

ACHTERGROND VAN HET ONDERZOEK NAAR SCHADE BIJ TARWE

F. Verberne

A. Wesselo

VOORWOORD

Dit lijvige verslag is het resultaat van een half jaar onderzoek met zijn tweeën; voor de een was dit als zesmaands doktoraalvak voor theoretische teeltkunde, voor de ander een combinatie van drie maanden entomologie en drie maanden theoretische teeltkunde. Voor de begeleiding waren vanuit de vakgroep theoretische teeltkunde Rudy Rabbinge, vanuit entomologie dhr. Ankersmit, verantwoordelijk.

Het is geen kort en bondig verslag geworden. We hebben het bewust vrij uitgebreid gemaakt, om naast de resultaten van de proeven een beeld te krijgen wat we tijdens het onderzoek geleerd hebben, wat heel wat is omdat het voor ons allebei ons eerste doktoraalvak was.

Een aantal mensen willen we bedanken voor de steentjes en stenen die ze bijgedragen hebben aan ons onderzoek: de mensen van theoretische teeltkunde en het CABO die we regelmatig met vragen lastig konden vallen; Jelle Akkersdijk die onmisbaar was bij de fotosynthese-apparatuur; Herman Dijkman die ons regelmatig van luizen voorzag; dhr. Mantel die een deel van de planten heeft opgekweekt en ons geholpen heeft bij de 'luizenproef'; dhr. Fokkema die ons behulpzaam is geweest bij de fyllosfeerbepalingen en voor de gistenkweek heeft gezorgd.

Frans Verberne
Annemieke Wesselo
september '79

3.4.6. Bepaling van de saprofytische bladmycoflora	52
3.5. Meetapparatuur	53
3.5.1. Reflektie- en transmissiemetingen	53
3.5.2. Fotosynthesemeetkamers	53
3.5.3. De diffusieporometer	59
4. <u>Verwerking van de gegevens</u>	60
4.1. Verwerking van de fotosynthesekurves	60
4.1.1. Inleiding	60
4.1.2. Afkortingenlijstje	61
4.2. Berekeningen; gemiddeldes, standaardafwijkingen en toetsen	71
5. <u>Effekt van honingdauw op de fotosynthese</u>	72
5.1. Inleiding	72
5.2. Materiaal en methode	73
5.3. Verwerking van de resultaten	75
5.4. Resultaten, fotosynthese	76
5.5. Resultaten, weerstanden voor CO ₂ -transport	81
5.6. Diskussie	82
6. <u>Indirekt effekt van de honingdauw; verouderingsproef</u>	84
6.1. Inleiding	84
6.2. Stadium	85
6.3. Bestudering bladoppervlak	85
6.4. Fyllosfeerbepalingen	91
6.5. Fotosynthesemetingen	92
6.6. Reflektie- en transmissiemetingen	93
6.7. Opbrengstmetingen	99
6.8. Scanningfoto's	100
6.9. Diskussie	105
7. <u>Effekt van de gisten</u>	107
7.1. Inleiding	107
7.2. Respiratie van de gistcellen	107
7.3. Fotosynthese van vlagbladeren met gisten en/of voedingsoplossing	110
7.4. Fotosynthesemetingen van vlagbladeren met honingdauw en gisten	113
7.5. Diskussie	114

8. <u>Effekt van de luizen</u>	116
8.1. Inleiding	116
8.2. Materiaal en methode	116
8.3. Fotosynthesemetingen	116
8.4. Populatie-ontwikkeling van de luizen	118
8.5. Bepaling van de honingdauwproduktie	121
8.6. Diskussie	125
9. <u>Modellen</u>	126
9.1. Inleiding	126
9.2. Bewerking van het gewasgroeimodel	126
9.3. Bespreking van het model	127
9.4. Inbouwen van het effect van bladluizen op de plant	130
10. Eindkonklusie en verder onderzoek	138
10.1 Konklusies	138
10.2 Verder onderzoek	139
<u>Literatuurlijst</u>	142

Samenvatting.

Tot voor kort meende men dat de opbrengstderving door luizen in granen het gevolg was van het wegzuigen van assimilaten, welke dan niet meer beschikbaar komen voor de korrelvulling. Toen een fungicide de totale schade van luizen tot de helft kon reduceren, moest men ook naar andere verklaringen gaan zoeken. Bovendien bleek uit berekeningen aan de energiebalans (van *Sitobion avenae*), dat dit zuigen slechts voor ongeveer 50% verantwoordelijk kan zijn. Andere effecten spelen dus een rol.

Het leek dat de door luizen uitgescheiden honingdauw de andere helft van de schade veroorzaakte. Daarom hebben wij vooral de effecten van de honingdauw op de plant bekeken. Zowel het direkte effect door beïnvloeding van de fotosynthese, als het indirekte effect door stimulering van de veroudering. Tevens hebben we bekeken of er stimulering van gisten en schimmels door honingdauw plaatsvond en of deze gisten effect hadden op de fotosynthese. Ook trachtten we 'n idee te krijgen van de direkte effecten van de luizen op de fotosynthese. Bovendien is gekeken of de honingdauw op het vlagblad een opbrengstderving geeft.

Eerst bespreken we de theorie achter het geheel, m.b.v. een korte literatuurstudie. Dan volgt een uitgebreide beschrijving van de opzet en uitvoering van de proeven. En de volgende conclusies volgen uit het onderzoek:

Onder enig voorbehoud kunnen we konkluderen dat honingdauw de fotosynthese van het vlagblad negatief beïnvloedt. Het werkingsmechanisme van dit verschijnsel is waarschijnlijk te verklaren, doordat de honingdauwlaag de huidmondjes overdekt en daardoor de bewegingen van de huidmondjes remt en de gaswisseling beperkt.

Naast het direkte effect op de fotosynthese kan honingdauw de veroudering stimuleren.

Gisten blijken de fotosynthese negatief te beïnvloeden, terwijl de luizen zelf een stimulerende werking hierop hebben.

Een opbrengstderving door behandeling van vlagbladeren met honingdauw wordt gevonden en is te wijten aan een vermindering van het aantal korrels per aar.

Verder is er een poging gedaan om aan te geven hoe de resultaten ingepast moeten worden in een gewasgroei-luis-model.

Summary.

Until a short time ago the loss in yield caused by aphids in grains, was supposed to be the result of the uptake of assimilates, which then aren't available anymore for the filling of the grains. When a fungicide was able to reduce the total damage caused by aphids, one also had to look for other explanations. Moreover it appeared from calculation of the energy budget (of *Sitobion avenae*), that this uptaking can only be responsible for 50% of the damage. So there are other factors playing part in it.

The honeydew excreted by the aphids seemed to cause the other half of the damage. That's why we especially studied the effects of the honeydew on the plant. As well as the direct effect by influencing the fotosynthesis as the indirect effect by stimulating the senescence. At the same time we looked if there has taken place a stimulation of the yeasts and fungi by the honeydew and whether this yeasts have an effect on the fotosynthesis or not. Also we tried to get an idea of the direct effects of aphids on the fotosynthesis. Besides there was looked if the honeydew on the flagleaf gives a reduction in yield.

At first we discuss the theory behind the matter with the help of some literature study. Then follows a comprehensive description of the plans and the execution of the experiments. And the next conclusions follow from this research:

Under some reservations we are able to conclude that the honeydew influences the fotosynthesis of the flagleaf negatively. The working mechanism of this phenomenon is probably to explain as follows: the honeydewlayer covers over the stomata and in that way brakes the movements of the stomata and limits the gasexchange.

Besides the direct effect on the fotosynthesis, the honeydew is able to stimulate the senescence.

Yeasts appear to influence the fotosynthesis negatively while the aphids themselves have a stimulating activity on this.

Alost in yield as a result of a treatment of the flagleaves with honeydew is found and is owed to a reduction of the number of kernels per ear.

An attempt has been made to show in what way the results have to be fit in a cropgrowth-aphid-model.

1. Verantwoording.

1.1. ACHTERGROND VAN HET ONDERZOEK NAAR SCHADE BIJ TARWE.

Tarwe heeft als voedselbron een zeer belangrijke positie in grote delen van Amerika, Europa en Azië, het is qua areaal het grootste voedselgewas. De opbrengsten hangen erg af van de streek, maar als theoretische maximale opbrengst van wintergraan geldt: ± 11.000 kg/ha (van Heemst e.a. 1978). In Nederland zijn opbrengsten van 6700 kg/ha (met uitschieters naar 8000, 9000 en zelfs 10.000 kg) normaal, wat waarschijnlijk het gevolg is van verbeterde cultuurmaatregelen. Een optimale structuur, waterhuishouding en bemesting zijn op andere plaatsen nog te vaak beperkende factoren. Die hoge opbrengsten worden bereikt ondanks een vaak optredende oogstderving door verschillende schadelijke organismen. Door roest en afrijpingsziekten gaat in de praktijk al zo'n 2900 kg/ha verloren (van Heemst e.a. 1978). Andere schimmels en gisten kunnen ook schadeverwekkers zijn, maar de veroorzaakte schade is dan moeilijker te kwantificeren. Van de insecten is de bladluis hier de meest opvallende en de meest schadelijke.

Schade door luizen.

De toename van aantallen graanluizen in tarwe gedurende de laatste decennia is een belangrijk probleem. Vooral de soms explosieve toename van deze luizen in de laatste jaren leidde overal in de wereld tot een groeiende belangstelling voor dit probleem. Vereijken toonde aan dat een extra N-gift de vermeerderingsfaktor van de luis (*Sitobion avenae*) door limitering van de vleugelvorming en daardoor de emigratie van alaten beïnvloedt, hetgeen mogelijk een verklaring van de genoemde aantallentoename kan zijn. Een relatie tussen N-gift en schade door luizen kon hij echter niet aantonen. (Vereijken 1979).

Sitobion avenae is in West-Europa over het algemeen in de grootste aantallen aanwezig. Meestal alleen na de bloei, wanneer 90% van de droge stof van het graan gevormd wordt. Vereijken liet wel zien dat *Sitobion avenae* door zijn voorkeur voor de aar de meest gevaarlijke kan zijn. Meer dan de andere twee in tarwe voorkomende graanluizen: *Metopolophium dirhodum* en *Rhopalosiphum padi*. Dit jaar (1979) kwam *Metopolophium* in zeer grote aantallen voor en hieruit blijkt dat de laatste twee

bladluizen niet als ongevaarlijk beschouwd mogen worden.

De bestrijding van deze bladluizen vindt de laatste jaren steeds meer preventief plaats. Voor telers van tarwe is het economisch gezien gunstig om door het toevoegen van insekticide de luizen te bestrijden tegelijk met de bestrijding van de afrijpingsziekten. De bladluizen zijn dan wel aanwezig, maar van enige aantasting is nog geen sprake. In het verleden is gebleken dat zulke onnodige preventieve bestrijdingen vaak problemen geven. De kans op herinfectie (deze kans is door het doden van de natuurlijke vijanden zelfs groter geworden), het gevaar voor resistentie en het feit dat de middelen tegen de afrijpingsziekten ook de luizenschade beperken, pleiten zowel uit milieu oogpunt als gezien vanuit de economische positie van de teler voor een alternatief voor het preventief of volgens een vast schema spuiten.

Op welke wijze men deze problemen wil oplossen hangt af van politieke keuzes. De hoogte van de schadedrempels hangt indirect af van de totale opbrengst die men wil halen, van de grootte van het areaal waarop men deze wil verkrijgen en van de schade van het milieu, die men acceptabel vindt. Wanneer bestrijden nu noodzakelijk blijkt, zou men moeten zoeken naar de minst schadelijke methode.

Geïntegreerde bestrijding.

Het gewas is met haar ziekten en plagen, antagonisten, parasieten en predatoren een dynamische systeem. De regulatie van dit systeem moet van binnenuit komen, van de plant zelf of van antagonisten e.d. Naast deze regulatie van binnenuit is in de geïntegreerde bestrijding plaats voor cultuurmaatregelen, raskeuze, zaaidatum, gewaswisseling, bodembewerking enz.

Een goede ziekten en plagen controle vereist juist gedefiniëerde schadedrempels en veel kennis omtrent de consequenties van ingrijpen in 'n systeem bijvoorbeeld door chemische en biologische bestrijding. EPIPRE (EPIdemics PREvention) is een project dat het controlesysteem van ziekten en plagen in wintertarwe in Nederland begeleidt. Het doel van dit project is enerzijds het gebruik van pesticiden te reduceren, maar vooral voor de teler de kosten (voordeelratio) van de tarweproductie in het algemeen en het pesticiden gebruik in het bijzonder te verlagen. Het was mogelijk om de kennis van ziekten en plagen te integreren in computerprogramma's, die m.b.v. weergegevens en de gegevens van de teler over het gewas (ontwikkelingssta-

dium, N-toestand enz.) en z'n aantasting, kunnen komen tot een bestrijdingsadvies. Een reductie van het aantal bespuitingen is een eerste resultaat, maar misschien nog belangrijker is de toenemende belangstelling van de telers.

Fundamenteel onderzoek.

Wil men wat betreft de graanluizen tot een goed betrouwbaar waarschuwingssysteem komen dan vereist dit ten eerste het kunnen voorspellen van de populatie-ontwikkeling van de luizen; de luis in relatie tot z'n dichtheid, de waardplant, de natuurlijke vijanden, de temperatuur, luchtvochtigheid, wind, regen, cultuurmaatregelen enz. en ten tweede de relatie tussen populatie-ontwikkeling en opbrengstderving. Deze fundamentele kennis was niet aanwezig, maar wel noodzakelijk.

In 1973 startte dan ook een onderzoeksproject naar defysiologische en ecologische definiëring van het begrip schade door luizen in granen. Op de Landbouwhogeschool te Wageningen kwam men mede met behulp van gedetailleerde waarnemingen in 1975, '76 en '77 tot een simulatiemodel (G.Pak). Dit programma voorspelde redelijk goed de populatie-ontwikkeling van de luis en het opbrengstverlies, maar er waren meer data nodig omtrent migratie van alaten e.d..

Vereijken(I.P.O.) leverde een belangrijke bijdrage aan de fundamentele kennis van de graanluizen in het algemeen en *S.avenae* in het bijzonder. Tot voor kort dacht men dat het opbrengstverlies door luizen het gevolg was van het wegzuigen van fotosyntheseproducten, welke dan niet meer beschikbaar komen voor de korrelvulling. Vereijken toonde aan dat een fungicide de schade door luizen beperkt tot 50%. De schade door schimmels op honingdauw zou dan ongeveer gelijk zijn aan de zuigschade. Dit had hij ook al berekend op grond van de energiebalans van de luis (Vereijken 1979).

Andere effecten dan zuigschade zijn kennelijk ook van belang en de grootste boosdoener lijkt de honingdauw te zijn. Deze honingdauw zou een direkt effect kunnen hebben op de groei van de plant. Het is echter ook mogelijk dat de honingdauw schade veroorzaakt door stimulering van schadelijke schimmels en gisten. Of juist de antagonisten van pathogenen stimuleert. Fungicide bespuitingen kunnen dan de antagonistenpopulatie doen wegvallen en die daarmee de groei van schadelijke pathogenen niet meer tegenhouden.

1.2. PROBLEEMSTELLING VAN DIT SPECIFIEKE ONDERZOEK.

Men komt op deze wijze op de volgende problemen die onderzocht moeten worden:

1. Heeft honingdauw zelf effect op de plant?

In dit effect moeten twee aspecten onderscheiden worden.

Ten eerste kan men aan een onmiddellijk optredend effect op de fotosynthese van het blad denken. Hypothesen t.a.v. het werkingsmechanisme van een dergelijk effect zouden kunnen zijn:

- de honingdauw reflekteert of absorbeert licht, zodat minder licht het blad bereikt.
- de honingdauw vermindert de gaswisseling door afdekking van de huidmondjes.
- de honingdauw vertraagt de bewegingen van de sluitcellen, zodat deze moeilijker opengaan en de gaswisseling wordt beperkt.
- de honingdauw beschadigt cellen van het blad, bijvoorbeeld doordat door de hoge osmotische waarde ervan plasmolyse optreedt.

Het tweede aspect van een schadelijke werking van honingdauw zou kunnen zijn een indirekt effect door versnellen van de veroudering.

2. Stimuleert een extra voedingsbron op het bladoppervlak als honingdauw de schimmel- en gistflora en beïnvloedt deze mycoflora het blad?

Hier valt eveneens zowel aan een direkt effect op de fotosynthese als aan een indirekt effect op de veroudering te denken.

3. Hebben luizen nog eventuele andere effecten dan het wegzuigen van assimilaten?

Te denken valt aan injectie van giftige saliva, effect op de fotosynthese.

4. Wat is de konsekwentie voor de opbrengst van al deze mogelijke effecten?

Uit deze zeer uitgebreide probleemstelling hebben wij een deel gekozen om te onderzoeken. In eerste instantie hebben we ons vooral ophet effect van de honingdauw zelf gericht. Daarnaast zijn enkele proeven gedaan om enige indruk te krijgen van wat mycoflora en luizen mogelijk voor effecten zouden kunnen hebben. De proeven die uit deze probleemstelling volgen, worden beschreven in hoofdstuk 3.1.

2. Inleiding.

2.1. PRODUKTIE VAN TARWE

Het meest belangrijke proces voor de groei en produktie is de fotosynthese; verder is de respiratie en de verdeling van stof tussen verschillende organen van belang, en beïnvloedt het ontwikkelingsstadium deze dingen. Het grootste deel van de fotosynthese vindt plaats in het blad, vooral het vlagblad, maar de hele tarweplant is groen en zo leveren ook aren, bladscheden en stengel een bijdrage (Marshall 1978). De opbrengst is afhankelijk van voor de teler regelbare factoren als grondstructuur en voldoende waternutvoering en daarnaast van de factoren die het fotosyntheseproces beïnvloeden zoals straling, CO_2 -konsentrasië en temperatuur. We beschouwen voor de nederlandse situatie de eerste groep als niet beperkend en houden ons verder bezig met straling, temperatuur en CO_2 -konsentrasië.

De belangrijkste faktor is de hoeveelheid opgevangen straling: bij toenemende straling neemt de fotosynthese toe tot een bepaald maximum. In de fotosynthese-lichtgrafiek geeft de helling bij lage lichtintensiteit de efficiëncy, d.w.z. de efficiëntie waarmee lichtkwanten voor de fotosynthese worden gebruikt. Het nivo van het maximum is afhankelijk van de bladstructuur, de chloroplastverdeling, en de hoeveelheid aanwezige enzymen; deze eigenschappen worden beïnvloed door stikstofgehalte, groeiomstandigheden en leeftijd van de plant (van Keulen 1976). Bij het ouder worden van de plant neemt de maximum fotosynthese geleidelijk af (bij jong blad $3-3\frac{1}{2} \text{ gram CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$) en vindt lichtverzadiging al bij lagere lichtintensiteit plaats (bij jonge bladen bij ong. $200 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$); oorzaak hiervan is een toenemen van zowel de weerstand in de substomatale holte als die in het mesofyl voor CO_2 transport. In een later stadium neemt ook de efficiëncy af (bij jong blad rond de $10 \mu\text{g CO}_2 \cdot \text{J}^{-1}$), door afname van het chlorofylgehalte (Marshall 1978).

Op verschillende manieren heeft men geprobeerd deze lichtcurve in een funktie te beschrijven. De eerste poging in die richting deed Blackman: hij stelde dat de fotosynthese lineair met de lichtintensiteit verloopt, totdat een andere faktor beperkend wordt (Blackman 1905). Rabinowitch meende dat op grond van de biochemische reakties in de chloroplast (de Michaelis-Men-

ten vergelijking voor enzym-substraat reacties) deze funktie een rechthoekige hyperbool moest zijn (Rabinowitch 1951). Ook door de Wit in zijn model voor fotosynthese van een gewas (de Wit 1965) wordt een dergelijke funktie gebruikt; deze ziet er als volgt uit:

$$P = P_{\max} \times I \times \alpha / (I \times \alpha + P_{\max})$$

P = brutofotosynthese
I = lichtintensiteit
 α = efficiency
 $P_{\max}$ = maximale fotosynthese

Deze funktie blijkt echter efficiency, respiratie en maximum te overschatten, terwijl de fotosynthese op het gebied van afbuiging naar het maximum onderschat wordt. Daarom is daarna vaak de empirisch gevonden exponentiële funktie gebruikt:

$$P = P_{\max} \times (1 - e^{-I \times P_{\max} / \alpha})$$

(Peat, 1970 ; Goudriaan en van Laar, 1978)

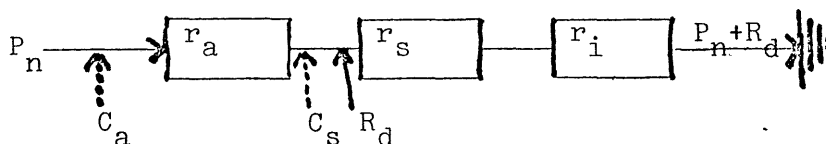
Deze funktie blijkt redelijk goed met gevonden waarden te kloppen, maar heeft als nadeel dat hij niet berust op processen in de plant, zodat begrip van deze processen er weinig mee vergroot wordt. Een goede funktie die wel op deze processen berust geeft Marshall (Marshall, 1978), waarbij hij naast de 2 al genoemde parameters efficiency en maximum, een derde parameter θ invoert, die het gedrag van de funktie in het buigingsgebied aangeeft: door θ tussen 0 en 1 te laten variëren, schuift de funktie van rechthoekige hyperbool naar Blackmancurve. Deze θ wordt nauwelijks door de leeftijd van de plant beïnvloed. (Marshall 1978).

De tweede faktor die de fotosynthesesnelheid beïnvloedt is de temperatuur; de meeste C_3 planten zijn relatief ongevoelig voor de temperatuur als deze tussen 10 en 30 graden ligt. Hogere temperaturen veroorzaken inaktivatie van de enzymen, lagere verminderen de CO_2 diffusie door intracellulaire vloeistof en celwanden.

De derde fotosynthese beïnvloedende faktor is de CO_2 -konsentratie, een hogere konsentratie kan het maximum fotosynthesenivo verhogen. De kleine dagelijkse variaties in CO_2 -konsentratie van de atmosfeer veroorzaken geen meetbare verschillen in fotosynthese.

Een belangrijke regulerende taak in het fotosynthese-proces hebben de huidmondjes. Bij tarwe zitten er ongeveer 3300 per cm^2 aan de bovenkant van het blad, ongeveer 1400 per cm^2 aan de onderkant (diktaat plantenfysiologie LH). Deze huidmondjes bestaan uit twee haltervormige epidermiscellen (bij Gramineae, elders niervormig), de sluitcellen, en twee vergrootte epidermiscellen, de buurcellen. Door vergroting of verkleining en de daardoor veranderde vorm van de sluitcellen kunnen de huidmondjes openen en sluiten, en daarmee de weerstand van gasuitwisseling regelen. Door verschillende terugkoppelingsmechanismen wordt de openingstoestand van de stomata voortdurend aangepast om het op dat moment beste evenwicht te vinden tussen de neiging om te openen en de CO_2 opname te verhogen en de neiging om te sluiten om de transpiratie te beperken.

De diffusieweg van water gaat via de stomata en de grenslaag van het blad, terwijl het koolzuurgas behalve deze 'weerstand' ook door het mesofyl moet diffunderen. Hierdoor heeft het gedeeltelijk sluiten van de stomata meer effect op de transpiratie dan op de CO_2 uitwisseling, zodat de fotosynthese ten opzichte van de transpiratie efficiënter wordt. Ter verduidelijking kan deze diffusieweg voor CO_2 transport in een schema worden weergegeven (Marshall 1978):



Hierin is P_n = netto fotosynthese ; R_d = respiratie

C_a = atmosferische CO_2 -kons. ; C_s = substomatale CO_2 -kons.

r_a = grenslaagweerstand ; r_s = stomatale w. ; r_i = inwendige w.

Het eerste deel van deze weg, de r_a en r_s , wordt ook door het water doorlopen.

De regulatie van de huidmondjesopeningstoestand blijkt te verlopen via het zoveel mogelijk konstant houden van de CO_2 konsentratie in de substomatale holte, zo konkludeert Marshall uit het feit dat de netto fotosynthese van individuele bladeren, uitgezet tegen de geleidbaarheid van stomata + grenslaag, een lineair verband door de oorsprong geeft. Deze CO_2 konsentratie is ongeveer de helft van die in de atmosfeer (Marshall 1978, Raschke 1975)

Dit konstant houden van de substomatale CO_2 konsentratie is een belangrijke faktor in de bovengenoemde terugkoppelingsme-

chanismen. Wanneer de fotosynthese groter wordt, zal de CO_2 concentratie verlaagd worden, en als reactie hierop gaan de huidmondjes open; op deze wijze veroorzaken zowel een hogere atmosferische CO_2 concentratie als een toename van licht via verhoging van de fotosynthesesnelheid een openen van de stomata.

In de sluitcellen moet dus een sensor voor CO_2 aanwezig zijn. De stomata vertonen nauwelijks directe reactie op licht, de kleine reactie die er is wordt veroorzaakt door de fotosynthetische activiteit van de sluitcellen zelf. Wel is licht in dit systeem nog van belang als energieleveraar voor het openingsmechanisme; deze energie komt waarschijnlijk uit een intermediaire stap van de fotosynthetische fosforilatie (Raschke 1966, Raschke 1975).

Een tweede terugkoppelingsmechanisme verloopt via de watertoeestand van de plant. Wanneer de waterpotentiaal een bepaalde waarde overschrijdt, sluiten de huidmondjes vrij snel. In deze reactie blijkt ABA een rol te spelen; toedienen van deze stof induceert sluiten van de huidmondjes en verhoogt de efficiëntie van watergebruik (Jones en Mansfield 1972, Mizrahi et al. 1974). Deze stof wordt in het mesofyl gevormd, en bereikt via de transpiratiestroom de huidmondjes; verondersteld wordt dat dit de actieve K-ionen opname door de sluitcellen remt of de afgifte stimuleert. Verschillende onderzoekers vonden een toename van de K-ionen concentratie in de sluitcellen tijdens het openen van de stomata en een afname tijdens het sluiten (Raschke en Fellows 1971, Pallaghy 1971); bij *Zea mays* bleken de buurcellen als reservoir van K^+ dienst te doen. Raschke (1975) veronderstelt dat bij het openen van de huidmondjes H^+ ionen actief uit de sluitcellen gepompt worden hetgeen door abscissinezuur gestimuleerd wordt; om deze lading in de cel te compenseren gaan andere positieve ionen, vooral K^+ , passief naar binnen. Mogelijk is er ook een actieve K^+ pomp. De bron voor H^+ zou de afbraak van zetmeel tot malaat kunnen zijn. Na uitpompen van H^+ kunnen de overblijvende anionen voor evenwicht met K^+ in de vacuole zorgen. Argumenten voor deze gedachtegang zijn dat zetmeel verdwijnt tijdens het openen en dat huidmondjes de enige epidermiscellen zijn die CO_2 kunnen vastleggen, hetgeen als organische zuren als energiebron voor de H^+ en K^+ pompen kan dienen. De buurcellen zouden opslagorgaan voor K^+ ionen kunnen zijn.

Ook de CO_2 -sensor van de sluitcellen zoekt Raschke in deze processen. Mogelijk leidt een hoge CO_2 -concentratie tot verzuring en remt zo de malaatsynthese, een lage CO_2 -concentratie veroorzaakt een basischer worden. De enzymen voor omzetting van zetmeel in malaat zouden zo een systeem vormen om de malaatconcentratie aan de CO_2 -concentratie aan te passen (Raschke '75).

Na deze uitwijding over het gedrag van huidmondjes komen we terug op de fotosynthese en produktie van tarweplanten. Om vanuit het fotosyntheseproces de fotosynthese van de totale plant te komen, moeten de fotosynthesesnelheden van de verschillende organen bekend zijn, evenals het effect van de leeftijd van de plant hierop en de hoeveelheid licht die de verschillende organen in het veld krijgen. Stralingsverdeling in het gewas: uitgegaan wordt van exponentiële extinctie van licht in het gewas met LAI vanaf de top; extinctie- en reflektiecoëfficiënten.

De volgende belangrijke stap is de verdeling van de gevormde stoffen (netto P) over de organen, en de omzetting in de daar benodigde stoffen. Een groot deel van de fotosyntheseprodukten van de plant wordt tegen het eind van de ontwikkeling naar de aar gevoerd, waarbij vooral de produktie van het vlagblad belangrijk is. Maar ook de fotosynthese van de aar speelt mee. De assimilaten van de aar worden vrij gelijkmatig over de korrels verdeeld, terwijl de vlagbladassimilaten vooral naar de onderste helft van de aar worden gevoerd. (Rawson & Evans, 1970).

De uiteindelijke opbrengst wordt bepaald door het aantal bloempjes, het aantal korrels dat gezet wordt en het gewicht per korrel. Het potentieel aantal korrels, d.w.z. het aantal aartjes en bloempjes dat gevormd wordt, wordt bepaald door omstandigheden vóór de bloei, het aantal korrels dat gezet wordt door omstandigheden tijdens de bloei, waarbij hoge temperatuur, weinig licht en watertekort ongunstig werken. De verdere korrelgroei wordt door de fotosynthese bepaald. Hoge lichtintensiteit veroorzaakt een snellere korrelgroei, hoge temperatuur heeft hetzelfde effect, maar verkort tegelijkertijd de tijd dat de korrel doorgroeit (Sofield et al, 1977).

Vaak worden de aren eerder geel dan het vlagblad, waaruit Sofield konkludeert dat de korrelgroei al stopt als er nog geen tekort aan assimilaten is; dit is vooral bij lage temperatuur het geval.

2.2. "MEE-ETERS".

2.2.1. Algemeen.

Tijdens het leven van een tarweplant zijn er verschillende soorten organismen die ook een graantje mee willen pikken: insekten, saprofytische en pathogene schimmels en bacteriën. In dit hoofdstukje willen we wat nader ingaan op de schimmels.

Meestal bevindt zich op het bladoppervlak een uitgebreide mycoflora, die zich vooral tijdens korrelvulling en afrijping uitbreidt. Een aantal schimmels zijn pathogeen en vaak duidelijk schadelijk voor de plant. Vaak komen voor:

<i>Cochliobolus sativus</i> (<i>Helminthosporium sativum</i>)	perthotroof.
<i>Septoria nodorum</i>	perthotroof.
<i>Septoria trititi</i>	perthotroof.
<i>Puccinia recondita</i>	biotroof.

Van de saprofytische schimmels is nog niet duidelijk wat precies het effect is. (zie verderop; 2.2.2. en 2.2.3.). De saprofytische mycoflora op tarwebladeren bestaat vooral uit bacteriën en de volgende schimmels:

zwart-schimmels	vnl. <i>Cladosporium</i> spp.
witte-gisten	vnl. <i>Cryptococcus</i> spp.
rode-gisten	vnl. <i>Sporobolomyces roseus</i> .
gistachtige	<i>Aureobasidium pullulans</i> .

Enkele abiotische factoren die de groei van schimmels zouden kunnen beïnvloeden:

1. Vochtigheid.

Regen zou nadelig kunnen werken door afspoeling, (Fokkema '71, Warren 1972) maar dit is niet altijd het geval. Voor optimale groei is vereist 'n RV van minstens 90% gedurende een gedeelte van de dag. Vrij water door regen of dauw is echter niet nodig voor een goede ontwikkeling van *Sporobolomyces roseus*.

2. Temperatuur.

Hoge temperaturen (32°C) kunnen niet alleen 'n flinke reductie van gistpopulaties verklaren (Bashi en Fokkema 1977), andere factoren spelen daarbij ook een rol.

3. Voedsel.

Waarschijnlijk is de beperkte beschikbaarheid van nutriënten op niet-verouderende bladeren een van de belangrijkste

oorzaken van de relatief arme ontwikkeling van de gist-populaties op zulke bladeren. Een nutriënten-gift stimuleert de gist-groei, hoewel een goed gebruik van deze nutriënten alleen plaatsvindt bij hoge RV. of dauw tijdens een gedeelte van de dag (Bashi en Fokkema 1977). Stuifmeel kan de groei van schimmels stimuleren. Bijvoorbeeld bij de perthotrofe graanpathogenen *Cochliobolus sativus* en *Septoria nodorum* stimuleert stuifmeel de myceliumgroei vóór binnendringen (dus tijdens de saprofytische fase op het bladoppervlak) en stimuleert tevens een sterkere aantasting van roggeblad (Fokkema 1971, 1973). Eenzelfde werking had een mengsel van glucose en gistextract op *Cochliobolus* op tarweblad (Bashi en Fokkema 1977) en extra voedsel op *Sporobolomyces roseus* ook op tarweblad (Bashi en Fokkema 1976). Echte biotrofe pathogenen die hun voedsel alleen betrekken uit levende waardplanten zullen niet afhankelijk zijn van andere voedselbronnen zoals stuifmeel bij *Puccinia recondita*, bruine roest op graan (Fokkema 1971).

2.2.2. Antagonisme.

Behalve deze abiotische factoren kan de aanwezigheid van andere organismen de groei van schimmels beïnvloeden.

Verscheidene onderzoeken wijzen erop dat de aanwezigheid van een uitgebreide flora van saprofytische organismen de plant kan beschermen tegen pathogene schimmels: een voorbeeld hiervan is het verminderen van de aantasting (uitgedrukt in percentage necrotisch oppervlak) door *Cochliobolus sativus* op roggebladeren

door de reeds aanwezige natuurlijke mycoflora met 60% (Fokkema et al. 1975). Vooral bij perthotrofe pathogenen kan een grote reductie optreden doordat de myceliumgroei op het bladoppervlak tegengehouden wordt. Mogelijke mechanismen ter verklaring hiervan zijn (Fokkema 1975, Fokkema 1976):

- vorming van antibiotica door de saprofyten
- PH-verandering door de saprofyten (wat indirect bijvoorbeeld de werking van de enzymen van het pathogeen kan remmen)
- inductie van phyto-alexinen
- voedselcompetitie.

Op dit laatste mechanisme wordt wat nader ingegaan.

2.2.3. Voedselcompetitie.

Fokkema en Bashi toonden aan dat *Sporobolomyces roseus* gevoed met nutriënten zich antagonistisch gedraagt ten opzichte van *Cochliobolus sativus* en dat dit plaatsvindt via een negatief effect op de groei van de kiembuis, terwijl er geen effect op de kieming is (Bashi en Fokkema 1977).

Door extra voedingsstoffen, zoals stuifmeel dat op de bladeren valt (Fokkema 1971) kan de saprofytische mycoflora gestimuleerd worden en hierdoor een sterke uitgangspositie voor de konkurent van de pathogenen vormen. Ook honingdauw kan dit effect hebben. *Sporobolomyces roseus* op riet wordt door honingdauw van luizen beïnvloed (Van de Burg 1974).

Op tarwe zou honingdauw ook de saprofytische en necrotrofe schimmelflora sterk stimuleren (Ingrid Riphagen). Ingrid Riphagen vond dat *Cochliobolus* meer lesies doet ontstaan op vlagbladeren wanneer honingdauw is toegevoegd (met een groot effect op de kiembuislengte). En dat een mengsel van 4 saprofyten de stimulerende werking van *S. nodorum* infectie op tarweblad door honingdauw reduceerde.

Saprofyten kapen dus voedsel weg voordat de pathogeen zich heerser kan maken op het bladoppervlak. Stimulering van saprofyten zou dus beschadiging door pathogenen kunnen voorkomen. Daarom is het belangrijk te weten of de saprofyten zelf een ongunstig effect op de gewasgroei kunnen hebben. De meningen hierover lopen nogal uiteen. Skidmore en Dickinson vonden in laboratoriumexperimenten een veroudering-versnellende werking van de pathogenen *Septoria nodorum* en *Drechslera sativus* en eveneens van de fakultatief pathogenen *Stemphylium botryosum* en *Alternaria alternata*, maar niet van de saprofyten *Cladosporium herbarum*, *C. macrocarpum*, *Aureobasidium pullulans* en *Botrytis cinerea*, waarbij de chlorofyl inhoud van het blad als maat voor de veroudering gebruikt is (Skidmore en Dickinson 1973).

Fokkema heeft door behandeling in het veld met fungiciden geen verband kunnen vinden tussen hoeveelheid saprofyten en chlorofylinhoud van het blad tijdens de veroudering (Fokkema et al. 1979). Dickinson en Walpole hebben dit probleem onderzocht door het effect van de fungiciden zineb en benomyl op de saprofytische mycoflora, de veroudering van het blad (groenoppervlak) en de opbrengst te vergelijken. De middelen bleken opbrengst en groenheid van het blad te vergroten en omdat er in het jaar van

onderzoek weinig pathogene schimmels aanwezig waren, menen ze deze effecten vooral aan het verminderen van de saprofytische mycoflora te mogen wijten (Dickinson en Walpole 1975).

In ons experiment wordt nu geprobeerd wat meer te weten te komen over de invloed van de saprofyt *Cryptococcus* op de fotosynthese van het tarweblad.

2.3. BLADLUIZEN.

2.3.1. Algemeen.

In granen kunnen een aantal verschillende bladluisoorten voorkomen, waarvan het relatieve belang verschilt per land en klimaat (zie 2.3.2.). Bladluizen hebben een ingewikkelde levenscyclus en elke soort kan in verschillende vormen voorkomen, die gespecialiseerd zijn op een bepaalde functie. Overwintering vindt meestal plaats als ei (holocyclisch) of soms in zachte winters als adult (anholocyclisch). In voorjaar en zomer zijn er een aantal generaties die alleen uit OO bestaan, welke parthenogenetisch levende jongen ter wereld brengen. In het najaar worden seksuele vormen geboren, ♂♂ en ♀♀ , welke laatsten de wintereieren leggen.

De meeste luizen zijn monofaag en volbrengen de hele cyclus op één plantesoort. Luizen die op één groep landbouwgewassen voorkomen moeten altijd een deel van het jaar op andere planten doorbrengen; dit zijn soorten met waardplantwisseling. De holocyclische uit eieren geboren luizen of de luizen die anholocyclisch overwinterd hebben vormen in het voorjaar gevleugelde luizen die naar de zomerwaard vliegen. Ook in het najaar worden gevleugelden gevormd om naar de winterwaard te vliegen, dit zijn vaak desexuele vormen of de luizen van de generatie daarvoor. Gastheer wisseling is een belangrijke aanpassing waardoor de luis steeds een soort kan gebruiken in het seizoen dat deze het meeste voedsel levert. Behalve voor waardplantwisseling worden ook tijdens de zomer af en toe gevleugelden gevormd, o.a. om overbevolking op een plant te voorkomen. De vorming ervan wordt geïnduceerd door crowding, vermindering van de kwaliteit van de waardplant en beïnvloed door temperatuur en daglengte. Het juvenielhormoon remt de ontwikkeling van de vleugelaanleg. (Dixon 1973).

2.3.2. De belangrijkste graanluizen.

In Nederland zijn de belangrijkste graanluizen (G. Pak 1978, Kolbe 1969):

- Sitobion (Macrosiphum) avenae, een groen tot roodbruin gekleurde luis, 1.9-2.3 mm lang, met lange zwarte siphonen, zwarte poten en antennes (zie foto's), die polyfaag is, en op alle graminaceën voor kan komen. Overwintert als ei of als adult. Op tarwe zit deze soort vooral op het vlagblad en de aar. In 1775 als Aphis avenae beschreven door Fabricius.
- Metopolophium dirhodum, een bleek tot heldergroene luis met een donkerder streep over de rug, 1.9 tot 2.8 mm groot. Overwintert op rozen als ei, en vormt hierop in het voorjaar eerst twee aptere generaties voordat alaten gevormd worden. Op tarwe vooral op de bovenste bladeren. In 1848 voor het eerst beschreven als Aphis dirhoda door Walker.
- Rhopalosiphum padi, een wat kleinere (1.6-2.4 mm) olijfgroene tot grijsgroene luis, tussen de siphonen roodbruin gekleurd. Overwintert op Prunus padus als ei, de adulten veroorzaken hierop krullen van het blad en gele vlekken. Zit op tarwe vooral op de onderste bladeren en de stengel. R. padi is een belangrijke vector van BYDV (Breniaux et al. 1976). Door Linnaeus als Aphis padi beschreven in 1758.

Andere soms voorkomende soorten zijn:

- Metopolophium festucae, genoemd door Kolbe (1969), Breniaux et al. (1975) en George (1974). Deze luis overwintert zowel vivipaar en als ei op gramineae.
- Rhopalosiphum maidis (Kolbe 1969, Breniaux et al. 1976, George 1974) Deze soort overwintert altijd als ei en komt vooral op maïs en gerst voor.
- Sitobion (Macrosiphum) fragariae (Breniaux et al. 1976, George 1974), overwintert als ei op braam, roos en aardbei.
- Rhopalosiphum insertum (George 1974): overwintert als ei op appel en peer.
- Schizaphis graminum (Kolbe 1969, Breniaux 1976): komt vooral in warmere landen voor waar ze anholocyclisch overwintert. Deze luis heeft waarschijnlijk zeer giftig speeksel (Breniaux 1976). (Voor verdere kenmerken van de verschillende soorten zie HilleRis Lambers D. 1939).

Uit de literatuurverwijzingen blijkt dat in verschillende streken andere soorten belangrijk zijn (George uit Engeland,

Breniaux uit Frankrijk, Kolbe uit Duitsland).

De verschillende soorten hebben een verschillende verspreiding op de plant. *Sitobion avenae* zit eerst vooral op het vlagblad, en trekt bij het tevoorschijn komen van de aar naar boven. *Metopolophium dirhodum* zit eerst op de onderste bladeren en trekt met de veroudering hiervan naar de hogere bladeren die later verouderen (Wratten 1975). *Rhopalosiphum padi* zit op de onderste bladeren en stengel.

Ook binnen een veld lijken de soorten een iets verschillende verspreiding te hebben: George (1974) vond *M. dirhodum* vooral midden in het veld, de andere soorten meer aan de randen en langs de heggen. Andere waarnemers spreken deze indruk tegen (Rabbinge R. pers. med.)

2.3.3. De populatie-ontwikkeling van *Sitobion avenae*.

In het vervolg zal steeds voornamelijk op de soort *Sitobion avenae* worden ingegaan. Dit is de soort waarmee we onze proeven hebben gedaan omdat deze vaak in de hoogste aantallen voorkomt, en vooral ook door de plek waar ze meestal op de plant zit vermoedelijk de hoogste schade kan aanrichten.

De populatie-ontwikkeling van *Sitobion avenae* op wintertarwe begint ongeveer in stadium 9 volgens de schaal van Feekes, eind mei of begin juni. De populatie groeit eerst exponentieel, en bereikt een maximum rond stadium 11.1. Tragere groei treedt op vanaf het melkrijpe stadium, wanneer de reproductie vermindert, vorming van luizen met vleugelaanleg begint, en predatie in sterkere mate gaat optreden. Na enkele weken op ongeveer konstant nivo te blijven, neemt de populatie tijdens rijping van het gewas snel af. (Henderson en Perry 1978, G. Pak 1978). Regulatie van de populatie treedt op door parasieten en pathogenen: sluipwespen, parasitaire hymenoptera van de familie Braconidae, en entomofage schimmels van het geslacht *Entomophthora*. Predatoren van luizen zijn larven van Coccinellidae (lieveheersbeestjes), Chrysopidae (gaasvliegen), en Syrphidae (zweefvliegen) (zie foto's).

2.3.4. Voeding van luizen

Bladluizen voeden zich door assimilatieprodukten van de waardplant uit de floëmsapstroom weg te zuigen. Ze hebben daartoe een lange zuigsnuit waarin een voedselkanaal aanwezig is en een speekselkanaal waardoor speeksel(saliva) in de plant wordt gebracht dat de celwanden enigszins oplost. Het opgenomen floëmsap wordt gedeeltelijk door de luis gebruikt, de restanten worden uitgescheiden in de vorm van honingdauw, een zeer suikerrijke substantie die een kleverige laag op het bladoppervlak kan vormen. Deze honingdauw wordt in druppels door de luis weggeschoten en kan zo op de verschillende bladeren van de plant terecht komen.

De samenstelling van het floëmsap, dus de toestand van de plant, is een belangrijke faktor voor de ontwikkeling, reproductiesnelheid, mortaliteit e.d. van de luizen. Vooral het gehalte aminozuren speelt een rol. Dit is het hoogste in jonge groeiende en in verouderende organen, zodat daar het meest te halen valt voor de luizen. De kwaliteit van het floëmsap als voedselbron blijkt o.a. uit de honingdauwproduktie: wanneer het sap minder aminozuren bevat kan de luis een kleiner deel van de opgenomen produkten gebruiken en zal relatief meer honingdauw produceren. Zo produceert *Sitobion avenae* op het vlagblad van tarwe $1\frac{1}{2}$ tot 2 keer zoveel honingdauw (per mg. luisproduktie) als op de aar; het stikstofgehalte van de honingdauw is gelijk, dus de efficiëntie waarmee aminozuren worden opgenomen is hetzelfde (Vereyken 1979).

Ook het effect van voedsel op mortaliteit, reproductie en gewicht van *Sitobion avenae* is door Vereyken onderzocht. De reproductie bleek op het vlagblad het laagste te zijn, op de jonge aar het hoogst, en op de oudere aar weer wat minder. Ook *Rhopalosiphum padi* vertoonde op de jonge aar de snelste reproductie. Het gewicht van een *Sitobion* op de aar is hoger dan op het vlagblad, terwijl op het blad meer gevleugelden gevormd worden. Al met al blijkt er een groot verschil in kwaliteit als voedingsbron te zijn tussen aar en vlagblad, en blijkt de ontwikkeling van de luizen door dit verschil sterk beïnvloed te worden.

2.4 EFFEKT VAN LUIZEN OP TARWE

De aanwezigheid van grote aantallen luizen kan tamelijk grote opbrengstverliezen veroorzaken, van 10 procent bij 20-30 luizen tot 30 procent bij 150 luizen per aar (Kolbe en Linke 1974). Dit opbrengstverlies zag men oorspronkelijk voornamelijk als zuigschade: de luizen zuigen een deel van de assimilatieproducten weg, zodat er minder overblijft voor de korrelvulling. De verminderde hoeveelheid assimilaten veroorzaakt vooral een lager 1000-korrelgewicht en beïnvloedt niet of nauwelijks het aantal korrels per aar (Vereyken 1979, Wratten en Redhead 1976). Kolbe en Linke (1974) en Hinz en Doebeler (1976) vinden wel een effect op het aantal korrels per aar; mogelijk werkten ze met een vrij vroege infectie. Het aantal korrels dat in een aar gevormd wordt, wordt namelijk door omstandigheden vóór de bloei bepaald (Thorne 1962), terwijl de luizenpopulaties pas tijdens de bloei uit belangrijke aantallen bestaan (Wratten en Redhead 1976, George 1974).

De plaats waar de luizen zuigen is belangrijk voor het effect op de opbrengst. Omdat de bijdrage van aar en vlagblad aan het uiteindelijke korrelgewicht veel groter is dan van de lagere bladeren, geeft zuigen in het eerste geval veel meer opbrengstverlies dan in het laatste, en is de zuigschade van *S. avenae* die vooral op de aar zit erger dan van de andere soorten die lager in de plant zitten. Wanneer *M. dirhodum* over de hele plant verspreid zit is het opbrengstverlies veel groter dan wanneer het de luis onmogelijk gemaakt wordt om op vlagblad of aar te gaan zitten (Wratten en Redhead 1976). Wat betreft het eiwitgehalte van de korrels ligt dit anders: de stikstofvoorziening van de aar wordt voornamelijk door de onderste bladeren verzorgd (Wardlaw et al. 1965), zodat infectie van deze bladeren een verlaagd eiwitgehalte tot gevolg heeft (Vereyken 1979, Wratten en Redhead 1976).

Behalve het direkte effect van zuigschade zijn er nog een aantal indirecte effecten mogelijk. Eén daarvan is het overdragen van het barley yellow dwarf virus, BYDV, dat duidelijke opbrengstverliezen bij alle graangewassen veroorzaakt, en verder in verschillende andere grassen en ook cypergrassen voor kan komen. Behalve verkleuring van de bladeren kan het ook een onderontwikkeling van het wortelstelsel tot gevolg hebben. Vooral *Rhopalosiphum padi* is een belangrijke vektor van dit virus (Breniaux

et al.). Dit virus is in Amerika een belangrijke veroorzaker van schade; in Nederland is het wel aanwezig, maar niet van economisch belang. Andere mogelijke indirecte effecten zouden kunnen zijn:

- fytotoxische werking van het speeksel
- beschadiging door het aanprikken
- produktie van honingdauw die de huidmondjes zou kunnen dichtplakken, een voedingsbodem voor perthotrofe of saprofytische schimmels kan zijn, nekrotische vlekjes zou kunnen veroorzaken door een soort brandglaswerking, de veroudering van het blad zou kunnen versnellen.

Uit de energiebalans van de luizen is het mogelijk om een schatting te maken van het opbrengstverlies dat zuiver door het wegzuigen van assimilaten veroorzaakt wordt. Hiervoor stelt men de calorische waarde van het opgenomen voedsel gelijk aan de calorische waarde van de geproduceerde honingdauw ($+ 4 \text{ mg}^{-1}$) + de gevormde biomassa ($+6 \text{ mg}^{-1}$) + respiratie (3 mg^{-1} op de aar, 9 mg^{-1} op het blad). Vereijken heeft op deze wijze berekend dat per mg luisproduktie bij *Sitobion avenae* $\pm 11 \text{ mg}$ floeemsap nodig is als deze op het blad zuigt, $\pm 5 \text{ mg}$ als ze op de aar zitten. Hij heeft dit vergeleken met de in het veld gevonden opbrengst verliezen: deze lagen ongeveer 2 maal zo hoog. De schade bestaat dus in ieder geval niet alleen uit zuigschade.

Wanneer de planten echter met fungicide werden behandeld, werd het opbrengst verlies tot ongeveer de helft teruggebracht, dus ongeveer de geschatte waarde. Hij konkludeert dat naast de zuigschade door de aanwezigheid van honingdauw gestimuleerde schimmels de voornaamste oorzaak van de opbrengstderving zijn.

Afhankelijk van het weer kan de honingdauw snel uitkristalliseren of een dunne plakkerige laag vormen; vooral in het laatste geval kunnen schimmelsporen snel kiemen en mycelia snel groeien. Behalve het schimmelstimulerende effect, zijn nog verschillende andere effecten van honingdauw denkbaar.

De kleverige substantie zou de huidmondjes dicht kunnen lijmen, zodat de maximale diffusiesnelheid van CO_2 en O_2 verlaagd wordt en daarmee de maximale fotosynthese. Een andere mogelijkheid is het wegnemen van licht, hetgeen de efficiency van de fotosynthese zou verlagen. Bovendien zou honingdauw als het in kontakt met cellen komt, bijvoorbeeld via beschadigingen van het blad of via de stomata turgorverlies of zelfs plasmolyse kunnen veroorzaken door zijn hoge osmotische waarde. Waar door de huidmondjes verder zullen sluiten en de gaswisseling

beperkt wordt.

De aanwezigheid van honingdauw kan kieming en groei van saprofytische of perthotrofe schimmels stimuleren. De eersten zouden mogelijk de plant kunnen beïnvloeden door wegnemen van licht, wat vooral bij donkergekleurde schimmels van belang zal zijn. De laatsten kunnen door een groter mycelium het blad op meer plaatsen aantasten en waar het blad eventueel door honingdauw beschadigd is sneller het blad binnendringen.

Tezamen kunnen deze effecten de veroudering van het blad stimuleren. Wratten vond dat bij met luizen geïnfecteerde planten (zowel bij *Sitobion avenae* als *Metapolophium dirhodum*) ongeveer een week eerder dan bij de controle planten de helft van het oppervlak van het vlagblad geel was geworden (Wratten 1975). De duur en oppervlakte van het fotosynthetisch actieve blad blijkt goed gekorrelleerd te zijn met het uiteindelijk korrelgewicht (Thorne 1965, Lupton 1966), zodat duidelijk is dat een snellere vergeling de opbrengst zal verminderen. Opvallend is dat het verouderende effect niet alleen op de plaats van zuigen plaatsvindt (Wratten 1965). Niet duidelijk is uit zijn proeven of deze veroudering door honingdauw en/of schimmels of op andere wijze plaatsvindt.

3. Materiaal en methoden.

3.1. INLEIDING, OVERZICHT VAN DE PROEVEN.

Met verschillende laboratorium proeven is getracht een indruk te krijgen op welke wijze graanluizen en speciaal Sitobion avenae, de opbrengst van tarwe zouden kunnen beïnvloeden. De directe werking van de luizen is door Vereijken onderzocht. Mogelijk andere werkingsmechanismen zijn onderzocht in de volgende proeven.

1. Het directe effect van de door de luizen uitgescheiden honingdauw op de fotosynthese van het blad, hetzij door wegnemen van licht, hetzij door beperking van de gasuitwisseling. Hiertoe is de fotosynthese van onbehandelde en met honingdauw ingesmeerde bladeren gemeten, waarbij in de tweede groep onderscheid is gemaakt tussen bladeren die aan de boven- of aan de onderkant zijn ingesmeerd en tussen metingen van kort tevoren en van een week tevoren ingesmeerde bladeren.
2. Het indirecte effect van de honingdauw door stimulering van de veroudering van het blad; men kan hierbij zowel aan een effect van de honingdauw zelf als van de erop groeiende schimmels denken.

Hiertoe zijn bij met honingdauw ingesmeerde en onbehandelde planten gedurende 2 maanden de ontwikkeling en veroudering gevolgd door:

- regelmatig noteren van het stadium van elke individuele plant
- regelmatig de lengte van het gele deel van het blad te meten.
- opvallende verschijnselen die optreden tijdens de veroudering te volgen.
- anderhalve maand na de behandeling fotosynthesemetingen te verrichten.
- anderhalve maand na de behandeling reflectie en transmissiemetingen uit te voeren.
- fyllosfeerbepalingen te doen, om te bepalen of de gevonden verschillen mogelijk het resultaat van een verschil in mycoflora kunnen zijn.

Ten behoeve van een beter inzicht in werkingsmechanisme van de honingdauw zijn scanningfoto's gemaakt van een vlagblad met een laagje honingdauw.

3. Het totale effect van honingdauw op de opbrengst.
Tijdens en bij het afsluiten van proef 2 zijn opbrengstbepalingen gedaan.
4. Het effect van de door de aanwezigheid van honingdauw gestimuleerde mycoflora op de fotosynthese. Aan bladeren met een verschillend nivo van een witte gist zijn fotosynthesemetingen gedaan; dit verschillende nivo werd verkregen door hetzij opbrengen van een voedingsoplossing op het blad, hetzij toevoegen van honingdauw.
5. Het direkte effect van luizen op de fotosynthese. Aan bladeren waar enige tijd luizen op hadden gezogen zijn fotosynthesemetingen gedaan. In dezelfde proef is de honingdauwproduktie van de luizen bepaald.

Ten behoeve van de overzichtelijkheid worden nauwkeurige beschrijvingen van deze proeven in de betreffende hoofdstukken samen met de resultaten gegeven. In dit hoofdstuk worden meer de algemen methoden en gebruikte apparaten beschreven die in meerdere proeven van belang zijn.

3.2. KWEKEN

3.2.1. Plantenkweek

Algemeen.

Voor alle proeven (behalve bij de honingdauw/luizenkweek) werd het zomertarweras Opal gebruikt omdat van dit ras reeds veel fotosynthesemetingen bekend zijn. Dit maakt het vergelijken van resultaten mogelijk. Zomertarwe werd gebruikt omdat deze makkelijker en sneller te kweken is.

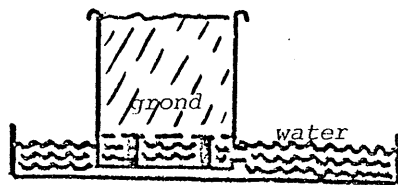
Tarwekorrels worden gezaaid in potten van het type Mitscherlich (figuur 3.1) gevuld met zavelgrond uit de Flevopolder.

Wanneer de tarweplantjes ongeveer 5 cm lang zijn, worden rekjes op de potten geplaatst ter ondersteuning van de planten. Dit alles gebeurt in de CABO-kas waar de planten verder opgekweekt worden totdat er ruimte is in de klimaatkamers. In deze klimaatkamers kan men factoren als licht, temperatuur en lichtvochtigheid veel beter regelen dan in de kas. Een nadeel is dat men een gewas dat opgekweekt is in een klimaatkamer niet volledig mag vergelijken met een gewas op het veld. Weinig licht en licht van slechte kwaliteit in de

klimatekamer kunnen de morfologie en fysiologie van planten beïnvloeden (Thorne 1970, Acock 1972).

Water.

Door de speciale konstruktie van de Mitscherlichpotten kan de plant water opnemen naar behoefte. Er wordt steeds voor gezorgd dat de pijpjes onder water staan. Alleen wanneer de grond dreigt uit te drogen wordt er water gegeven via de pot.



Figuur 3.1. Mitscherlich-pot.

Bijbemesting.

Hoewel verondersteld wordt dat voedingsstoffen in overvloed aanwezig zijn in de zavelgrond, is het nodig om af en toe stikstof te geven. Indien niet anders vermeld gebeurt dit door in 100cm^3 2 gram ammoniumnitraat (NH_4NO_3), chemisch zuiver (gehalte $\geq 98.5\%$) op te lossen en deze oplossing over één pot uit te gieten. In andere gevallen werd de oplossing twee keer zo sterk verdund.

Klimatologische omstandigheden.

CABO-kas:

licht	8 lampen van 400W van 7.00 tot 19.00 uur
bijverlichting	10 lampen van 100W van 16.00 tot 23.00 uur
temperatuur	$\pm 12^\circ\text{C}$
rel. lucht v.	$\pm 45\%$ (erg laag ter voorkoming van aantasting door meeldauw)

CABO-fytotron:

licht	6 lampen per vak (± 3 tot 8 potten) 17 uur type Philips MPL 400W IM7
temperatuur	zie schema van plantengroepen
rel. lucht v.	" " " "

IPO-fytotron:

licht	55 lampen 15 uur type Philips TLF215W/33RS Double Flux
temperatuur	belichtingsperiode 18° , donkerperiode 12°

rel.luchtv. 70%

IPO-kas(1):

licht planten stonden tussen twee rijen van 3 lampen 15 uur.type Philips G/g2/2 Sont 400W
temperatuur belichtingsperiode 18^o,donkerperiode 15^o
rel.luchtv. 70%

IPO-kas(2):

idem,planten stonden onder één rij van 3 lampen.

Zieke planten.

Een aantal planten (groep B) die verder niet voor proefdoeleinden gebruikt zullen worden,staan samen met de planten van groep C in een klimaatkamer.Op 1 februari nemen we op de bladeren(groepB) gele plekken waar,die binnen een dag helemaal dood zijn.In één of twee dagen is het hele blad afgestorven.Van de planten van groepB wordt een aantal bladeren afgeknipt voor een kaliumanalyse.Het resultaat hiervan was(in droge stof) 29.3 gram per kg. Ter vergelijking:Door Brandsma(1954) onderzocht weidegras gaf 29.7 gram K per kg.(Van der Molen 1962).De necrose op de bladeren is dus niet aan een kaliumgebrek te wijten.Eerder moet de oorzaak volgens ons gezocht worden in de plotselinge temperatuurstijging(van 17^otot 28^o)door een defekt aan de koeling op 31 januari. Dit ging gepaard met een daling van de R.V. van 70 naar 50%. Een oorzaak zou ook kunnen zijn de binnendringende verfdampen (de hal werd juist geschilderd),doordat de deur van de klimaatkamer openstond om de temperatuur te doen dalen.Een samenspel van deze twee factoren is natuurlijk ook niet uitgesloten.Een gevolg van dit alles is dat vele planten uit groep C verwijderd moesten worden.

GROEP A

datum	handeling	plaats	stadium	temperatuur(°C)	R.V.(%)
22-9	gezaaid(10potten)	CABO-KAS		12	40
28-9	gezaaid(10potten)	CABO-KAS			
				19-12u.	12-19u.
22-11	overgeplaatst	CABO-FYT.		19	17
27-11		cel 5		18	15
4-12				15	12
6-12			F10.5		
8-12			F10.5		
11-12	N-gift		F10.5.1	16	13
12-12	fotosynthesemetingen				
13-12	"				
14-12	"				
15-12	"		F10.5.2		
19-12	fotosynthesemetingen			14	12
20-12	"				
21-12	"				
22-12	"				
27-12	afgevoerd				

GROEP A'

tot 15-12	als groep A				
15-12	overgeplaatst	CABO-FYT.	F10.5.2	16	75
	en met gist beh.	cel 6			
16-12				16	66
17-12				17	96
18-12				16	66
19-12	fotosynthesemetingen			17	97
20-12	"			16	75
21-12	"			14	69
22-12	"				
27-12	afgevoerd				

GROEP B

27-10	gezaaid(12potten)	CABO-KAS		12	40
6-12			F5		
11-12			F6		
22-12			F7		
25-12	overgeplaatst	CABO-FYT.		15	12
1-1		cel 5		14	11
3-1			F8		
8-1				13	12
15-1				14	11
22-1				14	11
29-1				19	16
31-1	koeling defekt			17-28	70-50
1-2	eerste ziekteverschijnselen				
7-2	dia's van zieke planten				
	kaliumbepaling vlagblad				
	planten afgevoerd				

GROEP C

datum	handeling	plaats	stadium	temperatuur	R.V.			
6-11	gezaaid(36potten)	CABO-KAS		12	40			
6-12			F4					
11-12			F5					
15-12			F6	19-12u.	12-19u.	19-12u.	12-19	
22-12			F6					
25-12	overgeplaatst	CABO-FYT.		15	12	70	80	
1-1		cel 5		14	11	70	76	
3-1			F7					
8-1				13	12	72	80	
10-1			F8					
15-1				14	11	74	76	
18-1	zijscheuten verwijderd							
22-1			ZCK45	14	11	73	80	
29-1			ZCK55	19	16	70	70	
31-1	koeling defekt		ZCK59	17-28		70-50		
1-2	eerste ziekteverschijnselen		ZCK61					
5-2				15	13	68	70	
7-2	deel v. planten afgevoerd							
12-2				16	13	65	69	
19-2				20	17	64	64	
20-2	honingdauw en gist opbrengen							
26-2	fotosynthesemetingen en			19	16	65	65	
27-2	gistbepalingen							
28-2	planten afgevoerd							

GROEP D

datum	handeling	plaats	stadium	temperatuur	R.V.			
6-11	gezaaid(24potten)	CABO-KAS		12	40			
21-12	overgeplaatst	IPO-FYT.ZCK10						
30-11	N-gift(100ml)	ZCK12						
1-12	enkele M.persicae							
4-12			13					
8-12	bespuiting met pirimor							
12-12	N-gift(200 ml)		30					
28-12	overgeplaatst	IPO-KAS(1)						
7-1	N-gift(200 ml)		37					
8-1	overgeplaatst	IPO-KAS(2)						
	zijscheuten verwijderd							
15-1	N-gift(200 ml)							
	zijscheuten verwijderd							
22-1	(zie ook stadia-schema)		39	5-20u. 20-5u.	5-20u. 20-5u.			
30-1	overgeplaatst	CABO-FYT.	42	18	16	74	78	
31-1	kooitjes op planten	cel 4	42					
1-2	" " "		43					
2-2	" " "		43					
5-2	luizen op planten		48	18	15	68	68	
6-2	" " "		50					
7-2	" " "		52					
12-2			58	14	12	66	70	
14-2	fotosynthesemetingen		61					
15-2	"		62					
16-2	"		63					
	honingdauw opgebracht							
19-2	helpt planten afgevoerd		65	14	12	54	58	
26-2	zijscheuten verwijderd		68	14	12	56	61	
27-2	fyllosfeerbepaling		69					
5-3			70	15	13	70	78	
12-3			71	15	14	70	78	
19-3				16	14	65	76	
26-3				16	14	65	76	
29-3	fotosynthesemetingen							
30-3	fyllosfeerbepalingen							
	opbrengstmetingen							
2-4				15	14	54	68	
5-4	reflektie/transmissie							
	tellen van huidmondjes							
9-4				17	13	70	50	
25-4	afgevoerd+ opbrengstmetingen							

3.2.2. Luizenkweek en honingdauwverzameling.

3.2.2.1. *Sitobion avenae*.

De bladluis *Sitobion avenae* kan op veel verschillende waardplanten, vnl. van de familie Gramineae, voorkomen, en is meestal vnl. op de pluim te vinden.

In voorjaar en zomer kan *S. avenae* tot de radikale feministes gerekend worden: ze plant zich voort zonder ook maar een sekonde aan het andere geslacht te hoeven verspillen; ze brengt haar jongen levend ter wereld. Een aptere adult kan tot 40 jongen produceren in 2 weken, afhankelijk van haar grootte. Door grote dichtheid wordt de reproductiesnelheid direkt en indirekt (via het gewicht van ma) beïnvloed. Op de aar is de reproductiesnelheid hoger dan op het vlagblad, waarschijnlijk door het hogere stikstofgehalte van het floeemsap. De larve ontwikkelt zich in ongeveer 10 dagen tot adult, via 4 larvale stadia.

De natuurlijke vijanden, Entomophtera, predatoren en parasieten reageren op de groei van de luizenpopulatie, maar kunnen niet de sterke neergang verklaren, waarmee de populatie afgebroken wordt. Deze wordt veroorzaakt door vorming van alaten die emigreren.

Vorming van alaten kan veroorzaakt worden door crowding en door een slechte voedselsituatie. Een hoge stikstofgift remt juist de vorming van alaten. De vleugelvorming hangt bij *S. avenae* af van de omstandigheden juist voor de geboorte en tijdens de eerste dagen van de larve. Er is een sterke korrelatie tussen het percentage L_4 met vleugelaanleg en de koloniegrootte van 7 dagen ervoor.

3.2.2.2. De luizenkweek.

Kweek A:

Het uitgangsmateriaal wordt (in de maanden november 1978 t/m februari 1979) verkregen uit de luizenkweek van Entomologie. In een gazen (lichtdoorlatende) kooi ($\pm$ 25x25x50cm) worden 3 à 4 potten met jonge tarweplanten geplaatst (ras: Arminda. winter-tarwe ZCK 10-15). Op deze planten worden larvale en/of adulte vivipare ♀♀ luizen gezet, afkomstig uit deze kweek van Entomologie, kweek B of uit de honingdauwkweek.

Behalve de adulten uit kweek B geven deze luizen over het algemeen alate nakomelingen en erg weinig apteren. Door vaak nieuwe planten met een niet te groot aantal (voorkoming van crowding) adulte apteren in te zetten, kan nog een redelijk aantal aptere nakomelingen verwacht worden. Ook mogen de planten (=voedsel) niet te geel worden door 'n te grote luizenpopulatie.

Kweek B:

Uit een lopende proef van Entomologie wordt uitgangsmateriaal verkregen. In 100 perspex kooitjes (zie honingdauwkweek) wordt per kooitje steeds 1 L_1 opgekweekt totdat deze enkele nakomelingen heeft. Hiervan worden opnieuw 100 L_1 -tjes (1 à 2 dagen oude nakomelingen van aptere luizen) in 100 nieuwe kooitjes geplaatst enz. Van deze 100 L_1 -tjes blijkt zich 80 à 90% tot aptere adult te ontwikkelen. Door de ruimere voedingsomstandigheden en doordat steeds een van de eerste nakomelingen genomen wordt, zijn deze luizen groter en zwaarder dan de luizen uit kweek A. Deze luizen produceren hierdoor ook meer jongen en meer honingdauw. Omdat voor de proef van Entomologie alleen een gedeelte van de nakomelingen nodig zijn om de proef te laten doorlopen, kunnen wij de overige nakomelingen en de nog jonge en volop in produktie zijnde adulten gebruiken.

3.2.2.3. De honingdauwkweek.

Het principe van de honingdauwkweek is als volgt: luizen die op een plant zitten in een luizenkooitje scheiden honingdauw af, die voornamelijk op de wanden van het kooitje terecht komt. Deze honingdauw kan vervolgens verzameld worden. De perspex kooitjes worden met elastiekjes op staken bevestigd, het blad wordt door een opening in het gaas gestoken, de luizen worden erin gezet en het geheel wordt m.b.v. watten zo goed mogelijk afgesloten. (zie figuur 3.2 en foto's) Per kooitje wordt uitgegaan van 5 aptere, net adulte, vivipare ♀♀ zo mogelijk uit kweek B.

In het algemeen produceren aptere luizen meer jongen en honingdauw dan alate. Jonge adulte luizen produceren langer en daardoor meer jongen en meer honingdauw.

De planten worden of in de kas (licht: 4 lampen van 400W temp.: $\pm 18^{\circ}\text{C}$, R.V.: $\pm 70\%$) of in een klimaatkamer (licht: 15.000 LUM gedurende 16.5 uur, temp.: $\pm 18^{\circ}\text{C}$, R.V.: $\pm 80\%$) gezet. In de

klimatekamer was de honingdauwproduktie duidelijk hoger dan in de kas.

Na 1 à 2 weken werden de kooitjes verwijderd. Als hier langer mee wordt gewacht, raakt de honingdauw erg vervuild door vervellingshuidjes en, iets later, door schimmels. Aan de andere kant wordt toch zo lang mogelijk gewacht om zoveel mogelijk honingdauw tegelijk te kunnen verzamelen. Een regelmatige controle van de luizenpopulaties is nodig om op het juiste moment de honingdauw te winnen. De kolonies worden met het gehele blad naar een nieuw kooitje overgezet, of, wanneer het blad al erg geel is, met een penseel overgebracht naar een nieuw blad. Als de kolonie hiervoor niet meer geschikt is, worden soms de oude adulten verzameld en met 10 samen in een kooitje gezet.

Voor het verzamelen van de honingdauw zijn twee methoden beproefd: 1. Het afkrabben van de hardgeworden honingdauwdruppels met een perspexplaatje. Dit is zeer arbeidsintensief, terwijl bovendien toch vrij veel honingdauw op het kooitje blijft zitten.

2. Het afwassen van de kooitjes. De kooitjes worden in zo weinig mogelijk water m.b.v. een penseel afgewassen. De honingdauw lost zeer snel op, maar een nadeel is dat toch een gedeelte van het water aan de kooitjes blijft hangen. Het waswater wordt gefiltreerd door kaasdoek (om vervellingshuidjes en grote stofdelen te verwijderen), diepgevroren in centrifugebuisjes en daarna drooggevroren aan een droogvriesapparaat. (zie figuur 3.3 en foto).

De hoeveelheid honingdauw blijkt te variëren tussen 0.052 en 0,188 mg honingdauw per luisdag, waarbij het aantal luisdagen van een kooitje het produkt is van het aantal ingezette luizen en het aantal dagen dat de populatie erin gezeten heeft.

3.2.2.4. De luizenkweek voor de fotosynthesemetingen.

Voor een van de proeven was een groot aantal even oude adulte aptere $Q\bar{Q}$ nodig. Op verschillende manieren zijn deze opgekweekt volgens het schema van tabel 3.1.:

-44-

Tabel 3.1. Schema volgens welk een groep even oude adulte aptere 00
 $++$

is gekweekt.

datum	alaten(uit een kweek als uitgangsmateriaal)	solitair opgekweekte apteren als uitgangsmateriaal
23-1	2 alaten per buisje laten hongeren($\pm 140x$)	apteren na 1 dag produktie verwijderd
24-1	2 alaten per kooitje inzetten	50 kooitjes, $4L_1$ per kooitje, $\pm 200 L_1$
25-1	alaten verwijderen, L_1 laten zitten	50 kooitjes, $4L_1$ per kooitje, $\pm 200 L_1$ $\pm 100L_1$ in kweek. Samen $\pm 500 L_1$.
1-2		adulten en L_1 uit kooitjes in kweek(vanwege geel worden v.h. blad)
2-2		deel v.d. L_1 uit kweek verwijderd(verder niet gebruikt)
5-2		luizen verzamelen en opbrengen op de planten v.d. proef
6-2		idem
7-2	± 90 apteren(niet gebruikt)	idem
	uitgangsmateriaal in kas	uitgangsmateriaal in klimaatkamer

verder opkweken van luizen in klimaatkamer(vanaf 23-1),omstandigheden beschreven eerder in dit hoofdstuk.

De apteren uit alaten verkregen waren opvallend veel kleiner dan die uit apteren verkregen. Uit ongeveer 100 alaten kregen we 90 apteren. Uit de $100L_1$ uit apteren die meteen in een kweek zijn gezet ongeveer 80 apteren. En uit $400L_1$ die eerst in kooitjes en daarna in een kweek zaten ongeveer 240 apteren. Het laatste lag vooral door het geel worden van het blad erg laag. Wanneer de L_1 niet op dezelfde bladeren waren blijven zitten waarop hun moeders waren opgekweekt, maar meteen waren overgezet was dit vermoedelijk veel beter gegaan.

Naar aanleiding van deze resultaten lijkt, rekening houdend met de hoeveelheid werk en het aantal verkregen apteren, de volgende methode het best voor het kweken van een groot aantal apteren: Uit een kweek worden jonge adulte apteren gehaald, waarvan de eerste jongen, bv. na een dag produktie, in hun eentje in een kooitje worden gezet. Wanneer deze adult zijn en een dag geproduceerd hebben worden de L_1 's in een kweek gezet, met hoogstens 80 à 100 L_1 's op 4 potten met elk 10 of meer planten.

3.2. GISTENKWEEK

De gisten die we gebruikten kregen we van de heer Fokkema van het Fytopathologisch laboratorium W C S. Het ging om de soort *Cryptococcus laurentii* var. *flavensis*.

3.3 BEHANDELEN VAN DE PLANTEN

3.3.1 Opbrengen van de honingdauw

Van de verzamelde honingdauw werd voor het opbrengen een oplossing in water van 10 gewichtsprocent honingdauw gemaakt. Dit werd met een micropipet van 5 of 10 μ l in druppels op het blad gebracht, en daarna met de vinger door voorzichtig strijken (om zo min mogelijk van het bladoppervlak te beschadigen) over het blad verspreid tot een zeer dun laagje. Bij de planten die meteen daarna voor de fotosynthesemetingen gebruikt werden, gebeurde dit terwijl het blad in de fotosynthesemeetkamer bevestigd was, in de andere gevallen gebeurde het in de kweekruimte van de planten. Wanneer slechts een deel van het blad werd behandeld, nl. ongeveer ter grootte van het deel dat in de fotosynthesemeetkamer moest worden gebracht, werd voor behandeling aan één kant 50 μ l opgebracht; wanneer het hele blad werd behandeld werd aan elke kant 100 μ l opgebracht. Om een indruk te krijgen welk deel van het oppervlak ongeveer met honingdauw was bedekt, werd het deel van het blad waar een zichtbaar (glimmend) laagje aanwezig was uitgeknipt en van dit en het overgebleven deel de oppervlakte bepaald met een planimeter. (zie ook foto's)

3.3.2. Opbrengen van de gisten.

Het opbrengen van de gisten gebeurde op twee manieren. In het ene geval werden de gistsporen opgelost in leidingwater en vermengd met evenveel voedingsoplossing. Het resultaat was een oplossing van 2% sucrose, 0.25% gistextract en 2.3×10^7 sporen per ml. Deze werd met een sporenverstuiver op beide kanten van het vlagblad gespoten. Dit is de makkelijkst uitvoerbare methode, maar er wordt veel oplossing verloren door naast het blad spuiten.

De tweede, zuiniger, methode werd toegepast wanneer gisten met honingdauw moesten worden opgebracht, omdat de voorraad honingdauw vrij beperkt was. De gisten werden hiertoe in een

concentratie van 2×10^7 sporen/ml opgelost, in een 10 gewichts% honingdauwoplossing en op dezelfde wijze als zuivere honingdauwoplossing met een mikropipet opgebracht. Per blad werd 50 ul opgebracht op de bovenkant.

3.3.3. Behandeling met luizen.

Per plant werden 5 adulte aptere luizen in een kooitje op het vlagblad gezet, terwijl op de controleplanten kooitjes zonder luizen werden bevestigd. De kooitjes waren van hetzelfde type als beschreven bij de luizen+honingdauwkweek, maar door het gebruik van veel groter planten was de bevestiging op de plant wat ingewikkelder. (zie figuur 3.4 en foto) De dag voor de meting werden de kooitjes en luizen verwijderd, en de luizen per plant en per stadium geteld en gewogen, opgesplitst naar adulten en larven.

3.4. BEPALINGEN.

3.4.1. Ontwikkelingsstadia.

De ontwikkeling van de planten is volgens twee schalen genoteerd. De eenvoudigste is de Feekesschaal (Large 1954), welke loopt van nul tot twaalf: in de eerste vijf stadia worden een aantal bladeren gevormd, tijdens stadium 6 tot tien strekt de pseudostengel zich en worden drie of vier nodiën zichtbaar, van stadium 10 t/m 10.5.4 komt de aar tevoorschijn, bloeit en raakt uitgebloeid en in de laatste stadia rijpen de korrels. Deze schaal hebben we gebruikt als het erom ging een stadium aan te geven waarin bijvoorbeeld de planten verplaatst werden of een proef werd uitgevoerd.

Bij de verouderingsproef waar we nauwkeuriger de stadia wilden aangeven en bovendien de getallen wilden kunnen middelen (dit kan theoretisch niet, maar klopt wel beter dan met de Feekesschaal), hebben we gebruik gemaakt van de decimale schaal (Zadoks et al. 1974). Deze schaal loopt van 00(inzaaien) tot 100(rijpe korrels)..

3.4.2. Vergeling en andere verschijnselen van veroudering.

Aan het eind van de ontwikkeling beginnen de bladeren van de plant te vergelen, eerst het onderste blad en als laatste het vlagblad. Dit proces begint vooral aan de punt en trekt langzamerhand naar de basis van het blad op. We meenden daarom dat een vrij redelijke maat voor de vergeling van het blad de verhouding tussen de lengte van het geel geworden deel (punt tot waar het blad nog minstens een halve breedte geel is) tot de totale lengte (punt tot ligula) van het blad is. (zie figuur 3.5 en foto)

Een aantal andere verschijnselen die op bleken te treden zijn met kodes aangegeven.

3.4.3. Oppervlakte en droge-stof bepaling van het vlagblad.

Voor verschillende proeven moesten oppervlakte metingen aan het vlagblad gedaan worden. Dit gebeurde m.b.v. een planimeter: een doorzichtige band wordt met een bepaalde snelheid tussen een lichtbron en een lichtmeter doorgevoerd; een hierop gelegd blad of ander voorwerp vermindert het doorkomende licht evenredig met zijn oppervlakte.

Om het drooggewicht te bepalen wordt het blad minstens 24 uur in een droogstoof bij 70°C gelegd en daarna gewogen.

3.4.4. Oogsten van de aar.

De aar wordt net onder het onderste aartje afgeknipt en daarna meteen gewogen om het versgewicht te bepalen. Na minstens 24 uur drogen bij 70 °C wordt het drooggewicht bepaald. Met behulp van een dorsmachine wordt het kaf van het koren gescheiden, zodat het aantal korrels per aar en het totaalgewicht van alle korrels in een aar bepaald kan worden. Dit laatste geeft het 1000 korrelgewicht.

3.4.5. Bepaling van de honingdauwproduktie tijdens de luizenproef.

De honingdauwproduktie van de luizen kan als volgt worden bepaald. Zowel kooitjes en bladeren waar luizen in/op hebben gezeten, alsook die waar geen luizen op zijn geweest, worden schoon-

gewassen. De vier potjes waswater worden afzonderlijk drooggevroren en gewogen. Dit geeft vier gewichten:

- A: was- en droogvriesprodukt van kooitjes waar geen luizen in hebben gezeten, bepaald door de hoeveelheid stof die erop terecht komt.
- B: was- en droogvriesprodukt van kooitjes waar wel luizen in hebben gezeten, bepaald door A + honingdauwproduktie van de luizen + extra stof dat aan de honingdauw blijft plakken.
- C: was- en droogvriesprodukt van bladeren waar geen luizen op hebben gezeten, bepaald door uitgespoelde stoffen uit het blad tijdens het wassen + stof.
- D: was- en droogvriesprodukt van bladeren waar wel luizen op hebben gezeten, bepaald door C + honingdauwproduktie + extra stof dat op de honingdauw blijft plakken.

Hoeveel van de honingdauw van de luizen op het blad en hoeveel op de kooitjes terecht komt, blijkt uit de verhouding tussen (B-A) en (D-C). De totale honingdauwproduktie wordt geschat door $(B - A) + (D - C)$ waarbij een kleine overschatting gemaakt wordt doordat waar honingdauw aanwezig is relatief meer stof blijft plakken.

Als controle wordt de hoeveelheid honingdauw op de kooitje op een tweede manier bepaald, namelijk door voor en na het wassen zowel de kooitjes waar wel als die waar geen luizen in hebben gezeten, te wegen en het verschil te bepalen. Men maakt hierdoor dezelfde bovengenoemde overschatting.

3.4.6. Bepaling van de saprofytische bladmycoflora.

Minstens 4 bladeren per behandeling worden gebruikt voor deze bepaling. Elk blad wordt na bepalen van de oppervlakte, in stukken geknipt en in 100 ml kraanwater gedurende een uur geschud in een schudmachine, zodat sporen, cellen en myceliumfragmenten van het blad losraken en in het water terecht komen. Deze suspensie wordt zodanig verdund dat uiteindelijk een nog wel telbaar, maar ook weer niet te klein aantal kolonies per plaat terechtkomen. Zonodig worden meerdere verdunningen gemaakt; dit varieert van verdunning 1 op 5 (10 ml suspensie bij 40 ml steriel water) tot 1 op 100 (0.5 ml bij 49.5 ml steriel water). Van elke nu verkregen verdunde suspensie, dus per blad, wordt op 2 PDA-agarplaten 1/10 ml uitgeplaat. Om opkomen van bacteriën te voorkomen werd 1ml van het antibioticum Vendacyl per 100 ml agar toegevoegd.

De platen worden bij 20 à 25 °C weggezet en na enige dagen bekeken; zo mogelijk worden de soorten genoteerd, en de kolonies geteld.

3.5. MEETAPPARATUUR.

3.5.1. Reflektie- en transmissiemetingen.

De hoeveelheid licht die een blad absorbeert is een maat voor het chlorofylgehalte van het blad en daarmee voor de veroudering. Een oud blad zal minder licht absorberen en dus meer reflekteren en/of doorlaten, dan een jong blad.

Het principe van de reflektiemetingen is dat licht binnen in een geheel witte bol op een blad schijnt, terwijl zich achter het blad een geheel zwart vlak, dat al het doorgelaten licht absorbeert, bevindt. In de bol is een lichtmeter aanwezig; uit het verschil bij meting als wel of geen blad in de bol aanwezig is, wordt de reflectie afgeleid. In het geval van de transmissiemetingen bevindt het blad zich tussen de lichtbron en de lichtmeter, zodat nu juist het doorgelaten licht wordt gemeten. De absorptie is nu $100\% - \text{reflectie}\% - \text{transmissie}\%$.

3.5.2. Fotosynthese-meetkamers.

Het principe van de fotosynthesemeting is dat door een afgesloten meetruimte, waarin de temeten bladeren zich bevinden, lucht met bekend CO₂-gehalte en vochtgehalte wordt gevoerd met bekende snelheid, waarvan na het passeren van de kamer eveneens CO₂- en vochtgehalte worden gemeten; het verschil tussen de gehalten vóór en ná passeren van de kamer is een maat voor fotosynthese en transpiratie van de bladeren.

De meetopstelling ziet er als volgt uit (zie schema in fig 3.6)

1. Gewone lucht zit in een drukvat bij 6 à 6.3 atmosfeer.
2. Hieruit wordt CO₂-vrije lucht gemaakt, door de lucht achtereenvolgens te voeren door een 40% KOH-oplossing ($\text{OH}^- + \text{CO}_2 \rightarrow \text{HCO}_3^-$), een luchtkamer voor terugvoeren van verdampt water, een H₂O-bad van 10°C, en opnieuw een luchtkamer.
3. Het gewenste CO₂-gehalte wordt verkregen door toevoeging van de benodigde hoeveelheid CO₂; dit gebeurt met behulp van flowmeters en -regelaars in de CO₂-vrije lucht- en de CO₂-

leidingen. Ook wordt op dezelfde manier ijk lucht gemaakt die 200 ppm CO_2 bevat. Het uiteindelijke CO_2 -gehalte wordt nauwkeurig gemeten met een infrarood analysator.

4. De luchthoeveelheid die per tijdseenheid door de kamer gaat, wordt geregeld met een pomp en een flowmeter.

5. Het vochtgehalte wordt geregeld door een deel van de lucht langs kokend water te voeren; welk deel dit is wordt geregeld door een kontaktthermometer die natte en drogeboltemperatuur van de lucht na watertoevoeging meet en terugkoppelt op magneetkleppen die beide leidingen(al of niet langs het kokende water) openen en sluiten.

6. De lucht wordt door de kamers gevoerd.

De hoeveelheid licht wordt geregeld met verschillende roosters zodat 0%, 15%, 30%, 50%, 75% en de volle lichtsterkte kan worden ingesteld.

7. Het vochtgehalte wordt met een psychrometer bepaald.

8. Het CO_2 -gehalte wordt met een infraroodanalysator bepaald.

9. De voor berekening + interpretatie essentiële grootheden worden op de recorder afgelezen, apart hiervan moeten 1x per proef de flowmeters voor luchtsnelheid en voor lucht- en CO_2 -menging, evenals de temperatuur van het waterbad van de psychrometers worden afgelezen.

Voor de metingen worden 4 vlagbladen, nog aan de plant, in de meetkamer gestopt. Van deze bladeren wordt na afloop de oppervlakte gemeten. Bij een deel van de proeven wordt de hele lichtreeks gemeten d.w.z. 0, 15, 30, 50, 75 en 100% licht, bij een deel worden 4 waarnemingen gedaan, d.w.z. bij 0, 15, 50, 100%.

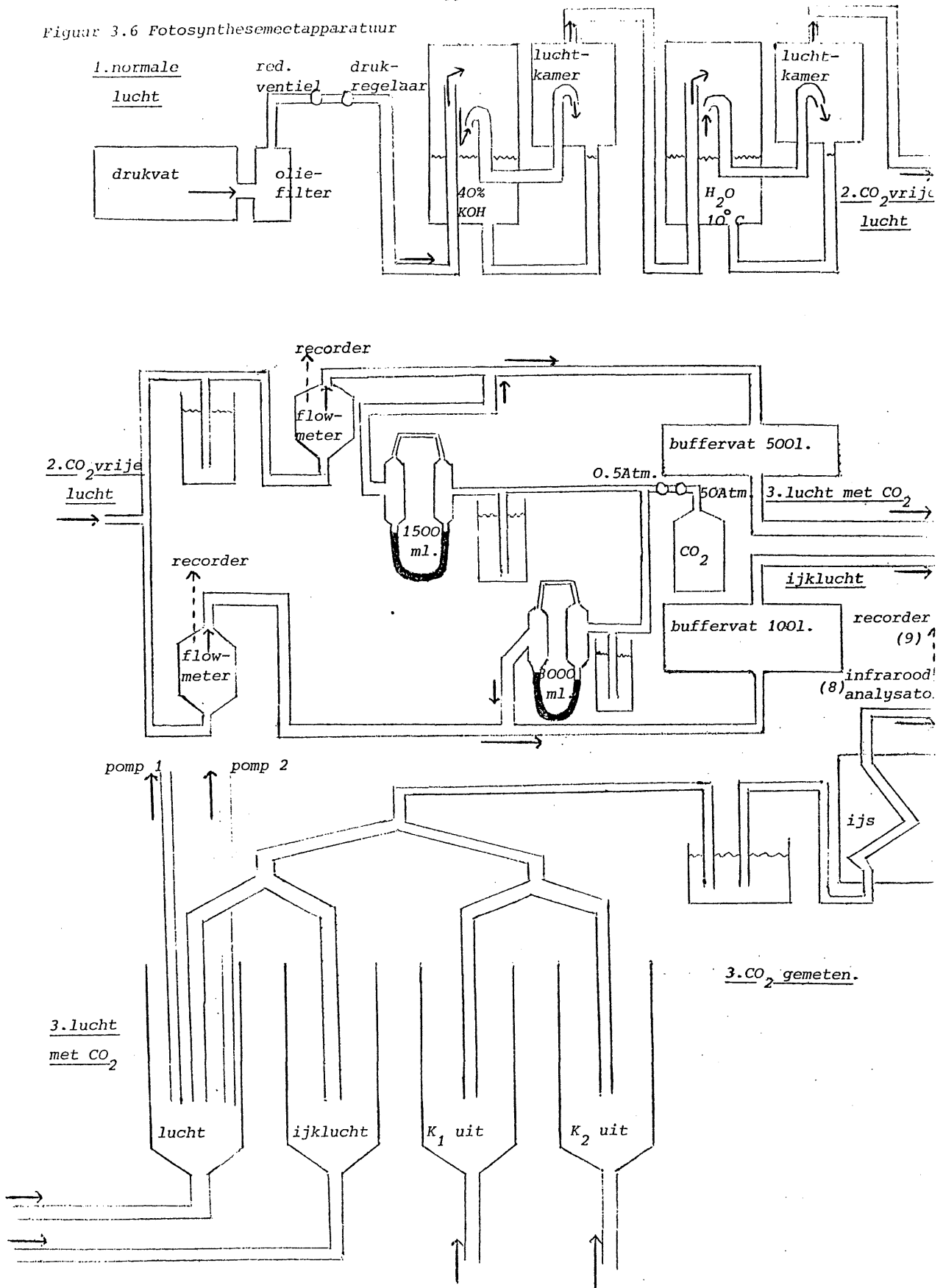
Voor omzetting van de op de recorder verschijnende getallen in bruikbare gegevens wordt een komputerprogramma gebruikt.

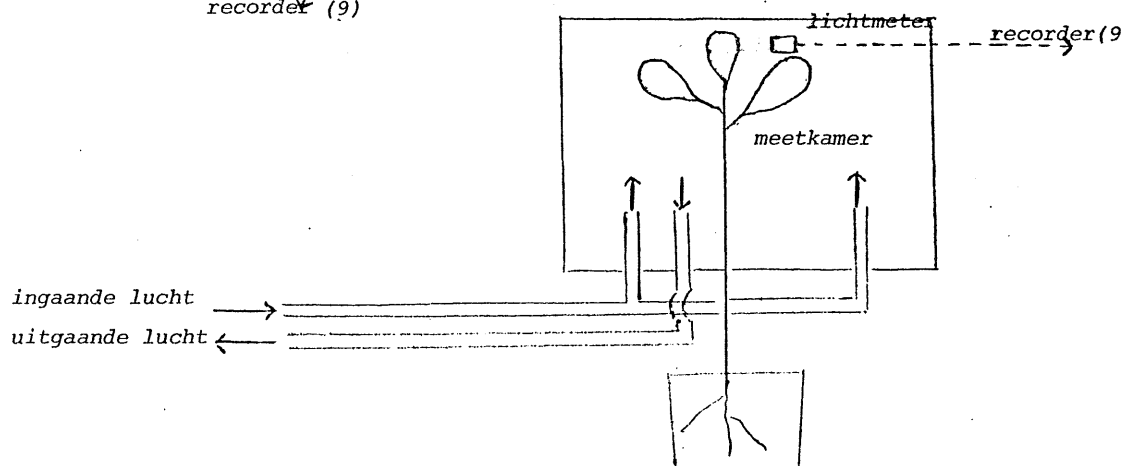
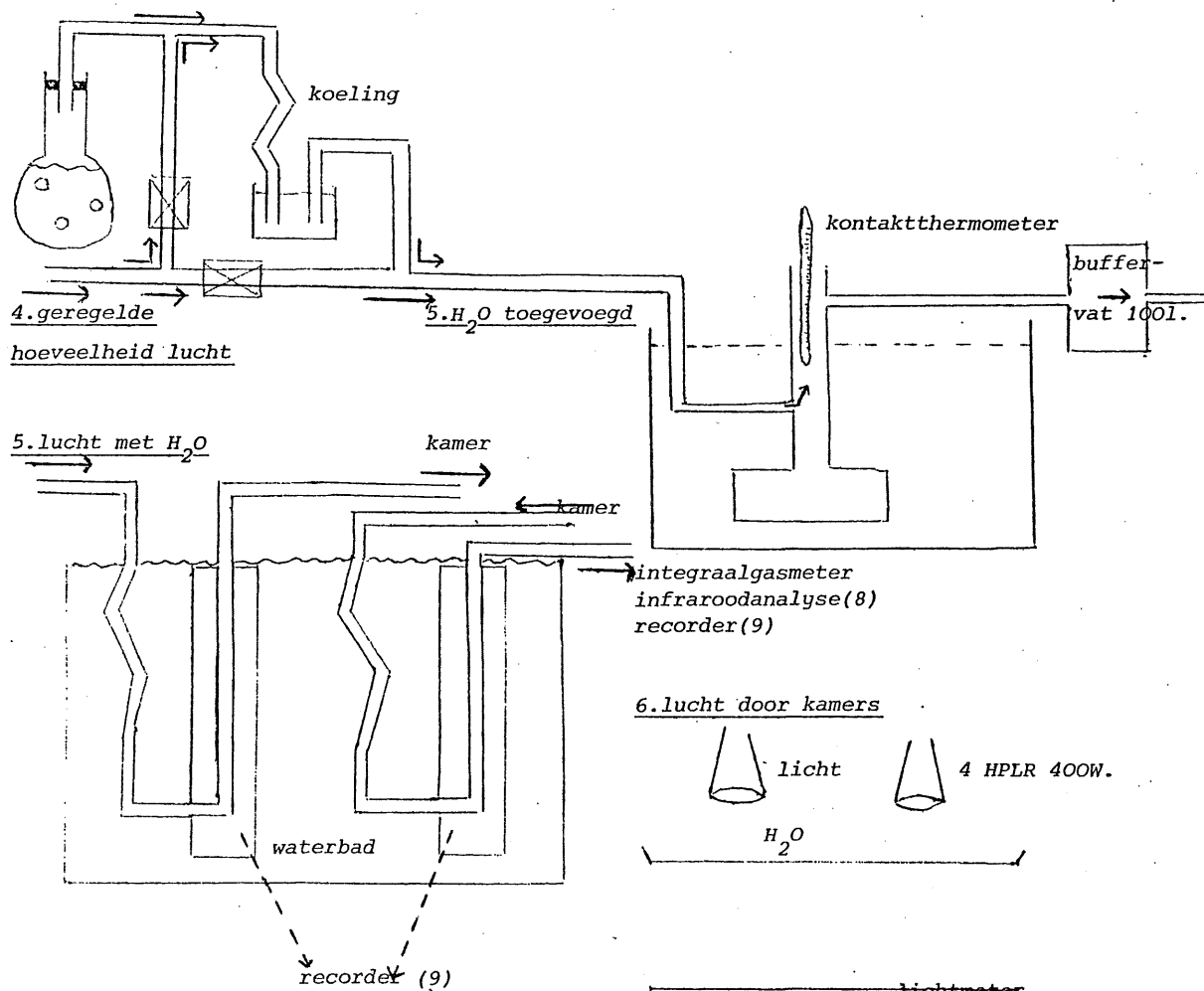
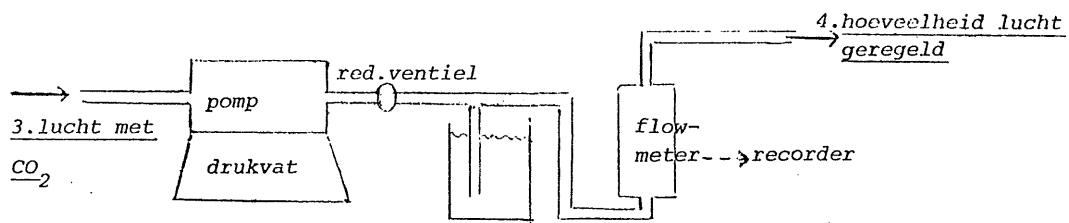
In dit komputerprogramma worden o.a. berekend:

1. De fotosynthese $\text{FOTOA} = P/A$ FOTOA =fotosynthese
 $P = PH * 1.82947732$ P =fotosynthese in de kamer
 $PH = DC * ALS * (1. + CF * 0.01)$ DC =daling CO_2 -concentratie in de kamer.
 ALS =luchtsnelheid
 CF =een correctiefaktor van de fotosynthese.

2. De transpiratie $TA = Q/A$
 $Q = (EV - EI) * 18.01 * 1000 * 3273.16 / (293.16 * 760 * 22.414) * ALS$
 $= (EV - EI) * 0.985129 * ALS$

Figuur 3.6 Fotosynthesemectapparaat





TA=transpiratie

Q=totale transp. in de kamer

EV=dampdruk uitgaande lucht

EI=dampdruk ingaande lucht.

3. Weerstand voor CO_2 - en watertransport.

-totale R voor H_2O $RV = 1039.6797 / ((273.16 + TB) * (EB - EV) / TA$

$EB = 0.47785421 * TB + 0.00050297202 * TB^{**3} +$

3.9280108

EB=verzadigings dampspanning bij TB

TB=bladtemperatuur.

stomataire H_2O -weerstand $RSH_2O = RV - 0.93 * RB$

RB=diffusielengte laminaire luchtlaag,
een inputgegeven, als konstante per
meetkamer beschouwd.

- R voor CO_2 -totaal $RCO_2 = 3.6 * (CCV - CO_2B) * A / PH$

$RSCO_2 = 1.65 * RSH_2O$

$RMES = RCO_2 - RSCO_2 - 1.29 * RB$

CCV= CO_2 -concentratie uitgaande lucht.

CO_2B = CO_2 -concentratie in blad.

3.5.3 De diffusieporometer.

Met een diffusieporometer meet men de snelheid van verdamping door een vast oppervlakte blad. Dit is een maat voor de openings-toestand van de huidmondjes. Het apparaat bestaat uit een ampère-meter, die een stroom I meet, die afhangt van de weerstand R van een lithiumchloridecel, welke laatste weer afhangt van het vocht-gehalte. Gemeten wordt de tijd die nodig is om de stroom een bepaalde hoeveelheid af te laten nemen, wat betekent dat de tijd gemeten wordt die het blad nodig heeft om een bepaalde hoeveelheid water te verdampen.

Met de diffusieporometer werden weinig metingen gedaan, welke ook niet verder werden uitgewerkt, omdat het apparaat niet goed bleek te functioneren.

4. Verwerking van de gegevens.

4.1. VERWERKING VAN DE FOTOSYNTHESECURVES.

4.1.1. INLEIDING.

De fotosynthese(-licht)curves voor individuele bladeren, als resultaat van de fotosynthesemetingen, kunnen beschreven worden door bijvoorbeeld de volgende 3 vergelijkingen:

1. De rechthoekige hyperbool. (de Wit 1965)

$$P_g = \frac{P_{g,max} \times \alpha \times I}{\alpha \times I + P_{g,max}}$$

Deze rechthoekige hyperbool resulteert in een wat langzaam en geleidelijk naderen van de fotosynthese naar een maximum met 'n toenemende lichtintensiteit.

2. De exponentiële curve,

$$P_g = P_{g,max} \left(1 - e^{-\frac{\alpha \times I}{P_{g,max}}} \right)$$

Vele metingen (Peat 1970) wezen erop dat de toename van 1 te langzaam is en dat de asymptotische exponentiële vergelijking een betere fit geeft. De asymptotische exponentiële vergelijking is meer lineair bij weinig licht dan de hyperbolische. Hierdoor kruist hij er overheen, terwijl de beginhoek kleiner is.

3. De niet-rechthoekige hyperbool. (Marshall 1978)

$$(P_n + R_d) P_g = \frac{\alpha \times I \times (P_{max} - \theta \times P_n)}{(1 - \theta) \times \alpha \times I + (P_{max} - \theta \times P_n)}$$

Marshall vindt dat de rechthoekige hyperbool bij de fotosynthesecurve de efficiëntie overschat, het maximum en de respiratie overschat en de fotosynthese in het buigingsgebied onderschat. Hij komt tot een nieuwe vergelijking: de niet-rechthoekige hyperbool. M.b.v. deze functie vindt hij gefitte curves die sterk overeenkomen met de gemeten waarden.

4.1.2. AFKORTINGENLIJSTJE.

P_g	bruto fotosynthese ($=P_n + R_d$)	(kg CO ₂ ha ⁻¹ h ⁻¹)
P_n	netto fotosynthese	"
R_d	respiratie	"
$P_{g,max}$	bruto fotosynthese bij lichtverzadiging	"
P_{max}	maximale waarde van de fotosynthese	"
I	straling	(J m ⁻² s ⁻¹)
α	efficiëntie (helling in het begin van de curve)	
θ	parameter (helling op de "schouder" van de curve)	

De fotosynthesemetingen werden gedaan met een tweeërlei doel:

- Het vergelijken van de fotosynthesecurves van de onbehandelde en behandelde vlagbladeren. Dus in feite met als doel een eventueel effect van de opgebrachte honingdauw (resp. gisten, luizen, honingdauw+gisten) op de fotosynthese aan te tonen.
- Het vinden van waarden voor α en $P_{g,max}$ voor de diverse behandelingen om later op deze manier het effect van de diverse factoren in het gewasgroei/luizen model te kunnen inbouwen.

Om dit tweeërlei doel te bereiken werden de volgende methoden gebruikt:

Methode 1. Schatten van α en $P_{g,max}$ uit de grafiek.

Van de eerste 4 fotosynthese metingen werden de fotosynthesecurves getekend (zie figuur 4.1). Hieruit zou men de α en $P_{g,max}$ kunnen schatten. Vergelijking van de curves zou geven:

--- $P_{g,max}$ 12322 > 12323 > 12324 > 12321
 --- α 12324 > 12323 > 12322 > 12321

Omdat dit zou betekenen dat van elke fotosynthese meting de fotosynthesecurve getekend zou moeten worden, wat erg veel tijd kost en omdat deze methode ons erg subjectief overkwam, zochten we naar iets beters.

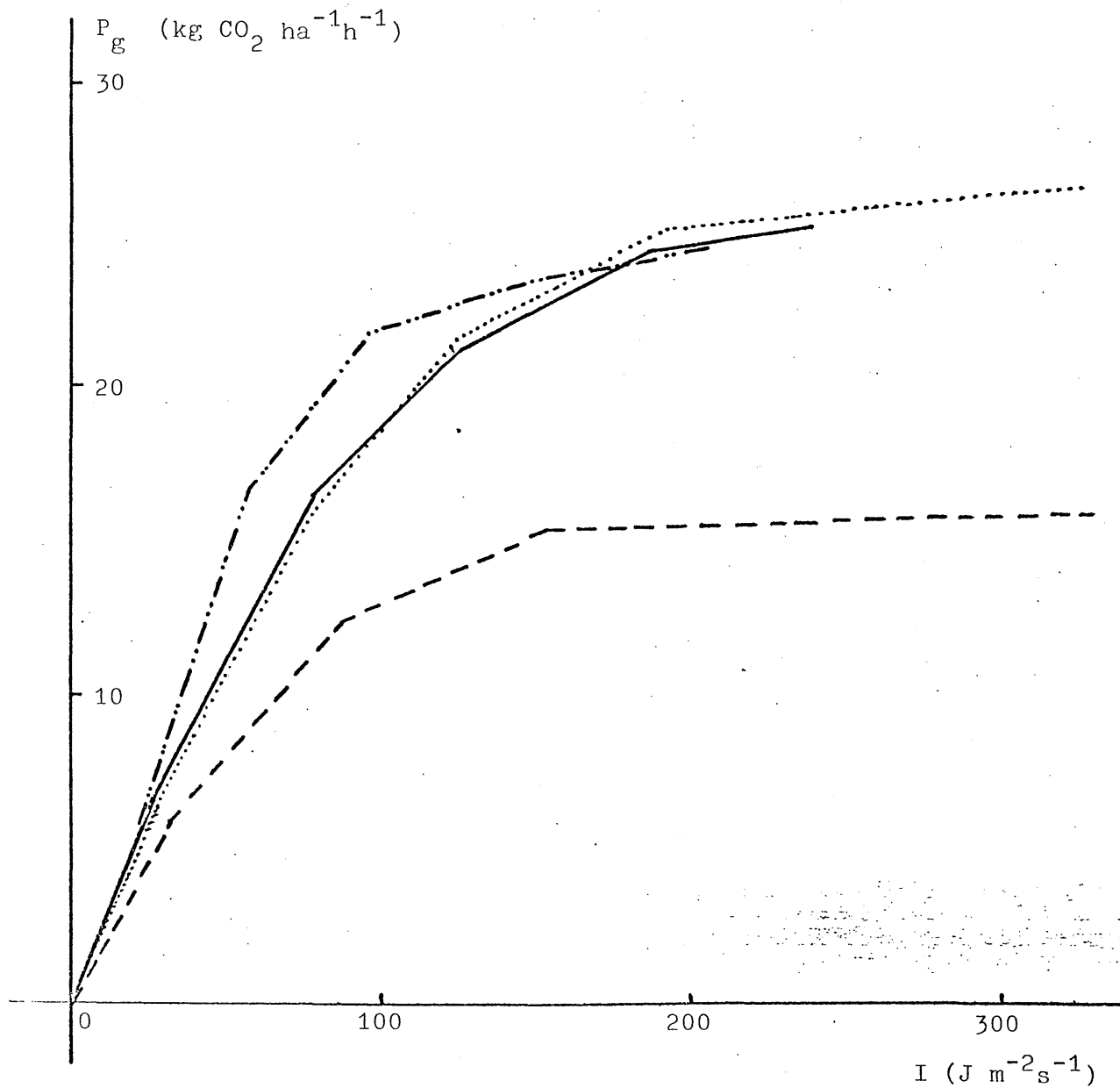
Methode 2. Lineaire vergelijking van hyperboolfunctie.

Gaat men ervan uit dat de fotosynthesecurve beschreven wordt door een rechthoekige hyperbool (zie voor de vergelijking de inleiding), dan verkrijgt men door in een grafiek $\frac{1}{P_g}$ tegen $\frac{1}{I}$ uit te zetten een rechte lijn.

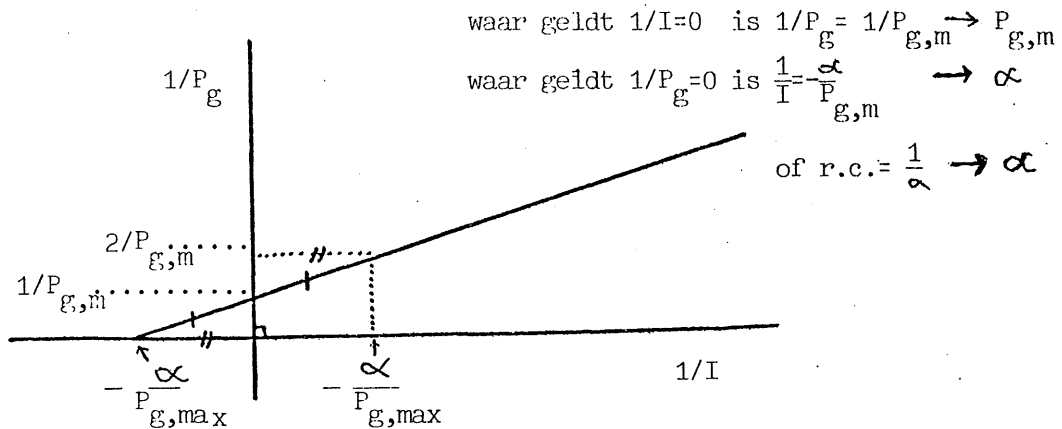
Deze wordt beschreven door de vergelijking: $\frac{1}{P_g} = \frac{1}{P_{g,max}} + \frac{1}{\alpha I}$

Figuur 4.1. Enkele gemeten fotosynthesecurves, die gebruikt worden om op verschillende manieren de bijbehorende parameters te schatten.

----- proefnr. 12321
 proefnr. 12322
 ————— proefnr. 12323
 -.-.-.-.- proefnr. 12324.



Figuur 4.2. Omkering van een rechthoekige hyperbool.



De grafiek (zie figuur 4.2.) respektievelijk de vergelijking geeft dus α en $P_{g,max}$. Deze lijn kan men vinden door lineaire regressie toe te passen op de $(1/I, 1/P_g)$ punten. In principe is deze methode onjuist, omdat bijvoorbeeld de lage P_g -waarden veel sterker de richting van de regressielijn bepalen dan de hoge P_g -waarden. Om een indruk te krijgen hoe de waarden ongeveer liggen, hebben we deze methode op enkele metingen toch toegepast. De resultaten van deze lineaire regressie zijn te vinden in de grafieken van figuur 4.3. en tabel 4.1.

Tabel 4.1. Schattingen van maximum en efficiency van enkele gemeten lichtcurves d.m.v. methode 2 (omkering en lineaire regressie).

Proefnr.	Regressielijn	$P_{g,max}$	α	correlatie coëfficiënt
12321	$1/P_{g,max} = 0.00449 \times 0.38/I$	222.8	2.65	0.992
12322	$= 0.00216 \times 0.35/I$	462.8	2.88	0.997
12323	$= 0.00220 \times 0.33/I$	454.1	3.00	0.998
12324	$= 0.00123 \times 0.37/I$	812.3	2.73	0.989

Vergelijking van de resultaten van de lineaire regressie met de fotosynthesecurves, laat zien dat de verhoudingen van de parameters anders liggen: $P_{g,max}$ 12324 > 12322 > 12323 > 12321
 α 12323 > 12322 > 12324 > 12321

Duidelijk is dat de $P_{g,max}$ helemaal niet overeenkomt met wat men uit de fotosynthesecurve zou verwachten en dus niet bruikbaar is.

Methode 3. Oppervlakte bepaling onder de fotosynthesecurves.

Ook bij deze methode zou van elke meting de fotosynthesecurve getekend moeten worden. Daarbij komt nog dat het tellen van de hokjes op het grafiekpapier een tijdrovend karwei is. Het resultaat is dan dat we wel de verschillende behandelingen kunnen vergelijken, maar van het schatten van de waarden van α en $P_{g,max}$ (en deze afzonderlijk vergelijken) is echter geen sprake.

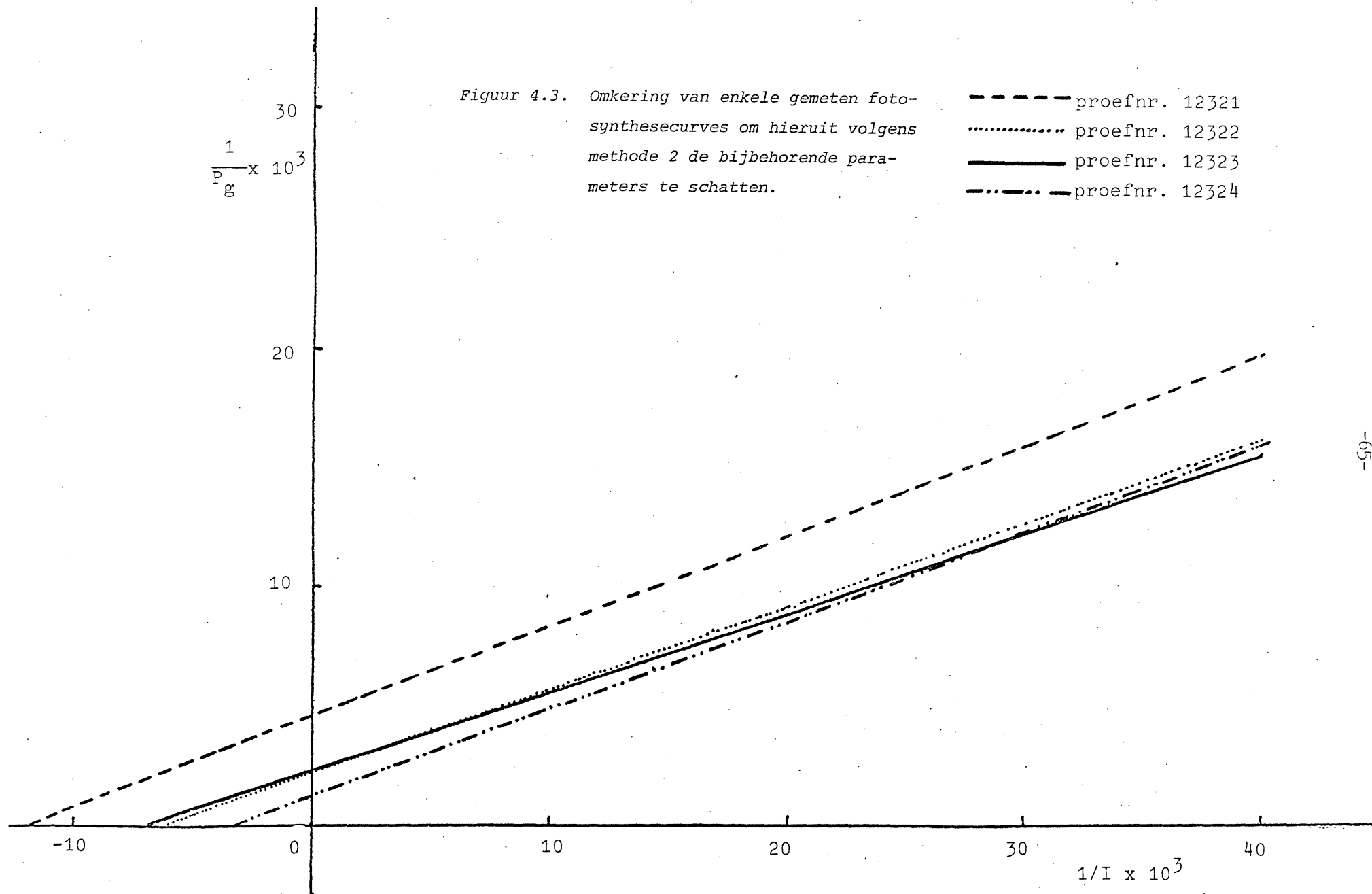
Methode 4. Berekening Daily Total Netto CO_2 - assimilation.

C.T. de Wit bracht ons op het idee om m.b.v. een bestaand programma (titel: CROPPHOT MODIFIED zie Bijlage 4) de fotosynthese op een standaarddag te berekenen. Hierbij worden dan de gemeten fotosynthese-licht punten gebruikt als basisgegevens. Door integratie verkrijgt het programma voor elk moment van de dag 'n fotosynthese-waarde. De straling op de standaarddag (bewolkt en onbewolkt) is een gegeven en is afgebeeld in grafiek 4.4. Hieruit kunnen we afleiden dat we aan de resultaten van de heldere dag weinig waarde kunnen hechten (hier is gedurende de lichtperiode de straling grotendeels groter dan $200 J \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$).

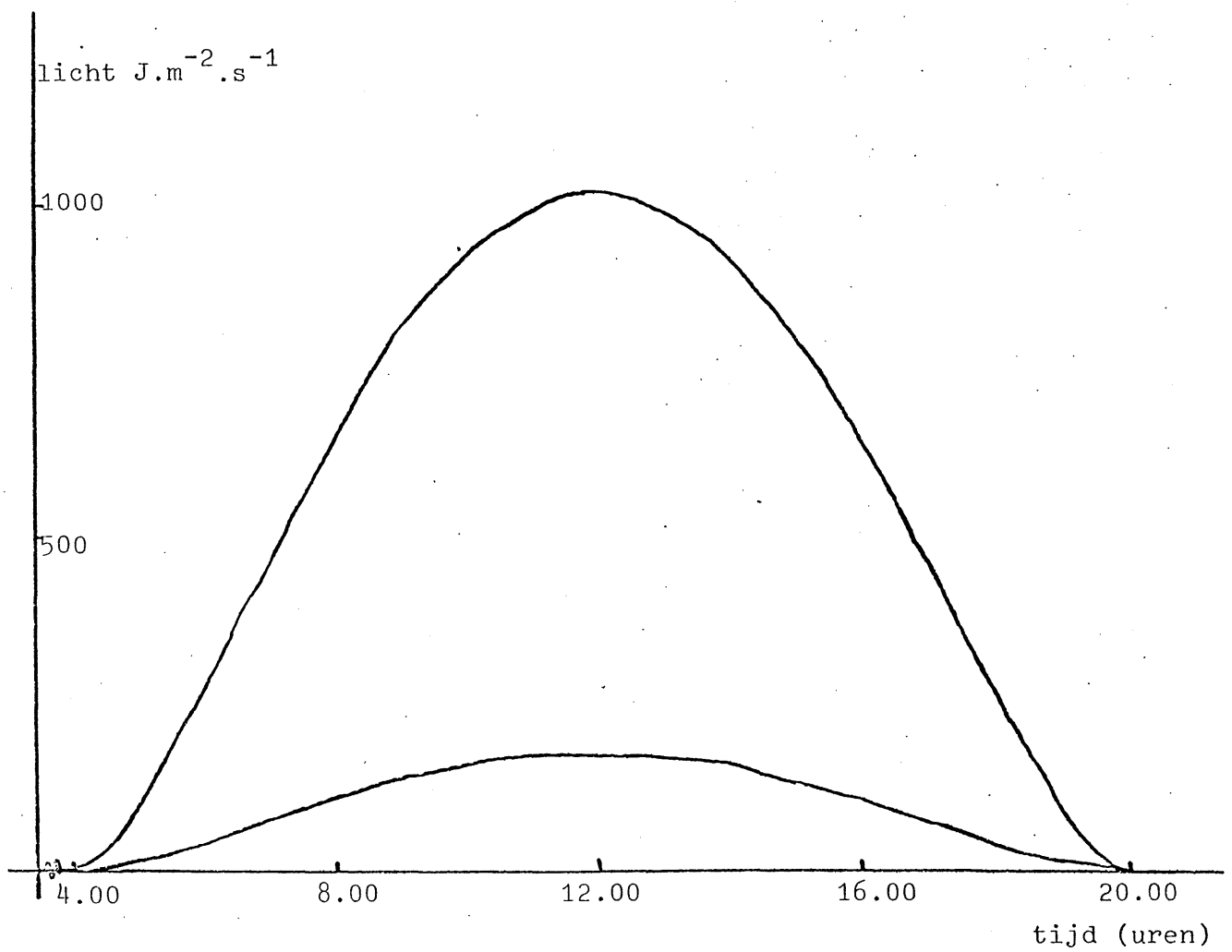
Dit is een erg snelle methode om de diverse fotosynthesecurves te vergelijken. Het verkrijgen (en vergelijken) van α en $P_{g,max}$ -waarden is niet mogelijk. Vanwege de eenvoud en snelheid van de methode wordt besloten om op deze manier voor alle fotosynthesemetingen de DGCC en DGC0 (Daily Net CO_2 -assimilation Clear (resp. Overcast) Sky in $J \cdot m^{-2} \cdot dag^{-1}$) te berekenen.

Methode 5. Curve-fitting: MINIQAD

MINIQAD is een standaardprogramma om sommen van kwadraten van niet lineaire functies te minimaliseren. Het programma heeft 4 verschillende methoden om tot een beste fit te komen (zie literatuurlijst: MINIQAD). Aloys Oostrik (Rekencentrum LH) zocht voor ons naar de beste methode. Geen enkele kwam echter tot een redelijke beschrijving van de fotosynthesecurve. Dit voor alledrie de functies. (voorbeeld zie bijlage 4).



Figuur 4.4. Het berekende stralingsverloop op een heldere en op een bewolkte standaarddag.



Methode 6. Curve-fitting:OPTPAC

Ook OPTPAC is zoals MINQUAD een programma om sommen van kwadraten van niet lineaire functies te minimaliseren. De volgende tabel laat enkele van de beste resultaten zien die Aloys Oostrik voor ons kon bereiken (zie tabel 4.2):

Tabel 4.2. Schattingen van de parameters van een gemeten fotosynthese-curve volgens verschillende methodes.

	F	α	$P_{g,max}$	θ
niet rechthoekige hyperbool	4771	1.47	98.4	1.30
„ „ „ „ „ „	36	603.00	457.8	46.50
rechthoekige hyperbool	300	3.41	196.5	-
exponentiële functie	60	2.60	162.5	-
lineaire regressie	-	2.65	222.8	-
geschat vanuit de grafiek	-	1.90	150.0	-

Voor de proefnummers 12321t/m 12328 werd de $P_{g,max}$ en de α volgens de OPTPAC-methode voor de exponentiële functie bepaald (zie figuur 4.5). Voor de gemeten P_g -I waarden (fotosynthesecurve naar de oorsprong gebracht, zodat hier hogere getallen uitkomen dan in hoofdstuk 5 staan genoemd) werd de DGCC en DGCO uitgerekend. Zo ook voor de P_g -I waarden die m.b.v. de gevonden α en $P_{g,max}$ en de exponentiële functie uitgerekend werden. Deze DGCC/DGCO waarden verschilden erg weinig; bij de gefitte curve liggen ze iets hoger. De DGCC/DGCO waarden liggen wel veel hoger dan de oorspronkelijk berekende waarden (methode 4) waar de respiratie nog meegerekend werd.

Men zou mogen concluderen dat de gefitte en de oorspronkelijke curve sterk overeenkomen, maar omdat het fitten van de curve tevens waarden geeft voor de α en $P_{g,max}$ zou aan methode 6: OPTPAC de voorkeur moeten worden gegeven.

Uit methode 4 bleek er effect te zijn van het opbrengen van honingdauw op de fotosynthese (zie hoofdstuk 5). Om nu een idee te krijgen of dit verschil in DGCC/DGCO het gevolg is van een verschil in α en/of $P_{g,max}$ berekenen we voor deze fotosynthesecurve alsnog deze parameters volgens methode 6. Vergelijken we de resultaten (zie tabel 4.3) hiervan met de getekende curves

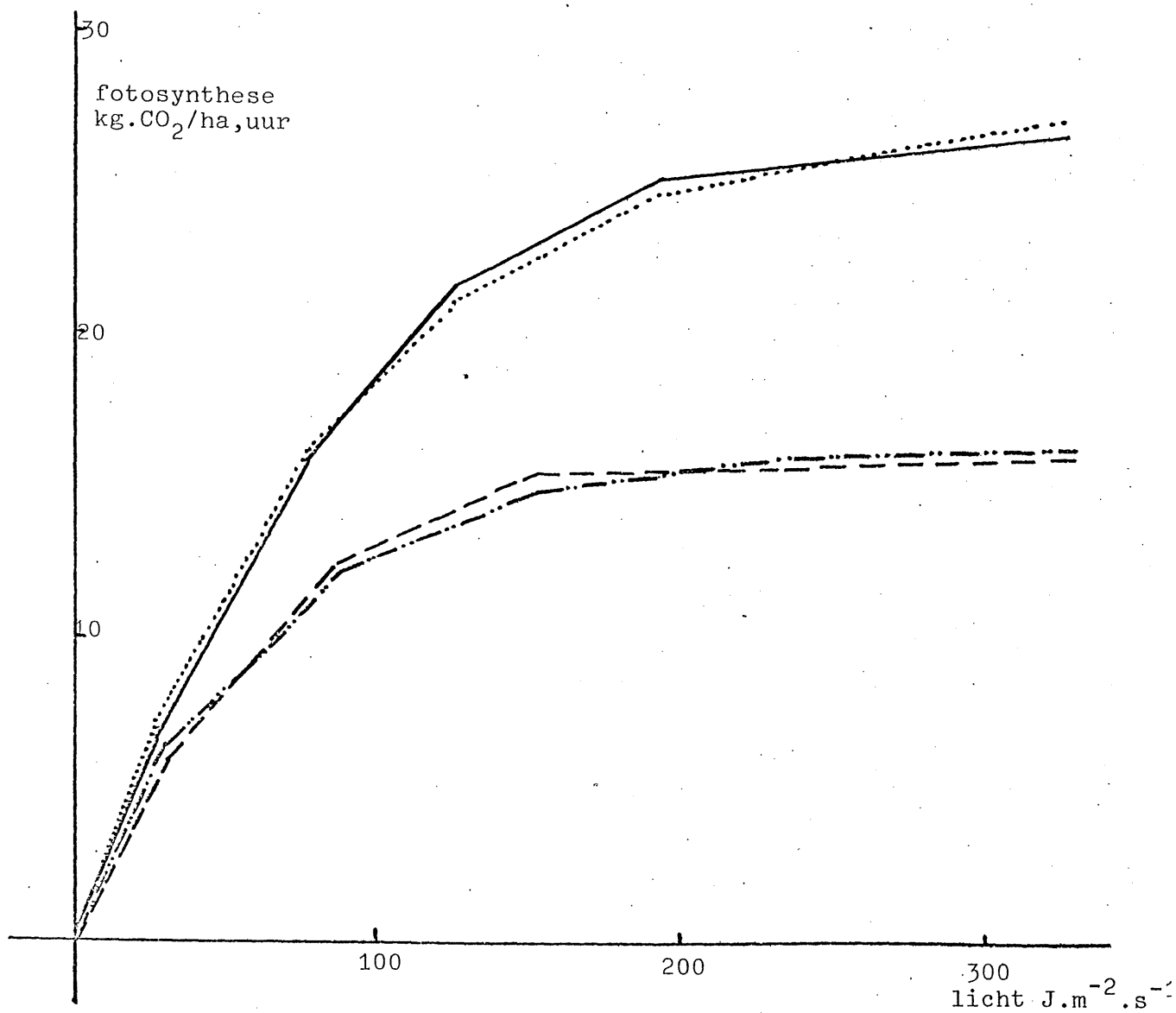
dan zien we dat de verhoudingen en grootte van de waarden van α en $P_{g,max}$ goed overeenkomen.

Voor de verdere verwerking van de gegevens zie de diverse hoofdstukken.

Figuur 4.5.

Fotosynthesecurves berekend uitde volgens methode 6 (Optpac) gevonden parameters van een exponentiele curve. Ter vergelijking zijn de gemeten curves erbij gegeven.

—	=12321	gecorrigeerd
- - -	=12321	OPTPAC F=60
—	=12322	gecorrigeerd
.....	=12322	OPTPAC F=132



Tabel 4.3 Schattingen van fotosynthesecurves en bijbehorende parameters volgens methode 6(OPTPAC).

PROEFNR	LICHT(I)	P _g (gemeten)	P _g (optpac)	F	DGCO/DGCC (gemeten)	DGCO/DGCC (optpac)	max
12321	0.0	0.0	0.0	60	1071.2	1100.0	162.5 2.60
onbeh.	31.4	59.6	64.2		1853.1	1871.4	
	87.2	123.6	122.2				
	152.8	153.7	148.4				
	236.6	156.3	158.8				
	330.1	160.0	161.7				
12322	0.0	0.0	0.0	132	1452.8	1517.4	279.1 3.13
onbeh.	26.8	65.4	75.2		2878.2	2919.9	
	77.5	159.4	162.1				
	125.1	215.9	247.3				
	193.6	251.9	247.3				
	327.2	267.1	272.0				
12323	0.0	0.0	0.0	54	1491.8	1522.3	274.0 3.18
onbeh.	26.0	66.0	71.4		2818.8	2849.0	
	78.0	164.1	163.2				
	125.5	212.6	210.1				
	185.3	244.6	242.1				
	239.7	253.6	257.0				
12324	0.0	0.0	0.0	751	1822.2	1836.1	260.4 4.26
onbeh.	19.2	48.1	70.2		2956.5	2990.6	
	57.2	166.1	158.2				
	97.1	218.4	207.2				
	147.7	235.1	237.2				
	205.3	245.9	251.3				
12325	0.0	0.0	0.0	361	977.92	1052.3	163.0 2.44
HDBD	32.0	50.4	62.0		1774.7	1843.4	
	91.8	126.3	121.8				
	157.4	155.0	147.6				
	236.6	163.4	158.3				
	322.7	150.6	161.7				
12326	0.0	0.0	0.0	257	1147.0	1233.1	246.6 2.49
HDBD	29.8	50.5	64.1		2420.1	2473.6	
	84.9	145.1	142.0				
	141.5	194.1	187.5				
	212.0	218.2	217.6				
	291.5	229.2	233.6				
12327	0.0	0.0	0.0	266	1616.6	1660.4	281.1 3.55
HDBD	26.5	66.1	80.0		3002.5	3032.7	
	76.5	181.3	174.1				
	127.5	228.5	224.9				
	211.8	261.6	261.7				
	273.5	269.1	272.2				
12328	0.0	0.0	0.0	342	1833.0	1556.5	250.0 3.35
HDBD	18.9	40.6	55.9		2802.3	2691.5	
	57.1	176.5	133.7				
	98.1	192.2	182.9				
	150.3	214.9	216.6				
	200.4	229.6	233.0				

4.2. BEREKENINGEN: GEMIDDELDEN, STANDAARDAFWIJKINGEN EN TOETSEN

Een aantal berekeningen zijn uitgevoerd met behulp van een programmeerbare rekenmasjien (Hewlett Packard 65):

1. Gemiddelde en standaardafwijking.

Uit de reeks getallen x_1 t/m x_n wordt het gemiddelde berekend volgens de formule: $\bar{x} = 1/n \cdot \sum_{i=1}^n x_i$ en de standaardafwijking volgens: $s_x = \sqrt{(\sum x_i^2 - n\bar{x}^2) / (n-1)}$

2. t-toets voor 2 gemiddelden.

Getoetst wordt de nulhypothese dat 2 gemiddelden gelijk zijn:

$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$. Uit de 2 getallenseries x_1 t/m x_n en y_1 t/m y_n worden de gemiddelden $\bar{x}$ en $\bar{y}$ berekend als bij 1.

Verder wordt de t-waarde berekend:

$$t = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{(1/n_1 + 1/n_2) \cdot (\sum x_i^2 - n_1 \bar{x}^2 + \sum y_i^2 - n_2 \bar{y}^2) / (n_1 + n_2 - 2)}}$$

Deze t-waarde heeft een t-verdeling met $n_1 + n_2 - 2$ vrijheidsgraden. (Brownley K.A. et al.)

3. Spearman's rangkorrelatiecoëfficiënt.

Getoetst wordt de nulhypothese dat 2 verdelingen X en Y onafhankelijk zijn.

Berekend wordt $D_i = R_i - S_i = \text{rangnr. van } x_i - \text{rangnr. van } y_i$

De rangkorrelatiecoëfficiënt $r_s = 1 - 6 \sum D_i^2 / n(n^2 - 1)$, deze varieert tussen -1 en 1.

$z = r_s \sqrt{n-1}$, een standaardnormale variabele als n groot is ($n > 10$) (Gibbons J.D.)

Voorwaarde voor het gebruik van de t-toets is dat de waarnemingen normaal verdeeld zijn, terwijl de Spearman-toets een parametervrije methode is.

4.3. RELATIEVE LUCHTVOCHTIGHEID

De rel. luchtvochtigheid tijdens de fotosynthesemetingen wordt opgezocht in een 'Aspirationspsychrometertafeln' m.b.v. natte en droge boltemperatuur. De natteboltemperatuur wordt uit de recorderaflezing berekend.

5. Effekt van honingdauw op de fotosynthese

5.1 INLEIDING

Het is niet onwaarschijnlijk dat een suikerachtige substantie als honingdauw op een of andere wijze direkt de fotosynthese van het blad beïnvloedt. Er zijn verschillende hypothesen op te bouwen over de wijze waarop de honingdauw invloed zou kunnen uit oefenen. Men kan zich bv. voorstellen dat een laagje op het blad een deel van het licht dat normaal tot het blad doordringt absorbeert of weerkaatst, een bepaald percentage van het normaal door het blad opgenomen licht dringt nu door. Een dergelijk effect zou in fotosynthesemetingen tot uiting kunnen komen doordat de lichtgrafiek naar rechts wordt uitgerekt.

Een tweede mogelijkheid is dat de diffusiesnelheid van CO_2 en O_2 verlaagd wordt. Om toch voldoende gasuitwisseling te kunnen handhaven en de CO_2 -konsentratie in de substomatale holte konstant te houden, zouden de huidmondjes verder open kunnen gaan staan. Maar de maximale openingstoestand wordt op deze wijze eerder bereikt, waardoor de fotosynthesesnelheid bij lagere lichtintensiteit een maximum bereikt.

Een laatste voor de hand liggend werkingsmechanisme zou zijn dat de bewegingen van de sluitcellen van de huidmondjes bemoeilijkt worden; hierdoor zouden de huidmondjes trager of misschien helemaal niet meer reageren op een verhoogde vraag naar CO_2 van de fotosynthetiserende cellen.

Wanneer het effect op de fotosynthese van de honingdauw via de gasuitwisseling verloopt, moet er ook rekening mee worden gehouden dat er mogelijk kompensatie optreedt op plekken van het blad waar geen honingdauwlaagje opzit. Verder kan het zijn dat verschillende mechanismen tegelijk werkzaam zijn.

Geprobeerd wordt in deze proef inzicht te krijgen in het mogelijke direkte effect van een honingdauwlaagje op de fotosynthese van het vlagblad. Ten eerste zal worden gekeken welk effect er is, dit afhankelijk van waar het laagje zit (boven- of onderkant van het blad), en van de luchtvochtigheid tijdens de meting. Ten tweede zullen we inzicht proberen te krijgen in het werkingsmechanisme van het gevonden effect, m.b.v. berekening van maximum en efficiency van de lichtgrafieken en diffusieweerstanden voor CO_2 -transport.

5.2. MATERIAAL EN METHODE

Er worden fotosynthesemetingen gedaan met de in hoofdstuk 3.5.2 beschreven apparatuur. De planten voor de metingen komen uit groep A. Ze zijn onder zoveel mogelijk gelijke omstandigheden en zoveel mogelijk vrij van ziekten en plagen opgekweekt om alles wat fotosynthese kan beïnvloeden uit te sluiten of konstant te houden.

De honingdauw voor de behandeling wordt door onszelf opgebracht (zie hoofdstuk 3.3.1 voor de methode), om een eventueel effect van de luizen uit te sluiten. Wanneer men honingdauw door luizen laat opspuiten is het onmogelijk om een goede blankobehandeling te maken; bovendien blijkt dat er wanneer luizen in kooitjes op het blad worden gezet nauwelijks honingdauw op het blad maar voornamelijk op het kooitje terecht komt (zie hoofdstuk 8). Een nadeel van onze methode is dat je niet weet of je een soortgelijk laagje aanbrengt als de luizen doen. Een ander nadeel is dat het uitsmeren van de honingdauw het blad mechanisch zou kunnen beschadigen. Er is geprobeerd om een methode te ontwerpen waarbij honingdauw in een laagje kon worden aangebracht zonder risico op beschadiging, maar dit lukte niet omdat het steeds in druppels op het blad bleef liggen i.p.v. tot een laagje uit te vloeien. De blankobepalingen van deze metingen zijn geheel onbehandeld (ook niet met water).

Hoewel het vanwege de grote tijdsbesparing aantrekkelijk zou lijken (zie hoofdstuk 3.2.2 voor methode van verzamelen) wordt geen nagemaakte honingdauw gebruikt. De reden hiervan is dat de samenstelling van honingdauw niet precies bekend maar in elk geval vrij ingewikkeld is. En hoewel men veronderstelt dat een suikeroplossing een goede vervanging zou zijn, mag men er toch niet bij voorbaat van uitgaan dat deze precies dezelfde effecten op het bladoppervlak heeft als honingdauw.

Na de metingen wordt bepaald welk deel van het bladoppervlak ongeveer met honingdauw bedekt is door uitknippen van dat deel van het blad waar een duidelijk, glimmend laagje op aanwezig is en dit met de planimeter te meten. Gemiddeld blijkt dit ongeveer 60% te zijn. Dat er nog wel verschillen zijn per behandeling blijkt uit tabel 5.1.

Hoeveel procent van de huidmondjes is bedekt, werd berekend uit de getelde aantallen huidmondjes, d.w.z. 3700 per cm^2 aan de

onderkant en 5600 per cm^2 aan de bovenkant, dus totaal 9300 per cm^2 blad (vgl. diktaat plantenfysiologie LH:1400 onder en 3300 boven).

Tabel 5.1. Het met honingdauw bedekte deel van het oppervlak en van de huidmondjes bij de vier verschillende behandelingen.

beh.	%v.h.opp.met honingdauw	%v.d. huidm. met honingdauw
HDBD	46	28
HDOD	84	33
HDBW	62	38'
HDOW	85	33'

Aan de onderkant blijkt met een gelijke hoeveelheid honingdauw een groter oppervlak ingesmeerd te worden, waarschijnlijk door andere structuur van het oppervlak en dunnere minder vette cuticula. Toevalligerwijs wordt door het kleinere aantal huidmondjes aan de onderkant toch een ongeveer even groot deel van de huidmondjes bedekt. Alleen tussen HDBD en HDBW ligt wat dit betreft een wat groter verschil: bij de metingen na een week was een groter deel van de huidmondjes bedekt dan na een dag.

Hiermee moet bij interpretatie van de resultaten rekening worden gehouden.

Overzicht van de behandelingen:

1. Blankobepaling (afgekort onbeh.), deze werd in totaal 16 keer uitgevoerd. De aangevoerde lucht werd op drie verschillende luchtvochtigheden ingesteld, nl. bij 4 metingen op 40%, bij 8 op 60%, en bij 4 op 80 %.
2. Honingdauwlaagje op de bovenkant van het blad, meteen na behandeling gemeten (afgekort HD-B-D). Deze meting werd 8 keer uitgevoerd, met de helft van de voor blankometing gebruikte bladeren. Dit kwam er op neer dat 's ochtends de onbehandelde bladeren werden gemeten, tussen de middag de bladeren behandeld werden, en 's middags weer gemeten. Er werd bij dezelfde vochtigheden gemeten als 1.
3. Honingdauwlaagje op de onderkant van het blad, meteen na behandeling gemeten (afgekort HD-O-D). Deze meting werd als 2. uitgevoerd met de andere helft van de voor blankobepaling gebruikte planten.

'Berekening na een week zal enigszins een overschatting zijn omdat, zoals uit scanningfoto's blijkt, een deel van de huidmondjes in de laag vrijkomt.

4. Honingdauwlaagje op de bovenkant van het blad, een week na behandeling gemeten (afgekort HD-B-W). Deze meting werd 8 keer uitgevoerd, hetgeen niet met dezelfde bladeren als 2. kon gebeuren omdat na meting het blad voor droge stof- en oppervlaktebepaling moest worden gebruikt. Wel werden dezelfde 3 luchtvochtigheden van de ingaande lucht ingesteld.

5. Honingdauwlaagje aan de onderkant van het blad, een week na behandeling gemeten (afgekort HD-O-W). Eveneens 8 keer, en met 3 luchtvochtigheden uitgevoerd.

5.3. VERWERKING VAN RESULTATEN.

De verschillende gemeten waardes worden tijdens de meting op recordervellen geregistreerd. M.b.v. een komputerprogramma (zie hoofdstuk 3.5.2) worden hieruit o.a. de volgende dingen berekend:

- de verschillende lichtintensiteiten waarbij gemeten is (in $\text{J.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)
- fotosynthese per cm^2 bladoppervlak bij elke lichtintensiteit, uitgedrukt in kg CO_2 per uur en per hectare.
- stomataire weerstand voor CO_2 -transport bij de verschillende lichtintensiteiten, in s.cm^{-1} .
- mesofyl weerstand voor CO_2 -transport, in s.cm^{-1} .
- totale weerstand voor CO_2 -transport, in s.cm^{-1} .
- vochtgehalte van ingaande lucht, in %.

Deze gegevens zijn in bijlage 1 te vinden.

Uit deze gegevens zijn door ons de volgende berekend:

- fotosynthese op een heldere dag (DGCC), berekend vanuit de gemeten lichtreeksen en het stralingsverloop op een onbewolkte dag (berekenningswijze zie hoofdstuk 4.1).
- fotosynthese op een bewolkte dag (DGCO), berekend vanuit de gemeten lichtreeksen en het stralingsverloop op een bewolkte dag.
- maximum en efficiency van de fotosynthese-lichtgrafiek (berekenningswijze zie hoofdstuk 4.1).
- de stomataire en mesofylweerstand voor CO_2 -transport bij 1 bepaalde lichtintensiteit, door lineaire interpolatie tussen de gemeten weerstanden bij andere lichtintensiteiten.
- relatieve luchtvochtigheid in de meetkamer (berekening zie hoofdstuk 4.3).

Deze gegevens zijn samen per proef gegeven in bijlage 2.

5.4. RESULTATEN, FOTOSYNTHESE

In tabel 5.2a zijn de gemiddeldes en standaardafwijkingen van de fotosynthese op heldere en bewolkte dag gegeven van de verschillende behandelingen. Omdat de indruk bestaat dat de metingen bij lage luchtvochtigheid nogal afwijkend waren, daardoor de variantie vergrootten, en het interpreteren van de resultaten bemoeilijkten, zijn eveneens gemiddeldes en standaardafwijkingen gegeven die berekend zijn na weglating van de metingen bij een rel. luchtvochtigheid van minder dan 40%, in tabel 5.3a.

M.b.v. een t-toets zijn de verschillende behandelingen vergeleken. De t-waardes en kleinste onbetrouwbaarheid waarbij de nulhypothese dat er geen verschil is tussen de behandelingen nog niet wordt verworpen zijn gegeven in tabel 5.2b; voor de resultaten uit tabel 5.3a staan dezewaardes in tabel 5.3b.

N.a.v. deze resultaten lijkt weinig twijfel mogelijk over de vraag of honingdauw effect op de fotosynthese heeft. Bij alle metingen van behandelde bladeren ligt de fotosynthese duidelijk, variërend van 14 tot 34%, lager. Bij deze konklusie moet echter wel het volgende bedacht worden:

- de behandelde bladeren ondervinden mogelijk behalve het effect van een laagje honingdauw ook nadelig effect van de handeling van het insmeren.
- de behandelde bladeren zijn bijna steeds 'smiddags, de onbehandelde 's ochtends gemeten. Tijdens het kweken van de planten in het fytotron kregen ze van 17.00 tot 12.00 uur licht, en stonden 's middags in het donker. Enig effect door het dagritme van de planten kan hier niet uitgesloten worden.
- de meteen na behandeling gemeten planten (HDBD en HDOD) werden ook 's ochtends al gemeten (als blanco), zodat ook tijdens de eerste meting ontstane beschadigingen een rol kunnen hebben gespeeld bij de afname van de fotosynthese.

Ondanks deze beperkingen, die in principe verdere konklusies verder onmogelijk maken, zullen we van de gemeten waardes uitgaan om toch enige indruk te krijgen hoe de werking zou kunnen zijn en te bepalen wat er verder onderzocht zou moeten worden om hier meer over te weten te komen.

Voorlopig kan dus de konklusie worden getrokken dat een honingdauwlaagje de fotosynthese vermindert. Dit effect komt bij

Tabel 5.2a. Gemiddelde dagelijkse netto fotosynthese bij verschillende behandelingen met honingdauw.

behandeling	DGCOgem.st.afw.	DGCCgem.st.afw.	DGCO	DGCC
onbeh.	1335.1	279.6 2464.0	415.2	100 100
HDBD	986.6	213.4 2125.5	386.8	74 86
HDOD	1063.7	177.6 2095.2	245.2	80 85
HDBW	1023.4	224.6 1961.1	218.6	77 78
HDOW	885.3	130.1 1761.3	265.8	66 71

Tabel 5.2b Toetsen op verschillen in dagelijkse netto fotosynthese tussen de verschillende behandelingen, m.b.v. de t-toets.

behandeling	DGCot-waarde	LSD	DGCct-waarde	LSD
onbeh/HDBD	t22=3.09	0.005	t22=1.92	0.050
onbeh/HDOD	t22=2.49	0.025	t22=2.30	0.025
onbeh/HDBW	t22=2.73	0.010	t22=3.19	0.005
onbeh/HDOW	t22=4.29	0.005	t22=4.34	0.005
HDBD/HDOD	t14=-0.79	-	t14=0.19	-
HDBW/HDOW	t14=1.50	0.10	t14=1.64	0.10
HDBD/HDBW	t14=-0.34	-	t14=1.05	-
HDOD/HDOW	t14=2.29	0.025	t14=2.61	0.025

Tabel 5.3a. Als 5.2a, met weglating van de metingen bij een lagere rel luchtvochtigheid dan 40%.

behandeling	DGCOgem.st.afw.	DGCCgem.st.afw.	DGCO	DGCC
onbeh.	1442.3	183.5 2609.2	274.8	100 100
HDBD	1019.9	77.0 2173.1	153.2	71 83
HDOD	1112.6	137.4 2185.2	144.2	77 83
HDBW	1051.0	168.4 1965.4	98.0	73 75
HDOW	917.8	93.2 1971.9	569.1	64 76

Tabel 5.3b. Toetsen op verschillen tussen de resultaten uit tabel 5.3a.

behandeling	DGCot-waarde	LSD	DGCct-waarde	LSD
onbeh/HDBD	t16=5.34	0.005	t16=3.58	0.005
onbeh/HDOD	t16=3.87	0.005	t16=3.73	0.005
onbeh/HDBW	t14=3.76	0.005	t14=4.40	0.005
onbeh/HDOW	t16=5.40	0.005	t16=3.08	0.005
HDBD/HDOD	t10=-1.44	0.10	t10=0.17	-
HDBW/HDOW	t6=1.38	-	t6=-0.02	-
HDBD/HDBW	t8=-0.40	-	t8=2.38	0.025
HDOD/HDOW	t8=2.46	0.025	t8=0.79	-

een laagje op de bovenkant sterker naar voren in DGCO dan in DGCC, terwijl aan de onderkant dit ongeveer even sterk is.

Wat betreft een verschillend effect van een laagje aan de boven- en onderkant, zou je kunnen verwachten dat het effect het sterkst is waar de meeste huidmondjes bedekt worden, of waar het grootste oppervlak wordt bedekt. Bij heldere lucht wordt hier geen verschil in gevonden, bij bedekte lucht enigszins maar niet significant een sterker effect aan de bovenkant. Wanneer het laagje er een week op zit, lijkt het effect aan de onderkant sterker, hetgeen niet verklaarbaar is door bedekking van meer huidmondjes en eveneens niet door bedekking van meer oppervlak.

Een ouder laagje lijkt een sterker effect te hebben dan een net aangebracht laagje, behalve de getallen voor een laagje aan de bovenkant bij bedekte lucht spreken dit tegen.

In tabel 5.4 zijn de resultaten van de schattingen van efficiency en maximum van de fotosynthesekurve gegeven bij verschillende behandelingen. In tabel 5.5 zijn de resultaten van het toetsen van de hypothese dat er geen verschillen bestaan weergegeven.

Men kan verwachten dat wanneer de honingdauw vooral de efficiency beïnvloedt, dit vooral tot uiting komt bij de fotosynthese met bewolkt weer, terwijl een afname van het maximum vooral in een afname van de fotosynthese op een heldere dag terug te vinden is. Dit blijkt te kloppen met onze resultaten.

Een honingdauwlaagje aan de bovenkant van het blad blijkt in eerste instantie de efficiency te beïnvloeden, en in mindere mate het maximum. Na een week is de efficiency ongeveer gelijk gebleven en dan is juist het maximum sterk afgenomen.

Een honingdauwlaagje aan de onderkant van het blad beïnvloedt eerst zowel efficiency als maximum enigszins, terwijl beiden na een week nog sterker zijn afgenomen.

M.b.v. de bij elke behandeling berekende gemiddeldes van maximum en efficiency is voor elke behandeling een 'gemiddelde' lichtgrafiek getekend (figuur 5.1).

Het effect van de relatieve luchtvochtigheid wilden we onderzoeken door de metingen bij 40, 60, of 80% uit te voeren. Achteraf bleek dit niet gelukt te zijn, maar is wel bij een grote variatie in luchtvochtigheid gemeten. De percentuele afnames van DGCO en DGCC zijn nu met de R.V. vergeleken, m.b.v. een Spearman-

Tabel 5.4 Schattingen van gemiddelde maximum en efficiency m.b.v Optpac.

behandeling	P_{gmax}	gem.st.afw.	α	gem.st.afw.	P_{gmax}	α
Onbeh.	245.3	42.9	3.90	0.91	100	100
HDBD	232.7	38.4	3.08	0.49	95	80
HDOD	217.4	22.8	3.30	0.73	89	85
HDBW	206.0	23.4	3.28	0.86	84	84
HDOW	185.1	36.6	2.67	0.52	75	68

Tabel 5.5 Toetsen op verschillen in maximum en efficiency tussen de verschillende behandelingen, m.b.v. een t-toets.

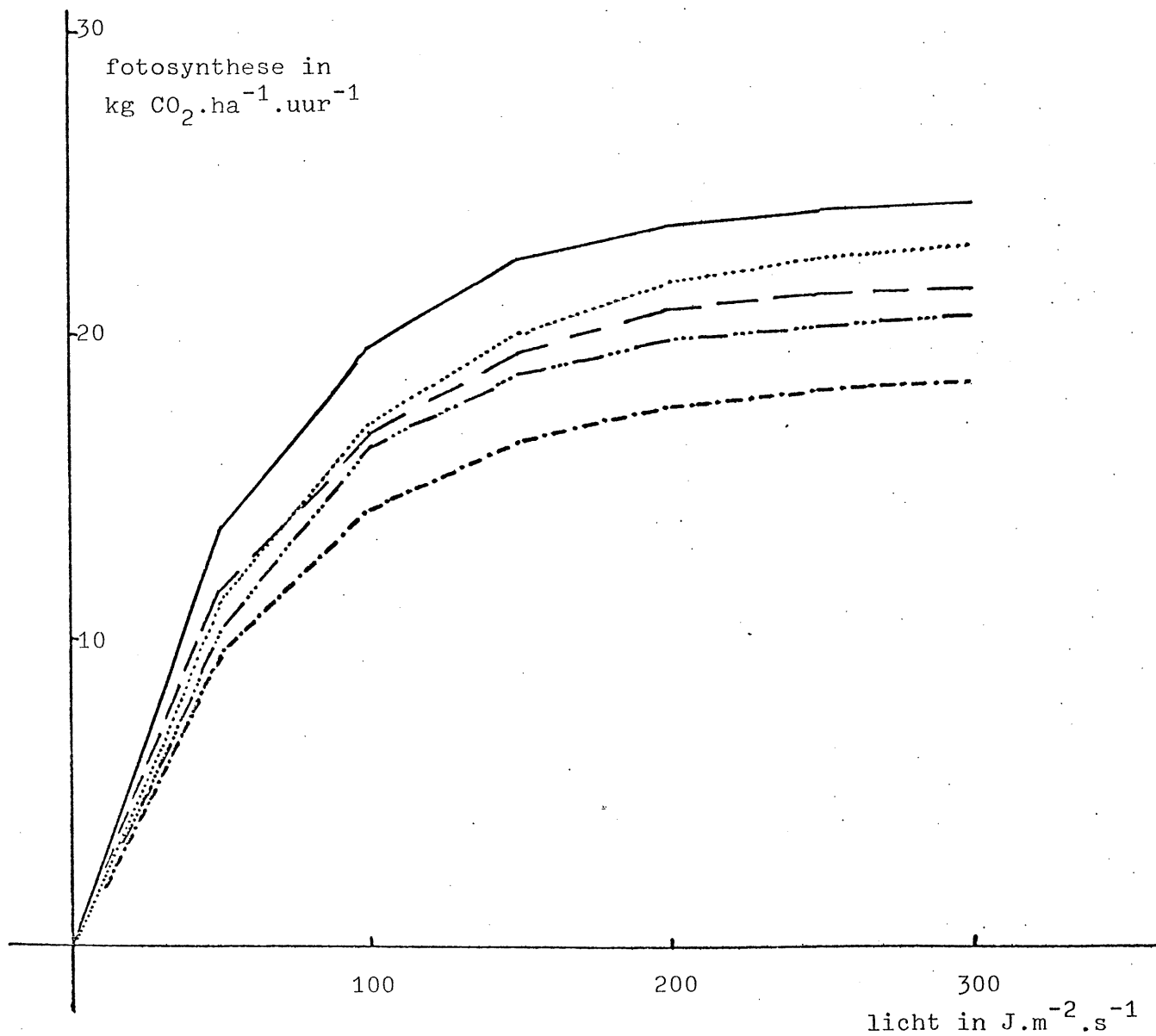
behandeling	P_{gmax}	t-waarde	LSD	α	t-waarde	LSD
onbeh/HDBD	t22=0.70	-	t22=2.35	0.025		
onbeh/HDOD	t22=1.71	0.100	t22=1.62	0.100		
onbeh/HDBW	t22=2.40	0.025	t22=1.59	0.100		
onbeh/HDOW	t22=3.39	0.005	t22=3.52	0.005		
HDBD/HDOD	t14=0.97	-	t14=-0.70	-		
HDBW/HDOW	t14=1.36	0.100	t14=1.73	0.100		
HDBD/HDBW	t14=1.68	0.100	t14=-0.57	-		
HDOD/HDOW	t14=2.12	0.050	t14=1.99	0.050		

Tabel 5.6 Toetsen van korrellatie tussen relatieve luchtvochtigheid en afname in fotosynthese na behandeling met honingdauw, m.b.v. een Spearmantoets.

rel.luchtv. vergeleken met	d^2	LSD
DGCO	500.5	-
DGCC	337.5	0.05

Figuur 5.1 Berekende fotosynthesekurves uit
gemiddelde efficiency en maximum
per behandeling.

—=onbehandeld
.....=HDBD
——=HDOD
- - - - =HDBW
- . - . =HDOV



toets is onderzocht of er een trend in fotosynthese-afname te vinden was bij hogere vochtigheid. Dit leverde de resultaten in tabel 5.6 op.

De afname in fotosynthese op een heldere dag blijkt dus positief gekorreleerd te zijn met een toename van rel. luchtvochtigheid, terwijl op een dag met minder licht de vochtigheid minder uitmaakt. Misschien wordt dit verschil veroorzaakt door het feit dat in DGCC vooral hoge lichtintensiteiten zwaar mee wegen, in DGCO ook lage; doordat de hogere lichtintensiteiten later worden gemeten, dus als de honingdauw er al langer opzit, heeft dan de vochtigheid langer op de situatie kunnen 'inwerken'. Waarschijnlijk hangt de grootte van het effect van honingdauw op de fotosynthese af van de mate van uitvloeien of indrogen van de honingdauw, hetgeen bij de metingen vooral op het eind dus bij hoge lichtintensiteiten verschilde, en bij het begin van de meting nog ongeveer gelijk lag. We kunnen dus konkluderen dat de vochtigheid van de lucht effect heeft op de werking van de honingdauw, en dat bij hogere luchtvochtigheid de honingdauw meer effect heeft.

5.5 RESULTATEN, WEERSTANDEN VOOR CO₂-TRANSPORT.

In tabel 5.7 zijn de weerstanden voor CO₂-transport in stomata (RS), mesofyl (RMES), en totaal (RCO₂) gegeven.

Tabel 5.7. Totale, stomataire en mesofylweerstand voor CO₂-transport bij verschillende behandelingen met honingdauw. Verschillende waarden voor 'onbehandeld' zijn verkregen doordat HDBD wordt vergeleken met dat deel van de onbehandelde dat daarna voor HDBD-metingen is gebruikt, HDOD met dat deel dat daarna voor HDOD-metingen is gebruikt, en HDBW en HDOW met alle onbehandelde bladeren.

	RS gem.st.afw. %		RCO ₂ gem.st.afw. %		RMES gem.st.afw. %		
ONBEH	2.71		100	8.64	100	6.01	100
HDBD	3.28	0.77	121	9.57	111	6.27	1.40 104
onbeh	2.31		100	8.88	100	6.54	100
HDOD	3.09	0.60	134	9.87	111	6.75	0.86 103
onbeh	2.51	1.21	100	8.76	100	6.28	1.27 100
HDBW	3.53	1.90	141	10.60	121	6.82	2.08 109
HDOW	4.47	2.58	178	12.07	138	7.57	2.44 121

De totale weerstand voor CO_2 -transport neemt door behandeling met honingdauw toe, vooral bij een ouder laagje. Bij de metingen na een dag is ongeveer geen verschil in mesofylweerstand gevonden, wel in stomataire weerstand, deze gaat een groter deel van de totale weerstand uitmaken. Na een week is dit nog sterker, hoewel daar ook de mesofylweerstand, vooral door behandeling aan de onderkant iets toeneemt. Dit zou erop wijzen dat de honingdauw ondertussen een verouderend effect kan hebben gehad. Het belangrijkste is toch nog steeds het effect op de stomataire weerstand, die bij behandeling aan de onderkant sterker stijgt dan aan de bovenkant.

De relatieve luchtvochtigheid lijkt geen effect te hebben op de stomataire weerstand bij onbehandelde planten (Spearman, $n=16$, $d^2=631$), evenmin op de absolute of relatieve toename van de RS bij behandeling met honingdauw (Spearman, $d^2=\text{resp. } 494,5 \text{ en } 506,0$).

5.6. DISKUSSIE.

Zoals bij de resultaten al vermeld, kon onder enig voorbehoud worden gekonkludeerd dat een honingdauwlaagje de fotosynthese-aktiviteit van het vlagblad flink vermindert. Bij alle behandelingen worden efficiency en maximum beïnvloed.

Wat betreft het werkingsmechanisme hebben we uit onze proeven de volgende aanwijzingen:

- het effect lijkt niet het sterkst aan de kant waar de meeste huidmondjes zitten, eerder is het nog andersom.
- een langer aanwezig laagje heeft een sterker effect.
- zowel efficiency als maximum worden beïnvloed, het maximum bij een oudere laag sterker, de efficiency aan de onderkant ook bij een oudere laag sterker, aan de bovenkant niet.
- bij hogere luchtvochtigheid is er een sterker effect
- de weerstand voor CO_2 -transport neemt toe na behandeling, hetgeen vooral aan een stijging van de stomataire weerstand, en bij een ouder laagje mogelijk ook van de mesofylweerstand ligt.
- uit scanningfoto's blijkt dat een deel van de huidmondjes onder een oudere honingdauwlaag vrij zijn komen te liggen terwijl eromheen nog wel honingdauw aanwezig is.

Wanneer we onze hypothesen t.a.v. de werking van de honingdauw hiernaast leggen, valt de hypothese van het licht wegnemen snel af. In ieder geval kan deze niet de enige of voornaamste verklaring zijn, omdat in dat geval een ongeveer even hoge maximum fotosynthese zou worden gevonden als bij onbehandelde planten, die alleen pas bij hogere lichtintensiteit bereikt zou worden dan bij de onbehandelde groep.

De foto's van bladoppervlak met honingdauw (zie hoofdstuk 6.8 en foto's) wijzen op een duidelijke interactie tussen honingdauwlaag en huidmondjes. In de waarschijnlijk dunnere delen van de laag blijkt namelijk de honingdauw precies op en rond de huidmondjes verdwenen te zijn, terwijl het verder nog wel aanwezig is. Dit maakt het aannemelijk dat een net opgebracht laagje de bewegingen van de sluitcellen belemmert, terwijl door het toch bewegen van deze cellen en door de gasuitwisseling door de huidmondjes de honingdauw hier sneller verdwijnt. Dan zou deze verklaring (beperking van de bewegingen van de huidmondjes en van de gasuitwisseling) voor een net opgebrachte laag gelden, en moet een oudere laag ook op andere wijze invloed uitoefenen.

Aanwijzing daarvoor levert de kleine toename van de mesofylweerstand en sterkere daling van de maximale fotosynthese. Uit literatuur (Marshall 1978) blijkt dat als een blad veroudert zowel mesofyl- als stomataire weerstand voor CO_2 -transport toenemen waardoor de maximale fotosynthese minder wordt. De honingdauw zou na een week al enig verouderend effect op het blad uitoefend kunnen hebben, bv. door beschadiging van het blad. Er wordt dan dus bij de meting een combinatie van snellere veroudering en beperking van de gaswisseling gemeten.

Effect van de luchtvochtigheid zou kunnen worden verklaard door een verschil in uitdroging van de honingdauw. Wanneer de lucht droger is droogt de honingdauw sneller uit en krimpt meer in dan een vochtiger laagje. Daardoor worden minder huidmondjes in hun functioneren belemmerd.

Een vraag die we onbeantwoord moeten laten is waarom op de onderkant na een week een sterker effect optreedt, en waarom een vers laagje op de onderkant zowel maximum als efficiency beïnvloedt terwijl op de bovenkant dan sterker de efficiency en nauwelijks het maximum wordt beïnvloed.

Mogelijk geeft de dunnere cuticula aan de onderkant van het blad minder bescherming, waardoor sneller veroudering optreedt.

6. Indirekt effect van de honingdauw; Verouderingsproef.

6.1. INLEIDING.

Deze proef, of liever reeks van proefjes, is bedoeld om naast de fotosynthesemetingen op andere wijze te onderzoeken of door de aanwezigheid van honingdauw op het vlagblad een snellere veroudering plaatsvindt. Hiervoor werden de planten intensief in hun groei gevolgd met de meeste aandacht gericht op het vlagblad.

Materiaal en methoden.

Planten uit groep D.

De volgende bepalingen zijn gedaan aan controle en behandelde planten.

1. Stadium.

Vanaf 77 dagen na zaaidag(nz) werd regelmatig het stadium van elke plant afzonderlijk bepaald (zie 3.4.1.)

2. Bestudering bladoppervlak.

a. Op de 102^e dag n.z. werd er honingdauw op het vlagblad gesmeerd op de manier zoals beschreven in het hoofdstuk materiaal en methoden (3.3.1.). Dit keer aan beide zijden van het vlagblad en over de gehele lengte. Vanaf dit moment bekeken we regelmatig het oppervlak van het vlagblad.

b. Vanaf dag 113(n.z.) hebben we de lengte van de gele punt van het vlagblad gemeten (zie 3.4.2.)

c. Op dag 143 en 144 (n.z.) werden van een aantal planten (van fotosynthese- en opbrengstmetingen) het gele oppervlak van het vlagblad m.b.v. de planimeter bepaald.

3. Fyllosfeerbepalingen.

Op de 113^e en de 144^e dag (n.z.) werd van de vlagbladeren een fyllosfeerbepaling (zie 3.4.6.) gedaan om te onderzoeken of schimmel/gisten groei gestimuleerd werd door de honingdauw.

4. Fotosynthesemetingen.

Op dag 143 (n.z.) maakten we van zowel de controles als de behandelde planten van 2 bladeren een fotosynthese/lichtreeks. Dit om te zien of er nog verschil in fotosynthese optreedt 41 dagen nadat de honingdauw is opgebracht, wat een direkt effect kan zijn of het gevolg zijn van de veroudering.

5. Reflektie- transmissiemetingen.

Op dag 150 (n.z.) werd gepoogd een absorptiespektrum te maken van enkele controle en enkele behandelde bladeren.

6. Opbrengstmetingen.

- a. Van de planten die op dag 143 gebruikt werden voor de fotosynthesemetingen en fyllosfeerbepalingen (alook een aantal planten die reeds bevestigd waren in de fotosynthese-apparatuur toen deze uitviel) werden wat opbrengstmetingen gedaan aan het vlagblad en de aar (zie 3.4.3.+3.4.4.)
- b. Toen de aren bijna rijp en de vlagbladeren bijna geel waren, deden we aan de aar ook nog opbrengstmetingen.

7. Scanningfoto's.

Omdat de vlagbladeren bijna allemaal vergeeld waren en de honingdauwlaag niet meer te zien was, werden voor het maken van de scanningfoto's van het honingdauwoppervlak vlagbladeren van zijzscheuten gebruikt. Deze werden 1 week voordat de foto's gemaakt werden ingesmeerd met honingdauw.

6.2. STADIUM.

Wanneer de honingdauw een grote invloed zou hebben op de veroudering, zou de ontwikkeling van de behandelde planten sneller kunnen gaan (b.v. noodbloei). Om dit na te gaan wordt het stadium van elke afzonderlijke plant nauwlettend gevolgd.

Resultaten.

Zie tabel 3 , Bijlage 3.

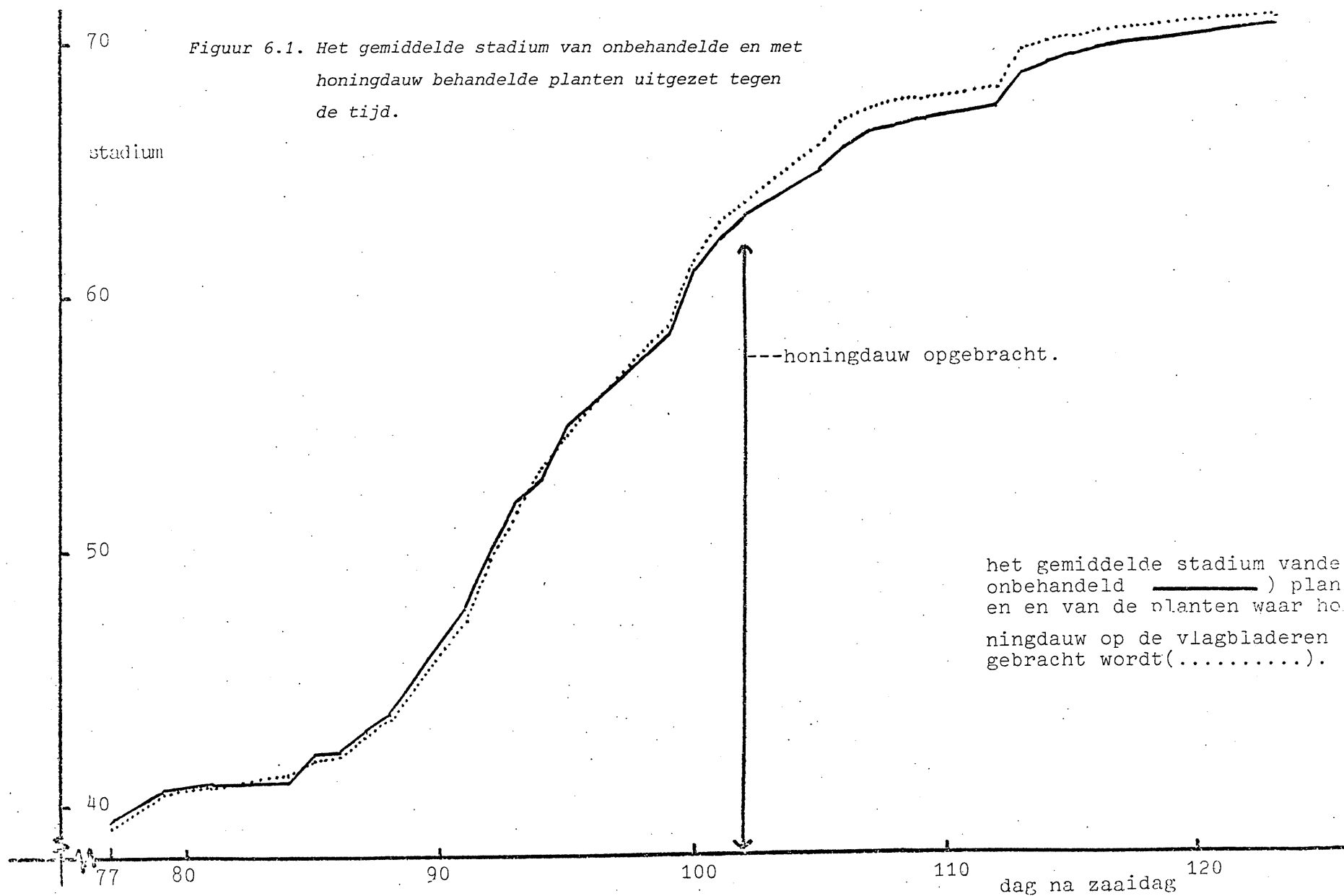
De berekende gemiddelde stadia van de planten zijn uitgezet tegen de tijd in grafiek van figuur 6.1.

De behandelde planten zijn vanaf dag 83 n.z. iets verder in hun ontwikkeling dan de controle planten. Dat dit een gevolg is van een snellere veroudering, veroorzaakt door de honingdauw, is niet zo waarschijnlijk, omdat deze voorsprong zich dus al ontwikkelde enkele dagen voordat de honingdauw werd opgebracht.

6.3. BESTUDERING BLADOPPERVLAK.

- a. Vanaf dag 102 n.z. werden de vlagbladeren bestudeerd op verouderingsverschijnselen, naast het meten van de gele punt. (zie foto's).

Hier werden de volgende, zeer subjektieve, criteria gebruikt:



a= gele strepen met bruine (necrose) puntjes.

b= grote bruine punten.

c= witte stipjes (wegvloeien chlorofyl).

d= witte waas (soms als gevolg van korte aanwezigheid van trips).

aa=a in hevige mate

bb=idem, enz.

Een vlagblad zou dus de code aabd kunnen krijgen als beschrijving van de toestand van het bladoppervlak.

Resultaten:

Om een beetje een beeld te geven van de veroudering van behandelde en onbehandelde bladeren tellen we eenvoudigweg de letters op:

op:	beh.					
	onbeh.	21-3	27-3	30-3	3-4	6-4
a		5.2	8.7	9.1	12.9	14.1
		0.5	0.9	1.1	1.9	2.9
b		0.7	2.2	3.1	3.7	4.7
		0.5	1.6	1.4	2.3	3.2
c		0.2	0.2	1.1	2.6	2.8
		0.5	7.9	5.8	8.4	8.9
d		0.5	1.3	2.0	4.3	5.3
		0.0	0.0	0.0	0.3	0.0

Tabel 6.1. Gemiddeld aantal toegekende koderingspunten per 10 planten.

De behandelde bladeren vertonen veel meer gele strepen en bruine (necrose) punten. De witte stipjes die in verhouding tot de onbehandelde bladeren nauwelijks voorkwamen op de behandelde waren hier waarschijnlijk al "uitgegroeid" tot gele plekken.

b. De gele punt van een blad is meestal het gevolg van veroudering. Chlorofyl en nutriënten vloeien weg. In de veronderstelling dat de lengte van de gele punt een indicatie zou kunnen zijn voor de mate van veroudering, hebben we gedurende lange tijd deze punten gemeten. Aan het begin en het eind van deze meetperiode (dag 113,120,165) meetten we tevens de lengte van het vlagblad.

Het quotiënt van de lengte van de gele punt en de lengte van het vlagblad * 100% geeft het "percentage geel oppervlak".

Resultaten.

zie tabel 6.2. ,oorspronkelijke gegevens in tabel 2, Bijlage 3.

Tabel 6.2. Vergelijking tijdens het verouderingsproces van onbehandelde en met honingdauw behandelde vlagbladeren.

datum	dag	behandeling		gemiddeld % geel opperv.	standaard afwijking	t-waarde	LSD
	(nz)						
27-2	113	kontrole	1)	2.50	0.75		
27-2	113	honingdauw	1)	2.08	0.62	$t_{22}=1.48$	0.10
27-3	141	kontrole	1)	6.04	1.28		
27-3	141	honingdauw	1)	7.21	1.65	$t_{20}=-1.87$	0.05
27-3	141	kontrole	2)	6.00	2.78		
27-3	141	honingdauw	2)	7.18	1.87	$t_{99}=-2.51$	0.01
20-4	165	kontrole	1)	55.84	23.03		
20-4	165	honingdauw	1)	59.24	24.43	$t_{12}=0.27$	--
20-4	165	kontrole	3)	56.86	24.96		
20-4	165	honingdauw	3)	63.57	27.77	$t_{12}=-0.48$	--

1): waarden berekend uit de gegevens per pot planten.

2): waarden berekend uit de gegevens per plant.

3): waarden berekend uit gegevens afkomstig van schattingen van het gele oppervlak.

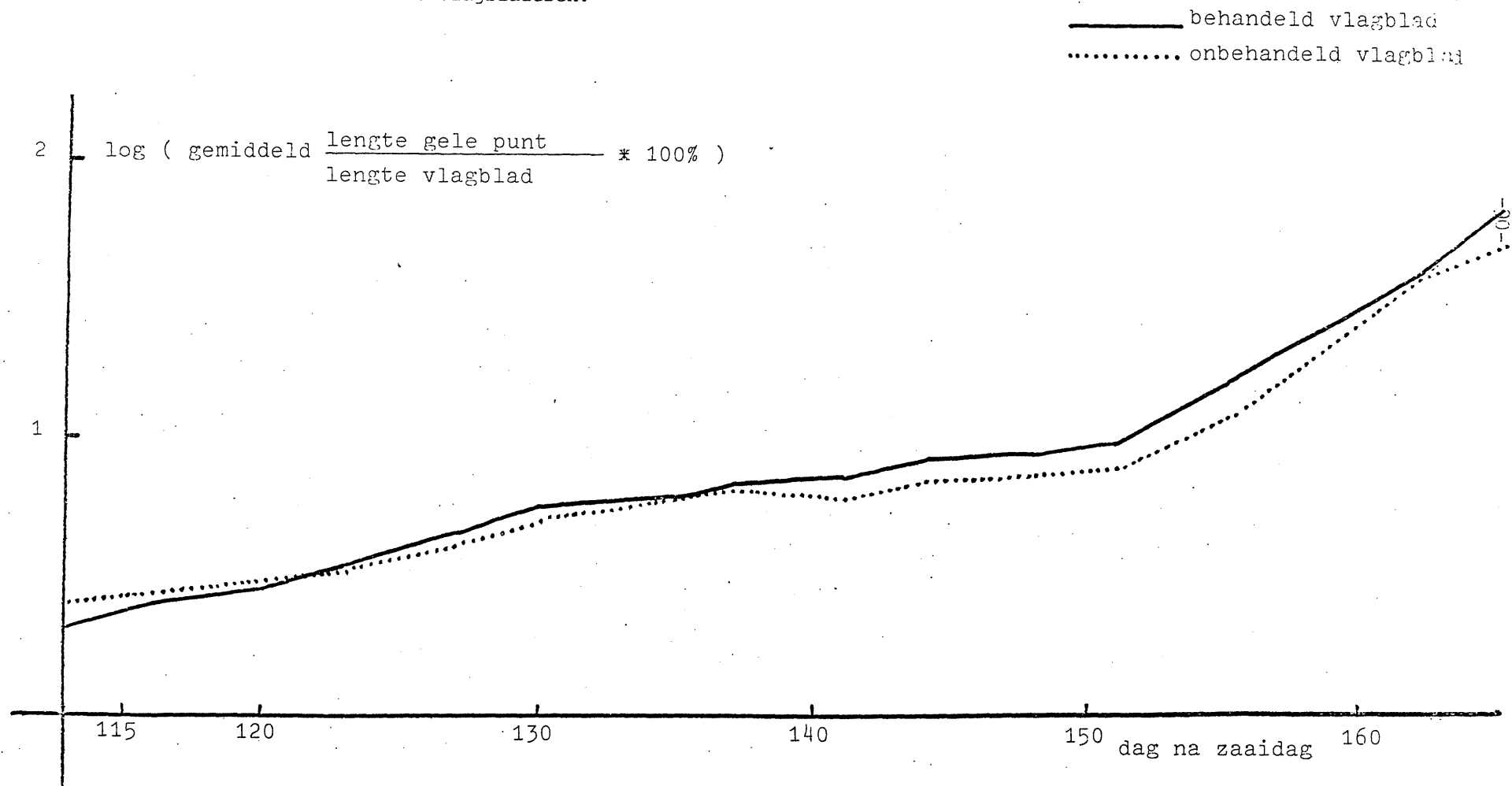
In de grafiek van figuur 6.2. is de toename van het % geel oppervlak weergegeven. We zien hier dat de behandelde bladeren sneller geel worden, maar het verschil is niet groot. Uit de berekeningen blijkt dat het verschil op dag 141 n.z. wel significant is.

c. Tijdens de fotosynthesemetingen en eerste opbrengstmetingen werden van de vlagbladeren de gele stukken uitgeknipt en het oppervlak hiervan gemeten met de planimeter.

Resultaten:

Zie tabel 6.3. en voor oorspronkelijke gegevens tabel 6, bijlage 3.

Figuur 6.2. Vergelijking van onbehandelde en met honingdauw behandelde vlagbladeren.



Tabel 6.3. Vergelijking in oppervlakte van onbehandelde en met honingdauw behandelde bladeren.

datum	dag	behandeling	gemiddeld % geel opperv.	standaard t-waarde afwijking	LSD
(nz)					
29-3	143	kontrole 1)	1.82	0.62	
29-3	143	+honingdauw	2.70	1.30	$t_{37} = -2.66$ 0.01

1) Hier is een uitspringende waarde weggelaten.

De LSD-waarde ligt hier hetzelfde als bij de vorige methode(2b).

6.4. FYLLOSFEERBEPALINGEN.

Honingdauw zou als goede voedingsbodem kunnen dienen voor schimmels, gisten enz., die dan weer (o.a. via een snellere veroudering van het blad) de opbrengst kunnen verminderen. Om te onderzoeken of de honingdauw de groei van de schimmels stimuleert, kan men een eenvoudige fyllosfeerbepaling doen van het oppervlak van enkele bladeren.

Resultaten:

Zie tabel 6.4. Voor oorspronkelijke gegevens tabel 7, Bijlage 3. Waarschijnlijk is er bij het uitplaten bij de 2^e plaat van de "+honingdauwreeks" secundaire infectie opgetreden. Laten we deze bepaling weg dan vinden we:

Tabel 6.4. Fyllosfeerbepalingen van onbehandelde en met honingdauw behandelde vlagbladeren na 1.5 en na 6 weken.

datum	dag	behandeling	gemiddeld aantal infecties/cm ²	standaard t-waarde afwijking	LSD
(nz)					
27-2	113	kontrole	103	80	
27-2	113	+honingdauw	1527	1064	$t_5 = -2.76$ 0.025
30-3	144	kontrole	588	265	
30-3	144	+honingdauw	281	111	$t_6 = 2.13$ 0.05

De aantallen liggen erg laag, wat waarschijnlijk veroorzaakt wordt doordat de planten in een klimaatkamer staan, waar de kans op

infektie uiterst klein is. Een vergelijking met de veldsituatie is dus helemaal niet mogelijk.

Door de lage aantallen valt ook nauwelijks iets te zeggen over eventuele verschillen tussen "kontrole" en "+honingdauw"-bladeren wat betreft de mate van kolonisatie door de schimmels.

6.5. FOTOSYNTHESEMETINGEN.

De fotosynthesemetingen werden uitgevoerd op dezelfde manier als bij de uitgebreide proeven. Dat we van elke behandeling maar 2 metingen gedaan hebben had 2 oorzaken:

- om voor de rest van de deelproefjes voor de bestudering van de veroudering een groot genoeg aantal planten over te houden, besloten we van elke behandeling maar 4 metingen te doen.
- tijdens de middagmeting viel de fotosyntheseapparatuur uit (door een lege CO₂-fles) en vervielen hierdoor 4 van de in totaal 8 metingen.

De 4 geslaagde metingen kunnen echter wel een indicatie geven van hoe de fotosynthese bij de verschillende behandelde bladeren op dit moment ligt.

Resultaten:

Zie tabel 6.5a en tabel 6.5b. Oorspronkelijke gegevens Bijlage 1.

Tabel 6.5.a. Dag-netto fotosynthese van onbehandelde en met honingdauw behandelde vlagbladeren na 6 weken.

dag (nz)	behandeling	DGCO		DGCC		DGCO	DGCC
		gemid.	st.afw.	gemid.	st.afw.		
100							
101	kontrole 1)	1205.1	267.7	2459.9	508.4	105	131
102							
143	kontrole	1142.3	76.2	1872.4	99.8	100	100
143	+honingdauw	911.6	1.3	1577.9	26.0	80	84

1) Hierboven zijn tevens de resultaten opgenomen van de fotosynthesemetingen bij de proef "effekt van de luizen". Deze planten groeiden op onder dezelfde omstandigheden, alleen werd er een luizenkooitje om het vlagblad geplaatst, als controle voor die proef. (Kooitje ongeveer 15 dagen om het vlagblad.) Die meting is extra interessant omdat op dat tijdstip (dag 102nz) de honingdauw op de vlagbladeren werd gebracht.

We zien dus een afname van de fotosynthese van dag 101 tot dag 143 (nz). En een extra afname door het opbrengen van de honingdauw.

Tabel 6.5.b. Toetsen van verschillen tussen behandelde en onbehandelde vlagbladeren.

toets	DGCO t-waarde	LSD	DGCC t-waarde	LSD
kontrole/ +honingdauw	$t_2=4.28$	0.05	$t_2=4.04$	0.05

Duidelijk verschil in fotosynthese tussen kontrole en behandelde bladeren is er dus wel, maar het blijft een te klein aantal waarnemingen.

Dit verschil zou echter ook een gevolg kunnen zijn van het verschil in relatieve vochtigheid van de ingevoerde lucht in de meetkamers. Voor de behandelde bladeren was dit 45 en 41% en voor de kontrolebladeren 55 en 54%. De stomatale weerstanden liggen bij de behandelde bladeren niet significant hoger dan bij de kontrolebladeren. De mesofylweerstand echter wel. Hieruit zou men met enige voorzichtigheid het verschil in fotosynthese kunnen wijten aan veroudering en niet aan verschillen in vochtigheden. (zie tabel 6.6).

Tabel 6.6. Weerstand voor CO_2 -transport bij onbehandelde en met honingdauw behandelde vlagbladeren, na 6 weken. Oorspronkelijke getallen in Bijlage 2.

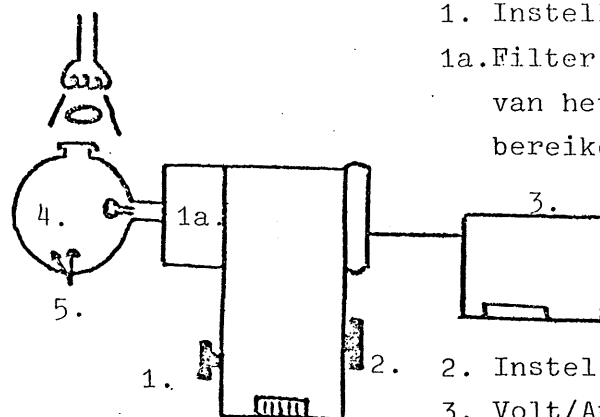
behandeling	gemiddelde RS	gemiddelde RMES	RS t-waarde	LSD	RMES t-waarde	LSD
+HD-ODD	3.64	10.25				
-HD-ODD	2.94	8.64	$t_2=0.65$	—	$t_2=2.40$	0.10

6.6. REFLEKTIE- EN TRANSMISSIEMETINGEN.

Deze metingen werden verricht bij de T.F.D.L. te Wageningen op 5 april 1979. De planten(uit groep D) waren in stadium 77 ZKC en werden 48 dagen daarvoor (op 16 febr.) behandeld met honingdauw.

Reflektie.

Opstelling:



1. Instellen van de golflengte
- 1a. Filter om diverse gebieden van het spectrum te kunnen bereiken.

2. Instellen van de lichtsterkte
3. Volt/Ampèremeter met digitaal aflezing.
4. Bol met volledig witte binnenwand.
5. Instelknop voor het meten van licht op het deksel of de wand van de bol.

Werkwijze:

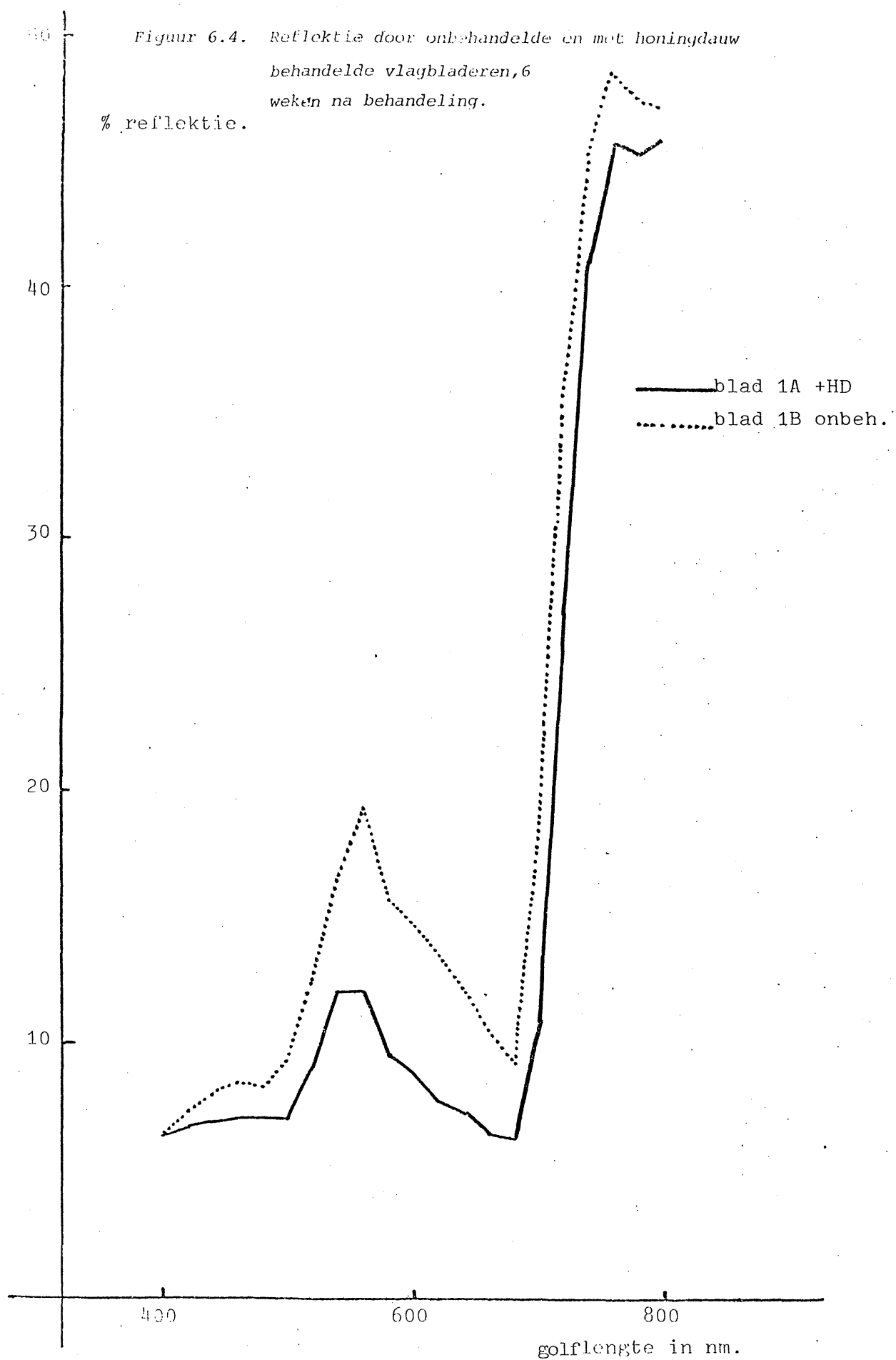
- Afsluiten van de bol met een wit standaarddeksel, waarvan het percentage reflektielicht bekend is bij verschillende golflengten.
- Instellen van de lichtsterkte (2) tot de standaardwaarde verschijnt op de ampèremeter (3).
- Aflezen van de lichtsterkte op de wand (deze is beïnvloed door de reflectie van het deksel).
- Het witte deksel vervangen door een tarweblad met daarop een zwart deksel.
- Terugbrengen van de lichtsterkte op de wand naar de oorspronkelijk gemeten waarde (m.b.v.2). Deze is gedaald doordat er minder licht gereflekteerd wordt door het deksel.
- Instellen op het deksel en aflezen van het percentage gereflekteerde licht.

Resultaat:

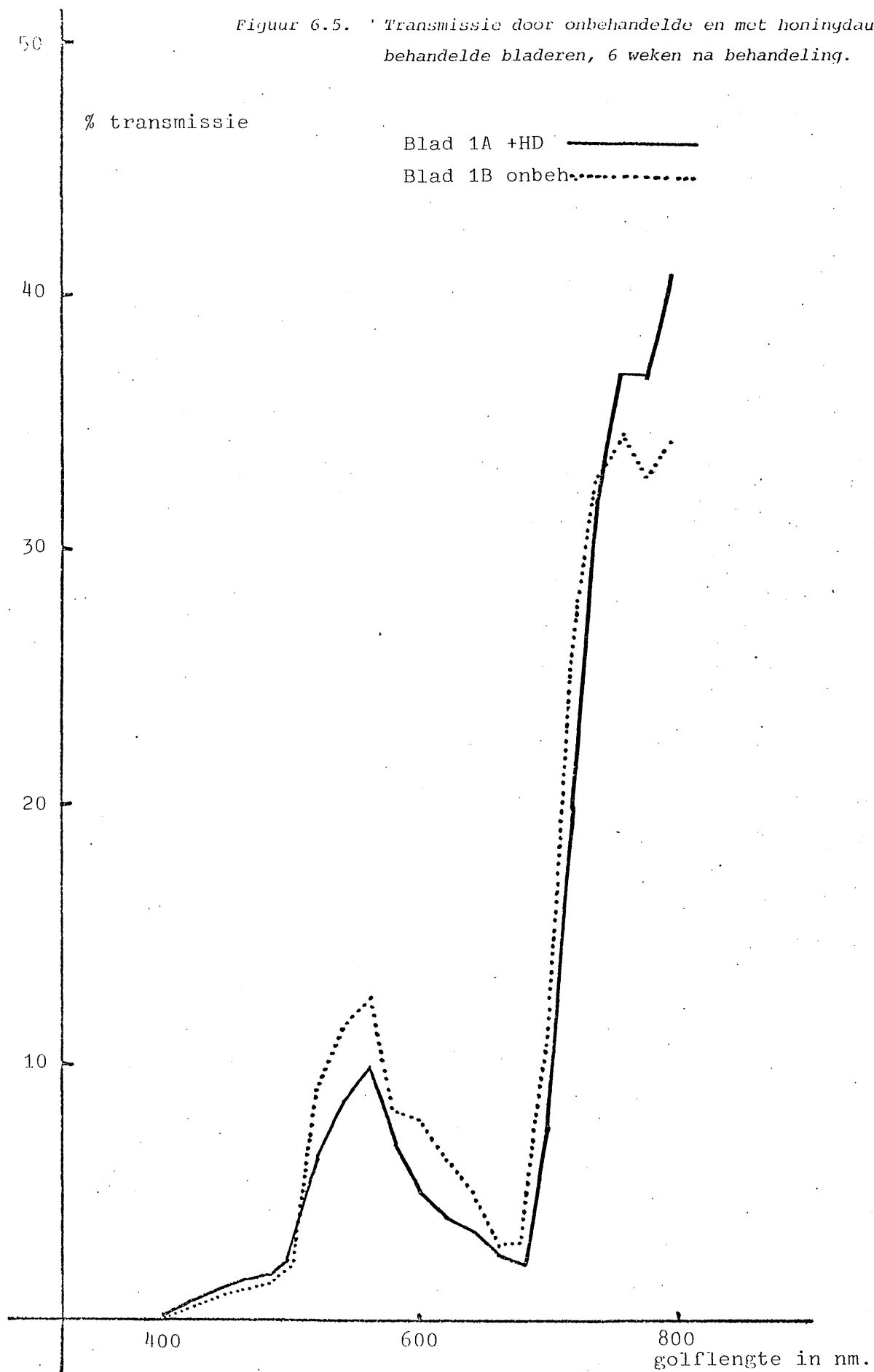
Het licht wat op het blad valt wordt gedeeltelijk geabsorbeerd, gedeeltelijk doorgelaten wat dan weer geabsorbeerd wordt door het zwarte deksel. De gemeten waarde is dus het percentage gereflekterde licht.

De behandelde bladeren geven een hoger percentage reflectie dan de onbehandelde bladeren. Resultaten in tabel 4, Bijlage 3 en verder in figuur 6.4 .

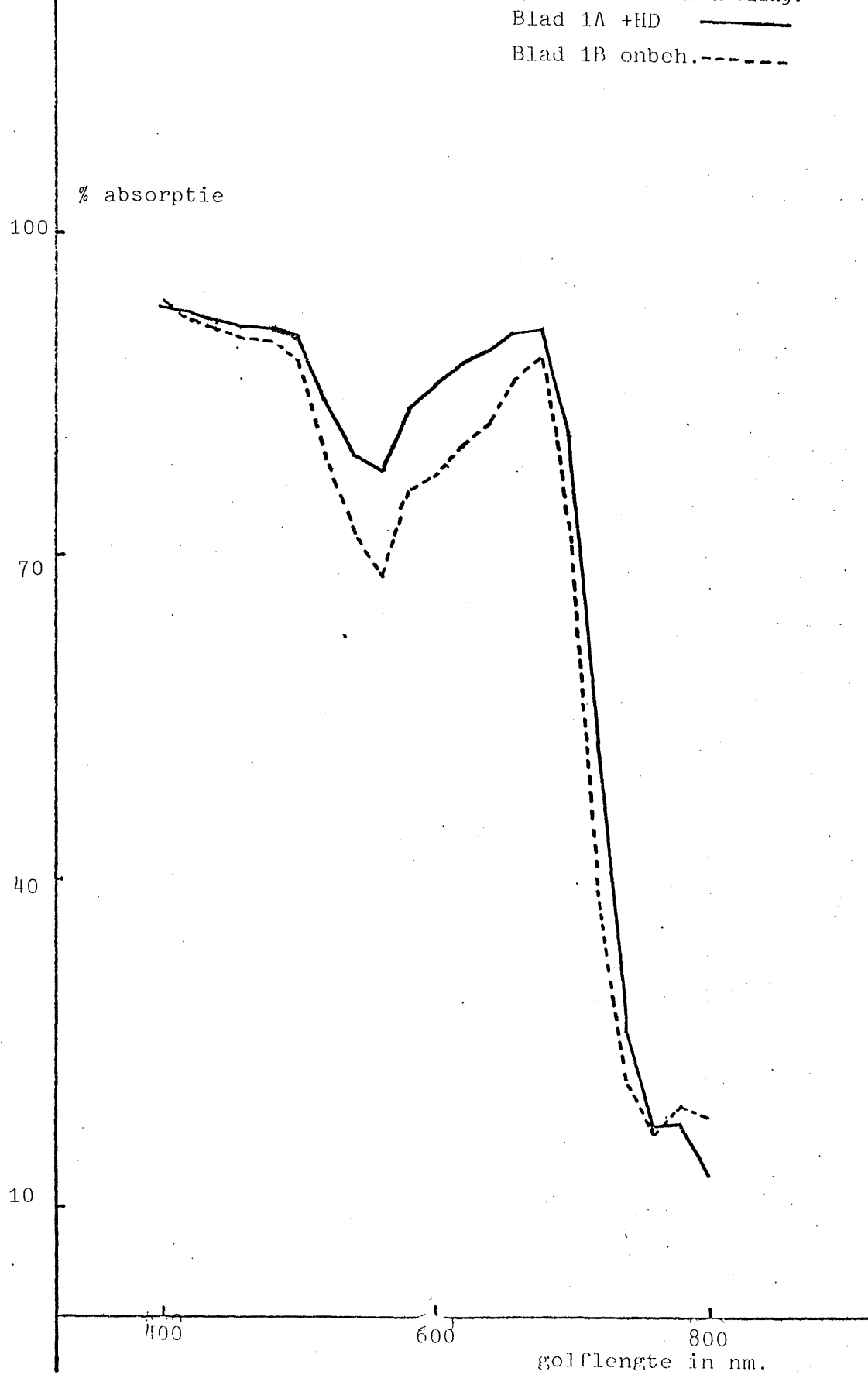
Figuur 6.4. Reflektie door onbehandelde en met honingdauw behandelde vlagbladeren, 6 weken na behandeling.
% reflectie.



Figuur 6.5. ' Transmissie door onbehandelde en met honingdauw behandelde bladeren, 6 weken na behandeling.



Figuur 6.6. Absorptie door onbehandelde bladeren en met honingdauw behandelde, 6 weken na behandeling.



Transmissie:

Opstelling:

Zoals bij de reflektiemetingen, maar nu wordt er een gloeidraad (m.b.v. een lamp en een lens) afgebeeld door de opening van de bol op de binnenwand.

Werkwijze:

- Instellen van lichtsterkte op de wand, zonder blad op de opening op 100 (amp.).
- Het blad wordt op de opening gelegd en door opnieuw de lichtsterkte op de wand te meten verschijnt het percentage doorgelaten licht op de ampèremeter.
- Omdat dit enigszins varieerde met de plaats van meten op het blad wordt steeds dezelfde plek genomen.

Resultaat:

Het licht dat op het blad valt wordt gedeeltelijk gereflekteerd en gedeeltelijk geabsorbeerd. Wat gemeten wordt is dus het doorgelaten licht (%transmissie).

De behandelde vlagbladeren geven een hoger percentage transmissie over bijna het gehele spektrum. Resultaten in tabel 4, Bijlage 3 en verder in figuur 6.5.

Absorptie:

De totale hoeveelheid licht die op een blad valt kan gesteld worden op 100%. Een percentage hiervan wordt gereflekteerd en doorgelaten. De rest wordt geabsorbeerd. Uit de resultaten van de reflectie- en transmissiemetingen kunnen we dus het percentage geabsorbeerd licht berekenen: $\% \text{absorptie} = 100\% - \% \text{transmissie} - \% \text{reflektie}$. Zie hiervoor tabel 4, bijlage 3.

De grafiek (figuur 6.6) die voor de verschillende golflengten het % geabsorbeerde licht geeft, laat zien dat het behandelde blad minder licht absorbeert dan het onbehandelde vlagblad. Dit verschil is vooral duidelijk in het gebied van 500-700 nm. Meting van de oppervlaktes onder beide grafieken toont dat er een verminderde absorptie is van 6% door behandeling met honingdauw. (Vermindering van 117.6 cm^2 naar 110.5 cm^2). Deze verlaagde absorptie bij het met honingdauw behandelde blad, zou kunnen duiden op 'n kleinere hoeveelheid chlorofyl in het vlagblad als gevolg van een versnelde veroudering.

6.7. OPBRENGSTMETINGEN.

a. Op dag 143 (nz) was het mogelijk om aan de planten die voor de fotosynthesemetingen en fylosfeerbepalingen gebruikt werden, enkele opbrengstmetingen aan aar en vlagblad te doen. Dit om te kijken of de honingdauw van invloed is op de groei van het blad (de vlagbladeren waren bijna volgroeid op het moment van opbrengen van de honingdauw) en de groei van de aar. Bepalen van het 1000-korrelgewicht had geen zin, omdat de korrels nog niet volgroeid waren.

Resultaten:

Zie tabel 6.7 en voor oorspronkelijke gegevens tabel 6, bijlage 3.

Tabel 6.7. Opbrengstbepalingen aan onbehandelde en met honingdauw behandelde vlagbladeren, 6 weken na behandeling.

bepaling		gemiddelde gram of cm ²	standaard afwijking	t-waarde	LSD
droge stof aar	kontrole	1.68	0.72		
	+honingd.	1.93	0.62	$t_{38} = -1.16$	--
vers gew. aar	kontrole	4.28	1.55		
	+honingd.	4.80	1.23	$t_{38} = -1.16$	--
droge stof vlagblad	kontrole	0.35	0.07		
	+honingd.	0.36	0.04	$t_{30} = -0.64$	--
totaal oppervl.	kontrole	69.71	10.07		
vlagblad	+honingd.	71.37	10.48	$t_{38} = -0.51$	--

Er zijn nog geen significante verschillen 41 dagen na het opbrengen van de honingdauw. De vlagbladeren en aren zijn zelfs iets zwaarder bij de behandelde planten.

b. Op dag 170 (nz) werden de planten geoogst, de aren gewogen en gedorst en de korrels geteld en gewogen. De honingdauw is waarschijnlijk niet van invloed geweest op het korrelaantal, omdat de honingdauw opgebracht werd (dag 102 nz), nadat de aren begonnen te bloeien (stadium 61 op dag 100 nz.).

Resultaten:

Zie tabel 6.8 en tabel 5, Bijlage 3.

Tabel 6.8. Opbrengst bepalingen aan onbehandelde en met honingdauw behandelde vlagbladeren, ongeveer 10 weken na behandeling.

bepaling		gemiddelde gram of aant.	standaard afwijk.	t_{63} -waarde	LSD
drooggew. aar	kontrole	2.50	0.94		
	+honingd.	2.15	0.95	1.50	0.10
versgew. aar	kontrole	3.74	1.42		
	+honingd.	3.26	1.36	1.39	0.10
aantal korrels/aar	kontrole	36.21	16.88		
	+honingd.	28.38	17.27	1.85	0.05
gewicht korrels/aar	kontrole	1.86	0.81		
	+honingd.	1.54	0.84	1.53	0.10
1000-korrel- gewicht	kontrole	53.24	7.19		
	+honingd.	52.03	2.45	0.34	---

Op dag 143 was het droog- en versgewicht van de aren bij de behandelde planten groter dan bij de controle (niet significant). Op dag 170 ligt dit juist andersom.

Vereijken vond een reductie van het korrelgewicht met 6.5%.

Dit vinden wij niet; er is nauwelijks verschil in het 1000-korrelgewicht. Wel schijnt de honingdauw het aantal korrels/aar gereduceerd te hebben.

6.8. SCANNINGFOTO'S.

Om een idee te krijgen wat we in werkelijkheid bereiken door de honingdauw in oplossing op het vlagblad te smeren, werden er scanningfoto's gemaakt van een stukje blad, waar aan de bovenkant met het blote oog een volledige laag honingdauw te zien was. (Deze scanningfoto's werden gemaakt bij TFDL, Wageningen).

Resultaten:

Zie foto's met kommentaar.

Wat met het blote oog ook waar te nemen is en verder een beetje naar voren komt bij foto 5, is dat de honingdauw zich op het blad verdeeld in de richting, waarin de nerven lopen. Dit is het

gevolg van het in oplossing opbrengen van de honingdauw. In het veld gebeurt dit door de luizen in zeer kleine hoeveelheden en in gekoncentreerde vorm, waardoor er een meer egale verdeling over het blad optreedt.

De foto's (2,3 en 7) laten ook zien dat de honingdauwlaag redelijk dik is. Het lijkt er dan ook op dat de huidmondjes die onder deze laag liggen niet meer kunnen functioneren.

Duidelijk is dat een ogenschijnlijk gesloten laag honingdauw nog een groot gedeelte van het bladoppervlak vrijlaat (foto 5). Daarbij komt nog dat een aantal huidmondjes in de honingdauwlaag weer vrijkomen (foto's 2,3,5 en 7). Tijdens het opdrogen van de honingdauwoplossing zullen de huidmondjes bewegen en op die plaats vindt gasuitwisseling plaats. Waarschijnlijk door interactie van beide processen zal het vloeistoflaagje worden doorbroken. Berekenen we van een met honingdauw bedekt blad het percentage bedekte huidmondjes door het "glinsterende" oppervlak te bepalen, dan wordt dit percentage dus overschat.

Voor een betere interpretatie van het werkingsmechanisme van de honingdauw op de huidmondjes, zou het wenselijk zijn dat er ook zulke scanningfoto's van de onderkant van het vlagblad gemaakt zouden worden. Vereist is ook een controle of honingdauw door de luis zelf opgebracht op dezelfde manier op het blad ligt.

6.9. DISKUSSIE.

Uit verschillende in dit hoofdstuk behandelde proeven blijkt dat de veroudering van het vlagblad versneld wordt door honingdauw. We vinden geen effect op het ontwikkelingsstadium van de plant.

Als teken van snellere veroudering vonden we meer verschijnselen als bruine, gele en necrotische plekken op het blad, een viezer bladoppervlak en een iets versneld geel worden van het blad. Bovendien is de fotosynthese 6 weken na het opbrengen van de honingdauw 16-20% lager dan bij een onbehandeld blad, terwijl de lichtabsorptie $\pm$ 6% is verlaagd.

In vergelijking met een honingdauwlaagje na een week is de fotosynthese niet veel verder verlaagd. Dit is overigens niet helemaal een eerlijke vergelijking, omdat de honingdauw bij de verouderingsproef in een 2x zo grote hoeveelheid per blad werd opgebracht, als in de proef uit het vorige hoofdstuk en dit over het hele blad aan beide kanten in plaats van op een klein stuk

van het blad aan één kant werd opgebracht. Maar qua orde van grootte kunnen we wel de voorgaande konklusie trekken.

Opbrengstbepalingen 6 weken na opbrengen geven geen significante verschillen tussen al of niet behandelde bladeren. Nog 4 weken later vonden we wel verschillen, zowel in droog- en versgewicht van de aar als in aantal korrels. Het 1000-korrelgewicht daarentegen bleek nauwelijks beïnvloed. Deze bevinding staat lijnrecht tegenover die van Vereijken, die juist een ongeveer gelijk aantal maar lichtere korrels vond en de vaak geopperde veronderstelling dat het aantal korrels voornamelijk vóór de bloei bepaald wordt (zie voor literatuurverwijzing 2.1.). Mogelijk kan door opbrengen van de honingdauw een soort stresssituatie zijn ontstaan, waardoor minder bloempjes zijn gaan bloeien en zo minder korrels zijn ontstaan.

7. Effekt van de gisten.

7.1. INLEIDING.

Deze proef had tot doel om wat meer te weten te komen over de invloed van de saprofytische bladmycoflora op het tarweblad (zie 2.2.). Hier wordt gewerkt met de gist *Cryptococcus laurentii* var. *flavescens*, die in het veld bijna altijd in grote hoeveelheden aanwezig is. De proef bestaat uit een aantal onderdelen:

7.2. Metingen van de respiratie van de gistcellen.

7.3. Fotosynthesemetingen van vlagbladeren bespoten met voedingsoplossing en bladeren bespoten met voedingsoplossing en gistcellen.

Bepaling van de saprofytische fyllosfeer van deze bladeren.

7.4. Fotosynthesemetingen van vlagbladeren, waarop een honingdauw/gistoplossing gesmeerd is en van vlagbladeren die behandeld zijn met water.

Bepaling van de saprofytische fyllosfeer van deze bladeren.

7.2. RESPIRATIE VAN DE GISTCELLEN.

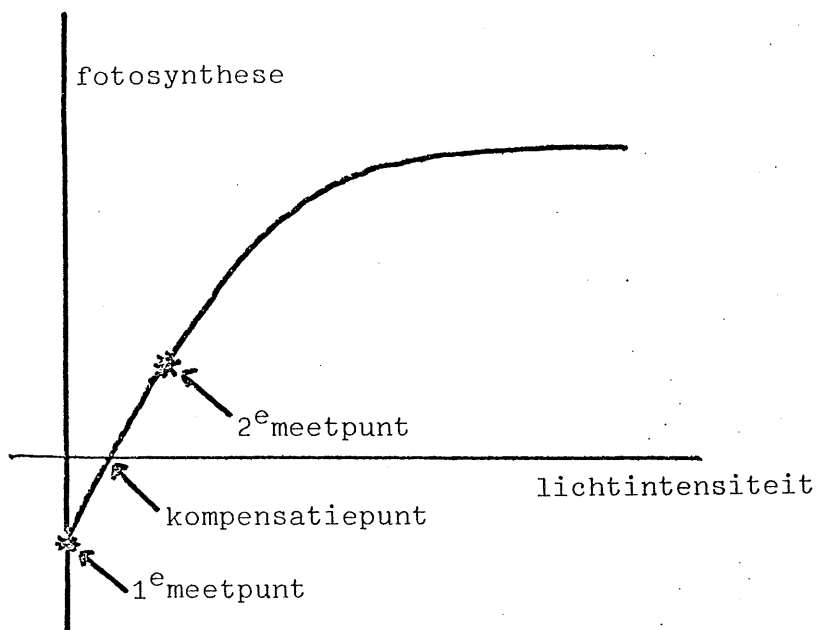
Inleiding:

- a. Om te onderzoeken of de respiratie van de gisten bij de fotosynthesemetingen in rekening gebracht dient te worden en zo ja in welke mate, probeerden we in de fotosynthesekamertjes de respiratie van een grote hoeveelheid gistcellen te meten.
- b. Een tweede mogelijkheid is om te kijken of er bij de fotosynthesemetingen sprake is van een grotere respiratie of een verschuiving van het compensatiepunt; dit zou een aanwijzing kunnen zijn dat de respiratie van gisten hierbij een rol speelt; hoewel het geen enkel bewijs kan leveren omdat er 2 effecten tegelijk gemeten worden.

Materiaal en methoden:

- a. Van Fokkema ontvingen we petrischalen met agar, waarop grote hoeveelheden gistcellen. Van 2 petrischalen werden de randen afgeknipt om een goede luchtcirculatie mogelijk te maken. Na verschillende keren geen reactie te vinden, werd er honingdauw over de gisten gesproeid, om hun aktiviteit te stimuleren.

- b. De kompensatiepunten berekenen we uit de eerste 2 punten van de lichtreeks (na het "negatieve" licht gecorrigeerd te hebben.), als het snijpunt van de lijn tussen deze 2 punten en de licht-as. Het eerste punt geeft de respiratie weer bij totale duisternis. (Zie figuur 7.1.)



Figuur 7.1. Bepaling van het kompensatiepunt uit een fotosynthesekurve.

Resultaten:

- a. zie tabel 7.1.
b. zie tabel 7.2.

Tabel 7.1. Respiratie van verschillende aantallen gistcellen.

		I	Respiratie	F.V.
		$\text{Jm}^{-2} \text{s}^{-1}$	$10\text{kgCO}_2 \text{ha}^{-1} \text{h}^{-1}$	%
lage gistkoncentratie				
(0.5×10^6 cellen/ cm^2)		300.0	----	60
hoge gistkoncentratie				
(34×10^6 cellen/ cm^2)	12.00 uur	285.5	10.54	60
hoge gistkon.+honingd.	14.30 uur	302.9	13.97	61
hoge gistkon.+honingd.	15.25 uur	297.9	17.61	61
hoge gistkon.+honingd.	15.35 uur	296.4	12.28	61

Tabel 7.2. *Kompensatiepunten van de fotosynthesekurves van onbehandelde en van met gisten behandelde bladeren.*

Voedingsoplossing.			Voedingsoplossing+gistcellen.		
proefnr.	fotosynthese	berekende komp.punt	proefnr.	fotosynthese	berekende komp.punt
12357	-10.6	4.3	12365	-9.9	4.7
12358	-10.4	4.9	12366	-10.4	5.3
12359	-10.2	3.2	12367	0.0	0.0
12360	- 9.6	3.8	12368	0.0	0.0
12373	-14.4	6.3	12375	-18.3	7.2
12374	0.0	0.0	12376	-13.5	6.7
			12377	0.0	0.0
			12378	-11.3	4.8
gemiddeld: - 9.2			gemiddeld: - 7.9		
*10kgCO ₂ /hah			*10kgCO ₂ /hah		
3.8			3.6		
J/m ² s			J/m ² s		

Bij de fotosynthesemetingen werd gevonden d.m.v. fyllosfeerbepalingen: $1190 \pm 432 \cdot 10^3$ gistcellen per cm² blad.

Voor deze 8 metingen met gisten+ voedingsoplossing werd gemiddeld 84 cm² blad gemeten. Dat betekent dat er in een fotosynthesekamer $99960 \cdot 10^3 = 10^8$ gistcellen op het blad aanwezig waren.

De concentratie gistcellen in de petrischalen was in het geval dat er honingdauw opgebracht werd $34 \cdot 10^6$ gistcellen/cm².

De oppervlakte van 2 petrischalen is ongeveer 127 cm². Dat wil dus zeggen dat er bij de respiratiemetingen zo'n $4318 \cdot 10^6 = 43 \cdot 10^8$ gistcellen betrokken waren.

- a. De honingdauw had wel effect op de respiratie van de gisten. Waarschijnlijk was er dus een voedseltekort. Toch bleef de respiratie na toevoeging van honingdauw erg klein en gezien de zeer hoge gistconcentratie in vergelijking tot de gistpopulatie op de bladeren(43x) kunnen we de bijdrage van de gisten in de fotosynthesemetingen wel verwaarlozen, hoewel de gistcellen in de petrischalen over een kleiner oppervlak verdeeld waren (127 t.o.v. 168 cm²) en misschien (ook door 'n groter aantal) elkaar "in de weg" lagen.

b. Je zou verwachten dat de gisten door hun respiratie de R_d zouden doen toenemen, maar hier wordt hij zelfs iets kleiner. En ook in tegenstelling tot de verwachting ligt het kompensatiepunt bij de "gist+voedingsoplossing"-planten hoger dan bij de met voedingsoplossing behandelde planten. Ook via deze methode zou men dus de invloed van de gistrespiratie op het totale verschil in fotosynthese verwaarlozen.

7.3. FOTOSYNTHESE VAN VLAGBLADEREN MET GISTEN EN/OF VOEDINGSOPLOSSING.

Inleiding:

De fotosynthese van bladeren zou beïnvloed kunnen worden door de aanwezige saprophyten. Om de gisten te kunnen laten groeien, brengen we ze op de bladeren in een voedingsoplossing. (In de klimaatkamer zal de fyllosfeer niet erg voedsel- en sporenrijk zijn, omdat de van buiten aangevoerde lucht eerst op stof gefilterd wordt.)

Materiaal en methoden:

De gisten worden 4-6 dagen voor de fotosynthesemetingen opgebracht (zie 3.3.2.) op planten uit groep A*. De controleplanten met alleen voedingsoplossing komen uit groep A.

Verder kunnen we eerder gemeten, geheel onbehandelde planten (Groep A) ook als vergelijkingsmateriaal gebruiken.

Resultaten:

zie tabellen 7.3 a en b. Oorspronkelijke gegevens in Bijlage 2.

Tabel 7.3.a. Gemiddelde dag-netto fotosynthese van onbehandelde en met gisten behandelde bladeren.

behandeling	DGCO		DGCC		DGCO	DGCC
	gemid- delde	standaard afwijking	gemid- delde	standaard afwijking		
onbehandeld 1)	1335.1	279.6	2464.0	415.2	114	110
+voedingsoplossing	1169.4	219.0	2233.4	155.6	100	100
+voed.opl.+gisten	1038.2	259.9	1949.4	227.3	89	87

1) onbehandelde planten uit de proef: "Effekt van honingdauw".

Tabel 7.3.b. Toetsen van verschil in fotosynthese tussen onbehandelde en met gisten behandelde vlagbladeren, m.b.v. een t-toets.

toets	DGCO		D GCC	
	t-waarde	LSD	t-waarde	LSD
voedingsopl./voedingsopl.+gist	$t_{12} = 1.00$	---	$t_{12} = 2.62$	0.025

Een probleem bij deze proefopzet was wat als juiste blanco moet gelden. Enerzijds is een onbehandelde plant geen goede blanco, omdat op een plant waar gisten met voedingsoplossing werd opgebracht behalve de gisten ook de voedingsoplossing de fotosynthese kan beïnvloeden. Anderzijds leek een alleen met voedingsoplossing behandelde plant eveneens geen goede blanco, omdat bij behandeling met voedingsoplossing met gisten tijdens de meting een deel of misschien zelfs alle voedingsstoffen verdwenen zouden zijn en het verschil tussen beide behandelingen daardoor mogelijk kleiner is dan het effect van de gisten. Toevoeging van voedingsstoffen aan de gistbehandeling kon niet achterwege worden gelaten omdat de gisten zich dan te weinig zouden kunnen uitbreiden.

Op het moment van meting bleek op het met gisten behandelde blad nog een duidelijk zichtbare hoeveelheid voedingsoplossing aanwezig, zodat zeker met het effect hiervan rekening gehouden moet worden, en het met voedingsoplossing behandelde blad een betere blanco is dan het onbehandelde blad.

Dat behandeling met voedingsoplossing inderdaad de fotosynthese beïnvloedt, blijkt uit vergelijking met het onbehandelde blad, waar een maar liefst 10 tot 14% hogere fotosynthese gevonden wordt.

Door het opbrengen van de gistcellen loopt de fotosynthese 11 tot 13% terug. Indien de respiratie van de gisten erin betrokken zou moeten worden, en als rekening wordt gehouden met het feit dat de gekozen blankometing (behandeling met voedingsoplossing) een iets te lage blankowaarde geeft, wordt het verschil in fotosynthese nog iets groter.

Uit deze proef kan men dus konkluderen dat de saprofyt *Cryptococcus* een negatief effect heeft op de fotosynthese van de vlagbladeren van tarwe.

Fyllosfeerbepaling, inleiding

Zonder de aantallen gistcellen te weten die op de bladeren aan-

wezig zijn heeft het geen nut wat te zeggen over eventuele resultaten. Daarom werd van een reeks bladeren de kolonisatie bepaald.

Materiaal en methode

Zie materiaal en methode hoofdstuk 3.4.6.

Deze bepalingen werden door Fokkema gedaan d.m.v. schudden van individuele bladeren in water en uitplaten van dit water.

I=planten uit groep A*, bespoten met voedingsoplossing en gisten

II=planten uit groep A*, onbehandeld

III=planten uit groep A, bespoten met voedingsoplossing

Resultaten

Tabel 7.4. Gemiddelde aantallen gistcellen per cm² bij onbehandelde en met gisten behandelde bladeren.

behandeling	gem.aantal gistcellen standaard per cm ² blad x10 ³	afwijking
I	1190	432
II	71	27
III	<0.1	-

De oorspronkelijke gegevens zijn te vinden in bijlage 3, tabel 1.

De aantallen bacteriën zijn zeer laag bij alle behandelingen nl. <1000/cm². Er zijn geen andere gisten of schimmels geteld, hun niveau ligt beneden de 1000/cm².

De aantallen gisten zijn in behandeling I zeer hoog, dit komt in het veld zelden voor (daar maximaal 1-2x10⁵/cm², Fokkema pers. med.). De aantallen gistcellen in behandeling II zijn tamelijk hoog. De gisten zijn waarschijnlijk dezelfde als van groep I. Het is mogelijk dat de onbehandelde bladeren bij de bespuiting van groep I wat hebben meegekregen. Gezien de extreem lage concentratie bij groep III, is er geen enkele reden om aan te nemen dat de met honingdauw behandelde bladeren in hetzelfde klimaat wel een hoge schimmelflora zouden hebben.

7.4. FOTOSYNTHESEMETINGEN VAN VLAGBLADEN MET HONINGDAUW EN GISTEN.

Inleiding:

In het veld zou de saprofytische mycoflora een grote konkurrent zijn van de pathogene schimmels. Een stimulering van de saprofyten door een voedselgift in de vorm van honingdauw kan dan een extra bescherming zijn tegen deze pathogenen. Maar wat voor 'n effect heeft deze gestimuleerde saprofytenflora dan weer op de fotosynthese van het vlagblad?

Materiaal en methoden:

De planten zijn afkomstig uit groep C. Nadat de planten "ziek" werden, zijn de meest aangetaste verwijderd en de meer gezonde planten gebruikt voor deze proef (zie 3.2.1.5.). De vlagbladeren waren niet allemaal even groen meer en ook tijdens en na de fotosynthesemetingen vielen nog enkele potten planten af, omdat er nauwelijks nog fotosynthese geregistreerd werd. De controle bladeren werden behandeld met water. Voor het opbrengen van de gisten+honingdauw zie 3.3.1 en 3.3.2.

Resultaten:

Zie tabel 7.5. Oorspronkelijke gegevens in Bijlage 2.

Tabel 7.5. Gemiddelde dag-netto fotosynthese van onbehandelde en met honingdauw en gisten behandelde vlagbladeren.

behandeling	DGCO		DGCC		DGCO	DGCC	DGCO		DGCC	
	gemid.	st.afw.	gemid.	st.afw.			t ₁₅	LSD	t ₁₅	LSD
kontrole	638.2	104.5	1012.6	248.7	100	100				
honingd.+ gisten	660.4	154.7	1053.3	332.9	103	104	-0.34	-	-0.28	-

Geen significant verschil in fotosynthese tussen behandelde en controle planten. Uit de fyllosfeerbepalingen zal blijken dat er nauwelijks gisten gevonden worden, waardoor een vergelijking met de proef waar gisten+voedingsoplossing opgespoten werd geen zin meer heeft.

Wel is het totale aantal schimmels dat op de honingdauw gevonden wordt duidelijk meer dan op de controlebladeren.

Fyllosfeerbepalingen, inleiding:

Om te weten of de gisten opgebracht met de honingdauw succesvol zijn geweest in hun kolonisatie van het blad, wordt een fyllosfeerbepaling uitgevoerd.

Materiaal en methoden:

Zie 3.4.6.

Resultaten:

Zie tabel 7.6. Voor oorspronkelijke gegevens tabel 8, Bijlage 3.

Tabel 7.6. Gemiddeld aantal schimmels per cm² bij onbehandelde en met honingdauw gist behandelde vlagbladeren.

behandeling	gemiddeld aantal schimmels/cm ² blad 1)	standaard afwijking	t-waarde	LSD
kontrole	718	374		
honingd.+gist	4873	6066	$t_{13} = -1.80$	0.05

1) Er werden nauwelijks gisten gevonden.

De gist infectie is waarschijnlijk mislukt. Wel is de honingdauw een goede vestigingsmogelijkheid geweest voor schimmels, vooral *Penicillium* soorten; verder werden ook enkele kolonies van de zwart-schimmels *Alternaria* en *Epicoccum*, van *Phoma* en van de rode gist *Sporobolomyces roseus* gevonden.

7.5. DISKUSSIE.

Zoals ook uit proeven van I. Riphagen blijkt (I. Riphagen, 1978), bevordert honingdauw de vestiging en/of uitbreiding van schimmels, vooral *Penicillium*soorten werden door ons veel gevonden.

Fotosynthesemetingen wijzen uit dat een hoge kolonisatie van witte gisten de fotosynthese van het blad met in ieder geval 11--13% vermindert. Waarschijnlijk is het effect nog sterker, omdat als "blanco"-meting met voedingsoplossing behandeld blad werd gebruikt, terwijl op de met voedingsoplossing+gist behandelde bladeren een deel van de voedingsoplossing reeds gekonsumeerd was. Met respiratie van de gisten hoefde in deze berekening geen rekening gehouden te

worden; deze bleek namelijk bij een 43x zo groot aantal als tijdens de meting op het blad aanwezig was, 1.76 kg per ha per dag te zijn. Hetgeen in verhouding met de fotosynthese van 100 tot 250 kg per ha per dag verwaarloosbaar is.

De voedingsoplossing waarmee de gisten werden opgebracht had een ongeveer even groot effect als de gisten zelf. In vergelijking met de "blanco"-meting van deze proef ligt de fotosynthese van onbehandelde bladeren 10-14% hoger.

Deze metingen werden uitgevoerd met een zeer hoge concentratie gistcellen, namelijk $\pm 1.2 \times 10^6$ cellen/cm² blad, terwijl in het veld $1-2 \times 10^5$ cellen hoog is (Fokkema, pers. med.). In het veld zal een sterke beïnvloeding als wij gevonden hebben dus normaal gesproken niet optreden.

Dat de gisten een nadelig effect hebben op het blad is in overeenstemming met de bevindingen van o.a. Skidmore & Dickinson (1973), Dickinson & Walpole (1975), die een veroudering versnellend en opbrengstverminderend effect van saprophyten vinden. Fokkema et al. (1979) vonden echter geen verband tussen hoeveelheden saprophyten en chlorofyllinhoud van het blad, hetgeen moeilijk te rijmen valt met onze resultaten.

In tegenstelling met bovengenoemd resultaat, vertoonden met zowel honingdauw als gist behandelde bladeren geen verschil in fotosynthese met de kontrolemetingen (in dit geval met water behandeld). De infectie met gisten bleek bovendien vrijwel mislukt. Wel werd een verhoogde schimmelkolonisatie gevonden. Zelfs de honingdauw bleek hier dus geen effect te hebben. Dit zou als aanwijzing kunnen worden beschouwd, dat een eerder gevonden "honingdauw-effect" o.a. een effect is van niet met water behandelen van de blanco's. Maar waarschijnlijk is de oorzaak van het vinden van geen verschil de slechte en vooral zeer variabele toestand van de planten.

8. Effekt van de luizen.

-116-

8.1. INLEIDING.

De invloed van *Sitobion avenae* op de tarweplant kan velerlei zijn (zie hoofdstuk 2.4.).

Een poging om de direkte en indirecte invloed van de honingdauw die door de luizen wordt uitgescheiden, te onderzoeken, is gedaan in de hoofdstukken 5 en 6. In deze proef werd geprobeerd om het gezamenlijk effect van de luizen en de door hen uitgescheiden honingdauw te meten m.b.v. de fotosynthese-apparatuur. Doordat luizen de honingdauw niet naar beneden "wegschieten", maar in opwaartse richting, kwam het grootste gedeelte van de honingdauw op de wanden van de kooitjes terecht. Hierdoor hebben we in feite alleen de direkte effecten van de luizen op de fotosynthese gemeten.

8.2. MATERIAAL EN METHODEN.

De planten die we gebruikten voor deze proef kwamen uit groep D (zie 3.2.1.). De luizen werden apart opgekweekt (zie 3.2.2.4.) en gedurende 10 dagen in de kooitjes op het vlagblad gezet; 5 adulte aptere luizen per kooitje (zie 3.3.3.). De controles werden eveneens "behandeld", namelijk met kooitjes en watjes zoals de behandelde planten, maar dan zonder luizen. De dag vóór de fotosynthesemetingen werden de kooitjes verwijderd en de luizen geteld en gewogen. Verder bepaalden we op verschillende wijzen de geproduceerde hoeveelheid honingdauw (zie 3.4.5.).

8.3. FOTOSYNTHESEMETINGEN.

Tabel 8.1. Gemiddelde dag-netto fotosynthese van onbehandelde vlagbladeren en vlagbladeren waar luizen op hebben gezeten.

Oorspronkelijke gegevens: Bijlage 1 en 2. proefnr's 12417-12436

behandeling	DGCO		DGCC		DGCO	DGCC
	gem.	st.afw.	gem.	st.afw.		
onbehandelde 1)	1335.1	279.6	2464.0	415.2	111	100
controle zonder luis	1205.1	267.7	2459.9	508.4	100	100
met luizen	1377.4	427.4	2808.7	835.8	114	114

1) Onbehandelde planten uit de proef: "Effekt van de honingdauw!"

toets	DGCO			DGCC		
	t-waarde	LSD		t-waarde	LSD	
-luizen/+luizen	t_{22} -1.18	—		t_{22} -1.24	—	

Tabel 8.2.a. Resultaten van de aantallen en biomassabepalingen van de luizenpopulaties per kooitje. (gewichten in mg).

Oorspronkelijke gegevens: Bijlage 3, Tabel 9.

PROEFNR	ADULTEN		L ₁ t/m L ₄		TOTAAL	DGCO	DGCC
	aantal	gewicht	aantal	gewicht	gewicht		
12413	14	10.46	177	17.76	28.22	1166.2	2616.3
12414	17	13.56	232	51.10	64.60	1200.6	2374.0
12415	13	10.43	225	37.64	48.07	1894.0	3999.1
12416	15	12.81	275	51.31	64.12	1098.0	2038.1
12421	15	13.63	179	26.37	40.00	1084.7	2497.5
12422	17	18.83	263	47.67	66.50	1260.0	2559.4
12423	18	19.57	242	43.33	62.90	1574.1	3120.3
12424	19	23.22	265	54.24	77.46	1606.2	2921.9
12429	18	19.67	161	30.32	49.99	2061.4	4341.7
12430	18	20.62	203	31.34	51.96	470.48	1161.4
12431	18	20.96	206	32.24	53.20	1408.8	2968.9
12432	17	18.03	191	30.14	48.17	1703.7	3105.9
TOTAAL:	199	201.79	2619	453.46	655.25		

Tabel 8.2.b. Verband tussen populatiegrootte en -groei en de gemiddelde dag-netto fotosynthese. r_s is de spearman rangcorrelatie-coëfficiënt. Wanneer $r_s = 1$ (of -1) dan is er volledige afhankelijkheid.

	r_s -waarden	
	DGCO	DGCC
biomassa adulten	0.14	0.09
totale biomassa	0.08	-0.24
toename biomassa	0.03	-0.19
totaal aantal	0.07	-0.28
toename aantal	0.07	-0.28

De fotosynthese van de vlagbladeren zou door de luizen wat verhoogd worden (Tabel 8.1. : $\pm 14\%$), hoewel dit verschil niet significant is. Een verhoging zou ook niet zo onlogisch zijn.

Het vlagblad is een "source", oftewel er vindt een wegvloeien van assimilaten plaats. Verder heeft het vlagblad een "sink-limited"-aktiviteit, d.w.z. dat de snelheid van de afvoer van assimilaten bepaald wordt door de grootte van de sink in andere delen van de plant (in dit geval de aar). (Brouwer 1972) Het vlagblad zou dus meer gaan assimileren, wanneer de sink groter zou zijn. Wordt er nu een extra sink veroorzaakt door het wegzuigen van assimilaten door de luizen, dan kan het vlagblad zijn fotosynthese verhogen en van een gedeelte van z'n overcapaciteit gebruik maken. We hebben echter geen enkel bewijs voor deze theorie. Andere verklaringen, zoals beïnvloeding van de hormonenbalans van de plant door de luizen, zijn ook mogelijk.

De verklaring die wij geven m.b.v. de "sink-source" relaties zou betekenen dat er tussen de toename van de fotosynthese en de totale (of toename in) biomassa of de totale (of toename in) aantallen van de luizen op dat blad een verband moet zijn. Omdat we de toename van de fotosynthese per blad niet kennen, hebben we geprobeerd dit verband terug te vinden in de gemeten fotosynthese. Dit kunnen we echter niet aantonen (Tabel 8.2.b.) waarschijnlijk door de grote variantie in fotosynthese tussen de bladeren onderling.

8.4. POPULATIE-ONTWIKKELING VAN DE LUIZEN.

De proef "Effekt van de luizen" was opgezet om de invloed van de luizen op de fotosynthese van het vlagblad te bepalen. Daarvoor zijn ook een groot aantal luizen geteld en gewogen. Met de resultaten hiervan kunnen dezelfde berekeningen uitgevoerd worden, als Vereijken gedaan heeft (Vereijken 1979). Hij plaatste in 30 kooitjes 8 larven (3^e stadium) van Sitobion avenae, gedurende 14 dagen. Deze larven bleken later voorname-lijk alaten te zijn. De resultaten hiervan staan in tabel 2 pag 7. De resultaten in tabel 10 vond Vereijken in een proef met 5 alaten per kooitje. Wij plaatsten in 60 van dezelfde perspex kooitjes elk 5 adulte apteren. Een vergelijking van beide proeven is dus zeer interessant, hoewel het niet als doel van ons onderzoek gold.

Tabel 8.3. Grootte en gewicht van de luizenpopulaties op de vlagbladeren, voor alle kooitjes. (gewicht in mg.)

Doel:	ADULTEN		L ₁ t/m L ₄		ADULT+L's	
	aantal	gew.	aant.	gèw.	aant.	gew.
fotosynthesemetingen	199	201.79	2619	453.46	2818	655.25
rest= "reservekooitjes"	52	50.36	603	102.05	655	152.41
totaal:	251	252.15	3222	555.51	3473	807.66

Een aantal resultaten kunnen we nu vergelijken:

1. De planten die wij gebruikten waren op het tijdstip van tellen en wegen van de luizen in stadium ZCK. 57 oftewel Fe. 10.4. Vereijken's planten deelde hij in twee groepen: Fe. 10.5.2-11.1 en Fe. 11.1-11.2 .
2. Er werd begonnen met 5 adulten per kooitje en voor hun biomassa nemen we de gemeten waarde na 10 dagen. De overlevende adulten wogen toen 1.00 mg. Uit z'n resultaten valt te berekenen dat Vereijken begon met (3^e larvale stadium)luizen van gemiddeld 0.22 mg.
3. Het gemiddeld gewicht van de adulten na 10 dagen is (252.15:251) 1.00 mg. Deze overlevende adulten wogen duidelijk meer dan wat Vereijken vond (0.65mg). Onze luizen waren ook onder optimale omstandigheden (vóór de proef) opgekweekt (zie 3.2.2.4). Verder bleken onze luizen vrijwel alle apteer te zijn in tegenstelling tot de overlevende adulten van Vereijken. Apteren wegen over het algemeen meer dan alaten.
4. Gestart werd met 60 kooitjes, met in totaal 300 luizen. Na 10 dagen waren er nog 251, wat een gemiddelde mortaliteit betekent van 16%. Deze komt aardig overeen met wat Vereijken vond. Vereijken plaatst dit in de prereproductieve fase, terwijl de sterfte bij ons in de reproductieve fase plaats moet hebben gevonden. Waarschijnlijk is de overplaatsing van de luizen naar de kooitjes de voornaamste oorzaak van de sterfte.
5. Het begin aantal was 5 per kooitje en na 10 dagen (3473:60=) 57.88 per kooitje. De gemiddelde vermenigvuldiging in aantallen is dan (57.88:5=) 11.6 . Deze is $\pm 2x$ zo groot als bij Vereijken.

6. De beginbiomassa was 5 mg per kooitje, na 10 dagen was dit $(807.66:60=)$ 13.46 mg. Dat betekent een gemiddelde vermenigvuldiging in biomassa van $(13.46:5=)$ 2.7 mg/mg, wat ongeveer de helft is t.o.v. de populatie van Vereijken.
7. De gemiddelde individuele biomassa na 10 dagen was $(807.66:3473=)$ 0.23 mg en bij Vereijken na 14 dagen ongeveer net zo hoog.

Tabel 8.4. Resultaten van het hier beschreven onderzoek naar de populatieontwikkeling van *Sitobion avenae* op het vlagblad, vergeleken met de resultaten van Vereijken (Vereijken 1979).

Bron:	Dit onderzoek.	VEREIJKEN 1979.		
		1.	2.	gem.(1+2)
Groeistadium v/d plant	ZCK-57 Fe-10.4	Fe10.5.2 Fe-11.1	Fe-11.1 Fe-11.2	Fe-10.5.2 Fe-11.2
Gemiddelde mortaliteit in oorspronkelijke luizen (%)	16	18	17	18
Gemiddeld gewicht van de overlevende adulten (mg)	1.00	0.65 ¹⁾	0.57	0.61
Gemiddelde toename in 14 (resp. 10) dagen in aantallen	11.6	5.2	6.1	5.7
Gemiddelde toename in 14 (resp. 10) dagen in biomassa (mg/mg)	2.7	5.9 ¹⁾	7.3	6.6
Gemiddelde individuele biomassa na 14 (resp.10) dagen (mg)	0.23	0.25	0.29	0.27

1) Deze getallen kunnen niet direkt met de door ons gevonden worden vergeleken; dit wordt in de tekst uitgelegd en verder beredeneerd welke getallen wel vergeleken kunnen worden.

De laatste 3 resultaten (punten 5,6 en7) lijken in strijd met elkaar. Men zou namelijk geneigd zijn bij ons onderzoek een 2 maal zo grote toename in biomassa te verwachten als bij het onderzoek van Vereijken.

De vermenigvuldiging in aantallen is bij Vereijken veel kleiner, waarschijnlijk omdat de luizen voor zijn proeven niet uitgeselekt waren zoals in feite de luizen voor onze proeven. De reproductie heeft bij beide onderzoeken ± 10 dagen geduurd en de 2^e generatie was in geen van beide gevallen aan reproductie toe.

Vereijken begint met larven in het 3^e larvale stadium, die gemiddeld 0.22 mg wegen (berekend uit tabel 2 van Vereijken). Deze luizen gaan na 4 tot 6 dagen reproduceren en tot die tijd nemen ze toe in gewicht, tot 0.65 mg. Ditzou de sterke toename van de gemiddelde biomassa verklaren. Om dit te verifiëren kunnen we het gemiddelde gewicht van de initiële luizen die Vereijken gebruikte stellen op 0.65 mg (= het gemiddelde gewicht van de overlevende adulten, zoals we ook bij ons eigen onderzoek deden). Waarschijnlijk hadden ze dit gewicht aan het begin van de reproductieve fase. Degemiddelde toename in biomassa over de 10 daarop volgende dagen is dan 2.0 mg/mg, wat veel beter overeenstemt met onze gevonden waarde van 2.7 mg/mg.

Al met al is de konklusie dat de beide populaties redelijk met elkaar overeenstemmen, wat betreft de produktie van biomassa, gerechtvaardigd. Nu is een vergelijking van de honingdauwproduktie reëel.

8.5. BEPALING VAN DE HONINGDAUWPRODUKTIE.

Zie hoofdstuk Materiaal en Methoden 3.4.5.

Op 3 manieren is de honingdauwproduktie bepaald:

1. Volgens de droogvriesmethode van de kooitjes én bladeren behorende bij defotosynthesemetingen.
 2. Volgens de terugweegmethode van de kooitjes behorende bij de fotosynthesemetingen.
 3. Volgens de terugweegmethode van alle kooitjes.
- Bepaling 2 is een onderdeel van bepaling 3.

<u>Droogvriesmethode:</u>	B= 1.38012 gram	D= 0.02187 gram
	A= 0.07881	C= 0.00882
bepaling 1.	B-A= 1.30131 gram	D-C= 0.01305 gram

De totale honingdauwproduktie is (B-A)+(D-C)= 1.31436 gram volgens de droogvriesmethode. Alleen bladeren die voor de fotosynthesemetingen gebruikt werden; zo ook de kooitjes.

<u>Terugweegmethode:</u>	Voor de kooitjes van de bladeren die gebruikt werden voor de fotosynthesemetingen:			
bepaling 2.	48 kooitjes met luizen	gewicht vóór	-na wassen	3.8243
	48 kooitjes zonder luizen	"	"	3.1146
				0.7097

Terugweegmethode: Voor alle kooitjes:

bepaling 3. 60 kooitjes met luizen gewicht vóór-na wassen 4.9461 g
 59 kooitjes zonder luizen " " " " 3.8317 g
 Bij de 59 kooitjes zonder luizen tellen we het gemiddeld
 gewicht van een kooitje erbij om het vergelijkbaar te
 maken. Dus 60 kooitjes zonder luizen 3.8966 g
 honingdauwproduktie: 1.0495 g

Tabel 8.5. Honingdauwproduktie, volgens verschillende methodes bepaald.

Bepaling	Honingdauw (mg) droge stof	Verse bio- massa luizen (mg)	Droge bio- massa luizen (mg) 1)	Gemiddelde honing- dauw produktie in in mg d.s per ge- prod. mg luis.
1.	blad 13.05 kooi1301.31 tot.1314.36	453.46	142.84	verse biomassa 2.9 droge biomassa 9.2
2.	2) 709.7	453.46	142.84	1.6 5.0
3.	2) 1049.5	555.51	174.99	1.9 6.0

1) verhouding versgewicht/drooggewicht = 100 / 31.5
 (volgens Vereijken 1979)

2) bij bepaling 2 resp. 3 is de honingdauw op het blad
 niet inbegrepen.

De resultaten lopen nogal uiteen.

Bepaling 1. Van de geproduceerde honingdauw komt schijnbaar
 maar 1% terecht op het blad. De gemiddelde honing-
 dauwproduktie in mg droge stof/mg geproduceerde
 luizen biomassa is vergelijkbaar met de waarden
 gevonden door Vereijken:

-voor verse biomassa luizen (tabel 2): 3.2 mg/mg
 -voor droge biomassa luizen (tabel 4): 9.1 mg/mg

Bepaling 2. De terugweegmethode geeft een veel lagere
 honingdauwproduktie dan de droogvriesmethode.
 Bijna 50% minder, waar we geen verklaring voor
 gevonden hebben.

Bepaling 3. Een wat grotere steekproef dan bepaling 2.

Energiebalans.

Een overzichtelijke manier om resultaten te vergelijken is de berekening van de efficiëntie van het voedselgebruik op basis van het energiebudget.

De calorische waarde van het opgenomen voedsel is gelijk aan de calorische waarde van de honingdauw, van de biomassa (met inbegrip van de exuvia) en van de respiratie. Aannames wat betreft de energie-inhoud van:

Sitobion avenae	6 cal/mg	Llewellijn (1972) vond voor
(♀♀ gemiddelde luis)		Eucallipterus tiliae 5.6 cal/mg
		Llewellijn & Quereshi (1978) vonden
		voor Aphis fabae 5.5 cal/mg.
Respiratie	3 cal/mg luis- produktie.	Kunkel & Hertel (1975) werkten met
		Myzus persicae en Vereijken bere-
		kende hieruit dat de energie-
		inhoud voor L ₃ -alaten 5.8 cal/mg ds
		was en dat de ratio tussen groei in
		biomassa en respiratie 2:1 was.
Honingdauw	4 cal/mg	Zoals floeemsap.
Floeemsap	4 cal/mg	Tarwemeel en saccharose.

In z'n berekeningen van de energiebalans van Sitobion avenae gaat Vereijken (Vereijken 1979 blz. 13) ervan uit dat Sitobion bij de produktie van 1 mg biomassa 9 mg honingdauw produceert op het vlagblad. Bij de waarden van de honingdauw is de bijdrage van de vervellingshuidjes inbegrepen. In onze berekeningen worden deze buiten beschouwing gelaten.

Vereijken (blz 13):

Calorische waarde opgenomen voedsel: $6 + (9 \times 4) + 3 = 45$ cal.

Voor de produktie van 1 mg luis is $(45:4)$ 11 mg floeemsap nodig en wordt 9 mg honingdauw geproduceerd.

Op basis van de gegevens van tabel 2 van Vereijken:

In stadium Fe. 10.5.2.-11.1 honingdauwprod. = 3.2 mg/mg op vlagblad en omgerekend naar drooggewicht.

Calorische waarde opgenomen voedsel: $6 + (10.2 \times 4) + 3 = 49.8$ cal.

Voor de produktie van 1 mg d.s. luis is $(49.8:4 =)$ 12.5 mg floeemsap nodig en wordt 10.2 mg honingdauw geproduceerd.

Op basis van onze eigen gegevens uit de droogvriesmethode die ook door Vereijken toegepast werd:

Calorische waarde opgenomen voedsel: $6 + (9.2 \times 4) + 3 = 45.8$ cal.

Voor de produktie van 1 mg d.s. luis is $(45.8:4 =)$ 11.5 mg floeemsap nodig en wordt 9.2 mg honingdauw geproduceerd.

Tabel 8.6. Energiebalans van *Sitobion avenae* op het vlagblad.

Waardplant	Percentage groei in:			Bron:
	groei	respiratie	honingdauw	
wintertarwe (c.v. Cyrano)	13	7	80	Vereijken 1979
wintertarwe (c.v. Cyrano)	12	6	82	afgeleid uit tab.2 Vereijk.
zomertarwe (c.v. Opal)	13	7	80	eigen onder- zoek bep. 1.
zomertarwe (c.v. Opal)	21	10	69	bepaling 2.
zomertarwe (c.v. Opal)	18	9	73	bepaling 3.
Vicia faba (met de luis <i>Aphis fabae</i>)	20	10	70	Dixon(1971).

Tabel 8.6. geeft een overzicht van de hiervoor berekende energiebalansen in de diverse gevallen. De energiebalans resulterende uit bepaling 1 komt dus goed overeen met wat Vereijken vond en de graanluizen nemen wat betreft de efficiëntie van voedselgebruik een intermediaire positie in t.o.v. andere soorten luizen. De energiebalansen volgende uit de andere bepalingen (2 en 3) wijken hier sterk van af en komen meer overeen met wat Dixon (1971) vond.

Vergelijkingen dienen echter met de nodige voorzichtigheid toegepast te worden. Factoren zoals ontwikkelingsstadium van de plant, stikstofgift, voedingsplaats van de luis etc. kunnen erg belangrijk zijn. Ook moet er gelet worden op de manier waarop men de honingdauwproduktie bepaald. De droogvriesmethode komt aardig overeen met wat Vereijken deed. De terugweegmethode geeft al heel andere resultaten.

8.6. DISKUSSIE.

Luizen hebben een effect op het vlagblad en wel op de fotosynthese welke ze kunnen stimuleren. Dit direkte effect kan veroorzaakt worden doordat de luizen als extra "sink" fungeren waardoor het vlagblad meer gaat assimileren. Een verband tussen de "grootte" van de sink en de totale fotosynthese werd niet aangetoond, maar de proefopzet was hiervoor ook niet geschikt.

Populatietellingen, het wegen van de biomassa en bepaling van de honingdauwproduktie van de luizen in deze proef leidde tot een energiebalans van *Sitobion avenae*, die zeer goed overeenkomt met de door Vereijken berekende balans (Vereijken 1979).

9. Modellen.

9.1. INLEIDING

De relaties tussen planten in het veld en een luizenpopulatie met alles wat er bij hoort zoals predatoren en parasieten zijn zo complex, dat het verduidelijkend kan werken dit systeem m.b.v. een model te simuleren. Men probeert hiertoe de belangrijkste relaties in het systeem in een relatiediagram te zetten en dit om te zetten in een stelsel door de komputer verwerkbare vergelijkingen. Men gaat er hierbij van uit dat de toestand van het systeem steeds gekwantificeerd kan worden en de veranderingen met wiskundige formules te beschrijven zijn.

Voordeel van deze werkwijze is dat met behulp van een juist model nuttige voorspellingen gedaan kunnen worden; tevens kan het een belangrijke kontrolemogelijkheid zijn of het systeem juist begrepen is: wanneer de voorspelling niet klopt met de werkelijkheid zijn de uitgangspunten van het model fout of is een deel van de relaties verkeerd weergegeven, wanneer de voorspelling wel klopt is dat geen bewijs maar wel een aanwijzing dat de werkelijkheid, het systeem, er ongeveer zo uitziet als je denkt. Nadeel van het gebruiken van modellen is dat men makkelijk de vooronderstellingen kan vergeten, vergeet dat het model slechts een hulpmiddel is, en een heilig geloof in het model in plaats van in de werkelijkheid krijgt.

Van de tarwegewasgroei plus luizenpopulatie-ontwikkeling en onderlinge relaties is een model-in-wording. Dit wordt samengesteld uit twee reeds bestaande modellen: een die de gewasgroei simuleert en een die de populatie-ontwikkeling van de luizen simuleert.

9.2. BEWERKING VAN HET GEWASGROEIMODEL

Op de vakgroep theoretische teeltkunde was een model aanwezig dat gebruikt is voor gewasgroeisimulatie van tarwe in Israël en Australië. Dit model was niet klaar voor gebruik voor ons doel: het was onoverzichtelijk, er was nauwelijks verklaren-de tekst en geen lijst van betekenissen van afkortingen, en het

kon nog niet gerund worden omdat er uitdrukkingen ontbraken, dubbel stonden e.d. Bovendien bevatte het een aantal voor ons niet relevante onderdelen.

We hebben dit model, d.w.z. een lange lijst van uitdrukkingen in voor ons onbekende afkortingen, als volgt aangepakt:

1. Duidelijk irrelevante onderdelen werden geschrapt; dit was vnl. een uitgebreid stuk over de waterhuishouding.
2. Literatuur over gewasgroei modellen werd bestudeerd om een indruk te krijgen hoe een dergelijk model ongeveer in elkaar zit (Rabbinge 1978, De Wit et al 1978)
3. Het tarwegewasgroei model werd bestudeerd; m.b.v. de schaarse verklarende tekst werd geprobeerd de inhoud van alle uitdrukkingen en de betekenis van de afkortingen te begrijpen.
4. Er werd een afkortingenlijst gemaakt.
5. Door het maken van een nauwkeurig relatiediagram werd geprobeerd een beetje overzicht over het geheel te krijgen.
6. De uitdrukkingen van het model werden opnieuw gerangschikt in voor ons logischer groeperingen. Resultaat hiervan is samen met de afkortingenlijst in bijlage 5 te vinden.

Functie van deze activiteiten was, behalve het leereffekt voor onszelf, het toegankelijker maken van het model voor degenen die er de relatie tussen luizen en gewasgroei in willen brengen. Bovendien wilden we zelf aangeven waar eventuele effecten van de luizen in het model in zullen grijpen.

9.3. BESPREKING VAN HET MODEL

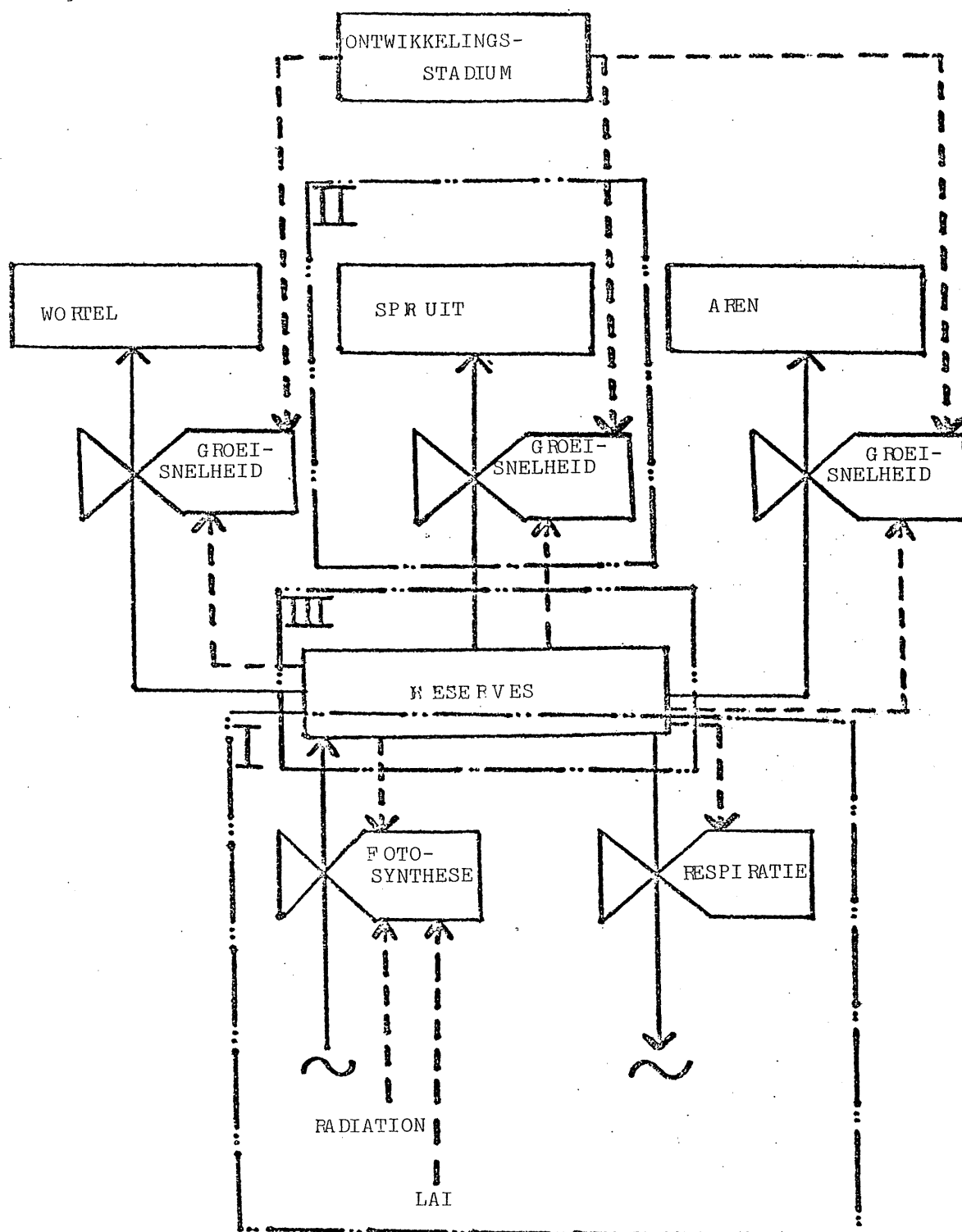
Zeer vereenvoudigd is het model weergegeven in het relatiediagram in figuur 9.1.

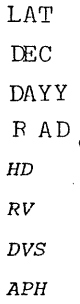
Voor ons doel is het niet van belang het hele model precies te bespreken. Alleen op enkele onderdelen zal worden ingegaan, die belangrijk zijn i.v.m. het effect van de luizen, waarbij een mogelijkheid voor inbouwen van dit effect zal worden aangegeven.

I. In figuur 9.2 is het uitgewerkte relatiediagram (aangegeven in de vorige figuur met omlijning en I) van het fotosynthesegedeelte van het model gegeven. Bijbehorende vergelijkingen staan in tabel 9.1.

De inkomende straling op het gewas wordt berekend uit breed-

Figuur 9.1. Vereenvoudigd relatiediagram van het tarwegewasgroeimodel.





Figuur 9.2. Relatiediagram van het fotosynthesegedeelte van het gewasgroeimodel

tegraad en dag van het jaar; onderscheid wordt gemaakt tussen straling bij heldere en bewolkte lucht. De bruto fotosynthese wordt berekend uit enerzijds het stralingsverloop op een dag, welk weer afhankelijk is van plaats op aarde, dag van het jaar en mate van bewolking, en anderzijds eigenschappen van het gewas als de fotosynthese-lichtgrafiek en leaf area index.

De netto fotosynthese is het verschil tussen bruto fotosynthese en respiratie, welke laatste vooral van het gewicht van de verschillende organen en de stikstofhuishouding van de plant afhangt.

II. In figuur 9.3 is het uitgewerkte relatiediagram voor groei en veroudering van de vegetatieve delen van de plant gegeven (zie omlijnd deel II in figuur 9.1); bijbehorende vergelijkingen staan in tabel 9.2.

Het gewicht van de vegetatieve delen neemt toe door een groeisnelheid die afhangt van aanvoersnelheid van fotosyntheseproducten, een konversiefactor voor omzetting van de aangevoerde producten in morfologische structuren, en een reductiefactor wanneer het blad te dik of te dun wordt.

De afsterving van vegetatieve delen kan veroorzaakt worden door stikstoftekort, watertekort, of veroudering; de faktor die de grootste afsterving veroorzaakt, bepaalt de snelheid van afsterven. De afstervingssnelheid door veroudering hangt af van het ontwikkelingsstadium van de plant.

III. In figuur 9.4 is het uitgewerkte relatiediagram voor de reservestoffen in de plant gegeven (omlijnd deel III in figuur 9.1); bijbehorende vergelijkingen staan in tabel 9.3.

De hoeveelheid reservestoffen wordt aangevuld vanuit de netto fotosyntheseproduktie; afname van deze hoeveelheid vindt plaats door transport naar verschillende organen.

9.4. INBOUWEN VAN HET EFFEKT VAN BLADLUIZEN OP DE PLANT

Koppeling van het luizen- en het gewasgroeimodel bestaat uit twee kanten: enerzijds het effect van de plant als voedselbron op groei en ontwikkeling van de luizenpopulaties, anderzijds het effect van een luizenpopulatie op groei en ontwikkeling van de plant.

```

TRF R S=AMAX1(0.,ARESP*2.*WEG..
/(2.*WEG+WR T+NOT(WEG+...
WR T))-R ESLL*(ARESP+WEG))..
/TCTR*RFFN
TRF R=AMAX1(0.,ARESP*2.*WEG/..
(2.*WEG+WR T+NOT(WEG+...
WR T))-R ESLL*(ARESP+WEG))..
TCTR*R FMNG*F D ST

```

Wij houden ons hier voornamelijk met het tweede aspect bezig.

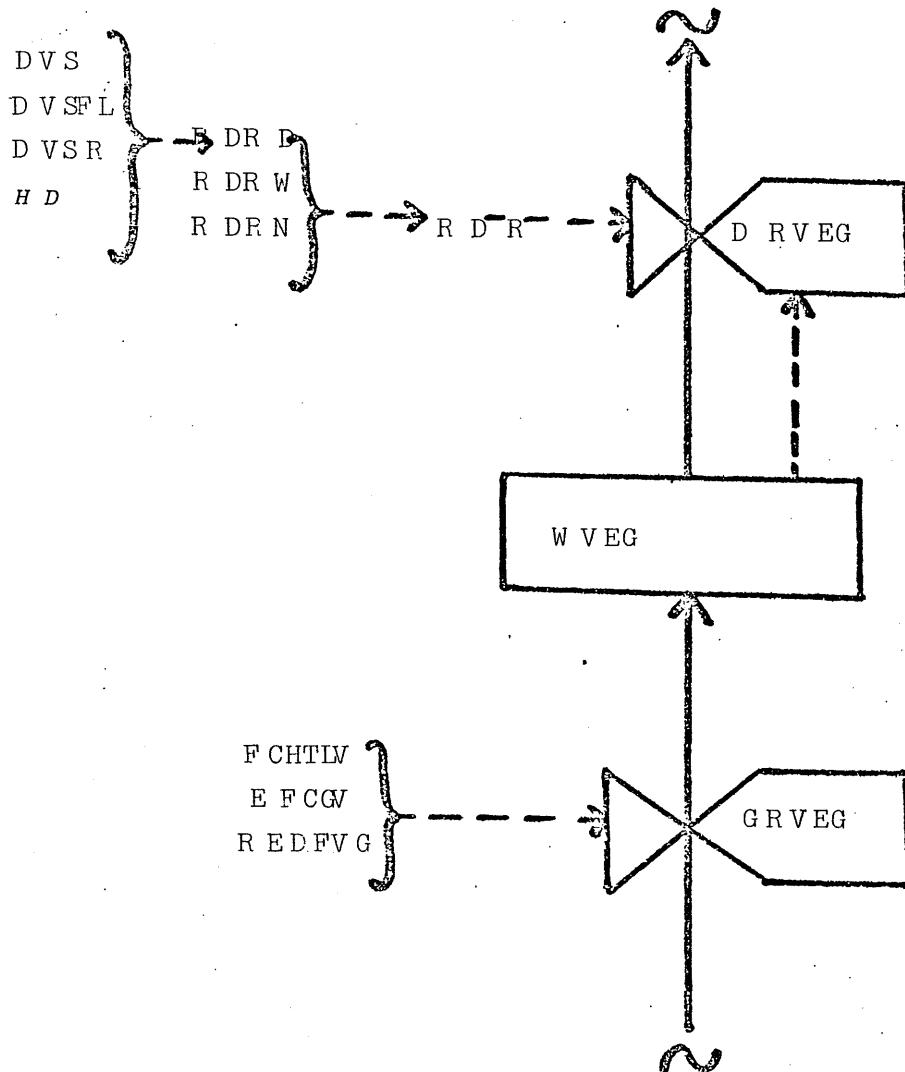
In 9.3. zijn verschillende onderdelen van het gewasgroei model behandeld waarin de aanwezigheid van luizen zou kunnen ingrijpen; we zullen dit in dezelfde volgorde als daar behandelen (de verder genoemde effecten staan in de relatiediagrammen aangegeven):
 I Wanneer honingdauw de plant beïnvloedt door licht weg te nemen, zou dit ingebouwd kunnen worden door de hoeveelheid licht met een bepaald percentage te verminderen, bv. de straling bij onbewolkt weer (R ADC) met een faktor (1-'X') te vermenigvuldigen voor het met honingdauw bedekte oppervlak.

Een algemenere methode om een effect op de fotosynthese in te bouwen is via het veranderen van efficiency (EFFE) en maximum (AMAX) van de fotosynthesekurve. Voordeel is dat het werkingsmechanisme van de beïnvloeding niet precies bekend hoeft te zijn terwijl na nauwkeurige metingen aan de beide grootheden het effect al wel ingebouwd kan worden. Wel zullen dan efficiency en maximum op andere wijze gedefiniëerd moeten worden: momenteel worden deze als parameters ingevoerd; dit zou vervangen moeten worden door een vergelijking waarin EFFE en AMAX afhankelijk van het ontwikkelingsstadium, opgesplitst naar jaar en verschillende bladeren, met honingdauw bedekt oppervlak, en ouderdom van het laagje, gedefiniëerd worden.

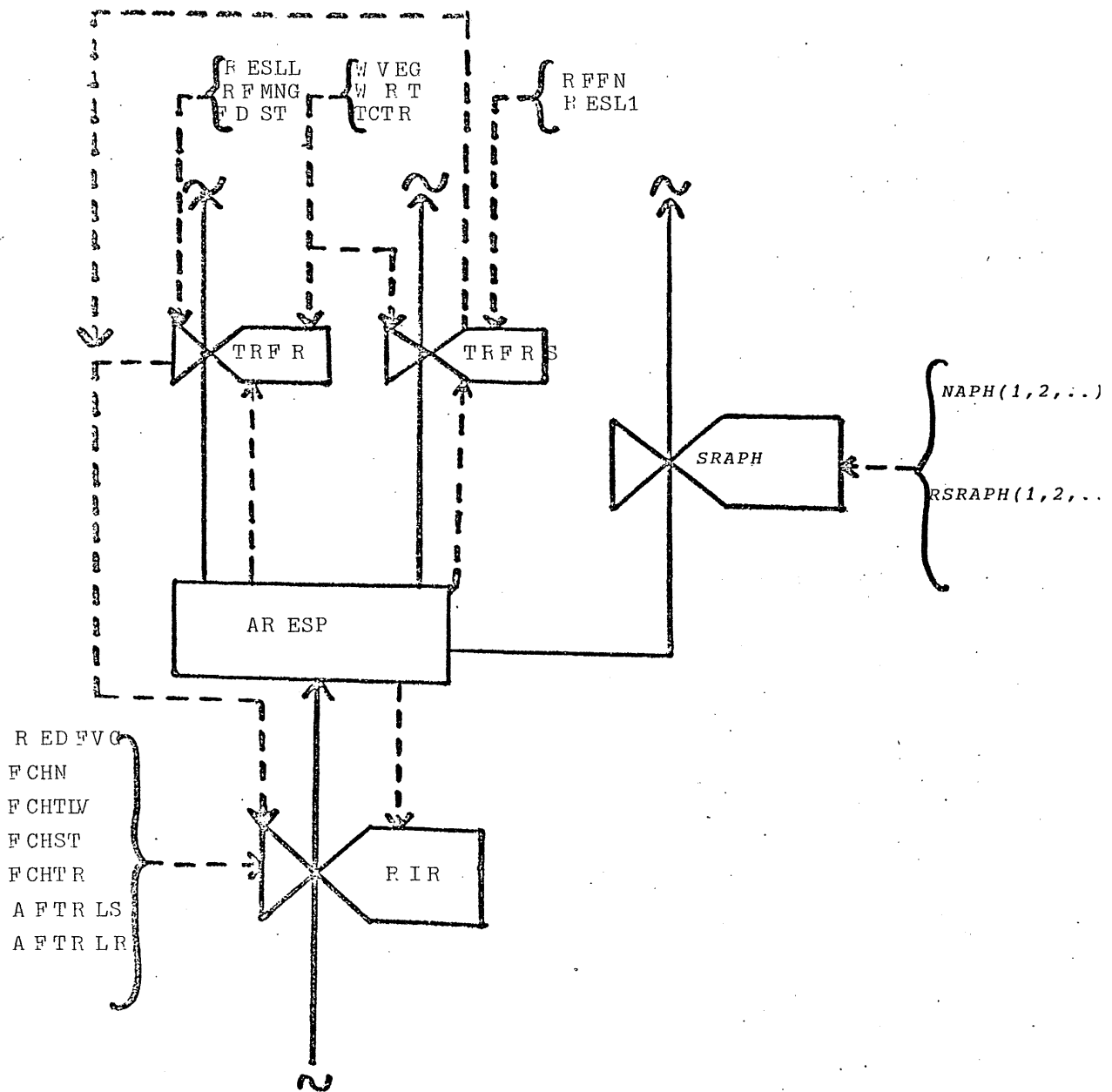
Het mogelijk stimulerende effect van de luizen zelf zal op dezelfde plaats en manier moeten worden ingebouwd: door EFFE en AMAX bv. afhankelijk te stellen van de snelheid waarmee de luizenpopulatie stoffen wegzuigt.

II. Wanneer honingdauw of de erop groeiende schimmels veroudering van het blad stimuleren zal dit, behalve in de fotosynthese, ook in de afstervingsnelheid van de vegetatieve delen tot uiting komen: R DRD zal toenemen. Op welke wijze dit van de hoeveelheid honingdauw, het bedekte oppervlak, of de ouderdom ervan afhangt, zal nog

Figuur 9.3. Relatiediagram voor groei en veroudering van de vegetatieve delen.



Figuur 9.4. Relatiediagram voor de reservestoffen in de plant.



uitgezocht moeten worden.

III. De hoeveelheid reservestoffen wordt door wegzuigen van stoffen door de luizen verminderd, d.w.z. $R_{CRES} = R_{IR} - T_{RFRS} - T_{RFR} - S_{RAPH}$ (suction rate of aphids). Deze zuigsnelheid van de luizen hangt af van het aantal luizen (N_{APH} = number of aphids), dat wordt opgesplitst naar de plaats op de plant waar ze zitten (aar, vlagblad, enz.) omdat de relatieve zuigsnelheid per luis daarvan afhangt (R_{SAPH}), en bovendien wordt opgesplitst per ontwikkelingsstadium van de luizen om dezelfde reden (L_1, L_2 , enz. t/m adult).

Tot slot geven we een relatie diagram met het verband tussen honingdauw, luizen en schimmels. De hoeveelheid honingdauw neemt toe door produktie door luizen, die afhangt van het aantal luizen, de plaats waar ze zitten, en het stikstofgehalte van het floëmsap. Afname van de hoeveelheid honingdauw vindt plaats door afregenen en door groei van schimmels.

De schimmelgroei is afhankelijk van o.a. de hoeveelheid honingdauw; de hoeveelheid schimmels beïnvloedt evt. de veroudering van de plant.

De luizenpopulatie neemt, door wegzuigen van reservestoffen, toe afhankelijk van de voedselkwaliteit en plaats, en neemt af door parasitering, predatie en afsterving door veroudering. Dit is in het al bestaande luizenmodel beschreven. (zie figuur 9.5 voor het relatiediagram).

Om deze relaties in een model te zetten zou men ze bv. als volgt kunnen gaan beschrijven:

$$HD = \text{INTGR } L(0., HD \text{ PROD} - HD \text{ KONS} - R_{\text{EGEN}})$$

De hoeveelheid honingdauw neemt toe door produktie, neemt af door regenen en door konsumptie door saprophyten.

$$HD \text{ PROD} = R \text{ PROD}(1, N) * N_{APH}(1, N)$$

De produktie van honingdauw is evenredig met het aantal luizen, maar de relatieve produktiesnelheid is verschillend op verschillende plaatsen in de plant en per ontwikkelingsstadium van de luizen. Daarom zijn er N groepen luizen, de groep i kan dan bv. zijn de luizen van stadium L_3 die op de aar zitten.

$HD \text{ PROD}$ is hier alleen de HD op het vlagblad, een soortgelijke vergelijking geldt voor de honingdauw die op an-

re delen van de plant terecht komt.

AF REGN=HD*REGEN*.....

De hoeveelheid honingdauw die afregent(áls het inderdaad door regen verdwijnt) is evenredig met de hoeveelheid honingdauw die er is, met de hoeveelheid regen die er valt, en vermoedelijk afhankelijk van nog allerlei factoren als intensiteit, enz.

HD KONS=NSCH*F KONS

De hoeveelheid honingdauw die gekonsumeerd wordt is evenredig met het aantal schimmels op het blad; de relatieve consumptie moet gedefinieerd worden afhankelijk van factoren als temperatuur, vochtigheid en leeftijd van de schimmels.

NSCH=INTG R L(NSCH, I RSCH-DR SCH)

De hoeveelheid schimmels heeft een toename- en een afnamesnelheid die verderop gedefinieerd worden.

IR SCH=NSCH*R IR SCH

De toenamesnelheid van het aantal schimmels is evenredig met het aantal schimmels; de rel.toename snelheid moet gedefinieerd worden afhankelijk van allerlei factoren als temperatuur, vochtigheid, leeftijd v.d. schimmels.

R I R SCH=R IR MAX*R ED(HD,TEMP,VOCHT,.....)

Er is een maximale toenamesnelheid die beperkt wordt door verschillende factoren

DR SCH=RDR SCH*NSCH

De afnamesnelheid van de schimmels is evenredig met het aantal schimmels, de rel.snelheid is weer van allerlei factoren afhankelijk.

NAPH=.....

Hetaantal luizen :hier moet het bestaande luizenmodel aangekoppeld worden.

S R APH(1,N)=NAPH(1,N)*R S R APH(1,N)

De zuigsnelheid van de luizen verschilt per plaats op de plant en per luizenstadium, en wordt daarom in dezelfde groepen als de luizen gesplitst. De zuigsnelheid is dan evenredig met het aantal luizen van de betreffende groep, terwijl de rel.snelheid ook nog van factoren als ontwikkelingsstadium v.d. plant afhangt.

Deze zuigsnelheid wordt in het gewasgroei model gekoppeld zoals al beschreven: $P \text{ CRES} = \dots - S R \text{ APH}(1, \dots + N)$

Een aantal parameters moeten nu gedefinieerd worden:

R PR OD(1,N)=	afhankelijk van ontwikkelingsstadium plant, ontwikkelingsstadium luizen, plaats op de plant
HKONS	afhankelijk van temperatuur, vocht, leeftijd
FI RMAX	afhankelijk van de soort
IED	afhankelijk v. HD, temperatuur, vocht.
RDR SCH	afhankelijk van temperatuur, vocht, leeftijd
R SR APH(1,N)	afhankelijk van plaats op de plant, sta- dium van de luizen en van de plant.

Deze beschrijving van hoe de effecten van de luis op de plant in een model gezet kunnen worden moeten slechts als een eerste aanzet in die richting beschouwd worden.

10. Eindkonklusie en verder onderzoek.

10.1. KONKLUSIES.

Uit de verschillende proeven vallen de volgende konklusies te trekken:

1. Honingdauw heeft, onder enig voorbehoud (laboratoriumomstandigheden en enige fouten in de proefopzet), een groot direkt effect op de fotosynthese van het vlagblad. De metingen hieraan zijn uitgevoerd met een voor het veld nogal kleine hoeveelheid honingdauw, namelijk 5 μ g (droge stof) per blad, welke een reductie van 14 tot 26% gaf in totale netto-fotosynthese op een standaarddag.

In de fotosynthesekurve is te zien dat deze reductie, zowel door een afname van efficiency als door een lagere maximumfotosynthese veroorzaakt wordt.

T.a.v. het werkingsmechanisme vallen geen duidelijke konklusies te trekken. Verder redeneren op de in de inleiding genoemde hypothesen levert het volgende beeld: Wanneer honingdauw door wegnemen van licht de fotosynthese beïnvloedt, zal bij een hoge lichtintensiteit uiteindelijk dezelfde maximale fotosynthese bereikt worden; in feite wordt de schaal op de x-as (licht-as) ingekrompen. Onze waarnemingen passen niet in deze hypothese, zodat we konkluderen dat dit niet de enige of voornaamste verklaring voor de reductie in fotosynthese kan zijn.

De andere hypothesen, vertragen van de bewegingen van de sluitcellen en afdekken van het bladoppervlak, zouden samen een goede verklaring voor de gevonden reductie kunnen zijn. Uit de scanningfoto's blijkt dat de huidmondjes na verloop van tijd vrij kunnen komen te liggen in een verder nog gesloten honingdauwlaag. Dit wijst erop dat er inderdaad een interactie is tussen aan de ene kant het bewegen van de huidmondjes en/of de diffusie van gassen en anderzijds de honingdauwlaag.

2. Honingdauw heeft een indirekt effect op het vlagblad, het stimuleert namelijk de veroudering. Dit blijkt uit iets snellere vergeling, meer verouderingsverschijnselen, een lagere fotosynthese, en een lagere lichtabsorptie van een met honingdauw behandeld blad t.o.v. een onbehandeld blad.

Dat dit verouderende effect al vrij snel optreedt, blijkt uit fotosynthesemetingen een week na behandeling, waar de reductie in totale netto dagassimilatie (22 tot 34% , behandeling met 5 µg droge honingdauw per blad) voor een deel door verhoging van de mesofylweerstand voor CO₂-transport veroorzaakt wordt.

3. Voor stimulering van de mycoflora hebben we geen duidelijke aanwijzingen gevonden. De klimaatkamer is echter geen geschikte plaats om dit te onderzoeken.
Witte gisten blijken een remmend effect op de fotosynthese van het blad te hebben.
4. De aanwezigheid van luizen heeft een stimulerend effect op de fotosynthese. Dit kan men verklaren door het vlagblad als een sink-limited source te zien, waar door de luizen een extra sink in aangebracht wordt.
5. Honingdauwbehandeling beïnvloedt de opbrengst nadelig.
Behandeling met 10 µg (droge stof) honingdauw per blad bracht het aantal korrels per aar terug van 36 naar 28, terwijl het 1000-korrelgewicht niet significant verminderde. Verklaring hiervoor moet men vermoedelijk zoeken in de stress-situatie waarin de planten door behandeling met honingdauw tijdelijk verkeerden.
6. De produktie van honingdauw bleek op het vlagblad ± 9.1 mg per mg geproduceerde luis te bedragen (drooggewichten).

10.2 VERDER ONDERZOEK

Voordat een bruikbaar inzicht is gekregen in de invloed van luizen op tarwe, is nog het een en ander aan onderzoek nodig. Wanneer we uitgaan van de in hoofdstuk 1.2. geformuleerde probleemstelling, komen we op verschillende manieren tot onderzoek wat nog gedaan moet worden. Ten eerste zijn er aanvullende proeven nodig om sommige van onze konklusies te controleren (zoals bv. een proef of het gevonden effect van honingdauw op de fotosynthese inderdaad aan honingdauw ligt en niet aan andere factoren) en om in onze proeven opgeroepen vragen te beantwoorden

(bv. of een honingdauwlaagje aan de boven- of aan de onderkant zich verschillend gedragen). Ten tweede blijft het door ons niet aangepakte deel van de probleemstelling liggen voor onderzoek.

De volgende punten zullen nog uitgezocht moeten worden:

1a. T.a.v. het effect van honingdauw op de fotosynthese.

-Gekontroleerd moet worden of honingdauw inderdaad effect heeft op de fotosynthese. Bij deze metingen moet ervoor worden gezorgd dat niet dezelfde planten twee keer gemeten worden, dat een effect van het dagritme uitgesloten wordt, en dat de blanco bladeren met water worden behandeld.

Verder moet er bij fotosynthesemetingen voor gezorgd worden dat de maximale lichtintensiteit die van het veld benadert. Een proefopzet met variërende luchtvochtigheid valt in eerste instantie af te raden, omdat het hierdoor alleen maar gecompliceerder wordt gemaakt. Het ideale zou zijn een groot aantal herhalingen met dezelfde lichtreeksen, ingaande CO_2 -concentratie, en vochtigheid.

-Het effect van de honingdauw op efficiency en maximum moet nauwkeuriger gekwantificeerd worden. Het best kan dit gebeuren door deze parameters volgens de Optpac methode en met gebruik van de exponentiële functie te berekenen.

-Het verschil in effect tussen boven- en onderkant van het blad moet worden onderzocht; er moeten hiervoor scanningfoto's van honingdauw op de onderkant van het blad worden gemaakt, en eventueel fotosynthesemetingen worden gedaan.

-Er moet worden onderzocht of honingdauw op andere bladeren dan het vlagblad hetzelfde effect heeft.

-Er moet onderzocht worden waar hoeveel honingdauw terecht komt.

-Er moet worden onderzocht of honingdauw door regen verdwijnt, en zoja hoe deze relatie ligt.

-Onderzoek aan het werkingsmechanisme is niet direct van belang voor het voorspellen van schade en opbrengst; mogelijk is het wel interessant als gezocht wordt naar andere vormen van schadebeperking.

1b. Het effect van honingdauw op de veroudering van het blad.

-T.a.v. de manier waarop opbrengsderving tot stand komt, d.w.z. is er effect op het korrelgewicht of op het aantal korrels, geldt hetzelfde als voor het werkingsmechanisme van de honingdauweffekten op de fotosynthese: het is niet direct van belang maar het kan wel verhelderend werken als je weet hoe het

in elkaar zit.

-Er moet worden onderzocht of dit effect op andere bladeren dan het vlagblad hetzelfde is.

2. Gisten en schimmels

-In het veld moet de stimulering van de mycoflora door honingdauw worden onderzocht.

-Het effect van andere soorten dan witte gisten op de fotosynthese moet worden onderzocht.

3. Effect van luizen

-Er moet worden onderzocht of de gevonden stimulering van de fotosynthese sterk verschilt op verschillende plaatsen in de plant, met het ontwikkelingsstadium van de plant e.d.

-Idem voor de populatiesamenstelling van de luizen.

-In het veld konstateert men vaak dat op de plek waar luizen op het blad zitten dit vergeelt, waarna vanaf die plek tot het eind van het blad, het blad snel vergeelt. Mogelijk 'overschaduw' dit effect de extra veroudering die door honingdauw veroorzaakt wordt. Dit zal moeten worden uitgezocht.

Een groot deel van de genoemde punten kan in het laboratorium uitgezocht worden. Daarna zal echter altijd een controle in het veld uitgevoerd moeten worden.

De gevonden plant-luisrelaties moeten worden gebruikt voor koppeling van beide modellen en vaststelling van de parameters erin. Hiervoor is het noodzakelijk dat de efficiency en maximum in het gewasgroeimodel anders gedefinieerd worden. Voor deze koppeling kan worden verder gebouwd op het in hoofdstuk 9 gemaakte begin hiervan.

LITERATUURLIJST

-Acock, 1972.

A prototype, air tight, daylight, controlled-environment cabinet and the rationale of its specification. In: Crop Processes in Controlled Environments. Eds. A.R. Rees, K.E. Cockshull, D.W. Hand and R.G. Hurd. Academic Press, London, pp. 91-104.

-Bashi, E. and Fokkema, N.J., 1976.

Scanning electron microscopy of *Sporobolomyces roseus* on wheat leaves. Trans. Br. mycol. Soc. 67(3), 500-505.

-Bashi, E. and Fokkema, N.J., 1977.

Environmental factors limiting growth of *Sporobolomyces roseus*, an antagonist of *Cochliobolus sativus*, on wheat leaves. Trans. Br. mycol. Soc. 68(1), 17-25.

-Breniaux, D. et al., 1976.

Les pucerons des céréales. Phytoma 28, 7-14.

-Brouwer, Dr. R. en Kuiper, Dr. P.J.C., 1972.

Leerboek der plantenfysiologie 3, oecofysiologische relaties.

-Brownlee, K.A. en John Wiley & Sons, 1965.

Statistical Theory and Methodology in Science and Engineering.

-Bruinsma, J.

Inleiding tot de plantenfysiologie. Diktaat LH, Wageningen.

-Van de Burg, 1974.

The occurrence of *Sporobolomyces roseus*, a red yeast, on leaves of *Phragmites australis*. Diss. V.U., A'dam.

-Dickinson, C.H. and Walpole, P.R., 1975.

The effect of late application of fungicides on the yield of winter wheat. Experimental Husbandry 29, 23-28.

-Dixon, A.F.G., 1973.

Biology of aphids. Studies in Biology no. 44.

-Fokkema, N.J., 1971.

The effect of pollen in the phyllosphere of rye on colonization by saprophytic fungi and on infection by *Helminthosporium sativum* and other leaf pathogens. Diss. A'dam.

-Fokkema, N.J., 1973.

The rôle of saprophytic fungi in antagonism against *Drechslera soroliniana* (*Helminthosporium sativum*) on agar plates and on rye leaves with pollen. Physiological Plant Pathology 3, 195-205.

-Fokkema, N.J., 1975.

Antagonisme tussen saprofytische en pathogene schimmels van het blad. Gewasbescherming 6, 131-139.

-Fokkema, N.J., 1976.

Antagonism between fungal saprophytes and pathogens on aerial plant surfaces. In: Microbiology of aerial plant surfaces. Ed. Dickinson and Preece, Academic Press, London.

-Fokkema, N.J., Kastelein, P., and Post, B.J., 1979.

No evidence for acceleration of leaf senescence by phyllosphere saprophytes of wheat. Trans. Br. mycol. Soc. 72, 2-5.

-George, K.S., 1974.

Damage assessment aspects of cereal aphids attack in autumn and spring sown cereals, Ann. Appl. Biol. 77, 67-74.

-Gibbons, J.D., 1971.

Nonparametric Statistical Inference. McGraw Hill.

-Goudriaan, J. and Van Laar, H.H., 1978.

Calculation of daily totals of the gross CO₂-assimilation of leaf canopies. Neth. J. agric. Sci. 26, 373-382.

-Heemst, H.D.J. van, Keulen, H. van, Stolwijk, H., 1978.

Potentiële, bruto en netto produktie van de nederlandse landbouw. Intern rapport S.O.W.

-Henderson and Perry, 1978.

Some factors affecting the build-up of cereal aphid infestations in winter wheat. Ann. Appl. Biol. 89, 177-183.

-Hiller's Lambers, D., 1939.

Contributions to a monograph of the Aphididae of Europe. Temminckia 4, 1-134.

-Hinz, B. und Daebeler, F., 1976.

Zur Beeinflussung der Ertragsbildung bei Winterweizensorten durch die Grosse Getreideblattlaus Macrosiphum (Sitobion) avenae (F). Archiv Phytopathol. u. Pflanzenschutz Berl. 12 (2), 111-116.

-Kolbe, W., 1969.

Untersuchungen über das Auftreten verschiedener Blattlausarten als Ursache von Ertrags- und Qualitätsminderungen im Getreidebau. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 22(2), 177-211.

-Kolbe en Linke, 1974.

Studies of cereal aphids; their occurrence, effect on yield in relation to density-levels and their control. Ann. Appl. Biol. 77, 85-87.

-Large, E.C., 1954.

Growth stages of cereals, illustration of the Feekes scale.

-Lupton, 1966.

Translocation of photosynthetic assimilate in wheat. Ann. Appl. Biol. 57, 355-364.

-Marshall, B., 1978.

Leaf and ear photosynthesis of winter wheat crops. P.D. Thesis, Univ. of Nottingham.

-MINIQUAD.

User's manual for the procedure MINIQUAD for solving nonlinear least squares problems. Rekencentrum LH, Wageningen.

-Mizrahi, Y. et al., 1974.

Aspects of the effect of ABA on the Water Status of Barley and Wheat seedlings. *Physiologia Plantarum* 31, 44-50.

-Van de Molen, Ir. H. en Koelstra, J., 1962.

Het blijvend grasland.

-OPTPAC

door Kilsdonk, Ing. A. C. M., 1977

(programma van Philips). Publ. UDV-DSA/SCA/TK/77/054/AP

Uitg. ISA-DSA Scientific Computer applications.

-Pak, G., 1977.

Epidemiologie en simulatie van graanbladluizen op wintertarwe. Doktoraalverslag Theoretische teeltkunde en Entomologie, LH, Wageningen.

-Pallaghy, C. K., 1971.

Stomatal movement and potassium transport in epidermal strips of *Zea mays*: the effect of CO₂. *Planta (Berl.)* 101, 287-295.

-Peat, W. E., 1970.

Relationships between photosynthesis and light intensity in the tomato. *Annals of Botany* 34, 319-328.

-Raschke, K., 1966.

Die reaktionen des CO₂-Regelsystems in den Schliesszellen von *Zea mays* auf weissen Licht. *Planta (Berl.)* 68, 111-140.

-Raschke, K. and Fellows, M. P., 1971.

Stomatal movement in *Zea mays*: Shuttle of potassium and chloride between guard cells and subsidiary cells. *Planta (Berl.)* 101, 296-316.

-Raschke, K., 1975.

Stomatal action. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 26, 309-340.

-Rawson, H. M. and Evans, L. T., 1970.

The pattern of grain growth within the ear of wheat. *Australian J. of Bio. Scie.* 23, 753-764.

-Ripphagen, I., 1978.

Doktoraal verslag Fytopathologisch laboratorium WCS.

-Skidmore, A. M. and Dickinson, C. H., 1973.

Effect of phylloplane fungi on the senescence of excised barley leaves. *Trans. Br. mycol. Soc.* 60, 107-116.

-Sofield, I. et al., 1977.

Factors influencing the rate and duration of grain filling in wheat. *Aust. J. Pl. Physiol.* 4, 785-797.

-Thorne, 1962.

Effect of applying nitrogen to cereals in the spring at ear emergence. J. of Agr. Sci. 58, 89-96.

-Thorne, 1965.

Photosynthesis of ears and flagleaves of barley. Annals of Botany 29, 317-329.

-Thorne, 1970.

Use of controlled environments for studying the effects of climate factors on growth and yield. In. Prediction and measurement of photosynthetic productivity. Proc. IBP/PP technical meeting, Trebon 1969. Ed. I. Setlik. Pudoc, Wageningen, pp. 399-404.

-Vereyken, P.H., 1979.

Feeding and multiplication of three cereal aphid species and their effect on yield in winter wheat. Proefschrift, LH, Wageningen.

-Wardlaw et al., 1965.

The relative supply of carbohydrate and nitrogen to wheat grains, and an assessment on the shading and defoliation techniques used for these determinations. Austr. J. of agr. Res. 16, 893-901.

-Wit, C.T. de, 1965.

Photosynthesis of leaf canopies. Pudoc, Wageningen.

-Wratten, S.D., 1975.

The nature of the effects of the aphids *S. avenae* and *M. dirhodum* on the growth of wheat, Ann. Appl. Biol. 79, 27-34.

-Wratten, S.D. and Redhead, P.C., 1976.

Effects of cereal aphids on the growth of wheat. Ann. Appl. Biol. 84, 437-455.

-Zadoks, Chanh and Konzak, 1974.

Eucarpia, Bull. 7, 42-52.