

B. Summer-spray

0,75 % wettable sulphur (Thiovit), applied at the beginning of May, gives a good result against the raspberry mite (see Table 1). 0,2 % parathion is much less effective. Earlier investigations (VAN DINTHER, 1951) have shown that the mite does not cause serious injury to raspberries, but it is not impossible that it may act as a virus-vector, as MASSEE has shown for *Eriophyes ribis* NAL.

The following insecticides have been tested against the nut gall mite, *E. avellanae*: 0,05 % parathion (Folidol E 605, concentrated), 2 % wettable sulphur (Thiovit) and 2 % lime sulphur. A scheme of 3 or 5 treatments during spring was followed. The first spray was applied on May 16 and the last on June 20. By the end of June all filbert shrubs were inspected and the results are shown in Table 2. Parathion proved of little value; 3 treatments of lime sulphur or wettable sulphur gave a better mite reduction. 5 treatments with Thiovit gave an especially good result.

Good control can be obtained only if penetration of the mites into the young buds is prevented. As mite migration starts about the middle of May and continues till the end of June, it is obvious that several spray treatments (preferably at least 5) are necessary in order to obtain good results. Thiovit has a residual effect lasting about 7 days, depending on climatic conditions. In practice a combination of pruning and spraying is recommended.

LITERATUUR

- BEYERINCK, W., - 1951. Hazelnotentelt (Filbert culture). Med. Dir. v.d. Tuinbouw 14: 513-522.
DINTHER, J. B. M. VAN, - 1951. *Eriophyes gracilis* Nal., als verwekker van gele bladplekken op framboos. (*Eriophyes gracilis* Nal. and yellow leaf spots on raspberry). T. Pl.ziekten, 57 : 81-94.

EEN NIEUWE METHODE VOOR DE BEPALING VAN DE VATBAARHEID VAN ROGGEPLANTEN VOOR AANTASTING DOOR STENGELAALTJES (*Ditylenchus dipsaci* (KÜHN) FILIPJEV) ¹⁾

DOOR

Dr J. W. SEINHORST

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.), Wageningen

Symptomen van „reup” (aaltjesziekte) kunnen opgewekt worden bij roggeplanten van verschillende ouderdom door aaltjes tussen de bladscheden aan de voet van de planten te brengen (SEINHORST, 1945). Tevens vindt men in rassen, die te velde in belangrijke mate resistent blijken te zijn een aantal planten, die ook na herhaaldelijk op bovengenoemde wijze geïnoculeerd te zijn geen symptomen van aaltjesaantasting gaan vertonen. Hiermee is dus de mogelijkheid gegeven om de vatbaarheid van roggeplanten voor aantasting door stengel-aaltjes te onderzoeken en met behulp van dit onderzoek het kweken van een resistent ras te beproeven.

Aanvankelijk werden de te onderzoeken planten te kiemen gelegd in kistjes

¹⁾ Ontvangen voor publicatie, Mei 1952.

met grond. Zodra de kiemplanten ongeveer 3 cm lang waren werden de aaltjes er met een platte naald ingebracht.

Aan deze methode bleken echter verschillende bezwaren te kleven, zodra ze voor seriewerk werd toegepast, waarbij toch een grote mate van zekerheid werd geëist. Het percentage geslaagde inoculaties bleef te klein, de beoordeling der planten was, vooral als deze wat ouder waren, te moeilijk en het was niet mogelijk de gegevens van elke plant afzonderlijk te administreren, daar hiervoor elke plant van een etiket voorzien moest worden, wat vrijwel onuitvoerbaar bleek te zijn. Een nieuwe methode, die aan al deze bezwaren tegemoet kon komen, sneller werken mogelijk maakte en minder plaatsruimte vergde, werd daarom ontworpen. De methode, die door BINGFORS (1950) toegepast werd voor het onderzoek naar de vatbaarheid van rode klaver voor aantasting door stengelaaltjes en waarbij de plantjes op filtreerpapier gekweekt worden, was de aanleiding tot het ontwerpen van de hieronder beschreven methode.

HET TE KIEMEN LEGGEN EN OPKWEKEN DER ROGGEPLANTEN

In plaats van in grond worden de roggekorrels te kiemen gelegd in stroken filtreerpapier van $8 \times 16 \text{ cm}^2$ en ruim 2 mm dik. Een grotere dikte is misschien beter, maar zulk materiaal was in Nederland niet te krijgen. Op deze stroken worden twintig evenwijdige lijntjes op een afstand van 8 mm van elkaar, genummerd 1 tot 20 en op 2 cm van de rand van het papier verbonden door een lijn, gestempeld (zie fig. 2). De afstand der lijntjes is vrij willekeurig. Men kan ze ook wijder van elkaar plaatsen. Met een beitel van $\pm 1,5 \text{ cm}$ breedte worden op de plaats der evenwijdige lijntjes sneden gemaakt tussen 0,5 en 2 cm van de bovenrand van het papier. Wanneer de beitel zeer scherp is en het schuine deel ervan lang genoeg, kunnen vijf tot zeven papierstroken tegelijk doorgestoken worden. Voor het leggen van de korrels wordt nu een strook met de cijfers naar beneden en de bovenrand naar rechts gelegd en met een fijn straaltje water op de plaats van de sneetjes bevochtigd. De korrels worden opgepakt met een pincet met platte punten, waarin aan de binnenkant in de lengterichting gleuven gevijld zijn. Hierdoor kunnen de korrels stevig vastgepakt worden. Ze worden zo in de pincet genomen, dat de gleuf in de korrel aan de bovenzijde komt en de scherpe punt naar links buiten de pincet wijst (fig. 1). Door het bevochtigen is het papier wat zachter geworden, zodat de korrel er gemakkelijk ingeschoven kan worden. Is deze op de juiste wijze in het papier gebracht dan steekt alleen de spitse punt iets uit (fig. 2). De kiem ligt aan de bedrukte zijde van het papier. Bij het kiemen groeien de worteltjes naar beneden en het coleoptiel naar boven, evenwijdig aan het papier, wanneer dit verticaal geplaatst wordt. Aan de bedrukte zijde wordt nu een tweede stuk dik of een aantal velletjes dun filtreerpapier tegen de strook papier met de korrels gelegd. Het geheel wordt gedompeld in een voedingsoplossing volgens KNOPP, die 0,5 g Aretan per l bevat, om schimmelmicrobiële groei op het papier te voorkomen. Ook door een oplossing, die 1 gram Aretan per liter bevatte, bleken de roggeplanten nog niet beschadigd te worden als tenminste het zaad zelf niet reeds ontsmet was met een droogontsmetter. Echter ook met geringere concentraties werd schimmelmicrobiële groei in de regel afdoende bestreden.

De bevochtigde papierstrook wordt in een metalen houder gelegd en rechtop in een bakje met waterdichte bodem gezet. Aluminium van 0,3 mm dikte bleek



FIG. 1. Het insteken van de korrels in een papierstrook.
Putting the grains in a filter paper pad.

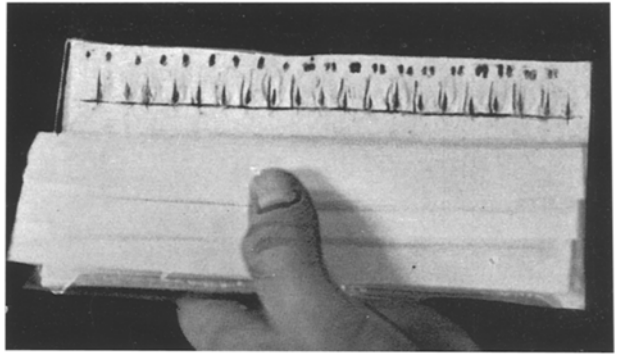


FIG. 2. Papierstrook met korrels in aluminium houder.
Filter paper pad with grains in aluminium holder.

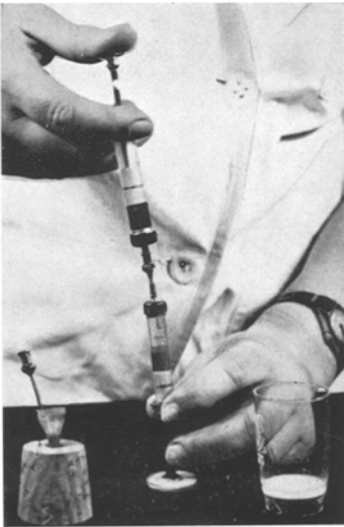


FIG. 3. Het vullen van de injectiespuit met de aaltjessuspensie.
Filling the hypodermic syringe with the eelworm suspension.



FIG. 4. Inoculatie van rogge kiemplanten.
Inoculation of rye seedlings.



FIG. 5. Petkuser planten 4 weken na inoculatie en bijbehorend aantekenformulier. o = geen symptomen; x = verdacht; * = duidelijke symptomen; • = hevig aangetast.

Seedlings of the variety Petkus 4 weeks after inoculation and form with notes on sowing, inoculation and degree of attack of these plants.

*o = no symptoms; x = suspected plants; * = distinct symptoms; • = heavily attacked.*

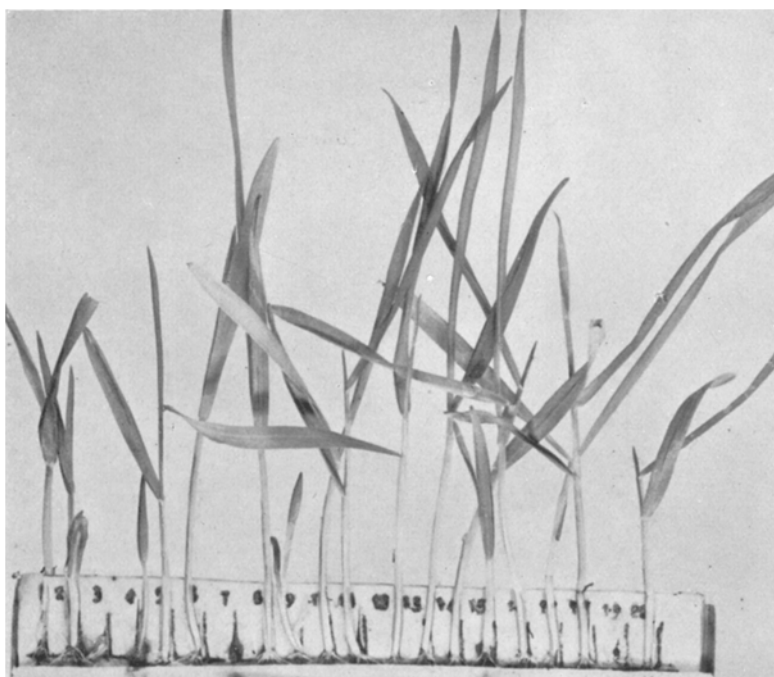


FIG. 6. Rogge kiemplanten drie weken na inoculatie met carboxymethylcellulose-oplossing zonder aaltjes.

Rye seedlings three weeks after inoculation with carboxymethylcellulose solution, but without eelworms.

heel geschikt te zijn voor het maken van deze houders. Zink kan ook gebruikt worden, maar het moet goed gelakt worden, daar anders beschadiging van de planten niet uitgesloten is. Op deze wijze konden gemakkelijk 40 rekjes met tezamen 800 planten in een bakje van 18×50 cm geplaatst worden, terwijl dit kistje slechts 100 planten kon bevatten, wanneer het gevuld was met grond. Water wordt gegeven door geregeld een kleine hoeveelheid in de bakken te gieten, waaraan een spoortje Fe Cl_3 is toegevoegd om geel worden van de planten te voorkomen. De planten konden dan gemakkelijk anderhalve maand op de papierstroken aan de groei gehouden worden.

HET AALTJESMATERIAAL

De aaltjes worden verkregen uit aangetaste rogge, die op besmette velden verzameld wordt of uit bieten, die geïnoculeerd worden met stengelaaltjes uit rogge. Reupzieke rogge kan al gevonden worden vanaf begin November. Deze bleek echter niet geschikt te zijn voor het leveren van aaltjes. Gedurende de gehele winter tot begin Mei werden in deze planten wel vrij veel aaltjes gevonden, maar dit waren steeds grotendeels volwassen exemplaren. Het bleek, dat deze niet met de trechtermethode of het sproeiapparaat (SEINHORST, 1950) uit de planten afgescheiden konden worden, ook niet nadat ze gedroogd waren. In de grond komen deze aaltjes wel vrij, wat bleek uit de zeer grote aantallen ♂♂ en ♀♀ (± 1 per g grond), die begin Mei in de bouwvoor werden gevonden op een reupplek, maar de zwaar aangetaste planten rotten daar ook snel geheel weg. Eind April kwamen in te velde verzamelde planten grote aantallen eieren voor en midden Mei, wanneer de rogge gaat doorschieten, werden steeds grote aantallen larven gevonden, die wel met het sproeiapparaat afgescheiden en verzameld konden worden. Vanaf midden Mei tot eind Juni (begin van afrijpen van de rogge) kon geschikt materiaal verzameld worden. Dit werd steeds voorzichtig gedroogd en daarna gehakseld. Het kon dan vrij goed bewaard worden. Dadelijk na het hakselen werd begonnen met het afscheiden van de aaltjes, die gereinigd, gedroogd en koel bewaard werden. Dit bleek een groter rendement te geven, dan extractie van het bewaarde gedroogde materiaal, wanneer de aaltjes nodig waren. Vermoedelijk blijft het stro niet droog genoeg om de aaltjes lang in leven te houden en is ook de temperatuur wat te hoog voor een goede bewaring. Uit dezelfde gewichtshoeveelheid gedroogde aangetaste rogge bleken vlak na het verzamelen vaak 5 tot 10 maal zoveel aaltjes te voorschijn te komen als een jaar later, terwijl koud bewaarde aaltjes in die tijd weinig van hun vitaliteit verloren bleken te hebben.

Het verzamelen van aangetaste rogge is echter vrij kostbaar en daarom werd gezocht naar een methode om de aaltjes te kweken. Dit bleek goed mogelijk te zijn in voederbieten. Per biet worden ongeveer 20 inoculaties gegeven door een aaltjessuspensie in carboxymethylcellulose met een injectiespuit (zie beneden) in gaatjes van 2 mm doorsnede en 5 mm diepte te brengen. De gaatjes worden afgesloten met paraffine. Na 6-8 maanden is de biet door en door aangetast en bevat zeer grote aantallen aaltjes.

DE INOCULATIE

Aan de oude inoculatiemethode, waarbij met een platte naald eerst een sneetje in de plant werd gemaakt en daarna met dezelfde naald de aaltjes in dit sneetje

gebracht werden, bleken een aantal bezwaren te kleven. In de eerste plaats werkte deze methode vrij langzaam en in de tweede plaats was het niet altijd gemakkelijk de aaltjes goed in de planten te brengen. Daarom werd een methode ontwikkeld, waarbij met een injectiespuit de aaltjes op de gewenste plaats in de roggeplanten gebracht konden worden. Dit is zeer moeilijk, wanneer de aaltjes in water gensspendeerd zijn. Ze bezinken en verstoppen de naalden. Carboxymethylcellulose tot de juiste concentratie in water opgelost (nog juist vloeibaar) bleek een zeer geschikt materiaal te zijn om er de aaltjes in te suspenderen. Het is in poedervorm verkrijgbaar en kan gemakkelijk in water opgelost worden. Voor het mengen van de aaltjes met de carboxymethylcellulose wordt een trechtervormig uitgetrokken buisje van $\pm 1\frac{1}{2}$ cm³ inhoud gebruikt dat in een kurk gestoken wordt om het rechtop te houden (zie fig. 3).

De aaltjes, die te voren opgeweekt, goed levendig en vrij van grof vuil of draadjes moeten zijn, omdat anders de injectienaalden verstopt raken, worden op een fijn glasfilter (bv. Schott. G 3) drooggezogen. In het buisje wordt daarna aan $\pm 0,7$ cm³ carboxymethylcellulose-oplossing $\pm 0,3$ cm³ drooggezogen aaltjes toegevoegd. Dit komt neer op ± 150.000 aaltjes per cm³. Aaltjes en carboxymethylcellulose worden zo goed mogelijk gemengd; de suspensie wordt met een druppel methyleenblauw of gentiaanviolet gekleurd en dan door een wijde naald (1 mm) in een injectiespuit (van 1 cm³) gezogen. Door het trechtervormige bakje kan gemakkelijk de laatste druppel nog opgezogen worden.

Bij de inoculatie mag geen lucht in de spuit aanwezig zijn, daar deze bij het indrukken van de zuiger samengeperst zou worden, wanneer de punt van de naald in de plant steekt en de suspensie naar buiten zou persen, wanneer de naald uit de plant getrokken wordt. De volgende bewerking is nodig om een injectiespuit met suspensie te vullen zonder lucht in te sluiten: Op de gevulde spuit wordt een naald no 14 gezet. Een tweede spuit wordt met uitgetrokken zuiger met de opening naar boven gezet. De naald van de eerste spuit wordt hierdoor naar binnen gestoken en de suspensie wordt voorzichtig uitgeperst terwijl zo gemanoeuvreed wordt, dat niet opnieuw lucht ingesloten wordt (zie fig. 3).

Voor het inoculeren worden zeer nauwe naalden (no 18) gebruikt. De naalden moeten zeer scherp zijn, daar botte op de taaie planten afglijden en bij het insteken ernstiger beschadigingen teweegbrengen dan scherpe.

Bij het inoculeren wordt de naald evenwijdig aan de kiemplant gehouden met de punt in de richting van de worteltjes wijzend en $\pm 0,5$ cm boven de worteltjes in het hypocotiel gestoken (fig. 4). De naald moet daarbij zo gedraaid worden, dat, wanneer deze boven de plant is, de opening naar links of naar rechts wijst. Op deze wijze wordt een snede evenwijdig aan de nerven gemaakt, terwijl bij een andere stand van de naald veel meer nerven doorgesneden worden, wat een ernstige beschadiging van de plant betekent.

De punt van de naald wordt tot onder in de plant gedrukt, daarna wordt een druppeltje aaltjessuspensie uitgeperst en de naald wordt teruggetrokken. Doordat de suspensie gekleurd is, kan men deze in de plant waarnemen en zo controleren of er werkelijk wat ingekomen is. De dosering is met een gewone injectiespuit vrij moeilijk. De druk, die men op de zuiger moet uitoefenen, varieert van plant tot plant vrij sterk. Daarom werd overgegaan tot het gebruik van spuiten, waarbij de zuigerstang van schroefdraad is voorzien. Deze loopt in een moer, die aan de dop van de spuit bevestigd is. Door de stang te draaien

wordt deze tevens in de lengterichting verplaatst. Draait men steeds over dezelfde hoek, dan wordt ook dezelfde hoeveelheid suspensie in de plant geperst.

Dit soort injectiespuiten is in de handel, maar kan ook gemakkelijk gemaakt worden. Bij normale spuiten kunnen de zuigerstangen steeds van de zuigers losgeschroefd worden. Neemt men een boutje met moer van geschikte lengte en dikte, dan kan de moer op de dop van de spuit gesoldeerd worden, terwijl de kop van de bout door een wat grotere schijf vervangen kan worden.

Bij het gebruik van een injectiespuit met schroef, wordt de houder met de papierstrook op tafel gelegd en zo gesteund, dat ze niet weg kan glijden bij het inoculeren. De spuit wordt in de linkerhand genomen en met de rechterhand wordt de zuiger gedraaid.

TIJDSTIP VAN INOCULATIE

Voor het verkrijgen van duidelijke symptomen is het van belang de planten niet te jong te inoculeren. Om uit te maken, wat het beste tijdstip voor de inoculatie is, werden planten van verschillende ouderdom geïnoculeerd. De planten, die twee dagen na het te kiemen leggen geïnoculeerd werden en toen ± 1 cm lang waren, vertoonden ongeveer 2 weken na de inoculatie zware beschadiging, die bij resistente planten moeilijk te onderscheiden was van symptomen van aantasting. Deze moeilijkheden traden niet meer op wanneer planten van 4 dagen of ouder (2 cm lang of langer) geïnoculeerd werden.

TEMPERATUUR

Ontstaan van symptomen na inoculatie van vatbare roggeplanten bleek mogelijk te zijn tussen 5 °C en 20 °C. Ze ontstonden sneller, naarmate de temperatuur hoger was. Aan het werken bij hogere temperaturen zijn echter verschillende bezwaren verbonden. In de eerste plaats groeien bacteriën en schimmels sneller bij hogere temperaturen, waardoor het moeilijker wordt de planten de gewenste tijd op het papier te kweken. Verder verdragen ook de roggeplanten hogere temperaturen minder goed. Ze worden lang, slap en wat chlorotisch. Het grootste bezwaar is echter, dat vatbare en onvatbare planten bij hogere temperatuur minder goed zijn te onderscheiden. Bij de vatbare planten zijn dan namelijk de symptomen vaak minder sprekend, vooral als de planten ouder worden en bij de onvatbare planten zijn op symptomen van aantasting gelijkende beschadigingen storender dan bij lagere temperaturen.

Goede resultaten werden verkregen door de planten overdag bij 15–17 °C te plaatsen en ze 's nachts in een koelcel te zetten bij 3 °C. Constant 15 °C–17 °C bleek soms minder goede resultaten te geven, maar waarschijnlijk zal constant 10 °C wel bruikbaar zijn. Aangezien het vatbaarheidsonderzoek gedurende enkele maanden in het voorjaar uitgevoerd moet kunnen worden, is het dus zeer gewenst bij dit onderzoek over een gekoelde ruimte met verlichting te beschikken. In de hoeveelheid licht, die de planten bij 10–15 °C nodig hebben kan gemakkelijk met buislampen voorzien worden.

Aantekeningen omtrent de reactie van elke plant afzonderlijk worden evenals de gegevens over ras of kruising, en dat van te kiemen leggen en inoculatie gemaakt op een hiervoor ontworpen formulier (zie fig. 5).

De auteur wil hier zijn dank uitspreken aan Mej. A. E. E. van Ees en Mej.

E. H. LASONDER voor hun assistentie bij het onderzoek van een groot aantal planten volgens de bovenbeschreven methoden.

SUMMARY

A new method for testing the susceptibility of rye plants to attack by the stem eelworm Ditylenchus dipsaci (KÜHN) FILIPJEV

When large numbers of rye seedlings were grown in boxes of soil and inoculated with stem eelworms by means of a flat needle, to test their susceptibility to eelworm attack, the method proved unsatisfactory. Better results were achieved by a method described in the foregoing article in which rye seedlings were grown on thick filter paper pads; the grains being inserted into slits cut in the pad by means of a chisel (fig. 1). Each pad is covered with some sheets of thin filter paper on the side where the seedlings appear and the whole is dipped in Knopp's plant culture solution made up in 0.05 per cent. Aretan as a protection against the growth of bacteria and fungi. It is then put into an aluminium holder and placed vertically in a box with other pads which are watered daily or every second day. A trace of ferric chloride (FeCl_3) is added to the water in order to prevent chlorosis of the seedlings which otherwise become evident about two weeks after planting. By numbering the pads and the slits in each, data can be obtained concerning each individual plant without risk of confusion (fig. 5).

Infested rye, oats and mangolds served as a source of supply of stem eelworms; rye plants collected in the field in May and June contained large numbers of the infective, fourth stage larvae. Since a suspension of eelworms in water was found to clog the needle, suspensions of infective larvae in a solution of carboxymethylcellulose were made and this was inoculated into seedlings by means of a syringe using a No. 18 hypodermic needle (fig. 3, 4). Seedlings are inoculated when they are about 2 cm long; smaller ones are damaged too much and this obscures symptoms or causes resistant plants to appear as though attacked. Low temperatures (10–15 °C) prove favourable for the manifestation of symptoms.

LITERATUUR

- BINGEFORS, S. – 1950. Undersökningar över klövernematodens utbredning och förutsättningarna för resistens förädling av rödklöver i mellersta och norra Sverige. Sveriges Utsädeförenings Tidskrift 2 en 3.
- SEINHORST, J. W. – 1945. Een laboratoriummethode voor de bepaling van de vatbaarheid van rogge voor aantasting door het stengelaaltje (*Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev). T. Pl.ziekten 51: 39–52.
- 1950. De betekenis van de toestand van de grond voor het optreden van aantasting door het stengelaaltje, *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev. T. Pl.ziekten 56: 289–349.