

UV tegen ziekten

Tussenrapportage – “proof of principle” UV-C tegen schurft, meeldauw en bewaarrot

Bart Heijne, Marcel Wenneker, Nina Joosten en Ron Anbergen

© 2008 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden veeleelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

PPO Publicatienr. 2008-30; € ...,...

Dit onderzoek is gefinancierd door het Productschap Tuinbouw



Projectnummer: 3261071700

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Fruit

Adres : Lingewal 1, Randwijk
: Postbus 200, 6670 AE Zetten
Tel. : 0488 - 47 37 02
Fax : 0488 - 47 37 17
E-mail : info.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING, CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN	6
Samenvatting.....	6
Conclusies.....	6
Aanbevelingen.....	7
1 INLEIDING	8
2 VRUCHTROT EN BEWAARROT (LITERATUURONDERZOEK)	11
2.1 Overzicht schimmelziekten	11
2.1.1 Appel en peer	12
2.1.2 Kleinfruit en steenfruit	12
2.1.3 Algemeen.....	13
3 UV-C IN BESTRIJDING ZIEKTEN (LITERATUURONDERZOEK)	14
3.1 Effect UV-C op sporen en mycelium van bewaarrotschimmels	14
3.2 Indirecte of geïnduceerde effecten (hormesis) met UV-C	15
4 PROOF OF PRINCIPLES UV - VRUCHTROTSCHIMMELS.....	19
4.1 Materiaal en methode.....	19
4.1.1 Schimmelsoorten.....	19
4.1.2 Belichting met UV-C en dosering	19
4.1.3 Effect van UV-C op sporenkieming.....	19
4.1.4 Effect van UV-C op myceliumgroei.....	20
4.1.5 Statistische analyses.....	20
4.2 Resultaten.....	21
4.2.1 Sporenkieming	21
4.2.2 Myceliumgroei	22
4.2.3 Effect van UV-C op sporulatie.....	27
4.3 Discussie, conclusies en aanbevelingen.....	28
4.3.1 Discussie	28
4.3.2 Conclusies	30
4.3.3 Aanbevelingen	30
5 PROOF OF PRINCIPLE VAN UV TEGEN OVERWINTERENDE SCHURFT.....	31
5.1 Korte beschrijving van de proef.....	31
5.2 Materiaal en methoden.....	31
5.2.1 Blad en overwintering.....	31
5.2.2 Belichtingen	31
5.2.3 Tellingen	32
5.2.4 Wiskundige verwerking	33
5.3 Resultaten.....	33
5.3.1 Pulkmethode	33
5.3.2 Schietmethode	34
5.3.3 Bubbelmethode	35
5.4 Discussie, conclusies en aanbevelingen.....	35
5.4.1 Discussie	35
5.4.2 Conclusie	36
5.4.3 Aanbevelingen	36

6	PROOF OF PRINCIPLE VAN UV TEGEN ECHTE MEELDAUW	37
6.1	Korte beschrijving van de proef.....	37
6.2	Materiaal en methoden.....	37
6.2.1	Proefveld	37
6.2.2	Belichtingen	37
6.2.3	Waarnemingen.....	38
6.2.4	Wiskundig analyse.....	38
6.3	Resultaten.....	39
6.3.1	Uitbreiding van secundaire meeldauw	39
6.3.2	Fytotoxiciteit.....	39
6.4	Discussie, conclusies en aanbevelingen.....	39
6.4.1	Discussie	39
6.4.2	Conclusie	40
6.4.3	Aanbevelingen	40
7	SCHADE VAN UV AAN APPELBLAD.....	41
7.1	Materiaal en methoden.....	41
7.1.1	Proefveld	41
7.1.2	Belichtingen	41
7.1.3	Waarnemingen.....	41
7.1.4	Wiskundig analyse.....	42
7.2	Resultaten.....	42
7.2.1	Symptomen.....	42
7.2.2	Fytotoxiciteit indices	43
7.3	Discussie, conclusies en aanbevelingen.....	45
7.3.1	Discussie	45
7.3.2	Conclusie	45
7.3.3	Aanbevelingen	45
	LITERATUUR.....	47
	BIJLAGE 1 - DOSIS RESPONS CURVES SPORENKIEMING	49
	BIJLAGE 2 – EFFECT UV-C OP MYCELIUMGROEI	52
	BIJLAGE 3 – STATISTISCHE ANALYSES GROEICURVES MYCELIUM	54
	BIJLAGE 4 – VERZAMELDE GETALLEN VAN SCHURFT, MEELDAUW EN FYTOTOXICITEIT.....	58
	BIJLAGE 5 – STATISTISCHE ANALYSES SCHURFT, MEELDAUW EN FYTOTOXICITEIT	63

Voorwoord

In dit rapport worden twee lijnen van onderzoek weergegeven. Beide lijnen van onderzoek concentreren zich op het bewijzen dat UV-C in principe mogelijkheden biedt om ziekten bij fruit te bestrijden. Dit wordt verder “proof of principle” genoemd. De eerste lijn van onderzoek was het testen of schimmels die bewaarrot veroorzaken met UV-C konden worden gedood. Dit onderzoek is volledig uitgevoerd door Marcel Wenneker en Nina Joosten. Zowel naar de groei van mycelium als naar de kieming van sporen zijn metingen uitgevoerd. Dit onderzoek vormt mede de basis voor vermindering van residu op vruchten, omdat residu voor een groot deel afkomstig is van bestrijdingen tegen bewaarrot. Het sluit dan ook goed aan bij het zoeken naar mogelijkheden om fruit te produceren met zo min mogelijk residu. De tweede lijn van onderzoek was het testen van UV-C tegen schurft en meeldauw. Dit onderzoek is uitgevoerd door Bart Heijne en Ron Anbergen. Beide schimmels kunnen nauwelijks op kunstmatige voedingsbodems gekweekt worden. Daarom werd vooral bij de test tegen meeldauw op appel een proef uitgevoerd die al meer richting de praktijk gaat. Voor vragen over de respectievelijke onderdelen kunt u bij Bart Heijne en Marcel Wenneker terecht.

Voor beide lijnen van onderzoek is het van belang dat een volgende fase wordt ingezet, zodat de mogelijkheden voor de praktijk meer duidelijk worden. Financiering daarvoor moet nog worden gezocht.

In het onderzoek is regelmatig overleg geweest met Clean Light B.V., Clean Greens, Newbusiness en met van de Munckhof Machinefabrieken B.V. over praktische en technische zaken. Dit overleg werd als zeer vruchtbaar ervaren.

Het Productschap Tuinbouw heeft deze fase van het onderzoek volledig gefinancierd.

Bart Heijne

Samenvatting, conclusies en aanbevelingen

Samenvatting

Er is een overzicht gemaakt op grond van literatuuronderzoek naar welke vruchtrotsoorten, veroorzaakt door schimmels, voorkomen op fruit. De belangrijkste daarvan *Botrytis*, *Gloeosporium*, *Penicillium*, *Colletotrichum* en *Monilia* zijn kort beschreven. Uit de literatuur is ook een overzicht samengesteld van wat er al bekend is van effecten van UV-C op sporen en mycelium van schimmels die vruchtrot kunnen veroorzaken. Het blijkt dat er grote verschillen zijn in dosering waarbij de schimmels dood gaan. Het effect van belichting met UV-C is onderzocht op de kieming en myceliumgroei van tien vruchtrotschimmels. Voor de sporenkieming konden dosis-respons curven gemaakt worden. Daaruit bleek dat er grote verschillen zijn in gevoeligheid van de verschillende schimmels voor UV-C. *Penicillium* was het meest gevoelig. De kieming werd voor 95 % geremd bij minder dan 50 mJoule/cm². *Alternaria* daarentegen had 300 mJoule/cm² nodig om niet meer te kiemen. Remmen van myceliumgroei blijkt minder eenvoudig. Uit de proeven blijkt dat eenmalig belichten met UV-C (tot 400 mJoule/cm²) weinig effect heeft op myceliumgroei op een voedingsbodem. Het verhogen van de dosering geeft geen beter effect. Wel werd er een effect zichtbaar bij meerdere malen belichten met 400 mJoule/cm² op de productie van sporen door het mycelium. Het effect van UV-C op overwinterende schurft is op drie manieren geteld. Met geen van deze methoden kon een vermindering van de productie van ascosporen worden vastgesteld. Blijkbaar is het vruchtlichaam een goede barrière, die het UV-licht absorbeert en onschadelijk maakt. Een bijna praktijktoepassing met een prototype belichtingsunit in de boomgaard toonde aan dat er een tendens was naar vermindering van meeldauw. Het effect was niet significant. De lampen van de belichtingsunit waren te zwak. Sterkere of meer lampen die dichter bij de bladeren zijn geplaatst kunnen eenvoudig de werking verbeteren. Dit moet nog aangetoond worden.

Conclusies

- Proof of principle is getest van UV-C tegen vruchtrot schimmels, overwinterende schurft en meeldauw. Voor vruchtrotschimmels is aangetoond dat het principe werkt en dit is geïndiceerd voor meeldauw.
- UV-C kan de kieming van sporen (conidiën) van vrucht- en bewaarrot veroorzakende schimmels volledig remmen – verhinderen.
- De dosering voor volledige remming verschilt per schimmelsoort.
- *Botrytis* en *Penicillium* hebben sporen (conidiën) die zeer gevoelig zijn voor UV-C.
- *Alternaria* en *Venturia* hebben sporen (conidiën) die minder gevoelig zijn voor UV-C.
- Op voedingsbodems wordt de myceliumgroei beperkt geremd door UV-C.
- UV-C heeft een duidelijk effect op sporulatie bij frequent belichten met een hoge dosis. De sporulatie wordt bij frequent belichten duidelijk geremd.
- Er kon geen effect van UV-C worden aangetoond op de productie van ascosporen in overwinterende vruchtlichamen.
- Er kon geen effect aangetoond worden van de dosering UV-C van 20 mJoule/cm² en 60 mJoule/cm² tegen meeldauw onder praktische omstandigheden in deze proef.
- Het prototype belichtingsunit voor meeldauwbestrijding gaf te weinig licht.
- Het is mogelijk om een belichtingsunit voor meeldauw te bouwen, waarbij meer UV op de bladeren terecht komt.

Aanbevelingen

- Na enkele malen belichten (dagelijks) werd een afname van de sporulatie waargenomen. Dit moet gekwantificeerd worden.
- Proof-of-principle bestrijding vruchtrot met UV-C. Het effect van een aantal UV-C behandelingscombinaties zou getest kunnen worden op een aantal geselecteerde vruchtrot veroorzakende schimmels op de vruchten van appel (Elstar) en peer (Conference).
- Testen van UV-C op praktijkpartijen (onbespoten) fruit, mogelijk in combinatie met andere technieken zoals warmwaterbehandeling, waterstofperoxide of ozon.
- Effect van UV-C op vruchtkwaliteit. Voor een aantal UV-C behandelingscombinaties (doses – tijd, die nodig lijken voor vruchtrotbestrijding) kan het effect getest worden op de inwendige en uitwendige vruchtkwaliteit, na zowel (lange) bewaring als na uitstalling, voor appel (Elstar) en peer (Conference).
- Stop (voorlopig) met onderzoek aan de effecten van UV-C op overwinterende schurft.
- Onderzoek of de schurft in de zomer kan worden beperkt door regelmatige belichtingen met UV-C
- Doe een kleine proef in de winter 2008/2009 op opgepotte appelboompjes om de juiste dosering licht te bepalen voor een bestrijding van meeldauw.
- Bouw daarna een belichtingsunit die meer licht op de bladeren geeft en een praktische rijpsnelheid in de boomgaard mogelijk maakt.
- Test dit nieuwe prototype op dezelfde wijze als in 2008 in een boomgaard met meeldauwhistorie.
- Neem in de proef tegen meeldauw ook uitbreiding van schurft in de zomer mee.
- Hetzelfde prototype kan gebruikt worden om een eerste indicatieve proef te doen naar het weglaten van het afschuitschema en toch vruchtrot te beheersen. Overweeg om dit mee te nemen als vervolg op een proef tegen meeldauw en schurft in de zomer.

1 Inleiding

Zonlicht bestaat uit verschillende golflengten. De golflengte van zichtbaar licht zit tussen de 380 en 780 nanometer (nm). Bij 780 nm is het licht rood en bij 380 nm violet. Wordt de golflengte korter dan 380 nm dan kunnen we het niet meer zien en spreken we van ultraviolet (UV) licht. De golflengte van UV-licht is 1 tot 400 nanometer. In verband met de effecten van UV-licht op mens en milieu wordt onderscheid gemaakt tussen UV-A, UV-B en UV-C. UV-A is ultraviolet licht met een golflengte tussen ca. 315 en 400 nm ("lange golven"). UV-B licht heeft een golflengte tussen ca. 280 en 315 nm; en UV-C licht heeft een golflengte van minder dan 280 nm ("korte golven"). UV-C licht wordt vrijwel volledig door de atmosfeer gefilterd. UV kan biologische processen beïnvloeden en organische moleculen beschadigen. Omdat UV een onderdeel is van zonlicht heeft het leven op aarde zich tegen het schadelijk effect van UV beschermd, zoals de mens dat doet door bruin te worden. Maar het ene organisme is beter beschermd dan het andere. En of er schade aan een organisme optreedt, hangt onder andere af van de dosering van het licht en of het organisme geraakt wordt. In de schaduw van een parasol wordt een mens niet bruin.

Omdat hoge intensiteiten van UV schadelijk zijn voor de ogen wordt aanbevolen niet direct in lampen te kijken. Voor personen die regelmatig met UV werken zijn beschermende brillen nuttig. Dat geldt vooral voor kortgolvig UV, zoals UV-C. Zo beschermen bergbeklimmers zich door zonnebrillen, omdat de beschermende luchtlag op grote hoogten dun is. Gewone onbehandelde brillen geven al enige bescherming. De meeste plastic lenzen geven meer bescherming dan glazen lenzen omdat glas doorlatend is voor UV-A. Sommige soorten plastic zoals polycarbonaat houden vrijwel alle UV tegen. Bij de intensiteit van UV die nodig zijn om ziekten in fruitteelt te beheersen, is het niet in de lampen kijken en het dragen van een beschermende bril voldoende om geen schade voor de gezondheid te ondervinden.

Voor beheersing van de ziekte schurft zijn veel fungicide toepassingen nodig. De bespuitingen beginnen in het vroege voorjaar als de knoppen uitlopen. De ascosporen van de ziekteverwekker, *Venturia inaequalis*, komen op dat moment uit de vruchtlichaampjes. Deze zijn ontstaan in afgevallen bladeren op de grond uit aantasting van vorig jaar. Dit is de bron van aantasting. Als deze bron volledig zou worden weggehaald of vernietigd, dan zou er theoretisch geen aantasting meer ontstaan. Fruittelers doen hun best om deze bron weg te halen door het versnipperen van de bladeren en door toepassing van ureum tijdens de bladvalperiode. Als de bladeren eenmaal op de grond liggen, zouden ze ook beschenen kunnen worden met UV-C om de schurftbron te vernietigen. Van UV-C is bekend dat het schimmelweefsel kan doden als de dosering voldoende hoog is en het weefsel bereikt kan worden.

Meeldauw op appel wordt veroorzaakt door een schimmel, *Podosphaera leucotricha*, die hoofdzakelijk buitenop bladeren groeit. Dat maakt dat meeldauw goed bereikbaar is voor UV-C belichting. In andere teelten zoals die van komkommer en tomaten onder glas of uien is al aangetoond dat er met UV een bestrijdend effect gerealiseerd kan worden.

Bewaarrot kan grote financiële verliezen geven. Om die reden wordt voor de oogst meestal een intensief afschuitschema toegepast op fruit dat bedoeld is voor de (lange) bewaring. Deze bespuitingen geven het meeste residu op de vruchten. Chemische naooogst behandelingen zijn in Nederland niet toegestaan. Bij consumenten is er vaak ongerustheid over chemisch residu op vruchten, en worden residunormen door supermarkten/retailers aangescherpt. Mede om die reden worden alternatieve (niet-chemische) bestrijdingsmethoden tegen vrucht- en bewaarrot ontwikkeld. Alternatieve methoden die momenteel onderzocht worden zijn warmwaterbehandeling en antagonisten. Daarnaast lijkt de toepassing van UV-C (190 – 280 nm) interessante mogelijkheden te bieden. Met de juiste golflengte en doses kan UV-C een verhoogde weerstand oproepen (inducible pathogen resistance ook wel hormesis genoemd), maar zeker zo belangrijk: er is aangetoond dat UV-C, in lage doses, bewaarziekten in verschillende vruchten- en groentesoorten kan bestrijden. Buitenlands onderzoek (Ben-Yehoshua, 2003; Capdeville *et al.*, 2002; Charles *et al.*, 2003; D'hallewin *et al.*, 1999, 2000; Liu *et al.* 1993; Nigro *et al.*, 1998; Stevens *et al.*, 1998; Valero *et al.*, 2007) wijst uit dat UV-C een effect heeft op bestrijding van rot en bederf in druif, zoete aardappel, perzik, appel, tomaat, grapefruit en wortel.

Doelstelling en afbakening

Het project richt zich op de mogelijkheden om met UV-C de schurft, meeldauw en vruchtrot of bewaarrot veroorzakende schimmels te bestrijden. Het gaat om het “proof of principle”, waarbij onderzocht wordt of het principe zou kunnen werken in de fruitteelt. In eerste instantie wordt UV-C getest in groot fruit (appel en peer), maar schimmels die vruchtrot bij kleinfruit veroorzaken zijn meegenomen.

Dit rapport beschrijft de resultaten van fase 1 van het onderzoeksproject:

- a) Literatuur overzicht van vruchtrot en bewaarrot.
- b) Literatuur overzicht van effecten van UV-C op ziekten
- c) Rapportage van stand van zaken over gebruik van UV-C bij bestrijding van bewaarziekten in groenten en fruit, en vaststellen van doses (aantal mJoule/cm²) en belichtingstijden.
- d) Proof-of-principle UV-C in vitro: het effect van UV-C belichting wordt getest op laboratoriumschaal op de belangrijkste schimmelziekten (die bewaarrot veroorzaken). Getest wordt effect van UV-C op sporenkieming en myceliumgroei.
- e) Rapportage over de effecten van UV-C op overwinterende schurft.
- f) De stand van zaken betreffende de bestrijding van echte meeldauw.
- g) Extra proef naar de fytotoxiciteit van UV-C op appelblad.

Daarnaast wordt een vooruitblik gegeven van de mogelijkheden en toepassingen van ultraviolet C als mogelijkheid om schurft, meeldauw en vruchtrot te voorkomen.

2 Vruchtrot en bewaarrot (literatuuronderzoek)

Bewaarrot of naooogst rot van fruit is het resultaat van infecties met rot veroorzakende schimmels die ontstaan zijn tussen bloei en oogst, of tijdens oogst en verwerking en bewaring. De periode tussen infectie en schimmelgroei/ontwikkeling en symptomen wordt de latente periode genoemd.

Als de infectie tussen bloei en oogst is opgetreden, dan is deze meestal latent gebleven en tot expressie gekomen kort na de oogst of tijdens (lange) bewaring. In het andere geval is de (naooogst) infectie ontstaan via wondjes die ontstaan zijn tijdens de oogst en verwerking. Bovengenoemde rotverliezen door infecties worden in de gangbare teelt voornamelijk voorkomen door fungicidenbespuitingen in de boomgaard.

Schimmels die bewaarrot of vruchtrot veroorzaken kunnen vruchten via drie hoofdroutes infecteren:

- wondjes ontstaan tijdens groei en bewaring,
- natuurlijke openingen zoals lenti-cellen,
- directe penetratie van de vruchtschil; dit kan gedurende de vruchtgroei.

Sommige pathogene schimmels beginnen direct met het infectie- en ziekteproces nadat de sporen op de vruchten zijn geland. Andere rot veroorzakende schimmels blijven maanden inactief totdat het fruit is geoogst en afrijpt. Belangrijk is dat na de oogst, tijdens afrijpen en bewaring, het mechanisme dat de vruchten beschermt tegen schimmelaanvallen of schimmelgroei niet meer of minder functioneert.

2.1 Overzicht schimmelziekten

Vruchtrot en bewaarrot worden door een aantal schimmelsoorten veroorzaakt. In Nederland gaat het hoofdzakelijk om de schimmels genoemd in tabel 2.1. De eerste vijf genoemde schimmels zijn de voornaamste bewaarrot veroorzakende schimmels.

Tabel 2.1: bewaarrot en vruchtrot veroorzakende schimmels (naar Woets, 1999; Creemers, 2008; Saarloos, 2008; Tian, 2007; Mari et al., 2003; Creemers & Vorstermans, pers com.; Van Schaik, pers com.)

Rot - Schimmel	Latijnse naam	Vruchtsoort
Botrytis-rot (grauwe grijze schimmel) = neusrot en vruchtrot	<i>Botrytis cinerea</i>	Peer, appel, steenfruit, braam, framboos en bessen
Lenticel-rot (Gloeosporium rot) [Bull's eye rot]	<i>Pezicula malicortis</i> en <i>P. album</i> , synoniem <i>Neofabraea</i> spp.	Appel
Penicillium	<i>Penicillium expansum</i>	Peer, appel, steenfruit en bessen
Monilia	<i>Monilinia fructigena</i> en <i>M. laxa</i>	Steenfruit
Colletotrichum-rot/Antracnose	<i>Colletotrichum acutatum</i>	Blauwe bes
Neusrot (Nectria rot)	<i>Nectria galligena</i>	Appel
Zwartvruchtrot	<i>Stemphylium vesicarium</i>	Peer
Vissenooziekte	<i>Butlerella eustacei</i>	Peer
Phytophthora-rot	<i>Phytophthora cactorum</i>	Peer en appel
Mucor rot	<i>Mucor piriformis</i>	Peer
Spatschurft	<i>Venturia inequalis</i>	Appel en peer
Alternaria rot	<i>Alternaria alternata</i>	Appel en steenfruit
Fusarium rot	<i>Fusarium oxysporum</i> en andere	Appel
Rhizopus rot	<i>Rhizopus stolonifer</i>	Appel, peer en bessen

In onderstaande paragraaf worden de voor Nederland belangrijkste vruchtrotschimmels behandeld.

2.1.1 Appel en peer

2.1.1.1 **Botrytis-neus en vruchtrot (*Botrytis cinerea*)**

Bij peer is het overgrote deel van bewaarrot aan *Botrytis* te wijten (Creemers, 2008). Deze schimmel kan de vruchten al infecteren tijdens de bloei, en veroorzaakt dan neusrot. Neusrot is dan al in de boomgaard zichtbaar. Tijdens de bewaring neemt *Botrytis*-vruchtrot snel toe. Deze rot kan snel overgaan op aanliggende vruchten en veroorzaakt dan zogenaamd nestrot (Woets, 1999; Smith, 2002). Bij peer ontstaat de *Botrytis* besmetting meestal tijdens de oogstperiode. Tijdens de pluk raken de vruchten beschadigd bij de steelinplant. De steel is een plek waar de peer gemakkelijk geïnfecteerd raakt. Deze kleine wondjes kunnen besmet raken met *Botrytis*sporen die in de lucht rondzweven. De vooroogstbespuitingen geven deze wondjes onvoldoende bescherming waardoor vruchten tijdens de bewaring toch kunnen gaan rotten (Creemers, 2008). *Botrytis cinerea* is een schimmelsoort die vruchtrot op veel verschillende gewassen kan veroorzaken. Ook in zachtfruit is de meeste bestrijding gericht op deze schimmel. Een uitgebreide beschrijving van de epidemiologie van *Botrytis cinerea* in boomgaarden wordt gegeven door Elmer & Michailides (2007) en Droby & Lichter (2007).

2.1.1.2 ***Gloeosporium*-rot (*Pezicula malicortis* en *P. album*, synoniem *Neofabraea* spp.)**

Dit is ook een echte bewaarziekte, die voor de pluk op het fruit nauwelijks te zien is, en treedt vooral op appel op. De infectie van de vrucht vindt plaats via lenticellen en wondjes van de schil. De vruchten kunnen de hele tijd – van bloei tot pluk – geïnfecteerd worden (Woets, 1999). Besmetting van de vruchten vindt aan de boom plaats vanuit kleine kankers op snoeistompen en van vruchtbeurzen. De ontwikkeling van de ziekte en het ontstaan van symptomen gebeurt pas in de bewaring (na latente periode) (Creemers, 2008). In het buitenland wordt deze bewaarziekte Bull's eye rot genoemd (Smith, 2002). De veroorzakers zijn *Neofabraea* spp., dit is een nieuwe classificatie of naamgeving voor de *Pezicula* spp. (Henriquez *et al.*, 2004).

2.1.1.3 ***Penicillium*-rot (*Penicillium* soorten)**

Penicillium expansum (Blue mold) is een echte bewaarziekte. Tijdens de bewaring kunnen grote, bruine vlekken ontstaan.

Sporen van deze schimmels zijn voortdurend aanwezig, en infecteren vooral wondjes, maar ook de open calyx of lenticel (Smith, 2002).

2.1.2 Kleinfruit en steenfruit

2.1.2.1 ***Botrytis cinerea***

Vruchtrot bij rode bes wordt vrijwel altijd veroorzaakt door *Botrytis* (van Schaik, pers. com; van Eck, pers. com.). De bloeiperiode lijkt de meest kritische infectieperiode, omdat dan de infecties optreden die later de vruchtrot veroorzaken (Balkhoven, 1997).

2.1.2.2 ***Colletotrichum acutatum* (antracnose)**

Deze schimmel veroorzaakt voornamelijk vruchtrot in blauwe bes (van Doornspeek, pers. com; Perkins-Weazie *et al.*, 2008). *Colletotrichum acutatum* kan allerlei plantendelen infecteren: wortels, bladeren, bloemen en vruchten. Dit kan leiden tot ontbladering, bloemval en vruchtrot. Er kunnen twee typen *Colletotrichum*-vruchtrot onderscheiden worden: rot op onrijpe vruchten (in het veld), en rot van rijpe vruchten tijdens oogst en bewaring. In het laatste geval ogen de vruchten bij de pluk gezond en komt de ziekte later tot uiting. In het algemeen worden groene, onrijpe vruchtjes geïnfecteerd, waarbij de infectie lange tijd latent blijft. Symptomen ontwikkelen zich op rijpende vruchten. Sporen afkomstig van rottende vruchten infecteren dan nog gezonde vruchten. Dit zijn secundaire infecties (Wharton & Diéguez-Urbeondo, 2004; Schilder & Wharton, 2006).

2.1.2.3 ***Monilia*-rot (*Monilia fuctigena* en *M. laxa*)**

Monilinia is een van de belangrijkste veroorzakers van vruchtrot in steenfruit (kers en pruim). De schimmel infecteert bloesem en jonge vruchtjes en kan in de boomgaard al rot veroorzaken. Onder bepaalde omstandigheden blijven de infecties latent, en kunnen dan grote bewaarverliezen geven. De schimmel groeit namelijk ook bij lage temperaturen (evenals *Gloeosporium*). Sporen, vaak vanuit mummievruchten, zijn een groot deel van het jaar aanwezig. Wondjes zijn nodig voor de infectie van vruchten. Wondjes kunnen

ontstaan door schuren van vruchten tegen elkaar, hagel, vogelpikkerij of rupsenvraat (Creemers, 2008).

2.1.3 Algemeen

Botrytis, *Monilinia* en *Penicillium* zijn echte wondschimmels. Deze soorten dringen vruchten binnen via wonden die veroorzaakt worden door vogels, insecten (wespen), hagel, of mechanische schade veroorzaakt tijdens pluk, transport of sortering (Creemers, 2008). Bij de wondschimmels kan door contact van aangetaste vruchten met gezonde vruchten een snel voortwoekerende rotting plaatsvinden (ook in de bewaring), zogenaamd nestrot. Met uitzondering van *Penicillium*, infecteren bovengenoemde bewaarschimmels de vruchten al in de boomgaard. *Penicillium* komt vooral voor op het einde van de bewaring wanneer de vruchten al wat rijper zijn. Afhankelijk van de schimmelsoort komen de symptomen tot expressie na korte of langere bewaring. *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea* en *Mucor piriformis* zijn wondschimmels die vruchten makkelijk infecteren via macro- en microwonden die ontstaan tijdens de oogst en handelingen voor de bewaring (Mari et al., 2003). Schimmels zoals *Colletotrichum*, *Monilinia*, *Botrytis* en *Alternaria* kunnen gedurende lange periodes latent in vruchtweefsel aanwezig zijn, maar kunnen ook direct symptomen geven op afrijpende vruchten. Vruchtrot die zichtbaar optreedt in de boomgaard is meestal *Phytophthora* of *Monilinia*. *Phytophthora* treedt vooral op wanneer het in de periode voor en tijdens de pluk uitzonderlijk nat is, zodat schimmelsporen vanuit de bodem met opspattende bodempartikels laaghangende vruchten kunnen infecteren. *Nectria galligena* veroorzaakt neusrot bij appel wanneer infectie omstandigheden tijdens de bloei gunstig zijn.

3 UV-C in bestrijding ziekten (literatuuronderzoek)

De toepassing van UV-C licht lijkt interessante mogelijkheden te bieden voor de bestrijding van schimmelziektes bij fruit. Naast zichtbaar licht bestaat er ook onzichtbaar licht. De kleur en zichtbaarheid van licht wordt bepaald door de golflengte. Bij een langere golflengte ontstaat het onzichtbare infra-rood licht. Bij een kortere golflengte ontstaat ultraviolet licht. Dit ultraviolette licht is onder te verdelen in UV-A, UV-B en UV-C. Dit bereik wordt meestal onderverdeeld in UV-A: 315 – 400 nm, UV-B: 280 – 315 nm en UV-C: 100 – 280 nm. De huid is gevoelig voor UV-A en UV-B – hierdoor worden we bruin. UV-C wordt door de ozonlaag tegen gehouden en komt in zonlicht nauwelijks op de aarde voor. UV-C dringt bacterie- en schimmelcellen binnen en beschadigt hierin het erfelijk materiaal (DNA). UV-C is schadelijk voor de ogen (geeft lasogen). Daarom worden UV-C lampen altijd afgeschermd voor de gebruiker (De Werd *et al.*, 2007). De korte golven uit het UV-spectrum zijn direct dodelijk voor micro-organismen ('germicidal'). Uit onderzoek is gebleken dat UV-lampen die licht geven met een golflengte van 254 nm het meest effectief zijn (Giese & Darby, 2000). De UV-C straling wordt geabsorbeerd door het DNA van schimmels (mycelium of sporen) en wordt daarom 'germicidal' genoemd. Deze directe werking op schimmels (inactivering) treedt alleen op als een voldoende hoge dosering UV-C is geabsorbeerd door het organisme. De benodigde dosering (uitgedrukt in mJ/cm²) om sporen of mycelium te doden verschilt per schimmelsoort. Belangrijk is dat UV-C vrijwel geen penetrerend vermogen heeft op harde oppervlaktes, zoals een vruchtschil of bladoppervlak (Gardner & Shama, 2000). Daarnaast kunnen op harde oppervlaktes (ook op de vruchtschil) allerlei schaduweffecten optreden die sporen of mycelium afschermen van het UV-C licht (Lagunas-Solar *et al.*, 2006).

3.1 Effect UV-C op sporen en mycelium van bewaarrotschimmels

Door verschillende onderzoekers is naar het directe effect van UV-C belichting op de sporenkieming en myceliumgroei van bewaarrotschimmels onder laboratoriumomstandigheden gekeken. In onderstaande tabel is een samenvatting van de resultaten geven. De resultaten geven aan dat sporenkieming met UV-C goed te onderdrukken is. Met mycelium is nog weinig onderzoek verricht.

Tabel 3.1.a. Resultaten van UV-C belichting op sporenkieming en myceliumgroei onder laboratoriumomstandigheden uit de literatuur.

Pathogeen	In vitro	Behandeling	Opmerkingen	Referentie
<i>Botrytis cinerea</i>	conidiën	UV-C	Geen overleving sporen na 15 min bij 45°C. Geen overleving bij 1 J/m ² .	Marquenie <i>et al.</i> , 2002
<i>Monilinia fructigena</i>	conidiën	UV-C + warmte	Geen overleving sporen na 3 min bij 45°C. Geen overleving bij 0.5 J/m ² .	Marquenie <i>et al.</i> , 2002
<i>Colletotrichum gloeosporium</i>	mycelium	UV-C	> 0.84 kJ/m ² gaf verminderde myceliumgroei	Cia <i>et al.</i> , 2007
<i>Colletotrichum gloeosporium</i>	sporulatie	UV-C	0.4; 0.84 en 1.3 kJ/m ² reduceerden sporulatie.	Cia <i>et al.</i> , 2007
<i>Colletotrichum gloeosporium</i>	conidiën	UV-C	0.2; 0.4; 0.84; 1.3 en 2.4 kJ/m ² reduceerden sporenkieming	Cia <i>et al.</i> , 2007
<i>Aspergillus</i>	conidiën	UV-C belichting gedurende	Geen kieming na 300	Valero <i>et al.</i> , 2007

<i>carbonarius en niger</i>		0, 10, 20, 30, 60, 300 en 600 sec.	sec belichten	
<i>Cladosporium herbarum</i>	conidiën	UV-C belichting gedurende 0, 10, 20, 30, 60, 300 en 600 sec.	Geen kieming na 30 sec belichten	Valero <i>et al.</i> , 2007
<i>Penicillium janthinellum</i>	conidiën	UV-C belichting gedurende 0, 10, 20, 30, 60, 300 en 600 sec.	Geen kieming na 30 sec belichten	Valero <i>et al.</i> , 2007
<i>Alternaria alternata</i>	conidiën	UV-C belichting gedurende 0, 10, 20, 30, 60, 300 en 600 sec.	Na 300 en 600 sec nog steeds kieming	Valero <i>et al.</i> , 2007

Door Lagunas-Solar *et al.* (2006) is een onderzoek uitgevoerd naar het effect van gepulseerde UV-C belichting op de sporen van een aantal plantpathogene schimmels. Bij deze techniek wordt UV licht met een golflengte van 248 nm gebruikt, in plaats van 254 nm. De resultaten uit dat onderzoek zijn samengevat in tabel 3.1.b. Het effect werd onderzocht op agarschalen en op vruchtoppervlak (verschillende pathogenen – vruchtcombinaties). Beoordeeld werd de kolonievorming na belichting. Hieruit blijkt dat de meeste schimmelsporen met minder dan 200 mJ.cm⁻² bestreden kunnen worden op een voedingsbodem, en met minder dan 500 mJ.cm⁻² op een vruchtoppervlak. *Aspergillus* is moeilijker te bestrijden met UV-C omdat deze sporen veel pigment (melanine) bevatten die UV-C absorberen. Ook *Alternaria* vereist een relatief hoge dosering, deze soort heeft ook gepigmenteerde sporen. Dit is in overeenstemming met de bevindingen van Valero *et al.*, 2007.

Tabel 3.1.b. Drempelwaarde voor volledige remming van sporenkieming en kolonievorming voor aantal vruchttrotveroorzakende schimmels (Lagunas-Solar *et al.*, 2006).

Pathogeen	Medium	Drempelwaarde voor volledige doding (mJ.cm ⁻²)
<i>Alternaria alternata</i>	Vruchtoppervlak	500
	Agarschaal	200
<i>Aspergillus niger</i>	Vruchtoppervlak	1900
	Agarschaal	300
<i>Botrytis cinerea</i>	Vruchtoppervlak	150
	Agarschaal	30
<i>Fusarium oxysporum</i>	Vruchtoppervlak	100
	Agarschaal	35
<i>Fusarium roseum</i>	Vruchtoppervlak	100
	Agarschaal	35
<i>Monilinia fructicola</i>	Vruchtoppervlak	100
	Agarschaal	50
<i>Penicillium expansum</i>	Vruchtoppervlak	150
	Agarschaal	50
<i>Penicillium digitatum</i>	Vruchtoppervlak	150
<i>Phytophthora citrophthora</i>	Water	100
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Vruchtoppervlak	130
	Water	20

3.2 Indirecte of geïnduceerde effecten (hormesis) met UV-C

De indirecte of geïnduceerde effecten van UV-C moeten onderscheiden worden van de directe dodende effecten op pathogenen. Behalve een direct effect op bewaarrot veroorzakende schimmels wordt door een aantal onderzoekers een lage dosering UV-C ook gezien als een methode om afrijping te vertragen bij perzik

en appel (Lu *et al.*, 1993), tomaat (Liu *et al.*, 1993) en broccoli (Costa *et al.*, 2006). Zo werd door Liu *et al.* (1993) gevonden dat de aantasting door *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* en *Rhizopus stolonifer* in tomaten verminderde bij verschillende UV-C doseringen, tevens waren de tomaten harder en minder gekleurd dan onbehandelde controles (in Cia *et al.*, 2007).

Daarnaast wordt verondersteld dat lage doseringen UV-C een verhoogde weerstand kunnen oproepen tegen ziekteverwekkers (inducible pathogen resistance of hormesis effect). Het fenomeen van geïnduceerde resistentie bij UV-C belichting werd gevonden bij tafeldruif (*Vitis vinifera*) tegen *Botrytis* (Nigro *et al.*, 1998; Pezet & Pont, 1992). Door Capdeville *et al.* (2002) werd het effect van UV-C getest door 24, 48 en 96 uur na belichting appels (Red Delicious) met *Penicillium expansum* te inoculeren. Inoculatie na 96 uur gaf de kleinste lesions, maar na 24 uur werd ook een effect gemeten. Deze toegenomen weerstand kwam tot stand door een verhoogde aanmaak van plant- of vruchteigen stoffen. Een toename van een aantal van deze stoffen is ook aangetoond, zoals phytoalexinen – bijvoorbeeld scoparone – bij kumquat (Rodov *et al.*, 1992) en sinaasappel (Dhallewin *et al.*, 1999); 6-methoxymelline bij wortelen (Mercier *et al.*, 2000) en resveratrol in druiven (Cantos *et al.*, 2002). Door Droby *et al.* (1993) werd aangetoond dat het effect van *Penicillium digitatum* aantasting bij grapefruit vooral een effect van geïnduceerde resistentie was, meer dan een direct 'germicidal effect'. Door Porat *et al.* (1999) werd aangetoond dat deze resistentie van grapefruit tegen *Penicillium digitatum* werd veroorzaakt door een chitinase en endoglucanase productie in de vruchtschil (in Cia *et al.*, 2007). In onderstaande tabel 3.2 is een overzicht gegeven van bekende literatuur over de verschillende effecten en resultaten van UV-C op bewaarziekten bij fruit (gebaseerd op Shama & Alderson, 2005). In het algemeen werden positieve effecten van (lage) UV-C doseringen waargenomen. Dit kan het gevolg zijn van directe bestrijding van rotschimmels, vertraagde afrijping of geïnduceerde resistentie.

Tabel 3.2. Effect van (lage) doseringen UV-C op vruchten [1 kJ/m² = 100 mJ/cm²].

Vruchten (ras)	Pathogeen	UV dosis (range) kJ.m ⁻²	Optimale UV dosis kJ.m ⁻²	Opmerkingen	Referentie
Appel (Red delicious)	<i>Penicillium expansum</i>	7.5	Niet bepaald	Vroege UV belichting (96 uur) voor de inoculatie met <i>Penicillium</i> gaf het beste resultaat. In het onderzoek werd ook UV in combinatie met harpin, chitosan en antagonisten bekeken.	De Capdeville <i>et al.</i> (2002)
Blauwe bes	<i>Colletotricum acutatum</i>	0 – 4	1 – 4	7 dagen bewaard bij 5°C + 2 dagen 20°C, 90% RV. Rot nam met 10% af bij 1-4 kJ.m ⁻² .	Perkins-Veazie <i>et al.</i> , 2008
Kersen (rassen onbekend)	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Monilinia fructigena</i>	0.5 – 15.0	x	UV had geen effect op vermindering vruchttrot of vruchtkwaliteit	Marquenie <i>et al.</i> (2002)
Druif (Italia)	<i>Botrytis cinerea</i>	0.125 – 4.0	0.125 – 0.5	Druiven die 24-48 uur voor inoculatie belicht werden hadden lagere ziekte-incidentie dan eerst geïnoculeerd en daarna belicht.	Nigro <i>et al.</i> (1998)
Grapefruit (Star Ruby)	<i>Penicillium digitatum</i>	0.5 – 3.0	0.5	Kwaliteit en ziekteresistentie werden bepaald na bewaring en uitstalling. Scoparone en scopoletine gehaltes namen toe. Necrose bij dosering groter dan 1.5 kJ.m ⁻² .	D'hallewin <i>et al.</i> (2000)
Kumquat (Nagami)	<i>Penicillium digitatum</i>	0.2 – 15	1.5	Scoparone-gehaltes namen bij alle UV doseringen toe. Bij bewaring bij 17°C vertoonden de vruchten na 2 weken schade. Bij lagere temperaturen bleef schade achterwege (ook bij de hoge UV-C doseringen).	Rodov <i>et al.</i> (1992)
Limoen – Lemon (Eureka)	<i>Penicillium digitatum</i>	0 – 15	5	UV bleek alleen effectief in onderdrukking rot bij vruchten die tenminste 24 uur tevoren	Ben-Yehoshua (2003)

				belicht waren. In de vruchten werd een toename van scoparone gemeten.	
Mango (Tommy Atkins)	<i>Niet gespecificeerd rot</i>	4.9 – 9.9	4.9	Kwaliteit en ziekteresistentie werden bepaald na bewaring. Belichten met 4.9 kJ.m ⁻² gaf betere een vruchtkwaliteit. Spermidine en putrescine werden door belichting aangemaakt. Hogere doseringen gaven versnelde afrijping van vruchten.	Gonzalez-Aguilar <i>et al.</i> (2001)
Sinaasappel (Biondo Comune, Washington Navel, Tarocco, Valencia Late)	<i>Niet gespecificeerd rot</i>	0.5 – 3.0	Niet bepaald	Kwaliteit en ziekteresistentie werden bepaald na bewaring en uitstalling. Schilkwiteit werd negatief beïnvloed bij de gebruikte UV-C doseringen. Dosis van 0.5 kJ.m ⁻² gaf al verminderde bewaarrot.	D'hallewin <i>et al.</i> (1999)
Sinaasappel (Shamouti, Valencia)	<i>Penicillium digitatum</i>	0.2 – 15	9.0	Na 2 weken bewaring bij 17°C vertoonden de vruchten schade. Bij lagere temperaturen bleef schade achterwege. Scoparone gehalten namen toe bij alle doseringen.	Rodov <i>et al.</i> (1992)
Papaya (<i>Carica papaya</i>)	<i>Colletotrichum gloeosporium</i>				Cia <i>et al.</i> , 2007
Perzik	<i>Monilinia fructicola</i>	7.5	7.5	Verschillende behandelingscombinaties werden getest. Beste resultaten werden bereikt met UV+ <i>Debaromyces hansenii</i> en CaCl ₂ . Resultaat was vergelijkbaar met benomyl.	Stevens <i>et al.</i> , (1997)
Perzik (Elberta)	<i>Monilinia fructicola</i>	0.84 – 40	7.5	Belichten met UV vertraagde de rijping, onderdrukte de ethyleen productie en verhoogde de phenylalanine ammonia-lyase activiteit. Dosering van 40 kJ.m ⁻² vergrootte de gevoeligheid voor <i>Monilinia</i> .	Stevens <i>et al.</i> , (1998)
Pepers (Bell Boy, Delphin)	<i>Natuurlijke infecties en Botrytis cinerea</i>	0.22 – 2.20	0.88 voor Botrytis	Alle geteste doseringen gaven bescherming tegen natuurlijke infecties. UV gaf alleen bescherming tegen Botrytis als de inoculatie na de belichting plaats vond, niet daarna.	Mercier <i>et al.</i> , (2001)
Aardbei (Kent)	<i>Botrytis cinerea</i>	0.25 – 1.0	0.25	Belichting resulteerde in een toename van het uitstalleven met 4-5 dagen. Lagere doseringen gaven een vertraagd afleven.	Baka <i>et al.</i> , (1999)
Aardbei (Elsanta)	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Monilinia fructigena</i>	0.5 – 15.0	0.5	Schimmelgroei werd geremd bij alle doseringen. Bij de hogere doseringen bleven vruchten steviger; hierbij trad wel kroonblad verbruining op.	Marquenie <i>et al.</i> (2002)
Tangerine (Dancy)	<i>Penicillium digitatum</i>	1.3	1.3	Verschillende behandelingscombinaties werden getest. Het beste resultaat werd bereikt met UV en <i>Debaromyces hansenii</i> en CaCl ₂	Stevens <i>et al.</i> (1997)
Tomaat (Tuskegee,	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Botrytis cinerea</i> ,	1.3 – 40	3.6 – 7.5	UV dosering van 3.6 – 4.8 kJ.m ⁻² vertraagden afrijping.	Liu <i>et al.</i> (1993)

Floradade, Better Boy)	<i>Rhizopus stolonifer</i>			Dosering van 40 kJ.m ² gaf schilverkleuring.	
Tomaat (Tusgekee, Floradade)	<i>Rhizopus stolonifer</i>	3.6	3.6	Verskillende behandelingscombinaties werden getest. Het beste resultaat werd bereikt met UV en <i>Debaromyces hansenii</i> en CaCl ₂	Stevens et al. (1997)
Tomaat (Capello)	X	3.7 – 24.4	3.7	Hier werd alleen naar vertraagd afleving gekeken. Belichte vruchten werden 35 dagen bij 16°C bewaard. Hoge UV dosering gaf verbruining van de schil. Dosis van 3.7 kJ.m ² vertraagde de rijping met 7 dagen. Belichting gaf een toename in het gehalte putrescine in de vruchten.	Maharaj et al. (1999)
Tomaat	<i>Botrytis cinerea</i>	3.7	x	Tomatenvruchten – groenrijp en kleurend – werden belicht met 3.7 kJ.m ² en vervolgens bewaard bij 13° en 20°C. De belichte vruchten werden ook geïnoculeerd met <i>Botrytis cinerea</i> . Groenrijp bewaarde tomaten bij 13°C lieten een verhoogde risihitine productie zien. Ook bleken belichte vruchten bij deze condities beter beschermd tegen <i>Botrytis</i> ,	Charles et al. (2003)

4 Proof of principles UV - vruchtrotschimmels

4.1 Materiaal en methode

4.1.1 Schimmelsoorten

In deze fase van het onderzoek werd het effect van UV-C op de sporenkieming en de myceliumgroei van een aantal vrucht- en bewaarrot veroorzakende schimmels onderzocht. Dit gebeurde in het laboratorium op voedingsbodems [*proof-of-principles UV-C in vitro*]. Het effect van UV-C werd op 10 schimmelsoorten onderzocht (tabel 4.1.1). Deze schimmels waren afkomstig uit de schimmelcollecties van Plant Research International, de Plantenziektenkundige Dienst en PC-fruit (Gorseme). Van de 10 schimmelsoorten werden 7 soorten gebruikt om het effect van UV-C op sporenkieming te testen. Bij 7 schimmelsoorten werd het effect van UV-C op myceliumgroei getest. Bij 4 soorten werd het effect op zowel myceliumgroei als sporenkieming getest.

Tabel 4.1.1. In het onderzoek geteste schimmelsoorten.

Schimmelsoort	Code	Sporen (conidiën)	Mycelium
<i>Alternaria alternata</i>	A	x	x
<i>Botrytis cinerea</i>	B	x	x
<i>Collectotrichum acutatum</i>	C	x	x
<i>Fusarium oxysporum</i>	F		x
<i>Nectria galligena</i>	N		x
<i>Stemphylium vesicarium</i>	S		x
<i>Gloeosporium album</i>	G	x	x
<i>Rhizopus stolonifer</i>	R	x	
<i>Penicillium expansum</i>	P	x	
<i>Venturia inequalis</i>	V	x	

4.1.2 Belichting met UV-C en dosering

De experimenten werden uitgevoerd in Randwijk bij Praktijkonderzoek Plant & Omgeving. De belichting werd uitgevoerd met een lage druk UV-lamp. De gewenste UV-C dosering (mJ/cm²) werd verkregen door de hoogte van de lamp en de belichtingsduur te variëren. De exacte dosering werd tijdens de proeven vastgesteld met behulp van een UV-C lichtmeter.

4.1.3 Effect van UV-C op sporenkieming

De schimmelsoorten werden opgekweekt op Potato Dextrose Agar (PDA – aardappel dextrose agar). Van sporulerende schimmelcultures werden sporensuspensies (conidiën) verkregen (circa 1x10⁵ sporen/ml). Van appelschurft (*Venturia inequalis*) werd een sporensuspensie verkregen door sporen van geïnfecteerde bladeren (met schurftvlekken) te spoelen. Van de sporensuspensies werd 200 microliter op een Petri schaal met water-agar gebracht en uitgespreid met een steriele glazen spatel. De Petri schalen met water agar (zonder deksel) en sporen werden belicht met een bepaalde UV-C dosis (in drie herhalingen). Na het belichten werden de Petrischalen geïncubeerd in een klimaatkast in het donker bij 22°C. Na 24 uur werden de sporen onder de microscoop op kieming beoordeeld. Kieming werd bepaald door tenminste 150 sporen per Petri schaal op kieming te beoordelen. Een spore werd als gekiemd geteld als de kiembuis langer was dan de halve diameter van de spore.

Het effect van UV-C op de sporenkieming werd in twee experimenten onderzocht (tabel 4.1.3). In het eerste

experiment werden de schimmelsoorten aan dezelfde UV-C dosisreeks blootgesteld. Op basis van de resultaten werd per schimmelsoort een aangepaste dosisreeks bepaald. Op deze wijze kon de dosis-respons curve en de drempelwaarde voor volledige afdoding van de sporen goed bepaald worden. De *Gloeosporium*-culture leek verontreinigd, de resultaten van de proef zijn daarom niet in deze rapportage opgenomen.

Tabel 4.1.3. Toegepaste UV-C doseringsreeksen (mJ/cm²) bij experiment effect UV-C op sporenkieming.

	Schimmelsoort	Dosering mJ/cm ²
Experiment 1	A, B, C, R, P, V	0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 25, 50, 75, 100
Experiment 2a	B, R, C, P	0, 5, 10, 15, 20, 25, 40, 50, 75, 100, 150
Experiment 2b	A, V	0, 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 200, 250
Experiment 2c	G	0, 5, 10, 20, 25, 50, 75, 100

4.1.4 Effect van UV-C op myceliumgroei

De experimenten werden uitgevoerd door een myceliumponsje in het midden van een voedingsbodem te zetten. Na 24 uur groei in een klimaatkast werden de ponsjes belicht met een bepaalde dosering UV-C. De ponsjes werden pas na 24 uur belicht omdat de nieuw gevormde myceliumdraden dan bereikbaar voor het UV-C licht waren. De behandelingen werden in drie herhalingen uitgevoerd. De proeven werden in 3 experimenten uitgevoerd (tabel 4.1.4).

In de eerste serie experimenten werd gekeken naar een dosis-effect en het effect van herhaald belichten. Hiervoor werden de ponsjes belicht met een doseringsreeks zoals weergegeven in tabel 4.1.4. De helft van de ponsjes werd na 3 dagen opnieuw belicht. Het effect van de UV-C belichting werd bepaald door de diameter van de schimmelkolonie (mycelium) op bepaalde dagen te meten. In de tweede serie experimenten werd op basis van de resultaten van de eerste experimenten een dosis-reeks per schimmelsoort bepaald. Omdat de resultaten van het eerste en het tweede experiment aanwijzingen gaven dat het effect van UV-C waarschijnlijk kortstondig is, en de frequentie van belichten belangrijker is dan de dosis werd een derde experiment uitgevoerd. Hierbij werden schalen met schimmelponsjes eenmaal, tweemaal of driemaal met UV-C belicht, met tussenpozen van een dag.

Tabel 4.1.4. Toegepaste UV-C doseringsreeksen (mJ/cm²) bij experiment voor effect UV-C op myceliumgroei.

	Schimmelsoort		Dosering mJ/cm ²
Experiment 1	A, B, C, F, N, S	1e belichting	0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 25, 50, 75, 100
		2e belichting	0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 25, 50, 75, 100
Experiment 2	A, B, C, F, N, S	eenmalig belicht	0, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600
Experiment 3	A, B, C, N	1e belichting	0, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400
		2e belichting	0, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400
		3e belichting	0, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400

4.1.5 Statistische analyses

De statistische analyses van de resultaten zijn uitgevoerd met Genstat 10th edition release 2 (Lawes Agricultural Trust, Rothamsted Research, UK), aangevuld met de Biometris Genstat Procedure Library 9nd Edition.

4.2 Resultaten

4.2.1 Sporenkieming

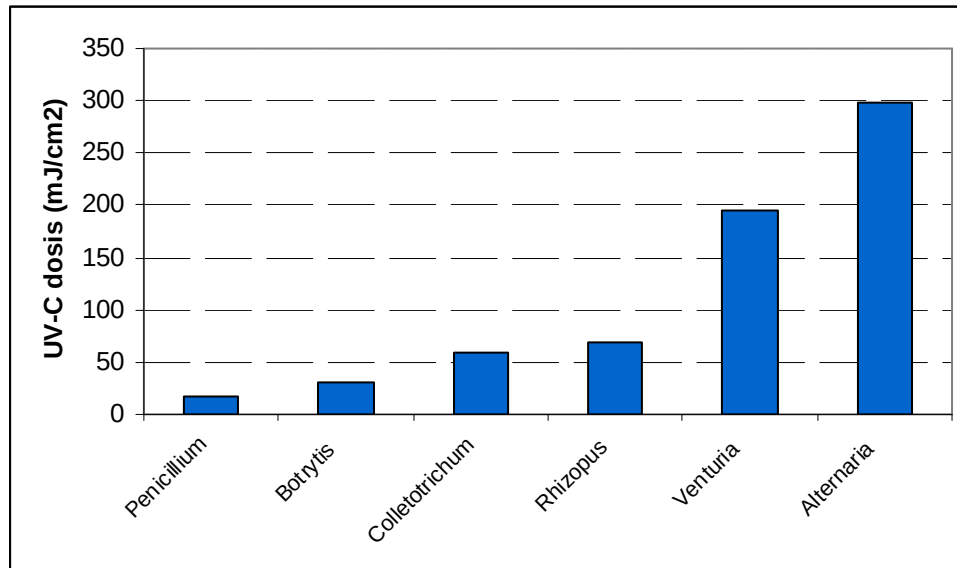
4.2.1.1 Experiment-1

In de eerste serie metingen werden kleine doseringsstappen gebruikt bij lage dosering en met een hoogste dosering van 100 mJ/cm^2 . Uit de figuren in bijlage 1 blijkt dat bij alle schimmelsoorten de sporenkieming geremd werd naarmate de UV-C dosis verhoogd werd. Voor de schimmelsoorten *Alternaria* en *Venturia* moet een dosering groter dan 100 mJ/cm^2 gegeven worden om de sporenkieming volledig te remmen. De sporen van schimmelsoorten *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Penicillium* blijken zeer gevoelig voor UV-C belichting. De sporen van *Rhizopus* lijken bij lage UV-C dosering in eerste instantie gestimuleerd te worden om te kiemen. Bij hogere UV-C dosering wordt de sporenkieming dan weer geremd.

4.2.1.2 Experiment-2

In de tweede serie experimenten werd de doseringsreeks aangepast op basis van de eerste metingen. De belichtingsstappen waren dus aangepast per schimmelsoort. In de figuren in bijlage 1 is te zien dat voor de schimmels *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Penicillium* en *Rhizopus* volledige remming van de sporenkieming werd bereikt. De toegepaste dosis was onvoldoende om de sporenkieming bij *Alternaria* en *Venturia* volledig te remmen.

In figuur 4.2.1.2 is weergegeven bij welke dosering de kieming bij 95% van de sporen volledig geremd werd. De sporen van *Penicillium* en *Botrytis* bleken zeer gevoelig voor UV-C belichting. De sporen van *Venturia* en *Alternaria* zijn alleen bij hoge doseringen af te doden. De sporen van *Colletotrichum* en *Rhizopus* nemen een middenpositie in.



Figuur 4.2.1.2. UV-C dosis om sporenkieming met 95% te reduceren.

De beoordeling op sporenkieming werd 24 uur na belichting met UV-C uitgevoerd. Aanvullend werd de sporenkieming ook beoordeeld op 48 en 96 uur na belichting. Dit werd gedaan om vast te stellen dat het om werkelijke afdoding van de sporen ging en niet alleen om kiemingsremming.

Uit tabel 4.2.1.2 blijkt dat voor de sporen van *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Rhizopus* en *Penicillium* de remming ook werkelijke afdoding van de sporen is geweest. Na 96 uur kiemden slechts enkele sporen. Bij *Alternaria* en *Venturia* was de hoogste dosering onvoldoende om kieming volledig te remmen. Bij de hoogste toegepaste dosering (250 mJ/cm^2) werden de sporen van *Venturia* vrijwel volledig afgedood, en vond er vrijwel geen kieming meer plaats in de opvolgende dagen. Bij *Alternaria* kon in de eerste 24 uur 80%

remming van de sporen bereikt worden, maar in de opvolgende dagen nam de kieming nog sterk toe.

Tabel 4.2.1.2. Kieming van schimmelsporen op 24, 48 en 96 uur na UV-C belichting.

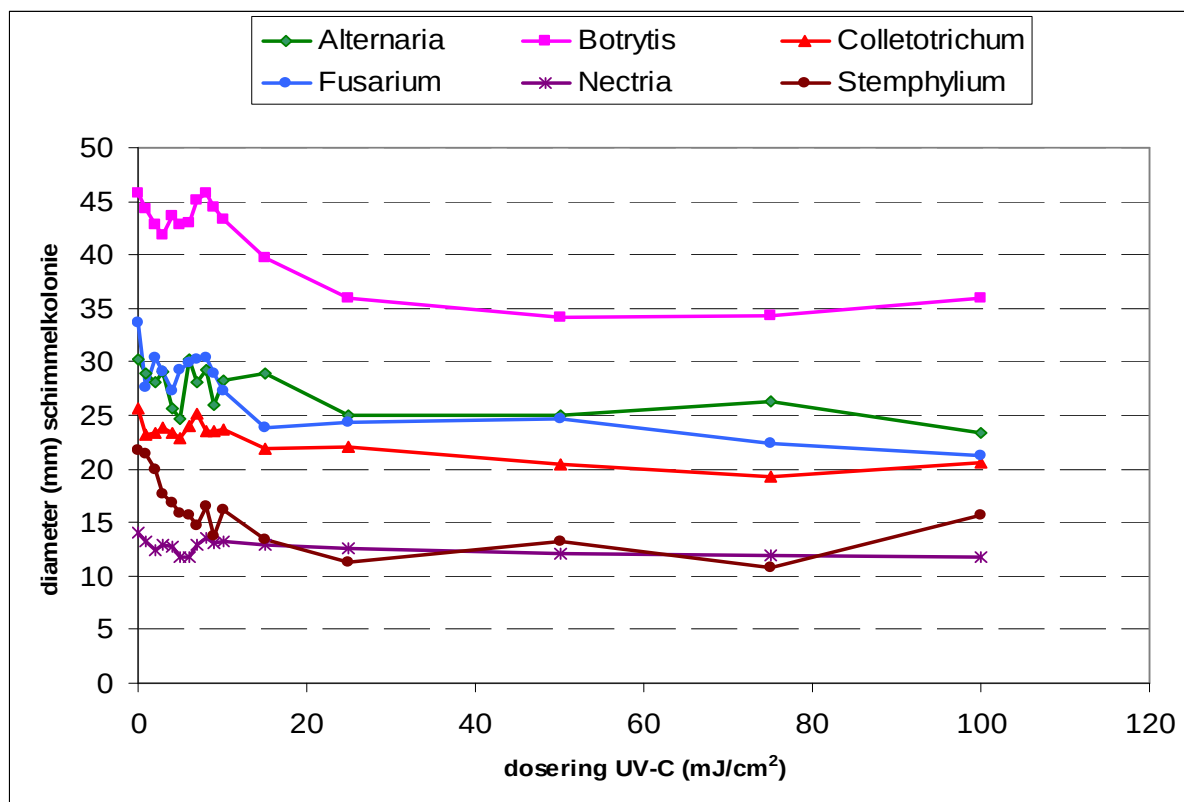
Schimmelsoort	UV-C dosering mJ/cm ²	Percentage gekiemde sporen na		
		24 uur	48 uur	96 uur
<i>Botrytis</i>	75	0	0	4.4
	100	0	0	1.1
<i>Colletotrichum</i>	100	1.3	1.6	4
	150	0	0	1.6
<i>Rhizopus</i>	75	1.3	2.4	4.2
	100	0	0.9	1.6
<i>Penicillium</i>	50	0	0.9	2.7
	75	0	0	2.7
	100	0	0	3.3
	150	0	0	0.4
<i>Venturia</i>	200	3.3	18.7	27.1
	250	2	2.9	6.1
<i>Alternaria</i>	200	24	43.3	64
	250	20.4	29.3	41.1

4.2.2 Myceliumgroei

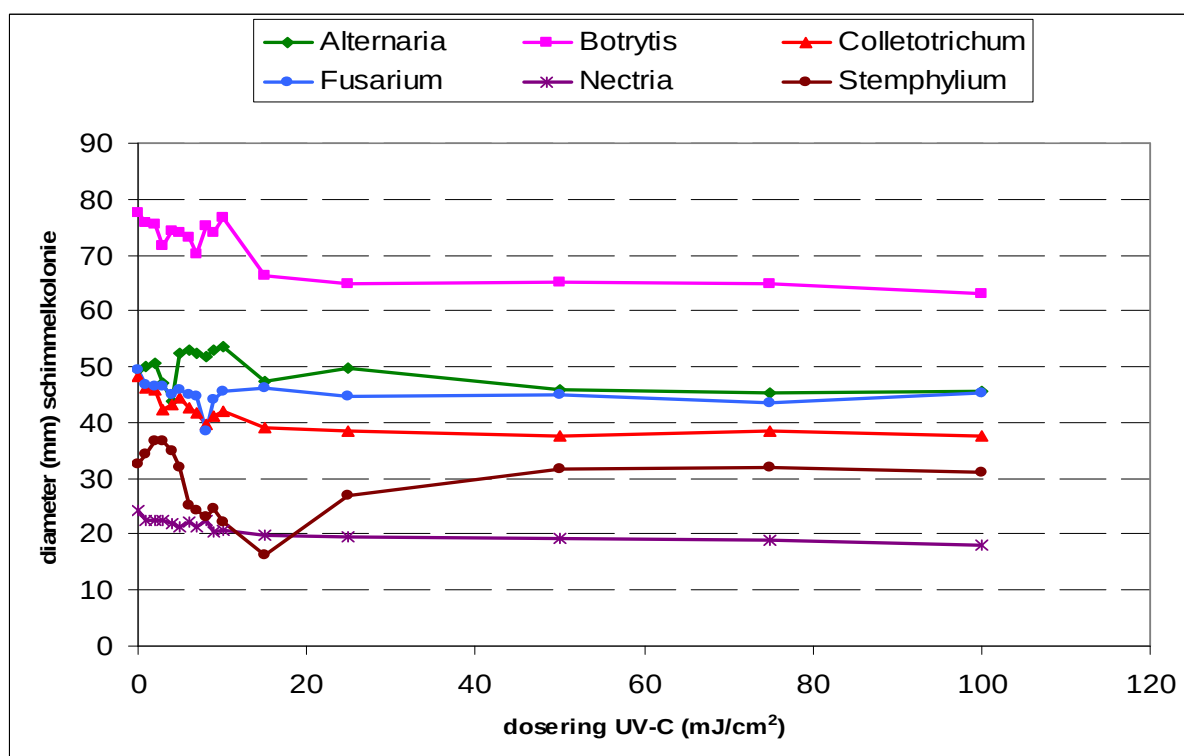
4.2.2.1 Experiment-1

In experiment 1 werd het effect van de UV-C dosis op de uitgroei van de schimmels bekeken. De schimmels verschilden duidelijk in groeisnelheid. *Botrytis* is de snelst groeiende schimmel, *Nectria* en *Stemphylium* zijn de traagst groeiende schimmels. Uit figuur 4.2.2.1.a. en de tabel in bijlage 2 blijkt dat bij de gebruikte UV-C doseringen geen of nauwelijks effect op de myceliumgroei viel waar te nemen bij *Nectria* en *Alternaria*. Bij *Botrytis* en *Colletotrichum* lijkt er een effect op de myceliumgroei te zien bij UV-C doseringen hoger dan 25 mJoule/cm². Bij *Fusarium* en *Stemphylium* lijkt er bij lagere doseringen al een effect op te treden. Bij geen van de schimmelsoorten werd volledige afdoding van het mycelium waargenomen.

Een tweede belichting met UV-C, drie dagen na de eerste belichting, gaf vergelijkbare resultaten (figuur 4.2.2.1.b). Het remmend effect op de myceliumgroei was zeer beperkt (tabel in bijlage 2). Een duidelijke dosis-repons werd niet gevonden.



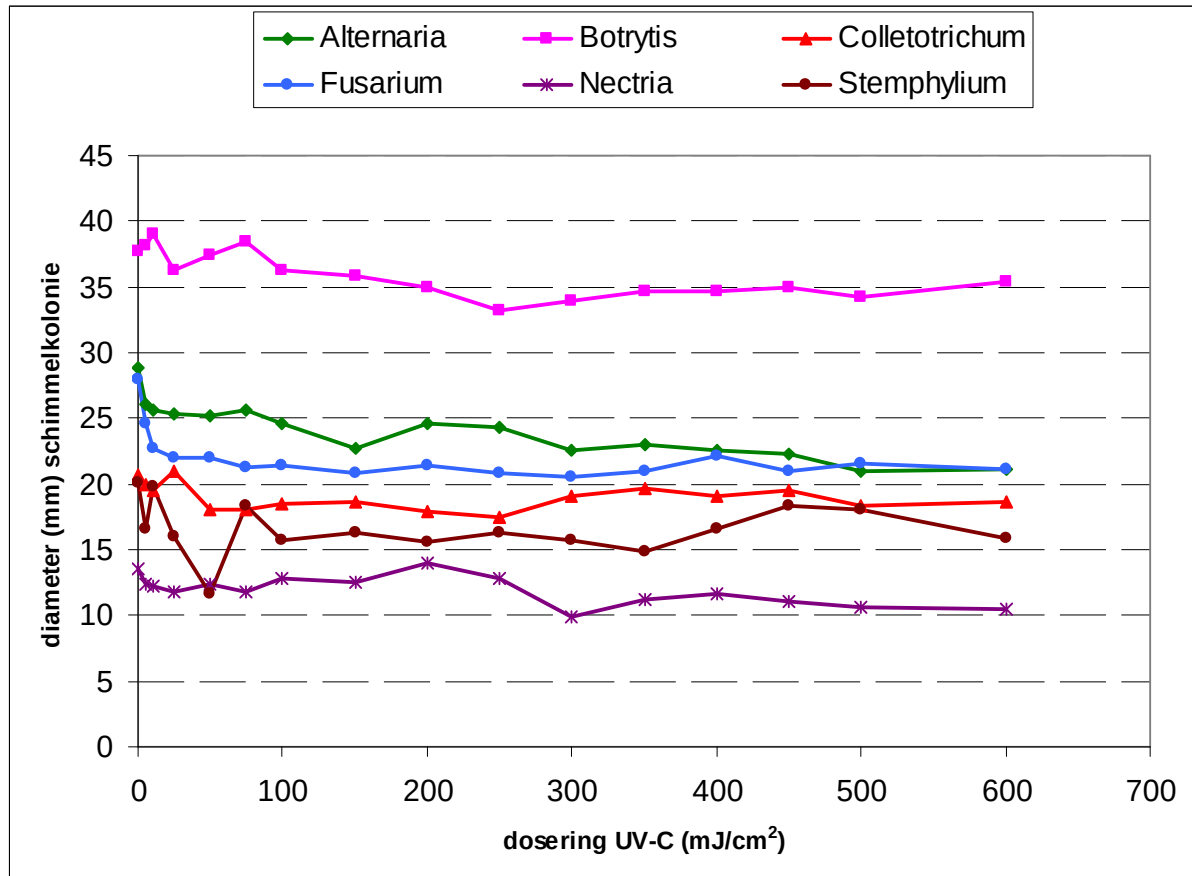
Figuur 4.2.2.1.a. Effect van eenmalige UV-C belichting (dosis) op myceliumgroei; gemeten op 3 dagen na belichting.



Figuur 4.2.2.1.b. Effect van tweevoudige UV-C belichting (dosis) op myceliumgroei; gemeten op 3 dagen na tweede belichting.

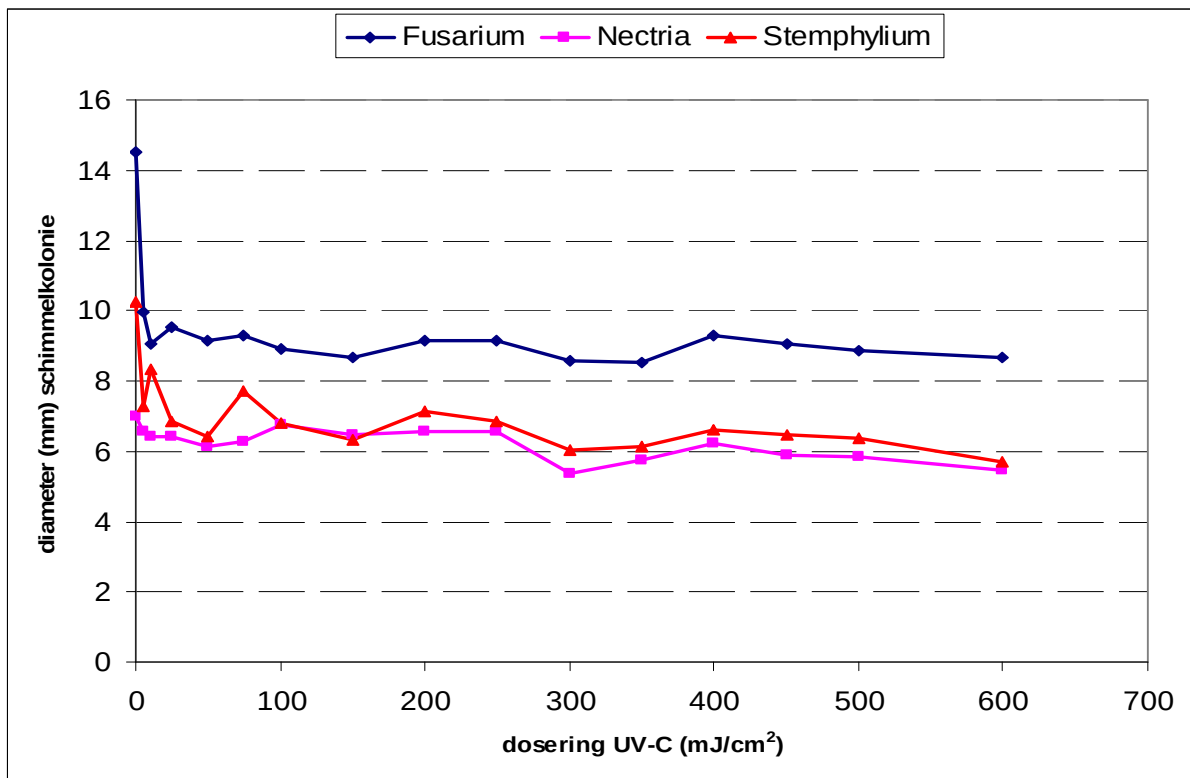
4.2.2.2 Experiment-2

In het tweede experiment werden hogere UV-C doseringen gebruikt. Uit figuur 4.2.2.2.a blijkt dat het verhogen van de dosering tot 600 mJ/cm² vrijwel geen effect had op de groei van het mycelium, gemeten op 3 dagen na belichten, bij alle schimmelsoorten. Bij *Alternaria*, *Fusarium* en *Stemphylium* lijkt er bij lage UV-C dosering een remming van de myceliumgroei. Deze remming wordt niet versterkt door een hogere dosering.



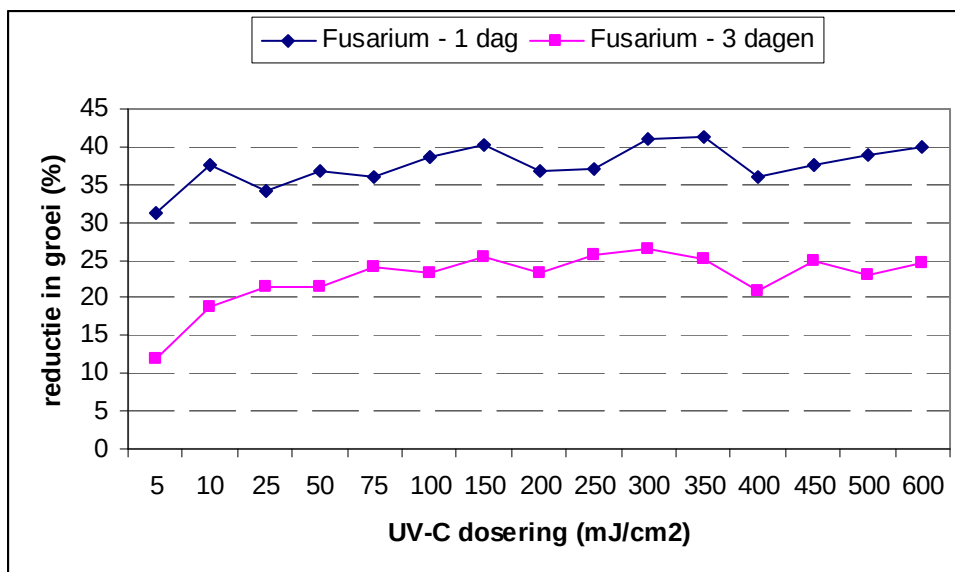
Figuur 4.2.2.2.a. Effect van eenmalige UV-C belichting (dosis) op myceliumgroei; gemeten op 3 dagen na belichting.

In de eerste experimenten werd de diameter van het mycelium drie dagen na de UV-C belichting gemeten. Op basis van de resultaten werd vermoed dat het effect van de belichting kortstondig was. Daarom werd bij een drietal schimmels ook één dag na uitvoeren van de belichting de koloniediameter gemeten. Maar ook uit deze figuur (figuur 4.2.2.2.b) blijkt niet dat hoge UV-C doseringen de myceliumgroei tot stilstand hebben gebracht.

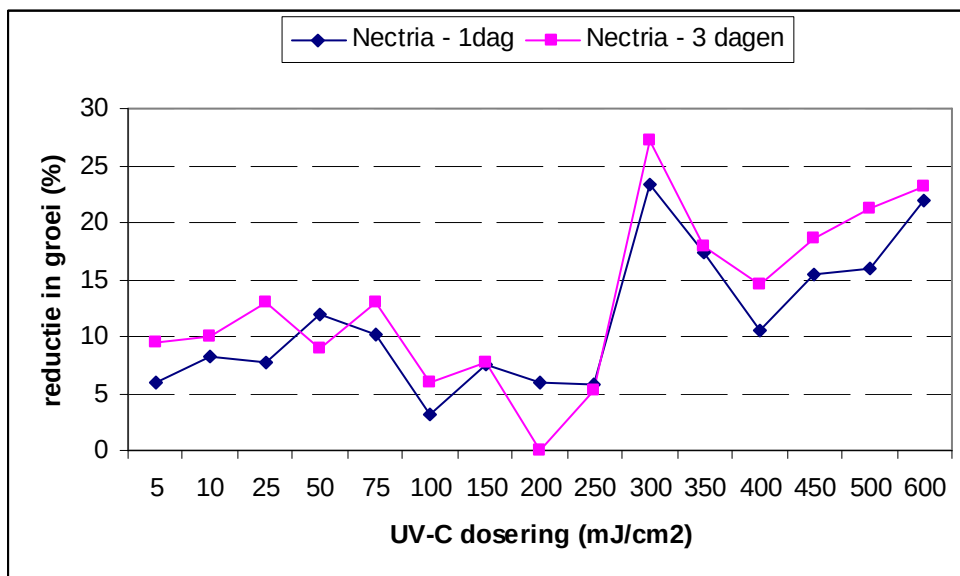


Figuur 4.2.2.2.b. Effect van eenmalige UV-C belichting (dosis) op myceliumgroei; gemeten op 1 dag na belichting.

De figuren 4.2.2.2.c en 4.2.2.2.d laten zien dat bij sneller groeiende schimmels (*Fusarium*) het remmende effect van UV-C op de myceliumgroei relatief snel verdwijnt. Blijkbaar wordt de myceliumgroei kortstondig geremd, waarna de groei weer ongeremd verder gaat. Bij *Nectria* – een langzaam groeiende schimmel – is het effect langer aantoonbaar.



Figuur 4.2.2.2.c Effect van eenmalige UV-C belichting (dosis) op myceliumgroei; gemeten op 1 en 3 dagen na belichting.



Figuur 4.2.2.2.d. Effect van eenmalige UV-C belichting (dosis) op myceliumgroei; gemeten op 1 en 3 dagen na belichting.

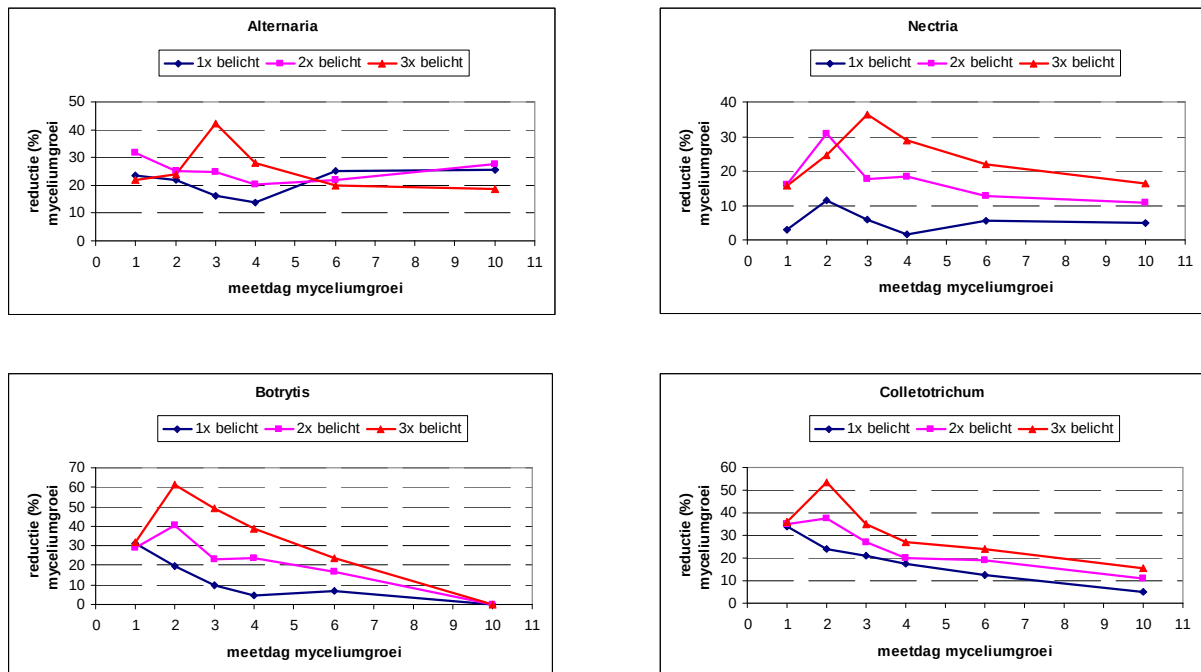
4.2.2.3 Experiment-3

In de derde serie experimenten werden 4 schimmelsoorten met UV-C belicht: *Alternaria*, *Botrytis*, *Nectria* en *Colletotrichum*. De diameter van het mycelium werd dagelijks gemeten. In bijlage 3 zijn de statistische analyses weergegeven van het effect van dosering en belichtingsfrequentie. In deze proef werd het mycelium van de 4 schimmelsoorten 1x, 2x of 3x belicht – met 1 dag interval – met een bepaalde UV-C dosis. Dag 1 betekent 24 uur na de eerste belichting. Alle schalen zijn op dat moment dus 1x belicht (serie 1, 2 en 3). Dag 2 betekent 48 uur na de eerste belichting, en 24 uur na de tweede belichting (serie 2 en 3; serie 1 werd niet meer belicht). Dag 3 betekent 72 uur na de eerste belichting, 48 uur na de tweede belichting en 24 uur na de derde belichting (serie 3). Serie 1 is dus eenmaal belicht; serie 2 dus tweemaal en serie 3 dus driemaal.

In bijlage 3 zijn de resultaten ook in figuren weergegeven. Uit de figuren van dag 3 - op dat moment zullen de verschillen het grootst zijn - blijkt dat bij *Botrytis*, *Colletotrichum* en *Nectria* herhaald belichten de myceliumgroei beter remde dan eenmalig belichten. De myceliumgroei kon echter niet volledig geremd worden.

In figuur 4.2.2.3 is het effect van de belichtingsfrequentie weergegeven, uitgedrukt in de reductie van de myceliumgroei. De maximale statistisch berekende groeiremming werd daarbij als uitgangspunt genomen. Hieruit blijkt dat belichting met UV-C bij *Alternaria* niet veel effect op de myceliumgroei heeft. Bij *Nectria* is wel een cumulatief effect van de belichtingsfrequentie aanwezig. Hoe vaker belicht hoe groter de remming van de myceliumgroei.

Ook bij *Botrytis* en *Colletotrichum* werd een effect van de belichtingsfrequentie waargenomen. Opvallend genoeg was dit op de tweede meetdag, op dat moment waren nog maar 2 belichtingen uitgevoerd. Dit kon nog niet verklaard worden. Bij de snelgroeierende schimmelsoorten als *Botrytis* verdwijnt het effect op de myceliumgroei snel; de schimmel herstelt zich snel op een voedingsbodem.



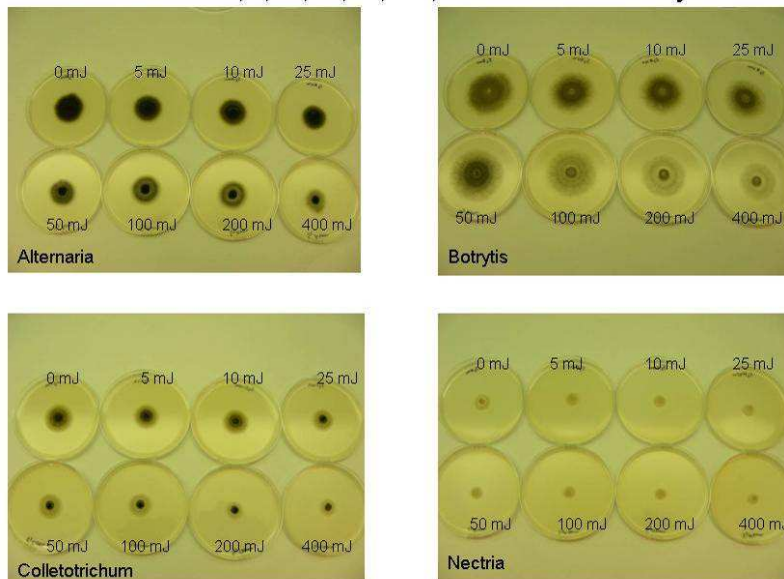
Figuur 4.2.2.3. Effect van dosis en frequentie van UV-C belichting op myceliumgroei.

4.2.3 Effect van UV-C op sporulatie

Uit voorgaande paragrafen blijkt dat met UV-C belichting de myceliumgroei van de geteste schimmels op een voedingsbodem moeilijk te remmen is. Tijdens de metingen werd een effect van UV-C op de sporulatie waargenomen. Bij het beoordelen werd duidelijk dat de myceliumgroei bij herhaald belichten slechts beperkt werd geremd. De vorming van sporen werd wel sterk geremd, naarmate de dosering hoger werd en de belichtingsfrequentie toenam.

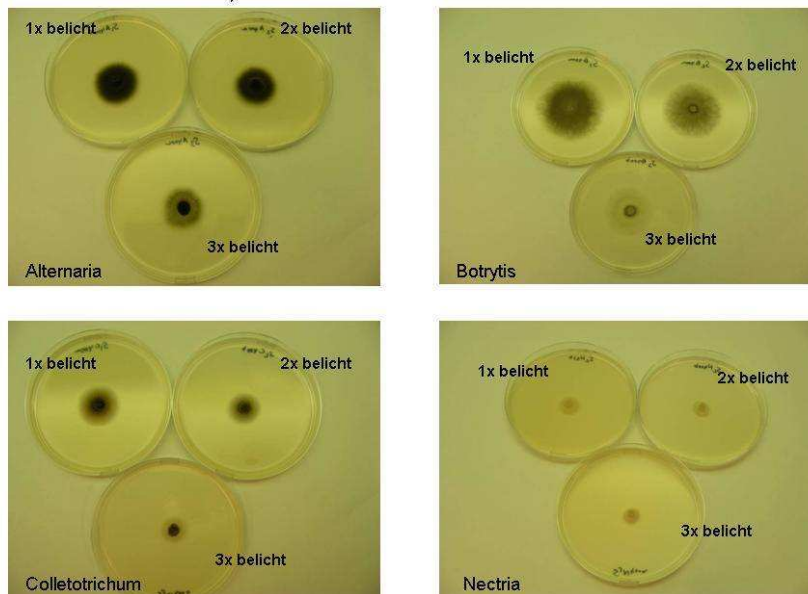
Uit de figuren 4.2.3. (foto's) is te zien dat bij driemaal belichting er een duidelijk dosis-effect op de sporulatie van *Alternaria*, *Botrytis* en *Colletotrichum* viel waar te nemen. Vanaf een dosering hoger dan 50 mJoule/cm² was visueel minder sporulatie waarneembaar. Dit kon echter niet gekwantificeerd worden. Bij *Nectria* sporuleerde het mycelium in het geheel niet. In figuur 4.2.3.b (foto) valt te zien dat een dergelijk effect bij eenmalig of tweemaal belichten, veel minder of zelfs afwezig is.

UV-C: Effect van 0, 5, 10, 25, 50, 100, 200 en 400 mJ/cm² bij 3x belichten.



Figuur 4.2.3.a. Effect van UV-C belichting (dosisreeks) op myceliumgroei en sporulatie bij driemaal belichten.

UV-C: Effect van 1x, 2x en 3x belichten met 400 mJ/cm².



Figuur 4.2.3.b. Effect van UV-C belichting op myceliumgroei en sporulatie bij eenmaal, tweemaal en driemaal belichten met 400 mJ/cm².

4.3 Discussie, conclusies en aanbevelingen

4.3.1 Discussie

Er is een behoefte om de bestrijding van bewaarrot in de naaste toekomst op een andere, alternatieve manier uit te voeren, waarbij residu op vruchten zoveel mogelijk wordt vermeden. Naast de voedselveiligheid is ook de milieubelasting een belangrijk argument om de rotbestrijding op een andere

manier te gaan uitvoeren. Vooral de middelen die voor het afspritzen gebruikt worden tegen bewaarrot zijn de boosdoener. Er zal een traject ingezet moeten worden om de alternatieve bewaarrot bestrijding effectief en betrouwbaar te ontwikkelen. Hierbij is er voorlopig geen eenduidige methode om bewaarrot volledig te bestrijden, mogelijk zullen meer methoden tegelijkertijd moeten worden aangewend om de chemische middelen geleidelijk te vervangen door milieuvriendelijke alternatieven als we de fruitteelt als duurzame sector willen blijven zien (Van Schaik & Heijne, 2007). Alternatieve methoden voor chemische vruchtrotbestrijding kunnen warmwater behandeling en antagonisten zijn (Droby, 2007; Ippolito & Nigro, 2000; Tian, 2007). Bij warmwater behandeling worden de appels en peren een korte tijd in heet water gedompeld. De werking hiervan berust niet alleen op het afdoden van schimmelsporen maar waarschijnlijk ook op een verbetering van het afweermechanisme van de vrucht. Een probleem is om voor iedere partij en ras het juiste protocol vast te stellen. Bij te hoge temperatuur of te lange behandelingsduur kan schade op de schil ontstaan of inwendige afwijkingen. Toepassing van antagonisten komt in de praktijk nog weinig voor omdat er nog maar enkele op de markt zijn. Antagonisten zijn levende organismen, meestal gisten of andere schimmels, die de bewaarrotschimmels tegenwerken. De antagonisten werken niet tegen alle schimmels tegelijkertijd (Van Schaik & Heijne, 2007). Een andere methode voor bestrijding van bewaarrot zonder chemisch residu kan ultraviolet (UV) licht zijn. UV-licht is dodelijk voor veel bacteriën en schimmels, terwijl groene planten van nature een zekere weerstand hebben tegen UV licht. Het gebruik van UV-licht om ziekten te bestrijden lijkt daarom mogelijk.

Voor de bestrijding van bewaarrot met UV-C liggen verschillende strategieën voor handen. Voor het uitvoeren van een adequate bestrijding tegen vruchtrot is het belangrijk om te weten welke vruchtrotsoorten bestreden moeten worden en wanneer; bijvoorbeeld in boomgaard voor de pluk (bv. *Gloeosporium*), tijdens de pluk (bv. *Botrytis*), in de bewaring of na de bewaring (bv. *Penicillium*).

De infectie van vruchten vindt vaak al in de boomgaard plaats. Een groot aantal ziekteverwekkers blijft latent aanwezig; pas in de bewaring komen deze infecties tot uiting. Meestal omdat de vruchten rijpen en de weerstand afneemt. Door uitvoering van chemische behandeling (afspritzen) worden sporen op de vruchtschil gedood; of de aanwezigheid van het middel op of in de vrucht (residu) remt of verhindert de uitgroei van de schimmels.

Uit het in dit rapport beschreven onderzoek blijkt dat sporen van vrucht- en bewaarrot veroorzakende schimmels met UV-C gedood kunnen worden. De dosering die nodig is voor volledige doding verschilt per schimmelsoort. Dit is in overeenstemming met resultaten uit de literatuur; dit geldt ook voor de toegepaste doseringen. Vooral donker gekleurde sporen, zoals van *Alternaria alternata*, moeten met een hoge dosering UV-C belicht worden (Lagunas-Solar *et al.*, 2006; Valero *et al.*, 2007). De sporen (conidiën) van 'echte' bewaarrotschimmels zoals *Botrytis*, *Colletotrichum* en *Penicillium* worden al bij een lage UV-C dosering gedood. Het uitwendig ontsmetten van vruchten met UV-C lijkt voor deze schimmels dus realiseerbaar. Oppervlakkig aanwezige sporen van bijvoorbeeld *Botrytis* zijn te doden - plukwondjes kunnen ontsmet worden.

Of UV-C tijdens de boomgaardfase kan worden ingezet ter voorkoming van infecties moet verder onderzocht worden. Een van de problemen voor een goede werking is dat het UV-C licht moeilijk alle vruchten in de boom kan 'raken'. Een inzet van UV-C tegen meeldauw wordt onderzocht (zie hoofdstuk 7).

Remmen van myceliumgroei blijkt minder eenvoudig. Uit de proeven blijkt dat eenmalig belichten met UV-C weinig effect heeft op myceliumgroei op een voedingsbodem. Het verhogen van de dosering geeft geen beter effect. Een aantal verklaringen kan hiervoor gegeven worden.

Het effect van UV-C is kortstondig, de myceliumgroei wordt maar gedurende een korte periode (enkele uren?) tot stilstand gezet. Vanuit overlevend mycelium vindt weer hergroei plaats. Het meetbare effect gaat snel verloren naarmate de myceliumkolonie groter wordt. Bij een snelgroeiende schimmel is het effect dus kort meetbaar. Een meting moet dus kort na de belichting worden uitgevoerd. Verder is het doordringende vermogen van UV-C beperkt. Mycelium dat door UV-C licht geraakt wordt zal bij lage dosering al dood gaan. Met een hogere dosering wordt niet 'meer' mycelium geraakt. Frequent belichten met een lage dosering UV-C blijkt in de uitgevoerde proeven effectiever dan enkele malen belichten met een hoge UV-C dosering.

De vraag is echter of de bestrijding van mycelium nodig is voor de bestrijding van bewaarrot. Vruchten die zichtbaar aangetast zijn, worden normaal gesproken niet bewaard. In principe wordt alleen gaaf fruit bewaard. Deze vruchten kunnen wel latent geïnfecteerd zijn. Deze latente infecties moet dan met UV-C bestreden worden. Het doordringende vermogen van UV-C is zeer beperkt, een direct dodende werking op de latent aanwezige schimmel is niet waarschijnlijk. Het is aannemelijk dat de bestrijding van latente bewaarrotinfecties voor een groot deel gebaseerd is op het principe van geïnduceerde resistentie (zie hoofdstuk 4). Dit moet in vervolgonderzoek duidelijk worden.

De bestrijding van mycelium is wel belangrijk bij ziekten als meeldauw. De uitgroei van deze schimmel moet zoveel mogelijk beperkt worden. De waarneming in dit onderzoek dat herhaald belichten de sporulatie bij verschillende schimmels sterk laat afnemen is zeer belangrijk. Hieruit kan geconcludeerd worden dat de infectiedruk sterk verminderd kan worden met UV-C belichting.

Aangetoond is in dit onderzoek, en uit de literatuur blijkt, dat UV-C in relatief lage dosering effectief is tegen ondermeer de schimmelsoorten *Alternaria*, *Botrytis*, *Monilinia*, *Penicillium*, *Phytophthora* en *Rhizopus*. Voorwaarde voor een goede werking is dat de schadeverwekker door het UV-C 'geraakt' wordt. Vruchten moeten dus gerold en gedraaid worden om over het gehele oppervlak behandeld te worden. Voor appel en peer lijken hiervoor goede ontwikkelingsmogelijkheden bijvoorbeeld voor een UV-C unit op een transportband bij de oogst. Daarnaast blijkt UV-C bij lage dosering een positief effect op de interne en externe kwaliteit vruchtkwaliteit hebben.

4.3.2 Conclusies

Uit het onderzoek – *proof of principles* effect UV-C op sporenkieming en myceliumgroei *in vitro* – kunnen de volgende conclusies worden getrokken:

- UV-C kan de kieming van sporen (conidiën) van vrucht- en bewaarrot veroorzakende schimmels volledig remmen – verhinderen.
- De dosering voor volledige remming verschilt per schimmelsoort.
- *Botrytis* en *Penicillium* hebben sporen (conidiën) die zeer gevoelig zijn voor UV-C.
- *Alternaria* en *Venturia* hebben sporen (conidiën) die minder gevoelig zijn voor UV-C.
- Op voedingsbodems wordt de myceliumgroei beperkt geremd door UV-C.
- UV-C heeft een duidelijk effect op sporulatie bij frequent belichten met een hoge dosis. De sporulatie wordt bij frequent belichten duidelijk geremd.

Go-no-go criterium:

Als blijkt dat UV-C belichting geen effect heeft op sporenkieming (schurft en/of vruchtrotschimmels) of myceliumgroei van vruchtot veroorzakende schimmels, of op vermindering van ascosporen van schurft of op meeldauw in de boomgaard (fase 1).

De eerste fase heeft uitgewezen dat UV-C belichting effect heeft op de sporenkieming en myceliumgroei van vruchtrotschimmels. Fase 2 van het onderzoek met betrekking tot bewaarrot is dus zinvol.

4.3.3 Aanbevelingen

- Na enkele malen belichten (dagelijks) werd een afname van de sporulatie waargenomen. Dit zou nog gekwantificeerd kunnen worden.
- Proof-of-principle bestrijding vruchtot met UV-C. Het effect van een aantal UV-C behandelingscombinaties zou verder getest kunnen worden op een aantal geselecteerde vruchtot veroorzakende schimmels bij appel (Elstar) en peer (Conference).
- Testen van UV-C op praktijkpartijen (onbespoten) fruit, mogelijk in combinatie met andere technieken zoals warmwaterbehandeling, waterstofperoxide of ozon.
- Effect van UV-C op vruchtkwaliteit. Voor een aantal UV-C behandelingscombinaties (doses – tijd, die nodig lijken voor vruchtotbestrijding) moet het effect op de inwendige en uitwendige vruchtkwaliteit bepaald, na zowel (lange) bewaring als na uitstalling getest worden, voor appel (Elstar) en peer (Conference).

5 Proof of principle van UV tegen overwinterende schurft

5.1 Korte beschrijving van de proef

Afgevallen bladeren met schurft zijn overwinterd op een natuurlijke wijze. Vanaf begin april 2008 zijn de bladeren met verschillende dosering UV-C belicht. Ze zijn met tussen pozen van enkele dagen tot een week in totaal 5 keer belicht. Telkens voor een belichting werden de bladeren aan de lucht gedroogd en na een belichting werden de bladeren weer onder natuurlijke omstandigheden buiten neergelegd. Tussen enkele belichtingen door zijn vruchtlichaampjes van schurft uit bladeren geprepareerd en de sporen geteld. Ook zijn bladeren buiten weggelegd met een glaasje erboven om te zien of ze ascosporen uitschoten. Na de laatste belichting zijn een aantal bladeren vochtig weggelegd in een klimaatkamer om de verdere rijping van ascosporen te bevorderen. Daarna werden de rijpe ascosporen geteld.

5.2 Materiaal en methoden

5.2.1 Blad en overwintering

Op 9 november 2007 zijn bladeren verzameld van het ras Jonagold van perceel west 1 van PPO-Fruit te Randwijk. De bladeren kwamen uit een onbehandelde deel van de boomgaard. Bij het verzamelen is erop gelet dat ze veel schurftvlekken hadden. De bladeren zijn tussen twee lagen kippengaas van 0,5 x 0,5 m gelegd, 40 bladeren per gaas. De gazen zijn neergelegd op het asfalt aan de oostzijde van het gebouw van PPO-Fruit te Randwijk, zodat de bovenkant van de bladeren naar boven lag. De gazen met de bladeren hebben daar de hele winter onder natuurlijke omstandigheden gelegen (foto 5.2.1).



Foto 6.2.1. Gaasjes met door schurft aangetaste bladeren overwinteren gelegen op asfalt.

5.2.2 Belichtingen

Op 2, 9, 14, 17 en 24 april 2008 zijn de bladeren belicht met UV-C. Daartoe werden de bladeren in platte zwarte plastic bakken overgebracht opnieuw met de bovenkant van het blad boven. De experimentele eenheid is een bak, waarin de resten van 40 bladeren lagen. De belichtingen zijn uitgevoerd in de spuitcabine van het kassencomplex van PRI. De spuitcabine is een afgesloten ruimte van 5 m lang, waarin de lampen werden bevestigd aan een arm, die met eenparige snelheid heen en weer kan bewegen. De snelheid van de eenparige beweging is traploos instelbaar. Tijdens de belichtingen is de snelheid gemeten. Deze bleek telkens 1,8 km/uur. De bakken met bladeren werden op kistjes geplaatst, zodat de afstand van de lamp tot het blad 14 cm was. De belichting werd



Foto 6.2.2. Belichtingen van bladeren in de PRI spuitcabine.

uitgevoerd met lage druk kwik lampen (Philips, type UV PL-L 36W/4P) waarvan er 2 in een armatuur waren geplaatst. De gewenste UV-C dosering (mJ/cm^2) werd verkregen door de hoogte van de lamp en de belichtingsduur te variëren. De exacte dosering werd tijdens de proeven vastgesteld met behulp van een UV-C lichtmeter (Dr Göbel UV Elektronik GmbH, 76275 Ettingen, Duitsland, type RV21 UVC) door Marcel Hoekstra (Clean Greens) (Bijlage 4).

De belichtingen zijn de behandelingen. Er waren 3 behandelingen, namelijk:

nummer	belichting
1	onbehandeld: niet belicht
2	50 $\text{mJoule}/\text{cm}^2$
3	500 $\text{mJoule}/\text{cm}^2$

5.2.3 Tellingen

Het effect van de UV belichtingen op de overwinterende schurft is op drie manieren gemeten, namelijk met de “pulkmethode”, de “schietmethode” en de “bubbelmethode”. De werkwijze wordt hierna toegelicht.

5.2.3.1 Pulkmethode

Bij de pulkmethode worden onder een stereomicroscop vruchtlichamen (perithecia) van de schurftschimmel *Venturia inaequalis* uit het blad geprepareerd. De uitgearbeide vruchtlichamen werden op een objectglaasje gelegd in een druppel water. Vervolgens werd er een dekglasje overheen gelegd en voorzichtig werden de vruchtlichamen platgedrukt. Een deel van de asci en ascosporen komt dan naar buiten. De hoeveelheid ascosporen per vruchtlichaam wordt beoordeeld volgens een klasse-indeling. Aan elk bekeken vruchtlichaam wordt een klasse toegekend. De klassen waren:

klasse	aantal ascosporen per vruchtlichaam
0	0
1	1 - 10
2	11 - 20
3	21 - 50
4	> 50

Per object werd hieruit een index berekend volgens de formule:

$$\text{index} = ((n_0 * 1) + (n_1 * 3) + (n_2 * 6) + (n_3 * 9) + (n_4 * 12)) / n_t$$

waarbij: n_0 = aantal perithecia in klasse 0, n_1 = aantal perithecia in klasse 1, n_2 = aantal perithecia in klasse 2, n_3 = aantal perithecia in klasse 3, n_4 = aantal perithecia in klasse 4, n_t = totaal aantal perithecia geteld. Drie keer zijn deze waarnemingen gedaan, op 10 april na 2 belichtingen, op 23 april na 4 belichtingen en op 8 mei na 5 belichtingen. Er waren telkens 4 herhalingen waarbij er op 10 april en 23 april 10 perithecia en op 8 mei 5 perithecia per herhaling werden beoordeeld.

5.2.3.2 Schietmethode

Bij de schietmethoden worden bladeren met de bovenkant boven neergelegd op plankjes en vastgehouden door gaas er direct boven. Op de plankjes zit een profiel, zodat daarop objectglaasjes gelegd kunnen worden, die dan juist iets (3 tot 6 mm) boven de bladeren liggen. De plankjes worden buiten onder natuurlijke omstandigheden weggelegd. Bij regen worden de bladeren nat en worden de rijpe en gezonde ascosporen uitgestoten. Een deel komt op de onderkant van het glaasje terecht. Deze worden geteld onder de microscoop bij 100 x vergroting. Drie keer werd deze waarneming gedaan aan een monster bladeren. De eerste keer werden de bladeren buiten gelegd op 9 april na 2 belichtingen en beoordeeld op 14 april. De tweede keer werden de bladeren buiten gelegd op 14 april na 3 belichtingen en beoordeeld op 24 april. De derde keer werden de bladeren buiten gelegd op 24 april na 5 belichtingen en beoordeeld op 15 mei. Er waren 5 herhalingen per behandeling.

5.2.3.3 Bubbelmethode

Na afloop van alle belichtingen op 24 april 2008 werden de bladeren op filterpapier gelegd in de bakken en nat gemaakt. Ze werden in een klimaatkamer geplaatst in het donker bij 18 °C en nat gehouden. Het nat houden van de bladeren gebeurde door het filterpapier water te laten opzuigen. Daarbij werd ervoor gezorgd dat de bovenkant van de bladeren niet nat werd, omdat anders mogelijk ascosporen zouden zijn uitgestoten. Op 27 mei 2008 zijn de bladeren uit de klimaatkamer gehaald en aan de lucht gedroogd. De drooggewichten per bak werden gemeten. Resten van bladeren werden overgebracht in 1000 ml plastic flessen die 150 to 350 ml water bevatten afhankelijk van de hoeveelheid blad. Lucht (250 liter per uur) werd als belletjes door het water geblazen, wat een hevige turbulentie van het water veroorzaakt. Dit werd 2 uur per monster volgehouden (Heye *et al.*, 1981; Pillion, 1995). Daarna werd de ontstane suspensie door een zeef gehaald (1 mm mesh) om de resten blad te verwijderen. Twee submonsters van 8 ml van de suspensie werden genomen en opgeslagen bij -20 °C totdat hiervan het aantal ascosporen werd geteld. Het tellen gebeurde met een haemocytometer (Burker, bright-line) en met behulp van een microscoop bij 100 x vergroting. Er waren 6 herhalingen per behandeling.

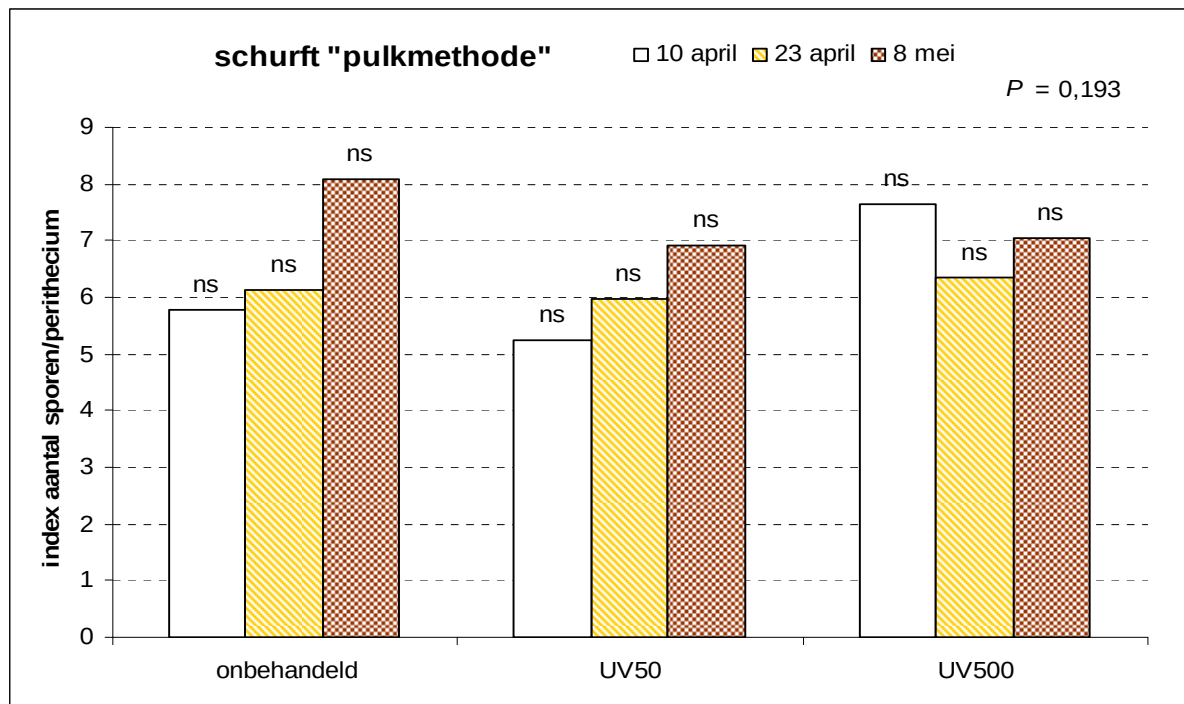
5.2.4 Wiskundige verwerking

Alle getallen werden geanalyseerd met variantieanalyse met behulp van Genstat Release 10.2 (Lawes Agricultural Trust, Rothamstat Research, UK). Als significante effecten werden aangetoond met de F-test ($P < 0.05$) dan werden paarsgewijze vergelijkingen gemaakt op grond van de Least Significant Differences (LSD)-test waarbij de $LSD_{0.05}$ gebruikt zijn.

5.3 Resultaten

5.3.1 Pulkmethode

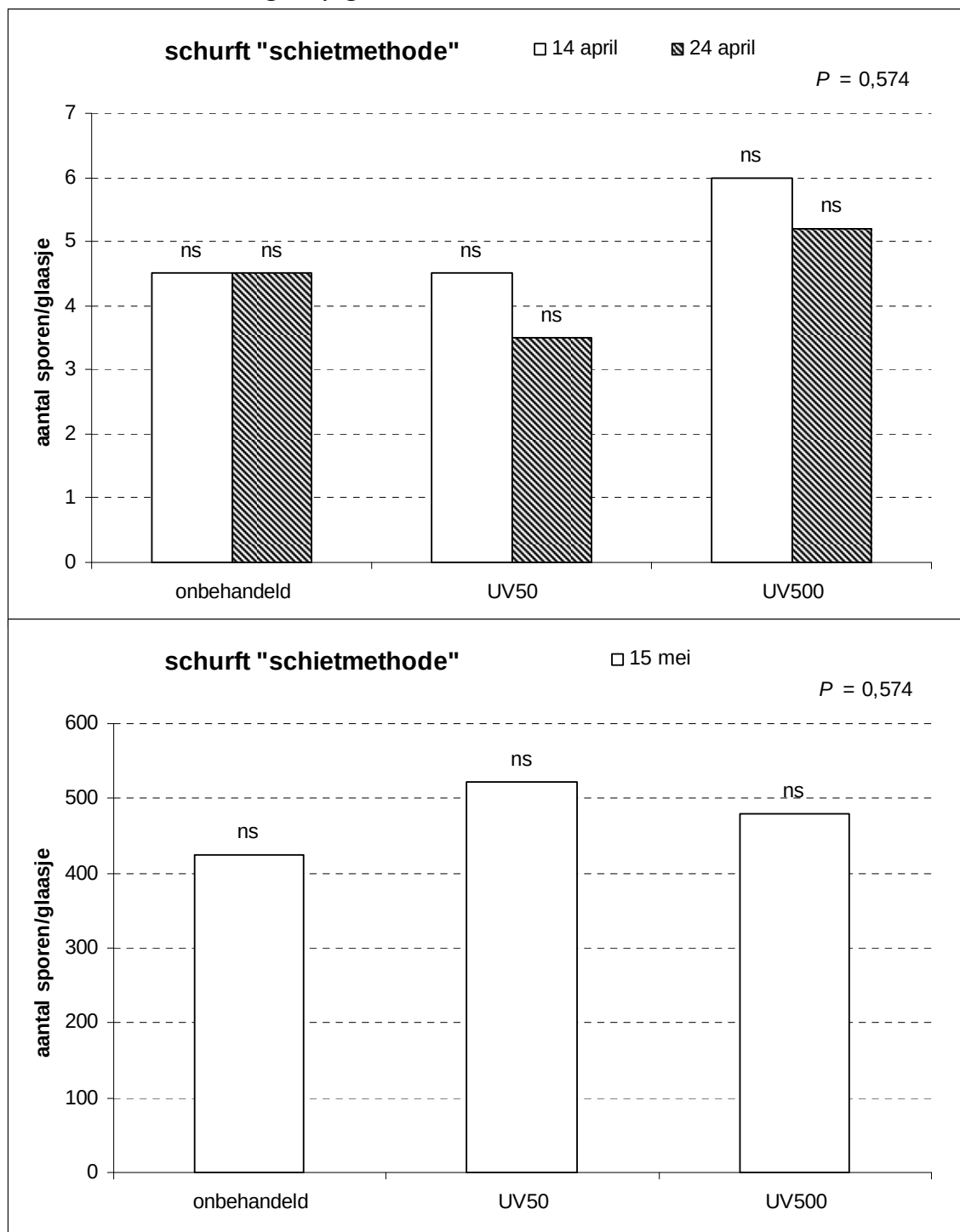
Met de pulkmethode kon geen effect worden aangetoond tussen de verschillende behandelingen. Dat gold voor alle tijdstippen dat een meting werd uitgevoerd, zelfs bij die van 8 mei, waarbij het blad 5 keer belicht was (Figuur 5.3.1). De waarnemingen staan in Bijlage 5 en de statistische verwerking in Bijlage 6.



Figuur 5.3.1 De gemiddelde index van de hoeveelheid ascosporen die werden geteld aan bladeren behandeld met 50 mJoule/cm² (UV50) en 500 mJoule/cm² (UV500) op 3 tijdstippen. $P =$ overschrijdingskans; ns = niet significant.

5.3.2 Schietmethode

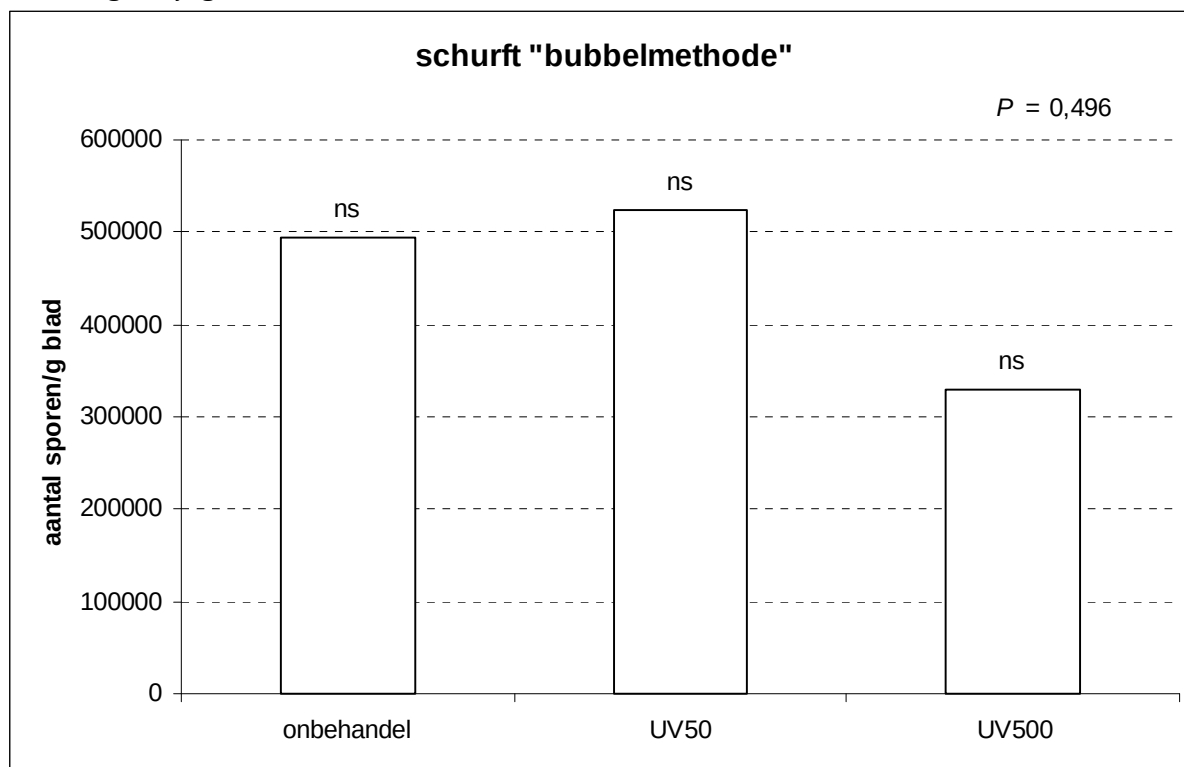
Op de twee eerste tijdstippen dat deze methode werd toegepast, is er alleen lichte uitstoot van ascosporen geweest, waardoor lage aantallen ascosporen werden geteld. Tijdens het laatste tijdstip was het regenachtig weer en is er een grote uitstoot van ascosporen gemeten. Er kon geen effect van de belichtingen worden aangetoond met de schietmethode (Figuur 5.3.2). De waarnemingen staan in Bijlage 5 en de statistische verwerking in Bijlage 6.



Figuur 5.3.2. De gemiddelde aantallen ascosporen per glaasje die werden geteld aan bladeren behandeld met 50 mJoule/cm² (UV50) en 500 mJoule/cm² (UV500) op 3 tijdstippen. P = overschrijdingskans; ns = niet significant.

5.3.3 Bubbelmethode

Van de bubbelmethode is bekend dat er altijd een grote variatie is tussen objecten. Daarom is dit onderdeel in zes herhalingen uitgevoerd. Toch kon geen verschil worden aangetoond met deze methode tussen de verschillende behandelingen (Figuur 5.3.3). De waarnemingen staan in Bijlage 5 en de statistische verwerking in Bijlage 6.



Figuur 5.3.3. De gemiddelde aantallen ascosporen per gram blad die werden geteld aan bladeren behandeld met 50 mJoule/cm² (UV50) en 500 mJoule/cm² (UV500) op 3 tijdstippen. P = overschrijdingskans; ns = niet significant.

5.4 Discussie, conclusies en aanbevelingen

5.4.1 Discussie

Vruchtlichamen van schurft worden gevormd in het dode afgefallen blad. Ze zitten daar goed beschermd. Bovendien worden de vruchtlichamen bij rijping steeds meer gepigmenteerd. Pigmenten absorberen in het algemeen UV-licht en maken het zo onschadelijk. Daardoor is het moeilijk om de rijpende ascosporen met UV-licht te beschadigen binnenin het vruchtlichaam. Vandaar dat ervoor is gekozen om een erg hoge dosering van 500 mJoule/cm² toe te passen. Mogelijk dat de mond van het flesvormig vruchtlichaam, die net buiten het blad uitsteekt bij rijpheid, meer gevoelig is.

Het is bekend dat er grote variatie optreedt in de hoeveelheid ascosporen per vruchtlichaam. Alleen grote verschillen tussen behandelingen kunnen worden aangetoond. Daarom is ervoor gekozen om drie verschillende telmethoden te gebruiken. Om diezelfde reden is het blad meerdere malen belicht om het mogelijk gestapeld effect ervan te meten. Ook omdat er gedurende de tijd steeds ascosporen rijpen, is meerdere keren belicht. Vooral bij de bubbelmethode hebben we getracht het totale effect van alle belichtingen samen te meten.

In het voorjaar ontstaat schurft door ascosporen die vrijkomen uit overwinterende vruchtlichamen. Op de uitstoot van ascosporen kon belichting met UV-C geen invloed uitoefenen. Is er eenmaal schurft op de bladeren aanwezig, zoals in de zomer, dan ontstaat er een andere situatie. De schurftvlekken zitten voor een deel buitenop het blad en zijn daar weinig beschermd tegen UV-licht. De kans is aanwezig dat de

zomerepidemie van schurft geremd kan worden door regelmatige belichtingen met UV-C.

5.4.2 Conclusie

Er kon geen effect van UV-C worden aangetoond op de productie van ascosporen in overwinterende vruchtlichamen.

5.4.3 Aanbevelingen

- Stop (voorlopig) met onderzoek aan de effecten van UV-C op overwinterende schurft.
- Onderzoek of de schurft in de zomer kan worden beperkt door regelmatige belichtingen met UV-C.

6 Proof of principle van UV tegen echte meeldauw

6.1 Korte beschrijving van de proef

Veldjes met uniforme primaire aantasting van meeldauw werden belicht met UV-C. De belichting werd uitgevoerd door langs de bomen te rijden waarbij lampen op de hefinrichting van de trekker geplaatst waren. De belichtingen werden tweewekelijks uitgevoerd. Het effect op de uitbreiding van meeldauw werd geteld.

6.2 Materiaal en methoden

6.2.1 Proefveld

De proef werd uitgevoerd op perceel West 7 van de proeftuin van PPO-fruit te Randwijk. Dit proefveld bestaat uit een enkele rijstelsysteem van het ras Jonagold op M.9 geplant in 2006 met een plantafstand van 3 x 0,93 m. Het proefveld is biologisch beheerd in de jaren voorafgaand aan deze proef.

perceel West 7	rij 21	rij 20	rij 19	rij 18	rij 17	rij 16	rij 15	rij 14	rij 13
	B3	B3		D3	D3		F1	F1	
	B1	B1		D1	D1		F2	F2	
west	B2	B2		D2	D2		F3	F3	oost
	A2	A2		C1	C1		E2	E2	
	A3	A3		C3	C3		E1	E1	
	A1	A1	bufferrij	C2	C2	bufferrij	E3	E3	bufferrij

Figuur 6.2.1. De layout van het proefveld, waarbij de hoofdletters A t/m F de herhaling aangeven en het cijfer 1 t/m 3 erachter de behandeling.

Aangezien de belichting tweezijdig is uitgevoerd, bestond de veldjes uit twee rijen bomen, die belicht werden vanuit het pad tussen de rijen. Elk veldje is 9 bomen lang, met 8 waarnemingsbomen en een bufferboom. De buitenzijden van de proefrijen werden niet belicht. Tussen de proefrijen was een bufferrij bomen, die totaal onbehandeld is gebleven. De proefopzet was een volledig gewarde blokkenproef met 3 behandelingen en 6 herhalingen. Het proefveld was uniform aangetast door meeldauw. Dit is nagegaan door een telling van de aantasting van primaire, overwinterende meeldauw op 24 april 2008 aan alle proefbomen van elk veldje (zie Bijlage 5). Er werd geen enkele fungicide toegepast tijdens de proef.

6.2.2 Belichtingen

Belichtingen werden uitgevoerd met een prototype belichtingsunit van de firma Van den Munckhof. De belichtingunit bestaat uit 2 armaturen van elk 6 lampen van elk 75 Watt (Philips TUV 36T5 HO 4P-SE). Deze armaturen zijn gebouwd op een standaard ventilator van een dwarsstroomspuit. Eén armatuur aan elke kant, zodat 2 halve rijen in één keer belicht kunnen worden. Belichtingen werden uitgevoerd terwijl de ventilator aanstond, zodat de bladeren bewogen in de luchtstroom en ze daardoor van meer kanten belicht worden. De belichtingen werden twee keer per week uitgevoerd op 18, 21, 24 en 29 april en 5, 8, 13, 15, 21 en 26 mei 2008. Alle belichtingen zijn uitgevoerd terwijl het blad droog was.

De belichtingen zijn de behandelingen. Er waren 3 behandelingen, namelijk:

nummer	belichting
1	onbehandeld: niet belicht
2	20 mJoule/cm ²
3	60 mJoule/cm ²

De hoeveelheid licht is gemeten in het midden van de boom. Zie Bijlage 4 voor de werkelijk gemeten hoeveelheid licht. De belichtingen werden uitgevoerd door bij behandeling 2, dit is 20 mJoule/cm², met de Renault trekker in de eerste versnelling met slakkengang met 1000 toeren (10 x 100 op de toerenteller) eenmaal langs het veldje rijden. Voor behandeling 3, dit is 60 mJoule/cm², werd met de Renault trekker in de eerste versnelling met slakkengang met 1000 toeren (10 x 100 op de toerenteller) drie maal langs elk veldje gereden; dit is: heen, terug en weer heen: alles in dezelfde snelheid. De rijnsnelheid is gemeten door met een meetlint 50 m uit te zetten. Met een stopwatch is gemeten hoe lang de trekker er over deed om deze 50 meter af te leggen. Uiteraard in de versnelling waarmee ook de meeldauwbelichtingen zijn uitgevoerd, namelijk de kruipversnelling bij 1000 toeren. De gemeten tijd was 10 minuten en 14 seconden. Daaruit is een rijnsnelheid berekend van 0,293 km/uur.

6.2.3 Waarnemingen

Na de laatste belichting is de uitbreiding van secundaire meeldauw gemeten op langloten. Voor de meting werden willekeurig langloten gekozen.

Van de gekozen langloten werd van de 5 jongste volledig ontwikkelde bladeren het oppervlak geschat dat door meeldauw bedekt was. Daartoe werd de volgende klasse-indeling gebruikt:

klasse	% oppervlak blad bedekt met meeldauw
0	0
1	< 10
2	11 - 20
3	> 21

Per object werd hieruit een index berekend volgens de formule:

$$\text{index} = ((n_0 * 0) + (n_1 * 1) + (n_2 * 3) + (n_3 * 5)) / n_t$$

waarbij: n_0 = aantal bladeren in klasse 0, n_1 = aantal bladeren in klasse 1, n_2 = aantal bladeren in klasse 2, n_3 = aantal bladeren in klasse 3, n_t = totaal aantal bladeren geteld.

Eventuele fytoxiciteit aan bladeren of jonge vruchten werd genoteerd volgens de schaal: 0 = geen; 1 = weinig; 2 = matig and 3 = ernstig.

6.2.4 Wiskundig analyse

Alle getallen werden geanalyseerd met variantieanalyse met behulp van Genstat Release 10.2 (Lawes Agricultural Trust, Rothamstat Research, UK). Als significante effecten werden aangetoond met de F-test (P



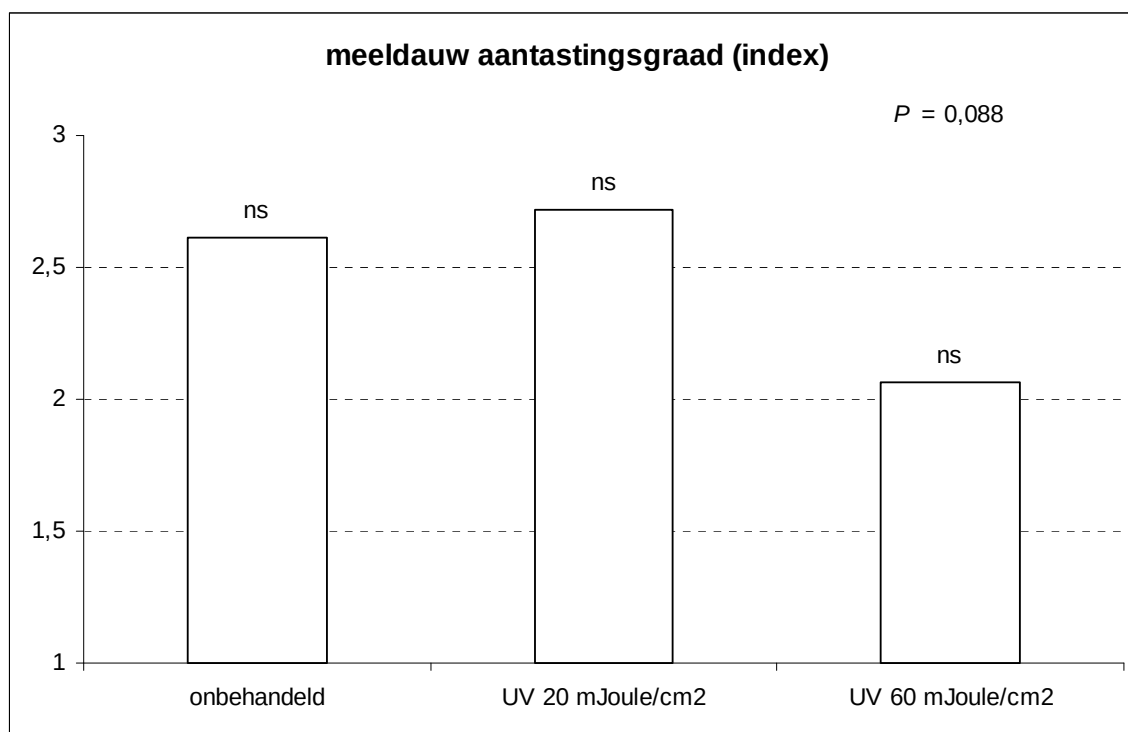
Foto 7.2.2. Belichting van de boomgaard

< 0.05) dan werden paarsgewijze vergelijkingen gemaakt op grond van de Least Significant Differences (LSD)-test waarbij de $LSD_{0,05}$ gebruikt zijn.

6.3 Resultaten

6.3.1 Uitbreiding van secundaire meeldauw

Op 28 mei 2008 twee dagen na de laatste belichting is de uitbreiding van secundaire meeldauw op langloten bepaald. Er was extreem veel meeldauw in het perceel ontstaan door gunstig weer voor meeldauw. Het is duidelijk dat de lage dosering licht van 20 mJoule/cm² geen effect had op de uitbreiding van meeldauw (Figuur 6.3.1). Van de drie keer hogere dosering van 60 mJoule/cm² kan gezegd worden dat er een tendens was naar een vermindering van de meeldauwaantasting. Dit effect was niet significant. De overschrijdingskans P was 0,088 wat dicht bij een significant effect zit van $P = 0,05$.



Figuur 6.3.1. De index voor de uitbreiding van secundaire meeldauw op bladeren van langloten op 28 mei 2008 na afloop van de belichtingen. Hoe hoger het getal des te meer meeldauwaantasting was er. P = overschrijdingskans; ns = niet significant.

6.3.2 Fytotoxiciteit

Er is verschillende malen gezocht naar mogelijke schade aan het gewas. Er is geen schade aan het gewas waargenomen.

6.4 Discussie, conclusies en aanbevelingen

6.4.1 Discussie

De hoeveelheid licht van het Munckhof prototype UV-unit was duidelijk te laag om praktisch de proef uit te

voeren. Er moest extreem langzaam gereden worden (0,293 km/uur) om de laagste hoeveelheid (20 mJoule/cm²) toe te dienen en voor de hogere dosering moesten we zelfs 3 keer langs de bomen rijden. Daardoor was de dosering UV-C in de boomgaard te laag om effecten aan te tonen, hoewel er een tendens was dat de hogere dosering werkt tegen meeldauw. De dosering is licht te verhogen. Dat kan door sterkere lampen of meer lampen te nemen of om de lampen dichterbij de bomen te plaatsen. Dit zou in een volgend prototype belichtingsunit gerealiseerd moeten worden. Dat biedt twee voordelen, namelijk er kan een bestrijdingseffect aangetoond worden en het wordt al meteen meer praktisch zodat de rijnsnelheid in de buurt komt, van die normaal in boomgaarden wordt gereden, ongeveer 6 km/uur.

6.4.2 Conclusie

Er kon geen effect aangetoond worden van de dosering UV-C van 20 mJoule/cm² en 60 mJoule/cm² tegen meeldauw onder praktische omstandigheden in deze proef. Het prototype belichtingsunit gaf te weinig licht. Het is mogelijk om een belichtingsunit te bouwen, waarbij meer UV op de bladeren terecht komt.

6.4.3 Aanbevelingen

- Doe een kleine proef in de winter 2008/2009 op opgepotte appelboompjes om de juiste dosering licht te bepalen voor een bestrijding van meeldauw.
- Bouw daarna een belichtingsunit die meer licht op de bladeren geeft en een praktische rijnsnelheid in de boomgaard mogelijk maakt.
- Test dit nieuwe prototype op dezelfde wijze als in 2008 in een boomgaard met meeldauwhistorie.
- Neem in de proef tegen meeldauw ook uitbreiding van schurft in de zomer mee.
- Hetzelfde prototype kan gebruikt worden om een eerste indicatieve proef te doen naar het weglaten van het afspuitschema en toch vruchttrot te beheersen. Overweeg om dit mee te nemen als vervolg op een proef tegen meeldauw en schurft in de zomer.

7 Schade van UV aan appelblad

Uit de proef van UV-C tegen meeldauw bleek dat de hoeveelheid licht van het prototype te weinig was en dat er geen enkel symptoom van schade van UV-C aan blad of vruchten te zien was. Logisch is het dan om de hoeveelheid licht te vergroten. Dan rijst echter de vraag: hoe ver kan de hoeveelheid licht verhoogd worden zonder schade aan het gewas te veroorzaken? Om dat te onderzoeken zijn twee extra proeven uitgevoerd door Marcel Hoekstra (Clean Greens) en Sjoerd Hoekstra (Newbusinesses) (verder aangeduid als proef-1 en proef-2). De tellingen en de verwerking van de gegevens zijn uitgevoerd door PPO-fruit.

7.1 Materiaal en methoden

7.1.1 Proefveld

De proeven werden uitgevoerd op perceel Elstar in enkele rij en geplant in 2000 van het fruitbedrijf van Erik en Carolien Hoogveld, Eimerensdwarstraat 6/A, 6662 PM Elst. Beide proeven werden uitgevoerd in een blokkenproef met 5 herhalingen en 6 behandelingen. De experimentele eenheid was een langlot. De langloten werden gemarkeerd met witte, dikke koortjes. De proeven zijn na elkaar uitgevoerd en lagen elk op een eigen rij van het perceel met daartussen een bufferrij.

7.1.2 Belichtingen

Proef-1 werd twee maal belicht op 4 en 6 augustus 2008. De doseringen van de belichting waren:

nummer	belichting
0	onbehandeld: niet belicht
1	100 mJoule/cm ²
2	1000 mJoule/cm ²
3	2000 mJoule/cm ²
4	3000 mJoule/cm ²
5	4000 mJoule/cm ²

Belichtingen van proef-2 werden 4 keer uitgevoerd op 11, 13, 15 en 18 augustus 2008. De doseringen van de belichting waren:

nummer	belichting
0	onbehandeld: niet belicht
1	100 mJoule/cm ²
2	250 mJoule/cm ²
3	500 mJoule/cm ²
4	750 mJoule/cm ²
5	1000 mJoule/cm ²

De belichting werd uitgevoerd met lage druk kwik lampen (Philips, type UV PL-L 36W/4P) waarvan er 2 in een armatuur waren geplaatst. De gewenste UV-C dosering (mJ/cm²) werd verkregen door de afstand van de lamp tot het blad en de belichtingsduur te variëren. De exacte dosering werd tijdens de proeven vastgesteld met behulp van een UV-C lichtmeter (Dr Göbel UV Elektronik GmbH, 76275 Ettingen, Duitsland, type RV21 UVC) door Marcel Hoekstra (Clean Greens) (Bijlage 4).

7.1.3 Waarnemingen

Symptomen van schade aan bladeren werd omschreven en gefotografeerd. Daarnaast werd een schaalindeling gemaakt om de symptomen van schade te kwantificeren. Deze schaalindeling is als volgt

gedefinieerd.

symptoom	schaal	omschrijving
bladval	0	niet
	1	weinig
	2	matig
	3	veel
	4	erg veel
necrose	0	niet
	1	weinig
	2	matig
	3	veel
	4	erg veel
bladverkleuring	0	niet
	1	weinig
	2	matig
	3	veel
	4	erg veel

Voor elke individuele scheut werd een score gegeven voor elk van de symptomen. Van deze waarden werden op twee manieren een index voor fytoxiciteit berekend, hierna index-1 en index-2 genoemd. De formules voor de indices waren:

$$\text{index-1} = ((b * 9) + (n * 3) + (k * 1)) / 17$$

$$\text{index-2} = ((b * 4) + (n * 2) + (k * 1)) / 17$$

waarbij b = score voor bladval, n = score voor necrose en k = score voor verkleuring.

De symptomen voor schade verschillen in zwaarte. Bladval is het meest ernstig, dan necrose en bladverkleuring is het minst ernstig. Om de verschillen in mate van zwaarte mee te nemen, zijn de factoren 9, 3 en 1 in index-1 en 4, 2 en 1 in index-2 ingevoerd.

7.1.4 Wiskundig analyse

Alle getallen werden geanalyseerd met variantieanalyse met behulp van Genstat Release 10.2 (Lawes Agricultural Trust, Rothamstat Research, UK). Als significante effecten werden aangetoond met de F-test ($P < 0.05$) dan werden paarsgewijze vergelijkingen gemaakt op grond van de Least Significant Differences (LSD)-test waarbij de $\text{LSD}_{0.05}$ gebruikt zijn.

7.2 Resultaten

7.2.1 Symptomen

Er zijn verschillende symptomen van schade aan bladeren waargenomen, namelijk bladval, necrose en bladverkleuring. In proef-1 zijn de symptomen gezien op 8 augustus 2008 na twee belichtingen en in proef-2 zijn de symptomen ook al enkele dagen na belichting waargenomen. De symptomen van schade van proef-1 en proef-2 verschilden niet van elkaar. Op 12 augustus zijn foto's gemaakt van de symptomen van proef-1. Hierna volgt een beschrijving van de symptomen.

Bladval: bladeren van het langlot die zijn gevallen (Foto 7.2.1.a).

Necrose: bruine plekken in bladweefsel van de bladeren (Foto's 7.2.1.b).

Bladverkleuring: een bruine gloed op de onderkant van bladeren; de bovenkant van de bladeren ziet er normaal groen uit (Foto's 7.2.1.c).



Foto 7.2.1.a: bladval



Foto 7.2.1.b: necrose



Foto 7.2.1.b: necrose



Foto 7.2.1.b: bladverkleuring

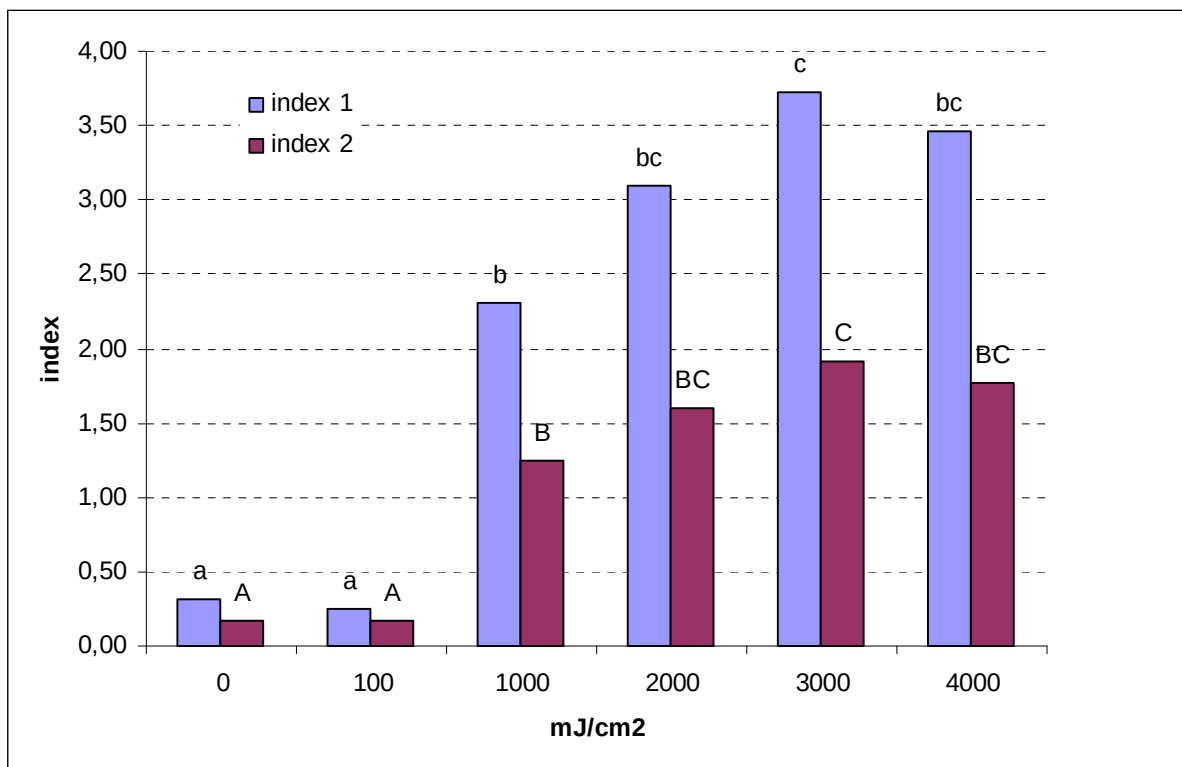


Foto 7.2.1.b: bladverkleuring

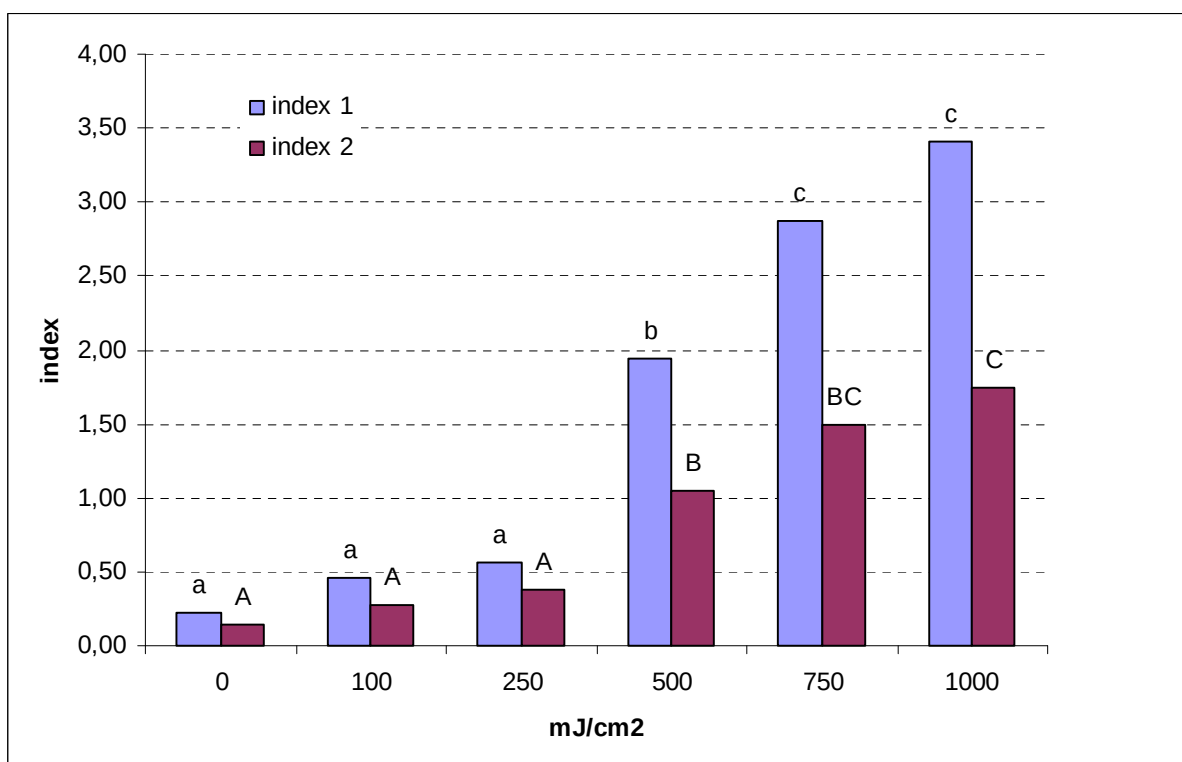
7.2.2 Fytotoxiciteit indices

De schade aan het blad (fytoxiciteit) werd kwantitatief vastgesteld op 25 augustus 2008 voor beide proeven. Het viel op dat sommige bladeren die met hoge doseringen waren belicht en veel necrose hadden "los zaten" en bij aanraking afvielen. Bij de beoordeling van de bladeren is niet speciaal aan de scheuten geschut om dit effect te versterken.

Uit proef-1 blijkt dat er bij 100 mJoule/cm² geen significante reactie van appelblad is en vanaf 1000 mJoule/cm² is er een heel duidelijk schadelijk effect (Figuur 7.2.2.a). Het schadelijk effect neemt vanaf die dosering nauwelijks toe. In proef-2 zijn fijnere stappen genomen tussen 100 mJoule/cm² en 1000 mJoule/cm². Hieruit blijkt dat er tot en met 250 mJoule/cm² nauwelijks een effect is en bij hogere doseringen licht neemt de schade toe (Figuur 7.2.2.b).



Figuur 7.2.2.a. De indexwaarden voor schade aan het blad (fytotoxiciteit) bij proef-1 op 25 augustus 2008.



Figuur 7.2.2.a. De indexwaarden voor schade aan het blad (fytotoxiciteit) bij proef-2 op 25 augustus 2008.

7.3 Discussie, conclusies en aanbevelingen

7.3.1 Discussie

In de fytotoxiciteitsproeven is opzettelijk schade aan appelblad veroorzaakt door extreem hoge dosering UV-C licht toe te passen. Eerst is in grove stappen van de dosering gekeken waar er schade ontstond. Daarna is een tweede proef uitgevoerd met verfijnde stappen. Er leek geen verschil in gevoeligheid tussen jong en oud blad. De twee proeven samen hebben een helder beeld gegeven bij welke dosering schade aan appelblad kan ontstaan. Uit de meeldauwproef bleek dat de dosering licht naar boven moet om een praktische toepassing mogelijk te maken. In deze fytotoxiciteitsproef is vastgesteld dat het van belang is om niet hoger te doseren dan 250 mJoule/cm^2 .

7.3.2 Conclusie

Tot en met 250 mJoule/cm^2 is er geen schadelijk effect waargenomen op blad van appel in deze proef. Bij doseringen hoger dan 250 mJoule/cm^2 neemt de schade toe tot een dosering van 1000 mJoule/cm^2 . Bij hogere dosering lijkt schade niet meer veel toe te nemen.

7.3.3 Aanbevelingen

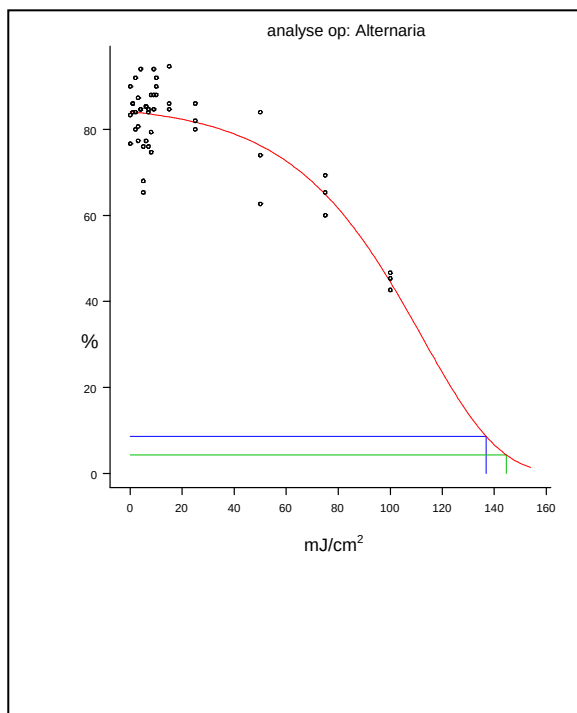
- Houd bij het maken van een nieuw prototype belichtingsunit er rekening mee dat de hoeveelheid licht op de bladeren niet hoger wordt dan 250 mJoule/cm^2 .
- Bepaal in een nieuwe proef de fytotoxiciteit voor vruchten, zoals appels, peren, pruimen, bramen, frambozen en bessen.

Literatuur

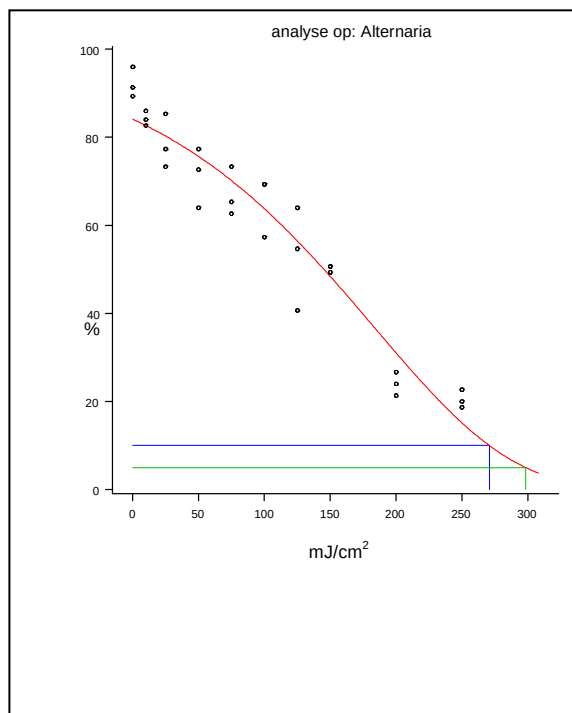
- Baka, M., Mercier, J., Corcuff, R., Castaigne, F., Arul, J., 1999. Photochemical treatment to improve storability of fresh strawberries. *Journal of food science* 64 (6): 1068 – 1072.
- Balkhoven, H., 1997. Schimmelziekten op rode bes vragen een nauwgezette bestrijding. *Fruitteelt* 87 (46): 16 – 17.
- Ben-Yehoshua, S., 2003. Effects of postharvest heat and UV applications on decay, chilling injury and resistance against pathogens of citrus and other fruits and vegetables. *Acta Hort.* 599: 159 – 173.
- Capdeville, G. de, Wilson, C.L., Beer, S.V., Aist, J.R., 2002. Alternative disease control agents induced resistance to blue mold in harvested 'Red Delicious' apple fruits. *Phytopathology* 92: 900 – 908.
- Charles, M. T., Corcuff, R., Roussel, D., Arul, J., 2003. Effect of maturity and storage conditions on Rishitin accumulation and disease resistance to *Botrytis cinerea* in UV-C treated tomato fruit. *Acta Hort.* 599: 573 – 576.
- Cia, P., Pascholati, S.F., Benato, E.A., Camili, E. C., Santos, C. A., 2007. Effects of gamma and UV-C irradiation on the postharvest control of papaya anthracnose. *Postharvest Biology and Technology* 43: 366 – 373.
- Cantos, E., Espin, J.C., Tomas-Barberan, F.A., 2002. Postharvest stilbene enrichment of red and white table grape varieties using UVC irradiation pulses. *Journal of Agricul. and Food Chemistry* 50: 6322 – 6329.
- Costa, L., Vicente, A.R., Civello, P.M., Chaves, A.R., Martinez, G.A., 2006. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. *Postharvest Biology and Technology* 39: 204 – 210.
- Creemers, P., 2008. Switch, nu ook erkend in pitfruit. *Fruitteeltnieuws* 10: 24 – 26.
- D'hallewin, G., Schirra, M., Manueddu, E., Piga, A., Ben-Yehoshua, S., 1999. Scoparone and scopoletin accumulation and ultraviolet-C induced resistance to postharvest decay in oranges as influenced by harvest date. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 124: 702 – 707.
- D'hallewin, G., Schirra, M., Pala, M., Ben-Yehoshua, S., 2000. Ultraviolet C irradiation at 0.5 kJ.m⁻² reduces decay without causing damage or affecting postharvest quality of star ruby grapefruit (*C. paradisi* Macf.). *J. Agric. Food Chem.* 48: 4571 – 4575.
- Droby, S., Chalutz, E., Horev, B., Cohen, L., Gaba, V., Wilson, C.L., Wisniewski, M., 1993. Factors affecting UV-induced resistance in grapefruit against the green mould decay caused by *Penicillium digitatum*. *Plant Pathology* 42: 418 – 424.
- Droby, S., Lichter, A., 2007. Post-harvest Botrytis infection: etiology, development and management. In: *Botrytis: Biology, Pathology and Control*, Y. Elad et al. (eds): 349 – 367.
- Elmer, P.A.G., Michailides, T.J., 2007. Epidemiology of *Botrytis cinerea* in orchard and vine crops. In: *Botrytis: Biology, Pathology and Control*, Y. Elad et al. (eds): 243 – 272.
- Giese, N., Darby, J., 2000. Sensitivity of microorganisms to different wavelengths of UV light: implications on modeling of medium pressure UV systems. *Water Research* 34 (16): 4007 – 4013.
- González-Aguilar, G.A., Wang, C.Y., Buta, J.G., Krizek, D.T., 2001. Use of UV-C irradiation to prevent decay and maintain postharvest quality of ripe 'Tommy Atkins' mangoes. *International Journal of Food Science and Technology* 36: 767 – 773.
- Henriquez, J. L., Sugar, D., Spotts, R.A., 2004. Etiology of bull's eye rot of pear caused by *Neofabraea* spp. in Oregon, Washington, and California. *Plant Disease* 88: 1134 – 1138.
- Ippolito A., Nigro, F., 2000. Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Crop Protection* 19: 715 – 723.
- Lagunas-Solar, M.C., Pina, C., MacDonald, J.D., Bolkan, L. 2006. Development of pulsed UV light processes for surface fungal disinfection of fresh fruits. *Journal of Food Protection* 69 (2): 376 – 384.
- Liu, J., Stevens, C., Khan, V.A., Lu, J.Y., Wilson, C.L., Adeyeye, O., 1993. Application of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes. *Journal of Food Protection* 56: 868 – 872.
- Lu, J.Y., Lukombo, S.M., Stevens, C., Khan, V.A., Wilson, C.L., Pusey, P.L., Chaulz., 1991. Low dose UV and gamma radiation on storage rot and physicochemical changes in peaches. *J. Food Quality* 16: 301 – 309.
- Maharaj, R., Arul, J., Nadeau, P., 1999. Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh

- tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Capello) by delaying senescence. *Postharvest Biology and Technology* 15: 13 – 23.
- Mari, M., Bertolini, P., Pratella, G.C., 2003. Non-conventional methods for the control of post-harvest pear diseases. *Journal of Applied Microbiology* 94: 761 – 766.
- Marquenie, D., Michiels, C.W., Geeraerd, A.H., Schenk, A., Soontjens, C., Van Impe, J.F., Nicolaï, B.M., 2002. Using survival analysis to investigate the effect of UV-C and heat treatment on storage rot of strawberry and sweet cherry. *International Journal of Food Microbiology* 73: 187 – 196.
- Mercier, J., Roussel, D., Charles, M.T., Arul, J., 2000. Systemic and local responses associated with UV- and pathogen-induced resistance to *Botrytis cinerea* in stored carrots. *Phytopathology* 90: 981 – 986.
- Mercier, J., Baka, M., Reddy, B., Corcuff, R., Arul, J., 2001. Shortwave ultraviolet irradiation for control decay caused by *Botrytis cinerea* in bell pepper: Induced resistance and germicidal effects. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 126: 128 – 133.
- Nigro, F., Ippolito, A., Lima, G., 1998. Use of UV-C light to reduce *Botrytis* storage rot of table grapes. *Postharvest Biology and Technology* 13: 171 – 181.
- Perkins-Veazie, P., Collins, J.K., Howard, L., 2008. Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. *Postharvest Biology and Technology* 47: 280 – 285.
- Pezet, R., Pont, V., 1992. Differing biochemical and histological studies of two grape cultivars in the view of their respective susceptibility and resistance to *Botrytis cinerea*. In: Verhoeff, K., Maltrakis, N.E. and Williamson, B. Editors, 1992. *Recent advances in Botrytis Research*, Pudoc Scientific Publishers, Wageningen, The Netherlands, pp. 93–98.
- Prusky, D., Lichter, A., 2008. Mechanisms modulating fungal attack in post-harvest pathogen interactions and their control. *European Journal of Plant Pathology* 121: 281 – 289.
- Rodov, V., Ben-Yehoshua, G., Kim, J.J., Shapiro, B., Ittah, Y., 1992. Ultraviolet illumination induces scoparone production in kumquat and orange fruit and improves decay resistance. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 117: 788 – 792.
- Saarloos, van K., 2008. Bewaarschimmels appel en peer. *Groenten en Fruit* 11: 53.
- Schilder, A.M.C., Wharton, P.S., 2006. The infection process of *Colletotrichum acutatum* on blueberries. *Acta Hort.* 715 – Proc. VIII IS on Vaccinium Culture: 513 – 518.
- Shama, G., 2007. Process challenges in applying low doses of ultraviolet light to fresh produce for eliciting beneficial hormetic responses. *Postharvest Biology and Technology* 44: 1 – 8.
- Shama, G., Alderson, P., 2005. UV hormesis in fruits: a concept ripe for commercialisation. *Trends Food Sci. Technol.* 38: 145 – 150.
- Smith, M., 2002. A brief handout to aid in the identification and control of common postharvest diseases of apples and pears. Postharvest Information Network, Washington State University – Tree Fruit Research and Extension Center. <http://postharvest.tfrec.wsu.edu/REP2002B.pdf>
- Stevens, C., Khan, V.A., Lu, J.Y., Wilson, C.L., Pusey, P.L., Igwegbe, E.C.K., 1997. Integration of ultraviolet (UV-C) light with yeast treatment for control of postharvest storage rots of fruits and vegetables. *Biological Control* 10: 98 – 103.
- Stevens, C., Khan, V.A., Lu, J.Y., Wilson, C.L., Pusey, P.L., Kabwe, M.K., 1998. The germicidal and hormetic effects of UV-C light on reducing brown rot disease and yeast microflora of peaches. *Crop Protection* 17: 75 – 84.
- Tian, S.P., 2007. Management of postharvest diseases in stone and pome fruit crops. In: A. Cianco & K.G. Mukerji (eds.), *General concepts in integrated pest and disease management*: 131 – 147.
- Valero, A., Begum, M., Leong, S.L., Hocking, A.D., Ramos, A.J., Sanchis, V., Marín, S., 2007. Effect of germicidal UVC light on fungi isolated from grapes and raisins. *Letters in Applied Microbiology* 45: 238 – 243.
- Van Schaik, A.C.R., Heijne, B., 2007. Behoeftte aan vruchtrotbestrijding met minder residue. *Fruitterteelt* 97 (49): 12 – 13.
- Werd, de R., Breeuwsma, S., Houwen, F., 2007. Ultraviolette belichting in de strijd tegen zuur. *BloembollenVisie* 112: 20–21.
- Wharton, P.S., Dieguez-Urbeondo, J., 2004. The biology of *Colletotrichum acutatum*. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 61 (1): 3 – 22.
- Woets, J., 1999. Vruchtrotbestrijding moet het hele jaar door. *Groenten & Fruit* 40 – vakdeel hard- en zachtfruit: 28 – 31.

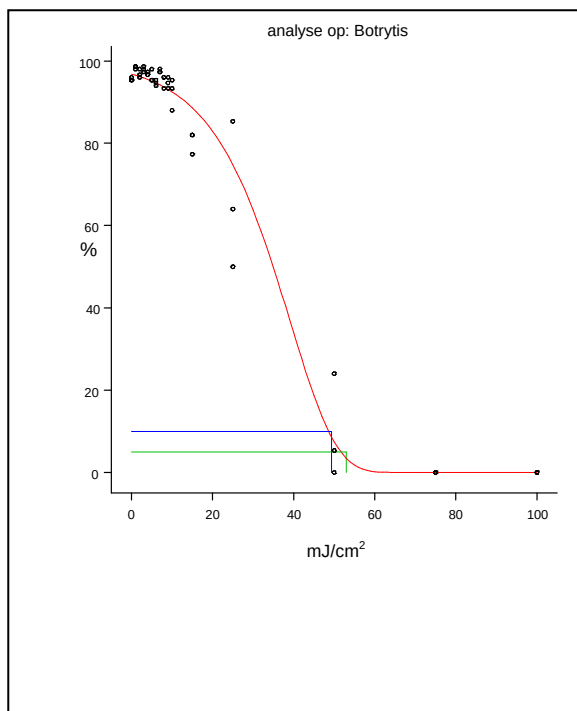
Bijlage 1 - Dosis respons curves sporenkieming



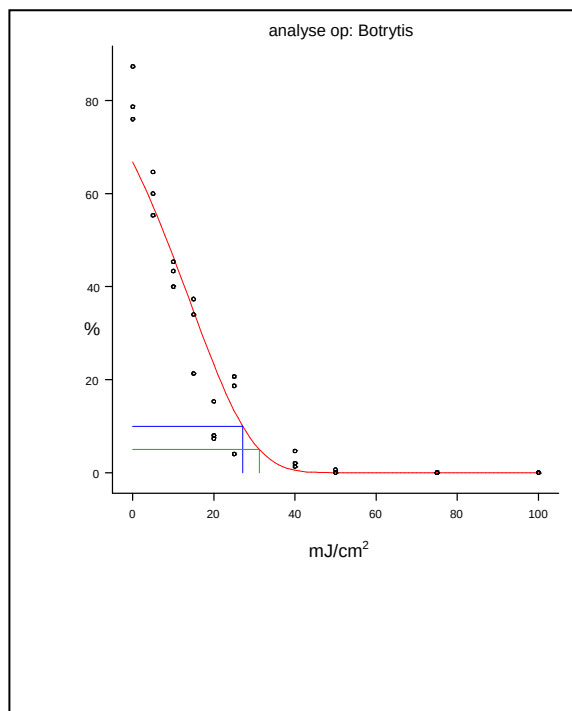
Alternaria: percentage gekiemde sporen, na 24 uur, test 1.



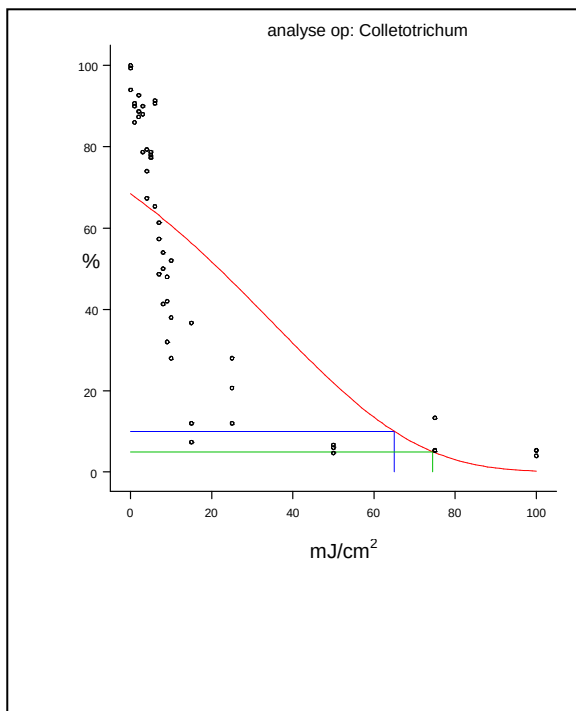
Alternaria: percentage gekiemde sporen, na 24 uur, test 2.



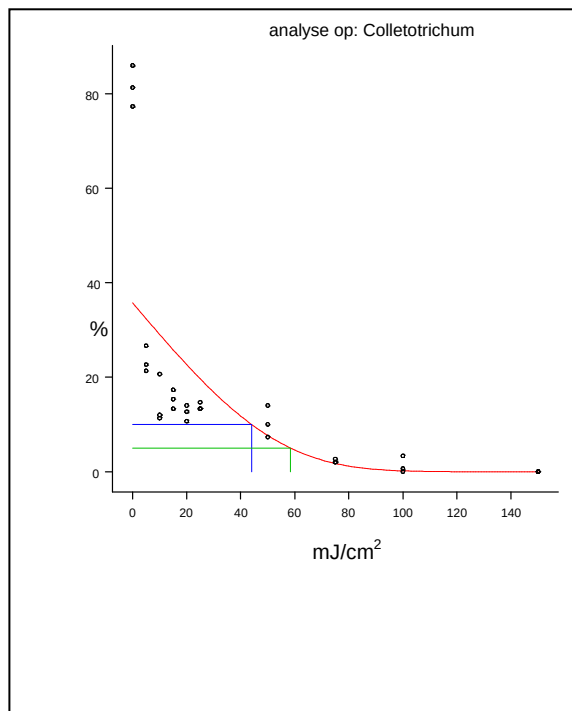
Botrytis: percentage gekiemde sporen, na 24 uur, test 1.



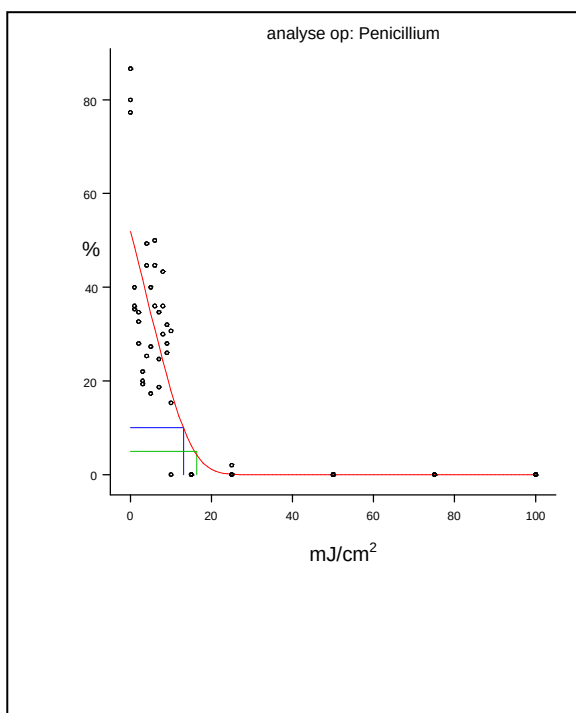
Botrytis: percentage gekiemde sporen, na 24 uur, test 2.



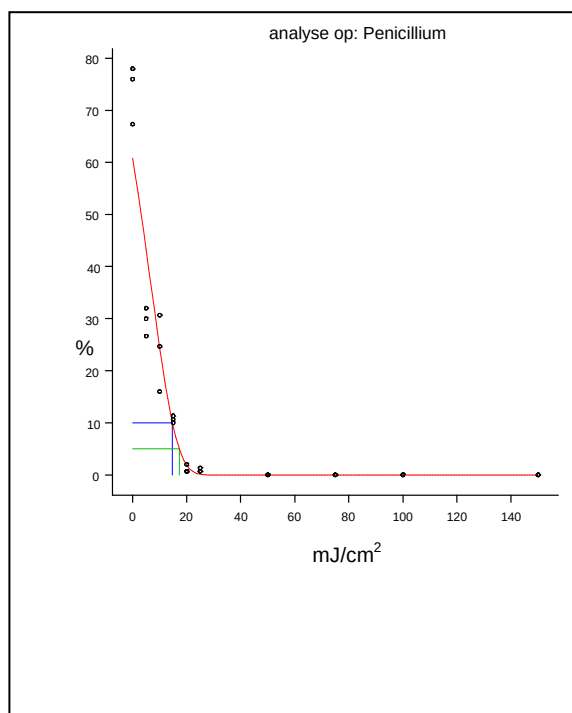
Colletotrichum: percentage gekiemde sporen, na 24 uur, test 1.



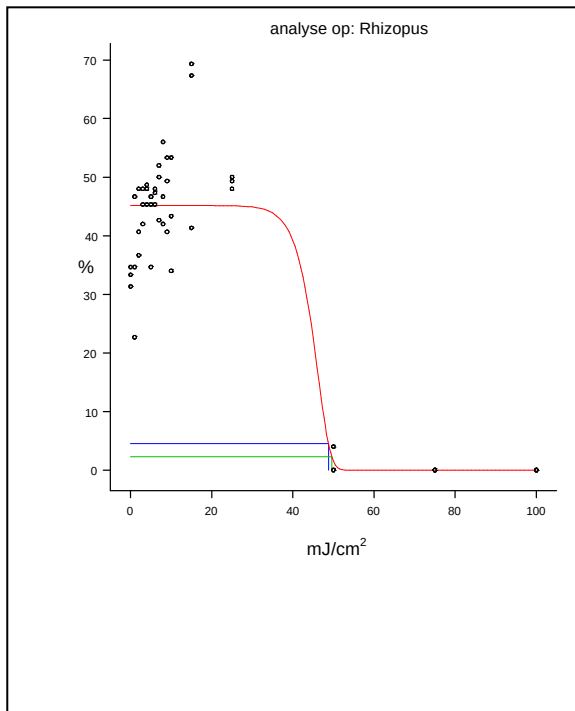
Colletotrichum: percentage gekiemde sporen, na 24 uur, test 2.



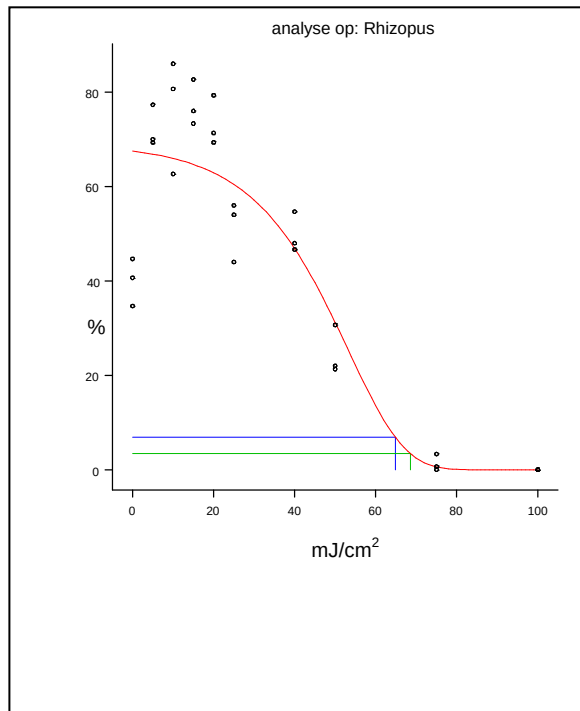
Penicillium: percentage gekiemde sporen, na 24 uur, test 1.



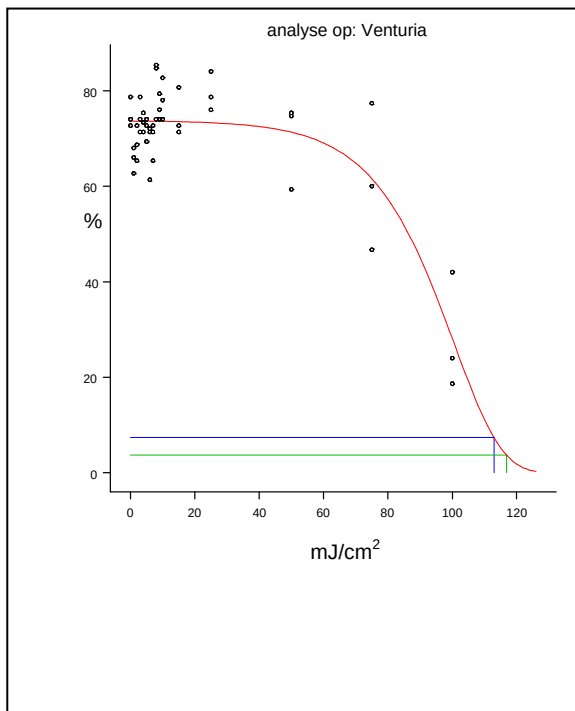
Penicillium: percentage gekiemde sporen, na 24 uur, test 2.



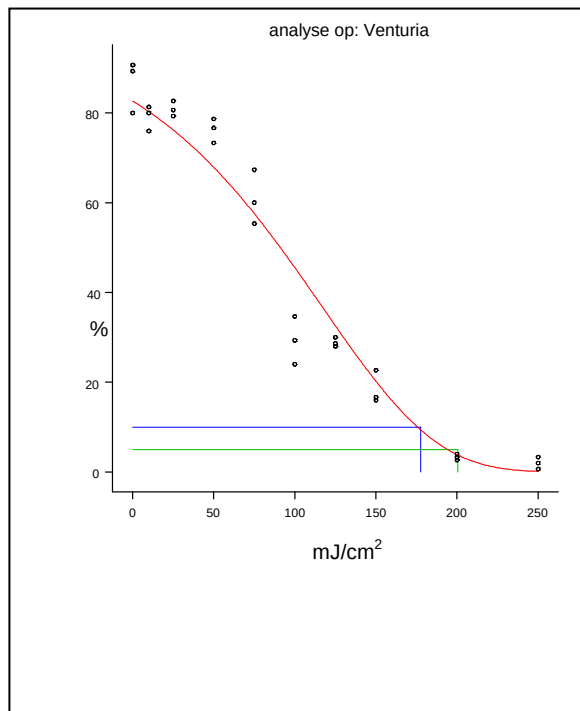
Rhizopus: percentage gekiemde sporen, na 24 uur, test 1.



Rhizopus: percentage gekiemde sporen, na 24 uur, test 2.



Venturia: percentage gekiemde sporen, na 24 uur, test 1.



Venturia: percentage gekiemde sporen, na 24 uur, test 2.

Bijlage 2 – Effect UV-C op myceliumgroei

Effect van 1x belichten met UV-C op myceliumgroei - gemeten na 3 dagen belichting

UV-C dosis mJ/cm ²	% reductie in diameter van de schimmelkolonie ten opzichte van onbehandeld					
	<i>Alternaria</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Colletotrichum</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Nectria</i>	<i>Stemphylium</i>
0	0	0	0	0	0	0
1	4	3	9	18	6	2
2	7	7	9	10	12	8
3	3	9	7	14	8	19
4	15	5	9	19	9	23
5	18	6	10	13	17	27
6	0	6	6	12	16	28
7	7	1	2	11	8	33
8	3	0	8	10	4	24
9	14	3	8	14	7	37
10	6	6	8	19	5	26
15	4	13	14	29	8	38
25	17	21	14	28	10	49
50	17	25	20	27	14	39
75	13	25	24	33	15	50
100	22	22	20	37	16	28

Effect van 2x belichten met UV-C op myceliumgroei – gemeten na 3 dagen na tweede belichting

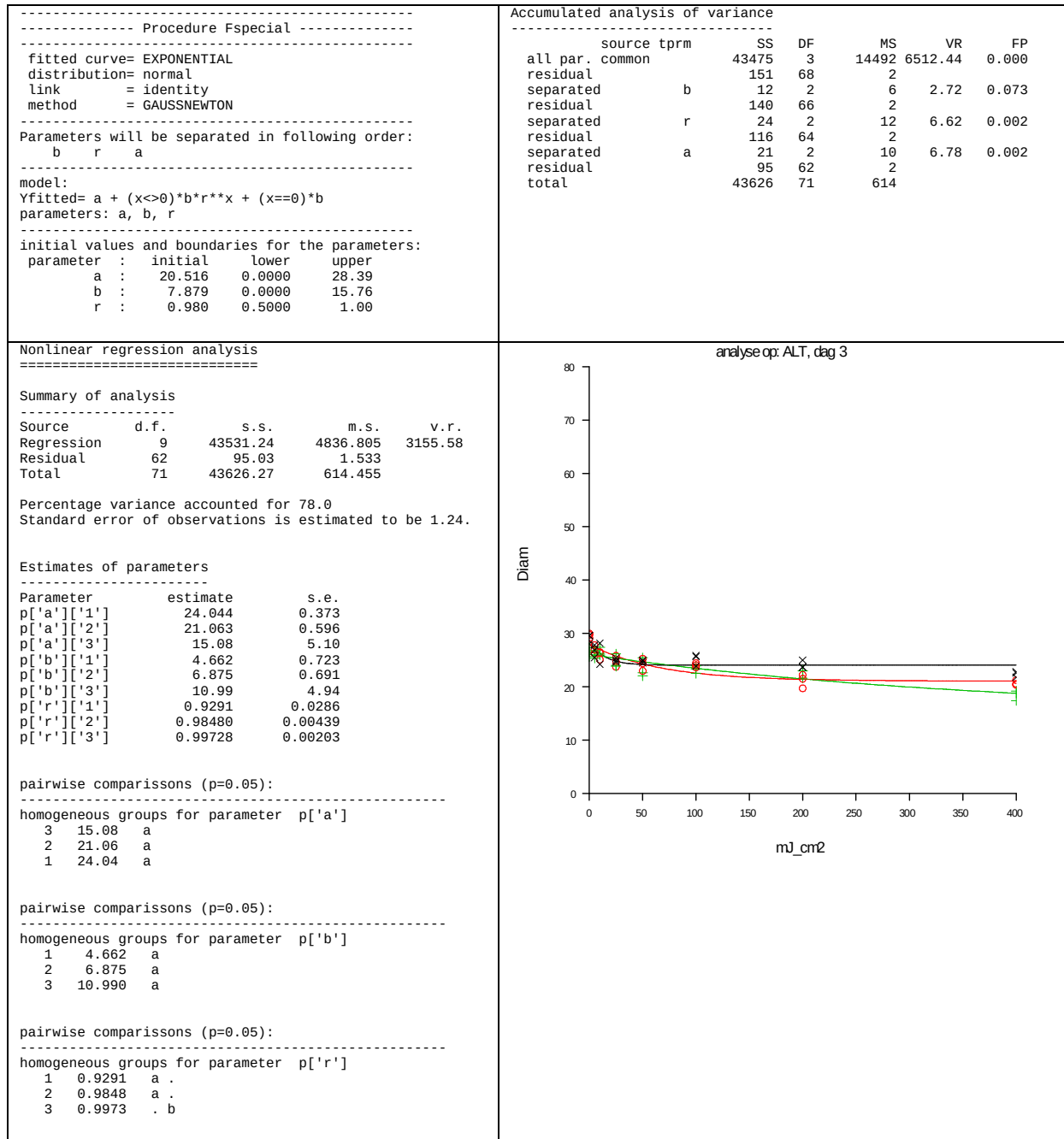
UV-C dosis mJ/cm ²	% reductie in diameter van de schimmelkolonie ten opzichte van onbehandeld					
	<i>Alternaria</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Colletotrichum</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Nectria</i>	<i>Stemphylium</i>
0	0	0	0	0	0	0
1	-2	2	5	5	7	-5
2	-3	3	5	5	7	-13
3	4	8	13	5	7	-13
4	11	4	10	8	10	-7
5	-6	5	8	7	12	2
6	-8	6	12	9	8	23
7	-6	10	14	10	12	25
8	-5	3	18	22	8	29
9	-7	5	15	11	16	25
10	-9	1	13	8	15	32
15	4	14	19	6	18	50
25	-1	17	20	9	19	17
50	7	16	22	8	21	3
75	8	16	20	11	22	2
100	7	19	22	8	26	4

Effect van 1x belichten met UV-C op myceliumgroei - gemeten na 3 dagen belichting

UV-C dosis mJ/cm ²	% reductie in diameter van de schimmelkolonie ten opzichte van onbehandeld					
	<i>Alternaria</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Colletotrichum</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Nectria</i>	<i>Stemphylium</i>
0	0	0	0	0	0	0
5	10	-1	3	12	9	17
10	11	-3	5	19	10	1
25	12	4	-2	21	13	21
50	13	1	13	21	9	42
75	11	-2	13	24	13	8
100	15	4	10	23	6	22
150	21	5	10	26	8	19
200	15	7	13	23	-2	22
250	16	12	15	26	5	19
300	22	10	8	27	27	22
350	20	8	5	25	18	26
400	22	8	8	21	15	17
450	23	7	5	25	19	9
500	27	9	11	23	21	10
600	27	6	10	25	23	21

Bijlage 3 – Statistische analyses groeicurves mycelium

Alternaria: myceliumgroei op dag 3.



Zwart: eenmaal belicht (beh 1)
 Rood: tweemaal belicht (beh 2)
 Groen: driemaal belicht (beh 3)

Botrytis: myceliumgroei op dag 3.

----- Procedure Fspecial ----- fitted curve= EXPONENTIAL distribution= normal link = identity method = GAUSSNEWTON ----- Parameters will be separated in following order: a b r ----- model: Yfitted= a + (x<>0)*b*r**x + (x==0)*b parameters: a, b, r ----- initial values and boundaries for the parameters: parameter : initial lower upper a : 29.64 0.0000 38.95 b : 9.31 0.0000 18.62 r : 0.98 0.5000 1.00	Accumulated analysis of variance ----- <table><tr><td></td><td>source</td><td>tprn</td><td>SS</td><td>DF</td><td>MS</td><td>VR</td><td>FP</td></tr><tr><td>all par.</td><td>common</td><td></td><td>90632</td><td>3</td><td>30211</td><td>4174.70</td><td>0.000</td></tr><tr><td>residual</td><td></td><td></td><td>492</td><td>68</td><td>7</td><td></td><td></td></tr><tr><td>separated</td><td>a</td><td></td><td>92</td><td>2</td><td>46</td><td>7.63</td><td>0.001</td></tr><tr><td>residual</td><td></td><td></td><td>400</td><td>66</td><td>6</td><td></td><td></td></tr><tr><td>separated</td><td>b</td><td></td><td>142</td><td>2</td><td>71</td><td>17.66</td><td>0.000</td></tr><tr><td>residual</td><td></td><td></td><td>258</td><td>64</td><td>4</td><td></td><td></td></tr><tr><td>separated</td><td>r</td><td></td><td>19</td><td>2</td><td>9</td><td>2.43</td><td>0.097</td></tr><tr><td>residual</td><td></td><td></td><td>239</td><td>62</td><td>4</td><td></td><td></td></tr><tr><td>total</td><td></td><td></td><td>91124</td><td>71</td><td>1283</td><td></td><td></td></tr></table>		source	tprn	SS	DF	MS	VR	FP	all par.	common		90632	3	30211	4174.70	0.000	residual			492	68	7			separated	a		92	2	46	7.63	0.001	residual			400	66	6			separated	b		142	2	71	17.66	0.000	residual			258	64	4			separated	r		19	2	9	2.43	0.097	residual			239	62	4			total			91124	71	1283																																
	source	tprn	SS	DF	MS	VR	FP																																																																																																								
all par.	common		90632	3	30211	4174.70	0.000																																																																																																								
residual			492	68	7																																																																																																										
separated	a		92	2	46	7.63	0.001																																																																																																								
residual			400	66	6																																																																																																										
separated	b		142	2	71	17.66	0.000																																																																																																								
residual			258	64	4																																																																																																										
separated	r		19	2	9	2.43	0.097																																																																																																								
residual			239	62	4																																																																																																										
total			91124	71	1283																																																																																																										
Nonlinear regression analysis ===== Summary of analysis ----- <table><tr><td>Source</td><td>d.f.</td><td>s.s.</td><td>m.s.</td><td>v.r.</td></tr><tr><td>Regression</td><td>9</td><td>90884.8</td><td>10098.307</td><td>2621.53</td></tr><tr><td>Residual</td><td>62</td><td>238.8</td><td>3.852</td><td></td></tr><tr><td>Total</td><td>71</td><td>91123.6</td><td>1283.431</td><td></td></tr></table> Percentage variance accounted for 76.6 Standard error of observations is estimated to be 1.96. * MESSAGE: the following units have large standardized residuals. <table><tr><td>Unit</td><td>Response</td><td>Residual</td></tr><tr><td>53</td><td>32.69</td><td>-2.58</td></tr><tr><td>72</td><td>18.23</td><td>-3.24</td></tr></table> Estimates of parameters ----- <table><tr><td>Parameter</td><td>estimate</td><td>s.e.</td></tr><tr><td>p['a']['1']</td><td>34.44</td><td>1.02</td></tr><tr><td>p['a']['2']</td><td>30.77</td><td>1.31</td></tr><tr><td>p['a']['3']</td><td>19.418</td><td>0.602</td></tr><tr><td>p['b']['1']</td><td>3.66</td><td>1.14</td></tr><tr><td>p['b']['2']</td><td>9.17</td><td>1.32</td></tr><tr><td>p['b']['3']</td><td>18.62</td><td>*</td></tr><tr><td>p['r']['1']</td><td>0.9868</td><td>0.0117</td></tr><tr><td>p['r']['2']</td><td>0.99076</td><td>0.00372</td></tr><tr><td>p['r']['3']</td><td>0.996800</td><td>0.000511</td></tr></table> * MESSAGE: some standard errors are unavailable due to singularity. pairwise comparissons (p=0.05): ----- homogeneous groups for parameter p['a'] <table><tr><td>3</td><td>19.42</td><td>a . .</td></tr><tr><td>2</td><td>30.77</td><td>. b .</td></tr><tr><td>1</td><td>34.44</td><td>. . c</td></tr></table> pairwise comparissons (p=0.05): ----- homogeneous groups for parameter p['b'] <table><tr><td>1</td><td>3.66</td><td>a . .</td></tr><tr><td>2</td><td>9.17</td><td>. b .</td></tr><tr><td>3</td><td>18.62</td><td>. . c</td></tr></table> pairwise comparissons (p=0.05): ----- homogeneous groups for parameter p['r'] <table><tr><td>1</td><td>0.9868</td><td>a</td></tr><tr><td>2</td><td>0.9908</td><td>a</td></tr><tr><td>3</td><td>0.9968</td><td>a</td></tr></table>	Source	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	Regression	9	90884.8	10098.307	2621.53	Residual	62	238.8	3.852		Total	71	91123.6	1283.431		Unit	Response	Residual	53	32.69	-2.58	72	18.23	-3.24	Parameter	estimate	s.e.	p['a']['1']	34.44	1.02	p['a']['2']	30.77	1.31	p['a']['3']	19.418	0.602	p['b']['1']	3.66	1.14	p['b']['2']	9.17	1.32	p['b']['3']	18.62	*	p['r']['1']	0.9868	0.0117	p['r']['2']	0.99076	0.00372	p['r']['3']	0.996800	0.000511	3	19.42	a . .	2	30.77	. b .	1	34.44	. . c	1	3.66	a . .	2	9.17	. b .	3	18.62	. . c	1	0.9868	a	2	0.9908	a	3	0.9968	a	analyse op: BOT, dag 3 <table><caption>Estimated data points from the graph</caption><thead><tr><th>mJ_cm2</th><th>Zwart (Diam)</th><th>Rood (Diam)</th><th>Groen (Diam)</th></tr></thead><tbody><tr><td>0</td><td>~38</td><td>~38</td><td>~38</td></tr><tr><td>50</td><td>~36</td><td>~35</td><td>~34</td></tr><tr><td>100</td><td>~34</td><td>~33</td><td>~32</td></tr><tr><td>200</td><td>~32</td><td>~31</td><td>~30</td></tr><tr><td>400</td><td>~30</td><td>~29</td><td>~28</td></tr></tbody></table>	mJ_cm2	Zwart (Diam)	Rood (Diam)	Groen (Diam)	0	~38	~38	~38	50	~36	~35	~34	100	~34	~33	~32	200	~32	~31	~30	400	~30	~29	~28
Source	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.																																																																																																											
Regression	9	90884.8	10098.307	2621.53																																																																																																											
Residual	62	238.8	3.852																																																																																																												
Total	71	91123.6	1283.431																																																																																																												
Unit	Response	Residual																																																																																																													
53	32.69	-2.58																																																																																																													
72	18.23	-3.24																																																																																																													
Parameter	estimate	s.e.																																																																																																													
p['a']['1']	34.44	1.02																																																																																																													
p['a']['2']	30.77	1.31																																																																																																													
p['a']['3']	19.418	0.602																																																																																																													
p['b']['1']	3.66	1.14																																																																																																													
p['b']['2']	9.17	1.32																																																																																																													
p['b']['3']	18.62	*																																																																																																													
p['r']['1']	0.9868	0.0117																																																																																																													
p['r']['2']	0.99076	0.00372																																																																																																													
p['r']['3']	0.996800	0.000511																																																																																																													
3	19.42	a . .																																																																																																													
2	30.77	. b .																																																																																																													
1	34.44	. . c																																																																																																													
1	3.66	a . .																																																																																																													
2	9.17	. b .																																																																																																													
3	18.62	. . c																																																																																																													
1	0.9868	a																																																																																																													
2	0.9908	a																																																																																																													
3	0.9968	a																																																																																																													
mJ_cm2	Zwart (Diam)	Rood (Diam)	Groen (Diam)																																																																																																												
0	~38	~38	~38																																																																																																												
50	~36	~35	~34																																																																																																												
100	~34	~33	~32																																																																																																												
200	~32	~31	~30																																																																																																												
400	~30	~29	~28																																																																																																												

Zwart: eenmaal belicht (beh 1)
 Rood: tweemaal belicht (beh 2)
 Groen: driemaal belicht (beh 3)

Colletotrichum: myceliumgroei op dag 3.

<pre> ----- Procedure Fspecial ----- fitted curve= EXPONENTIAL distribution= normal link = identity method = GAUSSNEWTON ----- Parameters will be separated in following order: a b r ----- model: Yfitted= a + (x<>0)*b*r**x + (x==0)*b parameters: a, b, r ----- initial values and boundaries for the parameters: parameter : initial lower upper a : 14.319 0.0000 22.20 b : 7.886 0.0000 15.77 r : 0.980 0.5000 1.00 </pre>	<pre> Accumulated analysis of variance ----- source tprn SS DF MS VR FP all par. common 22353 3 7451 2546.92 0.000 residual 199 68 3 separated a 67 2 34 16.89 0.000 residual 132 66 2 separated b 15 2 7 3.98 0.023 residual 117 64 2 total 22552 71 318 </pre>
<pre> Nonlinear regression analysis ===== Summary of analysis ----- Source d.f. s.s. m.s. v.r. Regression 7 22434.7 3204.951 1752.87 Residual 64 117.0 1.828 Total 71 22551.7 317.629 Percentage variance accounted for 76.6 Standard error of observations is estimated to be 1.35. * MESSAGE: the following units have large standardized residuals. Unit Response Residual 37 19.12 2.47 * MESSAGE: the residuals do not appear to be random; for example, fitted values in the range 19.64 to 20.22 are consistently larger than observed values and fitted values in the range 17.24 to 17.78 are consistently smaller than observed values. Nonlinear regression analysis ===== Estimates of parameters ----- Parameter estimate s.e. p['a']['1'] 17.240 0.401 p['a']['2'] 15.115 0.416 p['a']['3'] 13.911 0.425 p['b']['1'] 4.557 0.735 p['b']['2'] 5.603 0.744 p['b']['3'] 7.458 0.738 p['r'][' '] 0.95827 0.00809 pairwise comparissons (p=0.05): ----- homogeneous groups for parameter p['a'] 3 13.91 a . . 2 15.11 . b . 1 17.24 . . c pairwise comparissons (p=0.05): ----- homogeneous groups for parameter p['b'] 1 4.557 a . 2 5.603 a b 3 7.458 . b </pre>	analyse op. COL, dag 3

Zwart: eenmaal belicht (beh 1)
Rood: tweemaal belicht (beh 2)
Groen: driemaal belicht (beh 3)

Nectria: myceliumgroei op dag 3.

<pre> ----- Procedure Fspecial ----- fitted curve= EXPONENTIAL distribution= normal link = identity method = GAUSS-NEWTON ----- Parameters will be separated in following order: a b ----- model: Yfitted= a + (x<>0)*b*r**x + (x==0)*b parameters: a, b, r ----- initial values and boundaries for the parameters: parameter : initial lower upper a : 9.353 0.0000 12.626 b : 3.272 0.0000 6.544 r : 0.980 0.5000 0.999 </pre>	<pre> Accumulated analysis of variance ----- source tprn SS DF MS VR FP all par. common 8006 2 4002.8 1630.94 0.000 residual 169 69 2.5 separated a 120 2 60.0 81.50 0.000 residual 49 67 0.7 separated b 20 2 10.2 22.95 0.000 residual 29 65 0.4 separated r 1 2 0.6 1.45 0.243 residual 28 63 0.4 total 8175 71 115.1 </pre>
<pre> Nonlinear regression analysis ===== Summary of analysis ----- Source d.f. s.s. m.s. v.r. Regression 7 8146.05 1163.7216 2616.37 Residual 65 28.91 0.4448 Total 72 8174.96 113.5411 Percentage variance accounted for 86.0 Standard error of observations is estimated to be 0.667. * MESSAGE: the following units have large standardized residuals. Unit Response Residual 6 10.630 -2.62 53 9.060 -2.45 Estimates of parameters ----- Parameter estimate s.e. p['a']['1'] 11.822 0.180 p['a']['2'] 9.892 0.185 p['a']['3'] 7.542 0.202 p['b']['1'] 0.761 0.372 p['b']['2'] 2.120 0.374 p['b']['3'] 4.308 0.380 p['r'][' '] 0.9394 0.0121 pairwise comparissons (p=0.05): ----- homogeneous groups for parameter p['a'] 3 7.542 a . . 2 9.892 . b . 1 11.822 . . c pairwise comparissons (p=0.05): ----- homogeneous groups for parameter p['b'] 1 0.761 a . . 2 2.120 . b . 3 4.308 . . c </pre>	analyse op: NEC, dag 3

Zwart: eenmaal belicht (beh 1)
Rood: tweemaal belicht (beh 2)
Groen: driemaal belicht (beh 3)

Bijlage 4 – Verzamelde getallen van schurft, meeldauw en fytotoxiciteit

Schurft pulkmethode

In de tabel staan de aantallen vruchtlichamen per categorie (cat.0 t/m cat.4), het totaal aantal vruchtlichamen (n_t) en de daaruit berekende index.

datum	behandeling	herhaling	cat.0	cat.1	cat.2	cat.3	cat.4	n_t	index
10apr	onbeh	A	1	3	1	3	2	10	6,7
10apr	onbeh	B	4	3	0	1	2	10	4,6
10apr	onbeh	C	2	3	1	3	1	10	5,6
10apr	onbeh	D	2	2	1	4	1	10	6,2
10apr	UV50	A	0	0	8	2	0	10	6,6
10apr	UV50	B	1	1	7	1	0	10	5,5
10apr	UV50	C	2	1	3	3	1	10	6,2
10apr	UV50	D	5	4	0	1	0	10	2,6
10apr	UV500	A	0	4	0	4	2	10	7,2
10apr	UV500	B	1	1	2	4	2	10	7,6
10apr	UV500	C	1	2	0	3	4	10	8,2
10apr	UV500	D	0	3	0	6	1	10	7,5
23apr	onbeh	A	2	1	2	5	0	10	6,2
23apr	onbeh	B	1	1	3	4	1	10	7
23apr	onbeh	C	0	3	2	5	0	10	6,6
23apr	onbeh	D	2	4	2	1	1	10	4,7
23apr	UV50	A	1	1	4	2	2	10	7
23apr	UV50	B	2	1	4	2	1	10	5,9
23apr	UV50	C	1	3	3	0	3	10	6,4
23apr	UV50	D	1	5	2	2	0	10	4,6
23apr	UV500	A	0	1	1	4	4	10	9,3
23apr	UV500	B	2	3	1	3	1	10	5,6
23apr	UV500	C	3	2	3	1	1	10	4,8
23apr	UV500	D	0	5	2	2	1	10	5,7
8mei	onbeh	A	0	0	0	1	4	5	11,4
8mei	onbeh	B	0	3	1	0	1	5	5,4
8mei	onbeh	C	0	0	3	1	1	5	7,8
8mei	onbeh	D	0	1	1	2	1	5	7,8
8mei	UV50	A	0	2	1	0	2	5	7,2
8mei	UV50	B	0	1	2	1	1	5	7,2
8mei	UV50	C	0	1	1	1	2	5	8,4
8mei	UV50	D	0	3	1	1	0	5	4,8
8mei	UV500	A	0	0	4	1	0	5	6,6
8mei	UV500	B	0	1	2	2	0	5	6,6
8mei	UV500	C	0	2	1	0	2	5	7,2
8mei	UV500	D	0	1	1	2	1	5	7,8

Schurft schietmethode

In de tabel staat het aantal getelde ascosporen per glaasje.

datum	behandeling	herhaling	aantal
14 april	onbeh	A	6
14 april	onbeh	B	4

14 april	onbeh	C	5
14 april	onbeh	D	5
14 april	onbeh	E	*
14 april	UV500	A	9
14 april	UV500	B	6
14 april	UV500	C	5
14 april	UV500	D	6
14 april	UV500	E	*
14 april	UV50	A	4
14 april	UV50	B	8
14 april	UV50	C	2
14 april	UV50	D	3
14 april	UV50	E	3
24 april	onbeh	A	7
24 april	onbeh	B	3
24 april	onbeh	C	4
24 april	onbeh	D	6
24 april	onbeh	E	*
24 april	UV50	A	1
24 april	UV50	B	4
24 april	UV50	C	8
24 april	UV50	D	3
24 april	UV50	E	*
24 april	UV500	A	6
24 april	UV500	B	8
24 april	UV500	C	4
24 april	UV500	D	5
24 april	UV500	E	*
15 mei	onbeh	A	331
15 mei	onbeh	B	259
15 mei	onbeh	C	507
15 mei	onbeh	D	539
15 mei	onbeh	E	481
15 mei	UV50	A	781
15 mei	UV50	B	350
15 mei	UV50	C	513
15 mei	UV50	D	555
15 mei	UV50	E	409
15 mei	UV500	A	538
15 mei	UV500	B	496
15 mei	UV500	C	588
15 mei	UV500	D	257
15 mei	UV500	E	519

Schurft bubbelmethode

In de tabel staan de aantallen ascosporen per gram blad. Bij corr1 zijn deze aantallen gecorrigeerd voor het drooggewicht blad en bij corr2 is ook de correctie doorgevoerd voor de hoeveelheid water waarin de bladeren zijn gebracht bij het bubbelen.

behandeling	herhaling	sporen/g	corr1 sporen/g	corr2 sporen/g
onbeh	A	396807,298	396807,30	793614,595
UV50	A	309778,028	309778,03	619556,055

UV500	A	249185,668	249185,67	498371,336
onbeh	B	327988,338	327988,34	655976,676
UV50	B	918060,201	459030,10	918060,201
UV500	B	379360,465	379360,47	758720,930
onbeh	C	684989,429	342494,71	684989,429
UV50	C	334883,721	167441,86	334883,721
UV500	C	267402,377	267402,38	534804,754
onbeh	D	955752,212	477876,11	955752,212
UV50	D	206749,858	206749,86	413499,716
UV500	D	565275,908	565275,91	1130551,820
onbeh	E	401758,014	401758,01	803516,029
UV50	E	1118497,110	559248,55	1118497,110
UV500	E	310344,828	310344,83	620689,655
onbeh	F	199180,328	199180,33	398360,656
UV50	F	254134,732	254134,73	508269,463
UV500	F	209261,430	209261,43	418522,860

Primaire meeldauw

In de tabel hieronder staat het gemiddeld aantal scheuten per boom met primaire aantastingen van meeldauw per veldje en het gemiddeld aantal scheuten per boom per behandeling, zoals deze is geteld op 24 april 2008. De gemiddelden zijn gebaseerd op tellingen van 8 bomen per veldje.

behandeling	herhaling	gemiddeld aantal	gemiddeld per behandeling
onbehandeld	A	0,13	
onbehandeld	B	0,31	
onbehandeld	C	0,00	
onbehandeld	D	0,63	
onbehandeld	E	0,13	
onbehandeld	F	0,00	0,20
UV20	A	0,44	
UV20	B	0,31	
UV20	C	0,25	
UV20	D	0,44	
UV20	E	0,19	
UV20	F	0,69	0,39
UV60	A	0,39	
UV60	B	0,13	
UV60	C	0,44	
UV60	D	0,25	
UV60	E	0,13	
UV60	F	0,56	0,32

Uitbreiding van secundaire meeldauw

In de tabel staan de waarden van de index voor de aantasting door meeldauw op langloten.

behandeling	herhaling	index1
onbeh	A	1,9224
onbeh	B	2,2465
onbeh	C	2,3248
onbeh	D	1,8000
onbeh	E	2,1937
onbeh	F	2,2069

UV20	A	2,4734
UV20	B	1,4917
UV20	C	2,1185
UV20	D	2,0282
UV20	E	2,4433
UV20	F	2,3537
UV60	A	1,2686
UV60	B	1,7189
UV60	C	2,0060
UV60	D	1,6649
UV60	E	1,8000
UV60	F	2,1692

Fytotoxiciteit proef-1

In de tabel staan de waarden van de indices voor schade aan blad op langloten op 25 augustus 2008.

UV	herhaling	bladval	necrose	kleur	index 1	index 2
0	A	1	2	0	0,88	0,47
100	A	0	1	0	0,18	0,12
1000	A	3	3	3	2,29	1,24
2000	A	2	3	4	1,82	1,06
3000	A	4	3	4	2,88	1,53
4000	A	5	3	4	3,41	1,76
0	B	0	0	0	0,00	0,00
100	B	0	1	0	0,18	0,12
1000	B	1	4	4	1,47	0,94
2000	B	2	3	4	1,82	1,06
3000	B	4	3	4	2,88	1,53
4000	B	4	2	4	2,71	1,41
0	C	0	1	0	0,18	0,12
100	C	0	1	0	0,18	0,12
1000	C	5	3	3	3,35	1,71
2000	C	8	2	3	4,76	2,29
3000	C	5	3	4	3,41	1,76
4000	C	3	3	4	2,35	1,29
0	D	0	1	0	0,18	0,12
100	D	0	2	2	0,47	0,35
1000	D	3	2	3	2,12	1,12
2000	D	6	3	4	3,94	2,00
3000	D	9	4	4	5,71	2,82
4000	D	9	2	4	5,35	2,59

Fytotoxiciteit proef-2

In de tabel staan de waarden van de indices voor schade aan blad op langloten op 25 augustus 2008.

UV	herhaling	bladval	necrose	kleur	index 1	index 2
0	A	0	1	0	0,18	0,12
100	A	0	1	1	0,24	0,18
250	A	0	1	2	0,29	0,24
500	A	1	3	2	1,18	0,71
750	A	3	4	3	2,47	1,35

1000	A	4	3	3	2,82	1,47
0	B	0	2	0	0,35	0,24
100	B	1	3	0	1,06	0,59
250	B	1	2	2	1,00	0,59
500	B	3	2	2	2,06	1,06
750	B	6	3	2	3,82	1,88
1000	B	3	2	3	2,12	1,12
0	C	0	1	0	0,18	0,12
100	C	0	1	0	0,18	0,12
250	C	0	3	2	0,65	0,47
500	C	4	4	3	3,00	1,59
750	C	5	3	3	3,35	1,71
1000	C	10	4	4	6,24	3,06
0	D	0	1	0	0,18	0,12
100	D	0	2	0	0,35	0,24
250	D	0	1	2	0,29	0,24
500	D	2	2	2	1,53	0,82
750	D	2	3	4	1,82	1,06
1000	D	3	4	3	2,47	1,35

Bijlage 5 – Statistische analyses schurft, meeldauw en fytotoxiciteit

SCHURFT

Variate: index1 schurft pulkmethode

Source of variation	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
herh stratum	3	17.296	5.765	3.47	
herh.*Units* stratum					
datum	2	10.987	5.494	3.30	0.054
behandel	2	5.874	2.937	1.77	0.193
datum.behandel	4	10.478	2.619	1.57	0.213
Residual	24	39.921	1.663		
Total	35	84.556			

Message: the following units have large residuals.

herh A *units* 7 2.29 s.e. 1.05

herh B *units* 7 -2.29 s.e. 1.05

Tables of means

Grand mean 6.57

datum	10apr	23apr	8mei
	6.21	6.15	7.35

behandel	onbeh	UV50	UV500
	6.67	6.03	7.01

datum	behandel	onbeh	UV50	UV500
10apr		5.78	5.23	7.63
23apr		6.13	5.98	6.35
8mei		8.10	6.90	7.05

Standard errors of means

Table	datum	behandel	datum behandel
rep.	12	12	4
d.f.	24	24	24
e.s.e.	0.372	0.372	0.645

Standard errors of differences of means

Table	datum	behandel	datum behandel
rep.	12	12	4
d.f.	24	24	24
s.e.d.	0.527	0.527	0.912

Least significant differences of means (5% level)

Table	datum	behandel	datum behandel
rep.	12	12	4
d.f.	24	24	24
l.s.d.	1.087	1.087	1.882

variate: aantal ascosporen schietmethode

Source	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
herh	4	152395	38099	4.78	0.005
datum ignoring behandel	2	1938678	969339	121.65	< 0.001
datum eliminating behandel	2	1944466	972233	122.01	< 0.001
behandel ignoring datum	2	3241	1620	0.20	0.817
behandel eliminating datum	2	9029	4514	0.57	0.574
datum.behandel	4	15259	3815	0.48	0.751
Residual	27	215147	7968		
Total	39	2330508	59757		

Information summary

Design unbalanced, analysed by GenStat regression

Predictions from regression model

	Prediction
datum	
14 april	5.0
24 april	4.4
15 mei	476.6

Approximate effective standard errors

datum	
14 april	24.36
24 april	26.45
15 mei	24.43

Discrepancy between sed and value calculated from ese's

Maximum discrepancy	0
Maximum % discrepancy	0.00
Minimum standard error of difference	34.50
Average standard error of difference	35.49
Maximum standard error of difference	36.01
Minimum least significant difference	70.78
Average least significant difference	72.81
Maximum least significant difference	73.88

Predictions from regression model

	Prediction
behandel	
onbeh	161.8
UV50	198.3
UV500	183.6

Approximate effective standard errors

behandel	
onbeh	24.78
UV50	24.13
UV500	24.78

Discrepancy between sed and value calculated from ese's

Maximum discrepancy	0
Maximum % discrepancy	0.00
Minimum standard error of difference	34.58
Average standard error of difference	34.74

Maximum standard error of difference	35.04
Minimum least significant difference	70.96
Average least significant difference	71.27
Maximum least significant difference	71.89

Predictions from regression model
Response variate: aantal

	Prediction	UV50	UV500
behandel	onbeh		
datum			
39552	4.5	4.5	6.0
39562	4.5	3.5	5.2
39583	423.9	522.1	480.1

Approximate effective standard errors

behandel	onbeh	UV50	UV500
datum			
39552	44.87	40.36	44.87
39562	44.87	44.87	44.87
39583	40.36	40.36	40.36

Discrepancy between sed and value calculated from ese's

Maximum discrepancy	0.6266
Maximum % discrepancy	1.11
Minimum standard error of difference	56.46
Average standard error of difference	60.67
Maximum standard error of difference	63.12
Minimum least significant difference	115.8
Average least significant difference	124.5
Maximum least significant difference	129.5

Variate: sporen per gram blad

Source of variation	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
herh stratum	5	3.605E+11	7.210E+10	0.83	
herh.*Units* stratum					
beh	2	1.306E+11	6.530E+10	0.75	0.496
Residual	10	8.687E+11	8.687E+10		
Total	17	1.360E+12			

Message: the following units have large residuals.

herh D *units* 2	-443448.	s.e. 219683.
------------------	----------	--------------

Tables of means

Grand mean 449412.

beh	onbeh	UV50	UV500
	494413.	523684.	330138.

Standard errors of means

Table	beh
rep.	6
d.f.	10
e.s.e.	120325.6

Standard errors of differences of means

Table	beh
rep.	6
d.f.	10
s.e.d.	170166.0

Least significant differences of means (5% level)

Table	beh
rep.	6
d.f.	10
l.s.d.	379153.5

Variate: corr1_ sporen per gram blad

Source of variation	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
herh stratum	5	1.093E+11	2.187E+10	1.62	
herh.*Units* stratum					
beh	2	3.550E+09	1.775E+09	0.13	0.878
Residual	10	1.349E+11	1.349E+10		
Total	17	2.478E+11			

Information summary

Message: the following units have large residuals.

herh D *units* 2	-197986.	s.e. 86576.
------------------	----------	-------------

Tables of means

Grand mean 337962.

beh	onbeh	UV50	UV500
357684.	326064.	330138.	

Standard errors of means

Table	beh
rep.	6
d.f.	10
e.s.e.	47419.9

Standard errors of differences of means

Table	beh
rep.	6
d.f.	10
s.e.d.	67061.8

Least significant differences of means (5% level)

Table	beh
rep.	6
d.f.	10
l.s.d.	149423.1

Variate: corr2_ sporen per gram blad

Source of variation	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
herh stratum	5	4.373E+11	8.747E+10	1.62	
herh.*Units* stratum					
beh	2	1.420E+10	7.101E+09	0.13	0.878
Residual	10	5.397E+11	5.397E+10		
Total	17	9.912E+11			

Information summary

Message: the following units have large residuals.

herh D *units* 2

-395972.

s.e. 173153.

Tables of means

Grand mean 675924.

beh	onbeh	UV50	UV500
	715368.	652128.	660277.

Standard errors of means

Table	beh
rep.	6
d.f.	10
e.s.e.	94839.8

Standard errors of differences of means

Table	beh
rep.	6
d.f.	10
s.e.d.	134123.7

Least significant differences of means (5% level)

Table	beh
rep.	6
d.f.	10
l.s.d.	298846.2

MEELDAUW

Variate: index meeldauw

Source of variation	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
herh stratum	5	0.52691	0.10538	1.24	
herh.*Units* stratum					
behandel	2	0.52898	0.26449	3.12	0.088
Residual	10	0.84759	0.08476		
Total	17	1.90348			

Message: the following units have large residuals.

herh A *units* 2	0.447	s.e. 0.217	herh B *units* 2	-0.466	s.e. 0.217
------------------	-------	------------	------------------	--------	------------

Tables of means; Grand mean 2.013

behandel	onbeh	UV20	UV60
	2.116	2.151	1.771

Standard errors of means

Table	behandel
rep.	6
d.f.	10
e.s.e.	0.1189

Standard errors of differences of means

Table	behandel
rep.	6
d.f.	10
s.e.d.	0.1681

Least significant differences of means (5% level)

Table	behandel
-------	----------

rep.	6
d.f.	10
I.s.d.	0.3745

FYTOTOXICITEIT

Variate: **proef-1 fytoxiciteit index_1**

Source of variation	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
herhaling stratum	3	7.0050	2.3350	2.71	
herhaling.*Units* stratum					
UV	5	48.2741	9.6548	11.22	<.001
Residual	15	12.9076	0.8605		
Total	23	68.1867			

Tables of means

Grand mean 2.19

UV	0	100	1000	2000	3000	4000
	0.31	0.25	2.31	3.09	3.72	3.46

Standard errors of means

Table	UV
rep.	4
d.f.	15
e.s.e.	0.464

Standard errors of differences of means

Table	UV
rep.	4
d.f.	15
s.e.d.	0.656

Least significant differences of means (5% level)

Table	UV
rep.	4
d.f.	15
I.s.d.	1.398

Variate: **proef-1 fytoxiciteit index_2**

Source of variation	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
herhaling stratum	3	1.4129	0.4710	2.86	
herhaling.*Units* stratum					
UV	5	12.2751	2.4550	14.90	<.001
Residual	15	2.4712	0.1647		
Total	23	16.1592			

Tables of means

Grand mean 1.147

UV	0	100	1000	2000	3000	4000
	0.176	0.176	1.250	1.603	1.912	1.765

Standard errors of means

Table	UV
rep.	4

d.f.	15
e.s.e.	0.2029

Standard errors of differences of means

Table	UV
rep.	4
d.f.	15
s.e.d.	0.2870

Least significant differences of means (5% level)

Table	UV
rep.	4
d.f.	15
l.s.d.	0.6117

Data imported from Excel file: N:\Projecten\717 UV tegen ziekten\2008\Waarnemingen\fyto tox\fyto tox1.xls
taken from sheet ""proef 2"", cells A19:G42

Analysis of variance

Variate: **proef-2 fyto toxiciteit index_1**

Source of variation	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
herhaling stratum	3	5.1792	1.7264	2.39	
herhaling.*Units* stratum					
UV	5	37.1928	7.4386	10.28	<.001
Residual	15	10.8528	0.7235		
Total	23	53.2248			

Tables of means

Grand mean 1.58

UV	0	100	250	500	750	1000
	0.22	0.46	0.56	1.94	2.87	3.41

Standard errors of means

Table	UV
rep.	4
d.f.	15
e.s.e.	0.425

Standard errors of differences of means

Table	UV
rep.	4
d.f.	15
s.e.d.	0.601

Least significant differences of means (5% level)

Variate: **proef-2 fyto toxiciteit index_2**

Source of variation	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
herhaling stratum	3	1.1146	0.3715	2.39	
herhaling.*Units* stratum					
UV	5	9.2343	1.8469	11.86	<.001
Residual	15	2.3361	0.1557		
Total	23	12.6850			

Tables of means
Grand mean 0.850

UV	0	100	250	500	750	1000
	0.147	0.279	0.382	1.044	1.500	1.750

Standard errors of means

Table	UV
rep.	4
d.f.	15
e.s.e.	0.1973

Standard errors of differences of means

Table	UV
rep.	4
d.f.	15
s.e.d.	0.2791

Least significant differences of means (5% level)

Table	UV
rep.	4
d.f.	15
l.s.d.	0.5948