

NEDERLANDSCHE PLANTENZIEKTENKUNDIGE (PHYTOPATHOLOGISCHE) VEREENIGING

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

ONDER REDACTIE VAN

IR N. VAN POETEREN, PROF. DR W. K. J. ROEPKE EN
PROF. DR JOH^A WESTERDIJK

41e Jaargang

9e aflevering

September 1935

**INFECTIEPROEVEN
OP VERSCHILLENDE IEPENSOORTEN MET BEHULP
VAN IEPENSPINTKEVERS**

DOOR

J. J. FRANSEN EN CHRISTINE BUISMAN

INLEIDING

Onze kennis betreffende de vatbaarheid van verschillende soorten, variëteiten en exemplaren van iepen voor de iepenziekte berust bijna alleen op waarnemingen van hun gedrag na kunstmatige infectie met sporen van *Graphium ulmi* door middel van een injectiespuitje. De betreffende iepen zijn nog te kort in ons land gekweekt en voor het meerendeel niet groot genoeg en niet in voldoende aantal aanwezig om te kunnen constateeren, of zij ook langs den natuurlijke weg, dus door middel van de spintkevers, worden geïnfecteerd, en hoe zij op deze infectie reageeren.

Slechts na jaren zouden we hierover meer te weten kunnen komen, tenzij we met *Graphium* sporen besmette kevers konden dwingen, hun „Reifungsfrass” uit te oefenen op bepaalde exemplaren van iepen. Slechts in dat geval zou het mogelijk zijn, de reactie op een kunstmatige infectie (door middel van een injectiespuitje) te vergelijken met die op een infectie door kevers, zooals deze in de natuur plaats vindt.

In den zomer van 1934 hebben wij daarom getracht, verschillende iepen met behulp van kevers te infecteeren. Daarbij was het wenschelijk, op denzelfden dag, dat de proeven met de kevers werden genomen, overeenkomstige boomen te infecteeren met behulp van een injectiespuitje. Zoodoende pasten wij onder dezelfde omstandigheden de beide wijzen van infectie toe, opdat de resultaten te vergelijken zouden zijn.

DE VOORBEREIDING DER PROEVEN

Over het al of niet besmet zijn der kevers.

Bij het opzetten van een dergelijke keverproef moeten we bedenken, dat niet altijd de „Reifungsfrass” een infectie met *Graphium ulmi* tengevolge zal hebben. Geen infectie toch zal optreden, indien de kevers niet met sporen van *Graphium ulmi* besmet zijn.

Bij de entomologische onderzoeken, verricht gedurende de jaren 1930 t/m 1933, werd bij herhaling opgemerkt, dat vanuit een „Reifungsfrass”-litteeken geen verkleuringen in het hout waren te vervolgen. Vooral in het voorjaar van 1930 was dit het geval, zoowel te Wageningen als te Rhenen. Op het proefveld te Wageningen verrichtte gedurende den zomer van 1933 een groot aantal iepenspintkevers hun „Reifungsfrass” aan jonge iepen, zonder dat dit infectie met *Graphium ulmi* ten gevolge had. Proeven in dat jaar genomen te Haarlem, waarbij spintkevers op gezonde iepen ingehoesd werden en aan deze boomen op normale wijze hun Reifungsfrass uitvoerden, toonen aan, dat ook hier geen *Graphium* infectie had plaatsgevonden. Zoowel BRILL (1930)¹⁾ als LIESE en BUTOVITSCH (1931)²⁾ hebben dit verschijnsel eveneens opgemerkt.

BRILL meent, dat de kevers, die bij hun „Reifungsfrass” den betreffenden boom niet met *Graphium ulmi* infecteeren, zich ontwikkeld hebben in boomen, die niet aan iepenziekte leden. Wij kunnen hierbij opmerken, dat in het algemeen de kevers niet met sporen van *Graphium ulmi* besmet zullen zijn, wanneer in de poppenwieg, waarin hun ontwikkeling plaats vond, geen coremiën van de schimmel aanwezig waren. Op dit voorkomen van coremiën in de poppenwieg zullen wij even nader ingaan.

Bij de entomologische onderzoeken werden in 1929 op in het vrije veld verzamelde iepenbast, waarin boorgangen van *Scolytus scolytus* aanwezig waren, geen coremiën opgemerkt. In den winter van 1929/1930 werden zij echter gevonden in een iep te Wageningen, waarvan de bast sterk door spintkeverlarven vervreten was, en van den boom had losgelaten. Hier kwamen de coremiën in de larvegangen voor, waaruit het boormeel gevallen was.

In het voorjaar van 1930 kwamen in een partij schors, afkom-

¹⁾ BRILL, O. Vorschläge zur Bekämpfung des Ulmensterbens. Die Gartenwelt, XXXIV, 1930, p. 657-659, 690-691.

²⁾ LIESE, J. und BUTOVITSCH, B. Das Ulmensterben in den Auerevieren, seine Ursache und seine Bekämpfung. Deutsche Forstzeitung XLVI, 1931, p. 1111-1116.

stig uit Nijmegen en gedurende de wintermaanden bewaard in zgn. isolatiehokken van de plantenkas, waar een vrij hooge temperatuur en relatieve luchtvochtigheid heerschten, in de poppenwiegen van *Sc. scolytus* talrijke coremiën voor. In het vrije veld werden zij toen nog niet aangetroffen, hoewel de iepenlaan om het kasteel Doorwerth, waar de boomen alle stadia van iepenziekte en spintkeveraantasting vertoonden, een ideaal waarnemingsterrein vormde. Vermoedelijk was groote droogte hiervan de oorzaak, want op 4 Juni, nadat een paar dagen tevoren zich zware regenbuien over dit waarnemingsterrein ontlast hadden, kwamen talrijke coremiën in de poppenwiegen voor, en ook in de nieuw aangelegde moedergangen. Ook later in den zomer en in volgende jaren vormden zij een gewone verschijning in de poppenwieg. In 1932 vlogen te Wageningen op 8 Mei de eerste groote iepenspintkevers van dat jaar uit; op dat tijdstip waren reeds rijkelijk coremiën in de poppenwiegen aanwezig. Wij zien hieruit, dat soms de coremiën reeds zeer vroeg in het jaar optreden.

Ook in de poppenwiegen van *Sc. multistriatus* komen de coremiën voor, zooals de eerst-ondergeteekende in Augustus 1930 vaststelde. Wel worden in de door *Sc. multistriatus* aangevreten schors de coremiën minder talrijk aangetroffen. Dit kan misschien worden toegeschreven aan het feit, dat de kleine iepenspintkever haar broedgangen aanlegt in dunnere schors, welke veel sneller uitdroogt.

Dat de vochtigheid van de schors een rol speelt bij het ontstaan van coremiën, bleek wel uit de resultaten van het onderzoek in het laboratorium van door spintkevers sterk aangevreten schors, afkomstig uit verschillende plaatsen (Wageningen 1929, 1930, 1933, Arnhem, Oosterbeek en Rhenen 1930, den Bosch 1933). Werd deze schors nl. dadelijk na het verzamelen met behulp van een binoculair onderzocht, dan zag men noch op de schors, noch op het boormeel, noch in de larvegangen of poppenwiegen coremiën. Werden stukken van deze schors evenwel op vochtig filtreerpapier in glazen schalen in een thermostaat bij 24° geplaatst, dan ontwikkelden zich op het boormeel in de larvegangen rijkelijk coremiën. Later werden zij ook op de cambiale laag van het stuk schors gevormd, en tenslotte zelfs buiten op de schors.

Het kunstmatig infecteeren van kevers met sporen van Graphium ulmi.

Uit de vermelde gegevens blijkt wel, dat de mogelijkheid bestaat, dat uit willekeurige schors opgevangen kevers niet of niet in voldoende mate besmet zijn met sporen van *Graphium ulmi*. Het was dus noodzakelijk voor onze proeven, de te gebruiken kevers

langs kunstmatigen weg met deze sporen in aanraking te brengen. Het lag voor de hand, dit op een dergelijke wijze te doen, dat er een zoo groot mogelijke overeenkomst bestond tusschen de kunstmatige wijze en de wijze, waarop de kevers zich in de poppenwieg met sporen besmeuren.

Eerst werd daarom getracht, voor deze proeven gebruik te maken van iepenbast, daar dit een gunstig substraat was gebleken voor de ontwikkeling van coremiën. Het was daarbij de bedoeling, de kevers tusschen de met coremiën bedekte binnenzijden van twee stukken schors door te laten loopen, opdat zij, evenals in de poppenwieg, aan alle kanten met de sporen in aanraking zouden komen. Wij trachtten daartoe twee stukken schors te klemmen tegen een houten raampje, dat iets dikker dan een kever was. De stukken schors trokken echter sterk en gingen bol staan. Klemde men ze vast, dan scheurden ze. Er kwam nog bij, dat op de binnenzijde van dergelijke niet gesteriliseerde schors *Fusarium* zich beter bleek te ontwikkelen dan *Graphium*. Wel vond coremiënvorming plaats, maar zij geschiedde langzaam en beperkte zich hoofdzakelijk tot de breukranden van de schors. Op de binnenzijde ontstonden de coremiën slechts op enkele plaatsen.

Bovenbeschreven methode kon dus alleen worden gebruikt voor enkele kleinere proeven met een gering aantal kevers. Voor de grootere proeven moesten wij naar een andere werkwijze omzien.

Eerst kweekten wij daarop *Graphium ulmi* op kersagar in petrischalen, en lieten daarna de kevers over dezen voedingsbodem loopen. Een nadeel van deze methode was, dat pas na betrekkelijk langen tijd of soms zelfs in het geheel niet de coremiën op dit substraat gevormd worden; bovendien werden de kevers slechts aan één zijde geïnfecteerd, wanneer zij over den voedingsbodem liepen. Tenslotte bleven zij bij dit loopen aan de agar kleven, waardoor de kans bestond, dat zij hun monddeelen met agar zouden besmeuren, hetgeen hen misschien zou beletten, hun Reifungsfrass op normale wijze uit te voeren.

Getracht werd, door op de agar een gaasje te leggen, dit laatste bezwaar te ondervangen. Dit gelukte niet, daar het gaasje in de agar zakte. Spant men een dergelijk gaasje om een metalen ring, zoodat het boven de agar blijft uitsteken, dan is het uiterst lastig een en ander zoo in te richten, dat de coremiën door het gaasje heen groeien, temeer daar de agar gedurende de proef inkrimpt.

Verder werden nog proeven genomen met iepen- en dennenzaagsel, dat al of niet gedrenkt in kersensap op den bodem van een petrishaal werd uitgestrooid. Het zaagsel, gedrenkt in ker-

sensap, bleek gunstig te zijn voor de ontwikkeling van de schimmel, daar deze er spoedig coremiën op vormde. Het groote nadeel is echter, dat het niet voldoende homogeen is, waardoor er lastig mede te experimenteeren valt.

Tenslotte werd door den eerstondergeteekende een substraat, dat aan alle gestelde eischen voldoet, gevonden in de zgn. bierviltjes, die als onderleggers voor glazen gebruikt worden. Zij zijn homogeen, laten zich gemakkelijk op maat snijden, zijn goed te steriliseeren en gemakkelijk hanteerbaar, terwijl zij niet trekken bij wisselende temperatuur en vochtigheid, doch vlak blijven. In kersensap gedrenkt vormen zij een zeer geschikte voedingsbodem voor *Graphium ulmi*. Zij zijn samengesteld uit geperst dennenzaagsel, zonder bijmengsels.

Eerst werd het gedrag van verschillende *Graphium*-isolaties, die voor de proeven ter beschikking stonden (genummerd 500–511) op kersagar en op een bierviltje, gedrenkt in 20 cc kersensap, vergeleken. Nadat de agar en het viltje met een ongeveer even groot stukje mycelium geënt waren, werden zij in een thermostaat bij 24° geplaatst. Op de bierviltjes was de groei van het mycelium sneller dan op de agar; na 20 dagen bedroeg de doorsnede der cultures op agar 0,8 tot 8 cm, gemiddeld 4,6 cm, terwijl de bierviltjes, die een doorsnede hadden van 8 cm, binnen 15 dagen reeds geheel door *Graphium ulmi* waren overgroeid. Ook aan de onderzijde der viltjes ontwikkelde de schimmel zich. Daar het mycelium eerst alleen in het centrum van de onderzijde gevonden werd, moeten wij aannemen, dat de groei *door* het substraat heeft plaats gevonden en niet aan de onderzijde vanaf den rand naar het midden geschiedde. Later waren de randen aan de onderzijde eveneens met mycelium bedekt.

Verder was er een verschil in coremiënvorming op beide bodems waar te nemen. In de cultures op bierviltjes traden reeds na eenige dagen coremiën op, in de agarcultures veel later. 15 dagen nadat ze op de bierviltjes waren geënt, vertoonden alle gebruikte isolaties van *Graphium ulmi* coremiën, uitgezonderd nr. 504, waar de coremiënvorming pas na 26 dagen begon. 20 dagen oude culturen van dezelfde isolaties op kersagar vertoonden slechts in één geval (nr 502) coremiën.

De coremiën bevonden zich bijna uitsluitend aan de *onderzijde* der bierviltjes. Vooral in de holte, waar het bierviltje niet op het glas van de petrishaal rustte, waren zij rijkelijk aanwezig. Het merkwaardige verschijnsel deed zich voor, dat bij alle gebruikte stammen het mycelium op het onbedrukte gedeelte van het viltje verder groeide, aldus het bedrukte gedeelte geheel omsluitend. De coremiën daarentegen ontstonden bijna uitsluitend op de door

het mycelium ingesloten bedrukte plaatsen (zie fig. 2). Vermoedelijk is in de inkt een stof aanwezig, die de coremiën-vorming stimuleert, doch de groei van het mycelium tegengaat. (Iets dergelijks is misschien ook in de poppenwieg het geval, waar men talrijke coremiën en vrijwel geen mycelium aantreft).

We kunnen nog opmerken, dat de coremiën van twee stammen (nrs 504 en 506) opvallend kleiner waren dan die der andere stammen en helder witte sporendruppeltjes aan hun top vertoonden.

Nog werd nagegaan, of er betreffende den groei van *Graphium ulmi* verschillen bestonden tusschen de diverse soorten bierviltjes. Het bleek inderdaad, dat dergelijke verschillen konden worden waargenomen. Bij de dicht geperste soorten stonden de groei en de coremiënvorming aanmerkelijk ten achter bij die op soorten, welke een zeer losse structuur hadden. Het was dus mogelijk, de meest geschikte soort uit te kiezen en deze verder voor het onderzoek te gebruiken.

Later werd nog een verbetering van deze methode verkregen door de viltjes, welke oorspronkelijk in de petriscalen geklemd zaten, vrijliggend te maken, zoodat zij er gemakkelijk konden worden uitgenomen. Verder kwamen zij dan op een ring te liggen, die op den bodem van de petrishaal gelegd werd, waardoor de coremiën-vorming regelmatig over de onderzijde van het viltje plaats vond.

Eenige dagen voor het nemen van een proef met de kevers werden de viltjes overgoten met een sporensuspensie. Daar het voor de hand ligt, dat in de poppenwieg coremiën van meer dan één *Graphium*-stam aanwezig kunnen zijn, werd deze suspensie samengesteld uit sporen van verschillende *Graphium*-stammen (nrs 500-511).

Het behandelen en het transport van de kevers.

Om de proeven met kevers op de verschillende iepensoorten onderling vergelijkbaar te maken, moesten zij op denzelfden dag genomen worden. Daar een vrij groot aantal iepensoorten onderzocht moest worden, was het noodzakelijk hiervoor vele kevers in voorraad te hebben. Nu komen de kevers in het voorjaar in het algemeen pas bij een temperatuur van 20° te voorschijn; is er op een bepaalden dag geen voldoende aantal uitgekomen om dadelijk een proef te nemen, dan moeten zij dus bewaard blijven. Dit bewaren leverde echter aanvankelijk groote moeilijkheden op, daar de sterfte onder de pas uitgekomen en daarna bewaarde kevers zeer groot was.

Teneinde uit te maken, onder welke omstandigheden de mees-

te kevers in leven bleven, werd de volgende proef genomen. De kevers werden in petri-schalen gebracht op vloeitjes, die droog of vochtig waren. Deze petrishalen werden daarop in het laboratorium, in den tuin, in den thermostaat bij 20° en 28° geplaatst. De sterfte bleek op een koele plaats in den tuin het geringst te zijn. Zij was daar evenwel nog te hoog om deze wijze van bewaren te kunnen toepassen. Daarop werden de schalen met kevers in de ijskast bij een temperatuur van 0° geplaatst. De kevers stierven dan echter alle. Tenslotte bleek, dat bij een temperatuur in de omgeving van 10° de kevers gedurende een week in leven bleven, vooral wanneer in de petrishaal een droog geplisseerd vloeitje aanwezig was, waartusschen de kevers konden wegschuielen. Zij bleven bij deze temperatuur rustig zitten. Om de schalen op een temperatuur van 10° te houden werden zij in een museumcylinder geplaatst, die in een emmer met water van 10° stond; het geheel werd in de ijskast gebracht, die als isolator dienst deed.

Op den dag, dat de proef zou worden genomen, werden de schalen met kevers uit het koude water te voorschijn gehaald en naar een lokaal gebracht, waar een temperatuur tusschen 18° en 20° heerschte. (Dit is noodzakelijk, omdat tusschen 18° en 20° de kevers gaan loopen, waardoor de levende van de doode gescheiden kunnen worden). Stijgt de temperatuur boven de 20° , dan willen de kevers vliegen, waardoor de proef minder gemakkelijk kan worden uitgevoerd. In bovengenoemd lokaal werden de kevers dan uit de schalen op de tafel geschud; de levende liepen weldra naar den naar de raamzijde gekeerden rand van de tafel, daar zij steeds het licht opzoeken; zij konden dan door middel van een metalen veer in een petrishaal geschoven worden. Waren de voor het inbinden op één boom benodigde 50 of 100 kevers bijeen, dan werden zij met behulp van een vultrechter in een glazen buis geschud, die dan afgekurkt en in een museumcylinder met ijswater geplaatst werd, om de kevers geheel tot rust te brengen. Dit was noodzakelijk, omdat bij de volgende manipulatie de kevers rustig moesten blijven liggen, daar zij anders kans liepen, dood gedrukt te worden.

Nu werd een petrishaal genomen, waarin een met coremiën bedekt bierviltje zich bevond; dit werd eruit gehaald en omgekeerd weer in de schaal teruggebracht, daar de coremiën zich voornamelijk aan de onderzijde vormen. Op dit viltje werd daarna een ijzeren ring, die dezelfde dikte had als een kever, geplaatst; daarna werden de 50, resp. 100 kevers voorzichtig tusschen de ring op het viltje geschud. Vervolgens werd een tweede viltje met de met coremiën bedekte kant op den ring gelegd, hierop eenig vulmateriaal gebracht en het deksel op de petrishaal gedaan (zie

fig. 1). De schaal werd met een elastiekje gesloten en in een voor transport gereedstaand kistje opgeborgen. Voordat het inbinden der kevers plaats kon vinden, moesten zij nog eenige uren in een omgeving met een temperatuur van ongeveer 20° doorbrengen, daar zij anders stil tusschen de viltjes zouden blijven zitten en zich niet met sporen zouden besmeuren.

HET NEMEN VAN DE PROEVEN

Het hing van vele omstandigheden af, of wij op een bepaalden dag een infectieproef met behulp van kevers konden nemen. Er moesten gedurende de voorafgaande dagen vele kevers zijn uitgekomen, terwijl een aantal bierviltjes, bedekt met coremiën, klaar moest staan. Bovendien moesten de weersomstandigheden gunstig zijn. Op den invloed van de weersomstandigheden tijdens het nemen van de proeven zullen we nog even nader ingaan.

Het is zeer begrijpelijk dat het weer een groote rol speelt bij dergelijke proeven, waarbij we een groot aantal kevers liefst zoo lang mogelijk in leven willen houden. Zware regenbuien zijn altijd ongunstig, omdat de in een hoes ingebonden kevers dan naar beneden loopen, om in de schorsspleten te gaan schuilen, waarbij ze in het onderende van de hoes verward raken. Dit kan tot 100% sterfte aanleiding geven. Is bij het inbinden de temperatuur lager dan 20° , dan vliegen de kevers niet direct naar de in de hoes ingebonden takken, doch loopen langs de hoes, waarbij eveneens een deel in het onderende verward raakt.

Men zou dus denken, dat warm en droog weer het meest geschikt voor het experimenteren zou zijn; dit is echter niet het geval. In de eerste plaats bleek bij proeven, genomen tijdens droog, warm weer, de sterfte zeer groot te zijn, zonder dat hiervan de oorzaak kon worden opgespoord. Mogelijk is de directe zonnestraling op de kevers voor deze dieren nadeelig. In de tweede plaats is het lastig, bij een temperatuur boven 20° de kevers in te binden, daar zij dan onmiddellijk trachten weg te vliegen.

Waren alle omstandigheden gunstig, dan werden de kevers, zooals reeds beschreven is, in petriscalen naar het terrein van de proef vervoerd. In de eene helft van deze petriscalen bevonden zich bierviltjes met coremiën van *Graphium ulmi*, in de andere helft niet. Zodoende was de helft van de kevers kunstmatig besmet met sporen van *Graphium ulmi*, de andere helft niet.

Wat de te infecteeren boomen betreft, gebruikten wij voor de proeven hoofdzakelijk twee- of meerjarige ondergeënte exemplaren. Van bepaalde soorten hadden wij ook hooggeënte exemplaren tot onze beschikking. Een enkele maal was het noodig plan-

ten te gebruiken, die reeds in den vorigen zomer kunstmatig waren geïnfecteerd met *Graphium ulmi*, maar die er geheel gezond uitzagen.

Wilden wij nu een bepaalden boom met behulp van kevers infecteeren, dan bonden wij een hoes van kaasdoek, ongeveer 1,50 m lang, met het ondereinde stevig vast om een tak van dezen boom, of, als het kleinere planten betrof (wat bijna altijd het geval was) om het stammetje. Daarna lieten we de kevers, die zich in één petrishaal bevonden, in deze hoes los. De petrishaal werd daartoe in de hoes geopend, waarna we er met een dik penseel de kevers uit verwijderden. Vervolgens werd de hoes ook van boven stijf dichtgebonden, zoodat geen kevers konden ontsnappen.

De hoezen bleven een week à 10 dagen op hun plaats. Bij het afnemen werden de dan nog levende kevers en de vraatplekken geteld.

Op deze wijze behandelen we per proef 20 à 24 boomen. Bij 3 van de 4 proeven infecteerden we bovendien een of meerdere exemplaren van de betreffende soorten met behulp van een injectiespuitje, teneinde de resultaten van de beide wijzen van infectie te kunnen vergelijken. De boomen werden daartoe ingespoten met een mengsel van sporen van 3 of 4 verschillende *Graphium*-stammen (behoorende tot de nrs 500–511), om de infectie zooveel mogelijk te doen overeenstemmen met de infectie door middel van de kevers.

De resultaten van de infectie vindt men in onderstaande tabellen.

PROEF TE HAARLEM

Bij iederen boom werden 100 exemplaren van *Scolytus scolytu* maakt en 14 Juni afgenomen. De met × gemerkte boomen

Boomsoort		Omschrijving	Aantal levende kevers bij losmaken hoes	Aantal vraatplekken of vreterij bij afnemen hoes	Kevers kunstmatig besmet	Aantal boomen geïnfecteerd met <i>Graphium ulmi</i> door injectie
U. foliacea	nr 24	2 j. onder geënt	9	zwaar	—	
× — —	nr 24	2 j. „ „	8	„	—	
— —	nr 24	2 j. „ „	5	„	+	
× — —	nr 24	2 j. „ „	0	„	+	
— —	nr 24	2 j. „ „				5
— —	nr 24	2 j. „ „	6	„	—	
— —	nr 24	2 j. „ „	5	„	+	
× — —	nr 1	3 j. boven geënt	9	„	—	
× — —	nr 1	3 j. „ „	4	„	+	
— —	nr 1	3 j. „ „				1
— —	nr 1	3 j. „ „	2	„	—	
— —	nr 1	3 j. „ „	2	„	+	
— —	nr 1	3 j. „ „				1
— —	nr 35	2 j. onder geënt	5	„	+	
— —	nr 35	2 j. „ „	0	„	—	
— —	nr 35	2 j. „ „				2
— —	nr 40	2 j. „ „	5	„	—	
— —	nr 40	2 j. „ „	0	„	+	
— —	nr 40	2 j. „ „				6
Karagatch iep		2 j. „ „	2	„	—	
— —		2 j. „ „	3	„	+	
— —		2 j. „ „				5
U. glabra fastigiata		6 j. „ „	5	minder sterk ¹⁾	—	
— — —		6 j. „ „	6	minder sterk ¹⁾	+	
— — —		6 j. „ „				1
U. Wilsoniana		4 j. boven geënt	4	zwaar ¹⁾	—	
— —		4 j. „ „	3	„	+	
— —		4 j. „ „				1
U. macrocarpa		2 j. onder geënt	2	„	—	
— —		2 j. „ „	3	„	+	
U. laciniata nikkoensis		2 j. „ „	1	„		
— —		2 j. „ „	1	„		
— —		2 j. „ „				1

¹⁾ Gom- en sapafscheiding.

OP 30 MEI 1934

gebracht. De hoezen werden op 8/6 aan de onderzijde losge-
zijn op 31 Mei behandeld.

Con- trôle- datum	Toestand boomen bij contrôle	Latere controle	Datum afsnij- den takken	Graphium terugge- isoleerd (0 = niets uitgelegd)	Toestand hout bij contrôle
10-7	goed	} ¹⁾ 30/7: 1 wat vergeeld, mogelijk schade van vreetrij	18-9	+ ²⁾	verkleuring twijfelachtig
10-7	goed		18-9	-	verkleuring i. h. merg
10-7	iets gelig	30/7 zeer ziek door Nectria	18-9	+	verkleuring
10-7	goed			0	geen verkleuring
10-7	5 goed		18-9	-	geen typ. verkleuring
10-7	goed			0	zeer weinig verkleuring
10-7	goed (top uitge- broken)			0	practisch geen verkleuring
10-7	goed		18-9	0	practisch geen verkleuring ²⁾
10-7	ziek		18-9	+	
10-7	1 dorre tak			-	zeer weinig verkleuring
10-7	goed			+	²⁾
10-7	ziek				
10-7	goed	30/7 1 dorre tak, moge- lijk geringd	18-9	+	verkleuring in top
10-7	twijfelachtig		18-9	+	verkleuring in top
10-7	1 twijfelachtig	30/7 dorre takjes, mo- gel. geringd	18-9	0	practisch geen verkleuring
10-7	1 goed			+	iets verkleuring
10-7	goed (geel door ringschillen)		18-9	-	iets verkleuring in merg, anders weinig
10-7	goed		18-9	+	verkleuring in merg
10-7	6 goed				
10-7	goed		18-9	+	weinig verkleuring
10-7	1 zeer licht ziek, 4 goed		18-9	+	²⁾
10-7	goed		18-9	+	weinig verkleuring
10-7	goed		18-9	0	geen opgave
10-7	goed				
10-7	goed	30/7 enkele dorre takjes	18-9	0	verleden jaar geïnfecteerd
10-7	goed		18-9	+	verleden jaar geïnfecteerd, ver- kleuring boven infectie van verleden jaar
10-7	goed	30/7 enkele dorre tak- jes, iets geel	18-9	-	iets verkleuring
10-7	goed		18-9	+	iets verkleuring
10-7	goed				

¹⁾ Een accolade geeft aan, dat de betreffende boomen niet uit elkaar zijn gehouden.

²⁾ Het spreekt vanzelf, dat uitwendig zieke boomen ook verkleurd hout hebben.

³⁾ Het is mogelijk, dat het voorkomen van Graphium ulmi hier moet worden toege-
schreven aan een verontreiniging in de isolatieschaal.

PROEF TE HAARLEM

Bij iederen boom werden 50 exemplaren van *Scolytus scolytus* gebracht. De

Boomsort		Omschrijving	Aantal levende kevers bij losmaken hoes	Aantal vraatplekken bij afnemen hoes	Kevers kunstmatig besmet	Aantal boomen geïnfecteerd met <i>Graphium ulmi</i> door injectieputje
U. foliacea	nr 24	2 j. onder geënt	4	17	-	2
- -	nr 24	2 j. „ „	9	14	-	
- -	nr 24	2 j. „ „	7	19	+	
- -	nr 24	2 j. „ „	6	12	+	
- -	nr 24	2 j. „ „				
- -	nr 1	3 j. boven geënt	9	19	-	2
- -	nr 1	3 j. „ „	8	21	-	
- -	nr 1	3 j. „ „	12	14	-	
- -	nr 1	3 j. „ „	2	6	+	
- -	nr 1	3 j. „ „				
- -	nr 1	3 j. „ „	2	10	-	
- -	nr 1	3 j. „ „	7	16	-	
- -	nr 1	3 j. „ „	2	enkele aantastingen	+	
- -	nr 1	3 j. „ „	7	10	+	
- -	nr 1	3 j. „ „				
- -	nr 35	2 j. onder geënt	23	8	+	1
- -	nr 35	2 j. „ „	7	17	+	
- -	nr 35	2 j. „ „				
- -	nr 40	2 j. „ „	8	18	-	1
- -	nr 40	2 j. „ „	14	25	+	
- -	nr 40	2 j. „ „				
Karagatch-iep		2 j. „ „	13	18	-	2
-		2 j. „ „	4	11	-	
-		2 j. „ „	4	11	+	
-		2 j. „ „	2	7	+	
-		2 j. „ „				
U. glabra fastigiata		6 j. „ „	11	20 ¹⁾	-	1
- - -		6 j. „ „	1	11 ¹⁾	+	
U. Wilsoniana		4 j. boven geënt	10	13 ²⁾	-	1
- -		4 j. „ „	9	veel ¹⁾	+	
- -		4 j. „ „				

¹⁾ Sterke gomafscheiding.

²⁾ Zwakke gomafscheiding.

OP 15 JUNI 1934

hoezen werden 26 Juni afgenomen. Enkele boomen werden 16 Juni behandeld.

Contrôle- datum	Toestand boomen bij contrôle	Latere contrôle	Datum afsnij- den takken	Graphium terugge- isoleerd (0 = niets uitgelegd)	Toestand hout bij contrôle
10-7	goed		18-9	+	zeer lichte verkleuring
10-7	goed		18-9	0	geen verkleuring
10-7	1 dor blad		18-9	+	verkleuring twijfelachtig
10-7	4)		18-9	0	vrijwel geen verkleuring
10-7	2 goed				
10-7	goed		18-9	-	verkleuring zeer gering
10-7	ziek		18-9	+	3)
10-7	goed (enkele tak- ken afgebroken)				
30-7	goed				
10-7	2 goed				
10-7	goed		18-9	}	Een van beide bekeken, geen verkleuring
10-7	goed		18-9		
30-7	ziek		18-9	+	3)
10-7	ziek		18-9	+	3)
10-7	ziek				
10-7	goed		18-9	0	geen verkleuring
10-7	zijtak dor	30/7 en- kele dorre takjes	18-9	+	dor takje verkleurd
10-7	goed				
10-7	goed		18-9	-	zeer weinig verkleuring
10-7	goed		18-9	+	sterke verkleuring
10-7	goed				
10-7	goed		18-9	-	iets verkleuring
10-7	goed		18-9	0	verleden jaar geprikt, verkleuring in het oude hout
10-7	goed		18-9	+	verleden jaar geïnfect., maar ver- kleuring ook vlak onder schors
10-7	goed		18-9	-	verkleuring in het merg
10-7	2 goed				
10-7	goed		18-9	0	geen verkleuring
10-7	goed	18/9 ziek	18-9	+	3)
10-7	goed		18-9	-	lichte verkleuring
10-7	goed		18-9	+	verkleuring
10-7	goed				

3) Het spreekt vanzelf, dat uitwendig zieke boomen verkleurd hout hebben.

4) In dit geval was het moeilijk uit te maken, of door Graphium ulmi veroorzaakte ziekteverschijnselen zijn opgetreden. Bij de contrôle op 10-7 was de top dor. Het maakte den indruk, of het boompje misschien door Nectria was aangetast. Ook was er sterke bastbeschadiging door de vretterij van de kevers. Uit de dorre top kon op 13-7 echter Graphium ulmi worden geïsoleerd.

PROEF TE AMERSFOORT

Bij iederen boom werden 50 exemplaren van *Scolytus scolytus*

Boomsoort	Omschrijving	Aantal levende kevers bij afnemen hoes	Aantal vraatplekken & vretelij bij afnemen hoes	Kevers kunstmatig besmet	Aantal boomen geïnfecteerd met <i>Graphium ulmi</i> door injectiespuitje	Controle-datum
U. hollandica belgica	aflegger	10	sterk	-		17-7
- - -	aflegger	8	goed	-		17-7
- - -	aflegger	3	vele	+		17-7
- - -	aflegger	4	goed	+		17-7
- - -	aflegger				2	17-7
U. pumila pinnato-ram.	2 j. onder geënt	10	zeer sterk	-		17-7
- - -	2 j. „ „	9	goed	-		17-7
- - -	2 j. „ „	11	zeer sterk	+		17-7
- - -	2 j. „ „	9	goed	+		17-7
- - -	2 j. „ „				2	17-7
Karagatch-iep	2 j. „ „	7	goed	+		17-7
-	2 j. „ „	12	goed	-		17-7
-	2 j. „ „				1	17-7
U. Wilsoniana	2 j. „ „	2	4	-		17-7
- -	2 j. „ „	2	3	+		17-7
- -	2 j. „ „				1	17-7
U. foliacea	nr 24 2 j. „ „	1	5	-		17-7
- -	nr 24 2 j. „ „	2	goed	+		17-7
- -	nr 24 2 j. „ „				1	17-7
- -	nr 27 2 j. „ „	9	goed	-		17-7
- -	nr 27 2 j. „ „	6	sterk	+		17-7
- -	nr 27 2 j. „ „				1	17-7
- -	nr 32 2 j. „ „	16	zeer goed	-		17-7
- -	nr 32 2 j. „ „	11	sterk	+		17-7
- -	nr 32 2 j. „ „				1	17-7
- -	nr 39 2 j. „ „	1	4	-		17-7
- -	nr 39 2 j. „ „	18	sterk	-		17-7

OP 22 JUNI 1934

ebracht. De hoezen werden 29 Juni afgenomen.

Toestand boomen bij contrôle	Datum afsnij- den takken	Graphium terugge- isoleerd (0 = niets uitgelegd)	Toestand hout bij contrôle
{ goed { niet teruggevonden { ziek { licht ziek beide ziek	12-10 27-9 12-10	- + +	vrijwel niet verkleurd 1) 1)
goed goed goed } 27/9, 1 lijkt ziek, veel dorre goed } punten, niet sterk gegroeid. beide goed	{ 27-9 { 12-10 27-9 27-9	- - + +	iets verkleurd in zijtakken weinig verkleuring verkleuring gering eenige verkleuring
1 dor blad, enkele bladen met dorre punt, 6-9 ziek	27-9	+	verkleuring
goed, 27-9 geel en gedeeltelijk kaal, wschl. geen iepenziekte zeer licht ziek, enkele dorre topjes	27-9	-	verkleuring vrij weinig
goed 1 blad dorre rand enkele dorre zijtakjes	12-10 27-9	- +	uiterst weinig verkleuring eenige verkleuring
goed goed goed	27-9 27-9	- +	verkleuring zeer gering verkleuring aanwezig.
goed goed zeer licht ziek	27-9 27-9	+ +	verkleuring zeer gering geen opgave
goed ziek (27-9 heel licht ziek) goed	27-9 27-9	+ +	verkleuring zeer gering 1)
goed goed	27-9 27-9	+ 0	reeds verleden jaar geïnf. geen verkleuring.

Het spreekt vanzelf, dat uitwendig zieke boomen verkleurd hout hebben.

PROEF TE AMERSFOOR'

Bij iederen boom werden 50 exemplaren van Scolytu

Boomsoort	Omschrijving	Aantal levende kevers bij afnemen hoes	Aantal vraat- plekken bij afnemen hoes	Kevers kunst- matig besmet	Contrôle- datum
U. hollandica belgica	aflegger	14	62	-	6-9-'34
- - -	aflegger	17	66	+	6-9-'34
U. pumila pinnato-ram.	2 j. onder geënt	15	13	-	6-9-'34
- - - -	2 j. „ „	11	53	+	6-9-'34
U. pumila	3 j. „ „	3	26	-	6-9-'34
- -	3 j. „ „	11	67	-	6-9-'34
- -	3 j. „ „	4	48	+	6-9-'34
- -	3 j. „ „	8	67	+	6-9-'34
- -	3 j. boven geënt	2	45	-	6-9-'34
- -	3 j. „ „	20	29	-	6-9-'34
- -	3 j. „ „	17	49	+	6-9-'34
- -	3 j. „ „	16	62	+	6-9-'34
U. Wilsoniana	2 j. onder geënt	3	46	-	6-9-'34
- -	2 j. „ „	8	51	+	6-9-'34
U. foliacea	nr 1 2 j. „ „	18	56	-	6-9-'34
- -	nr 1 2 j. „ „	21	64	+	6-9-'34
- -	nr 32 2 j. „ „	3	74	-	6-9-'34
- -	nr 32 2 j. „ „	12	51	+	6-9-'34
- -	nr 44 2 j. „ „	19	56	-	6-9-'34
- -	nr 44 2 j. „ „	21	49	+	6-9-'34

BESPREKING

De proeven werden genomen op 4 dagen, nl. 30 Mei (enkele boomen behandeld op 31 Mei) en 15 Juni (enkele boomen behandeld op 16 Juni) te Haarlem, 22 Juni en 17 Juli te Amersfoort.

Uit de resultaten blijkt, dat de infectie op 17 Juli zeer weinig uitwerking heeft gehad. We kunnen aannemen, dat dit niet ligt aan een minder goed vreten van de kevers, daar het aantal vraatplekken groot was. Ook werd naderhand het voorkomen van Graphium ulmi in het hout van de betreffende boomen vastgesteld.

P 17 JULI 1934

ultistriatus gebracht. De hoezen werden 31 Juli afgenomen.

Toestand boomen bij contrôle	Datum afsnij- den takken	Graphium terugge- isoleerd (0 = niets uitgelegd)	Toestand hout bij contrôle
goed	27-9	0	geen verkleuring
goed	27-9	—	verkleuring zeer gering
goed	12-10	—	verkleuring zeer gering
goed	27-9	+	lichte verkleuring
goed	12-10	—	verkleuring zeer gering
goed, 12-10 doode punten aan takken	12-10	—	verkleuring alleen in onmiddellijke omgeving van litteekens
goed	12-10	0	geen verkleuring
goed	12-10	—	iets verkleuring onder dood topje
goed	12-10	+	verkleuring zeer gering
goed	12-10	—	in klein zijtakje flinke verkleuring
goed	12-10	—	verkleuring zeer gering
goed	12-10	+	verkleuring gering
goed	12-10	—	uiterst weinig verkleuring
goed, 27-9 licht ziek	27-9	+	verkleuring aanwezig
goed	27-9	—	verkleuring vrijwel niet te vinden
goed	27-9	+	eenige verkleuring in klein zijtakje
goed, afgebroken takjes	12-10	+	duidelijke verkleuring
goed, afgebroken takjes	27-9	+	zeer weinig verkleuring (was ver- leden jaar geïnfecteerd)
geen opgave	12-10	0	geen verkleuring
goed, afgebroken takjes	12-10	+	verkleuring practisch = 0

Waarschijnlijk was de tijd van het jaar niet meer zoo gunstig voor het doorloopen van de infecties als eind Mei en Juni.

Uit de tabellen is verder te lezen, dat de kevers in zeer voldoende mate hebben gevreten aan *alle* iepen, waarop zij werden ingebonden. Wij merkten op, dat bij *U. glabra fastigiata* en in mindere mate bij *U. Wilsoniana* uit de vraatplekken vocht stroomde. Deze stroom houdt geruimen tijd aan, en het uitgevloeide vocht gaat gisten. Het is natuurlijk zeer wel mogelijk, dat de kevers vanwege deze vochtscheiding de betreffende iepen niet opzoeken om er hun „Reifungsfrass” aan te verrichten, wanneer zij er

niet, als bij de proeven, toe gedwongen worden.

Het constateeren van uitwendige ziekteverschijnselen werd bemoeilijkt door het feit, dat de kevers dikwijls zoo intensief hadden gevreten, dat kleinere takken geheel geringschild waren en dus afstierven. Het had dan soms den schijn, alsof dit afsterven het gevolg was van de infectie met *Graphium ulmi*. De geringschilden takken werden daarom zoo spoedig mogelijk verwijderd.

Duidelijke ziekteverschijnselen na de infectie door middel van kevers zijn opgetreden bij: *U. glabra fastigiata*, *U. foliacea* nr. 1, *U. hollandica belgica*, Karagatch iep en *U. foliacea* nr. 32. Op één na waren alle boomen, die ziekteverschijnselen vertoonden, geïnfecteerd met behulp van kunstmatig besmette kevers.

Dat *U. glabra fastigiata* ziekteverschijnselen vertoonde, verdient nog even te worden onderstreept, daar deze soort in de natuur niet dikwijls door iepenziekte wordt aangetast. Wij wezen er reeds op, dat bij *U. glabra fastigiata* rijkelijk sap wordt uitgescheiden op de plekken, waar de kevers hadden gevreten. Het is daarom mogelijk, dat *Scolytus* liever dezen boom vermijdt, wanneer hij zijn „Nachfrass” op andere iepen kan uitoefenen; hierdoor zou *U. glabra fastigiata* in de natuur minder kans loopen, om geïnfecteerd te worden.

Van de met behulp van het injectiespuitje geïnfecteerde boomen vertoonden duidelijke ziekteverschijnselen *U. glabra fastigiata*, *U. foliacea* nr. 1 en *U. hollandica belgica*. De overeenkomstige exemplaren van den Karagatch iep en *U. foliacea* nr. 32 vertoonden geen of slechts zeer geringe ziekteverschijnselen. (Uit andere infectieproeven is echter gebleken, dat de resultaten van de infecties bij deze iepen uiteen loopen en soms positief, soms negatief zijn). Het aantal geïnfecteerde planten is hier te klein, om de conclusie te kunnen trekken, dat bij deze iepen de keverinfectie meer kans op het ontstaan van ziekteverschijnselen zou bieden dan de infectie door middel van een injectiespuitje.

Vergelijken wij beide wijzen van infecteeren, dan blijkt, dat in het algemeen de resultaten met elkaar overeenstemmen. Wel kregen wij den indruk, dat bij de proeven op bovengeënte *U. foliacea* nr 1 de ziekteverschijnselen, opgetreden na de keverinfectie, intensiever waren. Vooral bij een tweede contrôle trad dit naar voren: terwijl de met behulp van kevers geïnfecteerde boomen nog duidelijk ziek waren, hadden de „geprikte” boomen zich grootendeels weer hersteld. In hoeverre dit verschil ook nog in het komende jaar zichtbaar zal zijn, zullen wij moeten afwachten.

In September en October werden takken van de voor de keverproeven gebruikte boomen gesneden, teneinde na te gaan of het mogelijk was, hieruit *Graphium ulmi* terug te isoleren. Wanneer

geen of vrijwel geen houtverkleuring was waar te nemen, werd in het algemeen geen terug-isolatie beproefd.

Van de 88 behandelde boomen legden wij in 68 gevallen stukjes hout uit, om ze op de aanwezigheid van *Graphium ulmi* te toetsen, en wel van 36 boomen, behandeld met kunstmatig besmette kevers en van 32 boomen, behandeld met kevers, zooals ze uit de schors waren opgevangen. In het eerste geval isoleerden wij 32 maal *Graphium ulmi*, in het tweede geval 11 maal.

Het was opvallend, dat *Graphium ulmi* soms nog uit het hout gekweekt kon worden, hoewel er vrijwel geen verkleuring in was waar te nemen.

Het is uit de proeven duidelijk gebleken, dat wij voortaan alle te gebruiken kevers kunstmatig met sporen van *Graphium ulmi* zullen moeten besmetten, daar anders in vele gevallen geen of slechts een zeer geringe infectie blijkt plaats te hebben.

Het is zeker gewenscht, dat deze proeven ook in den komende zomer worden voortgezet. Het aantal behandelde boomen is nu nog veel te klein, om er definitieve conclusies uit te kunnen trekken. De twijfel, die nog steeds kon bestaan, of een infectie met behulp van kevers bij resistente soorten en exemplaren niet véél ernstiger gevolgen zou hebben dan die door middel van een injectiespuitje, is naar onze meening thans echter vrijwel weggenomen. Ook de infectie met behulp van een injectiespuitje blijkt een goeden indruk te geven van de vatbaarheid van de verschillende iepen voor de iepenziekte.

Gaarne betuigen wij op deze plaats onzen dank aan de Heeren J. L. BOUWER, Directeur der Stadsbeplantingen te Haarlem en J. H. PERK, beheerder van de Kweekrij van den Rijkswaterstaat te Amersfoort, die ons de gelegenheid verschaften, de boven beschreven proeven te nemen.

De Heeren H. SPIJKER en H. M. VAN DRIE, belast met het toezicht op de boomen in de vermelde kweekrijen, hebben ons bij het verrichten van de proeven belangrijke diensten bewezen, hetgeen wij op hoogen prijs hebben gesteld.

SCHEMATISCHE VOORSTELLING VAN HET
KUNSTMATIG INFECTEEREN VAN SPINTKEVERS
MET GRAPHIUM ULMI SPOREN.

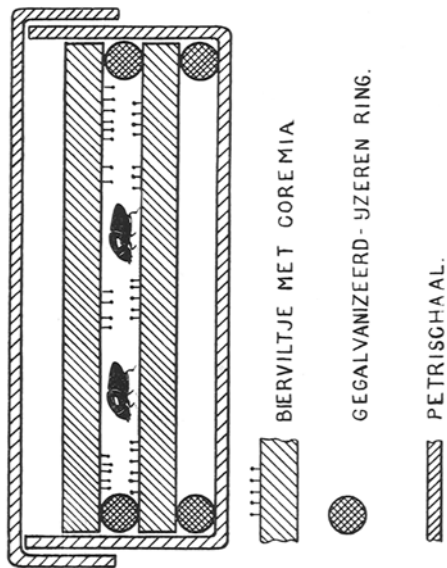


Fig. 1



Fig. 2

Coremiënvorming van *Graphium ulmi* op een bierviltje (vergroet). Slechts op de bedrukte gedeelten ontstaan coremiën, terwijl bijv. op de onbedrukte letter H alleen mycelium zichtbaar is.