

NEDERLANDSCHE PLANTENZIEKTENKUNDIGE (PHYTOPATHOLOGISCHE)
VEREENIGING

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

ONDER REDACTIE VAN

Ir N. VAN POETEREN, PROF. DR W. K. J. ROEPKE
EN MEJ. H. L. G. DE BRUYN

REDACTIE-ADRES: Ir N. VAN POETEREN, WAGENINGEN

KORTE MEDEDEELINGEN: Dr A. J. P. OORT, WAGENINGEN

DRUKKERS-UITGEVERS: H. VEENMAN & ZONEN, WAGENINGEN

52e Jaargang (1946)

1e aflevering

Jan.-Febr. 1946

DE BEPALING VAN DE EIDOODENDE WERKING VAN WINTERBESTRIJDINGSMIDDELEN IN HET LABORATORIUM

Eerste deel

DOOR

IR P. H. VAN DE POL EN DR A. F. H. BESEMER

Verschillende dinitro-cresol (kleurstof) bevattende bestrijdingsmiddelen, welke in den nawinter in de fruitteelt in de plaats van vruchtboomcarbolineum worden gebruikt, werden in den winter 1942-1943 in een andere samenstelling in den handel gebracht dan daarvoor. Aangezien bespuitingsproeven in de practijk met deze nieuwe praeparaten te laat resultaten zouden hebben opgeleverd, waren wij, om de werking dezer middelen van te voren te toetsen, op onderzoek in het laboratorium aangewezen.

Bij dit onderzoek is afgeweken van de tot dusver gebruikelijke methoden (BREAKEY & MILLER, 1935; DIÉRIK, 1942), waarbij vnl. eieren van andere insecten dan die, waartegen de middelen in de practijk moesten werken, als proef-object werden gebruikt, doch is uitsluitend uitgegaan van eieren van de te bestrijden parasieten zelf.

Omdat men het resultaat der behandeling nu eenmaal niet uitwendig aan de eieren kan waarnemen en niet voldoende tijd beschikbaar was om te wachten tot de eieren in het voorjaar uitkwamen, is een methode ontwikkeld, waarbij het mogelijk is het effect der behandeling op zeer korten termijn, in sommige gevallen reeds eenige dagen na de behandeling, na te gaan. Deze methode berust op het microscopisch onderzoek van den ei-inhoud, waarbij vastgesteld kan worden of een ei al dan niet dood is. Het uitgangspunt van dit onderzoek werd gevormd door een tweetal publicaties van MORITZ, 1893 en BRÉNY, 1938, waarin gewezen wordt op het bestaan van microscopische verschillen tusschen doode en levende luizen en eieren.

Niet in alle gevallen is de ontwikkelde methode uitvoerbaar, hetgeen in de afzonderlijke hoofdstukken wordt behandeld. Achtereenvolgens volgt een verslag van de proeven op eieren van bladluis (*Aphis pomi* D. G.), wintervlinder (*Operopthera brumata* L.), ringelrups (*Malacosoma neustria* L.) en heggebladroller (*Cacoecia podana* Sc.).

HOOFDSTUK I

DE OVICIDE WERKING OP EIEREN VAN DE GROENE APPELBLADLUIS

Aphis (Doralis) pomi D. G.§ 1. *Microscopische verschillen tusschen den inhoud van doode en levende eieren*

In een vroeg ontwikkelingsstadium bestaat de inhoud van levende eieren bijna geheel uit een lichtgroene, korrelige dooiermassa (fig. 1: stukgedrukt ei met levenden inhoud). Behalve deze korrels treffen we ook iets grootere donkergroene lichaampjes aan.

Tot November is de inhoud van het ei over het algemeen zeer homogeen. Daarna treedt eenige differentiatie op; in de dooiermassa ontstaat een wit embryo, dat een steeds grootere plaats in het ei gaat innemen (fig. 2). De structuur van den omringenden dooier verandert gedurende dít proces niet zichtbaar. De grootere donkergroene lichaampjes treden in de latere ontwikkelingsstadia meer op den voorgrond dan in de eerste.

De eerste reactie op het afsterven van het ei, na een behandeling met een toxicans, uit zich in het coaguleeren van de dooiermassa, waarbij als coagulatiekernen vaak de donkergroene lichaampjes optreden. Tengevolge van het coaguleeren wordt de dooiermassa donkerder en de structuur grover. Er vormen zich lichtgroene druppels aan den rand van het stukgedrukte ei, welke druppels later geel worden, evenals de druppels, die zich bij de ontmenging, welke op de coagulatie volgt, in den dooier vormen. Door de vorming dezer druppels wordt de ei-inhoud min of meer geel en is hierdoor gemakkelijk te onderscheiden van den lichtgroenen homogenen inhoud van levende eieren.

In een verder gevorderd stadium van het afstervingsproces sluiten de druppels aaneen, waardoor de geheele ei-inhoud vervloeit. In de ontstane grijsbruine massa liggen aanvankelijk hier en daar nog donkergele en donkerbruine gecoaguleerde deelen en afzonderlijke gele druppels. Naarmate het proces echter verder gaat, vervaaagt de coagulatie en wordt de ei-inhoud meer vloeibaar.

De reactie, die ten gevolge van de dooding optreedt, blijkt bij aanwending van verschillende praeparaten eenigszins te verschillen en verloopt ook niet even snel. Een zeer snelle reactie kan optreden na behandeling met azijnaether, waardoor reeds binnen één etmaal coagulatie en vervloeiing kunnen hebben plaats gehad (fig. 3).

Bij de meeste dinitro-cresol (d.n.c.)-praeparaten (ter sterkte van 0,25 % d.n.c. in de schudvloeistof) namen wij reeds na enkele dagen coagulatie waar (tabel II), terwijl meestal zeer spoedig hierna ontmenging en vervloeiing optraden. De inhoud van door d.n.c. gedooide eieren blijkt geler te zijn dan de inhoud van door vruchtboomcarbolineum gedooide eieren, welker inhoud donkerder en bruiner is (fig. 4 en 5), hetgeen waarschijnlijk in verband staat met het verschil in werking dezer middelen (§ 3).

§ 2. *Methodiek van het onderzoek*

De zich aan stukjes twijg bevindende eieren worden gebracht in reageerbuisen, waarin ze gedurende 30 seconden met het te onderzoeken praeparaat geschud worden. Na eenigen tijd, hetgeen afhangt van het gebruikte praeparaat, wordt een aantal eieren van de takjes verwijderd, op een objectglas gebracht, onder een dekglasje stukgedrukt (tot 25 tegelijk) en door het microscoop bekeken.

Vervolgens wordt het aantal levende en doode eieren, gebaseerd op het beeld van den ei-inhoud, genoteerd.

Naast de proef met een bepaald praeparaat is in de meeste gevallen ook een vergelijkende, zgn. blancoproef uitgevoerd, waarbij de eieren gedurende 30 seconden in water zijn geschud.

Gedurende de periode tusschen de behandeling en de contrôle zijn de eieren bewaard in glazen schalen bij een relatieve vochtigheid van plm. 100 %. De schalen werden, tenzij anders vermeld, geplaatst in een cel, waarin de temperatuur van October tot Maart varieerde van 9–14 °C.

Aangezien eieren van verschillende herkomst in verschillende mate gevoelig kunnen zijn (DIERICK, hfdst. III, § 1c), is bij de overeenkomstige proefreeksen zooveel mogelijk van eieren van dezelfde herkomst uitgegaan.

Voordeelen van deze methode:

1. In verband met het snel beschikbaar zijn van gegevens (bij d.n.c.-producten na of binnen zes dagen, bij v.b.c.-producten na één maand), is het mogelijk contrôle op de geschiktheid van praeparaten ook reeds tijdens de productie uit te oefenen.

2. Aangezien niet behoeft te worden gewacht tot de eieren uitkomen, maar reeds na korten tijd het doodingspercentage kan worden bepaald, is de dooding van de blancoproef (na zes dagen of ten hoogste één maand, zie 1) zeer gering (meestal < 10 %). In verband hiermede biedt de berekening van het percentage dooding volgens de formule van ABBOT (§ 4) een vrij groote zekerheid.

3. Nieuwe middelen kunnen direct onderzocht worden. Bij het gebruik van andere eieren dan bladluiseieren is het noodig te voren na te gaan in hoeverre de werking der te toetsen middelen op beide soorten eieren onderling vergelijkbaar is.

4. De werkwijze met dezelfde eieren, waartegen ook de bespuitingen in de praktijk zijn gericht, biedt grootere zekerheid.

Nadeelen der methode:

1. Bewerkelijkheid. Speciaal het afpraepareeren en het microscopisch onderzoek der behandelde eieren vereischt zeer veel tijd.

2. Beperkte tijdsduur van toepassing, nl. voor d.n.c.-producten gedurende zes maanden (October–Maart), waarin wintereieren van deze bladluizen aanwezig zijn, voor v.b.c. van October–half November en van half Januari–Maart (§ 5 B).

§ 3. *Wijze, waarop de middelen werken*

A. *D.n.c.*

In verband met de zeer snelle veranderingen in den ei-inhoud na de behandeling wordt algemeen aangenomen, dat de doodende werking van het d.n.c. berust op het direct binnendringen in het ei.

Blijkens onderzoek van DIERICK e.a. moet het toxisch effect van d.n.c. en zijn zouten voor een belangrijk deel aan de werking van de ongedissocieerde dinitrocresolmoleculen worden toegeschreven. In alcalische zoutoplossing van d.n.c. zou de werking berusten op de binding van ongedissocieerde zuurmoleculen aan het ei, waardoor het chemisch evenwicht verbroken wordt.

Een verschil in werking tusschen NH_4 - en Na-cresolaat, hetgeen door DIERICK bij meelmoteieren is waargenomen, hebben wij bij bladluiseieren niet geconstateerd (§ 7 A). In verband met dezelfde mate, waarin beide zouten gedissocieerd zijn, is een dergelijk verschil volgens het bovenstaande niet verklaarbaar.

B. *V.b.c.*

De doodende werking van v.b.c. berust volgens WIESMANN (1942) op een verstikkenden invloed; volgens KUENEN (1943) berust zij waarschijnlijk op een uitdrogenden invloed tengevolge van aantasting van de omhullende kitlaag.

Teneinde een indruk te verkrijgen van de werking van v.b.c. bewaarden wij eieren in N-atmosfeer. Het bleek, dat deze eieren minder gauw coaguleerden dan eieren, die op hetzelfde tijdstip met v.b.c. behandeld waren en overigens op dezelfde wijze bewaard werden. Dit doet ons vermoeden, dat bij een behandeling met v.b.c. ook toxische componenten (mogelijk chinoline of pyridine) in het ei dringen en de werking van v.b.c. dus niet uitsluitend op een verstikkings- of uitdrogingseffect berust.

Bij de proeven gebruikte handelspraeparaten.

A. *D.n.c.*

1. Ammonium dinitro-cresolaat (NH_4 -cresolaat), poedervormig, als Nederlandsch fabrikaat onder verschillende namen in den handel gebracht: DNC Krimpen extra (Utrechtsche Asphaltfabriek, 's-Gravenhage), Elgetine (Van Waveren, Hillegom), Jebonol extra, (Verdugt, 's-Gravenhage) en Kewa perfect (Kempkes & Waterreus, Elst). Het d.n.c.-gehalte dezer praeparaten bedraagt 80-90 %.

2. Natrium dinitro-cresolaat (Na-cresolaat). Als poeder in den winter 1942-1943 verhandeld onder de namen DNC Krimpen, Elgetol, Jebonol en Kewa. D.n.c.-gehalte 40-50 %.

3. Fahlberg. Poedervormig praeparaat van Fahlberg-List, Maagdenburg (import Wiersum, Groningen). D.n.c.-gehalte 40-50 %.

4. Dinitol. Pasta van Nederlandsch fabrikaat (A.V.O.P., Amsterdam). D.n.c.-gehalte 20-25 %.

5. Selinon. Pasta van Defa-Bayer, Leverkusen (import Agrochemie, Arnhem). D.n.c.-gehalte 20-25 %.

De tot dusver genoemde middelen bevatten zouten van d.n.c.

6. Nitroleum. Pasta, vervaardigd door B.P.M., Amsterdam. D.n.c.-gehalte 20 %.

7. Detal. Poedervormig praeparaat van Merck, Darmstadt (import Verdugt, 's-Gravenhage) bevat het vrije zuur. D.n.c.-gehalte 40-50 %.

In verband met de uiteenlopende gehalten aan d.n.c. worden de praeparaten in de practijk in verschillende percentages verspoten, zoodanig, dat de spuitvloeistof circa 0,25 % d.n.c. bevat.

TABEL I

*Percentages, waarin d.n.c.-praeparaten
in de practijk verspoten worden*

d.n.c.-gehalte	percentage
80-90	$\frac{1}{4}$ %
40-50	$\frac{1}{2}$ %
20	1 %

In het laboratorium zijn de middelen ook in lagere concentraties onderzocht.

B. V.b.c.

Als standaard is gebruikt een monster V.b.c. Krimpen, dat in de praktijk gunstige resultaten had opgeleverd.

Ter vergelijking zijn eveneens enkele geëmulgeerde praeparaten aangewend, nl.:

1. Abolin. Geëmulgeerd vruchtboomcarbolineum van Avenarius (import Metzger, Rotterdam).

2. Geëmulgeerd v.b.c. Krimpen, gefabriceerd door de U.A.F.

Betreffende de werkzaamheid dezer praeparaten zij verwezen naar § 7 B.

§ 4. *Mathematische verwerking der resultaten*

Het in de hierna volgende tabellen vermelde percentage dooding is steeds berekend met inachtneming van de blancodooding volgens de formule van ABBOT:

$$\% \text{ dooding} = \frac{x-y}{x} \cdot 100$$

x = % uitgekomen eieren blancoproef

y = % uitgekomen eieren proef

Indien de waarnemingen in vergelijkbare parallellen zijn uitgevoerd, is behalve het rekenkundig gemiddelde (A, B, enz.) ook de middelbare fout

$$\delta = \pm \sqrt{\frac{\sum d^2}{n(n-1)}} \text{ berekend.}$$

d = afwijking gemiddelde van het resultaat van elke waarneming

n = aantal parallellen

Om na te gaan in hoeverre verschillen tusschen de reeksen reëel zijn, dan wel binnen de foutengrens vallen, is t berekend volgens de formule

$$t = \frac{A-B}{\sqrt{\delta_A^2 + \delta_B^2}}$$

Voor $t > 3$ zijn de verschillen als reëel beschouwd.

§ 5. *Het verloop der gevoeligheid van de eieren gedurende het winterseizoen voor d.n.c en v.b.c*

Om het verloop der gevoeligheid te bepalen zijn door ons in den winter 1943-1944 met tussenpoozen van een halve maand waarnemingen verricht met betrekking tot de snelheid, waarmee de praeparaten in de gebruikelijke verdunningen werkzaam zijn, terwijl met tussenpoozen van één maand de werkzaamheid van sterker verdunde d.n.c.-oplossingen en v.b.c.-emulsies is nagegaan.

A. D.n.c.

1. Bepaling van de snelheid, waarin d.n.c.-praeparaten (0,25 % d.n.c. in de schudvloeistof) werken.

Met tussenpoozen van een halve maand werden series eieren behandeld volgens de eerder beschreven methode met verschillende d.n.c.-praeparaten. Bepaald werd na hoeveel dagen 100 % der eieren was gecoaguleerd.

TABEL II

Aantal dagen, waarin 100 % der eieren is gecoaguleerd
na behandeling met verschillende d.n.c.-oplossingen (0,25 % d.n.c.)

	%	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	gem. I-VI en midd. fout	gem. VII-XII en midd. fout	t
NH ₄ -cres.	$\frac{1}{4}$	2	3	2	3	2	3	4	3	3	3	3	4	2,5 $\pm$ 0,22	3,33 $\pm$ 0,21	2,7
Na-cres.	$\frac{1}{2}$	—	—	—	—	2	2	4	3	3	4	4	3	2	3,5	—
Fahlberg	$\frac{1}{2}$	—	—	2	3	—	—	—	—	—	—	—	—	2,5	—	—
Dinitol	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4	—	4	—
Nitroleum	$\frac{1}{2}$	2	4	2	3	2	2	4	3	3	4	4	3	2,5 $\pm$ 0,34	3,5 $\pm$ 0,22	2,4
Detal	$\frac{1}{2}$	—	—	1	3	2	3	3	2	3	3	3	3	2,25 $\pm$ 0,48	2,83 $\pm$ 0,17	1,1

Data, waarop de series behandeld zijn: 1 October (I), 16 October (II), 1 November (III), 15 November (IV), 30 November (V), 14 December (VI), 3 Januari (VII), 24 Januari (VIII), 31 Januari (IX), 15 Februari (X), 28 Februari (XI), 20 Maart (XII).

Gedurende 4 dagen na de behandeling werden dagelijks steeds 50 eieren per middel stukgedrukt en door het microscoop bekeken.

Uit de tabel volgt, dat in vier dagen steeds 100 % der eieren was gecoaguleerd. In een enkel geval (Detal, 1 November) waren reeds na één dag alle eieren gecoaguleerd. Tevens blijkt, dat de coagulatie in de series I-VI (tot Januari) een weinig sneller verloopt dan in de series VII-XII. Berekening van t (§ 4) doet echter zien, dat de waargenomen verschillen binnen de foutengrens ($t < 3$) liggen. Uit deze tabel kan dus niet worden afgeleid, dat de coagulatie vóór Januari sneller verloopt dan na Januari.

De temperatuur, waarbij de eieren na de behandeling zijn bewaard, varieerde gedurende de proef van 9-14 °C. Zij was vóór Januari gemiddeld enkele graden hoger dan daarna. Waarschijnlijk moeten de geringe verschillen, die geconstateerd zijn, hiermede in verband worden gebracht.

De blancodooding 4 dagen na de behandeling bedroeg bij deze proeven 2,5 $\pm$ 0,9 % ($n = 12$).

2. Bepaling van de werkzaamheid van sterk verdunde d.n.c.-praeparaten.

Met tussenpoozen van een maand werden series eieren behandeld met d.n.c.-praeparaten ter sterkte van 0,0025, 0,005, 0,01 en 0,025 % d.n.c. in de schudvloeistof. Er zijn proeven genomen met praeparaten, welke het vrije zuur bevatten (o.a. Detal) en met die, welke een zout van dinitro-cresol bevatten (o.a. NH₄-cresolaat). Bepaald werd de dooding zes dagen na de behandeling.

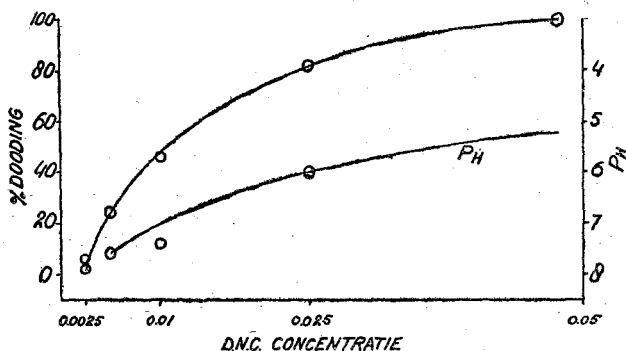
a. Dooding, veroorzaakt door praeparaten, welke het vrije zuur bevatten.

TABEL III

Werking van Detal in lage concentraties

d.n.c.-concentratie	pH	% dooding	n
0,25	4,6	—	—
0,05	—	100	1
0,025	6,0	83 $\pm$ 9,8	7
0,01	7,4	46 $\pm$ 14,6	7
0,005	7,6	23 $\pm$ 7,1	7
0,0025	7,7	2 $\pm$ 0,8	6

Data, waarop de series achtereenvolgens behandeld zijn: 19 October, 22 November, 18 December, 14 Januari, 9 Februari, 18 Februari, 24 Maart. n is het aantal malen, waarin voor de betreffende concentratie het percentage dooding steeds bij ten minste 150 eieren is bepaald.



Grafiek I. Het verloop van de dooding en de pH bij verschillende concentraties van Detal

In grafiek I is het verloop van de door Detal veroorzaakte dooding voorgesteld. Uit de grafiek blijkt, dat bij een concentratie $< 0,025\%$ d.n.c. een snel verval van de dooding optreedt.

In de grafiek is tevens het verloop van de pH bij verdunning van de schudvloeistof weergegeven (§ 6, 1).

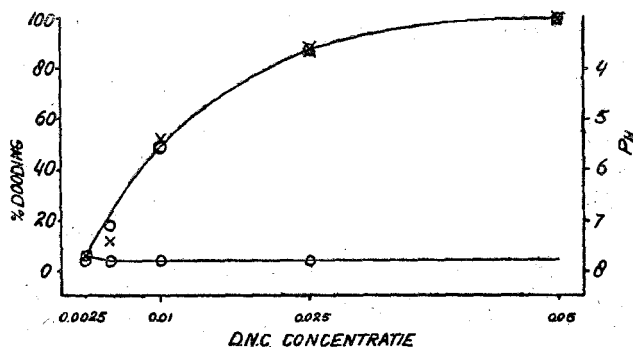
b. Dooding, veroorzaakt door praeparaten, die een zout van d.n.c. bevatten.

TABEL IV

Werking van NH_4 -cresolaat in lage concentraties

d.n.c.-concentratie	pH	% dooding	n
0,25	7,8	—	—
0,05	—	100	1
0,025	7,8	$88 \pm 7,8$	5
0,01	7,8	$50 \pm 10,2$	5
0,005	7,8	$19 \pm 10,1$	5
0,0025	7,7	$4 \pm 1,2$	4

Data, waarop de series achtereenvolgens zijn behandeld: 19 October, 18 December, 14 Januari, 18 Februari, 24 Maart. Contrôle steeds bij ten minste 150 eieren per concentratie.



Grafiek II. Het verloop van de dooding en de pH bij verschillende concentraties van NH_4 - en Na-cresolaat O dooding NH_4 -cresolaat X dooding Na-cresolaat

In grafiek II is het verloop van de door NH_4 -cresolaat veroorzaakte dooding voorgesteld. Het blijkt weer, dat bij een concentratie $< 0,025\%$ d.n.c. een snel verval van de dooding optreedt. Evenals in grafiek I is tevens in deze grafiek de pH voor de verschillende verdunningen aangegeven.

Deze proeven zijn behalve met Detal en NH_4 -cresolaat ook met Na-cresolaat, Fahlberg, Selinon en Dinitol genomen. Er blijkt uit, dat het verval steeds bij een concentratie $< 0,025\%$ d.n.c. optreedt. Uitsluitend bij de reeksen, die op 22 November en 18 Februari zijn ingezet, blijkt het verval reeds bij een hooger percentage d.n.c. op te treden. Van een eenigszins berekenbaar verschil in gevoeligheid voor dergelijke d.n.c.-concentraties is gedurende het winterseizoen 1943-1944 echter niets gebleken.

De blancodooding bedroeg bij deze proeven $2 \pm 0,4\%$ ($n = 7$).

Uit de onder 1 en 2 a en b beschreven proeven meenen wij te kunnen afleiden, dat eieren van Doralis pomi gedurende den geheelen winter voor d.n.c.-producten in dezelfde mate gevoelig zijn.

Het heeft dus in verband hiermede geen zin de bespuitingen in een vroeger of later ontwikkelingsstadium van het ei te doen uitvoeren.

B. V.b.c.

1. Bepaling van de snelheid, waarmede een 6% emulsie werkt.

Uit de waarnemingen, die met betrekking hiertoe zijn genomen, is gebleken, dat het verloop van de coagulatie na behandeling met 6% v.b.c. niet zoo zeer afhankelijk is van de snelheid, waarmede toxische componenten eventueel binnendringen, dan wel van den graad van de verstikkende of uitdrogende werking. Deze is blijkens onderstaande tabel het geringst in de periode van half November tot half Januari, hetgeen mogelijk in verband staat met de geringe stofwisseling van het ei in deze periode (diapause).

TABEL V Werking van 6% v.b.c. op verschillende tijdstippen

Oct.—15 Nov.		15 Nov.—15 Jan.		15 Jan.—Maart	
datum v. behand.	% dooding	datum v. behand.	% dooding	datum v. behand.	% dooding
1 Oct.	55	15 Nov.	6	14 Jan.	97
14 Oct.	98	22 Nov.	25	24 Jan.	66
16 Oct.	62	30 Nov.	0	31 Jan.	43
19 Oct.	88	18 Dec.	20	18 Febr.	71
1 Nov.	88	3 Jan.	39	28 Febr.	75
gemiddeld	$78 \pm 8,3$	gemiddeld	$18 \pm 6,9$	gemiddeld	$70 \pm 8,7$

De dooding is steeds na een maand bepaald bij ten minste 150 eieren.

De dooding bij de blancoproeven een maand na de behandeling bedroeg gemiddeld $4 \pm 0,7\%$ ($n = 19$).

De verschillen, die in de tabel over de perioden van October tot half November, van half November tot half Januari en van half Januari tot Maart tot uitdrukking komen, blijken na berekening volgens de formule

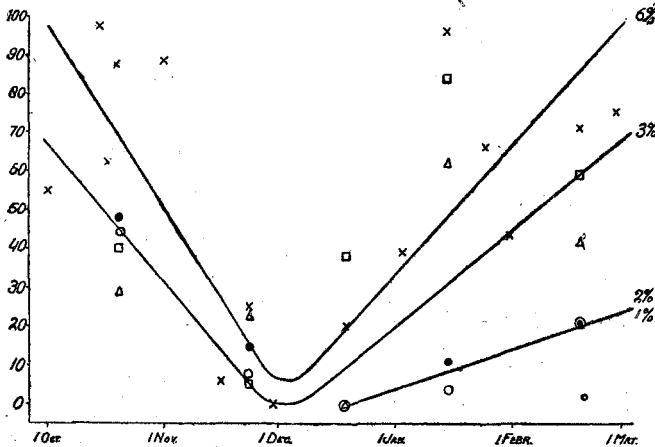
$$t_1 = \frac{A - B}{\sqrt{\delta_A^2 + \delta_B^2}} = 5,6$$

$$t_2 = \frac{B - C}{\sqrt{\delta_B^2 + \delta_C^2}} = 4,7 \quad \text{reëel te zijn (} t > 3 \text{)}.$$

Uit het voorgaande blijkt, dat de eieren van *Doralis pomi* gedurende haar ontwikkeling in verschillende mate gevoelig zijn voor een behandeling met 6 % v.b.c.

2. Bepaling van de werkzaamheid van verdunde v.b.c.-emulsies.

Evenals bij d.n.c. is ook bij v.b.c. de werkzaamheid bij lage concentraties nagegaan. De resultaten hiervan zijn samengevat in grafiek III, waarin de dooding van 6, 4, 3, 2 en 1 % v.b.c. op verschillende tijdstippen is aangegeven.



Grafiek III. V.b.c.-dooding als functie van het tijdstip van behandeling en de concentratie
 × Percentage dooding, veroorzaakt door 6 % v.b.c. □ Idem 4 % v.b.c.
 △ Idem 3 % v.b.c. ○ Idem 2 % v.b.c. ● Idem 1 % v.b.c.

De curven stellen uitsluitend het verloop van de gevoeligheid voor. Zij drukken niet uit, dat bij een bespuiting op b.v. 18 December slechts 20 % der eieren wordt gedood, doch dat de reactie der eieren in dien tijd zeer traag is, zoodat na plm. één maand slechts 20 % der eieren blijkt te zijn gecoaguleerd. Over de uiteindelijke dooding geeft de grafiek geen definitief uitsluitsel, hoewel het begrijpelijk is, dat wanneer de eieren traag reageeren er een grootere mogelijkheid bestaat, dat de toxische, verstikkende of uitdrogende stoffen verdampen of afreagen, zoodat tenslotte het effect van een zoodanige behandeling gering blijft.

In verband met tamelijk grootte afwijkingen tusschen de waarnemingen onderling moet aan de gevolgtrekkingen, die wij uit deze waarnemingen maakten, vooralsnog eenig voorbehoud worden verbonden.

Uit de grafiek blijkt, dat de eieren voor een v.b.c.-behandeling, zoowel in een hooge (6%) concentratie (zie ook tabel V), als in lagere concentraties van half November tot half Januari minder gevoelig zijn dan vóór of na deze periode.

Wat betreft de gevoeligheid voor lage concentraties (2 en 1 %) is het waarschijnlijk, dat de eieren na half Januari hiervoor minder gevoelig zijn dan vóór half November.

Uit het voorafgaande meenen wij te kunnen afleiden, dat de eieren van *Doralis pomi* gedurende de periode van half November tot half Januari weinig gevoelig voor v.b.c. zijn. In verband hiermede verdient het de voorkeur vóór half Januari geen bespuitingen met v.b.c. op eieren van de groene appelbladluise te doen uitvoeren.

§ 6. *De invloed, welke verschillende factoren op de toxische werking uitoefenen*

1. *Zuurgraad en in verband hiermede vermenging met andere middelen.*

Verhooging van de pH gaat gepaard met een vermindering van de ovicide werking (tabel VI en DIERICK, hfdst. III, § 1c). De spuit- of schudvloeistof, bereid van de zouten van d.n.c., heeft bij een sterkte van 0,25 % d.n.c. een pH van plm. 8, welke pH bij verdunning slechts weinig verandert (tabel IV). Gaat men uit van een handelspraeparaat, dat vrij d.n.c. (zuur) bevat, dan verkrijgt men bij een sterkte van 0,25 % een oplossing met een pH van plm. 4, welke pH bij verdunning snel toeneemt (tabel III).

TABEL VI

*Werking van $\frac{1}{4}$ % Nitroleum
bij verschillenden zuurgraad*

pH	% dooding
4	100
6	88

Datum van behandeling 11 Februari. Datum
van controle 17 Februari. Aantal eieren 100.

Vermenging van d.n.c. met andere middelen is mogelijk, mits de componenten geen chemische verbindingen vormen en eventuele verhooging van de pH der spuitvloeistof geen belangrijke vermindering van de ovicide werking ten gevolge heeft.

a. Vermenging d.n.c. met Gesarol ter gelijktijdige bestrijding van bladluis, wintervlindereieren enz. en van den appelbloesemkever.

Beide verbindingen werken niet op elkaar in, terwijl vermenging geen verandering van den zuurgraad ten gevolge heeft, zoodat de praeparaten zonder bezwaar gecombineerd verspoten kunnen worden.

b. Vermenging d.n.c. met koperbevattende praeparaten.

Bordeauxsche pap veroorzaakt in het bijzonder bij een oplossing, die d.n.c. als vrij zuur bevat, verhooging van den zuurgraad en vermindering van de ovicide werking. In verband hiermede moet het vermengen van Bordeauxsche pap en d.n.c.-praeparaten ontraden worden.

Koperoxychloriden geven geen belangrijke pH-verhoging. Weliswaar kan eenige vermindering van de ovicide werking optreden, doch dit bezwaar zal men onder bepaalde omstandigheden, b.v. wanneer ten gevolge van de weersomstandigheden de winterbespuitingen tot een laat tijdstip uitgesteld moeten worden (voorjaar 1944 en 1946), gaarne op den koop toe nemen.

2. *Invloed van de temperatuur van de omgeving.*

Op 30 November en 28 Februari werd een aantal eieren met verschillende d.n.c.-praeparaten behandeld en daarna bij verschillende temperaturen bewaard.

a. in een thermostaat bij 22 °C.

b. in een vertrek bij 8–12 °C.

c. buiten (in schalen op den grond).

Nagegaan is het aantal dagen, dat noodig was om 100 % der eieren bij de verschillende temperaturen te doen coaguleeren.

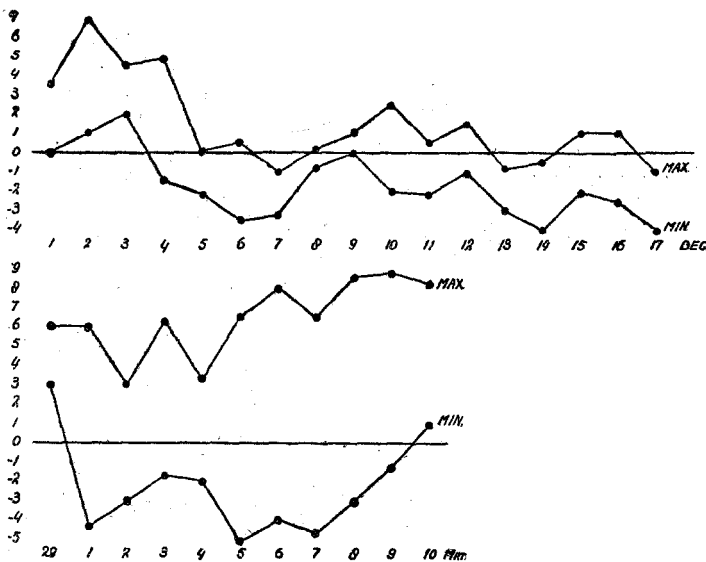
TABEL VII

*Aantal dagen, waarin 100 % der eieren is gecoaguleerd
na behandeling met verschillende d.n.c-producten. Eieren bij verschillende temperaturen bewaard*

	%	datum v. behand.	22 °C.	8—12 °C.	buiten ₉	% dooding van buiten bewaarde eieren	
						na 11 dg	na 17 dg
NH ₄ -cresolaat . .	$\frac{1}{4}$	30 Nov.	1	2	> 17	—	96
NH ₄ -cresolaat . .	$\frac{1}{4}$	28 Febr.	—	3	> 11	82	—
NH ₄ -cresolaat . .	$\frac{1}{8}$	28 Febr.	—	3	> 11	64	—
Na-cresolaat . . .	$\frac{1}{8}$	30 Nov.	1	2	> 17	—	98
Nitroleum	$\frac{1}{2}$	30 Nov.	1	2	> 17	—	94
Nitroleum	$\frac{1}{2}$	28 Febr.	—	4	> 11	70	—
Nitroleum	$\frac{1}{4}$	28 Febr.	—	4	> 11	32	—
Detal	$\frac{1}{2}$	30 Nov.	1	2	17	—	100

Het verloop der coagulatie is dagelijks nagegaan bij ten minste 50 eieren per object.

Het verloop der maximum- en minimum-temperaturen buiten, gedurende de perioden, waarin de eieren werden geobserveerd, is in grafiek IV voorgesteld.



Grafiek IV. Het verloop van de maximum- en minimum-temperatuur 1 cm boven den grond van 1—17 December 1943 en van 29 Februari—10 Maart 1944

Bij de buiten bewaarde eieren blijkt resp. na 11 en 17 dagen nog geen volledige coagulatie te zijn opgetreden. In de rechter twee kolommen van tabel VII wordt het percentage dooding aangegeven, dat resp. na 11 en 17 dagen is bereikt.

Bij de reeks, die op 30 November werd ingezet, bedroeg de blancodooding na 30 dagen 5 %, bij die welke op 28 Februari is ingezet, was de blancodooding na 11 dagen 0 %.

Uit de tabel volgt, dat de temperatuur, waaraan de eieren na de behandeling

worden blootgesteld, een zeer grooten invloed op de werking van d.n.c.-praeparaten uitoefent. *Hoe hooger temperatuur na de behandeling, hoe sneller dooding en in verband met de mogelijkheid van afregenen en verdampen des te zekerder werking.*

Deze kwestie is ook voor de practijk van groot belang. De betere werking, die men vaak aan late d.n.c.-bespuitingen (eind Maart) toekent, moet naar onze meening vnl. aan den invloed van de temperatuur, die eind Maart–begin April meestal hooger is dan in de periode daarvoor, worden toegeschreven.

Late bespuitingen, doch in ieder geval vóór het uitkomen der eieren, verdienen in verband met de dan heerschende hoogere temperatuur meer aanbeveling dan bespuitingen op koude, gure dagen, vroeger in het seizoen.

3. Invloed van de temperatuur van de oplossing, waarmee de eieren behandeld worden.

Op 14 December is een aantal eieren met d.n.c.-praeparaten van verschillende temperatuur behandeld en daarna bij gelijke temperatuur (12 °C) bewaard. Nagegaan is het aantal dagen, dat noodig was om 100 % der eieren te doen coaguleeren.

TABEL VIII

*Aantal dagen, waarin 100 % der eieren is gecoaguleerd
na behandeling met verschillende d.n.c.-oplossingen van verschillende temperatuur*

	%	temperatuur schudvloeistof		
		2 °C	12 °C	22 °C
NH ₄ -cresolaat	$\frac{1}{4}$	2	3	2
Na-cresolaat	$\frac{1}{8}$	2	2	4
Nitroleum	$\frac{1}{2}$	3	2	3
Detal	$\frac{1}{2}$	2	3	2

Het verloop der coagulatie is dagelijks nagegaan bij ten minste 50 eieren per object.

Het aantal dagen, waarna resp. bij 2, 12 en 22 °C coagulatie optreedt, bedraagt:

$$2,25 \pm 0,25$$

$$2,5 \pm 0,4$$

$$2,75 \pm 0,5 \quad t_1 = 0,7, \quad t_2 = 0,4, \quad t_3 = 0,9$$

Aangezien $t < 3$, liggen de verschillen binnen de foutengrens, waaruit is af te leiden, dat de temperatuur van de vloeistof geen invloed op de toxische werking van d.n.c.-praeparaten uitoefent.

De blancodooding bedroeg bij de verschillende temperaturen gemiddeld $4,7 \pm 2,4\%$ ($n = 3$).

4. Invloed van een nabehandeling met water („afregenen”) op de toxische werking van d.n.c. en v.b.c.

Op 28 Februari is een aantal eieren met verschillende d.n.c.-praeparaten en met v.b.c. behandeld. Nadat de takjes met eieren waren opgedroogd, zijn zij een half uur in water gedompeld, dat af en toe geschud werd. De onderdompeling had plaats op verschillende tijdstippen na de behandeling met het praeparaat.

serie 1: $\frac{1}{2}$ uur na de behandeling met het praeparaat

serie 2: 4 uur na de behandeling met het praeparaat

serie 3: 23 uur na de behandeling met het praeparaat

serie 4: na de behandeling met het praeparaat niet met water geschud.

Door deze bewerkingen werd getracht een indruk te verkrijgen van den eventueelen invloed, die het afregenen in de practijk op de werking van het praeparaat kan hebben.

Nagegaan is het aantal dagen, dat noodig was om 100 % der eieren te doen coaguleeren.

A. D.n.c.

TABEL IX

Aantal dagen, waarin 100 % der eieren coaguleerde na onderdompeling in water op verschillende tijdstippen

	%	serie 1		serie 2		serie 3	serie 4
		aantal dagen	% dooding na 11 dg	aantal dagen	% dooding na 5 dg	aantal dagen	
NH ₄ -cresolaat . .	$\frac{1}{4}$	> 11	37	> 5	90	3	3
Nitroleum	$\frac{1}{2}$	> 11	16	> 5	90	3	4
Detal	$\frac{1}{2}$	> 11	39	4	100	3	3

Het verloop der coagulatie is dagelijks nagegaan bij ten minste 50 eieren per object.

Uit de tabel volgt, dat 11 dagen na de $\frac{1}{2}$ -urige waterbehandeling een half uur na het schudden met het toxicans (serie 1) slechts een geringe dooding (16-39 %) optrad, zoodat wij het waarschijnlijk achten, dat in dit geval de uiteindelijke dooding onvoldoende was.

De invloed van de waterbehandeling blijkt zich volgens de tabel uit te strekken tot ten minste 4 uur na de behandeling met het praeparaat.

Naar aanleiding van deze resultaten zetten wij 21 Maart een nieuwe proef in om den invloed na te gaan van een $\frac{1}{2}$ -urige waterbehandeling resp. $\frac{1}{2}$, 1, 2, 3 en 4 uur na de behandeling met d.n.c. (NH₄-cresolaat $\frac{1}{4}$ %, Nitroleum $\frac{1}{2}$ %, Detal $\frac{1}{2}$ %, Dinitol 1 %). In alle gevallen werd het effect der d.n.c.-behandeling door de onderdompeling in water gedeeltelijk te niet gedaan, zoodat een onvoldoende dooding werd bereikt.

B. V.b.c.

TABEL X

Werkling van 6 % v.b.c na onderdompeling op verschillende tijdstippen

	serie 1	serie 2	serie 3	serie 4
	% dooding			
v.b.c. 6 %	26	48	59	63

Datum van behandeling 28 Februari, dooding is na een maand bepaald bij 200 eieren per serie. Voor de afzonderlijke series zij naar het onder A vermelde verwezen.

Ook bij behandeling met v.b.c. blijkt de invloed van onderdompeling in water gedurende een half uur zich uit te strekken tot ten minste 4 uur na de behandeling.

Conclusies uit bovenstaande waarnemingen.

1. Het effect van het middel kan verloren gaan ten gevolge van onderdompeling in water, ook wanneer de spuit- of schudvloeistof reeds geheel is opgedroogd.

2. De invloed van onderdompeling kan zich ten minste 4 uur na de behandeling met d.n.c. of v.b.c. uitstrekken.

Wij leiden hieruit af, dat, indien een bespuiting met v.b.c. of d.n.c. binnen enkele uren wordt gevolgd door een flinke regenbui, het toxisch effect van de middelen, ook wanneer de takken reeds geheel zijn opgedroogd, verloren kan gaan. Over hoeveel uur na de behandeling zich de invloed van een zoodanig afregenen uitstrekt, zal echter van vele factoren afhangen en zal d.m.v. veldproeven moeten worden bepaald.

§ 7. Verschil in werkzaamheid tusschen verschillende praeparaten

A. D.n.c.

1. Verschil NH_4 - en Na-dinitro-cresolaat.

Om dit verschil te bepalen zijn op verschillende data proeven genomen met beide zouten in verschillende concentraties.

TABEL XI

Werking NH_4 - en Na-cresolaat
in lage concentraties bij gelijke pH: 7,7-7,8

d.n.c.-gehalte	% dooding		n
	NH_4 cres.	Na cres.	
0,025	$88 \pm 7,8$	$88 \pm 6,6$	5
0,01	$50 \pm 10,2$	$52 \pm 11,9$	5
0,005	$19 \pm 10,1$	$12 \pm 2,5$	5
0,0025	$4 \pm 1,2$	$6 \pm 1,0$	4

De behandelingen zijn uitgevoerd op 19 October, 18 December, 14 Januari, 18 Februari en 24 Maart. De controle had steeds plaats 6 dagen na de behandeling bij 150 eieren per object.

Uit de tabel blijkt, dat wij bij de eieren van *Doralis pomi* (in tegenstelling tot meelmoteieren, zie DIERICK, hfdst IV, § 1) geen verschil in werkzaamheid tusschen NH_4 - en Na-cresolaat konden vaststellen.

De zuurgraad liep bij deze proeven zeer weinig uiteen. Zij varieerde van 7,7-7,8.

De blancodooding bedroeg zes dagen na de behandeling $2 \pm 0,4\%$ ($n = 5$).

2. Belangrijke verschillen tusschen de werking van andere d.n.c.-praeparaten (Detal, Dinitol, Fahlberg en Selinon) ter sterkte van 0,25 % d.n.c. in de schudoplossing en in evenredig lagere concentraties, namen wij op eieren van *Doralis pomi* evenmin waar (grafieken I en II).

Mede op grond van praktijkproeven meenen wij te kunnen concludeeren, dat, wat hun werking betreft, de hier genoemde d.n.c.-praeparaten (mits de spuitvloeistof 0,25 % d.n.c. bevat) een vrijwel even gunstig resultaat geven.

B. V.b.c.

Verschil in werkzaamheid tusschen gewoon en geëmulgeerd v.b.c.

Gewerkt is met een tweetal merken geëmulgeerd v.b.c., nl. Abolin en Geëmulgeerd v.b.c. Krimpen (§ 3).

Uit de genomen proeven is gebleken, dat de werking van beide praeparaten iets ten achter staat bij die van gewoon v.b.c. In verband hiermede is door den Plantenziektenkundigen Dienst aangeraden het in den winter 1943-1944 in den handel zijnde geëmulgeerd v.b.c. ten minste even sterk, doch bij voorkeur een weinig sterker dan gewoon v.b.c. te verspuiten.

De in de praktijk volgens het laatste advies verrichte bespuitingen hebben zeer goede resultaten opgeleverd.

Behalve genoemde middelen is nog een vrij groot aantal andere praeparaten onderzocht, welke voor een deel onvoldoende werkzaam bleken en om deze reden niet in den handel zijn gebracht.

Tenslotte dient nog vermeld te worden, dat deze wijze van onderzoek niet zonder meer uitsluitel geeft omtrent de quantitatieve werking van diverse oviciden in het veld. Door vergelijking van een middel, waarvan de werking moet worden onderzocht, met een middel, dat op dezelfde basis (b.v. v.b.c.-basis, d.n.c.-basis of een andere bekende basis) is samengesteld, doch reeds in de praktijk deugdelijk is gebleken, is het mogelijk gegevens te verkrijgen over de onderlinge verhouding van de werking van beide middelen. Het is hierdoor mogelijk de werkzaamheid van een onbekend praeparaat te beoordelen. Aangezien bij deze proeven de middelen in verschillende percentages onderling worden vergeleken, geeft deze methode van onderzoek tevens een aanwijzing voor de sterkte, waarin een nieuw middel in de praktijk gebruikt zal kunnen worden.

Om deze reden is de methode dan ook zeer geschikt om de werkzaamheid van nieuwe praeparaten, welke op bekende basis zijn samengesteld, te onderzoeken. Dit is in de afgelopen jaren in opdracht van verscheidene fabrikanten geschied. Aangezien de resultaten van dit onderzoek geheim zijn, kan hierop niet verder worden ingegaan.

Daar we echter in het laboratorium de omstandigheden, die zich in de praktijk voordoen, niet ten volle kunnen nabootsen en de werking van de middelen daarbij toetsen, terwijl we meestal ook niet kunnen overzien hoe de factoren, waarmee we buiten te doen hebben, de werking kunnen beïnvloeden, blijven veldproeven met de nieuwe middelen noodzakelijk en geven eerst deze ons absolute zekerheid over de bruikbaarheid van een nieuw middel.

In sommige gevallen (b.v. bij onbekende of minder gemakkelijk vergelijkbare middelen) zal men de in het laboratorium verkregen resultaten niet direct voor de praktijk kunnen gebruiken. Zijn in deze gevallen volgens de hier behandelde methode de noodige aanwijzingen omtrent de werkzaamheid verkregen, dan dient het middel alsnog eerst in de praktijk getoetst te worden, alvorens een definitieve uitspraak over de deugdelijkheid kan worden gedaan.

(Wordt vervolgd)

RÉSUMÉ DE LA PREMIÈRE PARTIE

Une mode a été effectuée avec laquelle il est possible de constater microscopiquement le résultat de dinitro-crésol (d.n.c.) et carbolinéum à oeufs de *Doralis pomi* de G.

Par cela il est possible d'obtenir après 4 à 6 jours une opinion de l'effet de d.n.c.-préparations et concernant l'effet de carbolinéum après un mois.

Il se trouve ensuite de l'expérimentation que les oeufs de *Doralis pomi* sont sensibles aux d.n.c.-préparations au même degré pendant tout l'hiver.

Il se trouve que la sensibilité à carbolinéum change pendant l'hiver; elle est le

moins de demi novembre jusqu'à demi janvier ce qui est rattaché possiblement en rapport avec petits échanges vitaux de l'oeuf dans cette période (diapause).

Augmentation du degré d'acide de la d.n.c.-solution cause un effet ovicide diminué. On doit en tenir compte près en mélangeant d.n.c. avec d'autres préparations.

La température à laquelle les oeufs sont exposés après les traitements avec d.n.c. est d'un intérêt important. Plus la température est haute, plus la mort est vite, plus l'effet est certain. Pour cette raison traitements avec d.n.c. sont à préférer à la fin de l'hiver.

La température (2°, 12°, 22° C) du liquide, dont les oeufs sont traités, n'a pas d'influence sur l'effet du d.n.c.

Pour constater l'influence de „pleuvoir” les oeufs de *Doralis pomi* sont submergés dans l'eau à des temps fixés après le traitement avec carbolinéum ou d.n.c.

Il se trouve qu'une influence préjudiciable de submersion pendant une demi-heure s'étend jusqu'à 4 heures au moins après le traitement avec d.n.c. ou carbolinéum.

Pas de différence d'effets a été constatée avec *Doralis pomi* oeufs entre NH_4 cres. et Na cres.

La méthode d'examen est usée dans les laboratoires du Service Phytopathologique à Wageningen pour obtenir vite une opinion à l'effet de plusieurs d.n.c.-et carbolinéum- préparations.

SUMMARY OF PART I

A method has been worked out which enables us to state microscopically the effect of dinitro-cresol (dnc) and taroil winterwash on eggs of *Doralis pomi* DE G.

This method makes it possible to acquire after 4 or 6 days an insight in the effect of dnc washings and after a month regarding the effect of taroil.

From our laboratory tests it is evident that eggs of *Doralis pomi* are sensitive for dnc in the same grade during all the winter. It has been proved that the sensitivity for taroil changes during the winter; it is the lowest from the middle of November until the middle of January which may be connected with the metabolism of the eggs during this period (diapause).

Increase of the acidity of a dnc solution causes a decreased ovicide effect. It is necessary to take this into account when mixing dnc with other washings.

The temperature to which the eggs are exposed, after being treated with dnc washings, is of great importance. The higher the temperature, the sooner the killing occurs and the most certain the effect is. For this reason dnc late winter-washings are to be preferred.

The temperature (2°, 12°, 22° C) of the liquid by which the eggs are treated has no influence upon the effect of dnc.

At certain times after treatment with taroil or dnc, eggs of *Doralis pomi* have been submerged in water to control the influence of rain. A disadvantageous influence of a halfhour's submersion proves to extend for at least 4 hours after treatment with taroil or dnc.

With regard to *Doralis pomi* eggs no difference in effect was stated between NH_4 cres. and Na cres.

To acquire a quick insight with regard to the effect of various dnc and taroil preparations, the described research method is adopted by the laboratory of the Phytopathological Service at Wageningen.

LITERATUUR

- BÖHMEL, W. en O. JANCKE, 1942. Beitrag zur Embryonalentwicklung der Winter-eier von Aphiden. Zeitschr. angew. Ent. Bd XXIX, Heft IV.
- BREAKEY, E. P. en A. C. MILLER, 1935. A method for comparing the ovicidal properties of contact insectides. Journ. econ. Ent. 28, 353-358.
- BRÉNY, R., 1938. Détermination de la vitalité des oeufs de puceron dans l'étude du pouvoir ovicide des produits insecticides. Bull. de l'Inst. Agron. et des Stat. de Rech. de Gembloux VII, 3, 276-281.
- DIÉRIK, G. F.-E. M., 1942. De ovicide werking van wintersproeimiddelen bestudeerd in het laboratorium. Acad. proefschr., Amsterdam.
- KUENEN, Dr D. J., 1943. Onderzoek naar den invloed van vruchtboomcarbo-lineum en aardolieëmulsie op de eieren van appelbladluis en spint. Versl. en wetensch., Med. v. d. Afd. Toegep. Ent. Tijdschrift Ent. LXXXV, T. 11.
- MORITZ, J., 1893. Beobachtungen und Versuche betreffend die Reblaus, Phylloxera vastatrix Pl. und deren Bekämpfung. Arb. aus dem Kaiserl. Gesundh. amt, 8, 507-577.
- TOTH, L., 1933. Über die frühembryonale Entwicklung der Aphiden. Zeitschr. Morph. u. Ökol. d. Tiere 27, 632-731.
- WIESMANN, Dr R., 1941. Untersuchungen über den Zeitpunkt der Winterspritzung. Schweiz. Zeitschr. Obst- und Weinb., Jahr 50, Heft 10.
- , 1942. Weitere Untersuchungen über die Winterspritzung der Obstbäume. Schweiz. Zeitschr. Obst- und Weinb., Jahr 51, 110-124.

Fig. 1-5.

Microfoto's stukgedrukte eieren
van *Aphis (Doralis) pomi* d. G.

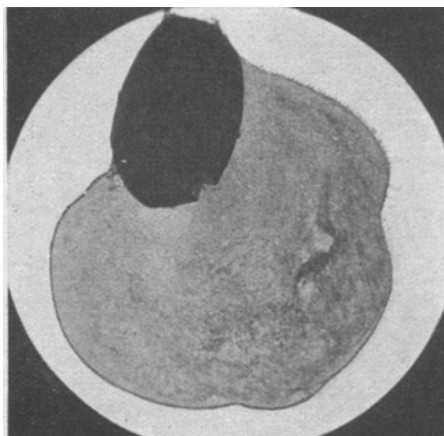


Fig. 1.
Beeld stukgedrukten levenden ei-inhoud
zonder embryonale ontwikkeling

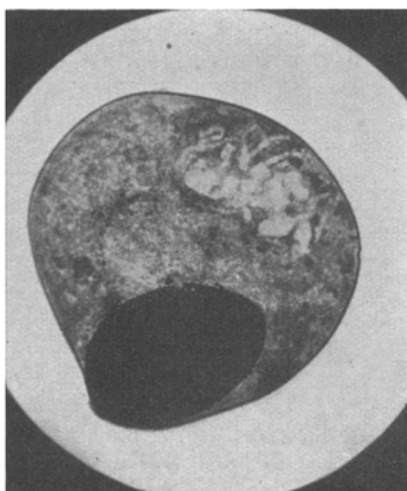


Fig. 2.
Beeld stukgedrukten levenden ei-inhoud
met ontwikkeling embryo

Fig. 3.
Beeld ei-inhoud na behandeling met
azijnaether

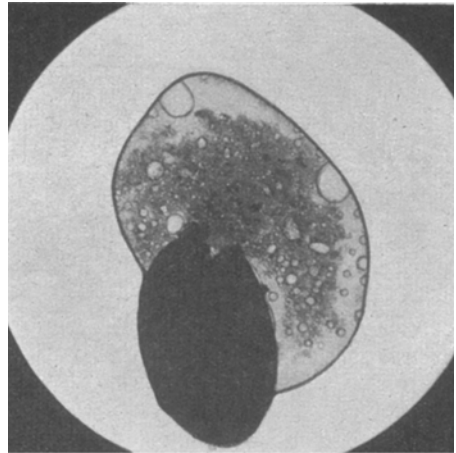


Fig. 4.
Beeld ei-inhoud na behandeling met
d.n.c.



Fig. 5.
Beeld ei-inhoud na behandeling met
v.b.c.

