterste strook werd 2 × behandeld, de voorste 3 ×.

Experimental field on parcel E 153 (1952). The farther strip was treated twice and the foremost strip 3 times.

Men moet bij de proeven in de kas in het oog houden, dat de omstandigheden voor de aantasting zeer gunstig waren, doordat een geconcentreerde verse sporensuspensie werd gebruikt en de planten geruime tijd in een warme vochtige omgeving stonden. De verneveling met een lakverstuiver was buitengewoon ideaal en de plaatsen welke van sporen waren voorzien werden steeds goed geraakt. Met opzet werd de onderzijde van de cotyledonen of hauwen niet geïnoculeerd, aangezien de vernevelde vloeistof deze plaatsen onvoldoende bleek te raken. Dit is ook bij verneveling met vliegtuigen het geval. Hierbij bleken lang niet alle hauwen goed te worden geraakt, vooral wanneer deze een dichte laag vormden in een zwaar overhangend gewas. Bij een verneveling met vliegtuigen is het bovendien mogelijk, dat per oppervlakte onvoldoende vloeistof terecht komt (FLIK en KERSEN 1952). Wind en thermiek kunnen ons parten spelen, zodat de druppels van de nevel lang niet zo klein mogen zijn als bij helicopter-sputten toelaatbaar is (MAAN, 1951). Bovendien zullen de middelen op het veld in een regenrijke periode voor een belangrijk deel afspoelen. De hauwen zullen dan opnieuw aan infectiegevaar blootstaan.

XII. DISCUSSION AND SUMMARY ¹⁾

According to the Phytopathological Service, Dark Leaf Spot ²⁾ in colza (*Brassica napus*), fig. 1, which is called in Holland „Spikkelziekte” (translated in English: „Speckle disease”), or „verslag”, is caused by *Alternaria brassicae*. NIELSEN (1933) considered *Alternaria circinans* (= *A. brassicicola*) the most important *Alternaria* infecting the stalks and siliques of different kinds of cabbage in Denmark. RAABE (1939) remarked that in Germany only a small number of moulds are of importance in attacking *Brassica napus* and *Brassica rapa*, viz. *Alternaria brassicae*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Plasmodiophora brassicae* and *Albugo candida*. From dead spots present on stalks and siliques of Colza-plants with symptoms of Dark Leaf Spot in the Noordoostpolder (North-Eastern Polder), *Alternaria brassicae* (BERK.) SACC. (fig. 2), *A. brassicicola* (SCHWEIN.) WILT. (fig. 10), *A. tenuis* (fig. 14), *Stemphylium* spp., incl. *Stemphylium consortiale* (THÜM.) GROVES et SKOLKO (fig. 17), and *Botrytis cinerea* PERS. were isolated (tables 5 and 6). In most instances, however, *A. brassicae* and *B. cinerea* were isolated. The same moulds were found in the examination of a large number of seeds (tables 1, 2, 4). In some cases the seed samples contained almost as much *A. brassicicola* as *A. brassicae* and sometimes even more of the former than the latter. In 1950, when the disease was very severe, a substantial percentage of the seeds was infested by both these *Alternarias* (table 1).

When seed samples contain the same numbers of spores of both these *Alternarias*, it does not mean, however, that the attack by both organisms has been of the same order. Many fewer conidia per unit area of a spot are formed by *A. brassicae* than by *A. brassicicola*, since the conidia of *A. brassicae* are usually not formed in chains, whereas those of *A. brassicicola* are formed in chains of up to 10 or more. This implies that when conditions are specially favourable *A. brassicicola* may multiply faster than *A. brassicae*.

Several types of *A. brassicae* were isolated; they differed macroscopically on plates of cherry-agar, as the number and position of the spores varied markedly (fig. 3 and 5). It was also found that there was a variation in virulence among different strains, which could be demonstrated by inoculation of colza seedlings grown in culture tubes on moist cotton-wool (fig. 4). The most virulent strains were always used for testing the effect of different fungicides. A large number of fungicides was tested after inoculation of leaves, cotyledons of seedlings, young plants and siliques with fresh concentrated suspensions of conidia of both *A. brassicae* and *A. brassicicola* (tables 8, 9, 10, 11, 12). The suspensions were atomized in the laboratory by means of a lacquersprayer, using a pressure of 3 atmospheres.

Infection by *A. brassicae* or *A. brassicicola* was clearly diminished, but not wholly prevented, after atomizing 10 ml of 8 % Koneprox or Cuproxol per m². A concentration of 12 % of these two copper fungicides, at the rate of 10 ml/m², caused injury to stalks and siliques, consisting of large numbers of small necrotic spots (fig. 9). Such damage may be expected in the field after two or three

¹⁾ The author wishes to express his sincere thanks to Dr G. G. SAMUEL for having been so kind to correct the English of this summary.

²⁾ The name of this disease given in the List of Common Names of British Plant Diseases is Dark Leaf Spot. According to Dr SAMUEL the name „Dark Leaf and Pod Spot” would have been better.

applications of 8% Koneprox, Cuproxol, or Copper Sandoz at the rate of 10 ml/m².

A. brassicae proved to be more sensitive than *A. brassicicola* to copper oxychloride (Koneprox). Koneprox proved more effective against both fungi than cuprous oxide (Copper Sandoz).

After inoculation of the upper sides of the cotyledons of seedlings grown in glass sand under a big glass vessel, or of siliquas on plants grown in glass cases (40 × 40 × 130 cm) in a moist atmosphere, *A. brassicae*, as well as *A. brassicicola*, proved to be controlled most effectively with zinc ethylene-dithiocarbamates at the rate of 10 ml/m², using a concentration of 12%. Using a concentration of 8% at the rate of 10 ml per m², Aaphytora and Dithane Z. 78 proved to be less effective than other Zineb compounds: Lirotan, Tritoforol, Triscabol and M 555, so that it may be expected that the two first remedies will probably be less efficient in the field than the others. In an experiment in the greenhouse, good results were obtained with 8% M 555 at the rate of 10 ml per m² (table 10). It is of importance that Tritoforol and M 555 are more easily atomized than Lirotan at a concentration of 12%.

A. brassicae and *A. brassicicola* easily attack leaves, stalks and siliquas if the plants are moist for a certain period. For that reason lengthy rainy periods are conducive to increase of the disease.

Conidia of *A. brassicae* germinate more easily in humid air than conidia of *A. brassicicola*.

Necrotic spots develop a few days after infection by these fungi. For combating the disease in Holland it is therefore necessary to take account of both *Alternarias*, though the clinical picture induced by artificial infection of siliquas with *A. brassicae* agrees most closely with that of Dark Laef Spot (fig. 8).

Many types of *Alternaria tenuis* were isolated (fig. 15). Attempts to infect stalks or unripe siliquas with conidia of *A. tenuis* remained unsuccessful, unless the tissues had been weakened by some other cause. Ripe siliquas, however, could be attacked by this fungus in a moist atmosphere.

Stemphylium consortiale (Thüm.) GROVES et SKOLKO, on the other hand, proved capable of attacking older siliquas not yet fully ripe, provided conditions for germination of the spores were favourable (fig. 18).

It was found to be impossible to infect stalks and siliquas of colza with conidia of *Botrytis cinerea* when the tissues had not been weakened in some way. Infection was possible if the plants had been severely attacked beforehand by *A. brassicae* or *S. consortiale*. Siliquas which had been damaged in the field by the beetle *Ceutorhynchus assimilis* PAYK. proved to be easily attacked by *B. cinerea*. Siliquas of any age could easily be infected with a bit of agar culture of *B. cinerea* in a moist atmosphere, without wounding of the tissues (fig. 23). When conditions for development were favourable, the fungus spread rapidly and was able to grow from the silique, via the petiole, into the stalk; in this way the part of the stalk above this point was sometimes killed (fig. 19). Some variation in virulence was found among different isolates of *B. cinerea* (table 14).

In a field experiment in 1952 the following treatments were compared in the North-Easternpolder (fig. 25).

1. Untreated.
2. 5 ml/m² 8% Lirotan + 8% Koneprox (no spreader).
3. 10 ml/m² 12% Lirotan (no spreader).
4. 10 ml/m² 8% Lirotan + 8% Aafuma + spreader.
5. 10 ml/m² 12% Triscabol (no spreader).

The sprayings were done on June 5, 11 and 25. The farther strip of the experimental field was treated twice and the foremost strip 3 times. Though the attack of Dark Leaf Spot was not severe enough to influence the yield of seed, there was a marked difference in the appearance of the untreated and treated plants, especially in treatments 1, 3, 4 and 5 (fig. 26). The examination of large numbers of seeds from the central row of each plot (by plating on cherry-agar) showed that the numbers of seeds infected with *A. brassicae* and *A. brassicicola* had diminished markedly as a result of the treatments (table 15). It is of interest that the threefold treatment with 5 ml/m² 8% Lirotan + 8% Koneprox had clearly diminished the number of seeds infected with *A. brassicae* but not the number infected with *A. brassicicola*, showing that the former *Alternaria* is more sensitive to this treatment than the latter (tables 15 and 16). The stalks and siliques of the plants on this plot, moreover, showed slight symptoms of damage by copper.

When the spraying is done from aeroplanes, it is difficult to obtain adequate coverage of the siliques, particularly when they form a thick layer in a heavy crop. It is probable that an insufficient amount of the spray per unit area then comes in contact with the plants (FLIK and KERSEN, 1952). Wind and rising air currents may also play tricks and the size of the spray droplets may not be so small as in the case of spraying from helicopters (MAAN, 1951).

XIII LITERATUUR

- ATKINSON, R. G. – 1950. Studies on the parasitism and variation of *Alternaria raphani*. Can. J. Res. C, 28, 3: 288–317.
- BOLLE, P. C. – 1924. Die durch Schwärzepilze (*Phaeodictyae*) erzeugten Pflanzenkrankheiten. Phytop. Lab. Willie Commelin Scholten, Baarn 7: 1–77.
- DORAN, W. L. – 1923. Toxicity studies with some copper fungicides. Phytopathology 13: 532–542.
- FAJARDO, T. G. and PALO, M. A. – 1934. A serious leaf spot of chinese celery cabbage, Wongbok, and other cruciferous plants in Trinidad Valley, Mountain province, Luzon. Philipp. J. Agr. 5: 143–153.
- FATTINGER, D. – 1950. Die Beeinflussung der fungiziden Wirksamkeit des Kupferions durch andere Ionen. Pflanzenschutzber., 4: 33–46.
- FLIK, H. M. en KERSEN, M. C. – 1952. Beknopt verslag van een proef ter bestrijding van de aardappelziekte met behulp van vernevelmachine en vliegtuig. Maandbl. v.d. Landb. voorl. Dienst 9, 5: 177–183.
- GROVES, J. W. and SKOLKO, A. J. – 1944. Notes on seed-borne fungi II *Alternaria*. Can. J. Res. C, 22: 217–234.
- MAAN, W. J. – 1951. Plantenziektenbestrijding met behulp van vliegtuigen. Maandbl. v. d. Landb. voorl. dienst 8, 3: 104–112.
- MC LEOD, D. J. – 1928. Report of the Dominion Laboratory of Plant Pathology. Fredericton N.B. Report Dominion Botanist, 1927, Div. of Bot., Canada. Dept. Agr.: 208–218.
- MC LEOD, D. J. – 1929. idem: Rep. Dom. Bot. 1928, Div. of Bot. Canada, Dept. Agr.: 186–199.
- MC LEOD, D. J. – 1930. Potato spraying and dusting experiments in New Brunswick 1924–1930. Proc. 17 th Ann. Meeting Potato Ass. America: 28–36.
- MILBRAITH, D. G. – 1922. *Alternaria* from California, Bot. Gaz., 74: 320: 324.

- NEERGAARD, P. – 1945. Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium*. Einau Munksgaard, Publ. Copenhagen, Mumphy Millford, Oxford Univ. Press, London, 1–560.
- NIELSEN, O. – 1933. Forsøg med Bekaempelse af Skulpesvamp. Tidsskr. Planteavl. 39: 437–452.
- PAPE, H. – 1940. Untersuchungen über die Rapschwärze (*Alternaria brassicae*). Mitt. Biol. Reichsanst. Land- u. Forstwirtsch., 2e Aufl. v. Heft 53: 80.
- RAABE, A. – 1939. Untersuchungen über pilzparasitäre Krankheiten von Raps und Rübsen. Zbl. Bakt. II, 100: 35–52.
- RANGEL, J. F. – 1945. Two *Alternaria* diseases of cruciferous plants. Phytopathology, 35: 1002–1007.
- RITZEMA BOS, J. – 1923. Ziekten en beschadigingen der landbouwgewassen. 5: 1–262.
- WEIMER, J. L. – 1926. A leaf spot of cruciferous plants caused by *Alternaria herculea*. J. Agr. Res., 33, 7: 645–650.
- WILTSHIRE, S. P. – 1933. The foundation species of *Alternaria* and *Macrosporium*. Trans. Brit. Myc. Soc., 18: 135–160.
- WILTSHIRE, S. P. – 1947. Species of *Alternaria* on Brassicae. Imp. Mycol. Inst. Kew, Mycol. Pap. 20: 1–15.
- YOUNG, P. A. – 1926. Facultative parasitism and host ranges of fungi. Am. J. Bot., 13: 502–520.

RECTIFICATION

Article by Miss BARBARA M. STOKES: *The host plant range of the Swede midge with special reference to types of plant damage* (see p. 82)

Fig. 2 opposite p. 84; read:

- a. Interior (binnenaanzicht)
- b. Exterior (buitenaanzicht)