



# Green Challenges

De ziekte- en plaagdichte kas

Ellen Beerling, Esteban Baeza, Chantal Bloemhard, Renata van Holstein-Saj,  
Gerben Messelink, Kirsten Leiss, Khanh Pham en Caroline van der Salm

Rapport WPR-940

## Referaat

Preventie is een belangrijke pijler in het beheersen van ziekten en plagen in de kas. Dit rapport geeft een overzicht van de verschillende invalsroutes, het belang van deze routes en methoden en mogelijkheden om introductie van ziekten en plagen in de kas te voorkomen. De (semi-) gesloten kas en een clean corridor om te voorkomen dat ziekten en plagen via materiaal en mensen worden geïntroduceerd zou opties kunnen bieden om risico's te verkleinen. Enquetes en workshops met telers gaven aan dat zij vraagtekens hadden bij het belang van invlieg van ziekten en plagen via dakramen, maar dat zij wel perspectief zagen in een clean corridor. In het onderzoek is daarom specifiek aandacht besteed aan deze aspecten. Uit een beperkte monitoring van de invlieg van insecten via luchtramen, kwam geen sterke relatie naar voren tussen de hoeveelheid insecten buiten en in de kas. Er is een ontwerp gemaakt voor een clean corridor met detectie- en behandelingsopties. Er is specifiek gekeken naar de mogelijkheid om insecten te verwijderen met een luchtdouche, en naar een detectiemethode voor meeldauwsporen. De luchtdouche lijkt om dit moment geen effectieve en veilige oplossing voor de tuinbouw te bieden. De (meeldauw) sporendruk blijkt goed te kwantificeren te zijn en lijkt perspectiefvol. Dit zijn slechts voorbeelden van een eliminatie- en een detectietool die deel kunnen uitmaken van een clean corridor; het verdient de aanbeveling om diverse andere technieken voor detectie en behandeling/eliminatie nader te onderzoeken.

## Abstract

Prevention is an important pillar in the control of diseases and pests in the greenhouse. This report gives an overview of the different routes of entry for pests and diseases, the importance of these routes, and methods and possibilities for prevention. The (semi-)closed greenhouse and a clean corridor for material and people could offer options to reduce risks of entry. Surveys and workshops with growers indicated that they questioned the importance of diseases and pests entering the greenhouse through ventilation windows, but that they saw perspective in a clean corridor. Therefore, the study paid specific attention to these topics. The importance of entry of winged insects by the ventilation openings was monitored but this limited trial did not reveal a strong relationship between the amount of insects outside and inside the greenhouse. A design has been made for a clean corridor, with detection and treatment options. In addition, the possibility of removing insects with an air shower and a detection method for mildew spores were specifically examined. The air shower does not seem to offer an effective and safe solution for horticulture at this time. The mildew spore pressure could be quantified with the selected approach. These are just two examples of an elimination and a detection tool that can be part of a clean corridor; it is recommended to investigate various other techniques as well.

## Rapportgegevens

Rapport WPR-940

DOI nummer: 10.18174/522045

Projectnummer: 3742201100

Thema: Gewasgezondheid

PT nummer: KV1406 082- PT 15137

Dit project/onderzoek is mede tot stand gekomen door de bijdrage van Productschap Tuinbouw, en Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit.

## Disclaimer

© 2020 Wageningen, Stichting Wageningen Research, Wageningen Plant Research, Business unit Glastuinbouw, Postbus 20, 2665 MV Bleiswijk T 0317 48 56 06, [www.wur.nl/plant-research](http://www.wur.nl/plant-research).

Kamer van Koophandel nr.: 09098104

BTW nr.: NL 8113.83.696.B07

Stichting Wageningen Research. Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, 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 Stichting Wageningen Research.

Stichting Wageningen Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

## Adresgegevens

### Wageningen University & Research, BU Glastuinbouw

Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk

Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk

T +31 (0)317 48 56 06

# Inhoud

	<b>Samenvatting</b>	<b>5</b>
<b>1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Invalsroutes</b>	<b>9</b>
	2.1 Belang van de invalsroutes in relatie tot ziekten en plagen	10
	2.2 Risico per invalsroute	10
	2.3 Conclusie	12
<b>3</b>	<b>Ontwerp ziekte- en plaagdichte kas</b>	<b>15</b>
	3.1 Ontwerpeisen en randvoorwaarden	15
	3.2 Voorkomen introductie plagen en ziekteverwekkers via ventilatieopeningen	15
	3.3 Draagvlak en haalbaarheid	16
	3.3.1 Enquête ervaringen gesloten, semi-gesloten en overdruk kas	17
	3.3.2 Workshop met telers	19
<b>4</b>	<b>Belang invlieg via luchtramen</b>	<b>21</b>
	4.1 Aanpak 2018	21
	4.2 Resultaten 2018	21
	4.3 Aanpak 2019	24
	4.4 Resultaat 2019	24
	4.5 Conclusie	26
<b>5</b>	<b>Voorkomen introductie plagen en ziekteverwekkers via uitgangs- en teeltmaterialen</b>	<b>27</b>
	5.1 Ontwerp Clean Corridor	27
	5.1.1 Detectie mogelijkheden	27
	5.1.1.1 Vision technieken	27
	5.1.1.2 Draagbare sensoren	29
	5.1.1.3 Monitoring van lucht monsters op schimmelsporen	30
	5.1.1.4 Monitoring van insecten	30
	5.1.2 Behandelingsmethoden	30
	5.1.2.1 Desinfectie methoden	30
	5.1.2.2 Plasma	32
	5.1.2.3 Elektrische velden/pulsen	32
	5.1.2.4 UV licht	33
	5.1.2.5 Verwijderingsmethoden	33
	5.1.2.6 Vallen	33
	5.1.2.7 Zuigsystemen	33
	5.1.2.8 Laser afrastering	34
	5.1.3 Ontwerp en conclusies clean corridor	34
	5.2 Luchtdouche	35
	5.2.1 Bio-Services	35
	5.2.2 Brecon-Cleanrooms	36
	5.2.3 Conclusie	36

5.3	Diagnostiek van nog niet zichtbare pathogenen	36
5.3.1	Aanpak	36
5.3.2	Resultaten	37
	5.3.2.1 Aantal sporen in de corridor met geopend en gesloten kasdeur	38
	5.3.2.2 Aantal sporen op verschillende kas hoogtes	39
5.3.3	Conclusie	39
<b>6</b>	<b>Algemene Discussie en conclusies</b>	<b>41</b>
	<b>Literatuur</b>	<b>43</b>
	<b>Bijlage 1 Measures to prevent entrance of pests and diseases in the greenhouse</b>	<b>47</b>
	<b>Bijlage 2 Protocollen behorend bij het kwantificeren van meeldauwsporen in luchtmonsters</b>	<b>55</b>

# Samenvatting

De PPS Green Challenges richt zich op het ontwikkelen van nieuwe concepten voor geïntegreerde gewasbescherming van ziekten en plagen. Het doel is om systeemspongen te realiseren om ziekten en plagen te voorkomen dan wel te beheersen, met 75% minder gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen. Dit deelproject richt zich op het voorkomen dat ziekten en plagen überhaupt de kas in komen. Het doel is de mogelijkheden te onderzoeken van radicaal andere aanpak om ziekten en plagen uit de kas te weren.

Om goed te kunnen bepalen op welke onderdelen van de preventie we ons het beste kunnen richten en wat de randvoorwaarden zijn, is eerst een analyse gemaakt van de invalsroutes, en het belang van deze invalsroutes voor ziekten en plagen.

## **Ziekten en plagen kunnen in de kas komen via de volgende routes:**

1. Route via ventilatieopeningen: een belangrijke invalsroute waarvoor nog geen afdoende oplossingen zijn maar waar wel kansen liggen, zeker in combinatie met de (semi-)gesloten kas. Focus moet hierbij liggen op:
  - a. Afsluiten route via ontvochtigingsinstallaties bij (semi-)gesloten kas: meer duidelijkheid over het belang van deze route voor de verschillende ziekten en plagen, oplossingen om plagen buiten te houden en buitenlucht te ontsmetten.
  - b. Alternatief voor het huidige gaas in de luchtramen: effectiever (ook kleinere plagen en bacterie- en schimmelsporen), en oplossingen voor vervuiling en licht-verlies.
2. Route via mensen (incl gereedschap), dieren, plant- en teeltmaterialen: in theorie wordt een belangrijk deel van deze invalsroutes afgedekt met hygiëneprotocolen en voorschriften voor fytosanitaire maatregelen in de keten. In de praktijk blijkt dat het hier toch regelmatig mis gaat. Voor deze invalspoort moeten extra zekerheden ingebouwd worden om zo fouten op te kunnen vangen. Omdat bij het hygiëneprotocol ook het deurbeleid een rol speelt, kan ook de route via (open) deuren hierbij worden meegenomen.
3. Route via kieren en gaten: niet verwaarloosbaar, maar ook niet de belangrijkste route. Goed afkitten is een oplossing, de vraag is of er andere goedkopere oplossingen zijn. Overdruk zou een mogelijk alternatief zijn, maar dat heeft als belangrijk nadeel dat niet de gewenste CO<sub>2</sub> concentraties meer gehaald kunnen worden.
4. Route via gietwater: belangrijke route die echter met een goede ontsmetter wordt afgedekt.
5. Route via grond: zeer klein risico, eventueel uitsluiten door niet meer in de grond te telen.

Op basis hiervan is een ontwerp voor een ziekte- en plaagdichte kas gemaakt en bepaald aan welke (overige) criteria deze moet voldoen. Dit beeld is gedeeld met telers middels en enquête en workshops. Voor de invalsroute 'via luchtramen en ventilatieopeningen' werd vanuit het onderzoek een aanpak via de (semi-)gesloten kas voorgesteld. De aanwezigen vonden echter dat het belang van de invalsroute via dakramen onvoldoende onderbouwd is. Het vervolg van het onderzoek is daarom gericht op het meten/monitoren van de invlieg van insecten van berm naar kas. Uit de enquêtes en workshops bleek verder dat telers de invalsroute 'via uitgangs- en teeltmaterialen' als een van de belangrijkste (zo niet de belangrijkste) route zien. Mede daarom is de verwachting dat de meerwaarde van een ziekte- en plaagdichte kas maar heel beperkt is. Kansrijker is in dat opzicht een clean corridor die juist de invalsroute 'via uitgangs- en teeltmaterialen' aanpakt. Deze discussie resulteerde in een verzoek tot nadere uitwerking van: (1) belang van invlieg via dakramen, en (2) noodzaak en mogelijkheden om de invoer van ziekten en plagen te beperken via planten, substraat en mensen dmv. het ontwerp van een clean corridor, met de nadruk op diagnostiek van nog niet zichtbare pathogene infecties, en verwijderen van insecten.

### **Belang van invlieg via luchtramen**

De mate van invlieg is bestudeerd aan de hand van metingen in 2018 en 2019 op een aantal transecten van berm naar kas. Uit deze metingen kwam geen duidelijke relatie naar voren tussen het aantal en soorten insecten buiten de kas en in de kas en er kunnen dan ook geen harde conclusies getrokken worden. Over het algemeen waren de aantallen insecten buiten in de berm groot en namen af in de richting van de luchtramen. In de kas waren meestal ook het aantal insecten vlak boven het gewas hoog en laag bij de luchtramen. Trips soorten die buiten de kas aanwezig zijn (bv. *Frankliniella intonsa*), werden niet perse ook binnen aangetroffen worden. In beide jaren op alle locaties bleek *Thrips tabaci* het meest aanwezig en deze soort werd zowel in als buiten de kas aangetroffen, maar binnen in aanzienlijk lagere aantallen. Gezien de waarnemingen op de vangplaten bij de luchtramen is het aannemelijk dat trips van buiten naar binnen kan gaan (en vice versa), maar dat de trips in de kas geen directe afspiegeling zijn van de aantallen en soorten buiten.

### **Noodzaak en mogelijkheden bij invalroute via planten, substraat, mensen**

Om de invoer van ziekten en plagen via planten, substraat en mens te voorkomen zou gebruik gemaakt kunnen worden van combinatie van detectie- en behandelingselementen. Een zogenaamde clean corridor vormt een veelbelovende maatregel om het binnendringen van insecten en ziekteverwekkers in kassen te voorkomen. Hierbij wordt het plantmateriaal via een transportband langs de verschillende detectie- en behandellementen geleid. Zichtbaar beschadigd of geïnfecteerd materiaal kan worden geïdentificeerd door middel van vision technieken, en vervolgens worden verwijderd. Asymptomatische (niet zichtbare) ziekten moeten worden geïdentificeerd door biosensoren of draagbare PCR. Aanwezige insecten kunnen door zuigvallen worden gevangen en gedood. Pathogenen op planten kunnen worden gedesinfecteerd door een combinatie van technieken die elkaar aanvullen, zoals plasma en UV-licht. Insecteneieren op en in de plant en plagen en ziekten in de bodem vormen de grootste uitdaging. Mogelijk is ioniserende straling hiervoor een oplossing. Het negatieve effect ervan op het bodem(micro)leven kan worden gecompenseerd door na behandeling tijdens de daaropvolgende bodembewerking een mengsel van bekende nuttige bodem(micro)organismen toe te voegen. Clean corridors kunnen worden geplaatst bij producenten van plantmateriaal waar het materiaal getest wordt voordat het wordt getransporteerd naar telers of in de kassen van de telers zelf. Daarnaast kunnen de deuren en raamopeningen of de hele omtrek van een kas worden beschermd door vallen en een afrastering met behulp van lasers. De uitdaging zal zijn om een corridor te creëren die effectief is tegen een reeks verschillende ziekten en plagen tegelijkertijd. Het is daarvoor nodig slimme keuzes van de verschillende onderdelen te maken; daarnaast zullen de elementen zodanig moeten worden doorontwikkeld dat ze kunnen worden ingezet voor verschillende plaag / ziekte en plantcombinaties. Of deze technieken daadwerkelijk effectief en praktisch zijn voor glastuinbouw omstandigheden en glastuinbouw ziekte/plaag-plant combinaties, zal proefondervindelijk vastgesteld moeten worden.

Voor het verwijderen van insecten is een verkenning uitgevoerd naar mogelijkheden met een luchtdouche. De luchtdouche zou een goede rol kunnen spelen bij het voorkomen dat plagen of ziekten via de mens of via plantmateriaal de kas in komen. Echter, uit gesprekken met toeleveranciers en deskundigen op het gebied van stof- en luchtdouches bleek deze techniek op dit moment geen effectieve en veilige oplossing te zijn voor een glastuinbouwomgeving.

Tenslotte is gekeken naar het vroegtijdig kwantificeren (en niet alleen detecteren) van de hoeveelheid sporen van schimmelziekten in het gewas. Het risico van besmetting wordt bij schimmels vastgesteld door de aantal sporen die de kas binnenkomen. Omdat meeldauw een obligaot biotrofe schimmel is kunnen gevangen sporen niet op groei media gekweekt en visueel beoordeeld worden. Uitkomst bieden moleculaire qPCR toetsen. Bestaande protocollen zijn hiervoor aangepast en gevalideerd. Het blijkt dat deze methode inderdaad werkt en een belangrijk hulpmiddel is om sporendruk en sporenverspreiding te meten. De ervaring is echter nog te beperkt om hier bredere conclusies aan te kunnen verbinden. De verwachting is dat hiermee preventieve behandelingen en/of de introductie van besmet plantmateriaal in de kas kan worden voorkomen. Dit is slechts één voorbeeld van een detectietool die deel kan uitmaken van een clean corridor; het verdient de aanbeveling om diverse andere technieken voor detectie nader te onderzoeken.

# 1 Inleiding

De PPS Green Challenges richt zich op het ontwikkelen van nieuwe concepten voor geïntegreerde gewasbescherming van ziekten en plagen. Het doel is om systeemspongen te realiseren om ziekten en plagen te voorkomen dan wel te beheersen, met 75% minder gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen. Een belangrijk deel van de gewasbescherming is gericht op het bestrijden en beheersen van ongewenste organismen, om te voorkomen dat deze zich tot plaag of ziekte kunnen ontwikkelen. Dit deelproject richt zich echter op het voorkomen dat ziekten en plagen überhaupt de kas in komen. Het doel is de mogelijkheden te onderzoeken van radicaal andere aanpak om ziekten en plagen uit de kas te weren.

Om goed te kunnen bepalen op welke onderdelen van de preventie we ons het beste kunnen richten en wat de randvoorwaarden zijn, is eerst een analyse gemaakt van de invalsroutes, en het belang van deze invalsroutes voor ziekten en plagen (Hoofdstuk 2). Op basis hiervan is een ontwerp voor een ziekte- en plaagdichte kas gemaakt en bepaald aan welke (overige) criteria deze moet voldoen. Dit beeld is gedeeld met telers middels een enquête en workshops (Hoofdstuk 3). Op basis van deze terugkoppeling is besloten om twee richtingen verder te verkennen:

1. Belang van invlieg via luchtramen ( Hoofdstuk 4),
2. Noodzaak en mogelijkheden voor de invalsroute via planten, substraat, mensen (Hoofdstuk 5).





## 2 Invalsroutes

Voor een effectieve preventie is het belangrijk de mogelijke invalsroutes in beeld te hebben. In hoeverre deze routes belangrijk zijn voor de verschillende ziekten en plagen hangt af van de wijze waarop deze zich verspreiden (Tabel 1). Er zijn vijf verschillende verspreidingswijzen te onderscheiden: via lucht, via water, via grond, meeliften, en via vectoren.

### a. Via de lucht

In eerste instantie wordt bij verspreiding via de lucht vaak gedacht aan gevleugelde insecten zoals motten of wantsen die actief naar binnen vliegen, maar in de meeste gevallen is het een grotendeels passief proces waarbij insecten met luchtstromen mee de kas in komen. Op deze wijze kunnen ook ongevleugelde plagen (spint bv), of plagen die niet perse goede vliegers zijn (trips, bladluis), grote afstanden afleggen en in de kas terecht komen. Met luchtstromen kunnen ook ziekteverwekkers zoals bacteriën en schimmelsporen de kas binnenkomen.

### b. Via water

Veel schimmel(sporen), bacteriën en virussen kunnen in water overleven en daarmee kan het gietwater een bron van infectie zijn. Voorbeelden zijn Fusarium, komkommerbontvirus, Clavibacter. Grootste risico ontstaat als oppervlaktewater wordt gebruikt, omdat daar ziekteverwekkers van naburige bedrijven in kunnen zitten. Kleinere risico is het regenwater, omdat sommige ziekten ook door de lucht/stofdeeltjes kunnen worden verspreid en via regen in het bassin komen (atmosferische depositie), of via ontlasting van vogels. Daarnaast kunnen insecten en mijten die toevallig in het bassin terecht zijn gekomen (passief) via het water de kas worden binnen gevoerd. Klein (verwaarloosbaar?) is de kans op besmetting van de teelt door uitwisseling met grondwater en via kwel en inzijging bij grondteelten.

### c. Via de grond

Alle insecten- en mijtensoorten hebben minimaal één stadium dat poten heeft en dus kan lopen. Plagen kunnen zo via de kleinste openingen de kas binnen kruipen, zoals door kieren in het glas, via de kasvoet of gewoon onder een deur door.

### d. Meeliften

Ziekteverwekkers en plagen kunnen onbedoeld de kas binnen komen doordat ze meekomen met planten, teeltmaterialen, gereedschap, mensen of dieren.

- Via uitgangsmateriaal en teeltmaterialen: ziekten en plagen kunnen in en op het uitgangsmateriaal zelf aanwezig zijn, maar ook in het eventueel aanwezige substraat en transport- of verpakkingsmateriaal zoals fust (met evt. plantenresten, grond, water). Ook zaden kunnen ziekten bevatten (inwendig en uitwendig). Met potgrond en compost kunnen schimmels, bacteriën, aaltjes, virussen en insecten, mijten, duizendpoten en dergelijke meekomen.
- Via mensen en gereedschap: zowel eigen personeel als bezoekers vormen een risico als ze ook op andere bedrijven komen of anderszins met besmet materiaal in aanraking kunnen komen (tomaten op brood). Zowel ziekten als plagen kunnen meegenomen worden met kleding, schoenen, haren, tas, telefoon. Specifieke aandacht verdienen monteurs, loonwerkers en adviseurs en hun gereedschap (klein en groot).
- Via dieren: Ook dieren, zoals bijen, vogels, muizen die zich in en uit de kas bewegen kunnen passief plantenziekten en plagen meenemen, bijvoorbeeld doordat ze elders besmet materiaal gegeten hebben en de besmette ontlasting in de kas of in het waterbassin achterlaten, of doordat aantasters aan vacht/veren/ etc. zijn gehecht en die elders weer loslaten.

### e. Via vectoren

Veel belangrijke virussen worden overgedragen via vectoren. De relatie tussen virus en vector is doorgaans zeer specifiek: een virus wordt meestal slechts door een soort vector overgedragen. Dit zijn niet alleen bladluizen, trips, wittevlieg, en wantsen, maar kunnen ook aaltjes en schimmels zijn. Voor de aanpak van deze manier van verspreiding moet de vector zelf aangepakt worden (bestrijden/voorkomen).

Uit deze 5 verspreidingswijzen volgen de invalsroutes bij een kas voor ziekten en plagen:

- i. Via open luchtramen en andere ventilatieopeningen.
- ii. (Open) deuren.
- iii. Kieren en gaten in het glas en de opstanden.
- iv. Mee met plantmaterialen, teeltmaterialen.
- v. Mee met mensen (incl. gereedschap) of dieren.
- vi. Gietwater.
- vii. Grond (via grondwater).

Tabel 1

Overzicht van mogelijke verspreidingswijzen en invalsroutes voor ziekten en plagen.

Invalsroute:	i ventilatie openingen	ii (open) deuren	iii kieren en gaten in glas + kasvoet	iv mee met plant/ teeltmaterialen	v mee met mensen, dieren of gereedschap	vi gietwater	vii grond (-water)
Verspreidingswijze:							
a) via de lucht	X	X	X				
b) via water						X	X
c) via de grond		X	X				
d) meeliften	X	X	X	X	X	X	X
e) via vector	X	X	X	X	X	X	X

## 2.1 Belang van de invalsroutes in relatie tot ziekten en plagen

Om het belang van deze invalsroutes te kunnen inschatten moet beantwoord worden voor welke plagen en ziekten preventie essentieel is, en hoe belangrijk de invalsroutes voor deze plagen en ziekten zijn.

Preventie is essentieel voor:

- Ziekteverwekkers waarbij geen goede beheersing of bestrijding mogelijk is: virussen, viroïden en bacteriën.
- Quarantaine organismen: bacteriën (o.a. *Ralstonia*, *Clavibacter*), virussen, paprikasnuitkever (*Anthonomus eugenii*), Afrikaanse fruitmot (*Thaumatotibia leucotreta*), *Thrips palmi*.
- Plagen waarvan de eerste generatie al direct voor grote schade zorgt: b.v. wantsen, en plagen die een virusvector zijn.

Daarnaast is het altijd zinvol om de plaag- en ziektedruk van buitenaf zo klein mogelijk te houden, of in ieder geval er voor te zorgen dat er niet onverwacht grote hoeveelheden binnen komen. Het is namelijk lastig om daar adequaat op in te spelen als (breedwerkende) correctiemiddelen niet beschikbaar of niet wenselijk zijn. 100% tegenhouden is bij deze groep niet noodzakelijk.

## 2.2 Risico per invalsroute

Er is geen kwantitatieve informatie beschikbaar over het risico dat een bepaalde groep ziekteverwekkers of plaag via de genoemde invalsroutes daadwerkelijk binnen komt. In Tabel 2 is een kwalitatieve (expert) inschatting gegeven van deze risico's.

Tabel 2

Risico van indringen van bepaalde plagen en schimmels via invalsroutes (X = gering; -XXX = zeer groot; . = niet relevant).

Invalsroute:	i ventilatie openingen	ii (open) deuren	iii kieren en gaten in glas + kasvoet	iv mee met plant/ teeltmaterialen	v mee met mensen + gereedschap of dieren	vi gietwater	vii grond (-water)
Virussen	(via vector)	(via vector)	(via vector)	XXX	XXX	XX	(X)
Bacteriën	X	.	.	XXX	XXX	XX	(X)
Schimmels	X	.	.	XXX	XXX	XX	(X)
Aaltjes	.	.	.	XXX	XX	XX	(X)
Bladluizen	XXX	XX	.	XXX	X	.	.
Trips	XXX	XX	X	XXX	XX	.	.
Wittevlieg	XXX	XX	X	XXX	X	.	.
Spint	XXX	XX	X	XXX	XX	.	.
Weekhuid/ roestmijten	X	X	X	XXX	XXX	.	.
Motten/rupsen	XXX	XX	X	XXX	X	.	.
Wantsen , cicaden	XXX	XX	X	XXX	X	.	.
Wol- dop- schildluis	X	XX	X	XXX	XX	.	.

i. *Via open luchtramen en andere ventilatieopeningen*

Dit is een belangrijke invalspoort voor met name vliegende insecten. Ook bacterie- en schimmelsporen kunnen met luchtstromen mee de kas in worden gevoerd. Deze route is voor virussen vooral belangrijk als ze door (vliegende) vectoren worden verspreid. Risico is met name groot in regio's met veel glastuinbouw. Als in naburige kassen het gewas wordt geoogst of vervangen kunnen grote hoeveelheden ziekteverwekkers of plagen in de lucht terecht komen. Ook onkruid om de kas, nabijgelegen bossen of andere natuur kan een bron van besmetting zijn (bv wantsen, trips).

Met gaas in de luchtramen is een deel van de plagen tegen te houden, afhankelijk van maaswijdte. Werkt vooral tegen de grotere plagen (motten, wantsen), kleinere plagen worden maar ten dele tegen gehouden, mede door het drie-dimensionele ontwerp van het gaas. Nadelen van gaas zijn onder andere dat het ventilatie vermogen kleiner wordt (grotere ventilatieopening nodig), er lichtverlies optreedt en vraagt om regelmatig onderhoud (schoonmaken, repareren).

Een toenemend aantal NL kassen zijn semi-gesloten (vanwege energiedoelstellingen), waarbij er aanzienlijk minder natuurlijke ventilatie door het openen van ramen plaatsvindt. Kaslucht wordt gecontroleerd ontvochtigd met buitenlucht, maar ook met deze buitenlucht kunnen plagen of ziekteverwekkers de kas binnenkomen. Jakobsen *et al.* (2006) laten zien dat de invlieg van trips in kassen met energiebesparende maatregelen inderdaad minder is dan bij het traditionele ontvochtigen (open ramen zonder gaas). Ze hebben echter niet gekeken om welke trips het ging en of dat ook schadelijke soorten waren.

ii. *(open) deuren*

Deuren gaan regelmatig open en bieden daarmee een invalspoort voor alles wat met luchtstromen meegevoerd kan worden. Dit geldt in principe ook voor kruipende plagen (ook onder een dichte deur door), maar dat zal gezien de afstanden zeer beperkt zijn. De kasdeur geeft over het algemeen toegang tot de bedrijfshal en opent niet direct naar de buitenlucht. Daarmee is een (kleine) barrière ten opzichte van de buitenlucht opgeworpen, maar besmettingen kunnen ook hun oorsprong in de bedrijfshal hebben.

Een goede sluis en deuren met tochtstrippen kan dit risico verkleinen.

iii. *kieren en gaten in het glas en de opstanden*

Insecten en mijten zijn klein en beweeglijk, alles wat kan kruipen kan door kieren en gaten de kas binnen komen. Op vegetatie rondom de kas kunnen grote populaties wanten, bladluizen en tripsen aanwezig zijn dat daarmee een significante bron van infectie kan zijn.

Goed dichtkitten helpt hierbij, maar wordt doorgaans vanwege kosten niet gedaan. Kit is op den duur ook niet meer afdoende door o.a. temperatuurswisselingen en werking glas.

iv. *mee met plantmaterialen, teeltmaterialen*

Het risico van het binnenkomen van ziekten en plagen via plant- en teeltmateriaal wordt groot geacht. Daarom zijn er diverse afspraken en keurmerken die meer zekerheid moeten bieden. Uitgangsmateriaal moet in principe ziekte- en plaagvrij geleverd worden, maar dat gaat niet altijd goed. Indien potgrond en compost wordt geleverd onder het keurmerk van RHP moet het vrij zijn van plantpathogenen, maar 100% garantie dat er geen schadelijke organismen in voorkomen is er niet.

v. *mee met mensen (incl. gereedschap) of dieren*

Mensen en de gereedschappen die ze gebruiken kunnen een belangrijke infectiebron zijn, vooral als mensen en/of gereedschappen in meerdere kassen komen. Dit geldt ook voor gewenste (hond, kat) en ongewenste (muizen, ratten) huisdieren die aantasters van buiten naar binnen kunnen halen.

Het buiten de kas houden van ziekten en plagen door goede hygiëne is good practice, voor teeltbedrijven zijn er diverse hygiëneprotocollen beschikbaar. Desondanks gaat het niet altijd goed.

vi. *gietwater*

Ziekteverwekkers zijn regelmatig in regenwater bassins aangetoond. Daarnaast is er vooral een risico als slotwater als gietwater wordt gebruikt. Risico's zijn uit te sluiten met een effectieve, juist gedimensioneerde ontsmetter.

vii. *grond (via grondwater)*

Het risico dat bacteriën, virussen of schimmels via de grond met het grondwater mee de kas in komen is niet volledig uit te sluiten. Ziekteverwekkers worden in oppervlaktewateren in glastuinbouwgebieden aangetroffen, en kunnen in theorie via ondergrondse waterstromen (kwel, inzijing, capillaire werking) in de teeltlaag in de kas terechtkomen, maar deze route lijkt verwaarloosbaar.

Indien besmettingen in het drainagewater terecht komen dan kan dit voor hergebruik ontsmet worden om eventuele risico's verder in te perken.

## 2.3 Conclusie

Op basis van bovenstaande informatie kunnen de volgorde conclusies getrokken worden met betrekking tot de risico's:

1. Route via ventilatieopeningen (i): een belangrijke invalroute waarvoor nog geen afdoende oplossingen zijn maar waar wel kansen liggen, zeker in combinatie met de (semi-)gesloten kas. Focus moet hierbij liggen op:
  - a. Afsluiten route via ontvochtigingsinstallaties bij (semi-)gesloten kas: meer duidelijkheid over het belang van deze route voor de verschillende ziekten en plagen, oplossingen om plagen buiten te houden en buitenlucht te ontsmetten.
  - b. Alternatief voor het huidige gaas in de luchtramen: effectiever (ook kleinere plagen en bacterie- en schimmelsporen), en oplossingen voor vervuiling en licht-verlies.
2. Route via mensen (incl gereedschap), dieren, plant- en teeltmaterialen (iv, v): in theorie wordt een belangrijk deel van deze invalroutes afgedekt met hygiëneprotocollen en voorschriften voor fytosanitaire maatregelen in de keten. In de praktijk blijkt dat het hier toch regelmatig mis gaat. Voor deze invalspoort moeten extra zekerheden ingebouwd worden om zo fouten op te kunnen vangen. Omdat bij het hygiëneprotocol ook het deurbeleid een rol speelt, kan ook de route via (open) deuren (ii) hierbij worden meegenomen.

3. Route via kieren en gaten (iii): niet verwaarloosbaar, maar ook niet de belangrijkste route. Goed afkitten is een oplossing, de vraag is of er andere goedkopere oplossingen zijn. Overdruk zou een mogelijk alternatief zijn, maar dat heeft als belangrijk nadeel dat niet de gewenste CO<sub>2</sub> concentraties meer gehaald kunnen worden.
4. Route via gietwater (vi): belangrijke route die echter met een goede ontsmetter wordt afgedekt.
5. Route via grond (vii): zeer klein risico, eventueel uitsluiten door niet meer in de grond te telen.

In de volgende hoofdstukken wordt ingegaan op oplossingen voor de routes: via luchtramen en ventilatieopeningen (Hoofdstuk 3) en via uitgangsmaterialen (planten, substraat, e.d., Hoofdstuk 4).



# 3 Ontwerp ziekte- en plaagdichte kas

## 3.1 Ontwerpeisen en randvoorwaarden

Op basis van de analyse in het voorgaande hoofdstuk kunnen de contouren van een ziekte- en plaagdichte kas worden neergezet:

Ontwerpeisen:

1. Alle luchtstromen van buiten naar binnen, bv via ventilatieopeningen en deuren moeten worden gefilterd of behandeld zodat er geen plaagorganismen, vectoren, bacteriën en schimmels de kas in kunnen. De vraag is of het nodig/wenselijk is dat de binnenkomende luchtstroom 100% steriel is.
2. Alle plant- en teeltmaterialen mogen alleen de kas in als ze gecontroleerd zijn op ziekten en plagen en indien nodig (preventief) behandeld. Mensen, gereedschap, telefoons e.d. mogen alleen de kas in na controle en eventuele behandeling en via een sluis. De verschillende stadia (ongecontroleerd, behandeling, controle) is een richtingsverkeer en vindt in gescheiden compartimenten plaats.
3. Plagorganismen kunnen niet via kieren en gaten de kas in kruipen.
4. Er moet een goed gedimensioneerde en effectieve ontsmetter worden gebruikt voor het ontsmetten van zowel het recirculatiewater als het aanvullende gietwater uit het bassin.

Overige randvoorwaarden voor het herontwerp:

- Er moet ventilatie / ontvochtiging plaats kunnen vinden.
- De luchtvochtigheid en temperatuur moeten bestuurbaar en zo homogeen mogelijk zijn.
- Gewenste CO<sub>2</sub> niveaus moeten gehandhaafd kunnen worden.
- Geen negatieve gevolgen voor benodigde hoeveelheid licht.
- Robuust, en laag in onderhoud.
- Energiezuinig.
- Geen negatieve gevolgen voor arbeidsomstandigheden.
- De kas moet toegankelijk blijven voor gewaswerkzaamheden.

## 3.2 Voorkomen introductie plagen en ziekteverwekkers via ventilatieopeningen

Om het indringen van ziekte en plagen via ventilatieopeningen te voorkomen zijn de volgende technische oplossingen voorhanden (voor uitgebreide beschrijving zie Bijlage I).

### a. *De Gesloten Kas als basis*

De gesloten kas biedt een goede basis voor de ziekte- en plaagdichte kas, omdat er geen ramen meer open gaan. Wel wordt buitenlucht de kas ingebracht om kaslucht te ontvochtigen. In ontvochtigings-installaties (warmtewisselaars) is er een mogelijkheid om lucht te behandelen. Er is veel kennis en technologie beschikbaar voor de luchtbehandeling van gebouwen, ruwweg te verdelen in filtratie- of sterilisatietechnieken.

De volgende technologieën met bijbehorende kenmerken zijn te overwegen:

- Hoog efficiënte filters: HEPA.
  - Zeer effectief (99.97% efficiëntie) bij deeltjes tot 0.3 micron.
  - Lage luchtflow door filter.
  - Risico op lekkage door kleine beschadigingen en slechte installatie.
  - Kosten voor installatie, onderhoud en vervanging.
- Hoog efficiënte filters: elektrostatische filters.
  - Langzame luchtflow noodzakelijk en daardoor voor grote ruimten minder geschikt.
  - Hoog energieverbruik.
  - Ozon komt als bijproduct vrij.

- Actiefkool filters.
  - Filtert organisch materiaal tot op molecuulniveau.
  - Vooral geschikt voor verwijdering gassen.
  - Effectiviteit verwijdering ziekteverwekkers uit lucht onvoldoende bekend.
  - Moet regelmatig vervangen (geregenereerd) worden.
  - Kan een broedplaats voor micro-organismen zijn.
- Sterilisatie met UV.
  - UV is bekende ontsmettingstechniek in tuinbouw.
  - Eerste positieve ervaringen in VS met UV ontsmetting in warmtewisselaar.
  - Pulsed UV-techniek: zeer effectief, energie-efficiënt.
  - Pulsed UV-disintegratie.
- Sterilisatie met ozon.
  - Bekende ontsmettingstechniek in tuinbouw.
  - Ozon lastig uit luchtstroom te verwijderen, risico voor gewas (en mens).
- Foto-katalytische oxidatie (TiO<sub>2</sub> coatings).
  - Kan ook gebruikt worden om (HEPA)filters te coaten voor grotere effectiviteit.
  - Laag energieverbruik.
  - Lagere effectiviteit.

#### b. *De Semi-Gesloten Kas als basis*

Bij de semi-gesloten kas worden luchtramen nog wel gebruikt, zij het minder dan bij reguliere kassen. Vanwege economische redenen heeft de semi-gesloten kas momenteel voorkeur boven de volledig gesloten kas. Om die reden wordt in dit project ook naar de luchtramen gekeken. De maatregelen voor de luchtramen komen bij de semi-gesloten kas boven op de luchtbehandeling in de ontvochtigingsinstallatie (zie gesloten kas). Er zijn diverse semi-gesloten kassen in de praktijk.

De lucht die via natuurlijke ventilatie de kas in komt moet ten minste zodanig gefilterd worden dat plagen buiten worden gehouden. Momenteel gebruiken sommige bedrijven insectengaas dat echter een aantal belangrijke nadelen heeft en onvoldoende werkt. We richten ons daarom op het herontwerp van gaas.

Het gangbare insectengaas kent een aantal nadelen: 1) verlies van ventilatie capaciteit (kan bij nieuwbouw voor worden gecompenseerd), 2) lichtverlies (schaduwwerking), 3) vervuiling (regelmatig schoonmaken is noodzakelijk), en 4) het is niet afdoende voor kleine plagen en ziektekiemen.

Met de volgende kenmerken zou het gaas aanzienlijk kunnen verbeteren:

- Meer gaten die kleiner zijn (hierdoor maar beperkte afname luchtflow).
- Gaten perforeren ipv draden weven (geweven draad zorgt voor een 3-dimensionale opening die feitelijk groter is dan de opgegeven maat).
- Elektrisch veld (elektrocutie).
- Repellents aanbrengen.
- Zelfreinigende stoffen.

#### c. *De Overdrukkassen*

Door overdruk in de kas te creëren kunnen in theorie plagen/ziekten buiten de kas gehouden worden. De inlaat van de lucht moet wel gefilterd worden. Dit is dus additioneel bovenop de hiervoor beschreven oplossingen. Er zijn enkele overdrukkassen in de praktijk neergezet (Kubo). Een belangrijk nadeel is dat het moeilijk is om hogere CO<sub>2</sub>-gehalten in kas te handhaven. Hierdoor lijkt het overdruk systeem minder geschikt voor NL kassen.

## 3.3 Draagvlak en haalbaarheid

De bovengenoemde opties zijn via een enquête en een workshop voorgelegd aan telers.

In de enquête is met name gevraagd naar de ervaringen die telers hadden met de gesloten, semi-gesloten of de overdruk kas. In de workshop zijn de analyses van de invalsroutes toegelicht en is telers gevraagd welke volgende stappen in het onderzoek volgens hen belangrijk waren.



### 3.3.1 Enquête ervaringen gesloten, semi-gesloten en overdruk kas

De enquête is in 2017 uitgevoerd bij 9 telers: drie opkweekbedrijven (verschillende gewassen)- en zes productiebedrijven (tomaat). De volgende vragen zijn gesteld:

1. Welke problemen zijn er op het bedrijf met ziekten en plagen?
2. Welke technieken worden er gebruikt om ziekten en plagen tegen te houden? (Denk aan: insectengaas, geen luchtramen, sluisen, overdruk creëren, kas indelen in compartimenten met kaswanden tussen verschillende gewassen, hygiëne maatregelen, ozon als ontsmettingstechniek.)
3. Wat is uw ervaring van de afgelopen jaren met ziekten en plagen in relatie tot de in 2 genoemde maatregelen? Vraag naar voorbeelden.
4. Waar is die ervaring op gebaseerd, hoe is er gemonitord? (Denk aan vangplaten, of afname gebruik van gewasbeschermingsmiddelen t.o.v. normale kassen.)
5. Wat zijn de nadelen van de maatregelen?
6. Heeft de investering zin gehad?
7. Zijn er plannen om een volgende stap te zetten om extra maatregelen te nemen m.b.t. het voorkomen van indringen van ziekten en plagen? (is het zinvol?)

#### 1. Problemen

De telers noemen voor de teelt van tomaten de volgende plagen: *Tuta absoluta*, *Bemisia*, witte vlieg, trips, *Nesidiocoris*, galmijt, spintmijt, rupsen. Ziekten in tomaten die vaak voorkomen zijn *Fusarium*, *Botrytis*, *Phytophthora*, meeldauw en crazy roots (*Rhizobium*).

In andere gewassen zijn er ook problemen met mineervlieg, bladluis en *Pythium*, *Verticillium*, roest, *Erwinia*. Bij opkweek van chrysanten zijn aaltjes ook een aandachtspunt.

#### 2. Technieken

##### *Insectengaas*

De geïnterviewde opkweekbedrijven hebben allemaal insectengaas in de luchtramen. Sommige van de andere bedrijven ook. Daarnaast wordt vaak insectengaas in installaties (in slurven en kleppen) bij de (semi) gesloten kas en bij de overdrukkas gebruikt.

##### *Overdruk*

In een overdrukkas wordt een overdruk gecreëerd door buitenlucht aan te zuigen. Door deze overdruk en gecontroleerde aanzuiging (langs insectengaas) wordt een barrière voor insecten gecreëerd. De aangezogen buitenlucht wordt vervolgens wordt opgewarmd, waardoor ook de luchtvochtigheid beter te beheersen is (zie semi-gesloten kas).

##### *Andere hygiëne maatregelen*

Hygiëne-maatregelen worden ook toegepast; sommige bedrijven hebben sluisen met twee deuren, is er specifieke kleding voor bezoekers en zijn er ontsmettingsmogelijkheden. Ook wordt het gietwater en soms ook het bassinwater ontsmet. Ruimtes in kassen zijn soms in compartimenten ingedeeld; om alle afdelingen heen ligt een corridor waardoor je dus niet meer door afdelingen heen moet om in andere afdelingen te komen. In een kas werd ook ozon gebruikt.

##### *(Semi-)gesloten kas*

In een (semi-)gesloten kas worden er in tegenstelling tot een traditionele kas minder (semi-) of niet (gesloten) gelucht en is er vaak een warmte/koude opslagsysteem met mogelijkheid tot actieve koeling in de zomer. Er zijn diverse uitwerkingen van dit principe: met of zonder warmte/koudeopslag, met mechanische ontvochtiging, of ontvochtiging via buitenluchtaanzuiging (samen met intensiever schermen en een homogener klimaat Het Nieuwe Telen genoemd). Gemeenschappelijke noemer is dat er een betere beheersing van de luchtvochtigheid mogelijk is.

Vaak zijn er minder of zelfs geen luchtramen (gesloten kas), en zijn er koelinstallaties onder in de kas aanwezig. Koelinstallaties bestaan uit slurven die buitenlucht (of binnenlucht of een mengsel daarvan) aanzuigen. Bij sommige bedrijven was er een aangepast beluchtingssysteem in de nok van het dak waardoor het klimaat beter was te sturen dan in een gewone kas. Een bedrijf had juist meer luchtramen (met insectengaas) om de ventilatie op orde te houden.

### *Andere klimaat maatregelen*

Een bedrijf gebruikte schermen om de temperatuur op de betonvloer niet te hoog te laten oplopen. Een ander bedrijf gebruikte dubbelglas waardoor de input van zonnewarmte lager was. Dubbel glas is sterker en de ramen zijn groter, waardoor er ook minder ijzer nodig was voor de bouwconstructie en er meer lichtinval is. Een bedrijf gebruikte betonvloeren met laagwaardige warmte, waardoor schoner gewerkt kan worden, de RV lager blijft, en er geen onkruid meer is. Een bedrijf maakte geen gebruik meer van bevoeiingsmatten waardoor er een droger milieu ontstaat tussen de planten.

### **3. Ervaringen**

#### *Insectengas en overdruk*

Over het algemeen is het effect van een kas met insectengas en overdruk (en minder luchtramen) dat er minder invlieg van grotere insecten is, zoals rupsen motten en wantsen, en de plagen pas later de kas in komen. Soms wordt er ook geen verschil gevonden wat insectendruk betreft met een gewone kas, met als verklaring dat de insecten vaak binnenkomen met het plantmateriaal of door het gas heen kunnen komen.

#### *(Semi-)gesloten kas*

In de volledig gesloten kas was het beeld dat de ziektedruk aanzienlijk lager is dan in een reguliere kas, en ook minder dan in de semi-gesloten kas, vooral omdat de luchtvochtigheid goed te reguleren was. De plaagdruk blijkt over het algemeen niet echt minder te zijn, wel wat minder last van rupsen.

De ervaringen bij de semi-gesloten kas zijn over het algemeen ook dat er minder ziektes zijn; dit wordt toegeschreven aan een betere klimaatbeheersing en goede beheersing luchtvochtigheid via de warmtewisselaars/ontvochtigers. Als er wel problemen met ziektes zijn lijken die vooral terug te leiden te zijn op klimaatproblemen en geen goede warmteverdeling in de kas: met name bovenin de kas te warm. Het idee is dat hierdoor de planten minder weerbaar en vatbaarder voor ziektes zijn. Soms is er ook meer last van meeldauw omdat er veel luchtbeweging is en de sporen makkelijk verspreiden. Dit heeft als gevolg dat er soms meer gewasbeschermingsmiddelen gebruikt worden in een semi-gesloten kas dan in een gewone kas. Een bedrijf heeft dit wel weten op te lossen door de plantafstanden kleiner te maken, waardoor het klimaat beter te beheersen is.

#### *Overige maatregelen*

Schermen om de vloertemperatuur te beheersen bleken succesvol tegen Phytium aantasting. Er blijven wel klimaatproblemen als het buiten extremer weer wordt. Als het buiten te vochtig wordt, wordt het binnen ook te vochtig. Daardoor krijg je zwakkere planten omdat de planten zichzelf niet goed kunnen koelen.

### **4. Monitoring**

Insecten worden over het algemeen geteld op vangplaten. Bij een enkel bedrijf worden bladeren ook nog gespoeld en worden de beestjes op de bladeren geteld.

Ziekte-aantastingen worden over het algemeen niet gescoord, een enkeling bepaalt wel het aantal zieke planten op vaste punten in de kas, en soms wordt de sporendruk bepaald. Een bedrijf bepaalde de stikstofgehalten in planten om de gevoeligheid voor meeldauw in te schatten.

Soms wordt gevonden dat het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen iets minder is dan in een gewone kas, wat indirect aangeeft dat de ziekten en plagen beter onder controle zijn. Bij een ander bedrijf was het gebruik juist hoger (meeldauw).

### **5. Nadelen van de maatregelen en nut van de investering**

#### *Insectengas en andere hygiëne maatregelen*

Insectengas in de luchtramen heeft een nadelig effect op de ventilatie, het wordt met name in de zomer te warm en het gas vervuild. Sommigen vinden het duur, niet opwegen tegen de baten omdat er ook andere invalsroutes zijn (plantmateriaal). Anderen zien wel voordelen in een iets lagere plaagdruk vanuit buiten. Voor andere (opkweek) bedrijven zijn de verschillende hygiëne maatregelen (naast gas ook hygiënesluis, kleding en ontsmetting voor gasten e.d.) wel de investering waard, maar vooral omdat er minder ziekten optreden wat werk scheelt en tevreden klanten oplevert.

### *(Semi-)gesloten kas en overdruk kas*

De gesloten kas is met de kennis van nu niet optimaal en het is niet eenvoudig aan te passen. Daarnaast is het kostbaar. Maar in principe is met de gesloten kas de temperatuur en luchtvochtigheid beter te reguleren dan in de semi-gesloten kas. De luchtcirculatie in semi-gesloten kassen is vaak niet optimaal omdat er te weinig koelinstallaties zijn, waardoor er toch weer luchtramen opengezet moeten worden. Ventilatoren bovenin de kas zijn lastig te realiseren, want dan wordt er licht weggevangen. De klimaatbeheersing moet opnieuw geleerd worden, de semi-gesloten kas is eigenlijk een omgedraaide gewone kas: de klimaatsturing gaat bij een semi-gesloten kassen van onder naar boven i.p.v. van boven naar onder. In een volledig gesloten kas is de ventilatie beter te beheersen, meer koeling en de temperatuur en luchtvochtigheid zijn beter te reguleren.

Diverse geïnterviewden gaven aan dat de investeringen nodig voor de (semi-)gesloten kas en de overdruk kas hoog zijn, en niet opwegen tegen de resultaten (opbrengstverhoging en minder plaag- en ziektedruk). Het elektriciteitsverbruik is hoog omdat de kas meer gekoeld moet worden, en ook de aanpassingen zelf zijn duur. De meeste bedrijven geven aan dat de investering niet erg zinvol is geweest en de besparing niet is gerealiseerd. In landen met een warmer klimaat zou het zinvoller zijn omdat daar met koeling en bevochtigen van de lucht de opbrengst sterk kan verbeteren. In Nederland lijkt deze investering niet zinvol. Tegelijkertijd hebben deze innovaties de sector nieuwe inzichten geleverd met betrekking tot klimaatbeheersing, die nu gebruikt worden bij de bouw van traditionele kassen. Er is meer bewustwording en daarnaast is er ook imago winst.

### *Andere klimaatmaatregelen*

Dubbelglas is tien keer zo duur, heeft alleen zin bij high value crops.

## **6. Suggesties voor verbeteringen of vervolg**

Een aantal bedrijven stelt voor kleine investeringen te doen in gewone kassen. Concreet: 1) coating op het dak aanbrengen waardoor door diffuus licht de warmte beter doordringt in de kas en warmte beter verdeeld wordt, 2) buitenlucht actief aanzuigen om overdruk te creëren en de lucht te ontvochtigen, 3) het gebruik van een dubbelscherm zodat de kas beter te isoleren is tegen kou en er ook overdruk gecreëerd kan worden, 4) kas met dubbellaags plastic in plaats van dubbelglas, 5) extra controleren op ziekten en plagen op uitgangsmateriaal, 6) creëren van een biologisch evenwicht met groene middelen (het systeem is sowieso niet steriel).

Eén bedrijf gaf aan dat het beter is om voor een volledig gesloten kas te gaan, waarbij zonne-energie wordt opgeslagen in de ondergrond. De meest geschikte teelt in een gesloten kas zijn gewassen die tegen een hoge temperatuur kunnen zodat er minder gekoeld hoeft te worden. Ook zou gekeken moeten worden naar gewassen waarbij de hoge investering voor (semi-)gesloten teelt wel terugverdiend kan worden (bv vanille).

Tenslotte werd ook genoemd dat er gekeken moeten worden welke concepten kunnen aansluiten bij een semi-gesloten kas, zoals het verduurzamen van het energieverbruik, en hoe de omgeving meegenomen kan worden (sociaal-maatschappelijke aspecten).

### **3.3.2 Workshop met telers**

In april 2018 is een workshop gehouden met circa 20 telers, opkweek- en productiebedrijven, toeleveranciers, en technische bedrijven op het gebied van ontsmetting en hygiëne. Besproken zijn de twee sporen: 'invalsroute via luchtramen en ventilatieopeningen', en 'invalsroute via teelt- en plantmaterialen e.d.'. Voor de invalsroute 'via luchtramen en ventilatieopeningen' werd vanuit het onderzoek een aanpak via de (semi-)gesloten kas voorgesteld (zie 3.1 en 3.2). De aanwezigen vonden echter dat het belang van deze invalsroute onvoldoende onderbouwd is. Het vervolg van het onderzoek is daarom gericht op het meten/monitoren van de invlieg van insecten van berm naar kas (Hoofdstuk 4).

Voor de invalsroute 'via uitgangsmaterialen (planten, substraat, e.d.)' zijn veel verschillende oplossingen mogelijk, in meer of mindere mate afhankelijk van ziekte, plaag en stadium. Uit de brainstorm kwam naar voren dat de prioriteiten liggen bij de diagnostiek van nog niet zichtbare pathogene infecties, en verwijderen van insecten. Deze onderdelen zijn in het onderzoek verder opgepakt (Hoofdstuk 5).

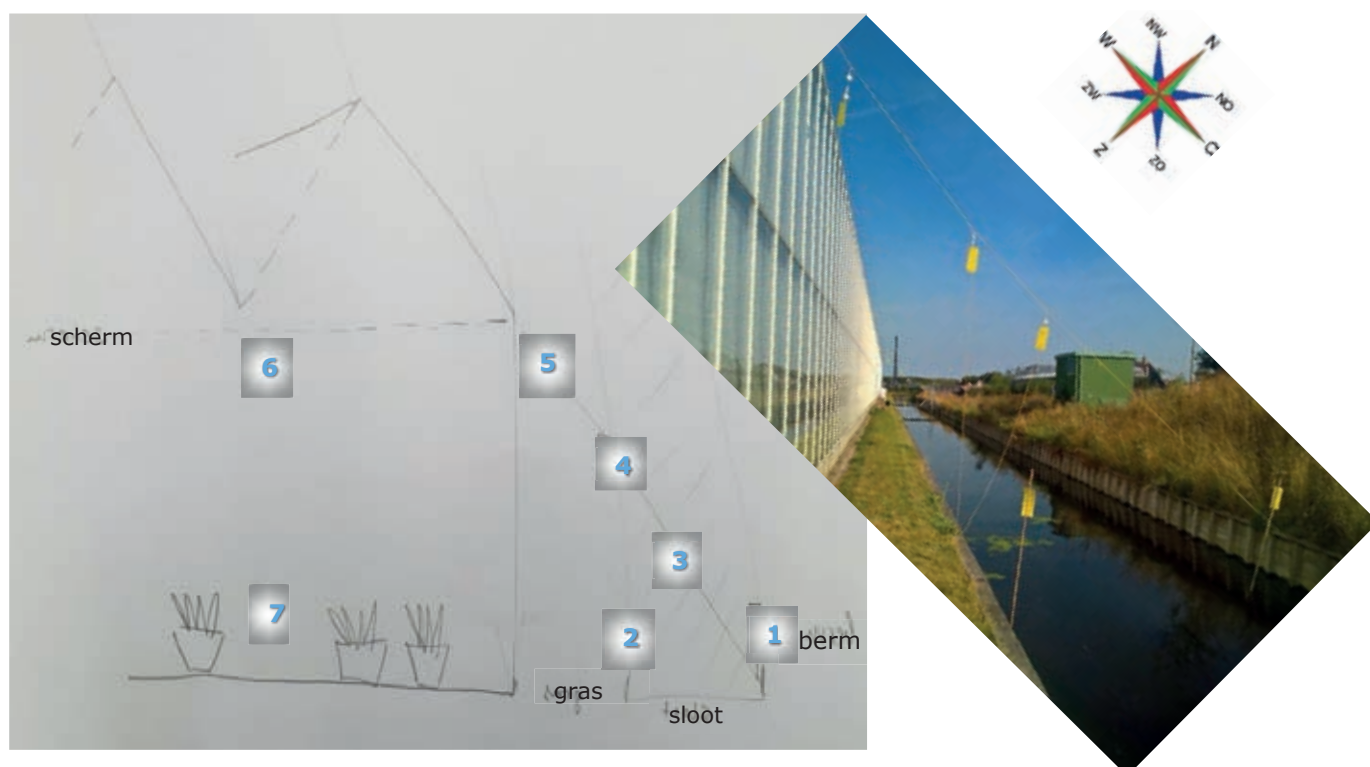


## 4 Belang invlieg via luchtramen

De workshop met telers en toeleveranciers (H 3.2.2) leidde tot veel vragen over de bijdrage van invlieg via luchtramen aan het ontstaan van populatiepieken in de kas. Om dit te onderzoeken is aansluiting gezocht bij een onderzoeksproject waarbij in de gemeente Westland werd gekeken naar de relatie tussen het groenbeheer en het voorkomen van plagen en natuurlijke vijanden in bermen (Grashof-Bokman *et al.* 2019).

### 4.1 Aanpak 2018

Er zijn gedurende de periode augustus tot oktober 2018 op 2 locaties vangplaten (7 meetpunten/locatie) opgehangen en deze zijn wekelijks vervangen. De vangplaten zijn opgehangen in een transect van berm naar luchtraam (Figuur 1). De luchtramen waren georiënteerd op het Noordoosten. De metingen in de berm vinden vlak boven het gras plaats. Tussen de grasberm en kas lag een sloot. Aan beiden kanten van de sloot is boven het gras gemeten (meting 1 en 2). In de kas is op de hoogte van het luchtraam (meting 6) en net boven het gewas gemeten (meting 7) om onderscheid te maken tussen de invloed van buiten (luchtraam) en binnen (boven gewas). Het betreft hier een moderne kas met diverse potplanten. Alle vangplaten zijn op hoofdlijnen geanalyseerd (tellingen van trips en eventuele andere plagen) en van een selectie zijn de tripsen op soort niveau gedetermineerd.



**Figuur 1** Opstelling met vangplaten van locatie 1 (schematisch overzicht en foto) in berm en kas om invlieg van berm naar kas te meten.

### 4.2 Resultaten 2018

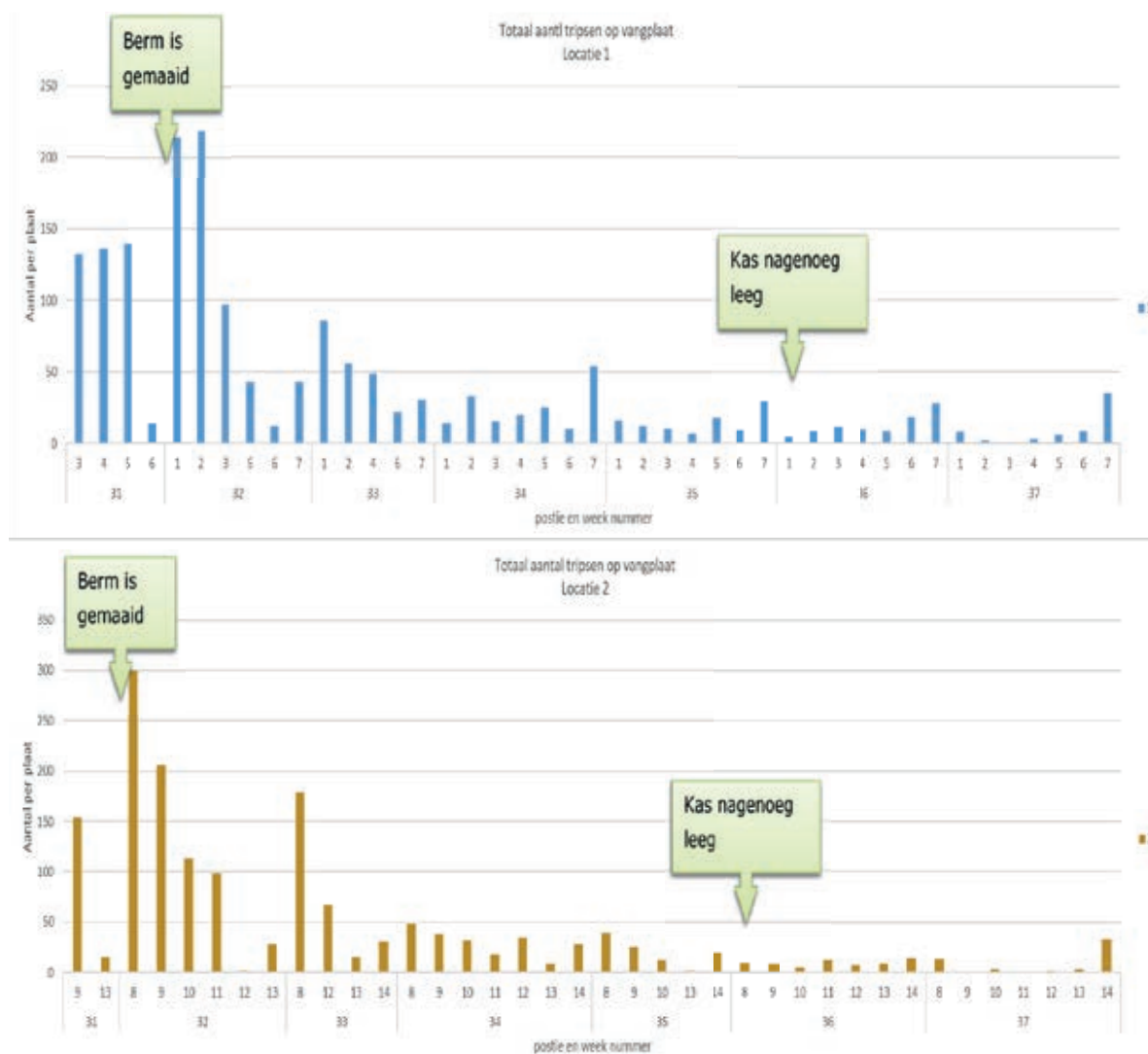
De metingen vonden plaats tussen begin augustus en medio september. De eerste twee weken waren de temperaturen hoog. Daarna lagen de gemiddelde maximum temperaturen tussen de 19 en 22°C, met een windrichting die meer in de westhoek zat (Tabel 3).

Tabel 3

Overheersende windrichting en gemiddelde temperatuur tijdens de meetperiode.

Week	Temperatuur (*C)		Wind	
	T-hoog	T-laag	snelheid	richting
31	27.5	18.7	4.6	O->Z->W
32	26.3	17.1	3.5	N
33	21.5	15.8	5.6	ZW
34	22.0	17.0	4.7	W
35	19.6	12.7	6.3	W
36	20.6	13.4	2.9	N
37	19.2	14.8	6.7	W

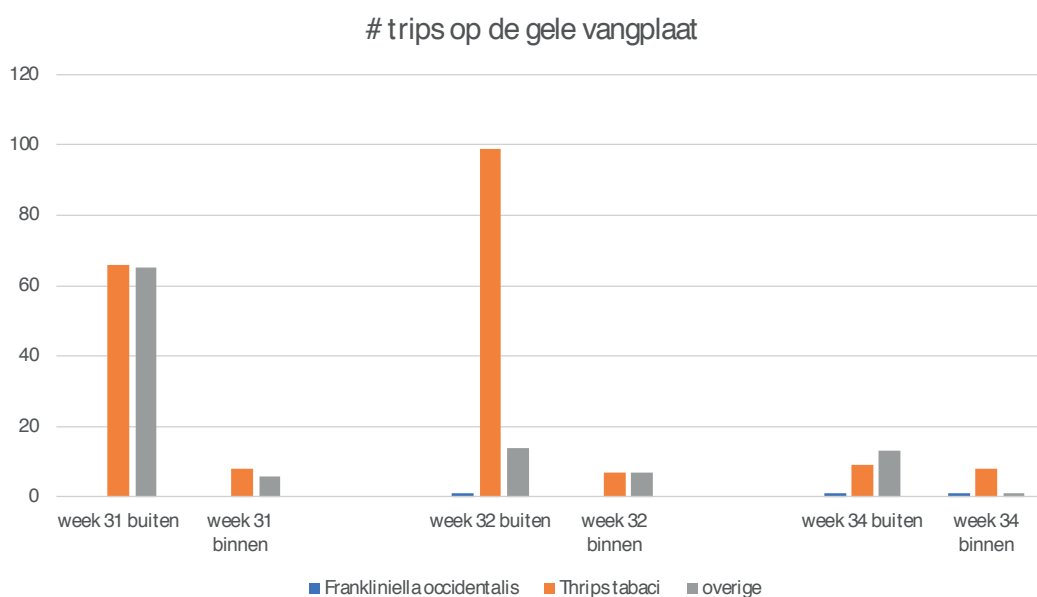
Op de vangplaten zijn voornamelijk tripsen waargenomen en een enkele bladluis. De aantallen trips, die waargenomen zijn op beide locaties (locatie 1: platen 1 t/m 7; locatie 2: platen 8 t/m14 staan weergegeven in Figuur 2.



**Figuur 2** Totaal aantal tripsen op vangplaten in transect van berm naar kas (platen 1 t/m 5, resp 8 t/m 12) en in de kas (plaat 6,7 resp 13, 14). Blauw: locatie 1; Geel: locatie 2.

Uit deze Figuren blijkt dat de aantal trips gedurende meetperiode sterk af nam, zowel binnen als buiten de kas. Tot en met week 33 waren de aantallen trips buiten de kas (platen 1 t/m 5 en 8 t/m 12) altijd aanzienlijk hoger dan in de kas. De resultaten van de platen dicht bij de luchtramen, binnen en buiten de kas (dus plaat 5 vs 6 en 12 vs 13) bevestigen dit beeld. Op locatie 1, zijn in de weken 31 t/m 34 de hoeveelheid trips buiten (platen 1,2,3,4,5) over het algemeen hoger dan binnen op de hoogte van het luchtraam (6). Voor locatie 2 is dat minder duidelijk, door het ontbreken van een aantal metingen. Maar ook hier zien we in week 33 en 34 wat hogere aantal trips buiten (8,9,10,11,12) dan binnen (13). Verder blijkt dat de aantal trips bij het luchtraam (6 en 13) over het algemeen lager is dan direct boven het gewas (7 en 14).

De tripsen van vangplaten 5 (buiten, vlak bij kas) en 6 (binnen, net onder scherm) van week 31, 32 en 34 zijn gedetermineerd. Het verschil tussen vangplaten buiten en binnen is weergegeven in Figuur 3 en Tabel 4, waar onderscheid is gemaakt in trips soorten.



**Figuur 3** Verschil in trips aantallen per soort, waargenomen binnen en buiten de kas in week 31, 32 en 34.

**Tabel 4**

Aantallen trips per soort op de vangplaten buiten (no 5) en in (6a) de kas.

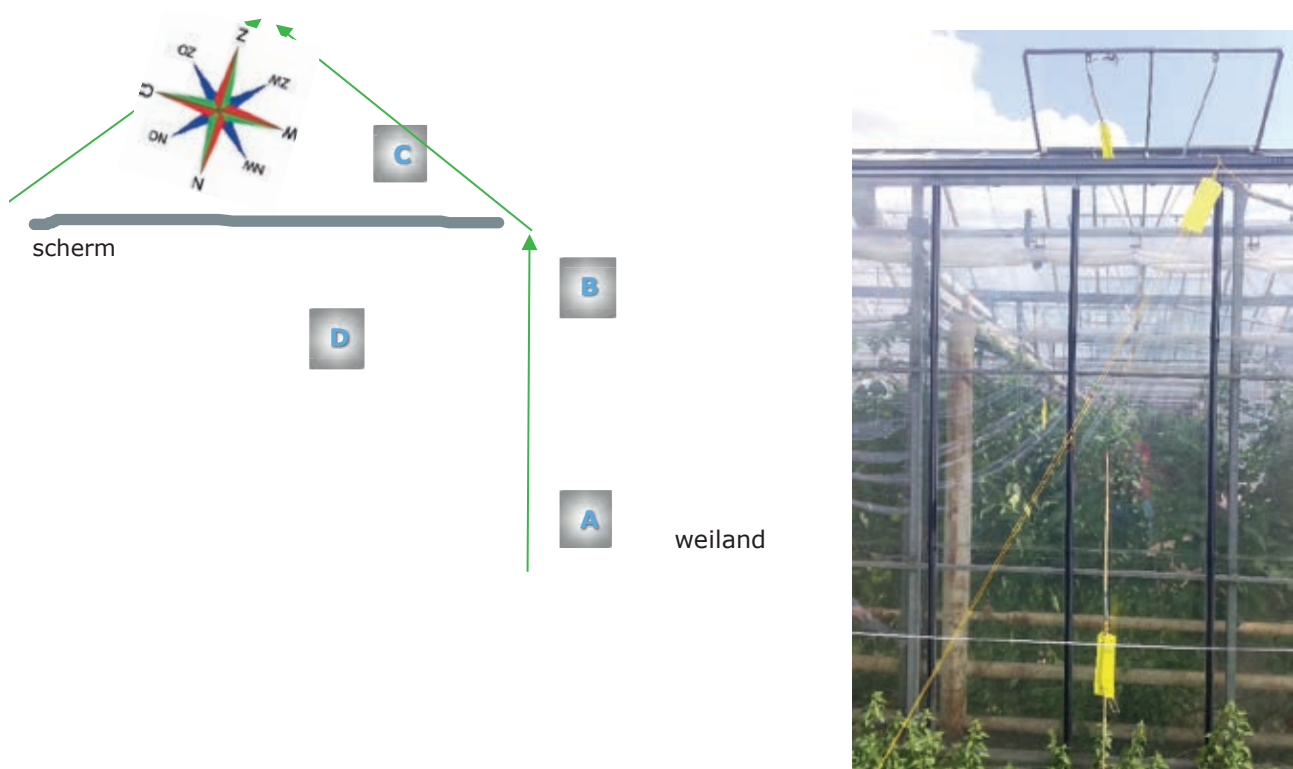
week	datum	vang plaat	Frankliniella occidentalis	Thrips tabaci	Frankliniella intonsa	Aeolothripidae	Phleothripidae	Chirothrips sp.	Thrips spp.
31 buiten	2-8	5	0	66	3	2	0	2	57
31 binnen	2-8	6a	0	8	1	1	0	0	4
32 buiten	9-8	5	1	99	10	3	1	0	0
32 binnen	9-8	6a	0	7	0	0	0	0	6
34 buiten	23-8	5	1	9	1	1	0	0	11
34 binnen	23-8	6a	1	8	0	0	0	0	0

Uit Figuur 3 en Tabel 4 blijkt dat in week 31 en 32, *Thrips tabaci* het meest werd waargenomen, zowel in de kas als buiten. De aantallen buiten de kas waren veel hoger dan in de kas. In week 31 werden buiten de kas ook een vergelijkbaar aantal overige (niet op soort niveau geïdentificeerde) trips soorten waargenomen.

### 4.3 Aanpak 2019

Er zijn gedurende de periode eind augustus tot eind september 2019 op een biologisch groententeelt bedrijf vier locaties gecreëerd waar vangplaten (4 meetpunten/locatie) opgehangen zijn. Op locatie 1 en 2 stonden komkommers, op locatie 3 en 4 paprika's. De vangplaten zijn wekelijks vervangen en beoordeeld. De trips op een select aantal platen zijn op soort gedetermineerd. De vangplaten zijn opgehangen in een transect van berm naar luchtraam (Figuur 4).

De luchtramen waren georiënteerd op West-ZuidWest. De metingen in de berm vinden vlak boven het gras plaats (meting A). Buiten is ook op goothoogte gemeten (meting B). In de kas is op de hoogte van het luchtraam (meting C) en net boven het gewas gemeten (meting D) om onderscheid te maken tussen de invloed van buiten (luchtraam) en binnen (boven gewas). Het betreft hier een verouderde kas, die relatief laag is en waar biologisch geteeld wordt. Onderstaand is een schets van de situatie gegeven.



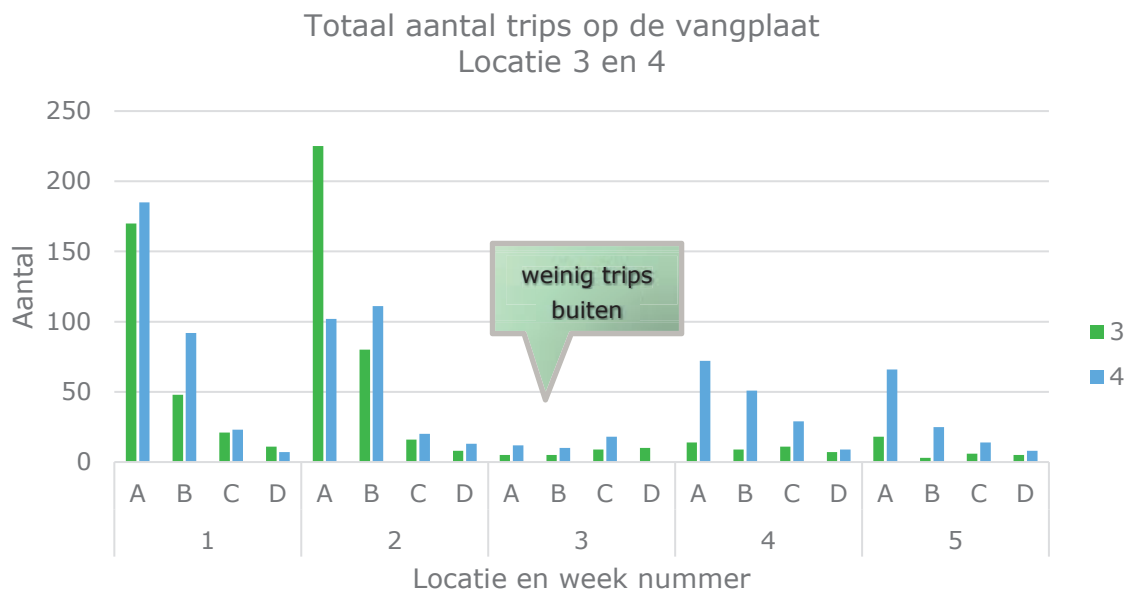
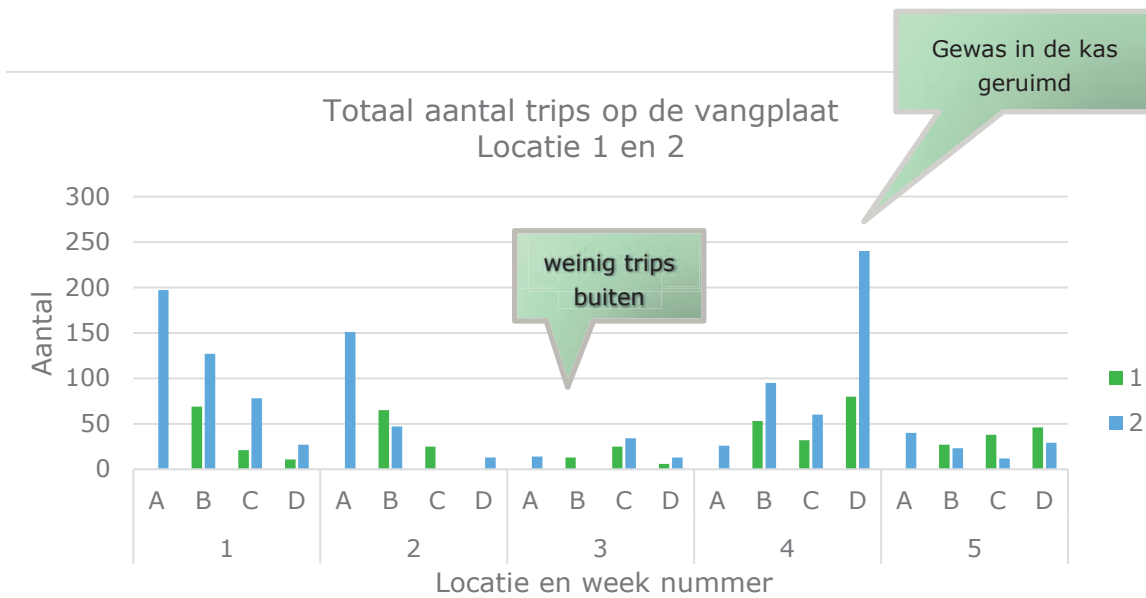
**Figuur 4** Meetopstelling met vangplaten in 2019.

### 4.4 Resultaat 2019

Op de vangplaten zijn voornamelijk tripsen waargenomen. Op locatie 3 en 4 zit op de platen in de kas veel kaswittevlieg. Buiten werd er een enkele zweefvlieg, en groene gaasvlieg aangetroffen. De aantallen trips die zijn waargenomen, staan weergegeven in Figuur 5. Net als in 2018 zien we over het algemeen een afnemend aantal trips van berm naar kas. De aantallen trips direct boven het gras in de berm (A) zijn het hoogst, en buiten (A, B) zijn de aantallen hoger dan in de kas (C, D). In tegenstelling tot in 2018, zien we nu in de kas over het algemeen geen hogere aantallen trips vlak boven het gewas (D) in vergelijking tot ter hoogte van de luchtramen (C), behalve in de week waarin het gewas werd geruimd.

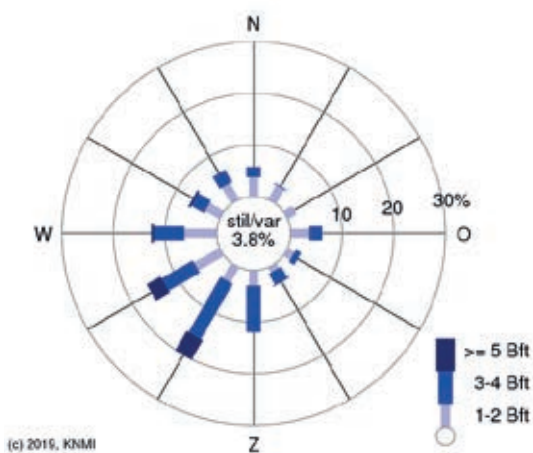
De tripssoorten die op de vangplaten in de kas (C, D) zijn aangetroffen waren *Thrips tabaci*. Op de vangplaten buiten werden naast *T. tabaci* ook *Frankliniella intonsa* aangetroffen.





**Figuur 5** Aantallen trips waargenomen op de verschillende locaties. Locatie 1 en 2: komkommer, locatie 3 en 4: paprika.

Windroos Rotterdam, september 2019



**Figuur 6** Overheersende windrichting in 2019.

## 4.5 Conclusie

De resultaten van 2018 en 2019 laten zien dat tripssoorten die buiten de kas aanwezig zijn, niet perse ook binnen aangetroffen worden. In beide jaren op alle locaties bleek *Thrips tabaci* het meest aanwezig en deze soort werd zowel in als buiten de kas aangetroffen, maar binnen in aanzienlijk lagere aantallen. Gezien de waarnemingen op de vangplaten bij de luchtramen is het aannemelijk dat trips van buiten naar binnen kan gaan (en vice versa), maar dat de trips in de kas geen directe afspiegeling zijn van de aantallen en soorten buiten.

Over een relatie tussen trips aantallen buiten en binnen kunnen echter geen harde conclusies getrokken worden. Hiervoor is het nodig de proef aanzienlijk op te schalen, waarbij een groot aantal bedrijven gedurende meerdere jaren worden gevolgd. Om te kunnen bewijzen dat insecten in de kas afkomstig zijn van de vegetatie buiten (of vice versa), zijn proeven nodig waarbij insecten worden gelabeld.

# 5 Voorkomen introductie plagen en ziekteverwekkers via uitgangs- en teeltmaterialen

Voor deze invalsroute moeten extra zekerheden ingebouwd worden om risico's te verlagen. Basis wordt gevormd door de huidige hygiëne protocollen en fyto-sanitaire maatregelen. Hierboven op komen controles van binnengekomen materiaal op aanwezigheid ziekteverwekkers en plagen (1), en vervolgens een standaard preventieve behandeling (2). De volgende stappen moeten hierbij verder ontwikkeld worden:

1. Controle op aanwezigheid ziekten en plagen op het uitgangsmateriaal en de teeltmaterialen:
  - Fysische en chemische technieken voor (generieke en specifieke) detectie van ziekten en plagen.
  - Quarantaine periode en triggeren eventueel aanwezige ziekten en plagen.
  - Opstellen detectieprotocollen voor praktisch.
  - Behandeling of vernietiging bij aangetroffen besmetting.
2. Standaard preventieve behandeling:
  - Behandelingen voor het uitgangsmateriaal en teeltmaterialen.
  - Behandelingen van mensen (+kleding), gereedschap ea hulpmiddelen.
  - Behandelingen mogen geen negatieve gevolgen hebben voor een duurzame chemievrije teelt en niet schadelijk voor de gezondheid.
  - Aanvullend op wat er bij de leverancier gebeurt.

Op basis hiervan zijn met deskstudies de mogelijkheden verkend voor het ontwerp van een clean corridor (5.1). In de workshop (zie 3.2.2) is deze toegelicht en met de telers overlegd op waar de focus op moet liggen. Het idee van een clean corridor werd goed ontvangen, maar het was duidelijk dat dit een veelomvattend concept is dat nog veel doorontwikkeling behoeft en daarmee de mogelijkheden van dit project overstijgt. De prioriteiten liggen bij de diagnostiek van nog niet zichtbare pathogene infecties, en verwijderen van insecten. Voor het verwijderen van insecten zijn de mogelijkheden van de inzet van een luchtdouche (5.2) nader verkend; voor de diagnostiek van niet-zichtbare pathogenen is gericht op meeldauw (5.3).

## 5.1 Ontwerp Clean Corridor

Doel van clean corridor is om snel plagen en ziekten, op planten of substraat/grond, te detecteren en te elimineren. In dit onderdeel is in beeld gebracht welke elementen opgenomen moeten/kunnen worden in zo'n clean corridor. De corridor kan zowel elementen bevatten voor detectie (5.1.1) als behandeling/eliminatie van ziekten en plagen (5.1.2).

### 5.1.1 Detectie mogelijkheden

Middels een deskstudie is verkend welke technische mogelijkheden er momenteel beschikbaar zijn voor detectie. Vervolgens is onderzocht of deze technieken geschikt zijn voor toepassing voor de glastuinbouw en dan met name in de clean corridor. Een economische evaluatie maakt geen deel uit van deze studie omdat dat in dit stadium te voorbarig zou zijn.

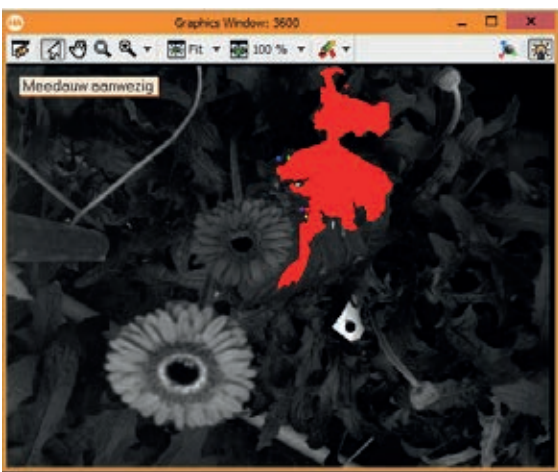
#### 5.1.1.1 Vision technieken

De aanwezigheid van insecten en insectenschade, evenals de aanwezigheid van ziekteverwekkers en hun symptomen kunnen visueel worden gedetecteerd met verschillende soorten camera's. Een detectiepercentage van respectievelijk 96% en 92% is gemeld voor detectie van tabakswittevlieg (*Bemisia tabaci*) en californische trips (*Frankliniella occidentalis*) op vangplaten met behulp van een RGB-camera (Espinoza *et al.* 2016). Als vangplanten worden gebruikt om (mede) te beoordelen of plantmateriaal geïnfecteerd is met vliegende insecten, kan dit een bruikbare techniek zijn. RGB-camera's maken een foto binnen het rode, groene en blauwe

lichtspectrum, wat resulteert in een kleurenbeeld. Alles wat niet zichtbaar is voor het menselijk oog kan ook niet worden gedetecteerd. RGB-afbeeldingen worden momenteel gebruikt in sorteerketens voor verschillende doeleinden.

Multispectrale beeldverwerking registreert meerdere beelden op verschillende golflengten tegelijkertijd, inclusief golflengtes buiten het menselijk zicht. Er zijn commerciële camera's met een keuze uit verschillende golflengtefilters op de markt die specifieke toepassingen mogelijk maken voor het detecteren van insecten en plagen. Een correcte classificatie van 95% is bereikt met zes verschillende filters voor detectie van tomatenmineermot (*Tuta absoluta*) in tomatenfruit (Mireei *et al.* 2016).

Hyperspectrale beeldverwerking maakt gebruik van een nog breder golflengtespectrum tussen 320 en 2500 nm. De techniek is zeer robuust en biedt een snelle analyse van de beeldgegevens. De techniek kan worden gebruikt voor de detectie van plantenziekten. Een infectie resulteert in biofysische en biochemische veranderingen als gevolg waarvan de reflectie verandert, wat door de camera wordt gemeten. Detectie van rijstbrand (*Magnaporthe grisea*), aardappelziekte (*Phytophthora infestans*) en appelschurft (*Venturia inaequalis*) zijn enkele succesvolle voorbeelden (Zhang *et al.* 2003; Kobayashi *et al.* 2001; Delalieux *et al.* 2007). Voor praktisch gebruik bij ziekte-detectie moet er echter rekening mee worden gehouden dat de camera over het betreffende object moet worden bewogen om een beeld te vormen. Daarom is voor rijstbrand nu gesuggereerd om deze techniek uit te breiden tot luchtfotografie (Kobayashi *et al.* 2001). De aanpak van hyperspectrale beeldvorming wordt momenteel onderzocht voor detectie van tomatengalmijt en witte vlieg in tomaat en meeldauw in gerbera door Jos Balendonck (WUR BU Glastuinbouw) in het project Smart Glastuinbouw (Figuur 7).



**Figuur 7** Hyperspectrale opname van meeldauw op gerbera.

### 5.1.1.2 Draagbare sensoren

Er zijn verschillende sensoren ontwikkeld en op de markt voor het bewaken en diagnosticeren van plantenziekten, voordat symptomen zichtbaar worden. Biosensoren (Figuur 8) maken detectie van ziekteverwekkers mogelijk in lucht, water, zaden en planten met verschillende platforms voor kassen, in het veld en bij de oogst (Skottrup en Nicolaisen 2008). In de afgelopen decennia is aangetoond dat de detectie van verschillende schimmel- en virale plantenziekten zoals aardappelziekte (*Phytophthora infestans*), *Fusarium culmorum*, gele tarweroest (*Puccinia striiformis*), tabaksmozaïekvirus en slamozaïekvirus mogelijk is met biosensoren op basis van een immunoassay (met specifieke antilichamen) (Fang en Ramasamy, 2015 en referenties daarin). Er is een draagbaar cel-biosensorsysteem vervaardigd voor detectie van aardappelvirus Y, komkommermozaïekvirus en tabaksratelvirus (Kumar *et al.* 2015). Recente doorbraken in de nanotechnologie hebben de detectielimiet van biosensoren aanzienlijk verbeterd en tegelijkertijd een slim, gebruiksvriendelijk draagbaar ontwerp mogelijk gemaakt. Een biosensor gebaseerd op nanodeeltjes, die fluorescerende nanodeeltjes van siliciumdioxide combineert met antilichamen, is ontwikkeld voor de detectie van bacterievuur (*Xanthomonas axonopodis*) (Yao *et al.* 2009). Nano-chips gemaakt van microarrays, die fluorescerende oligo-probes bevatten, worden gerapporteerd voor het detecteren van verschillende bacteriën en virussen (López *et al.* 2009). Op goud-nanodeeltjes gebaseerde optische immunosensoren zijn gebruikt voor het opsporen van steenbrand (*Tilletia indica*) in tarwe (Singh *et al.* 2010). De toepassing van een met goud-nanodeeltjes gemodificeerde elektrode is met succes getest om methylsalicylaat te detecteren, een belangrijke vluchtige stof die vrijkomt bij planteninfectie door pathogenen (Umasankar en Ramasamy 2013). Onlangs is een snelle, draagbare biosensor op basis van laterale stroming ontwikkeld die detectie van vier verschillende bacteriën in verse sla mogelijk maakt (Shin *et al.* 2018). Hoewel de ontwikkeling van draagbare biosensoren sterk is verbeterd, kan blootstelling van de desbetreffende ziekteverwekker aan stress veroorzaakt door bijvoorbeeld pH en temperatuur meetfouten veroorzaken. Daarnaast zijn er beperkingen aan de binding van grote bacteriën en schimmels. Wat nog belangrijker is, er worden antilichamen gebruikt die kwetsbaar zijn en onder invloed van extreme pH en hoge temperatuur denatureren. Na verloop van tijd is er een afnemende nauwkeurigheid, waardoor specifieke opslag van de biosensor een vereiste is (Fang en Ramasamy, 2015). Als alternatief is een draagbare PCR (Figuur 8) ontwikkeld voor detectie van *Phytophthora ramorum* (Tomlinson *et al.* 2005) en *Xylella fastidiosa* (Schaad *et al.* 2002). Ook zijn Lab-on-a-chip-apparaten als geminiaturiseerde microvloeistofsystemen in ontwikkeling, die bemonstering, DNA-extractie, amplificatie en realtime detectie combineren, maar nog niet voor plantpathogenen (Mairhofer *et al.* 2009). Elektronische neuzen kunnen gebruikt worden om vluchtige stoffen te detecteren die vrijkomen bij plantenschade of door de aantaster zelf wordt geproduceerd (zie overzicht Zijlstra *et al.* 2009). De vluchtige stoffen hoeven echter niet specifiek gekoppeld te zijn aan aantasting door pathogenen en/of insecten maar kunnen ook worden veroorzaakt door abiotische factoren.



**Figuur 8** Draagbare biosensor (links) en Draagbare PCR (rechts).

#### 5.1.1.3 Monitoring van lucht monsters op schimmelsporen

Veel schimmelziekten worden via de lucht verspreid door middel van sporen. Luchtmonstering van sporen in combinatie met diagnostiek kan worden gebruikt om uitbraken van bepaalde ziekten te voorspellen. Monsternamen kant passief plaatsvinden, waarbij de sporen door de zwaartekracht op het bemonsteringsoppervlak terecht komen, of actief waarbij een bepaalde hoeveelheid lucht wordt bemonsterd (McCartney *et al.* 1997). Detectie van schimmels kan plaatsvinden door middel van real-time PCR zoals aangetoond voor bladziekte in ui (*Botrytis squamosa*), witte schimmel (*Sclerotinia sclerotiorum*), bruinrot van steenfruit (*Monilia fructicola*) en pekkanker bij pijnbomen (*Fusarium circinatum*) (zie overzicht Zijlstra *et al.* 2009). Als alternatief zijn immunoassays gebruikt voor de identificatie van appelschurft (*Venturia inaequalis*), gele tarweroest (*Puccinia striiformis*), witte schimmel (*Sclerotinia sclerotiorum*), grijze schimmel (*Botrytis cinerea*) en ringspot in kruisbloemige groenten (*Mycosphaerella brassicicola*) (zie overzicht Zijlstra *et al.* 2009). Voor beide methoden moet het monster echter in een laboratorium worden verwerkt. Daarom is een apparaat ontwikkeld waarmee tegelijkertijd de bemonstering als een immunoassay wordt uitgevoerd voor een snelle identificatie op locatie van grijze schimmel (*Botrytis cinerea*) en ringspot in kruisbloemige groenten (*Mycosphaerella brassicicola*) (Kennedy *et al.* 2000). Daarnaast is een autonoom pathogendetectorsysteem ontwikkeld dat continu de omgeving controleert op pathogenen in de lucht, de monsternamen en in-line monstervoorbereiding uitvoert, en vervolgens immunoassays en PCRs uitvoert voor de diagnostiek (Hindson *et al.* 2005).

#### 5.1.1.4 Monitoring van insecten

Voor detectie van insecten kunnen vallen gebruikt worden, b.v. gekleurde vangplaten of zuigvallen. Hierbij is visuele inspectie voor de identificatie nodig, wat omslachtig en tijdrovend is. Moleculaire methoden bieden een alternatief. Als zodanig is PCR gebruikt om schorskevers te identificeren en te kwantificeren (Schweigkofler *et al.* 2005). Een mogelijk alternatief is detectie door akoestische signalen als insecten zijn ingesloten in wortels of grond (Mankin *et al.* 2011). Keverlarven konden succesvol worden gelokaliseerd met akoestische indicatoren van aantasting (Mankin *et al.* 2007). Tot dusver zijn commerciële toepassingen van akoestische monitoringsapparatuur ontwikkeld voor graaninsecten, termieten en de Pink Bollworm in katoen (*Pectinophora gossypiella*) (Mankin *et al.* 2011). De methode heeft potentie vanwege de snelle technologische ontwikkelingen van opname apparatuur bv via mobiele telefoons. Bovendien zal het onderscheiden van insectengeluiden van achtergrondgeluiden en onderscheid tussen verschillende soorten insecten verbeteren. Echter, plaatsgebonden zuigende insecten en kleine insecten zullen niet detecteerbaar zijn vanwege de geringe geluidsproductie (Mankin *et al.* 2011).

### 5.1.2 Behandelingsmethoden

Middels een deskstudie is verkend welke behandelingsmethoden er beschikbaar zijn, en geschikt voor toepassing in de glastuinbouw en dan met name in een clean corridor. Een economische evaluatie maakt geen deel uit van deze studie.

#### 5.1.2.1 Desinfectie methoden

##### Controlled atmosphere temperature treatment (CATT)

CATT combineert hoge temperaturen met verhoogde concentraties CO<sub>2</sub> om insecten in plantaardig materiaal te doden (Neven en Mitcham 1996). Effectiviteit is sterk afhankelijk van de betreffende plaag en het plantmateriaal, waarbij temperatuurverhoging, gascondities, behandelingsduur en plantcondities parameters zijn om te optimaliseren. Oorspronkelijk zijn er specifieke protocollen ontwikkeld voor bepaalde combinaties van plagen en fruit (Neven en Rehfield-Ray 2006a, b). Later is dit uitgebreid naar de behandeling van aardbeimijt (*Phytonemus pallidus*) en nematoden (*Meloidogyne hapla*) in aardbei moerplanten (van Kruistum *et al.* 2012, 2014). Dit is nu in commercieel gebruik in Nederland waarbij een gesloten behandelkamer met hoogtechnologische voorzieningen wordt gebruikt in combinatie met kennis om de atmosfeer te beheersen (Figuur 9). Hoewel deze techniek er veelbelovend uitziet, blijft het een uitdaging om een protocol te ontwikkelen voor een breed scala aan verschillende plagen en verschillende plantmaterialen, waarbij een optimale plantkwaliteit wordt gegarandeerd.



**Figuur 9** CATT cabinet.

### Straling

Ioniserende straling zoals gammastraling (Figuur 10) of röntgenstralen worden gebruikt om insecten die aanwezig zijn op planten en plantaardige producten te steriliseren en te doden (Hallman *et al.* 2010). De respons hangt af van het soort insect, hun ontwikkelingsstadium (waarbij insecteneieren het meest gevoelig zijn), en de geabsorbeerde dosis. Er worden specifieke protocollen ontwikkeld voor insect-productcombinaties (Barkai-Golan en Follett 2017 en referenties daarin). Hoewel deze vorm van straling voornamelijk wordt gebruikt voor voorraadplagen, wordt het ook beschouwd als behandeling voor quarantaine-plagen in bloemen (Yun *et al.* 2016). Het gebruik van straling wordt gereguleerd door EU-richtlijnen om de veiligheidsnormen te bewaken. Acceptatie door de consument blijft echter een belangrijk punt van zorg. Commercieel is het van belang dat de te behandelen producten regelmatig worden aangeboden aangezien de stralingsbron continu in werking is. Daarom wordt ioniserende straling tot nu toe gebruikt voor bulkbehandeling. Naast plantenbehandeling kan ioniserende straling wellicht worden gebruikt voor het steriliseren van grond om zowel plagen als schimmels te elimineren (McNamara *et al.* 2003). Dit heeft echter ook sterke effecten op de chemische eigenschappen van de bodem, zoals het nitraat- en ammoniumgehalte in de bodem. Bovendien kan straling de bodemmicroflora aantasten. Radio- en microgolfstraling kan worden gebruikt om insecten te doden, maar vereist dat de betreffende plaag sneller opwarmt dan het behandelde product (Ling *et al.* 2015). Tot nu toe is dit soort bestraling voornamelijk gebruikt voor voorraadplagen. Elektronenstralen zijn onderzocht voor de behandeling van insectenplagen in snijbloemen (Yun *et al.* 2015). Over het algemeen lopen producten met een laag vochtgehalte minder risico op beschadiging door bestraling.



**Figuur 10** Behandeling van fruit met gamma straling.

### 5.1.2.2 Plasma

Plasma is geïoniseerd gas dat wordt gegenereerd door hoge temperatuur (thermisch plasma) of elektriciteit (niet-thermisch plasma). De lading van het gas heeft een sterk antimicrobieel effect (Misra *et al.* 2016). Meestal is er direct contact tussen het plasma en het te behandelen product (Figuur 11). De effectiviteit is afhankelijk van het type te behandelen productoppervlak en de luchtvochtigheid (Schlüter *et al.* 2013). Het is aangetoond dat plasmabehandeling effectief is tegen een breed spectrum aan insecten (Donohue *et al.* 2006). Naast insecten wordt het gebruikt tegen schimmels en bacteriën op zacht fruit (Lacombe *et al.* 2015), waarbij verwelking en vergeling van bladeren zijn waargenomen als bijwerkingen bij plasmabehandeling van de planten. Het is potentieel een veelbelovende behandeling gezien het sterke antimicrobiële effect bij lage temperatuur, de gaseigenschappen waardoor het kan worden gebruikt voor de behandeling van alle soorten of onregelmatige oppervlakken, en omdat er geen residuen en de relatief milde effecten op de planten zelf zijn. De operationele veiligheid en daarmee ook de registratie als biocide of gewasbeschermingsmiddel is momenteel echter een uitdaging, gezien de toegepaste hoogspanning en reactieve gassen. Plasma-geactiveerd water, met plasma opgelost in water, kan worden gebruikt tijdens het besproeien van planten of als spraytoepassingen tegen plantpathogenen (Quadvlieg *et al.* 2016). Het gebruik van plasmawater was succesvol tegen meeldauw bij tomaten en gerbera en tegen botrytis in sla. Daarnaast bleek ultrasonische nevelspray van plasma water een beschermd effect te geven op gerbera- en cymbidiumbloemen tegen infectie met grauwe schimmel (*Botrytis cinerea*) zonder de bloemkwaliteit te beïnvloeden.



**Figuur 11** Plasma behandeling van fruit.

### 5.1.2.3 Elektrische velden/pulsen

Sterke korte elektrische pulsen worden gebruikt voor het inactiveren van micro-organismen in voedsel (Martin-Belloso en Soliva-Fortuny 2011). Behandelde producten moeten een lage elektrische geleidbaarheid en geen holtes hebben. Behandeling tegen insecten is onderzocht voor de Mexicaanse fruitvlieg (*Anastrepha ludens*) (Hallman en Zhang 1997) en de Nieuw-Zeelandse bloementrips (*Thrips obscuratus*) (van Epenhuijsen *et al.* 2001). Er werd echter geen rekening gehouden met negatieve effecten op de planten. Tot dusver is er geen commerciële toepassing voor insecten ontwikkeld. Als alternatief kunnen elektrisch geladen roosters zoals gebruikt tegen vliegen of muggen bruikbaar zijn (Figuur 12).



**Figuur 12** Elektrische roosters.



#### 5.1.2.4 UV licht

Een lage dosering UV-straling heeft een kiemdodende werking bij verse groenten en fruit (Figuur 13). De golflengte van UV-behandeling varieert van 100 tot 400 nm (Koutchma *et al.* 2009), waarbij UV-C met 200-280 nm de effectieve range is waarbij bacteriën, schimmels en virussen worden geïnactiveerd. Als zodanig is het toegepast tegen bacteriën in tomaat, spinazie en paddenstoelen en tegen schimmels die rot veroorzaken in stro- en bosbessen (Ribeiro *et al.* 2012 en referenties daarin). Naast desinfectie heeft UV-licht mogelijk een effect op planthormonen waardoor gezondheidsbevorderende componenten in het product verhoogd kunnen worden. Er is een hele reeks commerciële UV-bronnen beschikbaar, waaronder lagedruk- en middendruklampen, kwikvrije amalgaamlampen (Koutchma *et al.* 2009), gepulseerde UV-lichtbronnen (Gómez-López *et al.* 2007) en recentelijk LED-lampen. Doeltreffendheid van de behandeling hangt af van de afstand van UV-licht tot het doelwit, de dikte van het behandelde plantmateriaal en de chemische samenstelling. Voedsel met een hoog eiwit- en vetgehalte is niet erg geschikt voor behandeling terwijl groenten zeer geschikt zijn. Het is echter wenselijk dat de UV-dosis regelbaar is en kan worden aangepast aan het betreffende product. De effecten op voedingscomponenten en mogelijke vorming van giftige bijproducten moeten nog worden onderzocht. Bovendien zijn er veiligheidsmaatregelen nodig voor het gebruik. Daarnaast ziet een andere techniek, foto-sensibilisatie er veelbelovend uit. Hierbij zorgt belichting met UV voor de accumulatie van een fotoactieve verbinding in micro-organismen (Lukšiene 2005). Tot dusver is het in vitro getest op inactivering van bacteriën, gisten (Kreitner *et al.* 2001) en schimmels van voedselverontreinigingen (Lukšiene *et al.* 2005).



**Figuur 13** UV behandeling van plantmateriaal.

#### 5.1.2.5 Verwijderingsmethoden

##### 5.1.2.6 Vallen

Vallen kunnen, behalve voor monitoring, op grote schaal gebruikt worden om voor het vangen van insecten. Kleverige rolstrips (Figuur 14) zijn met succes gebruikt voor het massaal vangen van bijvoorbeeld trips (*Frankliniella occidentalis*) in aardbeien (Sampson en Kirk 2013) en wittevlug.



**Figuur 14** Vallen gebaseerd op gele kleefstroken.

##### 5.1.2.7 Zuigsystemen

Oorspronkelijk zijn zuigsystemen ontwikkeld om insecten te bemonsteren in de buitenlucht. Zuigsystemen worden echter ook gebruikt in commerciële teelten om plaaginsecten te vangen en te doden (van Hoogstraten 2018). Het voordeel is dat het breed toepasbaar is voor verschillende soorten plagen, waaronder kleine en bewegelijke soorten. Het is echter ook opmerkelijk effectief tegen sessiele stadia zoals eieren, mits deze zich niet in het blad bevinden zoals trips eitjes. Daarentegen moet wel rekening worden gehouden met mogelijke schade aan de planten.



**Figuur 15** Zuigsysteem voor behandeling tegen insecten.

#### 5.1.2.8 Laser afrastering

Onlangs heeft Intellectual Ventures in de VS een afrastering (Figuur 16) ontwikkeld die een sensor- en lasertechnologie combineert met software om insecten te identificeren, te volgen en te doden ([www.intellectualventures.com/inventions-patents/our-inventions/photonic-hek/](http://www.intellectualventures.com/inventions-patents/our-inventions/photonic-hek/)). Oorspronkelijk is het ontwikkeld voor de bestrijding van malariamuggen. Het identificeert vrouwelijke malariamuggen op basis van de frequentie, vorm, grootte en vliegsnelheid van de vleugelslag. Een laser wordt getraind op deze onderscheidende kenmerken om alleen vrouwelijke muggen te identificeren, het doelwit tijdens de vlucht te volgen, een veiligheidscontrole uit te voeren om ervoor te zorgen dat er geen omstanders in het zicht zijn, en vervolgens een laser te activeren om de mug te doden. Momenteel wordt de techniek onderzocht voor de bestrijding van de Aziatische citrus-bladvlo, een drager van een bacteriële ziekte bij citrus. Deze techniek zou gebruikt kunnen worden om een 'hek' van laserstralen te plaatsen rond deur- en raamopeningen of zelfs langs de hele omtrek van een kas. De techniek bevindt zich echter nog in de experimentele fase.



**Figuur 16** Laser afrastering.

#### 5.1.3 Ontwerp en conclusies clean corridor

De clean corridor zou er als volgt kunnen uitzien: het plantmateriaal wordt via een transportband langs de verschillende detectie- en behandlelementen geleid. Zichtbaar beschadigd en of geïnfecteerd materiaal kan worden geïdentificeerd door middel van vision technieken, en vervolgens worden verwijderd. Asymptomatische (niet zichtbare) ziekten moeten worden geïdentificeerd door biosensoren of met draagbare PCR. Aanwezige insecten kunnen door zuigvallen worden gevangen en gedood. Pathogenen op planten kunnen worden gedesinfecteerd door een combinatie van technieken die elkaar aanvullen, zoals plasma en UV-licht.

Insecteneieren op en in de plant en plagen en ziekten in de bodem vormen de grootste uitdaging. Mogelijk is ioniserende straling hiervoor een kansrijke oplossing. Het negatieve effect ervan op het bodem(micro)leven kan worden gecompenseerd door na behandeling tijdens de daaropvolgende bodembewerking een mengsel van bekende nuttige bodem(micro)organismen toe te voegen. Clean corridors kunnen worden geplaatst bij producenten van plantmateriaal waar het materiaal getest wordt voordat het wordt getransporteerd naar telers, of in de bedrijfshal van de telers zelf. Daarnaast kunnen de deuren en raamopeningen of de hele omtrek van een kas worden beschermd door vallen en een afrastering van laserstralen. De uitdaging zal zijn om een corridor te creëren die effectief is tegen een reeks verschillende ziekten en plagen tegelijkertijd. Het is daarvoor nodig slimme keuzes van de verschillende onderdelen te maken; daarnaast zullen de elementen zodanig moeten worden doorontwikkeld dat ze kunnen worden ingezet voor verschillende plaag / ziekte en plantcombinaties. Gezien de technische mogelijkheden (5.1.1 en 5.1.2) en de reactie van de telers in de workshop (3.2.2) ten aanzien van de toepasbaarheid voor de glastuinbouw, lijkt een clean corridor, waarin detectie- en behandelingselementen voor plagen en ziekten worden gecombineerd, een veelbelovende aanpak om het binnendringen van insecten en ziekteverwekkers in kassen te voorkomen. Een economische evaluatie heeft echter nog niet plaats gevonden.

## 5.2 Luchtdouche

Uit de discussie met de telers (workshop; zie 3.2.2) volgde dat het idee van een luchtdouche als behandelingsmethode in de clean corridor nadere verkenning verdient.

In 2018 is een workshop gehouden met deskundigen uit de tuinbouw, toeleverende industrie en vertegenwoordigers van andere bedrijven en instellingen die actief zijn met hygiëne issues. Uit deze bijeenkomst kwamen een aantal technieken naar voren die mogelijk perspectief zouden hebben voor de tuinbouw. Een van deze technieken is de luchtdouche. De luchtdouche zou een goede rol kunnen spelen bij het voorkomen dat plagen of ziekten via de mens of via plantmateriaal de kas in komen.

Hiervoor hebben wij samen met de tuinbouwtoeleverancier Horticoop een verkenning uitgevoerd of een luchtdouche effectief kan zijn in een glastuinbouw setting, of het economisch gezien interessant is, en hoe deze luchtdouche op de tuinbouwmarkt geïntroduceerd kan worden. Er zijn drie leveranciers van luchtdouches benaderd: Bio-Services, Brecon-Cleanroom en Airmotion. Er kon geen contact verkregen worden met de laatste en er zijn dus gespreken gevoerd met de eerste twee leveranciers.

### 5.2.1 Bio-Services

Bio-Services deelde met ons de onderstaande ervaringen met het gebruik van luchtdouches in relatie tot insecten:

1. Ontwikkeling van een concept bij een producent van natuurlijke vijanden om het ophopen van allergene schubben van mottenvleugels te voorkomen. Systeem werkte op zich maar de bottleneck was dat de zuivering per luchtdouche te lang duurt. Per persoon zijn 1- 2 minuten nodig. Bij een hogere inzet van werknemers, die allen door de luchtdouche in en uit de kas moeten, is dit niet werkbaar.
2. Samenwerking met de Fraunhofer Universiteit van München (D) om een potentiële ontsnapping van malariamuggen uit laboratoria te voorkomen. Het probleem was dat bij de windsnelheden die in de luchtdouches gebruikt worden de muggen aan de testpersonen bleven hangen, en vooral in vouwen van de kleding en in de kraag. Om dit te voorkomen zouden windsnelheden moeten gebruikt worden waarbij een helm tegen potentiële blessures zou moeten worden gebruikt. Gezien het feit dat plagen die in de kas voorkomen vaak nog kleiner zijn dan muggen, en dus nog beter kunnen wegkruipen, lijkt dit niet werkbaar.
3. Als alternatief is voorgesteld het plantmateriaal dat de opwekkruimte verlaat bloot te stellen aan een "vloeiend douche" behandeling. Hierbij worden dan insecten met water, vermengd met een desinfectiemiddel, afgewassen. Hier hadden ze geen ervaring mee, maar ze gaven aan dat ze dit als kansrijker en makkelijker opschaalbaar inschatten dan een luchtdouche.

## 5.2.2 Brecon-Cleanrooms

Brecon deelde de volgende ervaring:

1. Luchtdouches zijn oorspronkelijk ontwikkeld voor het afblazen van stofdeeltjes. Als grotere deeltjes, zoals insecten, moeten worden afgeblazen heeft dit een hogere windsnelheid nodig, waarbij geen 100% efficiëntie bestaat. Er zal altijd iets blijven hangen. Een verhoogde windsnelheid kan potentieel tot blessures van personen leiden of beschadiging van plantmateriaal. Daarnaast is de verblijftijd in de douche zeker 1 minuut per persoon, wat voor grotere groepen werknemers niet werkbaar is. Wellicht zou dit door aaneenschakeling van luchtdouches tot een luchtcorridor op te lossen zijn.
2. Als alternatief is voorgesteld in plaats van personen, fust met of zonder planten op een lopende band, en misschien in combinatie met desinfectie of UV-licht, te behandelen. Omdat de markt voor luchtdouches relatief klein is, hebben zij geen kant en klare luchtdouches als demonstratieobjecten voorhanden. Er is wel de mogelijkheid om zo'n demonstratie unit, naar onze wensen, te laten bouwen.

## 5.2.3 Conclusie

De luchtdouche is op dit moment geen werkbare oplossing om ziekten en plagen uit de kas te houden. De noodzakelijke windsnelheid levert potentiële gevaren voor letsel van personen en beschadiging van plantmateriaal. Bovendien is de relatief lange verblijfsduur per persoon in de douche een beperking in de toepasbaarheid in de praktijk. Daarnaast is geen 100% effectiviteit te verwachten.

## 5.3 Diagnostiek van nog niet zichtbare pathogenen

Uit de discussie met de telers (workshop; zie 3.2.2) werd een tweede prioriteit gelegd bij de diagnostiek van nog niet zichtbare pathogenen, als onderdeel van de clean corridor. Er is voor gekozen om dit voor meeldauw nader te verkennen.

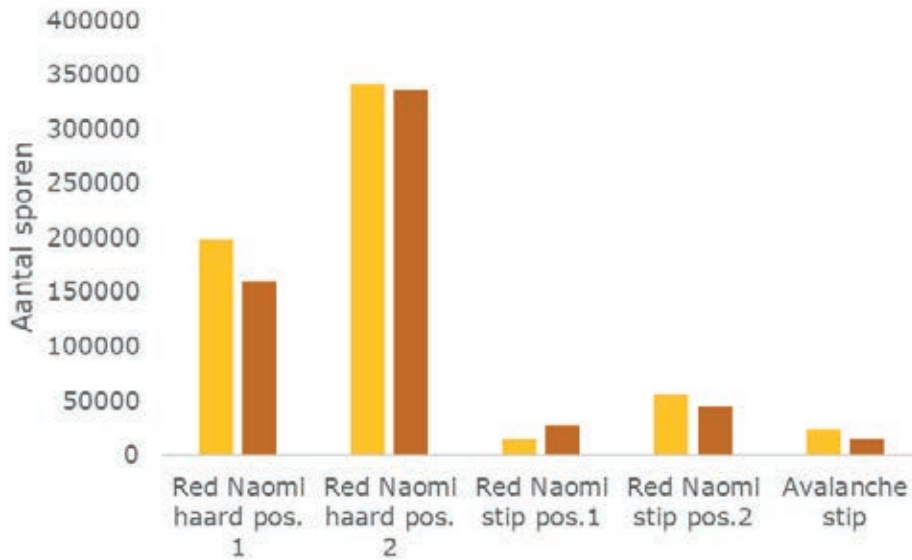
Meeldauw is een veel voorkomende ziekte in de kas in verschillende groente- en siergewassen welke tot grote economische verliezen leidt. Ter voorkoming en bestrijding van worden hoofdzakelijk gewasbeschermingsmiddelen gebruikt. Het frequente gebruik leidt tot opbouw van resistentie tegen deze middelen, en kan leiden tot risico's voor gezondheid en emissies naar het milieu. Daarnaast vermindert het aantal toegelaten middelen door nieuwe EU-regelgeving. De glastuinbouwsector heeft in haar ambitie aangegeven de milieulast verder te willen verlagen. Daarom is het nodig tot een geïntegreerde aanpak (IPM) van meeldauw te komen waarbij plantweerbaarheid een belangrijk onderdeel is. Op het moment van het grootste risico van meeldauwbesmetting wordt de plantweerbaarheid verhoogd om infectie te voorkomen. Het risico van besmetting wordt bij schimmels vastgesteld door de aantal sporen die de kas binnenkomen. Hiervoor is een betrouwbare methode nodig, die meeldauw niet alleen kan diagnosticeren voordat aantasting zichtbaar is, maar die deze ook kan kwantificeren. Omdat meeldauw een obligaat biotrofe schimmel is, kunnen gevangen sporen niet op groeimedia gekweekt en visueel beoordeeld worden. Uitkomst bieden moleculaire qPCR toetsen. Helaas zijn deze alleen kwalitatief en niet kwantitatief. Met dit onderzoek willen we de bestaande kwalitatieve detectie van meeldauw uitbreiden naar kwantitatieve detectie.

### 5.3.1 Aanpak

In Het Kas als Energiebron meeldauw monitoring project wordt in de rozenkas van het Delphy/Improvement Center gekeken naar de relatie tussen het voorkomen van meeldauw en het kasklimaat. Meeldauw aantasting wordt elke week gescoord en er wordt vastgesteld waar de schimmels in de kas voorkomen. Door plaatsen van air samplers worden luchtmonsters genomen. Bestaande qPCR protocollen voor meeldauw worden aan deze bemonstering aangepast en gevalideerd. Door koppeling van de primer-specifieke schimmelamplificatie aan een fluorescerende kleurstof, kan de concentratie van de schimmel zichtbaar en meetbaar gemaakt worden. Hiervoor is de gevoeligheid van de qPCR toetsen aangepast en zijn de nodige ijklijnen ontwikkeld. De gevalideerde toetsprotocollen (zie Bijlage 2) zijn vervolgens gebruikt om metingen op verschillende kaslocaties en hoogtes uit te voeren.

### 5.3.2 Resultaten

De ontwikkelde sporetoets laat een veel hogere aantal sporen van echte meeldauw in roos (*Podosphaera pannosa*) zien bij meeldauwhaarden dan bij beginnende meeldauw infecties (stippen) (Figuur 17). Dit is het geval bij beide rassen Red Naomi en Avalanche. De twee metingen per monster komen goed overeen.

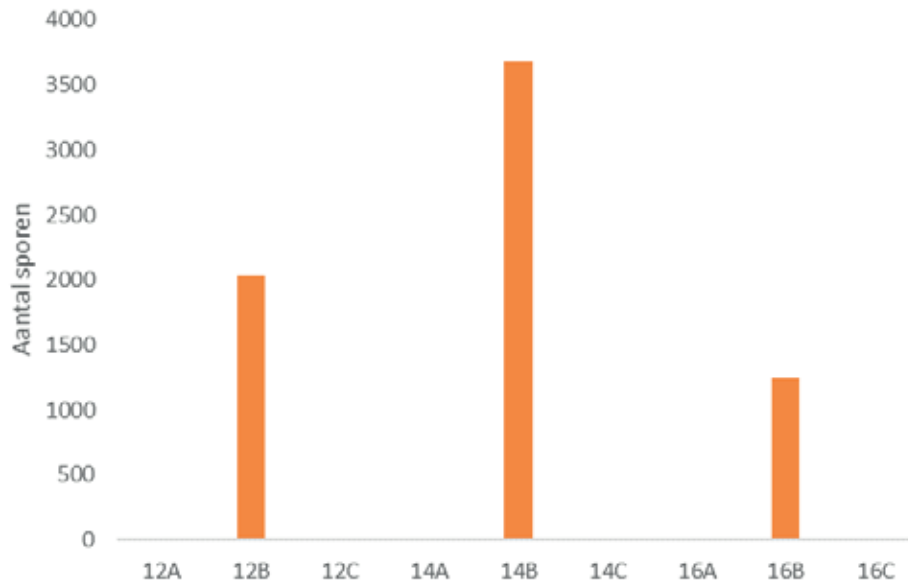


**Figuur 17** Sporen aantallen van echte meeldauw roos (*Podosphaera pannosa*) in meeldauwhaarden en bij beginnende meeldauwinfectie (stippen) van twee rassen (Red Naomi en Avalanche) in de rozenkas van het Delphy Improvement Center. Per monster zijn er twee biologische metingen genomen, hier geïllustreerd in de verschillende kleuren geel en oranje.

Met deze sporen toets zijn de volgende metingen gedaan om de verspreiding van de sporen te bekijken:

### 5.3.2.1 Aantal sporen in de corridor met geopend en gesloten kasdeur

Het aantal sporen van rozenmeeldauw in de corridor voor de kas van de roosmeeldauwkweek (WUR Bleiswijk) is gemeten met de kasdeur dicht (A) en met de kasdeur 3 keer open en dicht doen tijdens de meting (C). Daarnaast zijn het aantal sporen in de kas gemeten (B). Vanuit de literatuur is bekend dat de sporen van rozenmeeldauw vooral rond het middaguur vrijkomen. Daarom hebben wij je 3 metingen gedaan op 3 tijdstippen: 12, 14 en 16 uur. Elk meting is drie keer uitgevoerd.

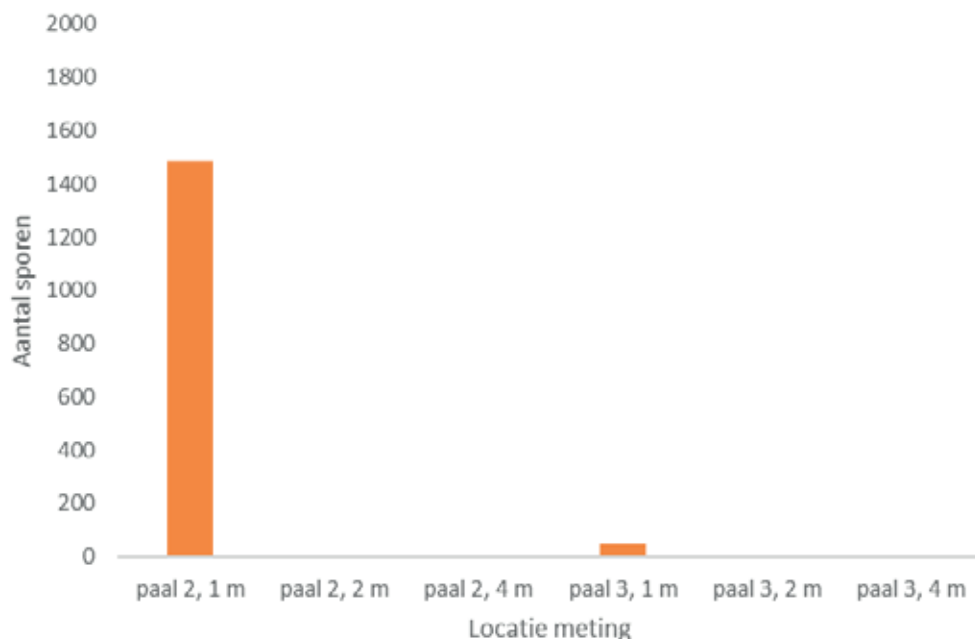


**Figuur 18** Sporenaantallen van echte meeldauw van roos (*Podosphaera pannosa*) in de corridor voor de kas met roosmeeldauwkweek. Metingen zijn gedaan in de corridor met kasdeuren dicht (A), in de kas met kasdeuren dicht (B) en in de corridor met kasdeur drie keer open en dicht doen tijdens de meting (C). Metingen zijn gedaan op de tijdstippen 12, 14 en 16 h. Data representeren het gemiddelde van 3 metingen.

Alleen in de kas zijn sporen aangetoond, waarbij het hoogste aantal om 14.00 h optrad (Figuur 18). Er zijn geen sporen gevonden in de corridor voor de kas. Dit was het geval met gesloten en open kasdeur. Het betekent niet dat er geen sporen zijn maar dat de aantallen zo gering zijn dat ze niet meetbaar zijn. Gezien het feit dat sporen van rozenmeeldauw heel sensitief zijn en alleen kort (enkele uren) zonder rozen kunnen overleven, zijn sporen in de corridor geen belangrijke besmettingsbron. In het algemeen waren de gevonden sporen aantallen relatief laag, vergelijkbaar met een beginnende meeldauw infectie (stippen) in de Delphy kas. In tegenstelling tot de Delphy kas waar het rozengegewas al 5 jaar staat, staat de roosmeeldauw kweek in de WUR kas er minder dan een jaar.

### 5.3.2.2 Aantal sporen op verschillende kas hoogtes

Het aantal sporen van rozenmeeldauw in de rozenkas van het Delphy Improvement Center is op twee locaties op 3 verschillende hoogtes gemeten: 1m, 2m en 4m vanaf de plantmat. Locatie 1 was 1m van een luchtontvochtiger en locatie 2, 3m van een luchtontvochtiger vandaan. Beiden zijn genomen in het ras Red Naomi. Mogelijkerwijs zouden de sporen door de luchtstromen van de luchtontvochtiger verspreid kunnen worden. De metingen 4m hoog zijn met een buisrailwagen gedaan. Elke meting is rond het middaguur drie keer uitgevoerd.



**Figuur 19** Sporen aantallen van echte meeldauw op roos (*Podosphaera pannosa*) op twee locaties (paal 2, 1 m van een luchtontvochtiger en paal 3, 3 m van een luchtvochtiger vandaan) en op drie hoogtes (1, 2, en 4 m van de plantmat) in de rozenkas van het Delphy Improvement Center. Data representeren het gemiddelde van 3 metingen.

Hoogte leek geen invloed op sporenverdeling te hebben (Figuur 19). Sporen zijn alleen op 1m van het bladpakket aangetoond, waarbij het sporenaantal op locatie 2 wezenlijk hoger was dan op locatie 3. Het aantal sporen op grotere hoogte boven de plantmat lijkt zo gering te zijn dat het niet meetbaar is. Op basis van dit resultaat lijkt het aannemelijk dat meeldauwsporen niet door de luchtontvochtigers in hogere luchtlagen gebracht worden en vandaar over de kas verspreid worden. Kanttekening is dat het resultaat op slechts één meting is gebaseerd.

### 5.3.3 Conclusie

Er is een betrouwbare methode ontwikkeld voor meting van meeldauwsporen, waarbij met air samplers luchtmonsters worden genomen die vervolgens met een qPCR worden geanalyseerd. Dit lijkt een belangrijk werktuig om sporendruk en sporenverbreiding te meten. Dit is belangrijk omdat de aanwezigheid van meeldauw zo in een vroeger stadium kan worden gedetecteerd dan nu mogelijk is, en de juiste maatregelen kunnen worden ingezet. Hiermee kunnen overbodige preventieve bespuitingen worden voorkomen. De ervaring is echter nog te beperkt om hier algemene conclusies aan te kunnen verbinden; de techniek zal breder getoetst moeten worden.





## 6 Algemene Discussie en conclusies

Het doel van het project Green Challenges is om systeemsprongen te realiseren om ziekten en plagen te voorkomen dan wel te beheersen om de afhankelijkheid van chemische middelen te verminderen. Dit deelproject richt zich op het onderzoeken van een andere aanpak om ziekten en plagen uit de kas te weren. Hierbij zijn de twee belangrijkste invalsroutes onder de loep genomen: via ventilatieopeningen en via plant- en teeltmaterialen zoals ook mensen.

Voor de invalsroute 'ventilatieopeningen' blijkt uit een verkenning naar de technische mogelijkheden om de (semi-) gesloten kas te herontwerpen tot een ziekte- en plaagdichte kas, dat er zeker verschillende (nieuwe) technische mogelijkheden zijn om de kas af te kunnen sluiten. Of dit effectief, voor de glastuinbouw toepasbaar en economisch haalbaar is, zal echter nader onderzocht moeten worden. Uit een enquête onder gebruikers van (semi-) gesloten en overdruk systemen kwam naar voren dat er naast voordelen ook serieuze teelttechnische en economische nadelen kleven aan deze kassystemen. Het biedt echter vanuit gewasgezondheidsperspectief zeker ook voordelen, met name vanwege betere mogelijkheden om de luchtvochtigheid te beheersen at met name voor de ziektebeheersing belangrijk is, maar ook voor plagen en natuurlijke vijanden relevant is.

Over de toegevoegde waarde van gaas in de ventilatieopeningen werd verschillend gedacht: niet altijd wegen de voordelen van minder invlieg op tegen de nadelen (minder luchtcapaciteit, vervuiling, kosten), temeer daar er ook andere invalsroutes (plant- en teeltmateriaal) zijn. In een workshop met telers werd daarom geconcludeerd dat er eerst meer inzicht moet zijn in het belang van de invalsroute via de luchtramen. In dit project is een begin gemaakt met een studie hiernaar. Een eerste voorzichtige conclusie is dat verschillende tripssoorten inderdaad van buiten de kas kunnen komen, maar dat de aantallen en soorten binnen geen directe afspiegeling zijn van die van buiten. Voor hardere en bredere conclusies over het belang van deze invalsroute is langlopend en grootschalig onderzoek nodig.

Tegelijkertijd weten we ook dat slechts enkele organismen die binnenkomen zich tot een plaag ontwikkelen. In plaats van de kas tot onneembaar fort te maken, en een 'steriel' systeem na te streven is een kansrijkere aanpak het opbouwen van een weerbaar teeltsysteem dat indringers goed op kan vangen. Deze ontwikkeling is volop aan de gang in onderzoek en de praktijk. Een volgende stap zou moeten zijn dit uit te breiden naar een 'weerbare kasomgeving' waarbij potentiële plagen buiten de kas al worden opgevangen door natuurlijke vijanden of kunnen worden voorkomen door een uitgekende vegetatie.

Uit de enquêtes en workshops blijkt dat telers de invalsroute 'via uitgangs- en teeltmaterialen' als een van de belangrijkste (zo niet de belangrijkste) route zien. Mede daarom is de verwachting dat de meerwaarde van een ziekte- en plaagdichte kas maar heel beperkt is. Kansrijker is in dat opzicht een clean corridor die juist de invalsroute 'via uitgangs- en teeltmaterialen' aanpakt.

In het project is een concept van de clean corridor met daarin zowel elementen voor detectie als behandeling/eliminatie van ziekten en plagen ontworpen. Er zijn voor zowel detectie als behandeling/eliminatie diverse technieken voorhanden die ook perspectief bieden op toepasbaarheid in de glastuinbouw. Of deze technieken daadwerkelijk effectief en praktisch zijn voor glastuinbouw omstandigheden en glastuinbouw ziekte/plaag-plant combinaties, zal proefondervindelijk vastgesteld moeten worden.

Twee onderdelen zijn nader uitgewerkt; deze zijn geselecteerd op basis van prioritering door de telers in een workshop. Dit betreft het verwijderen van insecten, waarbij een verkenning is uitgevoerd naar mogelijkheden met een luchtdouche, en diagnostiek van nog niet zichtbare pathogene infecties, in deze studie gericht op meeldauw. De luchtdouche zou een goede rol kunnen spelen bij het voorkomen dat plagen of ziekten via de mens of via plantmateriaal de kas in komen. Echter, uit gesprekken met toeleveranciers en deskundigen op het gebied van stof- en luchtdouches bleek deze techniek op dit moment geen effectieve en veilige oplossing te zijn voor een glastuinbouwomgeving. Er zijn echter nog diverse andere technieken voor verwijdering van insecten geïdentificeerd die de moeite van nadere verkenning waard zijn. Met betrekking tot de diagnostiek van meeldauw in een vroeg stadium is een betrouwbare methode ontwikkeld voor meting van meeldauwsporen.

Eerste tests zijn veelbelovend, maar deze techniek zal nader onderzocht moeten worden onder verschillende omstandigheden. De verwachting is dat hiermee preventieve behandelingen en/of de introductie van besmet plantmateriaal in de kas kan worden voorkomen. Dit is slechts één voorbeeld van een detectietool die deel kan uitmaken van een clean corridor; het verdient de aanbeveling om diverse andere technieken voor detectie nader te onderzoeken.

# Literatuur

- Barkai –Golan R, Follett P (2017).  
Irradiation for quality improvement microbial safety and phytosanitation of fresh produce. Academic Press, Cambridge, Massachusetts, US.
- Carletti L, Botondi R, Moscetti R, Stella E, Monarca D, Cecchini M, Massantini R (2013).  
Use of ozone in sanitation and storage of fresh fruits and vegetables. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 11: 585-589.
- Delalieux S, van Aardt J, Keulemans W, Schrevens E, Coppin P (2007).  
Detection of biotic stress (*Venturia inaequalis*) in apple trees using hyperspectral data: Non-parametric statistical approaches and physiological implications. *European Journal of Agronomy* 27:130-143.
- Donohue KV, Bures BL, Bourham MA, Roe RM (2006).  
Mode of Action of a Novel Nonchemical Method of Insect Control: Atmospheric Pressure Plasma Discharge. *Journal of Economic Entomology* 99: 38-47.
- Espinoza K, Valera DL, Torres JA, Lopez A, Molina-Aiz FD (2016).  
Combination of image processing and artificial neural networks as a novel approach for the identification of *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* on sticky traps in greenhouse agriculture. *Computers and Electronics in Agriculture* 127: 495-505.
- Fang Y, Ramasamy P (2015).  
Current and prospective methods for plant disease detection. *Biosensors* 4: 537-561.
- Grashof-Bokman G, Messelink GJ, Ozinga W, Vna Holstein-Saj R, Bloemard C, Woelk J, Meeuwse H (2019).  
Groenbeheer en plaag(bestrijdende) insecten nabij kassen in de gemeente Westland. Wageningen Environmental Research, Rapport 2946.
- Gómez-López VM, Ragaert P, Debevere J, Devlieghere F (2007).  
Pulsed light for food decontamination: a review. *Trends in Food Science & Technology* 18: 464-473.
- Hallman GJ, Zhang QH (1997).  
Inhibition of Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) Development by Pulsed Electric Field. *Florida Entomologist* 80: 239-248.
- Hallman GJ, Levan-Brilz NM, Zettler L, Winborne IC (2010).  
Factors affecting ionizing radiation phytosanitary treatments and implications for research and generic treatments. *Journal of Economic Entomology* 103: 1950-1963.
- Hindson BJ, Makarewicz, Setlur UJ, Henderer BD, McBride MT, Dzenitis JM (2005).  
APDS: the autonomous pathogen detection system *Biosensors and Bioelectronics* 20: 1925-1931.
- Jakobsen, L., M. Brogaard, A. Enkegaard, and H. F. Brodsgaard. (2006).  
Dynamic and traditional greenhouse climate regimes: Influx of thrips (Thysanoptera). *HortScience* 41:389-393.
- Kennedy R, Wakeham AJ, Byrne KG, Meyer UM, Dewey FM (2000).  
A new method to monitor airborne inoculum of the fungal plant pathogens *Mycosphaerella brassicicola* and *Botrytis cinerea*. *Applied Environmental Microbiology* 66: 2996-3000.
- Kobayashi T, Kanda E, Kitada K, Ishiguro K, Torigoe Y (2001).  
Detection of rice panicle blast with multispectral radiometer and the potential of using airborne multispectral scanners. *Phytopathology* 91: 316-323.
- Koutchma TN, Forney LJ, Moraru CI (2009).  
Ultraviolet light in food technology. In: *Principles and Applications*. CRC Press, Taylor & Francis Group. Boca Raton, Florida, US.
- Kreitner M, Wagner K-H, Alth, G, Ebermann, R, Foiby H, Elmadfa I (2001).  
Haematoporphyrin- and sodium chlorophyll induced phototoxicity towards bacteria and yeasts: a new approach for safe foods. *Food Control* 12: 529e533.
- Kumar A, Dash SK, Suman DPS (2015).  
DNA based biosensors for detection of pathogens. In: *Plant Fungal Disease Management*, Westville: New York, NY, USA: pp. 31-35.
- Lacombe A, Niemira BA, Gurtler JB, Fan X, Sites J, Boyd G, Chen H (2015).  
Atmospheric cold plasma inactivation of aerobic microorganisms on blueberries and effects on quality attributes. *Food Microbiology* 46: 479-484.

- Ling Tiwari G, Wang S (2015).  
Pest control by microwave and radio frequency energy: dielectric properties of stone fruit. *Agronomy for Sustainable Development* 35: 233-240.
- López MM, Lop P, Olmos A, Marco-Noales E, Cambra M, Bertoline E (2009).  
Are molecular tools solving the challenges posed by detection of plant pathogenic bacteria and viruses? *Current Issues Molecular Biology* 11: 13-46.
- Lukšiene Z (2005).  
New approach to inactivation of harmful and pathogenic microorganisms by photosensitization. *Food Technology and Biotechnology*, 43, 411e418.
- Lukšiene Z, Pečiulyte D, Jurkoniene S, Puras R. (2005).  
Inactivation of possible fungal food contaminants by photosensitization. *Food Technology and Biotechnology*, 43, 335e341.
- Mairhofer J, Roppert K, Ertl P (2009).  
Microfluidic systems for pathogen sensing: a review. *Sensors* 9: 4804-4823.
- Mankin RW, Hubbard JL, Flanders KL (2007).  
Acoustic indicators for mapping infestation probabilities of soil invertebrates. *Journal of Economic Entomology* 100: 790-800.
- Mankin RW, Hagstrum DW, Smith MT, Rods AL, Kairo MTK (2011).  
Perspective and promise: a century of insect acoustic detection and monitoring. *American Entomologist* 57: 30-44.
- Martín-Belloso O, Soliva-Fortuny R (2011).  
Pulsed Electric Fields Processing Basics In: *Nonthermal Processing Technologies for Food*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, pp. 155-175.
- McCartney HA, Fitt BDL, Schmechel D (1997).  
Sampling bioaerosols in plant pathology. *Journal of Aerosol Science* 28: 349-364.
- McNamara, NP, Black HIJ, Beresford NA, Parekh NR (2003).  
Effects of acute gamma irradiation on chemical, physical and biological properties of soil. *Applied Soil Ecology* 24:117-132.
- Mireei SA, Amini-Pozveh, Nazeri M (2016).  
Selecting optimal wavelength for detection of insect infested tomatoes based on SIMCA-aided CFS algorithm. *Postharvest Biology and Technology* 123: 22-32.
- Misra NN, O. Schlüter O, Cullen PJ (2016).  
*Cold Plasma in Food and Agriculture*. San Diego, Academic Press US.
- Neven LG, EJ Mitcham (1996).  
CATTS (Controlled Atmosphere/Temperature Treatment System): A Novel Tool for the Development of Quarantine Treatments. *American Entomologist* 4: 56-59.
- Neven LG, Rehfield-Ray L (2006a).  
Confirmation and efficacy tests against codling moth and oriental fruit moth in apples using combination heat and controlled atmosphere treatments. *Journal of Economic Entomology* 99: 1620-1627.
- Neven LG, Rehfield-Ray L (2006b).  
Combined heat and controlled atmosphere quarantine treatments for control of western cherry fruit fly in sweet cherries. *Journal of Economic Entomology* 99: 658-663.
- Quadvlieg W, Hofland-Zijlstra J, Hollinger T, Noordam M, Sloopweg C, van den Broek R, van der Kolk J-P, van Ruijven J, Stijger I (2016).  
Ontwikkeling van toepassingen met plasmawater in de glastuinbouw. Rapport GTB-1391.
- Ribeiro C, Canada J, Alvarenga B (2012).  
Prospects of UV radiation for application in post-harvest technology. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 24: 586-597.
- Sampson C, Kirk WDJ (2013).  
Can mass trapping reduce thrips damage and is it economically viable? Management of the western flower thrips in strawberry. *Plos One* 8: e80787.
- Schaad NW, Opgenorth D, Gauth P (2002).  
Real-time polymerase chain reaction for one-hour on-site diagnosis of Pierce's disease of grape in early season asymptomatic vines. *Phytopathology* 92: 721-728.

- Schlüter O, Ehlbeck J, Hertel C, Habermeyer M, Roth A, Engel K-H, Holzhauser T, Knorr D, Eisenbrand G (2013). Opinion on the use of plasma processes for treatment of foods. *Molecular Nutrition & Food Research* 57: 920-927.
- Schweigkofler W, Otrrosina WJ, Smigh SL, Cluck DR, Maeda K, Kabir G *et al.* (2005). Detection and quantification of *Leptographium wageneri*, the cause of black-stain root disease, from bark beetles (Coleoptera: Scolytidae) in Northern California using regular and real-time PCR. *Canadian Journal of Forest Research* 35: 1798-1808.
- Shin JH, Hong J, Go H, Park J, Kong M, Ryu S, Kim K-P, Roh E, Park J-K (2018). Multiplexed detection of foodborne pathogens from contaminated lettuces using a handheld multistep lateral flow assay device. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66: 290-297.
- Singh S, Singh M, Agrawal VV, Kumar A (2010). An attempt to develop surface plasmon resonance on nano-gold based lateral flow immuno-dipstick test. *Thin Solid Films* 519: 1156-1159.
- Skottrup PD, Nicolaisen M (2008). Towards on-site pathogen detection using antibody-based sensors. *Biosensors and Bioelectronics* 4: 339-348.
- Tomlinson JA, Boonham N, Hughes KJD, Griffin RL, Barker I (2005). On-site DNA extraction and real-time PCR for detection of *Phytophthora ramorum* in the field. *Applied Environmental Microbiology* 71: 6702-6710.
- Umansankar Y, Ramasamy RP (2013). Highly sensitive electrochemical detection of methyl salicylate using electroactive gold nanoparticles. *Analyst* 138: 6623-6631.
- van Epenhuijsen CW, Bodger PS, Koolaard JP, Woudberg JJ, Johnstone PT (2001). Electromagnetic treatment of New Zealand flower thrips (*Thrips obscuratus*, Thysanoptera: Thripidae) in deionized water. *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy* 36: 187-192.
- van Hoogstraten 2018  
Kerstrozenteler zet slimme stofzuiger in tegen varenrouwmuggen. *Onder Glas* 2: 19-21.
- van Kruistum G, Hoek H, Verschoor J, Molendijk L (2012). Controlled Atmosphere Temperature Treatment as sustainable alternative to control strawberry tarsonemid mites and plant parasitic nematodes in strawberry plants. *Acta Horticulturae* 926: 601-608.
- van Kruistum, G. Verschoor J, Hoek H (2014). CATT as a non-chemical pest and nematode control method in strawberry mother planting stock. *Journal of Berry Research* 4: 29-35.
- Yao KS, Li SJ, Tzeng KC, Cheng TC, Chang, CY, Chiu, CY, Liao CY, Hsu JJ, Lin ZP (2009). Fluorescence silica nanoprobe as a biomarker for rapid detection of plant pathogens. *Advanced Material Research* 79: 513-516.
- Yun SH, Koo HN, Kim HK, Cho S, Kim GH (2015). Effects of electron beam irradiation on six insect pests in different sections of flower boxes for export. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 18: 629-636.
- Yun SH, Koo HN, Kim HK, Yang J, Kim GH (2016). X-ray irradiation as a quarantine treatment for the control of six insect pests in cut flower boxes. *Journal of Asia Pacific Entomology*: 19: 31-38.
- Zhang M, Qin Z, Liu X, Ustin SL (2003). Detection of stress in tomatoes induced by late blight disease in California, USA, using hyperspectral remote sensing. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformatics* 4: 295-310.
- Zijlstra C, Lund I, Justesen AF, Nicolaisen M, Kryger Jensen P, Bianciotto V, Posta K, Balestrini R, Przetakiexicz A, Czembor E, van de Zande J (2009). Combining novel monitoring tools and precision application technologies for integrated high-tech crop protection in the future (a discussion document). *Pest Management Science* 67: 616-625



# Bijlage 1 Measures to prevent entrance of pests and diseases in the greenhouse

## 1. Sterilization of airflow entering the greenhouse

The majority of high-tech greenhouses in The Netherlands nowadays are managed in a semi-closed way, that is, natural ventilation is not completely avoided, but minimized, mainly for energy saving purposes, and a large part of the ventilation requirements for de-humidification are realized by mixing internal greenhouse air with external air in a heat exchange unit.

Then, a possible way to minimize the entrance of pests, bacteria, fungi and even virus would be to sterilize the air before delivering it back to greenhouse. Most of the knowledge available on the technical possibilities for air sterilization/decontamination comes from the experience on different types of buildings, where airflow and ventilation are already key factors in people's comfort, health and productivity, building design, and energy efficiency. Air security has become the next frontier, and it is considered also to improve the health of the day-to-day air in a modern facility.

Therefore, the knowledge accumulated in air decontamination for other types of buildings could also be used for its application in a special kind of building, the greenhouse, in which we want to prevent the entrance of pathogens affecting the crops. Active decontamination technologies such as ultraviolet light (UV) and high efficiency particulate air (HEPA) filters have previously been used for germicidal air cleansing in infectious disease wards and laboratories. However applying these decontamination processes or other experimental technologies to the high airflow ventilation systems of modern greenhouses presents a new set of challenges. It requires a fundamental rethinking of many elements of HVAC design, from the location and security of air ducts, to the integrity and protection of air controls, and the organization, layout, and construction of the active decontamination components for the systems themselves.

### A. Air Filtration

The simplest solution to disinfecting the air is to capture offending particles in a filter mesh of some kind. The development of high efficiency particulate air (HEPA) filters has made it possible to efficiently clear the air of particles down to 0.3  $\mu\text{m}$  (micrometers) in size, with smaller particles captured to varying degrees. Viruses are the smallest, ranging in size from 0.01  $\mu\text{m}$  to 0.4  $\mu\text{m}$ , while fungal spores are at the upper end of the range and can be larger than 20  $\mu\text{m}$ . Bacteria range in size from 0.5 to 10  $\mu\text{m}$ . The relevant size measurement used in aerosol science is the aerodynamic diameter. This diameter is usually different from the actual particle size of microorganisms, and accounts for the non-spherical nature of the cells. This parameter is more useful for predicting aerodynamic behaviour of a particle in air.

Aerodynamic diameter	Example Biological particle	Significance
>10 $\mu\text{m}$	Large fungal spores, large pollen grains	Will usually be removed from air by settling
>10 $\mu\text{m}$ to 2.5 $\mu\text{m}$	Larger bacteria, fungal spores.	Course fraction of $\text{PM}_{10}$ . Deposited in upper level of respiratory tract.
2.5 $\mu\text{m}$ to 0.5 $\mu\text{m}$	Smaller bacteria and their spores	Deposits into lower portion of lungs
0.5 $\mu\text{m}$ to 0.01 $\mu\text{m}$	Viruses, allergenic components of fungi or bacteria	Lowest level of lungs, removed less effectively by HEPA filtration

**Figuur 1** HEPA filters are made from numerous synthetic fibers that are laid down in overlapping, random order.

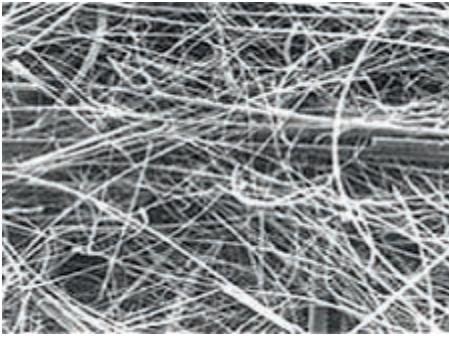
The idea is not to restrict particle passage by capturing target pathogens between closely spaced threads, but to divert and convolute the passageways of airflow. As airflow twists and turns through the overlapping threads, heavier objects—such as pests, bacteria, spores, virus particles, or toxins that are in particle form—will not be able to keep up due to their greater inertia in relation to air molecules. The slower particles will hit the threads and be stopped. Since the synthetic fibers are designed to be "sticky," these particles lodge into the filter elements and are captured. Because HEPA filters capture the microorganisms, plant health effects caused by live microorganisms (infectious disease). HEPA filters are widely used in clean rooms and in portable room air purification units.

The specification usually used in the European Union is the European Norm EN 1822:2009. It defines several classes of HEPA filters by their retention at the given most penetrating particle size (MPPS):

HEPA class	retention (total)	retention (local)
E10	> 85%	---
E11	> 95%	---
E12	> 99.5%	---
H13	> 99.95%	> 99.75%
H14	> 99.995%	> 99.975%
U15	> 99.9995%	> 99.9975%
U16	> 99.99995%	> 99.99975%
U17	> 99.999995%	> 99.9999%

Today, a HEPA filter rating is applicable to any highly efficient air filter that can attain the same filter efficiency performance standards as a minimum. There are a number of limitations with HEPA filters that make it essential to combine filtration with other technologies in order to ensure effectiveness in a ventilation system. First, HEPA filters will work well (99.97% efficiency) for particles down to about 0.3  $\mu\text{m}$ . Secondly, even a tiny puncture in a filter, or a manufacturer's bad quality batch, can significantly reduce performance. Thirdly, installation quality is of critical importance, and leaks or poorly fitting frames can destroy the integrity of the filtration system. Finally, the installation of HEPA filtration in the plenums of major building HVAC systems has a significant impact both on airflow throughput and energy consumption. Besides, pests and pathogens can find other ways to enter the greenhouse, such as doors, micro cracks in the glass or structure. Also the additional costs to consider are the replacement and disposal of the filters.



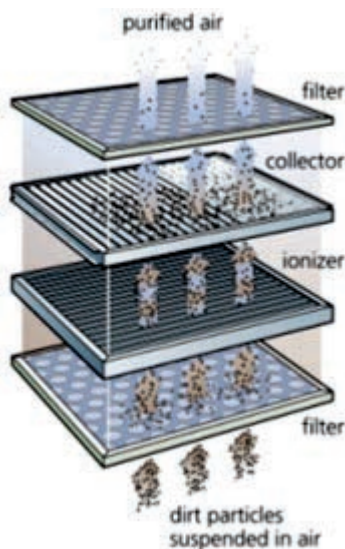


**Figuur 2** HEPA filter fibers.

Another well-known filtration technology is based on electrostatic precipitation. Electrostatic filters precipitate particles out of the air by passing contaminated air through a highly charged field (ionizer). Particles are charged and then captured on electrode plates with the opposite charge (collector). Three key factors make this a good home technology but less effective in large buildings:

1. Electrostatic systems need to slow the air flow substantially to allow all particles to be charged—an issue which is possible with exhaust pollutants but may be impossible to achieve in big HVAC systems for a greenhouse.
2. These filters require large amounts of energy per volume of air decontaminated.
3. A by-product of the process, ozone is itself a dangerous pollutant with significant risks.

Ozone will be produced in large quantities in any industrial electrostatic application. Recently, bacteria and fungi removal has been tested in smaller ozone free electrostatic precipitators. For the precipitators tested, the maximum removal efficiency was 81%. Smaller size microorganisms were more difficult to remove, making the use of this technology more tentative for virus removal.



**Figuur 3** An electrostatic precipitator contains two components, an ionizer and a collector. The ionizer gives a positive charge to dirt particles in the incoming airstream, which then adhere to a negatively charged collector. The resultant outgoing air is cleaned and purified.

Graphic source: Precision Graphics.

## B. Ultraviolet Irradiation

The ability of UV radiation—a portion of the electromagnetic spectrum from 100nm–400nm—to inactivate biological pathogens has long been known. UV radiation works by damaging the DNA and other cell components of a microorganism to the point that the cell cannot replicate. Cells that have been exposed to UV may still be viable, they just cannot replicate, and therefore they are not infectious. Ultra Violet Germicidal Irradiation or UVGI generally refers to UV wavelength of 254.7 nm. The wavelength is near optimal for damaging nucleic acid (DNA, RNA). UV irradiation by itself does not clean air. The microorganisms are still there, but they are not infectious anymore.

UV irradiation is commonly used in the disinfection of nutrient solution in closed soilless systems. Although to a lesser extent, UV has also been used in the disinfection of air, mostly in health care settings. Anecdotal health information as well as laboratory research suggests it is an effective technology for inactivating airborne viruses, bacteria and their spores. However, there is a significant difference between addressing disease-causing organisms in a laboratory setting, and ensuring that deadly biological warfare pathogens are completely removed from an airstream. Installation, construction, and design of UV systems must be of paramount importance, and a focus of air decontamination must now include securing air streams in ducts and HVAC systems from outside infiltration. In November 2002, a major research study funded in part by the U.S. Department of Energy titled "Defining the Effectiveness of UV Lamps Installed in Circulating Air Ductwork" (PDF 1.36 MB, 49 pgs) attempted to determine the effectiveness of UV germicidal radiation in inactivating bacteria and spores in a "typical" HVAC duct environment. The results are encouraging. The inactivation effectiveness can be very high (greater than 90%) for bacteria, although efficacy is less so for more resistant bacterial and fungal spores. Viruses were not tested in the study but research in the author's laboratory indicates that a highly UV-resistant virus (bacteriophage MS2) is less resistant to UV radiation (in air) than bacterial *Bacillus Subtilis* spores (regarded as the most resistant bacteria to UV radiation). Inactivation rates used for the design of UVGI systems should be determined from experiments where the microorganism has been aerosolized. Rates derived from agents suspended in water or irradiated on agar plates generally underestimate the airborne inactivation rate. In many cases, this may provide a desirable factor of safety. In other cases, it may lead to the expensive over-engineering of a system or unwarranted increases in operational costs. Laboratory research has also determined that air temperature, relative humidity, flow rate, lamp design, and ballast engineering have significant impacts on the effectiveness of these systems. Furthermore, the location of the decontamination UV array is of crucial importance because of the potential for air eddies and corners of ducting to allow some of the flow to pass through untreated. HVAC systems designers and control contractors will have to factor these components into their plans, and base decontamination systems designs on tested parameters in order to ensure maximum effectiveness. Because of the constant airflow in modern ventilation systems, making this work in an HVAC system requires coordination between dampers (in order to slow the passage of the air enough to allow all particles to receive a sanitizing ray of UV light) and the UV light itself.

There is a number of commercial solutions in the market already for UV air sterilization:

<http://www.americanultraviolet.com/hvac-air-duct-system.cfm>

<http://ultraviolet.com/uv-air-surface/>

<http://www.sanuvox.com/en/sanuvox-process.php>

<http://www.howatherm.de/web/EN/products/uvairsterilization/>

<http://www.light-sources.com/solutions/germicidal-uvc-lamps/uv-light-applications/air/air-sterilization/>

<http://www.lumalier.com/>

The effectiveness of UV light as a germicidal agent has resulted in two other techniques for decontamination. Pulsed UV (PUV) involves pulsing UV lamps at high power at regular intervals. This technology is being increasingly applied for air and surface sterilization and decontamination due to the powerful use of advanced UV light lamps and efficient energy consumption. This is a procedure, which appears to have certain advantages of very high inactivation rates for most known microorganisms. PUV is also effective on very hazardous and "hard-to-break" toxic organic compounds and odors from water, air, or surfaces without producing ozone at a very high speed. These systems use mercury-free flash lamps that emit pulses at such high energy that the cells are actually physically destroyed. To have this mechanism work, the rate of the energy deposition into a microorganism (the fluency rate) must be higher than its rate of cooling to a surrounding media. In this case, a microorganism undergoes momentous overheating and disintegration. It is shown that only the Pulsed UV light of a broad spectra can effectively do this work while Pulsed White Light (PWL) plays no role. Because of this disintegration action on a microorganism, this pulsed UV sterilization method is named as the Pulsed UV Disintegration (PUVD). Advantages and limitations of this method are compared with those of other established sterilization methods. Pulsed UV can sterilize and disinfect by producing greater than 6 log kills of microorganisms spores and organic compounds.

More information can be found on: [http://www.polytec.com/fileadmin/user\\_uploads/Products/Lichtquellen/Xenon\\_Blitzlampen/Documents/PH\\_HL\\_XEN\\_Sanitization\\_and\\_Sterilization.pdf](http://www.polytec.com/fileadmin/user_uploads/Products/Lichtquellen/Xenon_Blitzlampen/Documents/PH_HL_XEN_Sanitization_and_Sterilization.pdf)

### C. New/Experimental Technologies

A number of other technologies, new or at a more experimental stage, may be useful for decontaminating air in greenhouses.

One process is called ozonation. Ozone is piped into an air chamber where it is thoroughly mixed with air. Ozone reacts with organic particles and pathogens, oxidizing microorganisms and other chemical toxins. While there may be applications in decontaminating a room, this technology is not applicable to flow in a ventilation system. Additionally, ozone generation is energy intensive. Removing the ozone from the airstream is complex, and involves the use of synthetic catalytic compounds that lose effectiveness over time as they are saturated with the gas molecules. While there have been successful water sterilization systems developed using ozone, the process has yet to be tested on airborne pathogens. The EPA lists ozone as a priority air pollutant and warns that levels of ozone required to inactivate airborne microorganisms would be in excess of the current ozone standards. The EPA publication, "Ozone Generators that are Sold as Air Cleaners: An Assessment of Effectiveness and Health Consequences," states: "Available scientific evidence shows that at concentrations that do not exceed public health standards, ozone has little potential to remove indoor air contaminants. If used at concentrations that do not exceed public health standards, ozone applied to indoor air does not effectively remove viruses, bacteria, mold, or other biological pollutants."

Photocatalytic oxidation is another sterilization technology and is based on the production of several highly reactive short-lived chemical compounds—oxygen-based radicals and ions—that are effective in microorganism disinfection and neutralizing volatile organic compounds (VOCs) or other chemical aerosols. These reactive compounds are produced by applying short wavelength light (sunlight works well) to titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) coatings. Oxidant coatings can be put in paints on walls or used to coat HEPA filters. The effectiveness of photocatalytic oxidation has been well documented in publish research. Usually the microorganism is completely destroyed. While power consumption is low, high enough efficiency has not been demonstrated. It is possible that photocatalytic oxidation may have a place in decontamination systems of the future.

Another chemical filtration technology that has been proposed is the use of activated carbon (AC) filters. Carbon adsorption operates by virtue of the large surface area of activated carbon and the tendency for these surfaces to trap and hold onto large organic molecules. A grain of activated carbon has a tremendous amount of surface area. Activated charcoal is charcoal that has been treated with oxygen to open up millions of tiny pores between the carbon atoms. Advances in manufacturing techniques have resulted in highly porous charcoals that have surface areas of 300-2,000 square meters per gram. Activated charcoal is good at trapping other carbon-based impurities ("organic" chemicals), as well as things like chlorine. Many other chemicals are not attracted to carbon at all—sodium, nitrates, etc.—so they pass right through. This means that an activated charcoal filter will remove certain impurities while ignoring others. It also means that, once all of the bonding sites are filled, an activated charcoal filter stops working. At that point you must replace the filter. AC filters can be a breeding ground for microorganisms. While carbon adsorption is a common technology in VOC removal from airstreams its effectiveness in removing biological pathogens in a ventilation application is not known.

Despite of all this, in practice, growers tend to use natural ventilation more and more as the cycle progresses towards the high radiation months, as cooling/dehumidifying the greenhouse by natural ventilation is much cheaper than mechanical cooling, when conditions of the outside air meet the requirements in terms of temperature and humidity content. In such case, air entrance takes place through the roof vents and possibilities of treating the air on each vent are complicated and uneconomic. A possible way to prevent this is to ensure that all roof vents are working as air outlets, and for that a positive pressure mechanical ventilation system must be used.

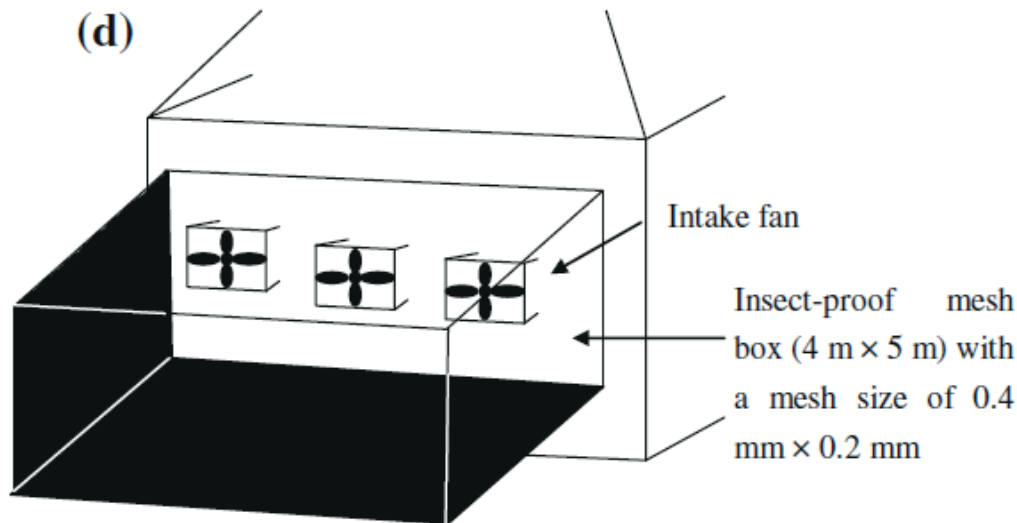
## 2. Positive pressure greenhouse

A positive pressure ventilation system with screening can offer several advantages over standard exhaust systems. Maintaining internal greenhouse pressures at high enough pressure that air velocities out through open doors, or other openings in the structure, exceed the flying speed of the insects of concern should be more effective in excluding insects than an exhaust system which tends to draw insects in through openings. With proper design, insect exclusion can be achieved with only one application of screening at the air inlet and small openings in the greenhouse glazing should not provide easy entry for insects.

In practice, the usual system used for dehumidification in Dutch greenhouses, which normally provides a rather low airflow ( $\sim 10 \text{ m}^3/\text{m}^2\text{h}$ ) could be over dimensioned to provide enough cooling capacity during the warmer months, thus airflow should be much larger, capable of providing enough pressure that would cause air to leave the greenhouse through the openings. With this system, air could be also sterilized previously using one or a combination of the above described methods.

The effect of wind speed on window opening and airflow under windy conditions could be a problem and should be investigated. A possible solution would be to open vents a lower percentage under windy conditions. A lower outlet area ensures a higher air velocity through the vents. Whether this air velocity is enough to compensate for the wind pressure on the vent should be a matter of study. It should be also a matter of study

There are hardly any literature studies dealing with the performance of positive mechanical ventilation greenhouses. Sugiyama *et al.* (2014) conducted a preliminary comparison of greenhouses using positive-pressure forced ventilation (PFV) systems and natural ventilation (NV) systems, and assessed the effectiveness of both systems for preventing the invasion of greenhouses used to cultivate tomatoes by insect pests. Their results showed that the PFV system was effective for preventing invasion by leafminers and partially effective for preventing invasion by whiteflies, but not effective for preventing invasion by thrips. However, it must be also highlighted that the reason for this might be that in the trial a screen with a mesh size of 0.4 mm x 0.2 mm, too large to prevent the entrance of smaller pests like white fly or thrips (Figure 4).



**Figuur 4** Layout of the positive pressure mechanical ventilation system tested by Segiyama et al.(2014). Choosing a smaller mesh must be done at the expense of a larger airflow and therefore, at a larger energy use.

### 3. Optimizing greenhouse insect screening

Insect proof screens are based on the principle of physical exclusion. The idea is to install the screens before any possible air inlet or outlet in the greenhouse (vents, before fans, etc.) to prevent the entrance of different pests. This is achieved by using a screen with hole sizes that must be smaller than average max. width of the target insect/s to be excluded.

The smaller the insect to be excluded, the smaller the holes, and normally, the smaller is the porosity and therefore, air flow is also decreased. If air exchange is strongly decreased, then temperature and humidity inside the greenhouse become larger and CO<sub>2</sub> supply from external air also decreases.

In the last years, many research works have been performed aimed at understanding better the efficiency of insect proof screens, their effect on greenhouse microclimate and also trying to develop new screens which have additional prevention mechanism other than the physical limitation. A number of new developments include Screens with modified geometries.

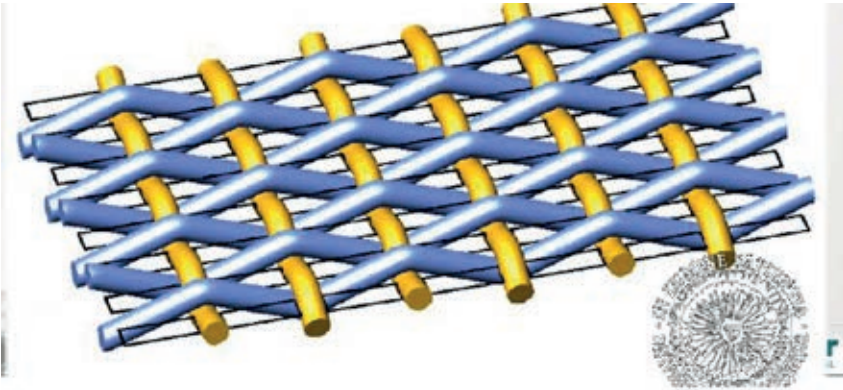
The large majority of screens used for prevention of pest entrance in the greenhouse are made by cylindrical filaments which are woven. This all means that in practice, that considering the screen and its holes as a two dimensional entity is not correct. In fact, the 3D nature of the screen and its holes (Figure 5) should be considered and then the diameter of the holes is larger than the 2D diameter, and thus the first one should be used as the reference measurement to compare with insect maximum width.

Cabrera *et al.* (2006) proposed modified equations to calculate the real 3D diameter of woven screens and real 3D porosity. They also proposed that optimum screens are those that have maximum efficiency in the exclusion of the target insect/s with minimum reduction of air flow. The best way to achieve this is to decrease the diameter of the threads, so that the screen must have more holes of smaller size. In this work, several examples of optimum screens for *B. tabaci* and *F. occidentalis* were proposed assuming a thread diameter of only 0.19 mm.

A possibility to increase the efficiency of insect proof screens would be to eliminate the 3D effect caused by woven of the threads. That could be achieved by perforating plastic films with the desired hole size or in the way a Spanish company attempted some years ago: producing a woven screen and then apply heat and pressure to fuse the threads and "convert" the screen in a 2D screen.



a)



b)

**Figuur 5 a)** Adult of **b)** *tabaci* on a woven insect proof screen The 3D nature of the holes on woven screens can be observed. **b)** 3D perspective of drawing of a woven insect screen.

# Bijlage 2    Protocollen behorend bij het kwantificeren van meeldauwsporen in luchtmonsters

## 1. Luchtmonsters verwerking

1. Schimmelsporen in de lucht worden verzameld d.m.v. de MAS-100 Eco air sampler van firma MBV in Zwitserland. Het genomen luchtvolume is 500 liter.
2. De gevangen sporen plakken aan de membraanfilter type NC45 van GE Healthcare Life Sciences die op een petrischaal ligt binnenin de air sampler.
3. De helft van de filter wordt gestopt in een reactiebuisje om het DNA van de sporen te isoleren.

## 2. DNA isolatie

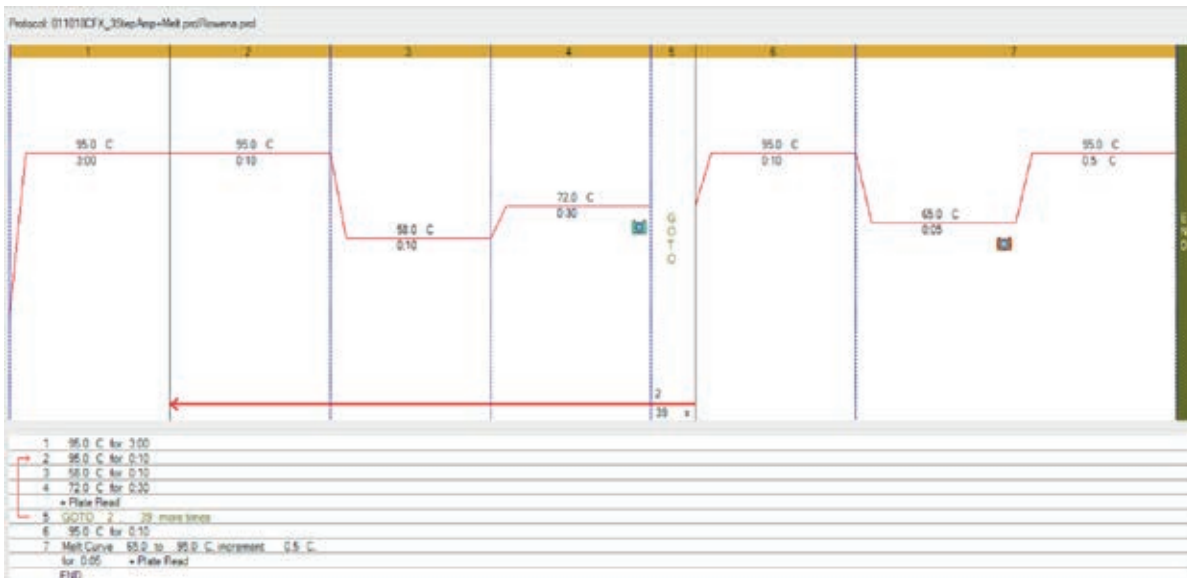
DNA van schimmel sporen werd geïsoleerd met behulp van de DNeasy plant mini kit van merk Qiagen (Cat. no. 69104) met enkele modificatie in het begin van de protocol.

(zie details in <https://www.qiagen.com/fr/resources/resourcedetail?id=6b9bcd96-d7d4-48a1-9838-58dbfb0e57d0&lang=en>)

1. Aan de filter in de reactiebuisje werd 500ul lysisbuffer AP1 toegevoegd en verwarmd bij 65°C voor 15 minuten in de Thermomixer comfort van Eppendorf.
2. Voeg bij de suspensie buffer 160ul P3 toe en mix dit goed met de vortex. Laat dit 5 minuten incuberen op ijs. Dit zorgt ervoor dat de eiwitten gaan samen klonten, ofwel precipiteren.
3. Centrifugeer de epjes met inhoud 5 minuten lang. De neergeslagen eiwitten zullen een pallet vormen onder in het epje.
4. Pipetteer de vloeistof over in QIAshredder spin column zonder het pallet. Centrifugeer dit 2 minuten lang. Dit is een extra stap om de neergeslagen eiwitten te verwijderen.
5. Het opgevangen vloeistof over pipetteren in een schoon epje (500ul). Voeg hieraan toe de 750 ul AW1 buffer. Hierdoor zal het DNA in de vloeistof neerslaan.
6. Pipetteer het DNA vloeistof van stap 6 over in een DNeasy Mini spin column en centrifugeer dit 1 minuut lang. Door het centrifugeren zal de vloeistof door het filter lopen en het DNA zal zich hechten in het filter. Hierdoor heb je DNA gescheiden van de vloeistof. Dit wordt nogmaals herhaald.
7. Pipetteer op het filter 500 ul AW2 buffer en centrifugeer dit voor 2 minuten lang. De was buffer stroomt door het filter, waarin zich het DNA bevindt, heen en wast het DNA schoon. Dit wordt nogmaals herhaald.
8. Nadat het DNA is gewassen is het klaar om opgevangen te worden. Voeg aan het filter 50ul AE buffer toe. Door het te centrifugeren zal de AE buffer het DNA uit de filter meespoelen in het opvang epje.

## 3. Real-time PCR (Q-PCR) uitvoering

De qPCR is uitgevoerd met SYBR® GREEN mastermix (Promega), een mastermix met groen fluorescerende kleuring waarmee de mate van amplificatie te registreren is door het CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad®). Zie hieronder voor het qPCR programma dat gebruikt is.



qPCR programma voor het kwantificeren van meeldauwsporen in de luchtmonster.

De primers die gebruikt zijn bij deze qPCR zijn qRoosMDF1 (5'- CCCCAACTCGTGCAGTTAGT-3') en qRoosMDR1 (5'- GCCAGGCTTGAGAGGATGTT-3') met een werkconcentratie van 10µM. Deze primers zijn specifiek voor de ITS1-ITS4 sequentie in het genoom van meeldauw schimmel in roos (*Podospheaea pannosa*). Pipetteerschema qPCR met SYBR® GREEN staat hieronder:

	µl per reactie
Primer qRoosMDF1 (10 µM)	0,75
Primer qRoosMDR1 (10 µM)	0,75
MasterMix met SYBR® GREEN (kant en klaar)	12,50
Nuclease-vrij water	6
(DNA)	5
Totaal	25

Naast de monsters wordt ook verdunning reeks van het DNA uit de stock sporenplossing (bekende aantal sporen door tellen onder de microscoop) mee gerund. Hiermee is ook een ijk-lijn bepaald met het aantal sporen uitgezet tegen de Cq.

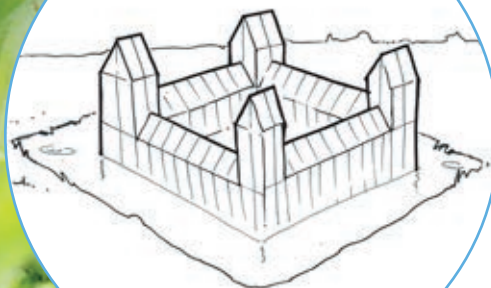








To explore  
the potential  
of nature to  
improve the  
quality of life



Wageningen University & Research,  
BU Glastuinbouw  
Postbus 20  
2665 ZG Bleiswijk  
Violierenweg 1  
2665 MV Bleiswijk  
T +31 (0)317 48 56 06  
[www.wur.nl/glastuinbouw](http://www.wur.nl/glastuinbouw)

Rapport WPR-940

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 5.000 medewerkers en 12.000 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.