

Soort	Gevoelig voor	
	stuiven	sputten
<i>Trichodectes subrostratus</i> NITZSCH., vachtluis	++	++
<i>Trogophloeus elongatulus</i> Ev., op komkommers (volwassen)	++	
tweestippelige weidewants zie <i>Calocoris</i>		
tijgervlinder zie <i>Spilosoma</i>		
vachtluizen zie <i>Trichodectes</i>		
<i>Vanessa urticae</i> L., kleine vos (rups)	+	
veelvraatruis zie <i>Macrothylacia</i>		
<i>Vespa spec.</i> , wespen (volwassen).	+ -	
vierhoornkever zie <i>Gnathocerus</i>		
vliegen zie <i>Calliphora</i> , <i>Lucilia</i> , <i>Musca</i> , <i>Scatophaga</i>		
vleeschvlieg (blauwe-) zie <i>Calliphora</i>		
vlooien zie <i>Otenocephalus</i> , <i>Pulex</i>		
vlookreeft zie <i>Gammarus</i> , <i>Talitrus</i>		
wapendrager zie <i>Phalera</i> , <i>Pygaera</i>		
wasmot (kleine-) zie <i>Achroea</i>		
waterleliehaantje zie <i>Galerucella</i>		
wespen zie <i>Vespa</i>		
wilgenbastardrups zie <i>Pteronius</i>		
wilgenhaantje zie <i>Phyllodecta</i> , <i>Plagiodera</i>		
wilgenhoutrups zie <i>Cossus</i>		
wolluis zie <i>Chermes</i> , <i>Eriococcus</i> , <i>Pseudococcus</i>		
zaadmot zie <i>Borkhausenia</i>		
<i>Zabrus gibbus</i> GOEZE, graanloopkever	-	-

Afdeling Handelsmuseum van het Koloniaal Instituut

Amsterdam, Februari 1943

EEN LABORATORIUMMETHODE VOOR DE BEPALING VAN DE VAT- BAARHEID VAN ROGGE VOOR AANTASTING DOOR HET STENGEL- AALTJE (*DITYLENCHUS DIPSACI* (KÜHN) FILIPJEV)

(With a Summary)

DOOR

Ir J. W. SEINHORST

Het stengelaaltje is vooral in Limburg een belangrijke parasiet van de rogge, terwijl ook in Noord-Brabant, in de Lijmers en langs den IJssel in Gelderland en Overijssel de rogge nogal eens aangetast wordt. De aangerichte schade kan in verschillende jaren sterk uiteenlopen. Zo kwam in 1943 betrekkelijk weinig reup voor. In het voorjaar van 1944 trad ze veel meer op, terwijl in 1940 en 1941 heel veel reup voorkwam. In Limburg moest toen ± 250 ha omgeploegd worden (DEWEZ (3)), omdat deze oppervlakte tengevolge van reup-aantasting kaal of heel dun van stand geworden was. Eigen waarnemingen in 1940 en later leerden, dat de landbouwers percelen met een vrij groot percentage planten, die door het stengelaaltje aangetast zijn, nog laten staan. Zo werd de stand van de Petkuser

rogge bij rassenproeven op besmette terreinen door de proefveldhouders nog als vrij gunstig beoordeeld, terwijl bij de opbrengstbepalingen bleek, dat de Petkuser $\pm 20\%$ minder opbracht dan de onvatbare Ottersumse rogge en dus minstens 30% bleef beneden de opbrengst, die verkregen zou zijn, indien er geen aaltjes-aantasting was opgetreden. Bij de bovengenoemde 250 ha moeten dus nog vele hectaren met een sterk verminderde opbrengst geteld worden. Bestrijding van deze ziekte is dus vooral voor Limburg van het grootste belang. Men kan hierbij twee wegen bewandelen. De eerste weg is die van verbetering van de structuur van bouwvoor en ondergrond door middel van organische bemesting, een goede grondbewerking en het verbouwen van hakvruchten. De tweede weg is het verbouwen van resistente rassen.

De eerste bestrijdingswijze is hier te lande vooral gepropageerd door CLEVERINGA (2). Indien men over voldoende organische mest kan beschikken en niet te vaak met rogge op hetzelfde perceel terugkomt, kan men hiermee heel goede resultaten bereiken. Ook waar men geen last heeft van aaltjes zal de landbouwer met deze middelen de productiviteit van zijn akker zo veel mogelijk in stand dienen te houden of te vergroten. Het is echter zeer de vraag, of men in Limburg onder de omstandigheden der laatste jaren voor en gedurende de oorlog in staat was, de reeds tientallen jaren meer of minder hevig optredende aaltjesziekte in rogge op deze wijze geheel te verdrijven. In veel gevallen gaan hier namelijk moeilijke grond en gebrek aan stalmest samen. Het lijkt ons daarom gewenst, naast de eerste weg ook de tweede bruikbaar te maken, want pas dan kan den landbouwer ook onder de slechtste omstandigheden zekerheid ten opzichte van het stengelaaltje geboden worden.

Reeds bijna twintig jaar geleden werden pogingen in deze richting gedaan door KOESLAG (6). Hij onderzocht een grote collectie roggerassen uit alle delen der wereld op hun vatbaarheid voor reup en vond, dat slechts twee landrassen een enigszins belangrijke mate van resistentie bezaten, nl. de Ottersumse rogge en de Pulder rogge. Een nog uitgebreider onderzoek van KORTHOFF (7) kon dit resultaat slechts bevestigen. Het beste van deze rassen was de Ottersumse rogge, maar onder normale omstandigheden blijft ze, ondanks de grote verbetering, die ze door de op de Proefboerderij Hoosterhof uitgevoerde selectie heeft ondergaan, toch nog vrij veel in opbrengst achter bij de goede cultuurrassen, zoals de Petkuser. In gevallen van geringe aantasting, gaat een landbouwer daarom niet over tot het verbouwen van het resistente ras, maar neemt liever een kleine opbrengstvermindering van de Petkuser door aaltjes-aantasting op de koop toe.

Om tot een beter ras te komen is KOESLAG begonnen met selectie in de Petkuser rogge. Hij verzamelde de weinige planten, die op zwaar aangetaste plekken nog overbleven, in de hoop, dat deze resistenten zouden zijn dan het gemiddelde. De verzamelde planten werden bij elkaar uitgepoot en het zaad, dat ervan gewonnen werd, werd weer op zwaar zieke akkers uitgezaaid. Het resultaat van dit werk was echter weinig bevredigend. Daar KOESLAG zijn proeven deed op met aaltjes besmette akkers, werd hem het onderzoek ook te bezwaarlijk. De reupvelden lagen te ver van Wageningen. Zijn materiaal deed hij daarom al spoedig over aan STIELTJES (8). Deze verrichtte ook verschillende kruisingen tussen Petkuser en Ottersumse rogge. Als resultaat van dit werk bracht hij in 1936 een ras uit, dat weinig vatbaar was voor het stengelaaltje, welk ras hij „Tolerant” noemde. Met de Petkuser kon het echter ook nog lang niet wedijveren. Door de dood van STIELTJES in 1940 is echter ook aan dit werk een eind gekomen. De Tolerant-rogge is nu al enige jaren niet meer verkrijgbaar. Het aaltjesvraagstuk bleef

echter van het grootste belang, vooral voor Limburg, en daarom nam Dr WELLEN-SIEK in 1943 ook het telen van een reupresistent ras op in het kader van een uitgebreid veredelingswerk met rogge. Het doel van dit deel van het onderzoek is een ras te kweken met de goede eigenschappen van onze beste cultuurrassen en de onvatbaarheid voor aaltjesziekte van de Ottersumse en de Pulder rogge. Dit doel moet bereikt worden door kruising van bepaalde stammen uit de Petkuser rogge met resistente stammen uit de Ottersumse en de Pulder rogge. Door voortdurend vatbaarheidsonderzoek moeten telkens de vatbare planten afgescheiden worden, om bij voortzetting van de veredeling steeds van beslist onvatbare planten uit te kunnen gaan. Dit vatbaarheidsonderzoek wordt door schrijver dezes uitgevoerd.

METHODE VAN BESMETTING

De keuze der methode voor het onderzoek naar de vatbaarheid van roggeplanten voor het stengelaaltje werd voornamelijk door twee eisen bepaald. In de eerste plaats moest zoveel mogelijk plant voor plant onderzocht kunnen worden. Om onnodig werk te voorkomen moest van elke bij de veredeling betrokken plant bekend zijn, of ze al of niet vatbaar was voor reup. In de tweede plaats moest de gevolgde methode het mogelijk maken zowel kiemplanten als delen van klonen, dus oudere planten, te onderzoeken.

Er waren drie manieren, waarop de te onderzoeken planten aan infectie blootgesteld konden worden:

1. Door ze uit te planten op een zwaar met aaltjes besmette akker.
2. Door de planten te zetten in potten met geïnfecteerde grond.
3. Door stengelaaltjes in of op de te onderzoeken planten te brengen.

De eerste methode werd toegepast door KOESLAG (6), STIELTJES (8) en KOTTHOFF (7). De bezwaren er tegen zijn echter zo groot, dat ze al direct verworpen moest worden. In de eerste plaats is er geen akker te vinden, waarop elk jaar alle vatbare planten reup gaan vertonen. Dit blijkt reeds duidelijk uit de cijfers van KOESLAG en KOTTHOFF. De verschillende parallelen van hetzelfde ras vertoonden bij hen namelijk heel verschillende percentages zieke planten, terwijl b.v. bij het zeer vatbare ras Petkuser steeds nog een vrij belangrijk percentage gezonde planten voorkwam, wat beslist niet op resistentie kon berusten, zoals ook duidelijk bij onze eigen proeven bleek. Voor een vergelijking tussen verschillende rassen moge een veldproef te gebruiken zijn; voor ons doel, waarbij het op onderzoek van iedere plant afzonderlijk aankwam, was deze methode onbruikbaar, want vertoonde een plant geen symptomen, dan zou dit nog allerminst op resistentie behoeven te wijzen. Daarbij is het optreden van reup op een bepaald veld niet alleen afhankelijk van de aanwezigheid van aaltjes, maar ook van bemesting, grondbewerking en weersomstandigheden. Wel is de reup een hardnekkige kwaal, maar het percentage planten, dat er aan ten offer valt, kan toch sterk variëren in verschillende jaren. Daar kwam in ons geval nog bij, dat de dichtstbijzijnde met reup behepte akkers ongeveer 40 km van onze standplaats lagen, wat regelmatige controle al bijna onmogelijk maakte.

Verscheidene onderzoekers hebben hun planten gekweekt in potten met geïnoculeerde grond. Met de grond werden door aaltjes aangetaste plantendelen gemengd. Op deze manier werden vaak goede resultaten verkregen. Ook hier kan men er echter niet op rekenen, dat steeds alle vatbare planten aangetast zullen worden. Juist bij het gebruik van de voor potproeven zo geschikte bladaarde

treedt weinig infectie op. Ook zou de hoeveelheid inoculatiemateriaal, die voor een wat uitgebreider onderzoek nodig zou zijn, erg groot worden, vooral bij het werken met oudere planten, die veel meer potruimte per plant vragen dan kiemplanten.

Als bruikbaar bleven dus alleen die methodes over, waarbij de aaltjes direct in aanraking met de plant gebracht worden met uitschakeling van de grond als tijdelijk milieu voor de aaltjes. Over deze methoden waren in de literatuur slechts enkele en dan nog gedeeltelijk weinig hoopvolle gegevens te vinden. Volgens GOODEY (4) is het mogelijk klaverplanten met behulp van fijne pipetten met eieren van het stengelaaltje te inoculeren. Enige tijd na de inoculatie vond hij in de planten nematoden in verschillende ontwikkelingsstadia. HODSON (5) vergeleek de percentages aangetaste planten, die hij verkreeg door de planten te laten groeien op kunstmatig besmette grond en door ze te injecteren met een aaltjes-suspensie. Van de geïnjecteerde planten werd slechts ongeveer 70 % ziek. Voor ons doel was dit een te laag percentage. Het bleek ons echter mogelijk, de aaltjes op zodanige wijze in de planten of tussen de nauwaaneensluitende delen van planten te brengen, dat deze werkwijze aan alle gestelde eisen voldeed. Er moest daartoe van injectie worden afgezien. De aaltjes werden met heel weinig water door middel van een naald in de plant gebracht. Het uitblijven van symptomen na inoculatie bij vatbare planten bleek bij deze methode slechts zelden voor te komen en in zulke gevallen kon steeds door herhaling van de inoculatie de fout achterhaald worden. Zowel kiemplanten als oudere planten waren goed te bewerken, terwijl behalve bij rogge ook bij klaver, maïs en aardappelspruiten mooie symptomen verkregen konden worden. De werkwijze, die bij rogge gevolgd werd, wordt hieronder beschreven.

VERZAMELING VAN AALTJESMATERIAAL

Grote aantallen stengelaaltjes kunnen alleen uit aangetaste planten verkregen worden. Daarom werden gedurende de winter en het voorjaar aangetaste planten verzameld op roggepercelen in de Lijmers en Noord-Limburg. Het grootste gedeelte hiervan werd in bladaarde gepoot, waar ze soms tot Juni in leven bleven. Vooral in het voorjaar ontwikkelden deze planten veel nieuwe hevig aangetaste scheuten. Terwijl de planten op het ogenblik der verzameling slechts enkele honderden stengelaaltjes en vaak een vrij groot aantal niet-parasitaire aaltjes bevatten, was na enkele maanden het aantal stengelaaltjes aangegroeid tot enige duizenden, terwijl er naar verhouding veel minder niet-parasitaire aaltjes voorkwamen. Ook tussen de stoppels groeiende opslagplanten bleken soms hevig aangetast te zijn. Deze werden in Augustus verzameld en in September gebruikt om aaltjes te leveren. Behalve deze groene planten werden in Juli bijna rijpe halmen verzameld van planten met tengevolge van aaltjesziekte afgestorven scheuten. De reeds afgestorven scheuten zijn minder bruikbaar, daar ze naar verhouding te veel niet-parasitaire aaltjes bevatten, waardoor men of met grote hoeveelheden zeer onzuiver materiaal zou moeten inoculeren of een tijdrovende zuivering zou moeten uitvoeren. De meeste stengelaaltjes, met betrekkelijk weinig niet-parasitaire soorten vermengd, vindt men in nog niet afgestorven delen, die duidelijke symptomen vertonen. Deze symptomen zijn in de eerste plaats korte dikke stengel-leden, waardoor de scheut te kort blijft, en verder verkleuringen. Het eerstelid van schijnbaar gezonde halmen kan echter ook vrij grote aantallen aaltjes bevatten, indien een deel van de plant duidelijke symptomen vertoont. Al deze

bijna rijpe stengeldelen konden heel goed gedroogd en bewaard worden. Ze leverden na maanden nog grote aantallen stengelaaltjes, voor het overgrote deel in het vierde larvestadium.

VERZAMELING VAN AALTJES UIT PLANTENDELEN

De aaltjes werden uit de plantendelen afgescheiden en verzameld door middel van de trechtermethode van BAERMANN. De plantendelen werden, zoveel mogelijk uit elkaar getrokken, op een zeefje van kaasdoek gebracht. Na enige minuten tot enige uren zag men de aaltjes in de trechter naar beneden zinken, al naar men vers of gedroogd materiaal gebruikte. Geregelde verversing van het water, bleek het aantal aaltjes, dat te voorschijn kwam, sterk te vergroten. De plantendelen gaven aan het water stoffen af, die blijkbaar verlamdend op de aaltjes werkten, want enige tijd nadat de plantendelen in het water waren gezet, zag men vrij plotseling de bewegingen der aaltjes in het bovenste gedeelte van de trechter ophouden. Er kwamen dan geen aaltjes meer door het zeefje. Zette men de plantendelen daarna in vers water, dan kwamen opnieuw grote hoeveelheden aaltjes te voorschijn tot zich bovengenoemd feit herhaalde. Bij vers materiaal kon men soms door elk half uur vers water te geven gedurende een gehele dag telkens opnieuw aaltjes te voorschijn laten komen. Bij het verplaatsen van het zeefje naar een trechter met vers water werd zoveel mogelijk het aan het materiaal hangende water uitgeperst in de verlaten trechter. Om te voorkomen, dat daardoor plantendelen in het water terecht kwamen, werd vaak op het zeefje eerst een laagje watten gelegd.

Om de aaltjes in zo weinig mogelijk water te verzamelen, werd aan het rubber slangetje onder aan de trechter, dat met een klemkraan afgesloten kan worden, een uitgetrokken en daarna dichtgesmolten glazen buisje bevestigd. De aaltjes verzamelden zich in het nauwe gedeelte van dit buisje in een dichte kluit. Door de klemkraan te sluiten kon het buisje verwijderd worden, zonder dat de trechter leegliep, en eventueel een ander buisje aangebracht worden.

REINIGING EN ONTSMETTING

Doordat de aaltjes zich in het nauwe gedeelte van het uitgetrokken buisje verzamelden, kon, na het losmaken van dit buisje van de trechter, door middel van een pipet met een lang nauw gedeelte, gemakkelijk het meeste water eruit gezogen worden, zonder dat er aaltjes mee verdwenen. Daar zich in dit water meestal opgeloste stoffen en zwevende deeltjes bevonden, was dit al een begin van reiniging. Was dit nog niet voldoende, dan werd het buisje weer bijgevuld met schoon water. Door omschudden werd de druppel vloeistof met de aaltjes, die in het nauwe gedeelte overgebleven was, weer over de hele buis verdeeld en dus sterk verdund. Na het bezinken van de aaltjes werd weer zoveel mogelijk vloeistof verwijderd en de hele bewerking werd zo vaak herhaald, als nodig was voor een goede reiniging. Tenslotte werd de dicht gesmolten punt van het uitgetrokken gedeelte van het buisje afgebroken en de druppel vloeistof met de aaltjes er uit geblazen op een geparaffineerd glasplaatje of horlogeglas.

In de regel was een grondiger reiniging niet nodig. Inoculaties, die met aldus bewerkte aaltjes werden uitgevoerd, gaven steeds symptomen, die typisch waren voor aaltjesaantasting. Van een optreden van andere ziekten, die met het inoculatiemateriaal in de plant gebracht konden zijn en die afwijkingen van het normale beeld van aaltjesziekte veroorzaakten, was nooit sprake bij roggeplanten,

zodat voor het vatbaarheidsonderzoek maar zelden tot ontsmetting van het inoculatiemateriaal werd overgegaan. Werd dit wel gedesinfecteerd, dan gebeurde dat met sublimaat 2 ‰. CHRISTIE (1) behandelde *Aphelenchus fragariae* een half uur lang met sublimaat 0,5 ‰. Bij een concentratie van 2 ‰ moest dus een veel kortere duur van ontsmetting toegepast kunnen worden. Stengelaaltjes vertoonden na een behandeling van vijf minuten met sublimaat 2 ‰ de eerste vergiftigingsverschijnselen. Ze rolden zich op of bewogen zich veel minder snel en regelmatig dan gewoonlijk. Na tien minuten was alle beweging opgehouden en lagen de aaltjes gestrekt. Nadat ze drie minuten ontsmet waren infecteerden ze echter kers-, mout- en bonenagar al niet meer met daarop groeiende micro-organismen. Daarom werd later steeds een behandeling gedurende drie minuten toegepast. Dit kon niet in dezelfde buis, als waarin de reiniging van de aaltjes van vuil en opgeloste stoffen plaats vond, daar dan de sublimaat aan het eind van de behandeling niet snel genoeg verwijderd kon worden. Het gemakkelijkst kon de ontsmetting uitgevoerd worden op geparaffineerd glas. De aaltjes werden met zo weinig mogelijk water uit de uitgetrokken buis op het geparaffineerde glas gebracht. Op de paraffine blijft het water in een druppel liggen en dus blijven ook de aaltjes bij elkaar. Ze kunnen zich niet uit de druppel begeven, daar ze niet voldoende houvast hebben om de oppervlaktespanning van het water te overwinnen. Pas als er heel weinig water tussen de aaltjes overblijft, gaan ze zich over de paraffine verspreiden. Stof en vocht op de paraffine doet ook de druppel uitlopen. Het beste beviel steeds een pas gestold paraffinelaagje. Voor het gebruik werd het plaatje dus even verhit en weer afgekoeld.

Voor de ontsmetting werd met een nauwe pipet zoveel mogelijk water uit de druppel met de aaltjes weggezogen. Daarna werd snel een druppel sublimaat toegevoegd, deze weer weggezogen en een nieuwe druppel op de aaltjes gebracht, dit om te voorkomen, dat het water, dat nog tussen de aaltjes overgebleven was, de sublimaat te sterk zou verdunnen. Had de sublimaat lang genoeg ingewerkt, dan werd ze weggezogen en vervangen door een druppel water, die op zijn beurt weer vervangen werd door een tweede druppel en deze bewerking werd herhaald tot verwacht kon worden, dat alle sublimaat verwijderd was.

DE INOCULATIE

Al spoedig bleek, dat aan het injiceren van een plant met een aaltjessuspensie allerlei moeilijkheden verbonden waren. Gebruikte men een suspensie van aaltjes in weinig water dan kon men deze zelfs met een vrij grove holle injectienaald niet in zijn geheel opzuigen. Het water werd wel opgezogen, maar de aaltjes bleven voor een groot gedeelte achter. Lukte het toch de aaltjes met weinig water op te zuigen, dan bleven bij het uitspuiten in de plant er veel aan de binnenzijde van de naald kleven. Gebruikte men meer water, dan spoelde een gedeelte van de aaltjes weg bij de injectie, omdat er in de plant maar heel weinig plaats is voor water. De inoculaties door middel van injectie slaagden dan ook slechts gedeeltelijk. Uit een dichte suspensie bleken echter met een platte stalen of glazen naald gemakkelijk aaltjes weg te nemen te zijn. Bij een suspensie met veel water spoelen ze van de naalden af en kan men bij voorzichtig manipuleren hoogstens enige aaltjes tegelijk uit de vloeistof halen. Bij een dichte suspensie, zoals bij het ontsmetten met sublimaat gebruikt werd, blijven de aaltjes echter aan elkaar hangen. Met een platte stalen of een dunne glazen naald met een verdikking aan het eind om afglijden te voorkomen, kan men dan gemakkelijk enige tientallen tot enige

honderden aaltjes tegelijk uit de suspensie halen. Er gaat heel weinig water mee. Het bleek, dat zo'n kluitje aaltjes gemakkelijk in of tussen plantendelen te brengen was. Bij de inoculatie van graanplanten werd aan de voet van de scheut in het coleoptiel (bij kiemplanten) of in de buitenste bladschede (bij oudere planten) een verticaal sneetje gemaakt. Door de kiemplant of de scheut wat te buigen ging dit spleetje open, waardoor de naald met het kluitje aaltjes tussen coleoptiel en bladschede of tussen eerste en tweede bladschede gebracht kon worden. Bij het terugtrekken van de naald werden de aaltjes gemakkelijk afgestreken en bleven zo tussen deze plantendelen zitten. Aaltjes, die eventueel buiten op de plant afgestreken waren bij het inbrengen, konden gemakkelijk met de smalle kant van de naald naar binnen gedrukt worden. Zo kwamen ze in nauwe aanraking met de plantendelen, die zij gewoonlijk aantasten, zonder dat er veel schadelijke invloeden op hen konden inwerken. Bij dicotyle planten, zoals klaver, konden de aaltjes direct tussen de jongste opgevouwen blaadjes gebracht worden, of bij oudere planten in de oksel van een blad. Prikkelde men dan de okselknoppen tot uitlopen, door het uitsnijden van de top van de plant, dan kreeg men zijscheuten met symptomen. Het was slechts nodig te zorgen, dat de aaltjes niet uitdroogden voor ze konden binnendringen of door gieten van de planten weggespoeld werden. Beschadiging van de plant was voor het verkrijgen van infectie niet nodig. Ze misvormde vaak zelfs het beeld. Bij graanplanten moet men echter wel een sneetje maken om de aaltjes op de beste plaats te brengen. Op een andere manier kan men niet tussen de elkaar nauw omsluitende bladscheden komen. Op deze wijze uitgevoerde inoculaties slaagden bijna altijd, mits natuurlijk ook alle andere voorwaarden ervoor vervuld waren. Nadat enige routine verkregen was in het inbrengen van de aaltjes ontsnapte bijvoorbeeld geen enkele Petkuserroggekiemplant meer aan infectie na inoculatie.

DOSERING DER AALTJES

Ten einde vast te kunnen stellen, wat de meest gewenste hoeveelheid aaltjes was, waarmee geïnoculeerd moest worden om betrouwbare symptomen te krijgen, was het nodig binnen vrij nauwe grenzen bepaalde aantallen aaltjes toe te dienen. Eerst werd getracht dit doel te bereiken, door met fijne glazen naalden de aaltjes stuk voor stuk uit een suspensie over te brengen in de planten. Daar dit echter zelfs voor kleine proeven te tijdrovend was, werd al spoedig omgezien naar een snellere methode met dezelfde voordelen als de langzame. Deze werd gevonden in het gebruik van fijne pipetten.

De aaltjes werden met een flinke hoeveelheid water in een horlogeglas gebracht, zodat ze niet te dicht op elkaar lagen. Met een binoculair waren dan bij een vergroting van 25 maal en doervallend licht de stengelaaltjes goed te onderscheiden van andere soorten, door hun slanke bouw en donkere lichaamsinhoud, terwijl ook vrij goed verschillende larvestadia en volwassen dieren van elkaar te onderscheiden waren. Met een fijne pipet konden nu de meest gewenste exemplaren opgezogen worden. Hierdoor was in de eerste plaats een scherpe selectie mogelijk en in de tweede plaats kon men tegelijk tellen. Was de gewenste hoeveelheid aaltjes opgezogen, dan werd de pipet rechtop gezet met de punt naar beneden. De aaltjes bezonken in het nauwe gedeelte, waarna ze, zoals in het bovenstaande reeds beschreven werd, op een geparaffineerde glasplaat gebracht werden, van overtollig water ontdaan en met een platte naald in de te inoculeren plant gebracht. Zowel bij het verwijderen van het water als bij het wegnemen van de

aaltjes van de paraffine werd steeds met de binoculair gecontroleerd of er geen verdwenen of achterbleven.

Om tegelijk door de binoculair te kunnen kijken en de aaltjes op te zuigen werd de pipet met een gummislang verbonden aan een gummibolletje. Met de rechterhand werd de pipet gehanteerd, met de linkerhand werd het gummibolletje vastgehouden en het schaalpje met aaltjes verschoven. Voor de pipet in de slang geschoven werd, werd het gummibolletje, dat slechts één opening mag hebben, nl. via de slang, wat ingedrukt. Tengevolge van de veerkracht van de rubber ontstond er dan in het bolletje een geringe onderdruk. Door meer of minder op het bolletje te drukken kon naar believen al of niet gezogen, of zelfs weer vloeistof uit de pipet geperst worden.

De gebruikte pipetten moesten aan verschillende eisen voldoen. Het in het water stekende gedeelte mocht niet meer dan 1 mm wijd zijn, daar er anders een te grote vervorming van de waterspiegel optrad, wat het gezicht op de aaltjes ernstig belemmerde. De capillair aan het eind van de pipet moest verder een geschikte breedte hebben. Ongeveer 100 à 150 μ bleek het beste te bevalen. Stengel-aaltjes konden daar nog gemakkelijk doorheen (ze zijn hoogstens 60 μ dik) terwijl toch geen sterke toestroming naar de opening plaats had, waardoor verschillende aaltjes tegelijk naar binnen zouden schieten. Tevens kon, ondanks de onderdruk, die er in het apparaat heerste, geen lucht door de nauwe capillair binnentreden, als deze uit het water genomen werd, wat bij een bredere opening wel zou gebeuren en waardoor water en aaltjes in de slang en het bolletje zouden verdwijnen. Om deze reden mocht ook het gebruikte bolletje niet van te dik en te stijf rubber zijn. Verder moest de glazen wand van de capillair zo dun mogelijk zijn. Was deze te dik, dan ontstonden er hinderlijke wervelingen om de punt van de capillair, het zicht werd belemmerd en de aaltjes gingen veel moeilijker naar binnen, daar ze te veel toevallig met de capillair in aanraking kwamen. Ze gingen zich dan bewegen met vrij starre bochten aan voor- en achtereind van het lichaam en bleven gemakkelijk in de capillair steken, waar ze voor volgende exemplaren de weg versperden.

Was een minder nauwkeurige dosering ook voldoende en was er geen selectie nodig, dan kon sneller gewerkt worden, door uit een aaltjessuspensie met een pipet van ± 1 mm breedte telkens een bepaalde hoeveelheid op te zuigen. Vlak voor het opzuigen moest dan telkens de suspensie geschud worden om grove fouten, ontstaan door het bezinken der aaltjes, te voorkomen. Bij nauwkeurig werken weken de opgezogen hoeveelheden aaltjes niet meer dan 20 % van het gemiddelde af. Overtollig water kon weer verwijderd worden, door de meetpipet leeg te spuiten in een uitgetrokken en dichtgesmolten buisje, waarin de aaltjes bezinken konden.

Bij de gewone serie-inoculaties voor vatbaarheidsonderzoek werd nooit geteld of afgemeten. Nadat eenmaal bepaald was, welke hoeveelheden aaltjes ongeveer voor inoculatie nodig waren, werd in zulke gevallen steeds geïnoculeerd met kluitjes aaltjes, die met een naald uit een dichte suspensie genomen werden. Aan de grootte van het kluitje kon met voldoende nauwkeurigheid vastgesteld worden hoeveel aaltjes per inoculatie gebruikt werden.

ONDERZOEK MET ROGGEKIEMPLANTEN

Om de meest gunstige omstandigheden te vinden voor het ontstaan van symptomen van aaltjesziekte na inoculatie werd de invloed van drie factoren hierop onderzocht:



Fig. 1. Roggeplanten gegroeid in kas bij 17 à 20° C.
Rechts: geïnoculeerd als kiemplant met stengelaaltjes. Links: niet geïnoculeerd



Fig. 2. Roggeplanten buiten gegroeid bij $\pm 10^{\circ}$ C.
Rechts: geïnoculeerd als kiemplant met stengelaaltjes. Links: niet geïnoculeerd



Fig. 3. Oudere planten (stukken van klonen), waarbij jonge scheuten met aaltjes geïnoculeerd zijn

- a. de hoeveelheid aaltjes per inoculatie,
- b. het ontwikkelingsstadium van de plant op het ogenblik van de inoculatie en
- c. de temperatuur.

Als proefplanten werden kiemplanten van Petkuser winterrogge gebruikt.

a. Het aantal aaltjes per inoculatie

Bij het onderzoek van jonge roggeplanten (met één blad) met duidelijke symptomen van aaltjesziekte, die begin November op een veld verzameld waren, werden 30-100 aaltjes per plant gevonden. Werden dus bij een inoculatie ook dergelijke hoeveelheden levende aaltjes in de plant gebracht, dan zouden symptomen moeten optreden. Inoculaties werden nu gedaan met 25, 50 en 100 aaltjes per plant. Met alle drie hoeveelheden werden onmiskenbare symptomen verkregen. De planten, die met 100 aaltjes geïnoculeerd waren, vertoonden echter heviger verschijnselen van aaltjesziekte dan die, welke kleinere doses ontvangen hadden. Bij verdere inoculaties werden daarom steeds ongeveer 100 aaltjes per plant toegediend.

b. Het ontwikkelingsstadium van de plant bij inoculatie

Roggeplanten, die gegroeid waren uit op dezelfde dag gepote korrels, werden op verschillende tijden geïnoculeerd: de eerste groep toen het eerste blad te voorschijn kwam, de tweede groep toen de planten drie of vier bladeren droegen en de derde groep, nadat zich drie of vier scheuten ontwikkeld hadden.

De planten met één blad en met drie of vier bladeren tijdens de inoculatie ontwikkelden gelijke duidelijke symptomen. Die met drie of vier scheuten gaven echter zo goed als geen reactie op de aaltjes te zien. Deze scheuten waren vrij lang en slap. Met het oog op andere waarnemingen is het waarschijnlijk, dat hier niet het ontwikkelingsstadium van de plant, maar de tijd van het jaar, waarin deze inoculaties gedaan werden, de belangrijkste rol speelde, waarover hieronder nog meer. Dat ook scheuten van reeds uitgesteelde planten symptomen kunnen geven na inoculatie, bleek bij het werken met stukken van klonen. Een bezwaar bij reeds uitgesteelde planten, vooral wanneer deze in een kas gegroeid zijn, is, dat de scheuten vrij dun en slap worden, waardoor ze insnijding en inoculatie slechter verdragen dan kiemplanten. Daarom verdient inoculatie in een vroeg ontwikkelingsstadium de voorkeur.

c. Invloed van de temperatuur

Van planten, geïnoculeerd met verschillende hoeveelheden aaltjes en in verschillende ontwikkelingsstadia, werden er evenveel buiten als in een kas opgekweekt, behalve die, welke met 25 aaltjes per plant geïnoculeerd waren. Deze werden alleen buiten opgekweekt. De proef werd gedaan van 3 April tot eind Mei. De buitentemperatuur was gedurende de eerste weken van de proef ongeveer 10° C overdag. In de kas was ze 17 à 20° C. Vooral buiten traden grote schommelingen op. Zowel buiten als in de kas ontwikkelden zich duidelijke symptomen van aaltjesziekte. Alleen waren de planten in de kas wat langer en slapper dan buiten (zie Plaat II, fig. 1 en 2). Dit verschil was het sterkst bij de contrôles, maar trad ook duidelijk op bij de zieke planten. Bij hun verdere ontwikkeling bleven de met 100 aaltjes geïnoculeerde planten zowel buiten als in de kas zwaar ziek. De planten geïnoculeerd met 50 aaltjes bleven buiten zwaar ziek. In de kas kregen deze echter gezonde scheuten toen ze gingen uitstoelen.

In April 1944 werd de invloed van de temperatuur nogmaals nagegaan. Ditmaal kon bij drie temperaturen gewerkt worden, nl. 8 °C, 15 °C en een temperatuur schommelend tussen 15 en 25 °C al naar het weer. De proefplanten werden geïnoculeerd met ± 150 aaltjes per plant. Vanaf ongeveer een week na de inoculatie tot op het ogenblik, dat de proef afgebroken werd, drie weken na de inoculatie, vertoonden alle planten hevige symptomen, terwijl de invloed van de temperatuur zwak tot uiting kwam in de ontwikkelingssnelheid van de planten, maar niet in de ziekteverschijnselen.

Gedurende het voorjaar kan men dus zowel buiten als in de kas bij verschillende temperaturen betrouwbare symptomen verwachten, indien men vatbare roggeplanten inoculeert met voldoende aaltjes. In herfst en winter werden geen speciale temperatuurproeven gedaan, maar uit verschillende waarnemingen kan afgeleid worden, dat het bovenstaande ook voor deze jaargetijden geldt. Voor de zomer moet echter een uitzondering gemaakt worden. Tot nu toe kon de invloed van temperaturen beneden 15 °C in deze tijd van het jaar niet nagegaan worden. Bij 15 °C en hoger krijgt men echter in Juli en begin Augustus geen betrouwbare symptomen bij roggekiemplanten. In het gunstigste geval kan men wat aaltjes de zomer overhouden in rogge, die in Juni of begin Juli gezaaid is. Vermenigvuldiging treedt in die periode niet op. Meestal verdwijnen de aaltjes zelfs uit de planten. De oorzaak hiervan is nog niet bekend. Bij het vatbaarheidsonderzoek dwingt dit verschijnsel ons inoculaties niet gedurende een periode van eind Mei tot half Augustus te verrichten. Wel geven inoculaties in de eerste weken van Juni nog symptomen, maar men kan planten, die geen symptomen vertonen, niet nog eens inoculeren, daar men dan te ver in de zomer komt. Kan men met de herhaling van inoculatie wachten tot in de herfst of desnoods tot het volgende voorjaar, dan kan men ook nog vatbaarheidsonderzoek doen gedurende de eerste helft van Juni.

DE INVLOED VAN DE GROND OP DE ONTWIKKELING VAN SYMPTOMEN

Hierover werden geen speciale onderzoeken gedaan. De roggeplanten werden bijna steeds gekweekt in gesteriliseerde bladaarde, al of niet bemest met A.S.F.-korrels. Brengt men stengelaaltjes in deze bladaarde en kweekt men er daarna roggeplanten in, dan treedt er weinig of geen aantasting op. Inoculaties van planten gekweekt in deze grond slaagden echter zeer goed, zoals hiervoor reeds vermeld werd. Een enkele keer werden planten gekweekt in grond, die van met aaltjes besmette akkers afkomstig was. De symptomen, die hierbij verkregen werden, verschilden niet van die der in bladaarde gekweekte planten. Alleen groeiden in de bladaarde de planten wat weliger, waardoor ze niet zo snel afstierven in gevallen van hevige aantasting. Van belang voor het vatbaarheidsonderzoek waren deze geringe verschillen niet. Men kan veilig aannemen, dat de voor deze onderzoeken in aanmerking komende grondsoorten en potaardemengsels de vorming van symptomen niet zullen beïnvloeden.

DE ONTWIKKELING VAN SYMPTOMEN NA INOCULATIES

Het eerste verschil tussen geïnoculeerde planten en op dezelfde wijze, maar zonder aaltjes behandelde contrôles, was al enige dagen na de inoculatie duidelijk zichtbaar. Bij de geïnoculeerde planten kwamen de bladeren minder snel te voorschijn dan bij de contrôles. Na drie of vier dagen traden de eerste speciale symptomen op. De planten gingen verdikkingen vertonen of de jonge bladeren puilden

naar buiten door de snede, die voor de inoculatie gemaakt werd. Deze uitpuilende delen vertoonden al vaak het iets lichter gekleurde, sponsachtige weefsel, dat voor aaltjesaantasting kenmerkend is. Ook bij de contrôles trad soms deze uitpuiling op, maar het weefsel zag er dan duidelijk gezond uit. Eén week na de inoculatie waren in veel gevallen al duidelijke symptomen waar te nemen, terwijl na twee à drie weken met zekerheid gezegd kon worden of een plant ziek was of niet.

INOCULATIES BIJ OUDERE PLANTEN

Ook bij oudere planten moest nagegaan kunnen worden of ze vatbaar of resistent waren voor reup, in de eerste plaats om planten, die aanvankelijk geen symptomen gaven na inoculatie, nog eens te kunnen beproeven en in de tweede plaats om planten, die men behouden wilde, na het maken van klonen te kunnen onderzoeken. Verder zouden bij de mogelijkheid van onderzoek van oudere planten, zowel voor de datum van het uitzaaien als voor de inoculaties vrijwel onafhankelijk van elkaar de meest gunstige tijdstippen gekozen kunnen worden. In het voorjaar van 1943 verschaft Dr WELLENSIEK een viertal klonen, die elk uit tien stukken bestonden. Deze klonen hadden de winter doorgemaakt en gingen dus doorschieten. In de oudere scheuten waren al vrij lange stengelleden en aren te vinden. De klonen werden op verschillende manieren voorbehandeld, waarna inoculatie plaats vond. De voorbehandeling bestond in het al of niet verwijderen van de aren uit de scheuten. Na het wegnemen van de aren worden sneller nieuwe zijscheuten gevormd. Geïnoculeerd werden oude scheuten met of zonder aren en jonge zijscheuten, alle op de bovenomschreven wijze. Per inoculatie werden ongeveer 100 aaltjes aangewend.

Het bleek, dat oudere scheuten met stengels in geen enkel geval deugdelijke symptomen gaven. Misschien tasten de aaltjes de stengel wel aan, maar er ontstonden geen verdikkingen meer. Wel vertoonden jonge scheuten, die na de inoculatie gevormd waren, soms duidelijke symptomen van aaltjesziekte, maar dit verschijnsel trad te weinig op om er iets aan te hebben bij de beoordeling van de vatbaarheid van een kloon.

Beter resultaat gaven inoculaties van jonge scheuten. De ontwikkeling van de symptomen was hier ongeveer gelijk aan die bij kiemplanten. De duidelijkste verschijnselen van aaltjesziekte werden verkregen bij korte stevige scheuten. Het was daarom gewenst de bladschede te verwijderen, zodra de knop in de oksel hiervan tot ontwikkeling kwam. Liet men de bladschede op zijn plaats, dan kreeg men vaak lange slappe scheuten, die moeilijk te inoculeren waren en daarbij zoveel konden lijden, dat ze afstierven. Inoculaties van geschikte scheuten slaagden echter steeds voor een groot gedeelte, hoewel in het algemeen kiemplanten vlugger en gemakkelijker tot reactie te brengen waren (zie Plaat II, fig. 3). Daar men echter bij klonen over een groot aantal scheuten beschikt, die genetisch volkomen gelijk zijn, kan men vele inoculaties tegelijk op één plant verrichten. Het is dan in het geheel niet nodig, dat alle inoculaties slagen om met zekerheid een oordeel over het al of niet vatbaar zijn van de klonen te kunnen vellen.

ONDERZOEK VAN ONVATBARE PLANTEN

Zowel in de herfst van 1943 als in het voorjaar van 1944 werd een aantal kiemplanten van Ottersumse rogge en tegelijkertijd een aantal even oude kiemplanten van Petkuser rogge geïnoculeerd. Beide keren traden dezelfde verschijnselen op. Van de Petkuser rogge werden alle planten hevig ziek. Bij de Ottersumse rogge

vertoonden aanvankelijk verschillende planten min of meer symptomen, terwijl bij een aantal geen enkele reactie optrad. Na drie weken waren de meeste planten bij de Ottersumse rogge volkomen door deze aanvankelijke symptomen heen-gegroeid. Alleen de kiemschede en soms het eerste blad hadden verkleuringen en wat sponsachtig weefsel vertoond. Verdikkingen traden niet op. Enkele planten, die ook in de tweede week na de inoculatie al duidelijker symptomen vertoonden dan de overige, werden zwaar ziek, zodat na drie weken een duidelijke scheiding ontstaan was tussen planten, waaraan geen enkele afwijking meer viel waar te nemen en zwaar zieke exemplaren. Bij de eerste serie bleven 4 van de 23 planten ziek, bij de tweede 4 van de 21 planten.

In de herfst van 1943 werden tevens kiemplanten van een door Dr WELLEN-SIEK gemaakte kruising tussen Ottersumse en Petkuser rogge onderzocht. Ook hier bleek weer, dat er een duidelijke scheiding te maken was tussen planten, die wel en die niet aangetast werden. In het voorjaar van 1944 werden de overgebleven gezonde planten van deze kruising gescheurd en daarna nog eens geïnoculeerd. Per plant werden een vijftal inoculaties gedaan. Geen enkele reactie trad echter op. De eerste inoculatie had dus reeds alle vatbare planten aangetoond. Scheiding van vatbare en onvatbare planten bleek dus met de gevolgde methode heel goed mogelijk te zijn.

ONDERZOEK VAN VATBARE EN ONVATBARE KLONEN

Ten behoeve van het kruisingswerk werden in de winter van 1943/1944 12 klonen van Petkuser, 7 klonen van Ottersumse en 8 klonen van Pulder rogge onderzocht. Ook hierbij bleek evenals bij de kiemplanten met zekerheid te onderscheiden te zijn tussen vatbare en onvatbare planten, hoewel hier de scheiding wat minder scherp was. Bij de klonen van Petkuser konden vrij gemakkelijk symptomen opgewekt worden. Bij de Ottersumse rogge vertoonden twee klonen al dadelijk duidelijke symptomen, bij drie kon na herhaalde inoculatie nog geen enkele afwijking geconstateerd worden, bij één kloon traden wel symptomen op, maar minder sterk dan bij de beide erg vatbare, en één kloon reageerde op de inoculatie met het vormen van veel jonge scheuten, die echter geen van alle ziekteverschijnselen vertoonden. Bij de Pulder rogge traden dezelfde verschijnselen op. Alleen vertoonde hier maar één kloon geen enkel symptoom. De ziekteverschijnselen bij de vatbare klonen waren hier echter minder hevig dan bij Petkuser rogge.

MICROSCOPISCH ONDERZOEK

Van Ottersumse en Petkuser rogge werden enkele geïnoculeerde en niet geïnoculeerde planten twee weken na de inoculatie ingesloten in paraffine en met de microtoom gesneden. Zowel bij de geïnoculeerde Ottersumse als Petkuser rogge bleken er aaltjes in het weefsel binnengedrongen te zijn. De Petkuser vertoonde echter opgezwollen cellen, terwijl bij de onvatbare Ottersumse rogge geen enkele reactie te vinden was. Lignine- en kurkkleuringen toonden aan, dat geen van deze stoffen voorkwam in de cellen om de binnengedrongen aaltjes. Afweerreacties van de plant komen dus bij de onvatbare Ottersumse rogge niet voor. Wel sterven op de duur de aanvankelijk licht aangetaste delen (kiemschede en eerste blad) af maar dergelijke verschijnselen kan men ook bij Petkuser rogge vinden. Ze beletten bij deze laatste de aaltjes niet verder binnen te dringen, dus men kan ze bij de Ottersumse rogge niet als afweerreactie interpreteren.

Wageningen, Augustus 1945

Laboratorium voor
Mycologie en Aardappelonderzoek

SUMMARY

A laboratory method for determining the degree of susceptibility of rye to infestation by the stem eelworm (Ditylenchus dipsaci (Kühn) Filipjev)

The eelworm disease of rye causes considerable damage in the province of Limburg, Holland.

An attempt has been started by Dr WELLENSIEK to introduce the nematode resistance of two indigenous varieties of rye (Ottersum and Pulder) into Petkus.

To be able to investigate the behaviour of single plants towards infestation by the stem eelworm, in connection with these breeding experiments, an inoculation method has been developed and tested, by which accurate information as to the degree of susceptibility of seedlings and of older plants to infestation by the stem eelworm has been obtained.

The eelworms were collected from diseased rye plants by an improved BAERMANN funnel method. A glass tube with a narrow portion at one end was connected to the funnel, and the eelworms settled in this narrow portion. After detaching the tube from the funnel, all of the water could be removed except a small amount remaining between the eelworms. By filling up the tube with fresh water, shaking it, allowing the eelworms to settle again in the narrow portion and removing the excess of water, small particles and dissolved substances could be removed from the suspension of eelworms. The eelworms were afterwards removed to a paraffined dish with as small an amount of water as possible, the paraffin preventing the drop from spreading over the surface of the dish. By replacing the water with 2‰ corrosive sublimate satisfactory disinfection of the nematodes was obtained, without killing them. However, the nematodes used in susceptibility tests of rye were no longer subjected to disinfection after it had become evident that non-disinfected nematodes also caused typical symptoms without any complications.

In ordinary inoculation experiments, nematodes were removed from the above mentioned dense suspension in a droplet of water on a paraffined dish by a glass or a flat steel needle and placed between young parts of the plants to be inoculated. A little vertical incision was made in the coleoptile of a rye seedling, or in the leaf sheath of a tiller of an older plant, and through it the eelworms were introduced into the plant.

In experiments with definite numbers of nematodes the latter were selected, and counted, with the aid of a binocular microscope magnifying 25 times, and sucked up at the same time by a pipetting device. After they had settled in the narrow portion of the pipette they were put on a paraffined glass plate with as small an amount of water as possible; after this they were introduced into the plants by means of steel or glass needles. Injection gave unsatisfactory results.

About 100 eelworms per plant proved to be the best dose for susceptibility tests. Different temperatures, ranging from 8° to 20° C., only slightly affected the development of symptoms. Only young growing parts showed symptoms after inoculation. Clones of rye could be tested if young tillers were inoculated. Soil and manuring did not affect the development of symptoms. Symptoms could be obtained throughout the whole year except during July and the first two weeks of August.

Susceptible and resistant plants could be distinguished quite clearly, both as seedlings and as older plants.

Microscopical investigation showed that resistant plants do not show defence reactions, although the eelworms do penetrate into their tissues.

LITERATUUR

1. CHRISTIE, J. R., Pathogenicity of culture-reared specimens of the bud and leaf nematode and the susceptibility of different strawberry varieties. *Phytopathology*, Vol. 28, no 8, 1938.
2. CLEVERINGA, Ir O. J., Het voorkomen en genezen van reup of aaltjesziekte in rogge. 1937.
3. DEWEZ, Ir W. J., Het optreden van het stengelaaltje (*Tylenchus dipsaci* Kühn) in Limburg. *Tijdschr. o. Plantenziekten*, Vol. 46, no 6, 1940.
4. GOODEY, T., On the susceptibility of clover and some other legumes to stem disease caused by the eelworm *Tylenchus dipsaci* syn. *devastatrix* Kühn. *Journ. of Agr. Science*, Vol. 12, no 1, 1922.
5. HODSON, W. E. H., The stem and bulb eelworm *Tylenchus dipsaci* (Kühn) Bastian. A further contribution to our knowledge of the biologic strains of the nematode. *Ann. of Appl. Biol.*, Vol. 18, no 1, 1931.
6. KOESLAG, Ir J. D., Een onderzoek over de resistentie van verschillende roggerassen tegen het stengelaaltje. *Tijdschr. o. Plantenziekten*, Vol. 37, no 5, 1931.
7. KOTTHOFF, P., Die Resistenz von Roggensorten gegen *Anguillulina* (*Ditylenchus*) *dipsaci* (Kühn). *Angewandte Botanik*, Band 24, 1942.
8. STIELTJES, D., Een nieuw roggeras, dat bestand is tegen de aaltjesziekte of het versterf of de reup in de rogge. *De Boerderij*, 1936.

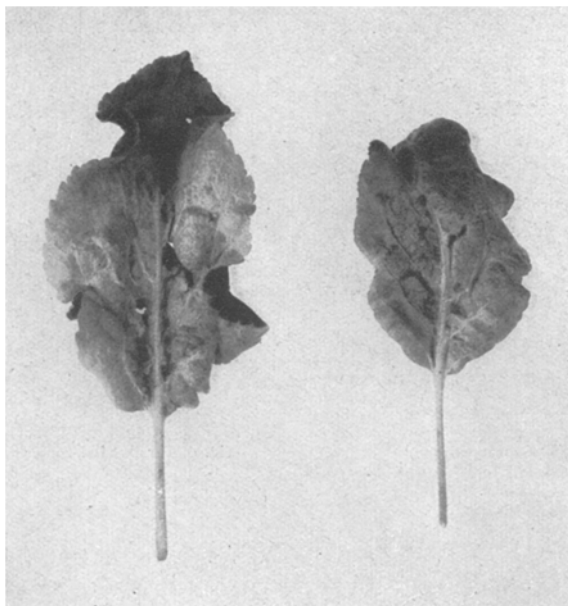


fig 1. Appelbladeren met misvormingen ten gevolge van vorst

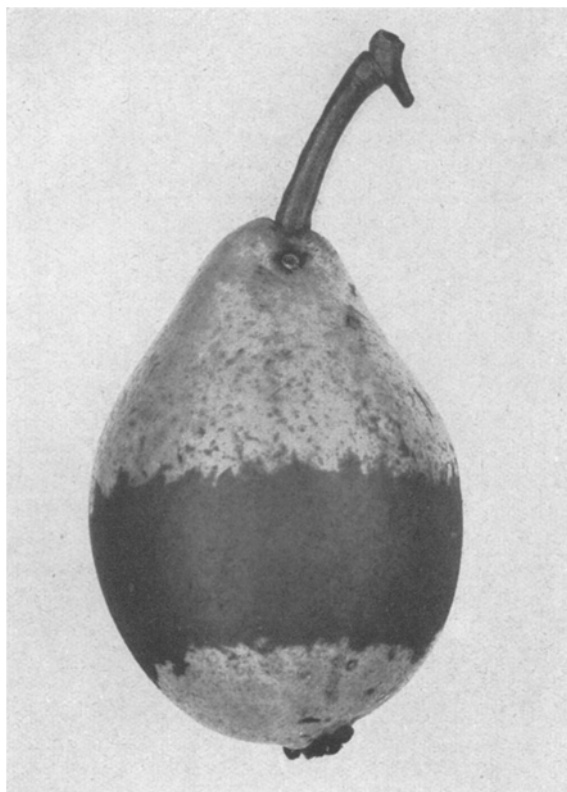


fig. 2. Peer (Bonne Louise d'Avranches) met vorsthand

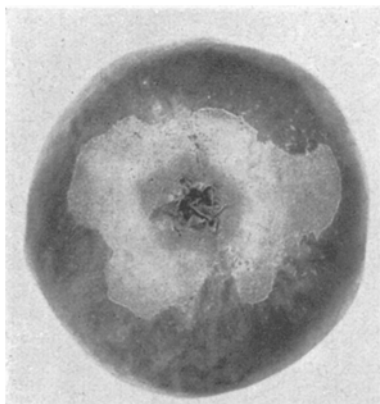


fig. 3. Perzikroode zomerappel
met verkurking rondom den kelk

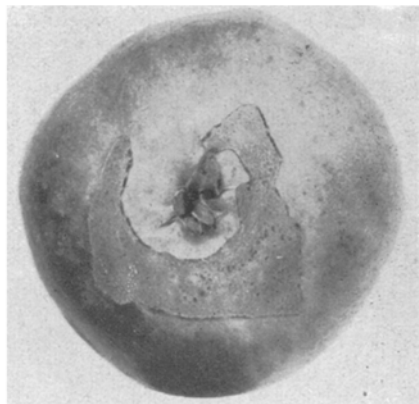


fig. 4. Perzikroode zomerappel met vorstring



fig. 5. Perzikroode zomerappel
met onvolkomen vorstring

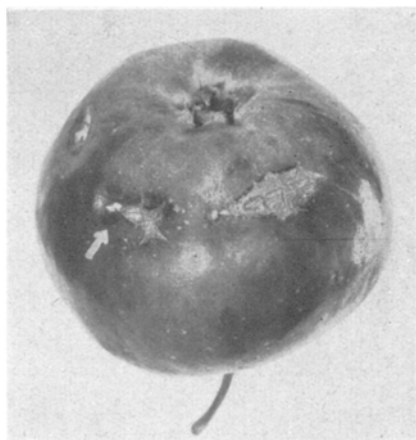


fig. 6. Perzikroode zomerappel
met rottingsverschijnselen (aangeduid met pijl)
ten gevolge van vorstbeschadiging

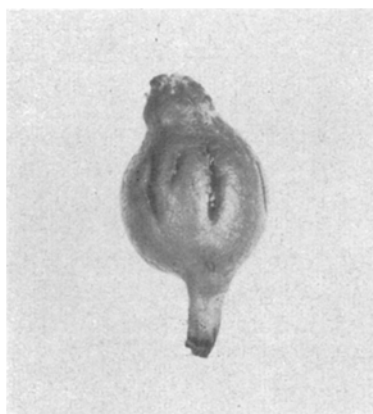


fig. 7. Jonge appel
met overlangsche vorstbeschadiging

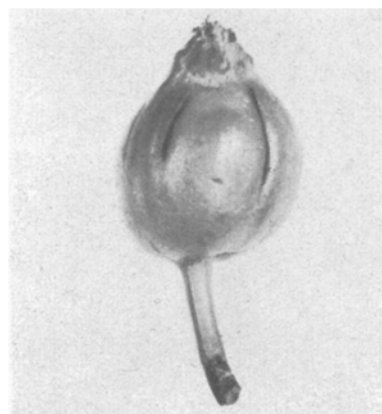


fig. 8. Jonge appel
met overlangsche vorstbeschadiging