

Proefstation voor de Bloemisterij  
Linnaeuslaan 2a  
1431 JV Aalsmeer  
TEL. 02977-26151



BESTRIJDING VAN DE SCHIMMEL  
COLLETOTRICHUM CARTHAMI BIJ  
CARTHAMUS TINCTORIUS

Intern verslag nr. 53

Ing. J.J. Amsing  
mei 1987

Dit interne verslag wordt u toegestuurd na storting van f 5,- op  
giro 174855 ten name van Proefstation Aalsmeer onder vermelding:  
Intern Verslag nr. 53 'Bestrijding Colletotrichum carthami bij Carthamus'

2200521

## INHOUDSOPGAVE

	<u>Blz.</u>
1. Inleiding	2
2. In vitro onderzoek	4
2.1. Doel	4
2.2. Materialen en methoden	4
2.3. Resultaten en conclusies	5
2.4. Discussie	5
3. In vivo onderzoek	8
3.1. Inleiding	8
3.2. Proef 1	8
3.2.1. Doel	8
3.2.2. Materialen en methoden	8
3.2.3. Resultaten en conclusies	10
3.2.4. Discussie	12
3.3. Proef 2	12
3.3.1. Doel	12
3.3.2. Materialen en methoden	13
3.3.3. Resultaten en conclusies	15
3.3.4. Discussie	17
3.4. Proef 3	17
3.4.1. Doel	17
3.4.2. Materialen en methoden	17
3.4.3. Resultaten en conclusies	18
3.4.4. Discussie	21
4. Samenvatting	22
5. Bestrijdingsadvies	22
6. Literatuur	23

## 1. INLEIDING

Vele telers van het zomerbloemengewas Carthamus tinctorius zijn in 1985 geconfronteerd geweest met aantastingen door de schimmel Colletotrichum carthami (Fuhuki) Hori & Hemmi.

Deze schimmel, die in 1984 voor het eerst in Nederland is waargenomen en sindsdien de telers jaarlijks voor problemen heeft gesteld, tast vooral de hoofdstengel aan (Boerema et al, 1984). Zo'n aantasting uit zich in de vorm van ovale, ingezonken plekken, die bruin tot bruinzwart van kleur zijn. De stengel kan op elke hoogte worden aangetast. Door de aantasting wordt het weefsel zodanig verzwakt dat de stengel op die plaats omknikt (foto 1.).

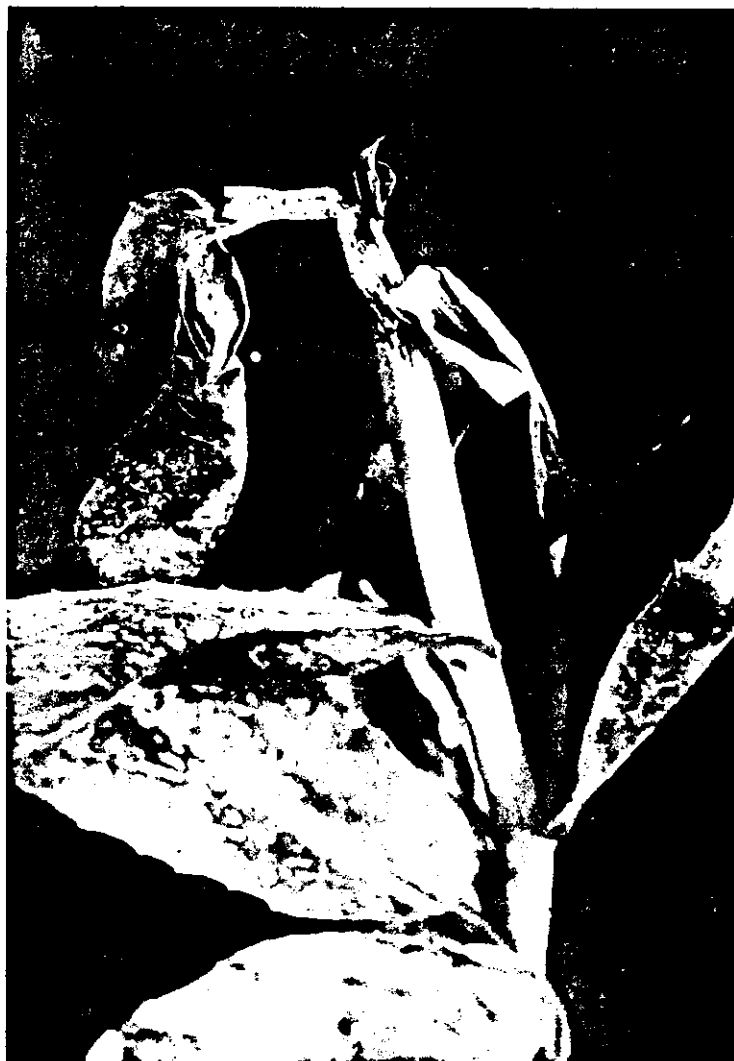


Foto 1. CARTHAMUS. Stengel necrose  
veroorzaakt door de schimmel  
Colletotrichum carthami

Op de plaats waar de stengel is omgebogen, treedt de schimmel oranje-bruin naar buiten in de vorm van glimmende sporenhoopjes. Een éénmaal aangetaste plant is niet meer oogstbaar. Dat maakt een goede preventieve bestrijding meer dan noodzakelijk. Aangezien er op het moment dat de schimmel C. carthami voor het eerst in ons land bij Carthamus werd waargenomen, geen afdoend advies ter bestrijding van deze schimmel voorhanden was, is er in de periode 1985-'86 een aantal proeven met fungiciden uitgevoerd: één proef in vitro en drie in vivo.

De fungiciden, die in deze proeven zijn gebruikt, zijn bij de beschrijving van de proeven alleen met de werkzame stofnaam aangeduid. Omdat het deels om dezelfde fungiciden gaat en kennis omtrent de gebruikte handelsprodukten noodzakelijk is, zijn in tabel 1 alle geteste handelsprodukten en de daarbij behorende werkzame stofnamen opgenomen.

Tabel 1. Carthamus. In het onderzoek geteste fungiciden.

Werkzame stof	Handelsprodukt handelsnaam /	formulering**	Contact (C) of systemisch (S)
* 1. captafol	---	---	C
2. totylfluanide	Eupareen M	WP 50%	C
3. mancozeb	Dithane M 45	FW 45%	C
4. thiram	TMTD	WP 80%	C
5. chloorthalonil	Daconil 500 vlb.	FW 50%	C
6. koperoxychloride	Brabant koperoxy- chloride	WP 50%	C
7. benomyl	Benlate	WP 50%	S
* 8. bitertanol	---	---	S
* 9. prochloraz	---	---	S
* 10. prochloraz & Mn	---	---	S
* 11. penconazol	---	---	S

\* Niet toegelaten middel of toepassing.

\*\* FW = Flowable; WP = spuitpoeder.

Na de beschrijving van het onderzoek, volgt een samenvatting en een voorzet tot een bestrijdingsadvies voor de praktijk.

## 2. IN VITRO ONDERZOEK

### 2.1. Doel

Door middel van het in vitro onderzoek is nagegaan in welke mate de uitgroei van het mycelium van C. carthami door verschillende contact- en systemische fungiciden wordt geremd. Kennis daaromtrent geeft inzicht in de mogelijkheden die deze fungiciden bieden om uitbreiding van een infectie tegen te gaan, waardoor een éénmaal aangetaste plant niet als infectiebron kan fungeren.

### 2.2. Materialen en methoden

Het in vitro onderzoek is uitgevoerd met zes contactfungiciden (C) en vier systemische fungiciden (S), zie tabel 2.

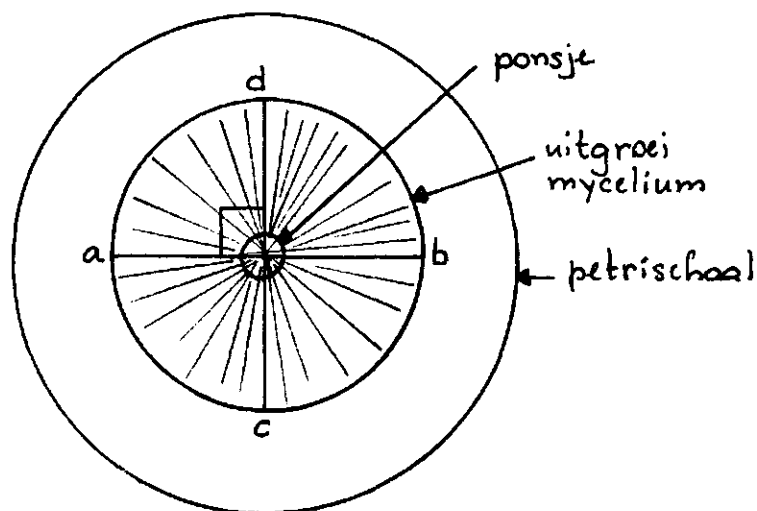
Tabel 2. In vitro getoetste fungiciden

captafol (C)	benomyl (S)
tolyfluanide (C)	bitertanol (S)
mancozeb (C)	prochloraz (S)
thiram (C)	penconazol (S)
chloorthalonil (C)	
koperoxychloride (C)	

Van de in tabel 2 genoemde fungiciden zijn geconcentreerde oplossingen gemaakt. Daartoe zijn de middelen opgelost in gedestilleerd water. Na het autoclaveren van de aardappel-dextrose agar (PDA) zijn de PDA- en fungicide-oplossingen in zulke verhoudingen met elkaar vermengd dat elk PDA-fungicide mengsel 100 dpm (delen per miljoen) werkzame stof bevatte. Nadat deze mengsels in petrischalen met een doorsnede van 9 cm waren uitgegoten en gestold - 10 schalen per behandeling - is elke petrischaal in het midden voorzien van een ponsje met een doorsnede van 5 mm met mycelium van de schimmel C. carthami. De ponsjes zijn uit de rand genomen van een actief groeiende C. carthami reïncultuur. Na het plaatsen van de ponsjes op de PDA-fungicide voedingsbodems, zijn de schalen in een broedstoom geplaatst bij een temperatuur van 22°C om een goede uitgroei van de schimmel mogelijk te maken.

Ter beoordeling van de mate waarin de fungiciden in vitro werkzaam zijn tegen C. carthami, is de radiale groei van het mycelium na zeven dagen opgemeten. Daarvoor is de doorsnede in twee loodrecht op elkaar gelegen richtingen opgemeten en vervolgens gemiddeld (fig. 1).

Het aldus verkregen getal is verminderd met 5 mm, zijnde de doorsnee van het ponsje. Uitgeschreven in formulevorm is de groei van het mycelium gelijk aan:  $\frac{ab + cd}{2} - 5$ .



Figuur 1. Schematische voorstelling van een petrischaal met schimmel

### 2.3. Resultaten en conclusies

In tabel 3 is aangegeven in welke mate het mycelium van *C. carthami* in vitro, al dan niet onder invloed van fungiciden, na zeven dagen bij een temperatuur van 22°C is uitgegroeid. Daaruit zijn de gemiddelde groeiremmingspercentages ten opzichte van onbehandeld berekend. Deze zijn eveneens in tabel 3 opgenomen.

Tabel 3. Invloed van 100 dpm werkzame stof van fungiciden op de uitgroei van het mycelium van *Colletotrichum carthami* in vitro na 7 dagen bij een temperatuur van 22°C. Aantal herhalingen: 10.

Behandeling	Groei mycelium in mm's gemiddeld	SD*)	Groeiremming t.o.v. onbehandeld: gemiddeld	SD	**
1. onbehandeld	37,1	3,9	-	-	
2. captafol	0,8	0,4	98%	1,3	
3. tolylfluanide	4,0	0,9	89%	2,4	
4. mancozeb	13,3	2,1	64%	5,8	
5. thiram	1,4	1,3	96%	3,2	
6. chloorthalonil	26,1	3,1	30%	9,0	
7. koperoxychloride	35,5	1,1	4%	3,0	
8. benomyl	13,1	1,7	65%	4,5	
9. bitertanol	4,5	1,7	88%	4,6	
10. prochloraz	0,0	0,0	100%	0	
11. penconazol	0,0	0,0	100%	0	

\*) SD = standaardafwijking.

\*\*\*) groeiremming =  $\frac{\text{groei onbehandeld} - \text{groei behandeling}}{\text{groei onbehandeld}} \times 100\%$

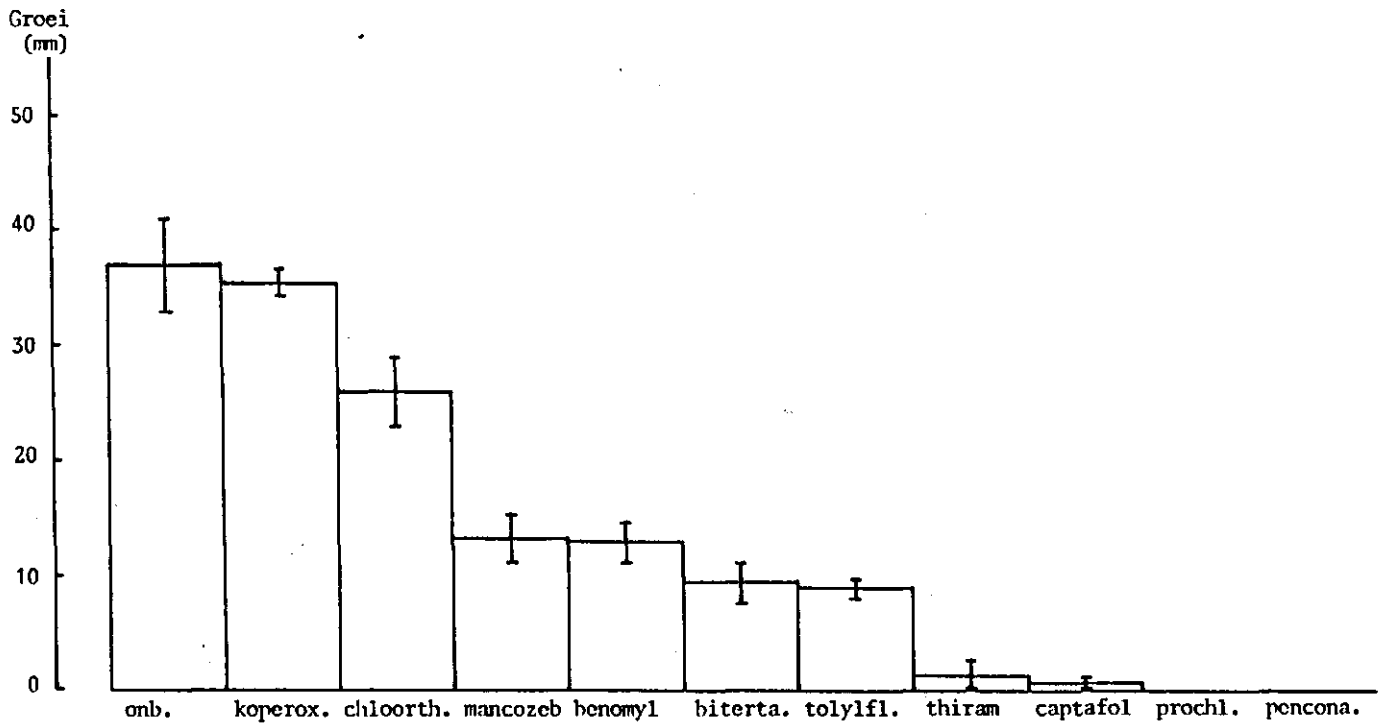
De gegevens in tabel 3 zijn schematisch weergegeven in figuur 2 en 3. Uit de groeiremmingspercentages blijkt dat de groei van het mycelium van *C. carthami* in vitro alleen door de fungiciden prochloraz en penconazol volledig is geremd. Bitertanol, tolylfluanide, thiram en captafol gaven een goede tot zeer goede remming te zien. Met mancozeb en benomyl is een redelijke groeiremming verkregen en met chloorthalonil en koperoxychloride een slechte tot zeer slechte. In het algemeen kan worden gesteld dat met de systemische fungiciden een grotere remming is verkregen dan met de contactfungiciden.

### 2.4. Discussie

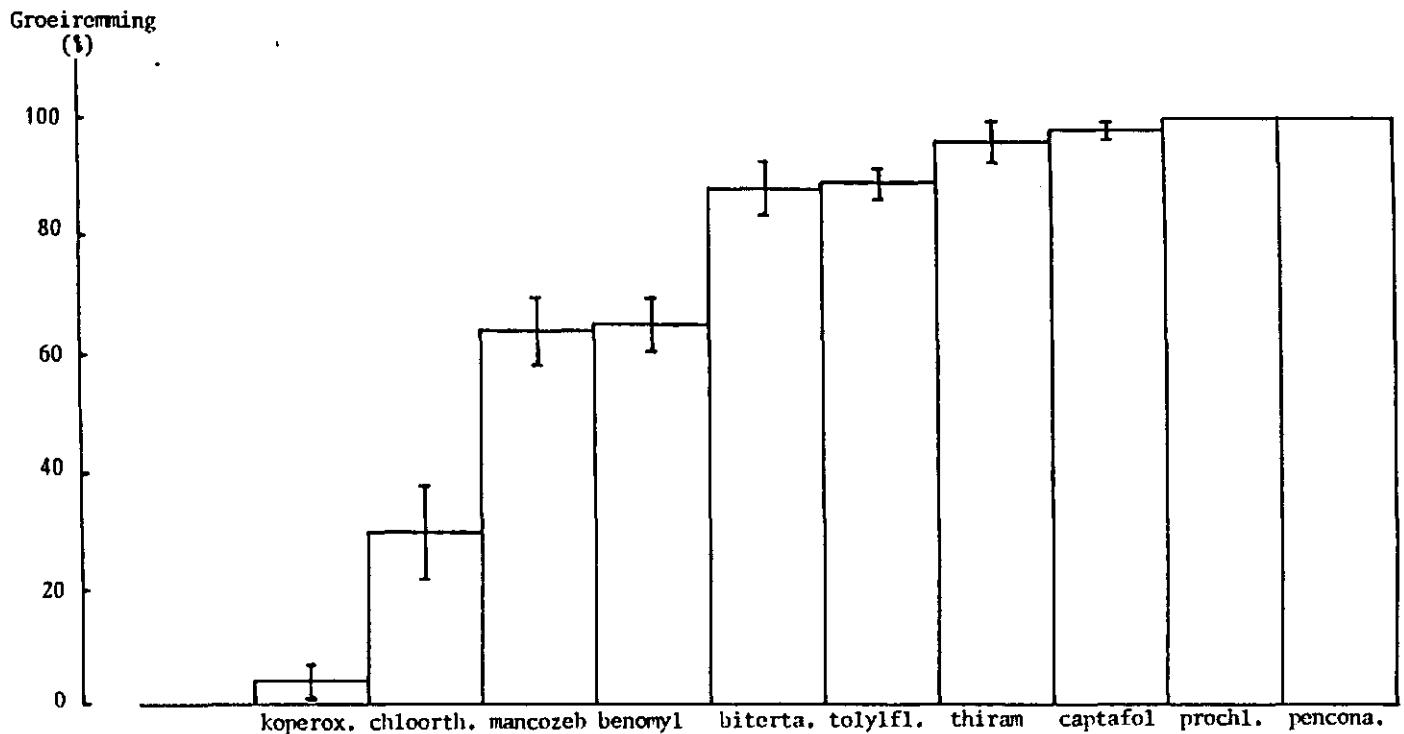
Zoals reeds opgemerkt kunnen de groeiremmingspercentages inzicht geven in de mogelijkheden, die de geteste fungiciden bieden om een infectie tot staan te brengen. In hoeverre de groeiremming in vitro overeenkomt met de groeiremming in vivo dient echter nader te worden onderzocht. Om in de plant een goede groeiremming van het mycelium tot stand te kunnen brengen, is het namelijk noodzakelijk dat de fungicide op die plaatsen in het weefsel aanwezig is waar de infectie aangrijpt. Gezien het feit dat *C. carthami* de stengels aantast, doet zich het volgende probleem voor. De stengels zijn nu juist de plaatsen waar weinig of geen systemische middelen in het weefsel worden opgeslagen. Dat betekent dat een goede groeiremming in vitro zeker niet tot eenzelfde groeiremming in vivo aanleiding hoeft te geven. Aangezien alle in vitro geteste systemische fungiciden een redelijke tot volledige groeiremming te zien hebben gegeven, worden ze in het vivo-onderzoek meegenomen.

De groeiremmingspercentages zeggen niets over het feit of een infectie kan worden voorkomen. Daarvoor is het noodzakelijk dat kieming van de schimmelsporen of binnendringing van de kiembuizen wordt voorkomen.

Figuur 2. Radiale groei van het mycelium van de schimmel Colletotrichum carthami (gemiddelde  $\pm$  SD) in vitro na zeven dagen bij aanwezigheid van 100 dpm werkzame stof van een fungicide. Temperatuur: 22°C. Aantal herhalingen: 10.



Figuur 3. Percentage groeiremming t.o.v. onbehandeld (gemiddelde  $\pm$  SD) van het mycelium van de schimmel Colletotrichum carthami in vitro na zeven dagen bij aanwezigheid van 100 dpm werkzame stof van een fungicide. Temp.: 22°C.



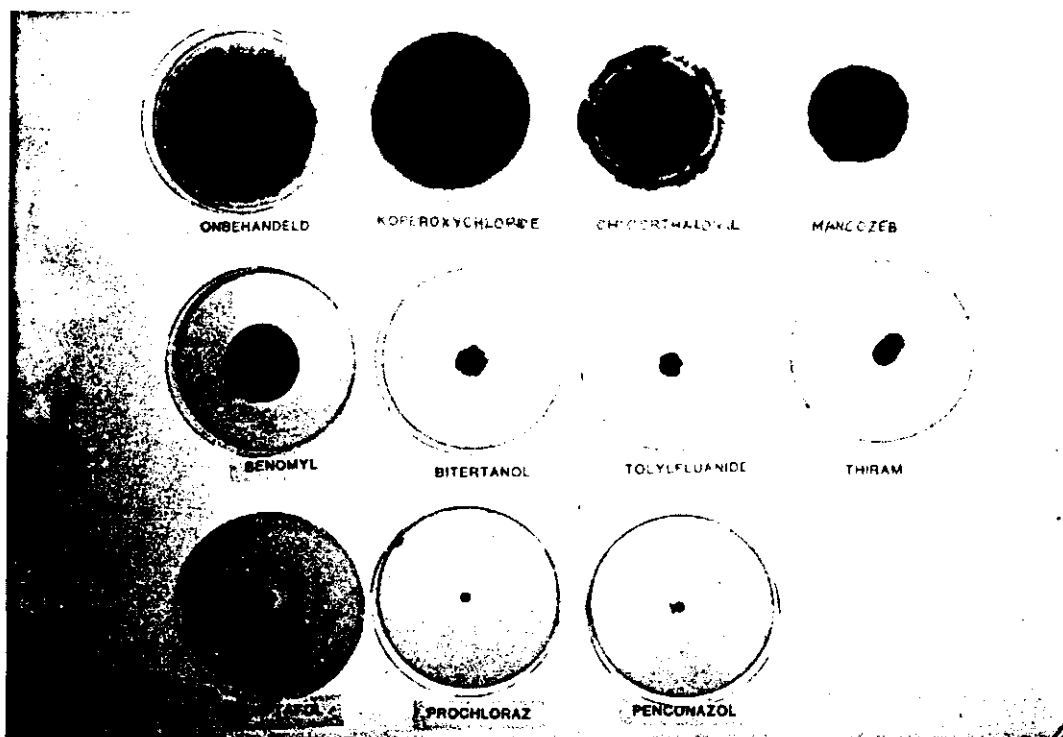


Foto 2. Invloed van 100 dpm werkzame stof van fungiciden op de uitgroei van het mycelium van C. carthami in vitro na 13 dagen.

Onderzoek van Gullino et al (1981) heeft aangetoond dat kieming van de sporen van Colletotrichum gloeosporioides aanzienlijk beter wordt voorkomen door contactfungiciden behorende tot de chemische groepen dithiocarbamaten (o.a. thiram) en captan-verbindingen (o.a. captan, captafol en dichlofluanide) dan door systemische fungiciden deel uitmakend van de chemische groepen dicarboximiden en benzimidazolen (o.a. benomyl). Aangezien contactfungiciden over het algemeen beter in staat zijn om infecties door Colletotrichum-soorten tegen te gaan dan systemische fungiciden, zullen alle in vitro geteste contactfungiciden ook in het vivo-onderzoek worden getest.



### 3. IN VIVO-ONDERZOEK

#### 3.1. Inleiding

Het in vivo-onderzoek omvat een drietal proeven, waarvan de eerste en de laatste buiten zijn uitgevoerd en de tweede in een kas. In alle gevallen stonden de Carthamus tinctorius-planten in de vollegrond. Zijn er in de eerste proef tien fungiciden getoetst, gaandeweg vielen die fungiciden af die minder goed voldeden of waarbij het om niet toegelaten middelen of toepassingen ging (tabel 1). De bespuitingen met fungiciden zijn steeds zodanig uitgevoerd dat de planten tot het afdruipt stadium werden bevochtigd. Daarbij is er tevens op gelet dat ook de stengels goed werden geraakt. Afhankelijk van de hoogte van het gewas is er een hoeveelheid vloeistof verspoten van 250-350 ml per m<sup>2</sup>. Er is gespoten met een Birchmeier werveldop met een doorsnede van de spuitopening van 0,55 mm en met een druk van 4 bar. De werveldop was voorzien van een toltetje zonder centrale opening, waardoor er met een holle spuitkegel werd gespoten. Alle bespuitingen zijn zonder uitvloeier uitgevoerd.

#### 3.2. Proef 1

##### 3.2.1. Doel

In de eerste proef is nagegaan in welke mate de tien fungiciden, die ook in het vitro-onderzoek zijn getest, een aantasting door C. carthami bij Carthamus weten te voorkomen.

##### 3.2.2. Materialen en methoden

Op 1-8-1985 zijn de zaden van Carthamus buiten in twee bedden uitgezaaid, met vier rijen per bed. Tussen de rijen is een afstand van 25 cm aangehouden en in de rij een afstand van 6 cm. De bedden hadden een lengte van 13,5 m. Vanwege een onregelmatige opkomst en enige wegval als gevolg van vreterij door aardrupsen was de plantdichtheid niet overal gelijk. Op 4-9-1985, toen de planten een hoogte van gemiddeld 30 cm hadden bereikt, is de eerste preventieve bespuiting uitgevoerd met de in tabel 4 genoemde fungiciden. Eén week later gevolgd door de tweede bespuiting. Er zijn tien fungiciden getest en één combinatie, namelijk captafol + benlate. Deze combinatie is in de proef opgenomen naar aanleiding van het feit dat deze combinatie wordt geadviseerd bij de teelt van anemonen ter bestrijding van krulbladziekte die veroorzaakt wordt door de schimmel Colletotrichum acutatum.

Tabel 4. Carthamus. Uitgevoerde preventieve bespuitingen met fungiciden ter bestrijding van Colletotrichum carthami.

<u>Behandelingen</u>	<u>Concentratie handelsprodukt</u>
1. onbehandeld	--
2. captafol	0,15%
3. benomyl	0,1 %
4. captafol + benomyl	0,15 + 0,1%
5. tolylfluamide	0,2 %
6. mancozeb	0,5 %
7. thiram	0,3 %
8. chloorthalonil	0,3 %
9. koperoxychloride	0,5 %
10. bitertanol	0,15%
11. prochloraz	0,1 %
12. penconazol	0,05%

Eén dag na de tweede bespuiting, wat tevens de laatste bespuiting met fungicide is geweest, zijn alle planten geïnoculeerd met de schimmel C. carthami. Dat is



Foto 3. Carthamus. Proef ter bestrijding van de schimmel Colletotrichum carthami

gebeurd met een sporensuspensie, die 1,6 miljoen sporen per ml bevatte. Van deze suspensie is 600 ml/m<sup>2</sup> over het gewas gespoten. Dit komt neer op een hoeveelheid van 960 miljoen sporen per m<sup>2</sup>.

Met uitzondering van het onbehandelde object (beh. 1) zijn de behandelingen in tweevoud uitgevoerd met een proefvlakgrootte van 1,0 m<sup>2</sup> per herhaling. Per m<sup>2</sup> waren er gemiddeld 35 planten aanwezig. De tien onbehandelde vakjes - proefvakgrootte 0,3 m<sup>2</sup> - zijn volgens onderstaand proefschema tussen de andere objecten verdeeld. Daardoor wordt inzicht verkregen in de mate waarin het klimaat over het hele perceel al dan niet gunstig is geweest om het inoculum bij afwezigheid van bespuitingen met fungiciden tot infectie te laten komen. De uiteinden van de bedden zijn noch met fungiciden, noch met C. carthami behandeld.

Tabel 5. Carthamus. Proefschema volgens welke de twaalf behandelingen over de twee bedden zijn verdeeld

															bed:			
⊗	11	2	1a	8	6	1b	10	3	1c	5	12	1d	4	9	1e	7	⊗	I
⊗	10	1a	5	9	1b	3	7	1c	12	6	1d	2	11	1e	4	8	⊗	II

Behandeling 1: proefvlakgrootte: 0,3 m<sup>2</sup>. Aantal herhalingen: 10

Behandeling 2 t/m 12: proefvlakgrootte: 1,0 m<sup>2</sup>.

Aantal herhalingen: 2



: onbehandeld en niet geïnoculeerd (0,5 m<sup>2</sup>)

Gemiddeld aantal *Carthamus*-planten per m<sup>2</sup>: 35.

Om het effect van de behandelingen te kunnen bepalen met betrekking tot de bestrijding van *C. carthami*, de fytotoxiciteit en het zichtbare residu, zijn de planten regelmatig gecontroleerd. Op drie tijdstippen na het aanbrengen van het inoculum - 2, 3 en 4 weken - is het aantal door *C. carthami* aangetaste planten vastgesteld. Daardoor is tevens een beeld verkregen van het verloop van de aantasting.

Alleen planten waarvan de hoofdstengel was aangetast, zijn in de telling opgenomen. Door middel van herisolatie is aangetoond dat de aantasting door *C. carthami* is veroorzaakt. Daarmee zijn de postulaten van Koch rond.

### 3.2.3. Resultaten en conclusies

In tabel 6 zijn de resultaten opgenomen van de twee preventieve bespuitingen met fungiciden ten aanzien van de bestrijding van *C. carthami*. Zowel de gemiddelde percentages aangetaste planten als de standaardafwijkingen (SD) zijn daarin opgenomen. In figuur 4 zijn deze gegevens schematisch weergegeven. Uit de resultaten blijkt dat bij achterwege blijven van bespuitingen de aantasting zeer ernstige vormen kan aannemen: is het percentage aangetaste planten bij behandeling 1 (onbehandeld) na twee weken 78%, na vier weken is dit percentage opgelopen tot 86%. Dit hoge percentage duidt op het feit dat het klimaat gunstig is geweest om een aantasting door *C. carthami* te veroorzaken. Gedurende de eerste twee weken na het inoculeren was het half tot zwaar bewolkt en is er 25 mm regen gevallen, verdeeld over acht dagen. Gezien de geringe spreiding in de aantastingspercentages van behandeling 1 mag worden verondersteld dat het klimaat over het gehele perceel gelijk is geweest.

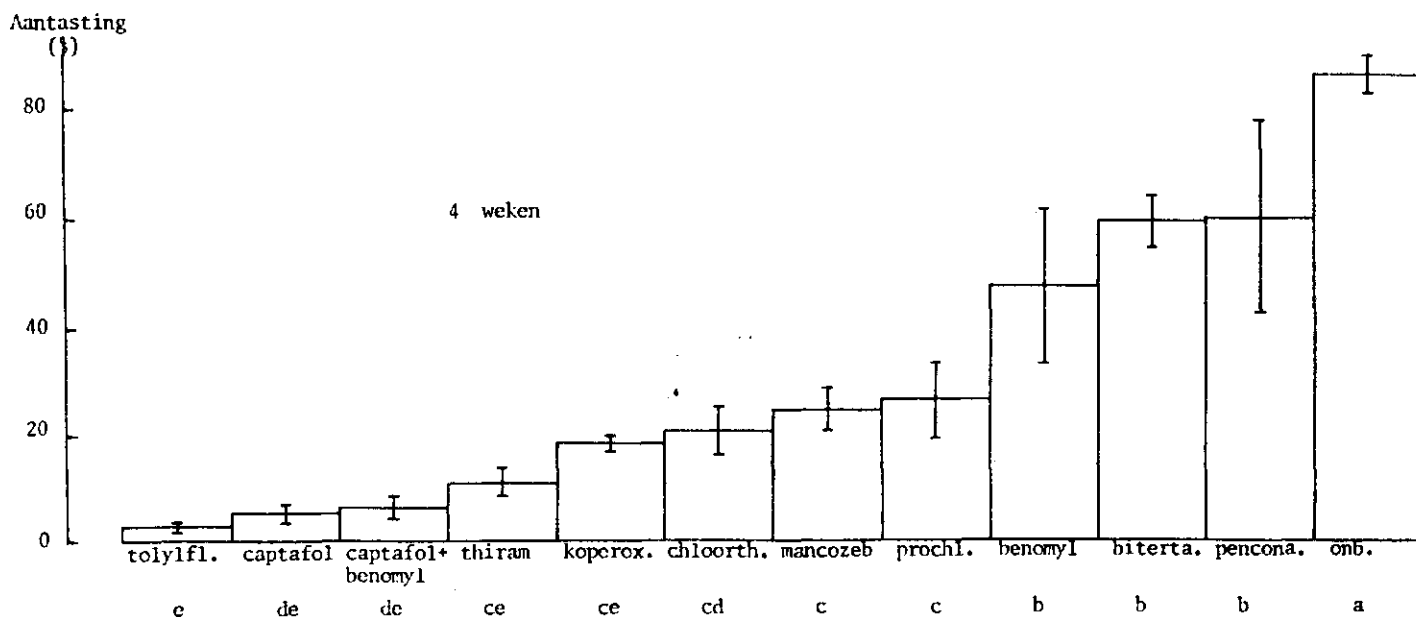
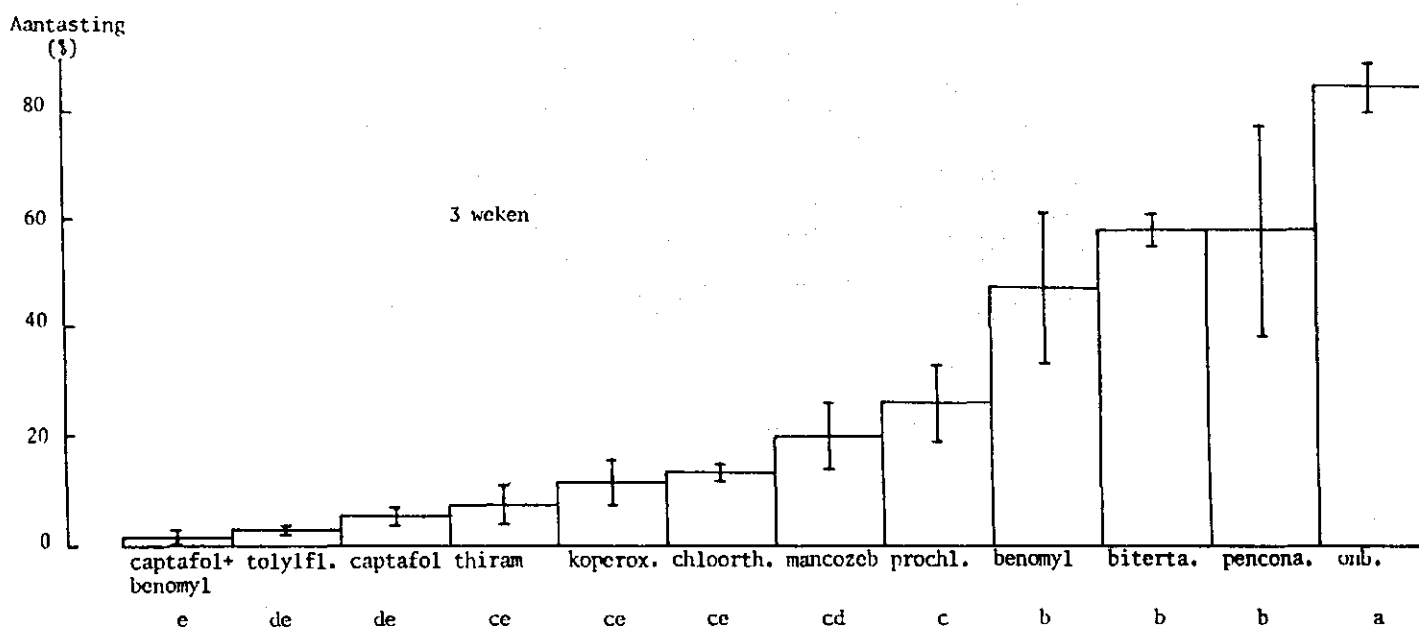
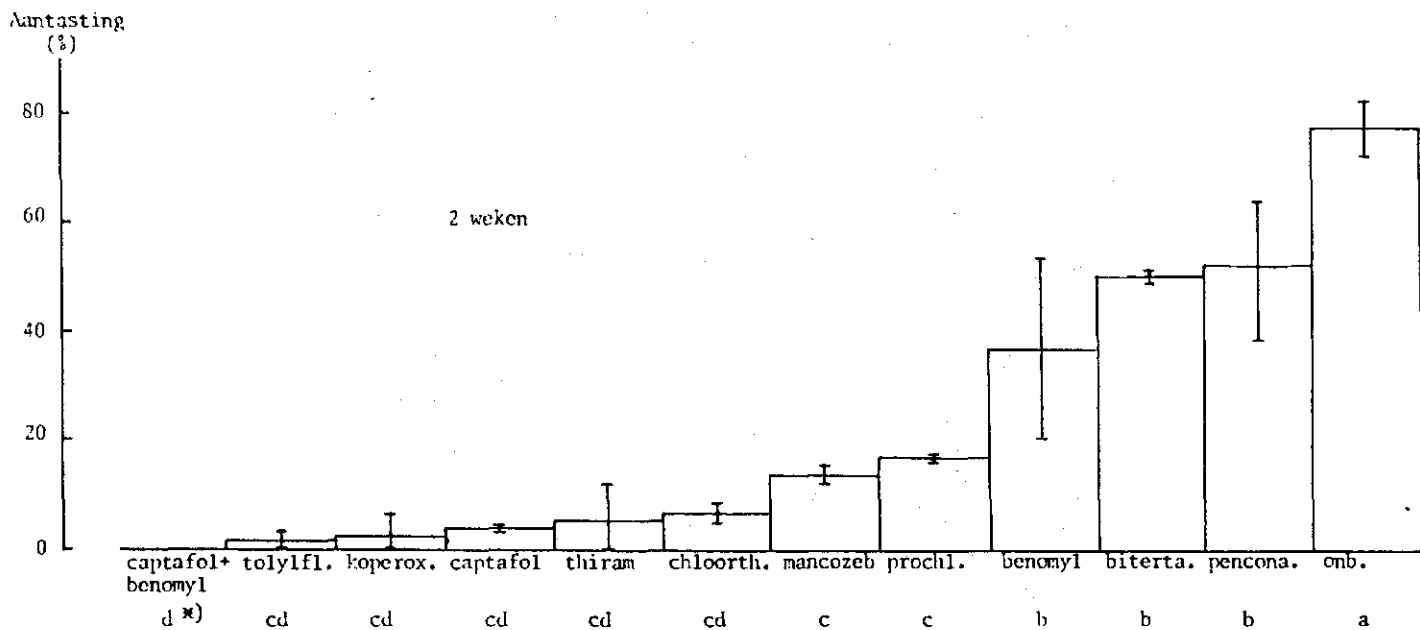
Tabel 6. *Carthamus*. Effect van twee preventieve bespuitingen met fungiciden op de bestrijding van *Colletotrichum carthami*

Behandelingen	Percentage aangetaste planten ... weken na het inoculeren								
	2		3		4				
	gemiddeld	SD	gemiddeld	SD	gemiddeld	SD			
1. onbehandeld	78,1	a*	7,5	85,1	a*	6,1	86,0	a*	5,1
2. captafol	4,0	cd	0,2	5,3	de	1,6	5,3	de	1,6
3. benomyl	37,1	b	16,8	47,4	b	14,3	47,4	b	14,3
4. captafol + benomyl	0	d	0	1,2	e	1,7	6,1	de	1,5
5. tolylfluanide	1,4	cd	1,8	2,9	de	0,4	2,9	e	0,4
6. mancozeb	13,8	c	1,9	20,0	cd	6,1	24,6	c	3,8
7. thiram	5,5	cd	6,6	7,3	ce	3,6	10,9	ce	2,7
8. chloorthalonil	6,8	cd	1,8	13,6	ce	1,3	20,3	cd	4,4
9. koperoxychloride	2,6	cd	4,0	11,7	ce	4,0	18,2	ce	1,3
10. bitertanol	50,6	b	0,9	58,4	b	2,9	59,7	b	4,8
11. prochloraz	16,9	c	0,4	26,1	c	7,0	26,2	c	7,0
12. penconazol	51,7	b	12,8	58,4	b	19,7	60,0	b	17,7

\* worden de gemiddelden in één kolom gevolgd door één of meer gelijke letters dan zijn ze niet significant verschillend. De resultaten zijn verwerkt middels de regressie-analyse gevolgd door de t-toets (P = 0,05).

Uit tabel 6 en figuur 4 blijkt dat een aantasting door *C. carthami* sterk kan worden teruggedrongen door bespuitingen met fungiciden uit te voeren. Wat direct opvalt is de goede werking van de meeste contactfungiciden tegenover de matige tot slechte werking van de systemische fungiciden. Tot twee weken na het inoculeren is de beste bestrijding verkregen met de fungiciden

Figuur 4. CARTHAGUS. Effect van twee preventieve bespuitingen met fungiciden op de bestrijding van de schimmel Colletotrichum carthami. Percentage aangetaste planten (gemiddelde  $\pm$  SD) twee, drie en vier weken na het inoculeren.  
 \*) bij afwezigheid van gelijke letters zijn de verschillen tussen de behandelingen significant ( $P=0,05$ ).



captafol + benomyl, tolylfluanide, koperoxychloride, captafol, thiram en chloorthalonil. Naarmate de tijd verstrijkt, nemen de aantastingspercentages meer of minder toe. Zo stijgt het percentage van tolylfluanide en captafol nauwelijks terwijl bij de overige behandelingen het aantastingspercentage is toegenomen met 6-15%.

De planten, die aan de uiteinden van de bedden stonden en niet kunstmatig waren geïnoculeerd, werden gedurende de proefperiode niet door C. carthami aangetast.

Wat de fytoxiciteit betreft kan worden opgemerkt dat alleen bij het gebruik van koperoxychloride schade is veroorzaakt. Reeds na de eerste bespuiting kregen de bladeren in de koppen een bobbelig uiterlijk en waren er donkerbruine necrotische bladplekjes zichtbaar. Na de tweede bespuiting werden deze schadebeelden ernstiger.

Mancozeb en koperoxychloride gaven veel zichtbaar residu. Bij thiram en chloorthalonil was dat matig, terwijl captafol een licht residu te zien gaf. De overige fungiciden veroorzaakten geen zichtbaar residu.

#### 3.2.4. Discussie

De zeer goede werking in vitro van de systemische fungiciden ten aanzien van de groeiremming van het mycelium van C. carthami heeft in vivo geen lage aantastingspercentages tot gevolg gehad. Onderzoeken van Sutton et al (1985) naar de effectiviteit van ergosterol biosynthese remmers (EBR's) op Colletotrichum gloeosporioides in vitro en vivo bevestigen deze resultaten. Vermoedelijk moet dit worden toegeschreven aan het feit dat de systemische fungiciden in onvoldoende mate in de stengel weten door te dringen, hetzij door een te geringe directe opname, hetzij doordat de herverdeling via de zeefvaten onvoldoende is.

Gezien de in deze proef gevonden resultaten moeten de bespuitingen er dus in de allereerste plaats op gericht zijn om kieming van of binnendringing van de kiembuis van een spore te voorkomen. Naar Gullino et al (1981) hebben onderzocht komen hiervoor voornamelijk contactfungiciden in aanmerking. Op grond van de in proef 1 gevonden resultaten zal in de volgende proef de effectiviteit van de contactfungiciden tolylfluanide, thiram en chloorthalonil verder worden onderzocht. Alhoewel ook de contactfungiciden captafol en koperoxychloride voldeden, zullen deze middelen niet verder worden beproefd. Dit vanwege het feit dat de toelating van captafol is ingetrokken en koperoxychloride een niet te tolereren schade veroorzaakt. Is de schimmel eenmaal in de plant binnengedrongen dan zullen de systemische fungiciden verdere uitgroei van het mycelium moeten tegengaan en daarmee de aantasting tot staan brengen. Met prochloraz is dat het beste gelukt. Niet alleen dit middel maar ook benomyl zal in proef 2 al dan niet in combinatie met contactfungiciden verder worden onderzocht, aangezien captafol + benomyl na twee weken nog geen zichtbare aantasting te zien heeft gegeven. Een combinatie van een contact- en een systemische fungicide kan mogelijk voor een goede bestrijding zorgen, zeker wanneer de omstandigheden voor de schimmel C. carthami zeer gunstig zijn om een aantasting te veroorzaken. De goede werking van zo'n combinatie ter bestrijding van C. gloeosporioides bij anemone is aangetoond door Gullino et al (1981).

### 3.3. Proef 2

#### 3.3.1. Doel

In de tweede proef, die in het voorjaar van 1986 in een kas is uitgevoerd, is het aantal te testen fungiciden ter bestrijding van de schimmel C. carthami, op grond van de in proef 1 verkregen resultaten, teruggebracht tot vijf. De fungiciden zijn onder voor C. carthami optimale omstandigheden getest teneinde na te kunnen gaan in hoeverre ze dan nog in staat zijn om een aantasting door C. carthami te voorkomen.

### 3.3.2. Materialen en methoden

Anderhalve week nadat de zaden van *Carthamus* op 25-2-1986 in zaaibakjes zijn uitgezaaid, zijn de plantjes in de kas uitgeplant op vier bedden met vier rijen per bed. Tussen de rijen is een afstand van 25 cm aangehouden. In de rij stonden de planten 12,5 cm uit elkaar. Zes weken na het planten toen het gewas een hoogte van ongeveer 25 cm had bereikt, is de eerste preventieve bespuiting uitgevoerd met de in tabel 7 genoemde fungiciden. Eén week later gevolgd door de tweede bespuiting.

Tabel 7. *Carthamus*. Uitgevoerde preventieve bespuitingen met fungiciden ter bestrijding van *Colletotrichum carthami*

<u>Behandelingen</u>	<u>Conc. handelsprodukt</u>
1. onbehandeld	--
2. tolylfluanide	0,2 %
3. thiram	0,3 %
4. chloorthalonil	0,3 %
5. benomyl	0,1 %
6. prochloraz & Mn	0,1 %
7. tolylfluanide + benomyl	0,2 % + 0,05%
8. chloorthalonil + benomyl	0,3 % + 0,05%
9. tolylfluanide + prochloraz & Mn	0,2 % + 0,05%

Het middel met de werkzame stof prochloraz dat tot nu toe is gebruikt, is in deze proef vervangen door een experimenteel middel met de werkzame stof prochloraz & Mn. Deze vervanging hangt samen met het feit dat de fabrikant prochloraz niet wenst in te zetten als gewasbehandeling doordat fytotoxische neveneffecten in dat geval niet geheel uitgesloten zijn.

Dit in tegenstelling tot prochloraz & Mn, dat als gevolg van de toevoeging van mangaan zachter voor het gewas schijnt te zijn.

Eén dag na de tweede bespuiting, wat tevens de laatste bespuiting met fungiciden is geweest, zijn alle planten geïnoculeerd met een sporensuspensie van *C. carthami*. Van deze suspensie, die 1,8 miljoen sporen per ml bevatte, is 340 ml per m<sup>2</sup> over het gewas gespoten. Dit komt neer op een hoeveelheid sporen van 612 miljoen per m<sup>2</sup>. Gedurende de daaropvolgende nachten is tot aan het einde van de proef tussen het gewas een relatieve luchtvochtigheid gecreëerd van 95%, terwijl het gewas zelf gedurende een groot gedeelte van de nacht vochtig was. Samen met een luchttemperatuur van ca. 20°C zijn daarmee optimale omstandigheden gecreëerd om *C. carthami* tot infectie te laten komen.

Met uitzondering van het onbehandelde object (behandeling 1) zijn de behandelingen in viervoud uitgevoerd met een proefvakgrootte van 0,75 m<sup>2</sup> per herhaling. Per m<sup>2</sup> waren er 32 planten aanwezig. De onbehandelde planten (128 stuks) zijn volgens onderstaand proefschema over 16 vakjes, met een proefvakgrootte van 0,25 m<sup>2</sup>, tussen de behandelde objecten verdeeld. De reden van deze opsplitsing is om inzicht te verkrijgen in de mate waarin het klimaat over het hele perceel al dan niet gunstig is geweest om het inoculum bij afwezigheid van bespuitingen met fungiciden tot infectie te laten komen.

Tabel 8. *Carthamus*. Proefschema volgens welke de negen behandelingen over de vier bedden zijn verdeeld

												bed:
7	1a	3	9	1b	5	6	1c	2	8	1d	4	I
5	2	1a	6	7	1b	9	3	1c	4	8	1d	II
8	1a	9	3	1b	4	2	1c	6	7	1d	5	III
1a	2	5	1b	4	3	1c	8	7	1d	6	9	IV

Behandeling 1: proefvakgrootte: 0,25 m<sup>2</sup>. Aantal herhalingen: 16.  
 Behandeling 2 t/m 9: proefvakgrootte: 0,75 m<sup>2</sup>. Aantal herhalingen 4.  
 Gemiddeld aantal *Carthamus*-planten per m<sup>2</sup>: 32.

Het effect van de behandelingen is vastgesteld door op drie tijdstippen na het inoculeren - 1½, 2 en 2½ week - het aantal door *C. carthami* aangetaste hoofdstengels te tellen.



Foto 4. *Carthamus*. Hoofdstengels aangetast door de schimmel *C. carthami*

### 3.3.3. Resultaten en conclusies

In tabel 9 zijn de resultaten opgenomen van de twee preventieve bespuitingen met fungiciden ten aanzien van de bestrijding van C. carthami. Zowel de gemiddelde percentages aangetaste planten als de standaardafwijkingen (SD) zijn daarin opgenomen. In figuur 5 zijn deze gegevens schematisch weergegeven.

Tabel 9. Carthamus. Effect van twee preventieve bespuitingen met fungiciden op de bestrijding van Colletotrichum carthami

Behandelingen	Percentage aangetaste planten ..weken na het inoculeren								
	1½		2		2½				
	gemiddeld	SD	gemiddeld	SD	gemiddeld	SD			
1. onbehandeld	67,1	a*	15,1	80,8	a*	14,8	85,6	a*	10,7
2. tolylfluanide	1,0	f	2,0	19,8	cd	2,0	21,9	ef	2,0
3. thiram	9,4	de	5,5	21,9	cd	8,9	23,9	ef	8,2
4. chloorthalonil	13,5	d	7,3	31,2	bc	11,1	39,6	cd	5,6
5. benomyl	54,1	b	6,1	68,7	a	5,2	70,8	b	5,7
6. prochloraz & Mn	22,9	c	10,0	36,4	b	12,0	46,9	c	16,0
7. tolylfluanide + benomyl	2,1	ef	4,0	5,2	e	3,8	9,4	f	4,4
8. chloorthalonil + benomyl	4,1	ef	3,3	23,9	bc	13,1	28,1	de	18,0
9. tolylfluanide + prochloraz & Mn	0,0	f	0,0	9,4	de	8,8	15,6	ef	11,1

\* worden de gemiddelden in één kolom gevolgd door één of meer gelijke letters, dan zijn ze niet significant verschillend. De resultaten zijn verwerkt middels de regressie-analyse, gevolgd door de t-toets (P = 0,05).

Blijkens het hoge aantastingspercentage in het onbehandelde object zijn de omstandigheden gunstig geweest om een aantasting door C. carthami te veroorzaken. Alhoewel dit percentage op dezelfde hoogte ligt als in proef 1 (tabel 10), moeten de omstandigheden in proef 2 aanzienlijk gunstiger zijn geweest. Dit kan worden afgeleid uit het verschil in hoogte van de aantastingspercentages van dezelfde behandelingen in beide proeven. Zoals in tabel 10 is te zien, zijn deze percentages twee weken na het inoculeren in proef 2 gemiddeld beduidend hoger dan in proef 1.

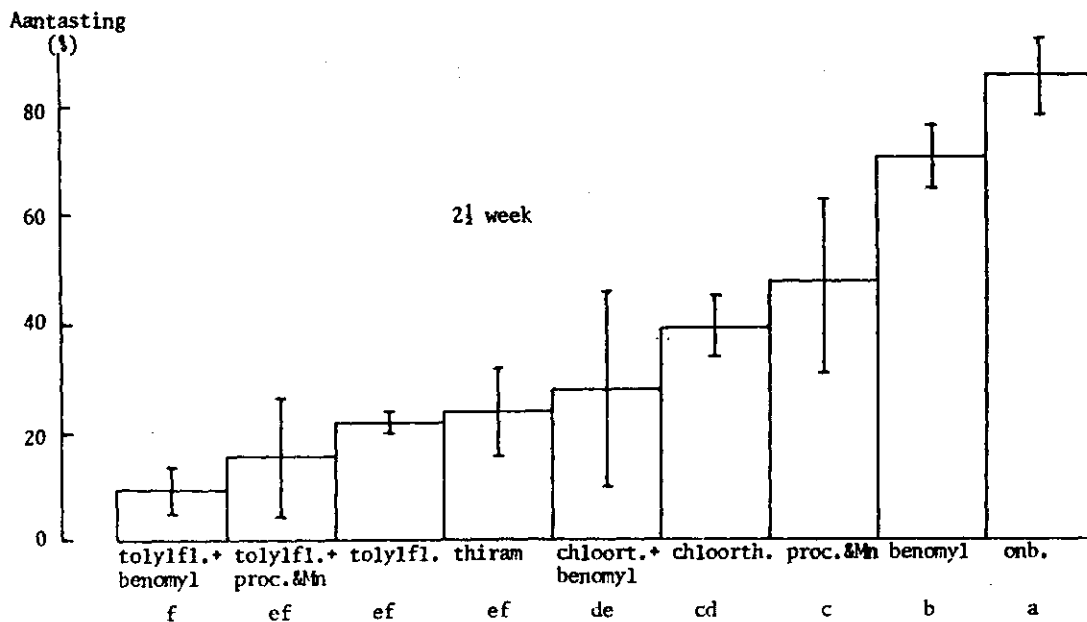
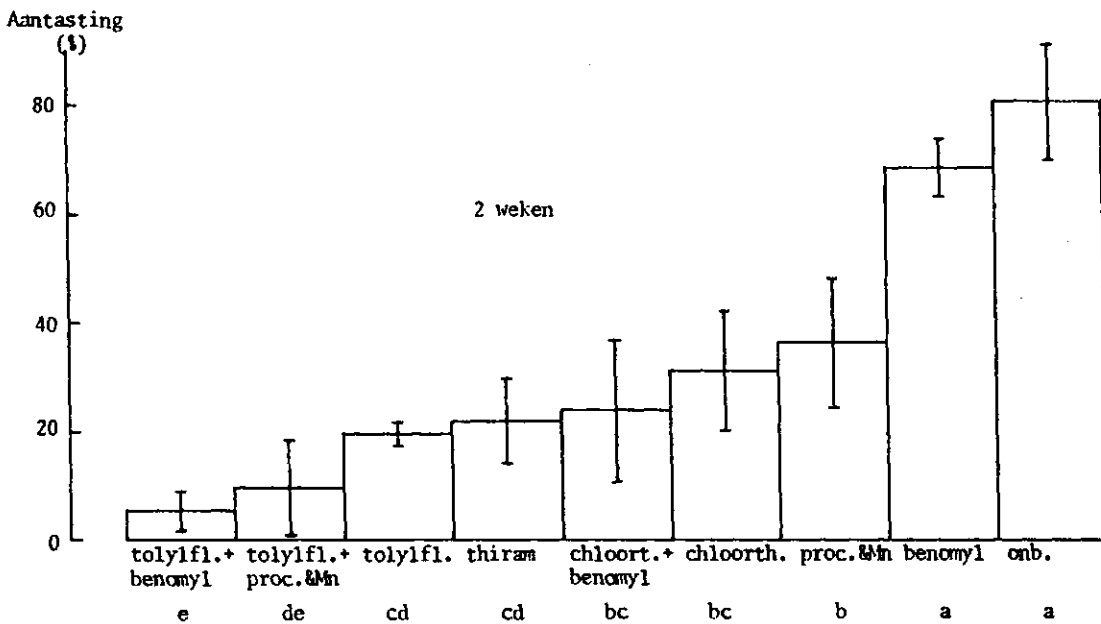
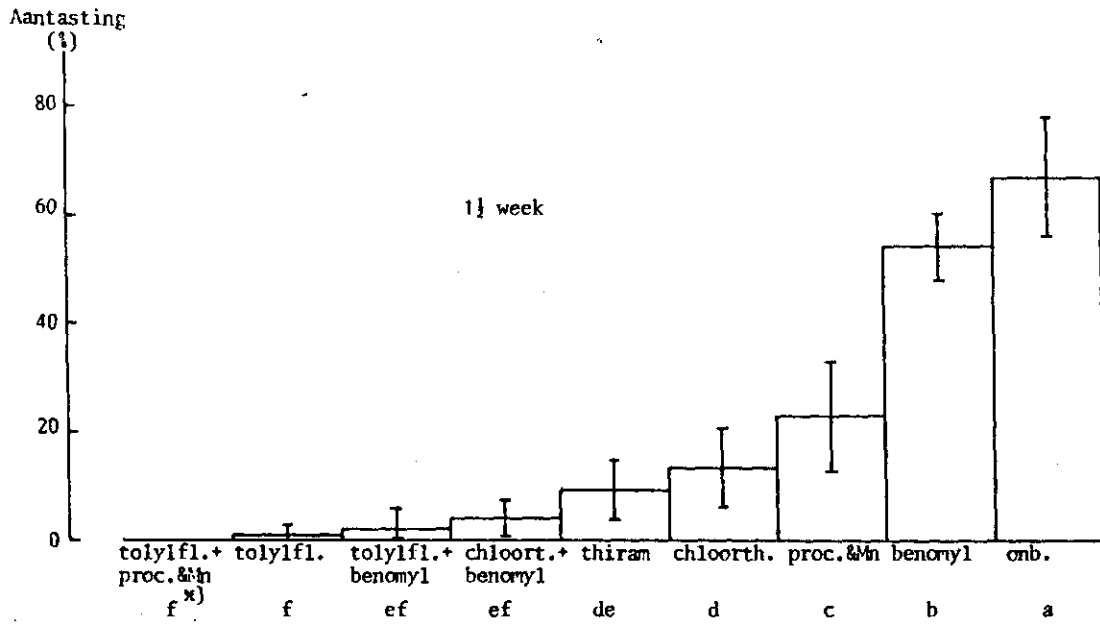
Tabel 10. Carthamus. Gemiddelde aantastingspercentages van dezelfde objecten van proef 1 en 2 twee weken na het inoculeren

Behandelingen	Aantastingspercentages		Verschil t.o.v. proef 1
	proef 1	proef 2	
onbehandeld	78,1	80,8	+ 3,5%
tolylfluanide	1,4	19,8	+ 1314%
thiram	5,5	21,9	+ 298%
chloorthalonil	6,8	31,2	+ 359%
benomyl	37,1	68,7	+ 85%

Vermoedelijk hangen de voor C. carthami betere omstandigheden in proef 2 samen met het feit dat in de kas geteelde planten sneller groeien en zachter weefsel hebben dan de buiten geteelde planten. Deze betere omstandigheden hebben gevolgen voor de middelen die dan bruikbaar zijn. Uit tabel 9 en figuur 5 blijkt dat alleen met tolylfluanide en de combinaties van tolylfluanide met prochloraz & Mn en benomyl, en de combinatie chloorthalonil + benomyl een goede bestrijding is verkregen, althans op de korte termijn. Hield tolylfluanide in proef 1 goed stand, in deze proef laat tolylfluanide het vermoedelijk dankzij de voor C. carthami betere omstandigheden het op de langere termijn alsnog afweten. Alleen de combinaties tolylfluanide + benomyl en tolylfluanide + prochloraz & Mn blijven het redelijk doen. Tolylfluanide + benomyl is na twee weken zelfs betrouwbaar beter dan alleen tolylfluanide.



Figuur 5. CARTHAMUS. Effect van twee preventieve bespuitingen met fungiciden op de bestrijding van de schimmel *Colletotrichum carthami*. Percentage aangetaste planten (gemiddelde  $\pm$  SD) 1, 2 en 2½ week na het inoculeren. \*) significantie bij P=0,05.



Gezien de niet al te grote spreiding in het aantastingspercentage van behandeling 1 2½ week na het inoculeren, mag worden verondersteld dat het klimaat over het gehele perceel nagenoeg gelijk is geweest. Minimaal waren er toen 75% planten door C. carthami aangetast en maximaal 100%.

### 3.3.4. Discussie

Op grond van de in proef 2 verkregen resultaten zal er in de praktijk bij afwezigheid van een aantasting door C. carthami en ter voorkoming daarvan, bij voorkeur gespoten moeten worden met tolylfluanide, zelfs wanneer de omstandigheden voor een aantasting op dat moment minder gunstig zijn. Vanwege het feit dat het klimaat in Nederland wordt gekenmerkt door een sterk wisselend weertype, kunnen die omstandigheden enkele dagen later namelijk aanzienlijk gunstiger zijn. Dit rechtvaardigt het gebruik van de beste contactfungicide. De combinatie tolylfluanide + benomyl zou in de praktijk kunnen worden toegepast nadat de eerste aantasting door C. carthami is gesignaleerd.

Nu kan de vraag worden gesteld: hoe frequent moet er worden gespoten en wanneer? In de volgende proef wordt getracht daarop een antwoord te vinden.

### 3.4. Proef 3

#### 3.4.1. Doel

In de laatste proef, die in de zomer van 1986 buiten is uitgevoerd, is het aantal te testen fungiciden met betrekking tot de bestrijding van C. carthami op grond van de resultaten uit proef 2, teruggebracht tot twee, namelijk tolylfluanide en benomyl, waarbij benomyl alleen in combinatie met tolylfluanide is gebruikt. Ook prochloraz & Mn zou in combinatie met tolylfluanide voor proef 3 in aanmerking komen, ware het niet dat dit middel in Nederland geen toelating heeft.

De bespuitingen met tolylfluanide en tolylfluanide + benomyl zijn met verschillende frequenties uitgevoerd en ook het tijdstip waarop de eerste bespuitingen hebben plaatsgevonden, was niet bij alle behandelingen gelijk. Het doel daarvan is na te gaan:

- a. in hoeverre het zinvol is om door te spuiten nadat er sporen van C. carthami op het gewas zijn terechtgekomen en
- b. wanneer de eerste bespuitingen moeten worden uitgevoerd.

#### 3.4.2. Materialen en methoden

Op 31-5-1986 is het zaad van Carthamus ter plaatse uitgezaaid op twee bedden, elk met een lengte van 13,5 m en vier rijen per bed. Tussen de rijen is een afstand aangehouden van 25 cm en in de rij een afstand van 6 cm. Op 8-7-1986 toen het gewas een hoogte had bereikt van gemiddeld 30 cm zijn de eerste bespuitingen uitgevoerd met de in tabel 11 genoemde fungiciden (behandeling 3 t/m 7). Eén week later zijn dezelfde behandelingen nogmaals uitgevoerd.

Tabel 11. Carthamus. Uitgevoerde bespuitingen met fungiciden ter bestrijding van de schimmel Colletotrichum carthami

<u>Behandelingen</u>	<u>Concentratie handelsprodukt</u>	<u>Aantal bespuitingen voor/na inoculeren</u>
Onbesmet		
1. onbehandeld	--	--/--
Besmet		
2. onbehandeld	--	--/--
3. tolylfluanide	0,2%	2x/--
4. tolylfl.+ benomyl	0,2% + 0,05%	2x/--
5. tolylfl.+ benomyl	0,2% + 0,1 %	2x/--
6. tolylfluanide	0,2%	2x/3x
7. tolylfl.+ benomyl	0,2% + 0,05%	2x/3x
8. tolylfl.+ benomyl	0,2% + 0,05%	--/1x (3 dg na inoculatie)
9. tolylfl.+ benomyl	0,2% + 0,05%	--/1x (7 dg na inoculatie)

Eén dag na de tweede bespuiting zijn alle planten, met uitzondering van behandeling 1, geïnoculeerd met een sporensuspensie van C. carthami. Van deze suspensie, die 3,5 miljoen sporen per ml bevatte, is 250 ml per m<sup>2</sup> over het gewas gespoten. Dit komt neer op een hoeveelheid sporen van 875 miljoen per m<sup>2</sup>. Deze hoeveelheid is van dezelfde orde van grootte als in proef 1 en 2. Drie dagen na het aanbrengen van de sporensuspensie is behandeling 8 uitgevoerd, vier dagen later gevolgd door behandeling 9. Deze twee behandelingen zijn in de proef opgenomen om na te kunnen gaan wat de gevolgen zijn indien de eerste bespuiting pas wordt uitgevoerd nadat het gewas is geïnoculeerd en de aantasting vermoedelijk al een feit is. Dit vermoeden is gebaseerd op het onderzoek van Manandhar et al (1985). Zij hebben waargenomen dat de schimmel Colletotrichum truncatum reeds na twee dagen de sojaplant binnendringt. Behandeling 8 en 9 kunnen zodoende enig inzicht verschaffen omtrent de curatieve bestrijdingsmogelijkheden van de combinatie tolylfluanide + benomyl. Op hetzelfde tijdstip als waarop behandeling 9 is uitgevoerd, zijn de behandelingen 6 en 7 voor de derde keer verricht. Daarna zijn deze behandelingen nogmaals twee keer herhaald met een interval van één week.

Met uitzondering van het besmette, onbehandelde object (behandeling 2) zijn de behandelingen in drievoud uitgevoerd met gemiddeld 45 planten per vak. De besmette, onbehandelde planten - 180 stuks - zijn volgens onderstaand proefschema (tabel 12) over 15 vakjes tussen de andere objecten verdeeld. De reden van deze opsplitsing is dezelfde als in proef 1 en 2.

Tabel 12. Carthamus. Proefschema volgens welke de negen behandelingen over de twee bedden zijn verdeeld

																		bed:		
2a	5	3	2b	6	8	2c	4	9	2d	1	7	2a	4	1	2b	8	9	2c	I	
2a	1	2b	8	4	2c	7	9	2d	5	6	2e	3	5	2d	6	7	2e	3	2f	II

Behandeling 2: proefvakgrootte: 0,25 m<sup>2</sup>. Aantal herhalingen 15.  
 Behandelingen 3 t/m 9: proefvakgrootte: 1,0 m<sup>2</sup>. Aantal herhalingen: 3.  
 Gemiddeld aan Carthamus-planten per m<sup>2</sup>: 48.

Het effect van de behandelingen is vastgesteld door de planten vier weken na het inoculeren te controleren op aanwezigheid van een aantasting van de hoofdstengel door C. carthami.

### 3.4.3. Resultaten en conclusies

In tabel 13 zijn de resultaten opgenomen van de bespuitingen met fungiciden ten aanzien van de bestrijding van C. carthami. Zowel de gemiddelde percentages aangetaste planten als de standaardafwijkingen (SD) zijn daarin opgenomen. In figuur 6 zijn deze gegevens schematisch weergegeven.

Tabel 13. Carthamus. Effect van bespuitingen met fungiciden op de bestrijding van Colletotrichum carthami vier weken na het inoculeren

Behandelingen	Percentage aangetaste planten		
	Gemiddeld		SD
1	0,0	a*	0,0
2	22,8	b	4,8
3	5,9	c	2,7
4	7,4	c	1,8
5	4,3	ac	0,1
6	0,7	a	1,1
7	0,8	a	1,2
8	15,8	d	3,9
9	14,3	d	6,9

\* worden de gemiddelde in één kolom gevolgd door één of meer gelijke letters dan zijn ze niet significant verschillend. De resultaten zijn verwerkt middels de regressie-analyse gevolgd door de t-toets ( $P= 0,05$ ).



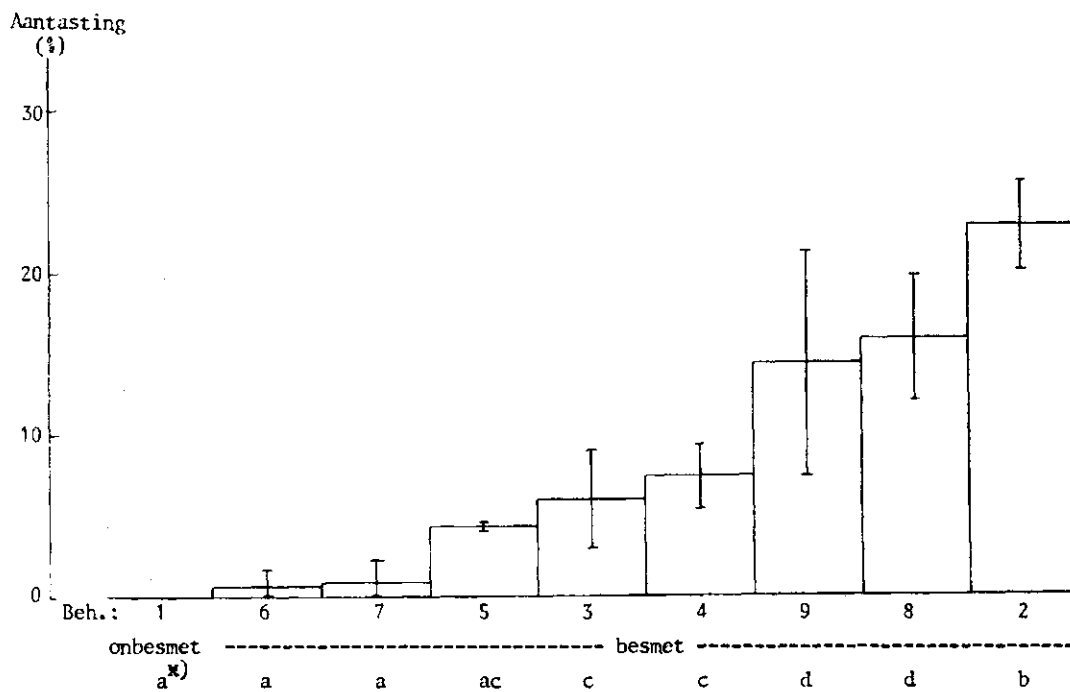
Foto 5. Carthamus. Proef ter bestrijding van de schimmel C. carthami

Uit de resultaten blijkt dat er in het onbesmette object (behandeling 1) geen aantasting door C. carthami is opgetreden. Ook uit de praktijk bereikten ons in deze periode geen berichten over aantastingen door deze schimmel. Gedurende de vier weken na het inoculeren is het weer met uitzondering in de tweede week zonnig en droog geweest, wat ook voor de besmette objecten niet gunstig was om een aantasting te veroorzaken. Wel is het gewas in de eerste week na het inoculeren op verschillende avonden berekend om het aangebrachte inoculum de mogelijkheid te geven om tot infectie te komen. Gezien het uiteindelijke resultaat van gemiddeld 22,8% aangetaste planten in het besmette, onbehandelde object (behandeling 2) heeft dit weinig mogen baten. Zeker niet indien de aantastingspercentages in beide voorgaande proeven in ogenschouw worden genomen. Toen was reeds twee weken na het inoculeren 78-80% van de onbehandelde planten aangetast. Desalniettemin kunnen de in proef 3 verkregen resultaten toch een indicatie geven betreffende het effect van de behandelingen indien de resultaten maar voldoende van elkaar verschillen.

Was het klimaat verre van optimaal voor een aantasting door C. carthami, gezien de geringe spreiding in het gemiddelde aantastingspercentage van behandeling 2 mag worden verondersteld dat het klimaat over het gehele perceel gelijk is geweest. Minimaal waren er 16% planten door C. carthami aangetast en maximaal 33%.

Afgaande op de aantastingspercentages en de resultaten van de statistische verwerking zijn de besmette objecten met uitzondering van behandeling 5 in vier significante groepen te verdelen. De groepen zijn gerangschikt in volgorde van oplopende aantastingspercentages.

Figuur 6. CARTHAMUS. Effect van bespuitingen met fungiciden op de bestrijding van de schimmel Colletotrichum carthami. Percentage aangetaste planten (gemiddelde  $\pm$  SD) vier weken na het inoculeren.  
 \*) Bij afwezigheid van gelijke letters zijn de verschillen tussen de behandelingen significant ( $P=0,05$ ).



- I behandelingen 6 en 7: spuiten voor en na het inoculeren
- II behandelingen 3 en 4: spuiten voor het inoculeren
- III behandelingen 8 en 9: spuiten na het inoculeren
- IV behandeling 2 : niet spuiten.

Bovenstaande indeling laat zien dat uitsluitend voorbehoedende bespuitingen niet afdoende zijn om een aantasting te voorkomen. Daarvoor dienen de bespuitingen te worden voortgezet. Vergelijk daartoe de resultaten van groep I en II. Een eerste bespuiting nadat het inoculum is aangebracht (groep III) blijkt nog ernstiger gevolgen te hebben dan wanneer er alleen voor het inoculeren wordt gespoten (groep II). Dit hangt vermoedelijk samen met het feit dat de infectie dan reeds tot stand is gekomen. Zijn de verschillen tussen de groepen wel significant, binnen de groepen zijn er geen significante verschillen in aantasting opgetreden tussen de behandelingen met tolylfluanide en tolylfluanide + benomyl.

#### 3.4.4. Discussie

De slechte resultaten van de behandelingen waarbij de eerste bespuitingen pas hebben plaatsgevonden nadat het inoculum is aangebracht, wijzen er op dat er vooral voorbehoedend moet worden gespoten. Is de schimmel éénmaal in de plant aanwezig dan is de bestrijding uitermate moeilijk, zo niet onmogelijk. Nu kan men zich afvragen of er in de praktijk voorbehoedend moet worden gespoten zolang er nog geen aantasting door C. carthami is geconstateerd. Op het eerste gezicht lijkt dat niet noodzakelijk te zijn. Het weer kan echter snel omslaan ten gunste van het ontstaan van een aantasting door C. carthami. Zijn er voordien geen bespuitingen met fungiciden uitgevoerd dan kan de aantasting vrij ernstige vormen aannemen (behandelingen 8 en 9). Het is dan ook zinvol om een gewas dat niet snel meer kan opdrogen wekelijks voorbehoedend te bespuiten.

Dat er binnen de groepen geen significante verschillen zijn gevonden tussen de behandelingen met tolylfluanide en tolylfluanide + benomyl moet worden toegeschreven aan het feit dat de omstandigheden in deze proef niet optimaal zijn geweest om een infectie tot stand te brengen. Zijn de omstandigheden daarentegen optimaal, zoals het geval is geweest in proef 2, dan leveren deze behandelingen wel significante verschillen op.

#### 4. SAMENVATTING

De schimmel Colletotrichum carthami (Fuhuki) Hori & Hemmi is in 1984 voor het eerst in ons land aangetroffen bij het zomerbloemengewas Carthamus tinctorius. Deze schimmel veroorzaakt een stengel necrose, waardoor de plant niet meer oogstbaar is. Uit het in vitro onderzoek blijkt dat de uitgroei van het mycelium van C. carthami in sterkere mate wordt geremd door systemische fungiciden dan door contactfungiciden. Het in vivo-onderzoek toont echter duidelijk aan dat een aantasting door C. carthami aanzienlijk beter is te voorkomen door contactfungiciden dan door systemische fungiciden. De beste bestrijding is verkregen wanneer er zowel voor als nadat de infectie met C. carthami heeft plaatsgevonden, wordt gespoten. Van de contactfungiciden, die voor de praktijk beschikbaar zijn, leverde tolyfluanide de beste bestrijding op. Thiram en chloorthalonil voldeden niet. Onder voor de schimmel C. carthami optimale omstandigheden werd met de combinatie tolyfluanide + benomyl een betere bestrijding verkregen dan met tolyfluanide alleen.

#### 5. BESTRIJDINGSADVIES

Mede op grond van de ervaringen opgedaan in een viertal proeven wordt hieronder een voorzet gegeven voor een advies ter bestrijding van de schimmel Colletotrichum carthami bij het zomerbloemengewas Carthamus tinctorius.

- Gedurende perioden met vochtige omstandigheden, welke gunstig zijn voor het ontstaan van een aantasting door C. carthami, of wanneer het gewas gesloten is en daardoor niet snel meer kan opdrogen, dient ter voorkoming van een aantasting wekelijks te worden gespoten met 0,2% Eupareen M.
- Treedt toch aantasting op, spuit dan enkele keren om de zeven dagen met 0,2% Eupareen M waaraan 0,05% Benlate is toegevoegd. Daarna kan weer worden overgegaan op het voorbehoedende schema. Spuit zodanig dat ook de stengels goed worden geraakt.
- Uitbreiding van de ziekte kan verder worden tegengegaan door het gewas bovengronds zo droog mogelijk te houden en de aangetaste planten te verwijderen. Stop deze planten ter plaatse in een plastic zak.

## 6. LITERATUUR

- Boerema, G.H., Kesteren, H.A. van en Loerakker, W.M. 1984.  
Vermeldenswaardige schimmelaantastingen in de perioden 1980-1984.  
Gewasbescherming 15 (6): 163-177.
- Gullino, M.L. en Garibaldi, A. 1981.  
Results of experimental trials for controlling leaf curling of Anemone  
caused by *Colletotrichum gloesporioides*. Med. Fac. Landbouww.  
Rijksuniversiteit Gent, 46(3): 873-879.
- Manandhar, J.B., Kunvar, I.K., Singh, T., Hartman, G.L. en Sinclair, J.B.  
1985. Penetration and infection of soybean leaf tissues by  
*Colletotrichum truncatum* and *Glomerella glycines*. *Phytopathology*  
75 (6): 704-708.
- Sutton, T.B., Nardacci, J.F. en O'Leary, A.L. 1985  
In vitro activity of etaconazole, bitertanol and fenarimol on fungi  
causing summer disease of apples. *Plant Disease* 69 (8): 700-703.