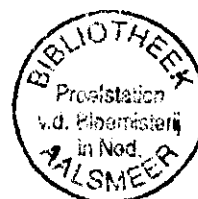


Proefstation voor de Bloemisterij
Linnaeuslaan 2a
1431 JV Aalsmeer
tel. 02977-52525

ISSN 0921-710X

MODELFORMING
BOTRYTIS CINEREA
IN
GERBERA

Rapport nr. 101 f. 5,-



Ir. A. Kerssies
A. L. Verlind
Ir. M. Stapel
januari 1991

Rapport 101 is verkrijgbaar door het storten van f. 5,- op
girorekening 174855 ten name van Proefstation Aalsmeer onder
vermelding van: 'Rapport 101. Modelvorming Botrytis in Gerbera'.

CENTRALE LANDBOUWCATALOGUS



0000 0939 6405

MODELFORMING BOTRYTIS CINEREA IN GERBERA

Ir. A. Kerssies¹, A.L. Verlind¹ en ir. M. Stapel².

¹ - Proefstation voor de Bloemisterij in Nederland

² - Groep Landbouwwiskunde, DLO

De gegevens verkregen uit het onderzoek naar de epidemiologie van *Botrytis cinerea* (Kerssies et al., 1990) zijn gebruikt om een verklarend model te maken voor de ontwikkeling en het voorkomen van *B. cinerea* in een Gerbera-gewas, in de kas. Eerst is er een verklarend model gemaakt voor de data van de kas van 100 m² op het Proefstation voor de Bloemisterij. Vervolgens is dit model getoetst met de data van de kas van 350 m² op de proeftuin Vleuten.

De verkregen data vormen in feite een tijdreeks. Deze data zijn echter zeer moeilijk te analyseren wanneer ze als een tijdreeks worden behandeld.

Voor de analyse van de verkregen data lijkt het redelijk om de waarnemingen als onafhankelijk van elkaar te beschouwen, omdat:

- het gewas de gehele meetperiode ongeveer van gelijke grootte was, waardoor de grootte van het gewas geen invloed had op de aantallen lesies en de gevangen sporen;
- de meettijdstippen in de tijd een eind uit elkaar liggen;
- de tijdreeks enorm lijkt te fluctueren.

Hierdoor is het mogelijk een aantal statistische methoden te gebruiken, zoals het berekenen van correlatie-coëfficiënten en lineaire regressie-analyse.

Eerst is getracht een model te maken voor de aantallen 'colony forming units' (= kolonie vormende schimmeldeeltjes; cfu) van *B. cinerea* in de kaslucht. Modelvorming was niet goed mogelijk, er werden geen significante correlaties en lineaire regressies gevonden tussen de verklarende variabelen en de aantallen cfu's. Dit komt onder andere doordat de gebruikte vangmethode voor de cfu's een momentopname weergaf van de aantallen cfu's aanwezig in de kas. De sporevangsters hingen maximaal veertien uur in de kas. De aantallen cfu in de kaslucht konden, door snel wisselende kasomstandigheden, de volgende dag zeer verschillen van de vorige dag, toen sporen werden gevangen. Het verloop van de aantallen cfu in de tijd vertoonde daardoor een grillig beeld, met snelle wisselingen in pieken en dalen (Kerssies et al., 1990).

Vervolgens werd getracht een model te maken voor de aantallen (te verklaren variabele) lesies die in de naoogst-fase op de Gerbera-lintbloemen werden gevormd. De lesies werden veroorzaakt door het binnendringen van gekiemde *B. cinerea*-sporen in de Gerbera-bloemen. Deze sporen waren in de kas op de bloemen terecht gekomen. Dit is in wezen het meest interessant voor de kwekers. De lesies op de bloemen geven uiteindelijk een waardevermindering van de bloemen.

Voor de aantallen lesies op de lintbloemen was het wel mogelijk een goed model te maken. Dit komt mede doordat de Gerbera-bloemen minimaal zes en maximaal veertien dagen in de kas open stonden en gedurende deze relatief lange tijdsperiode sporen van *B. cinerea* -aanwezig in de lucht- konden opvangen. Deze vangmethode geeft een veel beter beeld van de aanwezigheid van *B. cinerea* in de kas, omdat de opvangperiode veel langer was (Kerssies et al., 1990).

De data waarmee het model is gemaakt omvatten een tijdsperiode van ongeveer één jaar (371 en 390 dagen in respectievelijk de kas van 100 m² en 350 m²). Het aantal tijdstippen dat was waargenomen is respectievelijk 35 en 37.

De volgende variabelen zijn gemeten gedurende de experimenten en gebruikt bij het vormen van een model (verklarende variabelen; Kerssies et al., 1990):

R - Het aantal uren per dag dat de relatieve luchtvochtigheid, in het gewas, hoger was dan 90%.

T - De gemiddelde etmaaltemperatuur, in het gewas.

S - De stralings-intensiteit buiten de kas; gemiddelde van een etmaal.

W - De windsnelheid buiten de kas; gemiddelde van een etmaal.

V - De 'Vapore pressure deficit'; in de formule voor het berekenen van de 'Vapore pressure deficit' zijn de gemiddelde relatieve luchtvochtigheid en de gemiddelde temperatuur van een etmaal verwerkt. Deze omrekeningswaarde wordt in epidemiologische experimenten veel gebruikt.

De formule is: $VPD = [6.108 * e^{(17.27 * T / (T - 237.3))}] [1 - RH / 100] / 10$
(T=temperatuur; RH=relatieve luchtvochtigheid)

B - Het gebruik van bestrijdingsmiddelen. Tijdens het onderzoek werd genoteerd welke middelen in het Gerbera-gewas werden gebruikt. Door middel van radiale myceliumgroeiproeven en sporekiemingsproeven (in vitro) werd de gevoeligheid van B. cinerea voor de gebruikte middelen bepaald (Corts, 1990). Vanaf het tijdstip dat het betreffende middel was gebruikt, werd de relatieve invloed van dat middel tot veertien dagen later berekend, met een maximum van 14 punten per middel (afhankelijk van het bestrijdingseffect).

TS - De tijdsduur (in aantal dagen) dat een Gerbera-bloem geopend is en sporen van B. cinerea kan opvangen. Deze factor is sterk afhankelijk van de temperatuur in de kas en kan goed worden afgeleid van de gemiddelde etmaaltemperatuur in de kas met behulp van de volgende formule: $TS = 25.63 - 0.854 * \text{temperatuur}$ (Corts, 1990).

t - De leeftijd van het gewas, beginnend bij t=0 (=start van het experiment tot t=552 (=eind van het experiment)).

Van alle variabelen zijn, naast de waarde op de dag van meten, ook de waarden berekend van de veertien dagen voorafgaand aan het meettijdstip.

Dit is als volgt gecodeerd:

R0 - de relatieve luchtvochtigheid op de meetdag

R1 - de relatieve luchtvochtigheid op de dag voorafgaand aan de meetdag

tot en met

R14 - de relatieve luchtvochtigheid veertien dagen voorafgaand aan de meetdag

Daarnaast zijn van de waarden van de verschillende dagen gemiddelde waarden berekend. De volgende codes werden gebruikt:

R0,1 is het gemiddelde van R0 en R1; R0,2 is het gemiddelde van R0, R1 en

R2; R0,14 is het gemiddelde van R0, R1 tot en met R14; R1,2 is het

gemiddelde van R1 en R2 etcetera en waarbij tenslotte R13,14 het gemiddelde is van R13 en R14. Deze codes zijn voor alle factoren gehanteerd, waarvoor de volgende codes zijn gebruikt:

Relatieve luchtvochtigheid:	RO t/m R14; gemiddelde waarden: RO,1 t/m R13,14
Temperatuur	: TO t/m T14; gemiddelde waarden: TO,1 t/m T13,14
Straling	: SO t/m S14; gemiddelde waarden: SO,1 t/m S13,14
Windsnelheid	: WO t/m W14; gemiddelde waarden: WO,1 t/m W13,14
VPD	: VO t/m V14; gemiddelde waarden: VO,1 t/m V13,14
Bestrijding	: BO t/m B14; gemiddelde waarden: BO,1 t/m B13,14
Tijdsduur	: TSO t/m TS14; gemiddelde waarden: TSO,1 t/m TS13,14

Er zijn correlatie-coëfficiënten berekend tussen de te verklaren variabele lesies en de verklarende variabelen (van [0] tot en met [14]). Er bleek dat de verklarende variabelen R, S, T, B en TS meer of mindere significante correlaties hadden met de te verklaren variabele.

Van een aantal van deze variabelen zijn ook de interacties betrokken bij het vormen van een model. De interacties zijn eerst georthogonaliseerd op de hoofdeffecten. De volgende codes werden gebruikt:

RS - interactie tussen R en S
RT - interactie tussen R en T
ST - interactie tussen S en T
RST - interactie tussen R, S en T
TSS - interactie tussen TS en S.

Niet alle mogelijke interacties zijn meegenomen bij de vorming van het verklarende model, omdat deze interacties geen rol van betekenis spelen bij de ontwikkeling van *B. cinerea* (geen significante correlaties).

Verder zijn van deze variabelen de kwadratische termen betrokken bij het vormen van een model. De kwadratische termen zijn eerst georthogonaliseerd op de lineaire term. De volgende codes werden gebruikt:

H² - R*R
S² - S*S
T² - T*T
B² - B*B
TS² - TS*TS

Met behulp van de procedure RSELECT, van de Groep Landbouwwiskunde, in het statistische pakket GENSTAT werd vervolgens met behulp van lineaire regressie-analyse berekend welke variabelen het beste de aantallen lesies kunnen verklaren. De te verklaren variabele lesies is log-getransformeerd (natuurlijke logaritme). Deze transformatie is voor een dataset bestaande uit aantallen aantastingen veroorzaakt door een pathogeen, zeer gebruikelijk (Krantz & Rotem, 1988). In de procedure RSELECT werd als keuzecriterium Mallow's Cp gebruikt.

Er bleek dat de volgende variabelen het beste de aantallen lesies in een Gerbera-gewas kunnen verklaren: R6,8, S1,3 en t, met een 'adjusted' R² (= R² gecorrigeerd voor het aantal variabelen) van 0.78. Dit betekent dat met dit model de aantallen lesies voor 78% kunnen worden verklaard. Dit is voor een dataset verkregen door observationele waarnemingen erg goed. De t-waarden zijn allemaal groter dan 2.

Bij de residuen van de regressie is geen sprake meer van autocorrelatie. Dit betekent dat geen systematisch effect in de tijd over het hoofd is gezien bij het modelleren.

Het uiteindelijke verklarende model is weergegeven in tabel 1, als uitdraai van het betreffende GENSTAT-programma. In figuur 1 zijn de gemeten

aantallen lesies en de gefitte waarden verkregen met behulp van het model uitgezet tegen de tijd (= leeftijd van het gewas). Hieruit blijkt ook dat het uiteindelijke model goed de aantallen lesies kan verklaren. Dit houdt in dat de volgende variabelen belangrijk zijn bij/voor de vorming van het aantal lesies op de Gerbera-lintbloemen:

1. Het aantal uren per etmaal dat de relatieve luchtvochtigheid in het gewas hoger is dan 90%.
2. De gemiddelde etmaalinstraling buiten de kas.
3. De leeftijd van het gewas.

Opmerkelijk is het feit dat de relatieve luchtvochtigheid en de stralingsintensiteit een 'uitgesteld effect' hebben op de aantallen lesies op Gerbera-bloemen, veroorzaakt door *B. cinerea*. De effecten van deze factoren werden pas later zichtbaar. De gemiddelde relatieve luchtvochtigheid van acht, zeven en zes dagen voor de dag dat de aantallen lesies werden bepaald (R6,8) heeft een significante invloed op de aantallen lesies. De gemiddelde stralingsintensiteit van drie, twee en één dag voor de dag dat de aantallen lesies werden bepaald (S1,3) heeft eveneens een significante invloed op de aantallen lesies. Deze twee variabelen zijn immers in het verklarende model opgenomen.

Dit gegeven is in principe niet zo opmerkelijk, omdat het vrij logisch is dat klimaatfactoren een uitgesteld effect hebben op levend materiaal. Hoe de werking van dit uitgestelde effect precies is en of dit effect op de schimmel, op de plant of op beide werkt, moet nog nader worden onderzocht.

Het feit dat een aantal variabelen niet in het uiteindelijke model zijn terug te vinden wil niet zeggen dat deze helemaal niet van belang kunnen zijn bij de vorming van de aantallen lesies op Gerbera-lintbloemen. Toch is het zeer aannemelijk dat de variabelen in het uiteindelijke verklarende model belangrijk zijn bij de vorming van het aantal lesies op Gerbera-lintbloemen.

De relatieve luchtvochtigheid speelt in veel infectie-processen waarbij schimmels betrokken zijn een grote rol (Friesland & Schrödter, 1988). De instraling is belangrijk bij de vorming van het gewas en de gevoeligheid van het gewas voor onder andere schimmels (Marois *et al.*, 1988). Verder kunnen door een hoge instraling sporen, aanwezig op het bloemoppervlak, worden gedood (Friesland & Schrödter, 1988).

De leeftijd van het gewas is waarschijnlijk van belang, omdat bij een ouder Gerbera-gewas de hoeveelheid dood bladmateriaal groter is en er dus meer materiaal aanwezig is voor de schimmel *B. cinerea* om sporen te vormen. De grootte van het gewas had geen of nauwelijks effect op de aantallen lesies, omdat het gewas de gehele meetperiode ongeveer gelijk van grootte was. De positieve relatie tussen de leeftijd van het gewas en de aantallen lesies is in figuur 1 niet duidelijk te zien. Dit komt door het feit dat deze positieve relatie aanwezig is samen met de andere twee verklarende factoren.

De variabelen temperatuur (T), windsnelheid (W), 'vapore pressure deficit' (VPD), bestrijding (B) en de tijdsduur dat een Gerbera-bloem sporen kan opvangen (TS) zijn niet in het model aanwezig. Dit kan worden verklaard uit het feit dat de temperatuur en de tijdsduur sterk zijn gerelateerd aan de instraling en dat de VPD sterk is gerelateerd aan de relatieve luchtvochtigheid. De variabelen instraling en relatieve luchtvochtigheid zijn wel in het model aanwezig. De windsnelheid is waarschijnlijk niet aan een andere variabele gerelateerd en zou dus niet van belang kunnen zijn bij

de vorming van de aantallen lesies. Waarschijnlijk is de windsnelheid te laag om invloed te kunnen hebben op de aantallen sporen die zich in de kaslucht bevinden. De bestrijding van insecten heeft in vivo waarschijnlijk weinig of geen invloed op *B. cinerea*. In in vitro-experimenten is aangetoond dat bepaalde insecticiden een remmende invloed kunnen hebben op *B. cinerea*.

De validatie van het verklarende model is uitgevoerd met de data verkregen uit het experiment in de kas van 350 m², op de proeftuin Vleuten (Kerssies et al., 1990). De codes gebruikt voor het verkrijgen van een verklarend model zijn ook gebruikt voor de validatie van dit model.

Er bleek dat dezelfde verklarende variabelen de aantallen lesies in een Gerbera-gewas in de kas van 350 m² kunnen verklaren als in de kas van 100 m². Dus de variabelen R6,8, S1,3 en t kunnen, ook voor de kas van 350 m², het beste de aantallen lesies verklaren, met in dit geval een adjusted R² van 76%. De t-waarden zijn ook in dit geval allemaal groter dan 2. Het enige verschil is het feit dat in de kas van 350 m² de gemiddelde relatieve luchtvochtigheid per etmaal is gebruikt in plaats van het aantal uren per etmaal dat de relatieve luchtvochtigheid in het gewas hoger dan 90% was.

Het uiteindelijke verklarende model is weergegeven in tabel 2, als uitdraai van het betreffende GENSTAT-programma.

In figuur 2 zijn de gemeten aantallen lesies en de gefitte waarden verkregen met behulp van het model uitgezet tegen de tijd (=leeftijd van het gewas). Hieruit blijkt ook dat het uiteindelijke model goed de aantallen lesies in de kas van 350 m² kan verklaren.

Omdat het uiteindelijke verklarend model voor de aantallen lesies op Gerbera-bloemen in beide (zeer verschillende) kassen gelijk is, mag worden aangenomen dat dit model redelijk voldoet en mogelijk kan worden gebruikt als een soort voorspelmodel voor de ontwikkeling van *B. cinerea* in een Gerbera-gewas.

Samenvattend kunnen een aantal globale conclusies worden getrokken:

- De relatieve luchtvochtigheid in het gewas moet niet te hoog oplopen gedurende een langere tijd en het liefste onder de 90% worden gehouden. Als de relatieve luchtvochtigheid toch boven de 90% komt, mag dit niet langer dan ongeveer vier uur zijn. Dit kan worden bereikt door het gewas wat meer open te laten, het drainwater goed weg te laten lopen, de rijen planten op een stelling te plaatsen en dode bladeren te verwijderen.
- Bij een gemiddelde etmaal-stralingsom hogere dan 1500 J/cm² neemt de kans op lesies sterk af. Dit kan worden veroorzaakt doordat de tijdsduur dat de Gerbera-bloemen openstaan in de kas kleiner wordt, waardoor de Gerbera-bloemen minder sporen van *B. cinerea* kunnen opvangen (Corts, 1990). Door de hoge stralingsintensiteit kunnen de sporen van *B. cinerea* ook sneller doodgaan. En dode sporen kunnen de bloemen niet meer infecteren. Verder zijn, door de hogere stralingsintensiteit, de Gerbera-bloemen waarschijnlijk sterker (sterker bloemweefsel), waardoor de sporen van *B. cinerea* meer moeite hebben om de bloemen binnen te dringen. Vooral in de maanden april, mei, juni, juli en augustus is de kans op veel lesies op de Gerbera-bloemen daardoor sterk kleiner.
- Bij een jong gewas (jonger dan 100 dagen) is de kans op veel lesies erg klein. Naarmate het gewas ouder wordt, neemt de kans op veel lesies toe.

Het is noodzakelijk dat de factoren die in het model zijn betrokken, relatieve luchtvochtigheid, straling en leeftijd van het gewas, nader worden onderzocht.

Een aantal vragen die daarbij beantwoord moeten worden:

- hebben deze factoren daadwerkelijk een effect op de aantallen lesies op Gerbera-bloemen in de naoogst-fase;
- waarom is het effect 'uitgesteld';
- is dit een effect op de *B. cinerea*-sporen, op de Gerbera-bloemen of op beide;
- zijn deze effecten te scheiden en te verklaren.

Hiervoor moeten experimenten worden uitgevoerd in klimaatkasten en in kleine kassen onder gecontroleerde omstandigheden.

LITERATUUR

Corts, K.A. 1990.

Epidemiologie van *Botrytis cinerea* in een Gerbera gewas.
Stageverslag, 56 pag.

Friesland, H. & H. Schrödter, 1988. In: Kranz, J. & J. Rotem (eds),
Experimental techniques in plant disease epidemiology. Springer-Verlag,
Berlin, p. 115-134.

Kerssies, A., M.C. Dil & J. Tolsma, 1990.

Epidemiologie van *Botrytis cinerea* in Gerbera, onder glas.
Rapport 95, Proefstation voor de Bloemisterij in Nederland, 61 pag.

Kranz, J. & J. Rotem, 1988. Experimental techniques in plant disease
epidemiology. Springer-Verlag, Berlin, 299 pag.

Marois, J.J., J.C. Redmond & J.D. MacDonald, 1988.

Quantification of the impact of environment on the susceptibility of
Rosa hybrida flowers to *Botrytis cinerea*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 113,
842-845.

Tabel 1. Verklarend model van de aantallen lesies op Gerbera-lintbloemen (kas van 100 m²), als uitdraai van het betreffende GENSTAT-programma.

```

CALC LNLES=LOG(LESIES) "Berekenen van de natuurlijke logaritmne van de
                        aantallen lesies"

MODEL LNLES
TERMS R6,8, S1,3, t
FIT R6,8, S1,3, t
  
```

***** REGRESSION ANALYSIS *****

Response variate: LNLES
 Fitted terms : Constant, R6,8, S1,3, t

***** Summary of analysis *****

	d.f.	s.s.	m.s.
Regression	3	51.02	17.0053
Residual	31	12.75	0.4114
Total	34	63.77	1.8755
Change	-3	-51.02	17.0053

Percentage variance accounted for: 78.1

***** Estimates of regression coefficients *****

	Estimate	s.e.	t
Constant	2.754	0.444	6.20
R6,8	0.1400	0.0243	5.76
S1,3	-0.001143	0.000212	-5.39
t	0.00378	0.00119	3.17

Tabel 2. Verklarend model van de aantallen lesies op Gerbera-lintbloemen (kas van 350 m²), als uitdraai van het betreffende GENSTAT-programma.

CALC LNLES=LOG(LESIES) "Berekenen van de natuurlijke logaritmeh van de aantallen lesies"

MODEL LNLES
 TERMS R6,8, S1,3, t
 FIT R6,8, S1,3, t

 ***** REGRESSION ANALYSIS *****

Response variate: LNLES
 Fitted terms : Constant, R6,8, S1,3, t

***** Summary of analysis *****

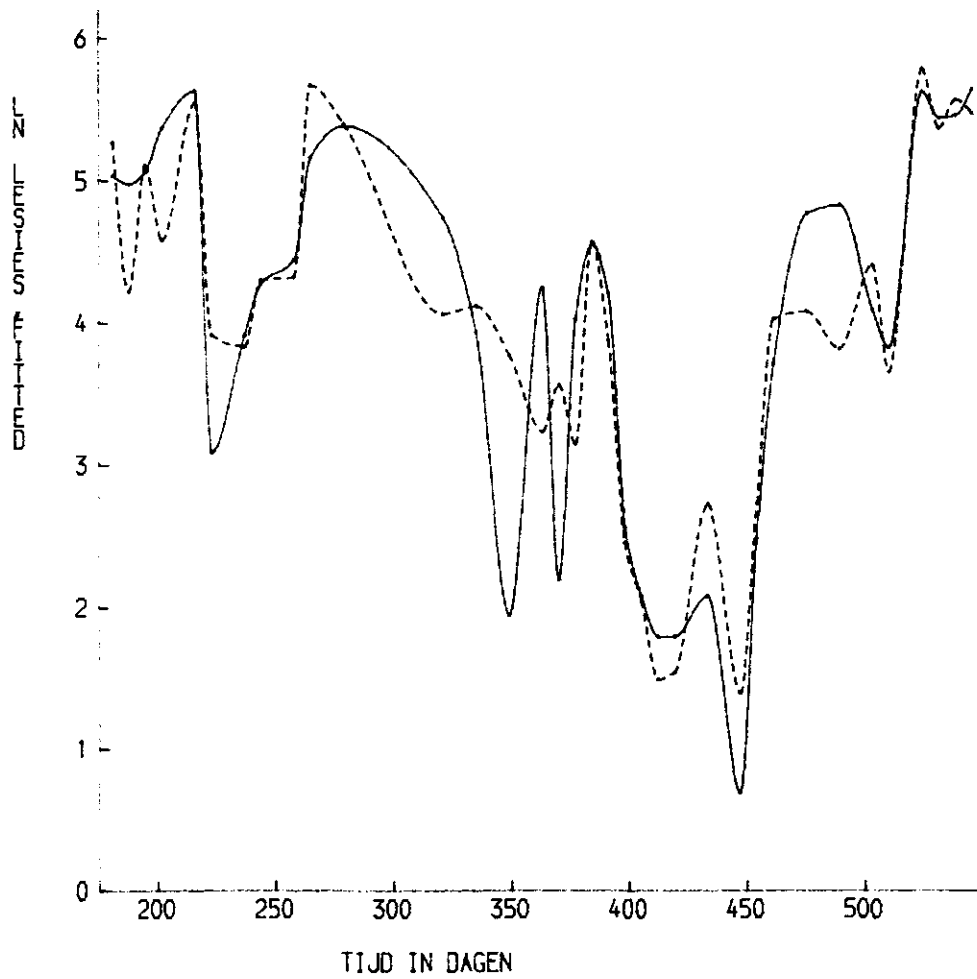
	d.f.	s.s.	m.s.
Regression	3	63.94	21.3145
Residual	33	17.72	0.5368
Total	36	81.66	2.2683
Change	-3	-63.94	21.3145

Percentage variance accounted for: 76.3

***** Estimates of regression coefficients *****

	Estimate	s.e.	t
Constant	-5.70	1.26	-4.52
R6,8	0.1299	0.0161	7.63
S1,3	-0.000666	0.000218	-3.05
t	0.00526	0.00115	4.58

Figuur 1. Waargenomen (—) en gefitte (----) aantallen lesies op Gerbera-lintbloemen (kas van 100 m²) uitgezet tegen de tijd.



Figuur 2. Waargenomen (—) en gefitte (----) aantallen lesies op Gerbera-lintbloemen (kas van 350 m²) uitgezet tegen de tijd.

