

# Ecologie en beheersing van zwarte vlekkenziekte in peen

Resultaten onderzoek 2005 / 2006

Auteurs: J. Wander (PPO), R. Meier (PPO), K. Booij (PRI), R. Velema (HLB)

© 2006 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

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

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

Dit is een vertrouwelijk document, uitsluitend bedoeld voor intern gebruik binnen PPO dan wel met toestemming door derden. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid voor extern gebruik.

Onderzoek gefinancierd door:  
LTO groeiservice



Projectnummer: 500086

**Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.**

Sector AGV

Adres : Edelhertweg 1, Lelystad  
: Postbus 430, 8200 AK Lelystad  
Tel. : 0320 - 291111  
Fax : 0320 - 230479  
E-mail : [info.ppo@wur.nl](mailto:info.ppo@wur.nl)  
Internet : [www.ppo.wur.nl](http://www.ppo.wur.nl)

# Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	5
1 INLEIDING .....	7
2 MODULE 1: PARIJSE PEEN EN WASPEEN .....	9
2.1 Inleiding .....	9
2.2 Materiaal en methoden .....	9
2.3 Resultaten.....	10
2.3.1 Ziektebeeld peen en veroorzaker .....	10
2.3.2 Anastomosegroep .....	11
2.3.3 pH, voorvrucht en nematoden.....	11
2.4 Discussie en conclusies .....	12
3 MODULE 2: WONDHELING EN KOELEN .....	13
3.1 Inleiding .....	13
3.2 Materiaal en Methoden .....	13
3.3 Resultaten.....	14
3.3.1 Loofresten en oogstbeschadiging .....	14
3.3.2 Ziekte op het veld en bij de oogst .....	14
3.3.3 Snelle detectie.....	15
3.3.4 Temperatuurverloop per object.....	17
3.3.5 Aantasting na bewaarperiode.....	18
3.3.6 Uitstalleven.....	21
3.4 Discussie en conclusies .....	22
4 MODULE 3: STATISTISCHE VERWERKING INVENTARISATIE-ONDERZOEK EN SNELLE DETECTIEMETHODIEK.....	23
4.1 Inleiding .....	23
4.2 Statistische analyse dataset zwarte vlekken peen 2001 – 2003.....	23
4.2.1 Doelstelling en achtergrond.....	23
4.2.2 Oriënterende analyse en inperking.....	23
4.2.3 Controle data en correlaties .....	24
4.2.4 Multipele Regressie Analyse zwarte vlekken .....	25
4.2.5 Multipele Regressie Analyse Acrothecium .....	27
4.2.6 Vergelijking met resultaten uit rapport .....	27
4.2.7 Datasets Agrifirm.....	28
4.2.8 Eindconclusies.....	28
4.3 Mogelijkheden voor snelle detectie voor zwarte vlekken in peen na bewaring. Statistische analyse. 29	
BIJLAGE 1. PERCENTAGE PEEN PER KLASSE .....	33



# Samenvatting

Bij Parijse peen en waspeen treden er al voor de oogst vaak verschijnselen op waarbij donkere vlekken ontstaan. De partij peen kan hierdoor onverkoopbaar worden. In dit project is getracht om de oorzaak te vinden. De aangeleverde penen bleken aangetast te zijn door *Rhizoctonia solani*. Er werd geen relatie met de aanwezigheid van nematoden vastgesteld. Wel leek er een relatie met de pH te zijn.

Tijdens de bewaring van peen kunnen er verschijnselen van zwarte vlekkenziekte optreden. Voor de belangrijkste schimmelziekten werd bekeken of de oogstomstandigheden (droog of vochtig), een wondhelingsperiode en snelheid van afkoelen invloed hebben op de mate van aantasting. Afhankelijk van de aantaster had snel afkoelen geen of een gunstig effect op de mate van aantasting. Een wondhelingsperiode van een week op 10 °C was bij een besmetting met *A. radicina* beter dan direct afkoelen. Bij *T. basicola* en *C. thielavioides* was het echter beter om direct te beginnen met afkoelen. Wat betreft *T. basicola* lijkt dit logisch omdat het ook gunstig is om snel af te koelen. Zowel *T. basicola* als *C. thielavioides* vermeerderen zich niet bij lage temperatuur. Het is dus bij een besmetting met deze schimmels vrij logisch dat het gunstig is om de penen zo snel als mogelijk na de oogst op 1 °C te brengen.

Om te onderzoeken welke factoren doorslaggevend zijn voor het optreden van zwarte vlekken na de bewaring, zijn gegevens van de inventarisatie en toetsingen uit de jaren 2001, 2002 en 2003 gecombineerd geanalyseerd. Doordat de variatie in factoren en optredende ziekteveroorzakers tussen jaren groot is, werden slechts zwakke verbanden gevonden. De hypothese dat slechte oogstomstandigheden met relatief hoge temperaturen en verwonding de grootste risicofactor vormen, werd bevestigd. Voor *Acrothecium* lijkt daarbij de aanwezigheid van schermbloemigen of naburige peenteelt een extra risicofactor.

De voorspellende waarde van de snelle detectietoets is geëvalueerd op basis van de resultaten van 2001/2002 en 2002/2003. Helaas blijkt de toets te veel onvoorspelbare resultaten op te leveren om goede voorspellingen te doen. Het mee laten wegen van de aard van de partij (peenras of grondsoort) geeft te weinig extra informatie om de toets voor de praktijk bruikbaar te maken. Het is waarschijnlijk niet mogelijk de verschillende ziekteveroorzakers in één toets te verenigen.



# 1 Inleiding

Sinds ongeveer 1995 zijn er op steeds grotere schaal problemen met vlekken op peen, die de peen onverkoopbaar maken. De problemen doen zich zowel voor bij gangbare telers als bij biologische telers. Bij bewaarpeen treden de verschijnselen (zwarte vlekkenziekte) pas op na een bewaring van drie à zes maanden. De belangrijkste aantasters zijn: *Alternaria radicina*, *Chalaropsis thilavioides*, *Thielaviopsis basicola*, *Rhexocercosporidium carotae* of *Acrothecium carotae* en *Mycocentrospora acerina*. Deze ziekten besmetten de peen voor de oogst, maar tasten de peen pas aan als de peen minder vitaal wordt. De oorzaken van het optreden van de zwarte vlekken zijn niet duidelijk. Deze zijn waarschijnlijk gelegen in het samenspel van aanwezigheid van pathogenen, groeiomstandigheden, oogstomstandigheden en de bewaarcondities.

Bij de verse producten Parijse peen en waspeen kunnen de verschijnselen al voor de oogst optreden. De aantasting kan dermate ernstig zijn dat oogsten niet zinvol is. De problemen komen jaarlijks voor, maar zijn in het ene jaar veel ernstiger dan in het andere jaar. Het is niet duidelijk door welke schimmelziekte de verschijnselen veroorzaakt worden. Vermoedelijk gaat het om andere aantasters dan bij bewaarpeen. Van jaar tot jaar en van perceel tot perceel is de mate van aantasting sterk verschillend. Geschat wordt dat ongeveer 10 % van de oogst verloren gaat door zwarte vlekkenziekte. De zwaarte van de problematiek was voor het Productschap Tuinbouw en LTO groeiservice aanleiding om een door het PPO, PRI en HLB uitgevoerd project te financieren onder leiding van het PPO.

Het onderzoek bouwt voort op onderzoek uitgevoerd door PPO, PRI en HLB met peen van seizoen '03/'04 en op in het verleden uitgevoerd onderzoek. Aan de hand van dit onderzoek zijn drie modules geformuleerd die elk op een verschillende wijze aangepakt worden.

1. Parijse peen en waspeen
2. Wondheling en koelen
3. Statistische verwerking inventarisatieonderzoek en snelle detectiemethodiek





## 2 Module 1: Parijse peen en waspeen

Auteurs: Johan Wander (PPO), Rinske Meier (PPO), Roland Velema (HLB)

### 2.1 Inleiding

In 2003 werden op monsters uit praktijkpercelen Parijse peen en waspeen met vrij vage symptomen diverse pathogenen gevonden. In 2004 werd in een beperkt aanvullend onderzoek van monsters met duidelijke symptomen *Rhizoctonia* geconstateerd. Het is daarom nodig om eerst in 2005 te verifiëren of de problemen in Parijse peen en waspeen inderdaad veroorzaakt worden door *Rhizoctonia*. Hierbij zal nagegaan worden om welke *Rhizoctonia* 'soort' het gaat. Tevens wordt nagegaan of er een relatie is tussen de aantasting en de besmetting met aaltjes en de pH. Als het om dezelfde *Rhizoctonia* gaat als de veroorzaker van problemen in suikerbieten, dan kan op basis van de onderzoekservaringen in suikerbieten een onderzoeksplan uitgevoerd worden. Als het om een andere veroorzaker(s) gaat, dan zal een aangepast onderzoeksplan opgesteld worden.

### 2.2 Materiaal en methoden

Via de bedrijven Primofin, Veco en Helmond werden van 6 percelen penen met verschijnselen van zwarte vlekkenziekte aangeleverd. Op 4 van deze percelen was het mogelijk om een onderscheid te maken in een aangetast en in een niet aangetast perceelsgedeelte. Per perceelsgedeelte werd door het HLB een pH-KCL bepaling uitgevoerd en werd een grondonderzoek uitgevoerd naar de aanwezigheid van allerlei nematoden en de hoeveelheid hiervan (zie onderstaand overzicht).

Overzicht nematoden waarop grondmonsters onderzocht zijn

<i>Pratylenchus crenatus</i>	<i>Helicotylenchus</i> spp.	<i>Ditylenchus dipsaci</i>
<i>Pratylenchus neglectus</i>	<i>Globodera</i> / <i>Heterodera</i> spp.	<i>Trichodoridae</i>
<i>Pratylenchus penetrans</i>	<i>Meloidogyne chitwoodi</i>	<i>Aphelenchus</i> spp.
<i>Paratylenchus</i> spp.	<i>Meloidogyne hapla</i>	<i>Aphelenchoidus</i> spp.
<i>Tylenchorhynchus</i> spp.	<i>Meloidogyne fallax</i>	overige en saprofage alen
<i>Rotylenchus</i> spp.	<i>Meloidogyne naasi</i>	

Na aankomst van de peenmonsters op het PPO werd onderzocht door welke schimmelziekten de peentjes waren aangetast. Voorzover er *Rhizoctonia* spp. aanwezig was, werd getracht deze schimmel te isoleren en in reiculture te brengen. Dit lukte bij 3 monsters. Door het IRS werd van deze monsters onderzocht welke anastomosegroep het betrof.

## 2.3 Resultaten

### 2.3.1 Ziektebeeld peen en veroorzaker

Van diverse herkomsten werden 7 monsters uit Drenthe ontvangen door het PPO:

1. Parijse peen, vers uit het veld, code nr. 23621, datum binnenkomst 18 augustus 2005
2. Parijse peen, vers uit het veld, code nr. 23622, datum binnenkomst 18 augustus 2005
3. Parijse peen, vers uit het veld, code nr. 23623, datum binnenkomst 18 augustus 2005
4. Parijse peen, gewassen, code nr. A, datum binnenkomst 29 augustus 2005
5. Parijse peen, vers uit het veld, code nr. 23652, datum binnenkomst 29 augustus 2005
6. Waspeen, vers uit het veld, code nr. 24494/1, datum binnenkomst 25 oktober 2005
7. Waspeen, vers uit het veld, code nr. 24494/2, datum binnenkomst 25 oktober 2005

De peentjes “vers uit het veld” waren bedekt met een dunne zwarte laag veen/dalgrond. Na globale beoordeling werd de peen gespoeld en voorzichtig geborsteld om de zwarte grondlaag te verwijderen, waarna een submonster bij kamertemperatuur werd weggezet in plastic bakjes op vochtig filterpapier (vochtige incubatie). Deze monsters werden gedurende enkele weken gevolgd. Waar mogelijk werd *Rhizoctonia spp.* geïsoleerd en in reiculture gebracht. De *Rhizoctonia* werd overgezet op PDA (voor uitbundige groei), waarna door het IRS de anastomosegroep (AG) werd bepaald. IRS heeft bevestigd, dat de onderzochte reiculture *Rhizoctonia solani* betroffen.

De Parijse peentjes van monsters 1, 2, 3, 4 en 5 hadden grauwwaarse vlekken (figuur 2.1). Het weefsel onder de grauwwaarse laag was zacht waterig. Wanneer de grauwwaarse oppervlaktelaag van de vlek wegvalt, ontstaat er een krater, waaraan de ziekte kraterrot haar naam heeft te danken. In het grauwwaarse weefsel waren m.b.v. een microscoop bruine myceliumdraden en sclerotiën vormend mycelium van *Rhizoctonia spp.* zichtbaar. Er kropen erg veel nematoden op en in het weefsel rond. In de vochtige incubatie periode groeide uit alle peentjes *Rhizoctonia spp.*, maar door de zware vervuiling met alen en mijten is het niet gelukt om uit de monsters 1, 4 en 5 een reiculture van *Rhizoctonia spp.* te kweken.



Figuur 2.1. **Parijse peen met grauwwaarse vlekken, veroorzaakt door *Rhizoctonia solani*.**

In monster 3 zaten ook een aantal Parijse peentjes zonder grauwwaarse vlekken, maar met ringvormige insnoeringen en groeischeuren (figuur 2.2). Op het peen oppervlak waren veel bruine *Rhizoctonia* hyphen zichtbaar. Tijdens de vochtige incubatie groeide uit de *Rhizoctonia* hyphen weelderig mycelium, waaruit een reiculture gekweekt kon worden.

Het is bekend, dat een *Rhizoctonia* aantasting op peentjes vroeg in het seizoen resulteert in het afsterven van aangetaste peencellen. Bij het verder groeien van de peen, ontstaat op die afgestorven plekjes een

insnoering en een groeischeur.



Figuur 2.2 en 2.3 **Parijse peen en waspeen met insnoeringen en groeischeuren veroorzaakt door *Rhizoctonia solani* in een vroeg groei stadium**

Bij monsters 6 en 7 viel op dat er in de aanhangende grond veel actief groeiend *Rhizoctonia* mycelium aanwezig was. Na het wegspoelen van de aanhangende grond bleken de waspeentjes misvormd door insnoeringen en groeischeuren (figuur 2.3). Overal op de peen, ook in de groeischeuren, *Rhizoctonia* mycelium aanwezig. Van monster 7 is een reiculture van *Rhizoctonia* spp. gekweekt.

### 2.3.2 Anastomosegroep

Van 3 van de 6 percelen waarvan een peenmonster was binnengekomen kon een reiculture *Rhizoctonia* gekweekt worden. Door het IRS is bepaald dat het *Rhizoctonia solani* betrof. De anastomosegroep van de drie isolaten is bepaald (tabel 2.1). In 2 gevallen ging het om AG2-1 en in 1 geval ging het om AG5. AG5 is meestal een zwaktepathogeen.

Tabel 2.1. **Gevonden anastomosegroep per monster en waardplantreeks van de betreffende anastomosegroep.**

Monster	Anastomosegroep	Waardplantreeks o.a.
2	AG5	Gras, aardappel, boon, suikerbiet
3, 6/7	AG2-1	Primair op koolsoorten, beperkt op peen, aardappel, boon, suikerbiet, tarwe

### 2.3.3 pH, voorvrucht en nematoden

In tabel 2.2 is een overzicht gegeven van de pH per perceelsgedeelte en de voorvruchten van de afgelopen jaren. In tabel 2.3 is een overzicht gegeven van de mate van besmetting met aaltjes per perceelsgedeelte. Op alle 3 de percelen met een pH bepaling per perceelsgedeelte werd op het gedeelte met niet aangetaste peen een iets lagere pH gevonden dan op het perceelsgedeelte met aangetaste peen.

Op 2 van de percelen werden in het voorafgaande jaar suikerbieten geteeld. Op 1 perceel werden in het voorafgaande jaar aardappelen geteeld met daarvoor suikerbieten resp. aardappelen. Op 1 perceel werd voorafgaand aan de peenteelt 4 jaar lang maïs geteeld. Aardappelen, suikerbieten en maïs zijn gewassen die *Rhizoctonia* kunnen vermeerderen. Op perceel 2 kan het optreden van AG5 samenhangen met de voorafgaande teelt van suikerbieten. Wat betreft perceel 6/7 is niet bekend dat maïs een waardplant is voor AG2-1.

Uit de per perceelsgedeelte gevonden aantallen nematoden kan geen relatie gevonden worden met wel of geen aantasting.

Tabel 2.2. **PH en voorvruchten per perceel.**

Perceel	1		2		3		5		6/7	
Aantasting op perceelsgedeelte	Ja	Nee	ja	Nee	ja	nee	ja	nee	ja	nee
pH	5,8	5,3	5,4	5,3	5,9				4,8	4,5
Voorvruchten										
2004	Suikerbiet		Suikerbiet				aardappel		Maïs	
2003	Koolraap		Lelies				suikerbiet		Maïs	
2002	Pioenen		Bomen				aardappel		Maïs	
2001	Pioenen		Bomen				zomergerst		Maïs	
2000	Bieten		Bomen				aardappel		aardappel	
1999	Hemeocallis		div. groenten				s.biet/gerst		Gras	
1998	Courgettes		div. groenten				aardappel			
1997	Spinazie/bonen		div. groenten				gerst			
1996	Spinazie		Suikerbiet				aardappel			
1995	Aardappelen		div. groenten				gerst/braak			

Tabel 2.3. **Aantal nematoden per soort per perceelsgedeelte.**

Perceel:	1		2		3		5		6/7	
Aantasting op perceelsgedeelte	ja	nee	ja	nee	ja	nee	ja	nee	ja	Nee
<i>Pratylenchus crenatus</i>	0	0	0	31	342		70	45	2620	1781
<i>Pratylenchus neglectus</i>	0	0	0	0	68		0	0	0	119
<i>Pratylenchus penetrans</i>	0	0	0	399	0		1	0	1579	0
<i>Paratylenchus</i> spp.	0	0	230	10	20		5	0	0	0
<i>Tylenchorhynchus</i> spp.	0	0	0	0	0		5	10	100	160
<i>Rotylenchus</i> spp.	0	0	1	0	0		0	0	0	0
<i>Meloidogyne hapla</i>	0	10	0	0	10		0	0	0	0
<i>Trichodoridae</i>	0	0	0	45	0		10	10	0	0
overige / saprofage alen	6885	3865	3010	5590	4720		4525	3355	3980	7360
	0	0								

## 2.4 Discussie en conclusies

Op alle aangeleverde monsters werd *Rhizoctonia solani* aangetroffen. Op 2 monsters betrof het AG2-1 en op 1 monster betrof het AG5. Beide AG's vermeerderen zich op suikerbiet. De zwarte vlekken problematiek in Parijse peen en waspeen kan dus samenhangen met de suikerbieten in het bouwplan, maar gezien de beperktheid van het onderzoek kan dit niet hard geconcludeerd worden.

Volgens het IRS kunnen de gevonden AG's en de voorvruchten de verkregen aantasting van de penen niet verklaren. AG5 is een zwaktepathogeen en is meestal secundair maar beperkt aanwezig. AG 2-1 is primair een pathogeen van crucifere gewassen en veroorzaakt kiemval bij tal van andere planten. Uit onderzoek van het IRS op percelen in Oost-Brabant en Noord-Limburg bleek dat in peen AG 2-IIIB voorkwam. Eigenlijk zouden met de gevonden AG's de postulaten van Koch toegepast moeten worden om meer zekerheid te krijgen over de veroorzakers. Hierbij wordt getracht gezonde peen te besmetten met de gevonden schimmel.

Tussen de aantasting door zwarte vlekkenziekte en de besmetting van perceelsgedeelten met aaltjes werd geen relatie geconstateerd. Er leek wel enigszins sprake te zijn dat de aantasting samenhang met een hogere pH van de grond.

## 3 Module 2: Wondheling en koelen

Auteurs: Johan Wander (PPO), Rinske Meier (PPO), Pieter Kastelein (PRI), Henk Gude (PPO-bbf), Margriet Huisman (PPO)

### 3.1 Inleiding

Over de rol van oogstbeschadiging, wondheling en snelheid van koelen op de mate van het ontstaan van zwarte vlekkenziekte is in het verleden onderzoek uitgevoerd. Dit onderzoek ging onvoldoende in op het afzonderlijke effect van de drie belangrijkste veroorzakers (*Alternaria radicina*, *Chalaropsis thielavioides* en *Thielaviopsis basicola*). Vermoedelijk hangt de beste strategie voor wondheling in combinatie met snelheid van koelen af van een aantal factoren, zoals oogstomstandigheden, rijpheid en mate van besmetting met de diverse veroorzakers. Ook het peenras kan een rol spelen. Het meenemen van ras als factor zal het onderzoek te complex maken. Daarom wordt het onderzoek beperkt tot 1 of 2 rassen.

Als inderdaad blijkt dat de te kiezen strategie afhangt van de aanwezige veroorzaker, dan is het van belang om in een latere fase van een onderzoeksproject een methodiek te ontwikkelen waarmee bij de oogst bepaald kan worden wat de veroorzaker is. De basis voor deze snelle techniek (PCR) is beschikbaar. Implementatie van de techniek in de praktijk valt niet onder dit project.

In 2005 worden op afstand van elkaar op een perceel 4 veldjes peen gezaaid welke elk besmet worden met 1 van de 3 veroorzakers en 1 veld blijft onbesmet. De helft van de veldjes wordt onder droge omstandigheden geoogst met een klembandrooier en de helft onder vochtige omstandigheden. Onder praktijkmatige omstandigheden krijgen deelmonsters al dan niet een wondhelingsperiode en worden de deelmonsters langzaam of snel gekoeld. Na 3 à 4 maanden worden de monsters beoordeeld op de mate van aantasting door de belangrijkste pathogenen. In 2006 wordt besloten of het onderzoek op dezelfde wijze wordt voortgezet of dat er gewerkt gaat worden met monsters van praktijkpercelen. Uitvoerders: PPO en PRI.

### 3.2 Materiaal en Methoden

Overzicht proefopzet.

<b>Factor code</b>	<b>Factor Omschrijving</b>	<b>Niveau Code</b>	<b>Niveau Omschrijving / instelling</b>
S	Schimmelbesmetting	S1	Onbesmet
		S2	<i>Alternaria radicina</i>
		S3	<i>Thielaviopsis basicola</i>
		S4	<i>Chalaropsis thielavioides</i>
O	Oogsttijd	O1	Vroeg (droog)
		O2	Laat (nat)
W	Wondhelingsperiode	W1	Na oogst 1 week op 10 °C
		W2	Na oogst direct koelen
K	Koelen	K1	Snel naar 1 °C
		K2	Langzaam naar 1 °C
H	Herhalingen	I, II, III	In het veld in enkelvoud, in bewaring in drievoud

Oogsttijd 1 werd uitgevoerd op 19-10-05 en oogsttijd 2 op 31-10-05. Direct na de oogst werden de penen beoordeeld op aanhangende grond, loofresten en oogstbeschadiging. Met de loofresten en

oogstbeschadiging werd met behulp van de volgende formule een index berekend:

$$index = \frac{(0 * A) + (1 * B) + (2 * C) + (3 * D)}{(A + B + C + D)} * \frac{100}{3}$$

A = aantal penen zonder loofresten resp. aantal penen zonder rooibeschadiging

B = aantal penen met loofresten 0 – 1 cm resp. aantal penen met 1 à 10% geschaafd oppervlak

C = aantal penen met loofresten 1 – 2 cm resp. aantal penen met 10 à 25% geschaafd oppervlak

D = aantal penen met loofresten > 2 cm resp. aantal penen met > 25% geschaafd oppervlak

Bij de oogst werd de snelle detectiemethode toegepast om na te gaan in welke mate de penen aangetast waren. Tevens werd bekeken welke ziekteverwekkers er per schimmelbesmetting aanwezig waren. De penen werden bewaard tot 27-2-06. De monsters werden vervolgens beoordeeld om de mate van aantasting, waarbij een onderscheid werd gemaakt in penen met zwarte vlekken kleiner dan 0,5 cm en penen met 1 of meerdere vlekken groter dan 0,5 cm. Met de volgende formule werd met het percentage gezonde penen, penen met kleine vlekken en penen met grote vlekken een ziekte-index berekend:

$$ziekte - index = \frac{0 * gezond + 1 * klein + 2 * groot}{2}$$

Tevens werd bekeken welke ziekteverwekkers er per schimmelbesmetting aanwezig waren.

Met aanvullende financiering vanuit project 530157 werd na de bewaarperiode met monsters van het object W1K2 een uitstalleven proef uitgevoerd. Van alle 4 de schimmels werden penen met kleine vlekjes verpakt met standaardfolie (PVC met microporiën) of met MAP-folie geleverd door PPO-bbf. De penen werden in 1 kg verpakking 2 weken lang bewaard bij 10 °C. De proef werd in drievoud uitgevoerd.

## 3.3 Resultaten

### 3.3.1 Loofresten en oogstbeschadiging

Op oogsttijd 1 was de grond met een vochtgehalte van 13,0 % droog. De bodemtemperatuur was 11 °C. Oogsttijd 2 werd uitgevoerd na een regenperiode op 31-10-05. De grond was met een vochtgehalte van 16,3% vrij vochtig. De bodemtemperatuur was eveneens 11 °C.

Tussen O1 en O2 werden duidelijke verschillen gevonden (tabel 3.0). Bij de tweede oogst was de hoeveelheid grond hoger en de hoeveelheden loofresten en breuk waren duidelijk lager. De rooibeschadiging was bij de tweede oogst iets minder.

Tabel 3.0. **Aanhangende grond (kg / 100 kg peen), loofresten-index, rooibeschadigingsindex en percentage penen met breuk.**

	Grond	loofresten	Rooibeschadiging	breuk
O1. vroeg	2	26	81	4,4
O2. laat	7	18	70	0,7

### 3.3.2 Ziekte op het veld en bij de oogst

Begin oktober begon er loofverbruining op te treden. De veldjes S1 en S2 waren zwaarder aangetast dan S3 en S4. Een dag voor de eerste oogst zijn van elk veld een aantal aangetaste- en reeds afgestorven bladeren onderzocht op ziekteveroorzaker. Op al het onderzochte loof waren *Alternaria dauci* sporen aanwezig. Alleen op het loof van veld S2 werd ook *Alternaria radicina* gevonden.

In geen van de vier velden werd op de koppen van de penen (al dan niet aangevreten) “zwarte vlekken” of zichtbare aantasting waargenomen.

### 3.3.3 Snelle detectie

Om een indicatie te krijgen over de gezondheid van een partij penen, wat zwarte vlekken betreft, is de snelle detectiemethode uitgevoerd vlak na de oogst. Van elk schimmelobject en oogsttijdstip is een kist penen drie weken bewaard bij 15°C en hoge luchtvochtigheid. Daarna zijn de penen beoordeeld op aanwezigheid van zwarte vlekken.

#### 3.3.3.1 Aantasting na snelle detectie

In tabel 3.1 is aangegeven in welke mate de penen na de snelle detectiemethode waren aangetast. Opvallend was dat bij onbesmet ook veel aangetaste penen werden aangetroffen.

Tabel 3.1. **Aantasting na snelle detectie methode**

	Oogsttijdstip	% gezond	% klein	% groot	Index
S1. onbesmet	01	19	29	52	67
S2. <i>A. radicina</i>	01	16	37	47	65
S3. <i>T. basicola</i>	01	56	33	11	28
S4. <i>C. thielavioides</i>	01	31	44	25	47
S1. onbesmet	02	36	29	36	50
S2. <i>A. radicina</i>	02	16	35	49	67
S3. <i>T. basicola</i>	02	48	33	19	35
S4. <i>C. thielavioides</i>	02	63	29	9	23

#### 3.3.3.2 Aanwezige schimmels na snelle detectie

Om een idee te krijgen welke schimmels de zwarte vlekken veroorzaakten, zijn van elk schimmelobject en oogsttijdstip een aantal penen met grote zwarte vlekken vochtig gelegd bij kamertemperatuur. Met behulp van de (stereo)microscopie is bepaald welke schimmel op en uit de zwarte vlekken groeide. Er waren twee soorten zwarte vlekken zichtbaar (figuur 3.1).

##### S1. onbesmet

De grote zwarte vlekken waren veroorzaakt door *C. thielavioides*. Bij penen van het late oogsttijdstip (02) werd ook een enkele vlek met *A. radicina* gevonden.

##### S2. *A. radicina*

Bij beide oogsttijdstippen waren de meeste vlekken veroorzaakt door *A. radicina*. Een enkele vlek had als veroorzaker *C. thielavioides*.

##### S3. *T. basicola*

Bij beide oogsttijdstippen werden de meeste vlekken veroorzaakt door *T. basicola* en een enkele vlek door *C. thielavioides*.

##### S4. *C. thielavioides*

Bij beide oogsttijdstippen werden de zwarte vlekken veroorzaakt door *C. thielavioides*. Bij het late oogsttijdstip werden ook scherp afgebakende meer grijze vlekken waargenomen. In het grijze weefsel was donker mycelium zichtbaar. Uit deze vlekken is geen nieuwe schimmelgroei waargenomen. De veroorzaker was dus op deze manier niet te traceren.

Bij de eerste oogst was de oogstvolgorde door een vergissing anders dan gepland. Abusievelijk werd *C.*

*thielavioides* als eerste geoogst. Vooral deze schimmel – en in iets mindere mate *T. basicola* - kan makkelijk via sporenvorming andere penen besmetten. Daarom werd na de oogst van een veld met een bepaalde besmetting de oogstmachine schoongespoten. Op de drie besmettingen die na *C. thielavioides* werden geoogst, werd op plekken met oppervlakkige oogstbeschadiging van de klemband *C. thielavioides* aangetroffen. Dus ondanks het schoonspuiten heeft er via de oogstmachine een verspreiding van *C. thielavioides* plaatsgevonden. Ook bij de tweede oogst werd bij de andere besmettingen *C. thielavioides* aangetroffen, ondanks de goede oogstvolgorde. Deze besmetting was echter veel geringer dan bij de eerste oogst. Blijkbaar hebben *C. thielavioides* sporen zich ook bij de tweede oogst weten te verspreiden naar de andere penen.

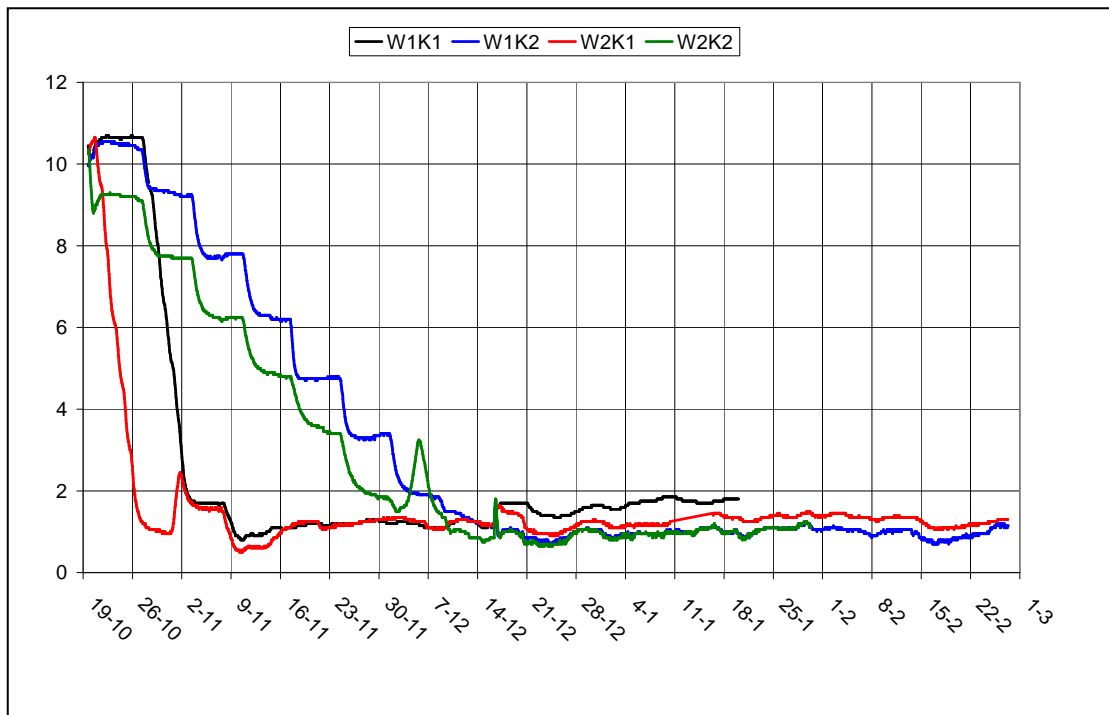


Figuur 3.1. links = *Alternaria radicina*; rechts = *Chalaropsis thielavioides*;

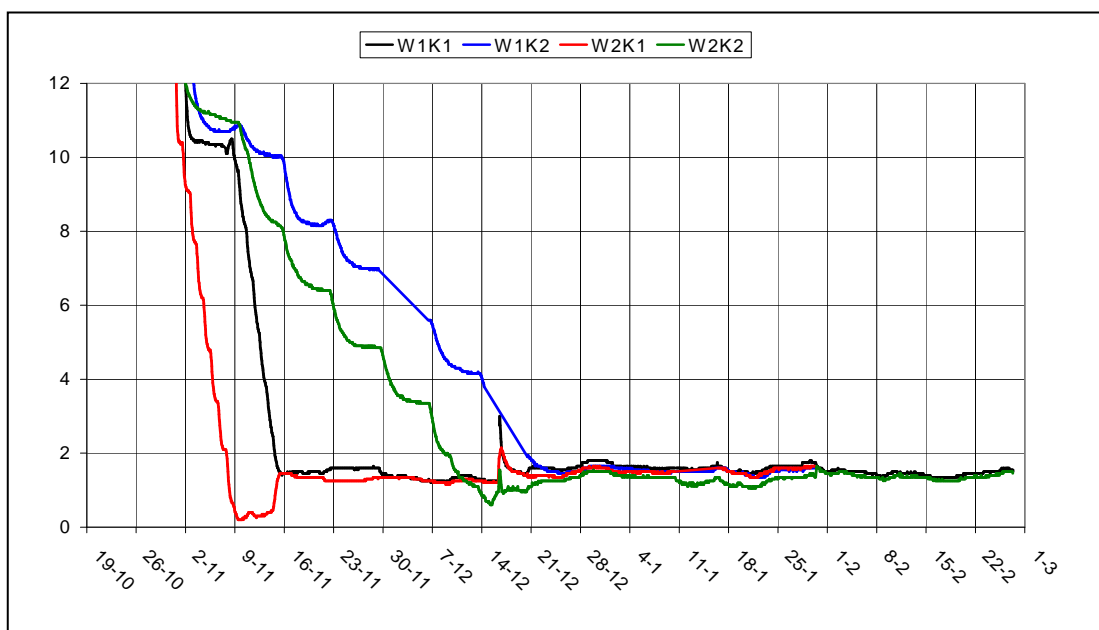


### 3.3.4 Temperatuurverloop per object

In de figuren 3.2 en 3.3 is het verloop van de temperatuur tussen de penen weergegeven tijdens de eventuele wondhelingsperiode en tijdens het afkoelen resp. bewaren. Het verloop van de temperaturen kwam goed overeen met wat per object beoogd was. Omdat er in het product werd gemeten, lag de temperatuur iets hoger dan in de bewaarcel.



Figuur 3.2. Temperatuurverloop tijdens wondhelingsperiode en afkoelen na eerste oogsttijdstip.



Figuur 3.3. Temperatuurverloop tijdens wondhelingsperiode en afkoelen na tweede oogsttijdstip.

### 3.3.5 Aantasting na bewaarperiode

In bijlage 1 zijn alle afzonderlijke resultaten weergegeven. Na de bewaarperiode kwam er tussen de 4 schimmels een groot verschil in aantasting voor (tabel 3.2). Bij *A. radicina* waren de penen het zwaarst aangetast. Ook bij onbesmet werden echter zeer veel penen met zwarte vlekken aangetroffen. Bij *T. basicola* en *C. thielavioides* waren de penen duidelijk minder aangetast, alhoewel slechts 36% resp. 42% gezond was. Wat betreft S2, S3 en S4 hebben deze verschillen enerzijds te maken met het feit dat *T. basicola* en *C. thielavioides* tijdens koude bewaring niet doorgroeien, terwijl *A. radicina* dat wel doet. Anderzijds heeft het besmetten van de peen in het veld met de verschillende ziektes natuurlijk niet kunnen leiden tot een gelijke besmetting van de verschillende partijen. Het feit dat onbesmet ook zwaar aangetast was, kan te maken hebben met een al bestaande besmetting van de bodem die toevallig hoog was op de plaats van de onbesmette partij. Ook kan er via de lucht van verderaf een besmetting met *A. radicina* plaats hebben gevonden.

Tabel 3.2. **Aantasting na de bewaring per schimmel.**

	% gezond	% klein	% groot	Index
S1. onbesmet	12	59	29	59
S2. <i>A. radicina</i>	5	49	46	70
S3. <i>T. basicola</i>	36	53	11	38
S4. <i>C. thielavioides</i>	42	50	8	33


#### 3.3.5.1 Effecten bewaarmethode per besmetting

##### 3.3.5.1.1 S1. Onbesmet

Bij onbesmet werd alleen een betrouwbaar effect van het koelen op de aantasting verkregen (tabel 3.3). In tabel 3.4 is te zien dat snel koelen minder aantasting gaf dan langzaam koelen.

Tabel 3.3. **F-probabiliteiten voor de hoofdeffecten en interacties bij S1.**

	% gezond	%klein	% groot	Index
O	0,8	0,22	0,12	0,15
W	0,4	0,9	0,7	0,4
K	0,027	0,015	<0,001	<0,001
OW	0,8	0,4	0,4	0,6
OK	0,3	0,7	0,25	0,14
WK	0,9	0,23	0,14	0,19
OWK	0,14	0,8	0,5	0,17

 = F-prob. < 0,05

 = F-prob. tussen 0,05 en 0,1

Tabel 3.4. **Effect snel of langzaam koelen op de aantasting bij S1. onbesmet.**

	% gezond	% klein	% groot	Index
K1. Snel naar 1 °C	15	67	18	51
K2. Langzaam naar 1 °C	8	52	40	66
F-prob.	0.027	0.015	<0.001	<0.001
LSD	6	12	10	6

##### 3.3.5.1.2 S2. *A. radicina* (tabel 3.5 en 3.6)

Bij *A. radicina* werd bij de vroege oogsttijd 7% gezonde peen verkregen en bij de late oogsttijd 3%. Dit verschil was net significant. Bij het percentage penen met kleine vlekken, grote vlekken en de index werd geen effect van de oogsttijd gevonden.

De wondhelingsperiode had, behalve wat betreft het percentage gezonde peen, een betrouwbaar effect op

de aantasting. Een wondhelingsperiode van 1 week op 10 °C leidde tot een gunstiger verhouding tussen kleine en grote vlekken en zodoende tot een lagere ziekte-index dan direct koelen.

Het koelen en de interacties tussen de 3 factoren hadden geen betrouwbaar effect op de aantasting.

**Tabel 3.5. F-probabiliteiten voor de hoofdeffecten en interacties bij S2.**

	% gezond	%klein	% groot	Index
O	0,042	0,7	0,6	0,3
W	0,3	0,022	0,025	0,038
K	0,3	0,17	0,14	0,14
OW	1	0,3	0,3	0,5
OK	0,9	1	1	0,9
WK	0,9	0,9	0,9	0,8
OWK	1	0,7	0,8	0,8

**Tabel 3.6. Effect wel of geen wondhelingsperiode op de aantasting bij S2 (*A. radicina*).**

	% gezond	% klein	% groot	Index
W1. Na oogst 1 week op 10 °C	6	55	39	67
W2. Na oogst direct koelen	4	44	52	74
F-prob.	0.3	0.022	0.025	0.038
LSD	4	9	11	7

#### 3.3.5.1.3 S3. *T. basicola* (tabel 3.7, 3.8 en 3.9)

Bij *T. basicola* had de wondhelingsperiode alleen een betrouwbaar effect op het percentage kleine vlekken. Na de oogst 1 week op 10 °C gaf 55% kleine vlekken, terwijl direct koelen 51% kleine vlekken gaf. In beide gevallen was het percentage grote vlekken 11%. Direct koelen had dus een gunstig effect.

Bij snel koelen werden het percentage gezonde peen en de ziekte-index gunstig beïnvloed ten opzichte van langzaam koelen. Bij de late oogst was het percentage kleine vlekken bij snel koelen lager dan bij de andere 3 combinaties (tabel 3.9). Bij de vroege oogst was het percentage grote vlekken bij langzaam koelen hoger dan bij snel koelen. Over het geheel kan dus gesteld worden dat snel koelen beter is dan langzaam koelen.

**Tabel 3.7. F-probabiliteiten voor de hoofdeffecten en interacties bij S3.**

	% gezond	%klein	% groot	Index
O	0,3	0,3	0,8	0,4
W	0,102	0,043	1	0,3
K	0,04	0,17	0,15	0,049
OW	0,18	0,7	0,14	0,12
OK	0,7	0,092	0,027	0,18
WK	0,8	0,3	0,14	0,4
OWK	0,7	1	0,6	0,7

**Tabel 3.8. Effect snel of langzaam koelen op de aantasting bij S3 (*T. basicola*).**

	% gezond	% klein	% groot	Index
K1. Snel naar 1 °C	38	52	10	36
K2. Langzaam naar 1 °C	33	54	13	40
F-prob.	0.040	0.17	0.15	0.049
LSD	5	4	4	4

Tabel 3.9. **Effect snel of langzaam koelen bij de twee oogsttijden op het % peen met kleine en het % peen met grote vlekken bij S3 (*T. basicola*).**

	% klein		% groot	
	K1. Snel naar 1 °C	K2. Langzaam naar 1 °C	K1. Snel naar 1 °C	K2. Langzaam naar 1 °C
O1. vroeg	54	54	8	15
O2. laat	49	55	12	10
F-prob.	0.092		0.027	
LSD	6		5	

#### 3.3.5.1.4 S4. *C. thielavioides* (tabel 3.10 en 3.11)

Bij de vroege oogst en gemiddeld over de 2 oogsttijdstippen gaf de wondhelingsperiode een duidelijke verlaging van het percentage gezonde penen. In overeenstemming hiermee gold het omgekeerde voor de index. Bij de late oogst was het percentage gezonde penen hoger en de ziekte-index lager dan bij de vroege oogst.

Het percentage penen met kleine vlekken was na een wondhelingsperiode met 55% betrouwbaar hoger dan 46% zonder wondhelingsperiode.

Een wondhelingsperiode was dus niet gunstig voor de mate van aantasting van de peen.

Tabel 3.10. **F-probabilities voor de hoofdeffecten en interacties bij S4.**

	% gezond	%klein	% groot	Index
O	0,037	0,21	0,11	0,027
W	0,014	0,011	1	0,056
K	0,7	0,8	0,4	0,5
OW	0,038	0,12	0,3	0,045
OK	0,6	0,6	0,9	0,8
WK	0,9	1	0,8	0,9
OWK	0,8	0,6	0,2	0,4

Tabel 3.11. **Effect wel of geen wondhelingsperiode bij de twee oogsttijden op het % peen met kleine en het % peen met grote vlekken bij S4 (*C. thielavioides*).**

	% gezond			Index		
	W1. 10°C	W2. direct	Gem.	W1. 10°C	W2. direct	Gem.
O1. vroeg	31	47	39	40	31	35
O2. laat	45	47	46	30	30	30
Gem.	38	47		35	30	

#### 3.3.5.2 Aanwezige schimmels na bewaarperiode

Na de ziektebeoordeling van de penen uit de bewaring zijn per object een aantal penen met diverse grote donkere vlekken vochtig gelegd bij kamertemperatuur. Met behulp van de (stereo)microscop is bepaald welke relevante schimmel(s) op en uit de donkere vlekken groeiden (tabel 3.12). Het viel op dat er relatief veel penen ook een zwarte punt hadden.

*T. basicola* werd op S3 na de koude bewaring niet meer teruggevonden, terwijl de schimmel wel werd aangetoond op S3 na de snelle detectie toets. De lage temperatuur heeft de schimmel dus volledig stilgezet.

*Acrothecium* (figuur 3.4) moet al in de grond gezeten hebben. Wellicht door de hoge temperatuur kwam de schimmel niet tot uiting in de snelle detectietoets.

*C. thielavioides* werd bij S4 niet aangetroffen bij W1 maar wel bij W2. Juist bij W1 waren de penen minder gezond dan bij W2.

Tabel 3.12. **Aanwezige schimmels op de zwarte vlekken.**

			W1 wondheling 1 week 10°C			W2 geen wondheling		
			Alternaria*	Chalaropsis	Acrothecium	Alternaria	Chalaropsis	Acrothecium
S1	K1	O1	+	+	+	+	+	+
	K2	O1	+	+		+	+	
	K1	O2		+		+		
	K2	O2	+	+			+	
S2	K1	O1	+	+		+		
	K2	O1	+	+		+	+	
	K1	O2	+			+		
	K2	O2	+		+	+		
S3	K1	O1		+	+		+	+
	K2	O1		+			+	+
	K1	O2	+		+		+	
	K2	O2		+	+	+	+	
S4	K1	O1	+				+	+
	K2	O1	+		+	+		+
	K1	O2	+			+		
	K2	O2	+			+	+	

\* Alternaria = *Alternaria radicina*; Chalaropsis = *Chalaropsis thielavioides*; Acrothecium = *Acrothecium spp.*  
 + = schimmel aanwezig



Figuur 3.4. Peen met grauwe vlekken veroorzaakt door *Acrothecium spp.*

### 3.3.6 Uitstalleven

De dag na het verpakken bleek dat de MAP-folie de penen erg afsloot waardoor er sprake was van condensvorming. In tabel 3.13 is het effect van de folie op de aantasting weergegeven. Er was geen sprake van interactie tussen folie en schimmel. Bij alle 4 de besmettingen was de reactie van de penen op de folie dus ongeveer hetzelfde. Bij de standaardfolie waren na de uitstalperiode de kleine vlekken op 2 procent van de penen uitgegroeid tot grote vlekken. Bij de MAP-folie was dit percentage 10%.

Vaak zat er aan het einde van de uitstalperiode schimmelpluis op de vlekken. Hiermee werd de schimmel visueel gedetermineerd. Bij S1 (onbesmet) bleken de penen vooral aangetast te zijn door *C. thielavioides*. Bij S2 (*A. radicina*) bleken de penen vooral aangetast te zijn door *A. radicina*. Bij S3 (*T. basicola*) en S4 (*C. thielavioides*) was er bijna geen sprake van schimmelpluis.

Tabel 3.13. Effect folie op het % peen met grote vlekken en de index.

	% groot	Index
Standaardfolie	2	51
MAP-folie	10	55
F-prob.	0.008	0.008
LSD	6	3

### 3.4 Discussie en conclusies

De proef werd uitgevoerd met 2 oogsttijdstippen en zodoende met 2 oogstomstandigheden – vroeg en droog, laat en vochtig – omdat verwacht werd dat oogsten onder vochtigere omstandigheden gunstig is om rooibeschatiging te voorkomen. Zodoende krijgen schimmels minder kans om te infecteren bij of kort na de oogst. Wat betreft het effect van de oogsttijden worden de resultaten wat vertroebeld doordat bij de eerste oogst een besmetting optrad met *C. thielavioides* via de oogstmachine. Bij de met *A. radicina* besmette peen pakte de vroege oogst wat betreft gezonde peen iets gunstiger uit dan de late oogst. Bij besmetting met *C. thielavioides* kon beter laat geoogst worden.

Bij onbesmet en bij besmetting met *T. basicola* was snel afkoelen gunstig voor de mate van aantasting. Bij de overige 2 schimmelbesmettingen was er geen sprake van een effect van de snelheid van afkoelen. Over het algemeen mag dus geconcludeerd worden dat snel afkoelen beter is dan langzaam afkoelen.

Een wondhelingsperiode van een week op 10 °C was bij een besmetting met *A. radicina* beter dan direct afkoelen. Bij *T. basicola* en *C. thielavioides* was het echter beter om direct te beginnen met afkoelen. Wat betreft *T. basicola* lijkt dit logisch omdat het ook gunstig is om snel af te koelen. Zowel *T. basicola* als *C. thielavioides* vermeerderen zich niet bij lage temperatuur. Het is dus bij een besmetting met deze schimmels vrij logisch dat het gunstig is om de penen zo snel als mogelijk na de oogst op 1 °C te brengen. *C. thielavioides* en *A. radicina* hebben op de één of andere manier alle monsters besmet. *C. thielavioides* was in de snelle detectietoets al zichtbaar. Op het veld sporuleerde *Alternaria radicina* al op het afgestorven loof van veldje S2.

## 4 Module 3: Statistische verwerking inventarisatieonderzoek en snelle detectiemethodiek

Auteurs: Kees Booij (PRI), Jürgen Köhl (PRI), Saskia Burgers (PRI) en Johan Wander (PPO)

### 4.1 Inleiding

De uitslag van de in het voorgaande onderzoek ontwikkelde snelle detectiemethode kan verbeterd worden door de aantasting na drie weken warme bewaring te corrigeren met ras en teeltwijze (gangbaar of biologisch). Op basis van de monsters van seizoen '03/'04 is de voorspellende waarde dan eigenlijk nog te beperkt voor een betrouwbare toets voor de praktijk. De gegevens van seizoen '01/'02 kunnen gezamenlijk met de gegevens van seizoen '03/'04 verwerkt worden. De voorspellende waarde kan daarmee verbeterd worden.

Tevens is het nuttig om een gezamenlijke statistische analyse uit te voeren over de drie jaren waarin inventarisatieonderzoek door het PRI is uitgevoerd. Dit zal meer duidelijkheid geven over de oorzaken van aantasting door zwarte vlekkenziekte. De inspanning om deze analyses uit te voeren is vrij beperkt. Getracht wordt om deze dataset uit te breiden met een dataset verzameld door Agrifirm.

### 4.2 Statistische analyse dataset zwarte vlekken peen 2001 – 2003

#### 4.2.1 Doelstelling en achtergrond.

Op basis van het onderzoek naar zwarte vlekken in 2001 en 2002 en de analyse daarvan bleek dat het ziekteverloop grillig was en het aantal bedrijven te beperkt om voldoende helder inzicht te krijgen in de mogelijke factoren die bij het optreden van zwarte vlekken bij bewaarpeen optreden. De conclusies van het onderzoek was dan ook dat er geen harde relaties waren maar dat de resultaten wezen op enkele factoren die de moeite waren om verder te onderzoeken.

Door de jaren 2001 en 2002 te combineren met nieuwe gegevens uit 2003 kwam een nieuwe dataset beschikbaar die mogelijk wel tot duidelijkere verbanden zou leiden.

Om dit verder te onderzoeken zijn zo goed mogelijk de data van de 3 jaren gestandaardiseerd en in één bestand gebracht voor verdere analyse.

#### 4.2.2 Oriënterende analyse en inperking.

Alvorens de set hanteerbaar te maken en aan een grondige analyse te onderwerpen zijn zowel de dataset zelf als daarin voorkomende factoren/variabelen beperkt.

De totale set bevatte te weinig partijen om alle gemeten factoren in de analyse mee te nemen. De volgende criteria zijn genomen om een juiste keuze te maken in de te analyseren factoren:

- a) een oppervlakkige analyse per factor indiceerde dat sommige variabelen gerelateerd waren aan het optreden van de zwarte vlekken in tenminste één van de jaren
- b) de variabelen kwam uit de multiële regressie analyses van 2001 en 2002 als mogelijk relevant naar voren.
- c) er waren biologische aanwijzingen dat de factor een rol speelt in het ontstaan van infecties.
- d) de factor moet voldoende variatie vertonen en evenwichtig verdeeld zijn.
- e) bij sterk gecorreleerde factoren moest een keuze gemaakt worden.

De selectie van variabelen/factoren is beschreven in de volgende paragraaf.

De analyses werden uitgevoerd op zwarte vlekken totaal (na 12 weken gekoelde bewaring) en op incidentie van Acrothecium in de partijen.

Het grote probleem bij zwarte vlekken totaal is dat ze door meerdere ziekten veroorzaakt kunnen zijn die ieder op andere factoren tijdens de productie, oogst en bewaring reageren. Omdat de verhouding tussen de ziekten sterk varieerde tussen de jaren was dit een complicerende factor.

Tot slot was het jaar 2003 in meerdere opzichten afwijkend van de jaren daarvoor nl. zowel biologische als gangbare bedrijven, andere onderzoekers die de waarnemingen hebben verricht, een ander geconstateerd ziekteniveau in de partijen, en een veel vroeger oogstseizoen. Om deze jaar-tot-jaar verschillen te kunnen hanteren zijn voor 2003 de gangbare partijen niet meegenomen in de analyse en is een deel van de analyse alleen over 2001 en 2002 gegaan. Overigens zijn de eerste oriënterende analyses wel over alle partijen (inclusief de gangbare partijen) en is steeds de totaalset 2001-2003 gebruikt. De grote variabiliteit en onevenwichtigheid in de dataset die daarbij onstond was aanleiding om de hierboven aangegeven weg te volgen.

De gegevens van Agrifirm waren helaas te onvolledig en te verschillend om in deze analyse te betrekken.

#### 4.2.3 Controle data en correlaties

Voor alle variabelen is gekeken naar het bereik en de verdeling daarvan over de jaren en naar onderling correlaties op basis van alle drie de jaren en op basis van 2001 en 2002.

In selectie van variabelen voor verklaren van zwarte vlekken en/of Acrothecium kunnen de volgende variabelen mogelijk worden meegenomen :

- %afslib of % organisch stof (onderling sterk gecorreleerd)
- Zaaidichtheid (niet genoemd en minder interessant ?)
- Ziekloof of gehalte water, onderling gecorreleerd; voorkeur ziekloof omdat gehalte water een erg klein bereik heeft
- Luchttemperatuur lucht
- Bodemtemperatuur bodem (blijkt niet gecorreleerd met luchttemperatuur)
- Grondrest (let op, in derde jaar heel ander bereik)
- Verwond of loofrest (onderling gecorreleerd)
- Gehalte Ca of gehalte Mg (onderling gecorreleerd), op basis van hypothese voorkeur voor gehalte Ca

De volgende variabelen kunnen niet direct worden meegenomen in de selectie :

- groeidagen : gecorreleerd met verwond, temperatuur en gehalten
- vochtgehalte van de bodem: gecorreleerd met %afslib, organisch stof en gehMg.

Tenslotte zijn de volgende factoren onderzocht :

- ras: er komen 9 rassen voor in de drie jaar, geen goede verdeling, veel rassen komen weinig voor dus ras wordt in eerste instantie niet meegenomen
- schermbloemig en/of peen: dit is een samenvoeging van al dan niet schermbloemige in de buurt dan wel peen in het jaar ervoor. Als één van twee het geval is, is de waarde de van factor "peenscherm" gelijk aan 1 (een maat voor niet-zaad- of bodemgebonden infectiedruk). Het idee was dat door samenvoeging van deze twee variabelen de verdeling (aantal percelen met wel/niet) over de waarnemingen beter zou zijn en bovendien dat de twee variabelen in feite staan voor hetzelfde effect. De verdeling is beter voor 2001 maar veel slechter voor 2002 (3 percelen niet en 20 wel).



In de selectie van variabelen zijn in eerste instantie de volgende zeven variabelen meegenomen : %afslib, ziekloof, t\_lucht, t\_bodem, verwond, gehCa en peenscherm.

Er zijn gegevens beschikbaar over drie jaar. Op voorhand zijn er twijfels over de vergelijkbaarheid van de gegevens van het derde jaar t.o.v. de eerste twee jaren. Gegeven het aantal data over twee jaar (42 percelen) is zeven variabelen een heel redelijk aantal om in de analyse mee te nemen.

Er is gekozen voor een gecombineerde analyse over de jaren met jaar als een blokfactor. Er kunnen wel (grote) verschillen zijn tussen de jaren door ziektedruk maar het is redelijk om aan te nemen dat als er variabelen zijn die van invloed zijn op zwarte vlekken en Acrothecium dit in beide jaren hetzelfde is (of in ieder geval dezelfde richting uit wijst).

#### 4.2.4 Multipele Regressie Analyse zwarte vlekken

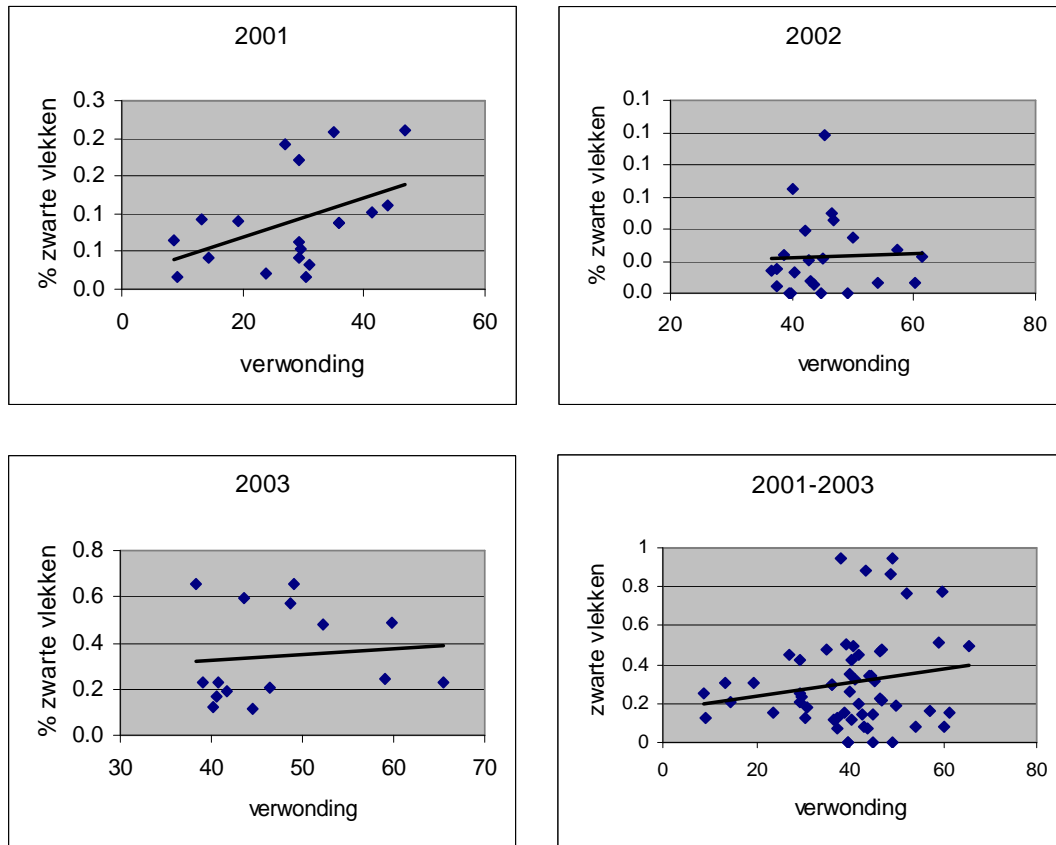
De gemeten variabele zwarte vlekken is in de dataset weergegeven als een percentage.

Analyse van de data over alle drie de jaren met alle 7 variabelen in een GLM (generalized linear model) met binomiale verdeling (en link=logit) waarbij jaar als een blokfactor wordt opgenomen geeft voor geen van de zeven variabelen een significant effect. De variabele die het meeste variatie verklaard is het percentage verwonding tijdens de oogst. Vervolgens is de analyse herhaald op de arcsin-wortel getransformeerde percentages. Ook hierbij gaf geen van de zeven variabelen een significant effect.

De analyse is opnieuw uitgevoerd zonder de gegevens van het derde jaar. In deze analyse komen in eerste instantie percentage verwonding en luchttemperatuur tijdens de oogst naar voren als mogelijk relevante variabelen. Het fitten van deze twee variabelen en de factor jaar in een regressie model verklaard 47 % van de variantie.

Er is één sterk afwijkende meting. Het weglaten van dit punt heeft een grote invloed op het resultaat. Het effect van de luchttemperatuur halveert daarmee en is niet meer significant. Het effect van percentage verwonding blijft gelijk. Besloten is het afwijkende punt uit te sluiten bij de analyse. Uiteindelijk blijft alleen het percentage verwonding nog over als een significant verklarende variabele. Figuur 4.1 laat zien dat de relatie elk jaar licht positief is maar dat de niveau's van ziekte en de range van verwonding verschillend is. De relatie over 2001-2003 is significant maar zwak.

**Fig 4. 1 De onbewerkte relatie tussen percentage verwonding per partij en % peen met kleine of grote zwarte vlekken na bewaring . De schalen zijn verschillend per jaar, de data ongetransformeerd**



Het uiteindelijk beste regressie model met jaar en verwonding verklaart 48.5% van de variatie en geeft de volgende vergelijking :

$$\text{Arcsin}(\sqrt{\% \text{ zwarte vlekken}}) = 0.196 + (-0.23 \text{ in jaar } 2002) + 0.00353 * \text{verwond}$$

Voor een aantal variabelen die niet meegedaan hebben in de selectie is vervolgens onderzocht of zij nog wat kunnen toevoegen aan dit model :

- ras : geen significante verschillen
- zaaidichtheid : niet significant
- grondresten : -0.00342 (p=0.095) niet significant

Er was op voorhand speciaal interesse in gehalte Ca en het effect van schermbloemige en/of peen. Het toevoegen van gehCa aan model is niet significant (p=0.98) maar helling is wel negatief conform de verwachting. Het toevoegen van een eventueel effect van naburige peenpercelen of schermbloemigen is niet significant en ook negatief terwijl hier een positief effect verwacht werd. Het samenvoegen van schermbloemige en aanwezigheid peen levert geen beter beeld op.

#### 4.2.5 Multipele Regressie Analyse Acrothecium

Acrothecium is in de dataset weergegeven als een percentage. In het derde jaar is geen Acrothecium gemeten. De gegevens van het derde jaar (2003) doen daarom niet mee in de analyse van Acrothecium.

Analyse van de data over twee jaar in een GLM (generalized linear model) met binomiale verdeling (en link=logit) waarbij jaar als een blokfactor wordt opgenomen geeft voor geen van de zeven variabelen een significant effect. De variabele die het meeste variatie verklaard is percentage verwonding. Vervolgens is de analyse herhaald op de arcsin-wortel getransformeerde percentages. Ook hierbij gaf geen van de zeven variabelen een significant effect.

Aangezien de variabele verwond wel het meeste verklaard, is een model gefit met jaar en verwond. Het weglaten van één sterk afwijkend punt in een betere relatie tussen percentage verwonding en Acrothecium, de helling wordt steiler en bijna significant ( $p=0.06$ ). Dit model verklaart 19% van de variatie en de vergelijking van de lijn is :

$$\text{Arcsin}(\text{wortel}(\% \text{ Acrothecium})) = 0.121 + (-0.58 \text{ in jaar } 2002) + 0.0144 * \text{verwond}$$

Voor een aantal variabelen die niet meegedaan hebben in de selectie is vervolgens onderzocht of zij nog wat kunnen toevoegen aan dit model :

- ras : geen significante verschillen
- zaaidichtheid : niet significant
- grondrest : niet significant, teken positief

Ook bij Acrothecium was op voorhand speciaal interesse in gehalte Ca en het effect van schermbloemige en/of peen. Het toevoegen van gehCa aan model is niet significant ( $p=0.98$ ) maar helling is wel negatief conform de verwachting.

Het toevoegen van aanwezigheid peen of schermbloemigen is niet significant maar het teken is nu wel positief. Het effect van schermbloemigen alleen levert positief maar net niet-significant positief effect op. Deze invloed is dus mogelijk wel relevant.

#### 4.2.6 Vergelijking met resultaten uit rapport

In het rapport is gekozen voor een analyse per jaar. Een controle van deze analyse levert de volgende opmerkingen op voor **zwarte vlekken totaal** :

- effect schermbloemige in 2001 is gebaseerd op 3 percelen met schermbloemige versus 16 percelen zonder. Er is wel een verschil tussen de twee gemiddelde maar dit is afhankelijk van één punt. Bovendien wordt het effect helemaal niet gevonden in 2002 terwijl de verdeling over wel/niet daar veel beter is.
- effect van temperatuur in 2002 hangt op één perceel, zonder dit perceel is er geen effect en halveert de helling. Verband wordt niet ondersteund in 2001.
- Effect van verwond blijft overeind, ook in een analyse over de twee jaren. In 2002 is dit effect op zichzelf niet significant maar de lijn past wel in het plaatje.

De analyse voor **Acrothecium** geeft in het rapport op het eerste gezicht een heel ander resultaat dan in bovenstaande analyse. De volgende opmerkingen kunnen worden gemaakt :

- ook hier geldt dat het effect van schermbloemige in 2001 is gebaseerd op 3 versus 16 percelen. Het verschil tussen de gemiddelden is echter groter en de drie proefplekken met schermbloemige in de buurt hadden alle drie een hoog percentage Acrothecium (en een eenvoudige t-toets geeft een significant verschil).
- Loofrest heeft een positieve correlatie met percentage verwonding en is daarom in de selectie van variabelen niet opgenomen. Beide zijn aan de oogstomstandigheden gerelateerd maar een mogelijk

verband tussen hoeveelheid loofresten en Acrothecium zoals aangegeven in 2001 kon in 2002 niet worden bevestigd

- Het effect van Ca is over de twee jaren niet significant. In het eerste jaar lijkt er wel een effect maar het model met Ca is onstabiel met veel afwijkende punten. In het tweede jaar wordt het verband helemaal niet ondersteund en lijkt het eerder de andere kant op te gaan (stijging bij hogere Ca).

#### 4.2.7 Datasets Agrifirm

Een beoordeling per jaar van de datasets van Agrifirm leverde op dat er in 2003 geen overeenkomst was tussen de mate van aantasting en voorvrucht, groenbemester, ras, zaaidatum N-hoeveelheid, K-hoeveelheid, oogstdatum, hoeveelheid zaaizaad en hoeveelheid gewasbeschermingsmiddel. Wat betreft de gegevens van 2004 viel op dat de percelen met meer aantasting weinig kalium hebben gekregen, een lage opbrengst hebben en er een relatief hoge hoeveelheid gewasbeschermingsmiddel - met name herbiciden - werd toegepast.

#### 4.2.8 Eindconclusies.

De analyse wordt bemoeilijkt door een aantal factoren die van tevoren niet geheel te overzien waren bij de opzet van het onderzoek.

- Het aantal factoren dat mogelijk een rol speelt bij het optreden van zwarte vlekken of bij één van de veroorzakende ziekten is groot. Deze mogelijk factoren zijn in het onderzoek alle wel gemeten maar hebben vaak een te kleine spreiding, zijn onevenwichtig verdeeld van jaar tot jaar en zijn onderling gecorreleerd.
- In combinatie met een dataset van beperkte grootte en de afwezigheid van duidelijke verbanden maakt dit het maken van eenduidige conclusies moeilijk.
- De relaties die wél significant zijn of trendmatig aanwezig zijn, duiden er op dat oogstcondities belangrijk zijn. De hypothese dat slechte oogstcondities waardoor verwonding optreedt in combinatie met hogere temperaturen een belangrijke factor zijn in het optreden van zwarte vlekken na bewaring lijkt ondanks de statistische zwakheden plausibel. Bij Acrothecium zijn er ook aanwijzingen dat inoculum bronnen in de vorm van naburige of voorafgaande schermbloemigen of peenteelt mogelijk een rol spelen. Meer gericht onderzoek in deze richting lijkt de moeite waard.
- Het wisselende optreden van de verschillende ziektes en de onderlinge verhouding van jaar tot jaar duidt er op dat voor verschillende ziekten verschillende factoren een rol spelen. Het opnemen van een "jaareffect" als factor in de analyse in een meerjarige analyse heeft hierdoor maar beperkte meerwaarde t.o.v. een analyse per jaar apart.
- Het scoren van niet goed gedefinieerde zwarte vlekken zonder te weten om welke ziekten het precies gaat is onderzoekstechnisch een zwakke plek. Onderzoek naar de afzonderlijke ziekten met betere methoden lijkt dan ook noodzakelijk om hardere conclusies te kunnen trekken betreffende relevante factoren en beheersingsopties.

De analyse geeft aan dat het effect van oogstomstandigheden en infectiebronnen op de afzonderlijke ziekten de beste aanknopingspunten geven om meer grip te krijgen op de problematiek.

## 4.3 Mogelijkheden voor snelle detectie voor zwarte vlekken in peen na bewaring. Statistische analyse.

### 4.3.1 Achtergrond.

De mogelijkheid is onderzocht in hoeverre tijdens bewaring van monsters peen bij kamertemperatuur gedurende een korte periode (3-6 weken) een voorspelling kan worden gedaan voor de aantasting van peen onder koude bewaring zoals dat in de praktijk gebeurt.

Hiertoe zijn in de winters van 2001/2002 en van 2003/2004 van totaal 73 partijen peen van verschillende rassen monsters genomen en is de ontwikkeling van kleine en grote zwarte vlekken onder toetsomstandigheden (3 en 6 weken warm) en onder koude bewaring (12 weken koud) vastgesteld. Op grond van de analyse alleen over het eerste jaar bleek dat het meenemen van peenras en grondsoort als factor in het voorspellingsmodel de voorspelling mogelijk zou kunnen verbeteren. In dit vervolgproject zijn daarom de data van 2001/2002 en 2003/2004 gecombineerd geanalyseerd om te zien of er een beter verklarend model te formuleren is.

### 4.3.2 Data en variabelen.

De uit de experimenten verkregen gegevens bevatten de volgende variabelen.

Potentieel voorspellende variabelen:

kleine vlekken na 3 weken warme bewaring (als % per monster)  
grote vlekken na 3 weken warme bewaring (als % per monster)  
vlekken totaal (kleine of grote of beide) na 3 weken bewaring (als % per monster)  
kleine vlekken na 6 weken warme bewaring (als % per monster)  
grote vlekken na 6 weken warme bewaring (als % per monster)  
vlekken totaal (kleine of grote of beide) na 6 weken bewaring (als % per monster)  
beoordelaar van symptomen  
peenras  
grondsoort

Hoewel voor een deel van de dataset nog andere factoren gemeten zijn, is er voor gekozen om alleen die factoren mee te nemen die het eerste jaar een verband in de snelle detectietoets lieten zien. Ook de analyse van de inventarisatiegegevens gaf geen duidelijke aanleiding andere factoren in de analyse op te nemen.

Responsvariabelen

kleine vlekken na 12 weken koude bewaring (als % per monster)  
grote vlekken na 12 weken koude bewaring (als % per monster)  
vlekken totaal (kleine of grote of beide) na 12 weken bewaring (als % per monster)

De dataset bestaat uit 40 (2001/2002) respectievelijk 32 (2003/2004) partijen peen waarop de snelle detectietoets is getest. De dataset (72) is omvangrijk genoeg om een verantwoord statistisch model met 2 á 3 factoren op te baseren.

### 4.3.3 Analyse

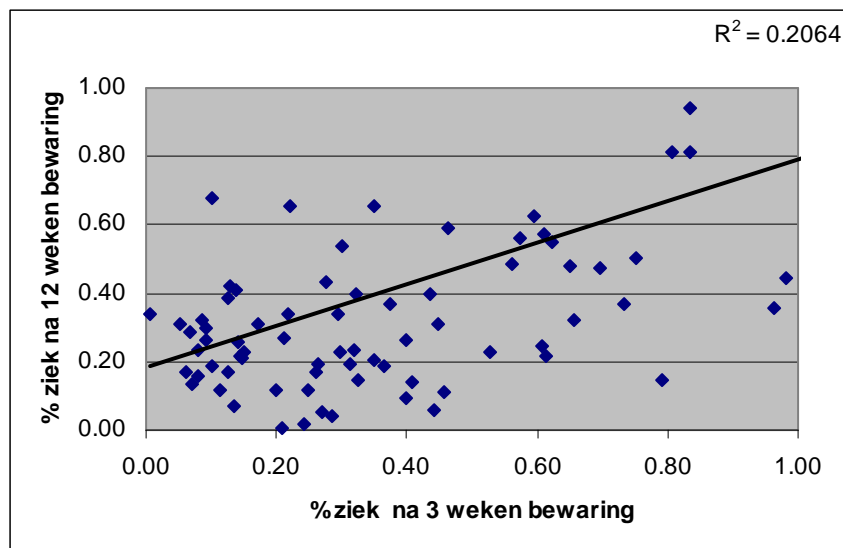
Een eerste verkennende analyse is gedaan om te zien welke relaties voldoende sterk waren alvorens een uiteindelijke analyse uit te voeren. De data van beide jaren zijn gecombineerd en er zijn enkelvoudige regressies uitgevoerd tussen de toetsmetingen in week 3 en week 6 tegen de uiteindelijk metingen in week 12 (koel bewaard). Dit voor de variabele % peen met kleine vlekken, grote vlekken en kleine+grote vlekken (% ziek).

Dit in eerste instantie zonder alle ras of grondsoorteffect mee te nemen. Wel zijn de gemiddelde van de rassen vergeleken. Tevens is gekeken in hoeverre de ziektescore van de 2 belangrijkste beoordelaars verschilde.

Conclusies hieruit waren:

Zowel kleine vlekken, grote vlekken als vlekken totaal na 6 weken bewaring gaven zeer zwakke relaties met de symptomen na 12 weken bewaring (alle percentage verklaarde variantie onder de 15%). Ook de relaties tussen 3 weken bewaring en 5 weken bewaring waren slecht wat er op duidt dat de ziekteontwikkeling tussen 3 en 6 weken zeer grillig verloopt en weinig perspectief biedt, hetgeen ook uit een eerder rapport werd geconcludeerd.

De relaties tussen symptomen na 3 weken warm met die na 12 weken koude bewaring leken meer perspectiefvol waarbij het totaal % percentage zieke peen (met kleine en/of grote vlekken zwarte vlekken) het best gerelateerd was aan het percentage zieke peen na 12 weken koude bewaring. Ook dit was in overeenstemming met eerder analyses over alleen 2001/2002. In Figuur 4.2 is het verband tussen 3 weken warme en 12 weken koude bewaring voor beide jaren weergegeven.



***Figuur 4.2 De relatie tussen symptoomontwikkeling van zwarte vlekken in de snelle detectietoets na 3 weken warme bewaring en het % peen met zwarte vlekken na 12 weken koude bewaring***

Zoals uit de figuur blijkt is de spreiding in data zeer groot en zal het duidelijk zijn dat deze eenvoudige relatie te ruw is om wat voor de praktijk te betekenen. De trend is echter significant.

Het verschil in de beoordeling tussen beoordelaars was vrijwel nihil. Hieruit kan geconcludeerd worden dat de beoordeling van het % zieke peen goed te standaardiseren is. Tevens kan deze factor in de analyse van de data worden weggelaten.

Het redelijke percentage verklaarde variantie in relatie % ziek na 3 weken met % ziek na 12 weken was uitgangspunt om in deze te gebruiken voor de uiteindelijke analyse via multiële regressie met raseffecten, grondsoorten en jaar.

Uit de multiële regressie bleek dat het meenemen van jaareffecten of grondsoort geen toegevoegde waarde hadden bij het formuleren van een voorspellend model.

De relatie was dus even sterk/zwak was in 2002 als 2003 en ook tussen grondsoort leverde geen bijdrage in een betere voorspelling. Overigens waren de meeste data afkomstig van zwaardere gronden.

Het beste model dat statistisch verantwoord kon worden onderbouwd was een model waarin raseffecten worden meegenomen. Het effect van peenras op de toetsuitkomsten is significant maar wel grotendeels toe te schrijven aan het verschil tussen de restgroep van diverse rassen t.o. v. de gangbare rassen Nerac, Narbonne en de Bejo rassen. Tussen de gangbare rassen zijn geen significante verschillen. Opmerkelijk is dat de symptoomontwikkeling tijdens bewaring bij de gangbare rassen sterker lijkt te zijn dan bij de experimentele en minder gangbare rassen hoewel daarbinnen weer veel variatie is. Een aparte toets liet zien dat dit niet samenhangt met het al dan niet ecologische telen van deze rassen

Het uiteindelijke model voor de verwachte schade na 12 weken koude bewaring ziet er dan als volgt uit.

Percentage peen met vlekken in week 12 =  
0.316+0.47 \* (% zwarte vlekken in week3) (voor Bejo rassen)  
0.267+0.47 \* (% zwarte vlekken in week3) (voor Narbonne)  
0.360+0.47 \* (% zwarte vlekken in week3) (voor Nerac)  
0.462+0.47 \* (% zwarte vlekken in week3) (voor andere rassen)

Teleurstellend is echter dat het uiteindelijke model waarin de lichte raseffecten worden meegenomen het percentage verklaarde variantie nog steeds slechts 29% is waardoor de voorspellende waarde van het model voor de praktijk onvoldoende is. Door de enorme variatie is de onzekerheid in de voorspelling te groot. Bijvoorbeeld 40 % ziek in week 3 bij een Bejo ras geeft dan een voorspelling van 50 % ziek in week 12 maar de marges van de voorspelling liggen tussen 15% en 80 %.

Een groot deel van de variatie is mogelijk te verklaren doordat zwarte vlekken door meerdere schimmelsoorten wordt veroorzaakt die verschillend zullen reageren op warme of koude bewaaromstandigheden. Omdat de samenstelling van de schimmelsoorten van partij en van jaar tot jaar zullen variëren is deze variatie in toetsuitslagen niet te vermijden.

#### 4.3.4 Conclusies

- Er is een significante relatie tussen de vorming van zwarte vlekken na 3 weken warme bewaring en de mate van aantasting met zwarte vlekken na 12 weken gekoelde bewaring overeenkomstig de praktijk.
- Een deel van de variatie in de verkregen dataset is te verklaren door rasverschillen.
- De voorspellende waarde van de snelle detectietoest na 3 weken is onvoldoende voor de praktijk ook als het ras als factor wordt meegenomen.
- Voor de ontwikkeling van een goed model zal er vermoedelijk gecorrigeerd moeten worden op de aanwezige schimmel. Deze is echter niet bekend.





## Bijlage 1. Percentage peen per klasse

			% gezonde peen		% peen met kleine vlekken		% peen met grote vlekken		Ziekte-index	
			W1	W2	W1	W2	W1	W2	W1	W2
S1	01	K1	15	13	63	75	22	12	53	50
S1	01	K2	7	13	59	54	34	33	64	60
S1	02	K1	12	21	64	65	23	15	56	47
S1	02	K2	7	5	52	42	41	53	67	74
S2	01	K1	9	7	56	47	35	46	63	69
S2	01	K2	7	6	47	43	46	51	69	73
S2	02	K1	5	3	61	46	34	52	64	74
S2	02	K2	2	1	56	38	42	61	70	80
S3	01	K1	36	39	55	54	9	8	36	34
S3	01	K2	32	31	57	51	12	18	40	44
S3	02	K1	36	43	50	47	14	10	39	33
S3	02	K2	31	39	58	52	11	10	40	36
S4	01	K1	31	46	61	46	8	8	39	31
S4	01	K2	31	47	57	45	12	8	41	30
S4	02	K1	46	49	49	47	6	5	30	28
S4	02	K2	44	45	52	46	4	9	30	32