



Invloed van Polyram op schilvlekjes bij Elstar

Verslag van een praktijkproef in het seizoen 2002-2003

A. de Jager en C.G. Westerweele (PPO-Fruit). J.A. Verschoor (ATO B.V.)
en M. Kers (DLV Plant B.V.)

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector Fruit
Juli 2003

Rapportnummer 2003-11

© 2003 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden veeelvoudigd, 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.

Gefinancierd door het PT

Projectnummer: PPO-fruit: 610382
ATO 33050-00 en DLV 1330001400

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Sector Fruit

Adres : Lingewal 1, Randwijk
: Postbus 200, 6670 AE Zetten
Tel. : 0488 - 473702
Fax : 0488 - 473717
E-mail : infofruit.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.dlo.nl

Inhoudsopgave

SAMENVATTING	5
1 INLEIDING	7
2 PROEFOPZET	9
2.1 Proefopzet praktijkproef effectiviteit van Polyram tegen schilvlekjes.....	9
2.2 Proefopzet anatomische aspecten van de schil vóór en na het ontstaan van schilvlekjes	10
2.2.1 Materiaal en Methode.....	10
2.2.1.1 Appelen gebruikt voor microscopie.....	10
2.2.1.2 Werkwijze CryoSEM.....	10
3 RESULTATEN	11
3.1 Effectiviteit van Polyram tegen schilvlekjes.....	11
3.1.1 Rijpheidsmonster vóór de pluk	11
3.1.2 vruchtkenmerken bij pluk.....	11
3.1.2.1 rijpheid en kwaliteit.....	11
3.1.2.2 gehalten aan nutriënten.....	12
3.1.3 schilvlekjes bij uitslag.....	13
3.1.3.1 gemiddeld per behandeling	13
3.1.3.2 gemiddeld per perceel.....	13
3.1.4 schilvlekjes na uitstalling.....	14
3.1.4.1 gemiddeld per behandeling	14
3.1.4.2 gemiddeld per perceel.....	14
3.1.5 Spuitschema's.....	14
3.1.6 Statistiek.....	15
3.1.7 Verbanden van schilvlekjesindex met rijpheid/kwaliteit	15
3.2 Anatomische aspecten van de schil vóór en na het ontstaan van schilvlekjes	17
3.2.1 de schil bij pluk.....	17
3.2.2 de schil na bewaring tot april	18
4 CONCLUSIES	21
5 RELEVANTE PUBLICATIES	23
BIJLAGE 1	25

Samenvatting

Schilvlekjes vormen een aantasting in Elstar die in sommige jaren tot ernstige financiële verliezen kan leiden. Recente praktijkwaarnemingen lieten zien dat mogelijk Polyram DF een oplossing kan bieden voor dit probleem. Op initiatief van NFO en PT is daarom in 2002 een praktijkproef uitgevoerd met Polyram DF om de mogelijke werking van Polyram DF te toetsen tegen schilvlekjes in Elstar. Op 4 percelen met een duidelijke schilvlekjeshistorie, verdeeld over het land, zijn de volgende 4 objecten vergeleken: (1) starten met Polyram in april, (2) starten met Polyram in Juni, (3) praktijkschema zonder MAP (mono ammonium fosfaat)* en zonder Polyram en (4) praktijkschema zonder Polyram (=controle). Polyram is wekelijks meegenomen met de andere bespuitingen in een dosering van 0,5 tot 1,5 kg per hectare, afhankelijk van de weersomstandigheden.

Vruchten van een late 2^e pluk (meest gevoelig) zijn volgens een normaal en een 'voorzichtig' schema bewaard tot begin april 2003. Het voorzichtige schema onderscheidde zich door veel geleidelijker op conditie komen (inslag) en weer terugbrengen naar atmosferische condities (uitslag) en tijdens bewaring door een iets groter vochtverlies en een lager koolzuurgehalte (1 i.p.v. 3%).

Schilvlekjes werden waargenomen direct na uitslag en na één week uitstallen bij 18°C en 70% RV. Er werd gescoord in 4 klassen en uit de verdeling over deze 4 klassen werd de schilvlekjesindex berekend. De resultaten laten zien dat Polyram DF in 2002 een reductie van maximaal 25% heeft gegeven. Dit effect is statistisch significant, maar qua grootte niet voldoende om ernstig aangetaste partijen te behoeden voor deklassering. Er is een tendens dat toepassing vanaf juni beter uitpakt dan toepassing vanaf april, maar dit effect is niet statistisch significant. Voorzichtige bewaring levert bij uitslag minder schilvlekjes op, maar dit effect is na uitstalling vrijwel verdwenen.

De elektronenmicroscopische analyse van de schil liet zien dat de gebruikte partijen Elstar bij de oogst al beschadigingen (barstjes) vertoonden, die na bewaring tot april verdiepten en verwijdden tot schilvlekjes bij alle behandelingen/controles van de twee gebruikte herkomsten. Er werden zowel bij oogst als na bewaring geen grote anatomische verschillen gevonden tussen de preparaten afkomstig uit verschillende behandelingen. Met name de observatie dat de schilvlekjes ontstaan in een barstjespatroon zoals reeds aanwezig bij de pluk lijkt een aanwijzing dat er een duidelijke relatie kan bestaan tussen de schilkwiteit (c.q. de hoeveelheid barstjes) bij oogst, en de kans op schilvlekjes na bewaring.

Samenvattend kan worden geconcludeerd dat Polyram een onderdeel kan zijn van een pakket maatregelen gericht op reductie van het risico op schilvlekjes, maar dat voor een meer afdoende aanpak een bredere benadering nodig is, die enerzijds meer inzicht oplevert in de manier waarop schilvlekjes tot stand komen (fundamentele benadering) en die anderzijds meer inzicht geeft in de omstandigheden waaronder schilvlekjes tot stand komen.

*of juist met MAP als in de praktijk geen MAP wordt toegepast

1 Inleiding

Schilvlekjes vormen al een probleem zolang er volwassen aanplanten van Elstar zijn. ATO heeft al in de 80er jaren van de vorige eeuw aandacht geschonken aan dit probleem en vervolgens heeft PPO-fruit (toen FPO), een enquête uitgevoerd en daarop vervolgonderzoek gebaseerd. Weer later heeft ATO opnieuw onderzoek gedaan in opdracht van het productschap tuinbouw (PT) en van de Stichting Schilvlek Elstar. De kennis die in al dit werk is opgedaan is nog eens samengevat op het door de Nederlandse Fruiteelt Organisatie (NFO) georganiseerde schilvlekjessymposium, april 2002.

In gevoelige jaren kunnen grote problemen optreden tijdens en na de bewaring door het ontstaan van schilvlekjes. Naast directe schade als gevolg van deklassering of erger, heeft het optreden van schilvlekjes ook een sterk negatieve invloed op het imago van Elstar, waardoor de algemene prijsvorming sterk negatief beïnvloed kan worden. Een behoudende schatting van de directe economische schade in een probleemseizoen: als in 20% van de partijen schilvlekjes optreden waardoor de prijs met 0,10 €/kg gereduceerd wordt, geeft dit op een totale productie 125000 ton een schade van € 2,5 miljoen. Een prijsdaling als gevolg van imagoverslechtering levert een schade op van €1,25 miljoen per €0,01/kg prijsdaling. Kortom, het belang om hier verbetering in te brengen is duidelijk. Het probleem is ook in Noord Duitsland erg groot. In zuidelijker streken speelt het een minder grote rol, misschien ook omdat Elstar daar minder lang wordt bewaard.

Schilvlekjes zijn een uitwendig kwaliteitsprobleem dat zichtbaar wordt tijdens en na langdurige bewaring van het fruit. Het leidt nauwelijks twijfel dat de basis van het probleem wordt gelegd tijdens de teeltfase. Op grond van de rol van gisten bij verruwing en de constatering dat zich in monsters ook gisten in de schilvlekken bevonden bestaat volgens de DLV de mogelijkheid dat gisten ook een rol spelen bij het ontstaan van schilvlekken. Vanuit de studiegroep 'verruwing' in NFO KRING NOORD, heeft daarom o.a. Jan Hoekstra Polyram DF weer in het spuitschema opgenomen – naast captan - met het oog op de mogelijke werking tegen schilvlekken. De resultaten daarvan waren dermate positief dat door PT is besloten om in 2002 een praktijkproef te financieren om de effectiviteit van dit middel te testen, voordat meer geld en energie wordt gestoken in fundamentele onderzoek.

Op het symposium op april 2002 in Geldermalsen over schilvlekjes is door meerdere deelnemers benadrukt dat een meer fundamentele benadering nodig is om tot een oplossing te komen. In afwachting van de resultaten van een praktijkproef met Polyram is vervolgens door de PAC besloten om verdere besluitvorming over de aanpak van het probleem uit te stellen tot de resultaten van deze praktijkproef bekend zouden zijn.

2 Proefopzet

Dit project is een samenwerking van PPO-fruit (projectleider), ATO en DLV-Plant. Het onderdeel anatomische aspecten (3.2 en 4.2) is geschreven door ATO, de overige delen door PPO. De bijdrage van DLV bestond uit de begeleiding van de telers.

2.1 Proefopzet praktijkproef effectiviteit van Polyram tegen schilvlekjes

Er zijn 4 Elstar-percelen geselecteerd, enigszins gespreid over het land, waarvan bekend is dat er in de voorbije jaren grote problemen met schilvlekjes zijn opgetreden. Twee percelen bevinden zich in de Noordoost polder, één in de Betuwe en één in Noord-Holland.

Op deze bedrijven is op basis van de ervaring een schema gevolgd met wekelijkse bespuitingen met 0,5 tot 1,5 kg Polyram DF – afhankelijk van het weer - als toevoeging aan de praktijkschema's van de deelnemende bedrijven. Op elk perceel zijn 4 objecten aangelegd namelijk (1) starten met Polyram begin april, direct vanaf de bloei, (2) starten met Polyram rond 15 juni, (3) zonder Polyram maar met MAP (mono-ammoniumfosfaat) waar dit normaal niet gebruikt werd en zonder MAP waar dit normaal wél gebruikt werd en (4) het praktijkschema zonder Polyram. Deze laatste behandeling vormt in principe de beste controle om de werking van Polyram te toetsen. Volgens voorschrift is begin augustus (28 dagen voor de geschatte start van de pluk) gestopt met Polyram bespuitingen. In de teelt werden de betrokken telers begeleid door DLV-Plant b.v.

Medio augustus is een vruchtmonster genomen om een eerste indruk te krijgen van de volgorde van vruchtontwikkeling en vervolgens is in overleg met de telers een moment gekozen voor een late tweede pluk. Hoewel de vruchtontwikkeling op de percelen wat uiteenliep zijn alle partijen op 25 of 26 september geplukt. Van een monster is bij inslag ook de kwaliteit en het gehalte aan mineralen bepaald. Het mineralengehalte is bepaald door het laboratorium voor grond-, gewas-, en milieuonderzoek 'Zeeuws-Vlaanderen'. Het monster is samengesteld uit delen van 25 vruchten (niet gewassen) waarvan pitten en steeltjes werden verwijderd.

In de bewaring is een vergelijking gemaakt tussen een normaal bewaarscenario en een 'voorzichtig' bewaarscenario. In dit voorzichtige scenario is bij inslag een periode van 7 dagen toegepast om op conditie te komen wat betreft temperatuur en zuurstof. Bij uitslag is zuurstof in 7 dagen naar atmosferische conditie gebracht en de temperatuur in 3 dagen. Tijdens bewaring is gezorgd voor een iets hoger vochtverlies te weten 5% in plaats van 4% over de hele bewaarperiode. De bewaarcondities waren verder 2% CO₂, 1.2% O₂ en 1.5°C. De uitslag volgde in de eerste week van april 2003. Direct na uitslag en na één week uitstallen bij 18°C en 70% RV, werd de schilvlekjesindex bepaald. Hierbij wordt zowel het aantal vruchten met schilvlekjes als ook het aangetaste oppervlak meegewogen in de index. Er wordt onderscheid gemaakt in 4 categorieën van aantasting: categorie1: 0-1 cm², categorie2: 1-2cm², categorie3: 2cm² tot 50% en categorie4 >50%. In de formule wordt per klasse het % vruchten meegenomen:
Schilvlekjesindex = % cat1 + 2*(% in cat2) + 3*(% in cat3) + 4*(% in cat4).

Hoe zwaarder de aantasting op een vrucht is, des te zwaarder telt deze mee in de index van de partij. Om de kans te benutten dat er zinvolle waarnemingen konden worden gedaan van de schilstructuur – met de mogelijkheid om iets meer van de achtergrond van het ontstaan te begrijpen - heeft ATO zowel bij pluk als na bewaring monsters bestudeerd uit de controlebehandeling en de polyrambehandeling met behulp van elektronenmicroscopie.

2.2 Proefopzet anatomische aspecten van de schil vóór en na het ontstaan van schilvlekjes

In voorgaande onderzoeken, met name in opdracht van de Stichting Schilvlek Elstar (febr.1997-febr.2000), zijn schilvlekjes o.m. gekarakteriseerd door elektronenmicroscopische opnamen te maken van de schil. De hiervoor gebruikte techniek, Scanning Electron Micrography (SEM), bleek uitermate geschikt om schilvlekjes in de diverse ontwikkelingsstadia zichtbaar te maken. De focus van het gebruik van SEM binnen bovenstaand project lag echter met name op de fase waarin de zichtbare ontwikkeling van schilvlekjes plaatsvindt: na CA-bewaring. In het huidige onderzoek werden vruchten van de verschillende behandelingen (Polyram DF vroeg/laat, controle +/- MAP) zowel bij oogst als ook na CA-bewaring tot april door middel van SEM gekarakteriseerd.

De doelstelling was tweeledig:

- 1) om te zien of de schilstructuur van vruchten a.g.v. een verschillende behandeling duidelijke morfologische verschillen vertoonden, zowel voor als ook na bewaring,
- 2) om te zien of bij oogst reeds kenmerken gevonden konden worden die gebruikt zouden kunnen worden om het optreden van schilvlekjes na bewaring te kunnen voorspellen.

2.2.1 Materiaal en Methode

2.2.1.1 Appelen gebruikt voor microscopie

Er werd gebruik gemaakt van hetzelfde materiaal (behandelingen,pluk) als de vruchten die gebruikt zijn door PPO in de praktijkproef. Uit twee herkomsten (NOP en Betuwe) zijn van alle vier de behandelingen een aantal vruchten geselecteerd met een representatief/gemiddeld uiterlijk qua vruchtmaat, % blos etc. Bij de pluk zijn deze voorzichtig behandeld (niet aangeraakt aan de bovenzijde en vervoerd op pakbladen). Daarna zijn de vruchten direct geprepareerd (zie werkwijze CryoSEM). Om effecten van aparte bewaring of relatief grotere uitdroging tijdens de bewaring te voorkomen, zijn de vruchten na de bewaring met dezelfde criteria gekozen uit het bulkmateriaal van de praktijkproef. Uit praktische overwegingen (timing) werd gekozen om gebruik te maken van het materiaal uit het scenario "voorzichtige bewaring" van het PPO.

2.2.1.2 Werkwijze CryoSEM

Uit de vrucht wordt een stukje schil van ca. 0,5 cm² gesneden, steeds aan de niet-bloszijde op ca. 1/8^e deel van de omtrek vanaf de steel. Dit preparaat wordt met behulp van Tissue tek® in een koperen houder bevestigd en aangestipt met zilververf. Het geheel wordt bevroren in smeltende stikstof, cryogeen gebroken, ingesluisd in de microscoopkamer en aldaar gesublimeerd om overtollige rijp kwijt te raken. Zowel het opdampen met een dunne goudlaag (60-100nm) in de prepareerkamer (Oxford CT1500 cryostation), als het bekijken en fotograferen van de beelden in de SEM (Jeol 5600LV scanning elektronenmicroscop) gebeuren onder hoogvacuüm, bij een temperatuur van -193 °C. De beelden worden vastgelegd als BMP-files.

3 Resultaten

3.1 Effectiviteit van Polyram tegen schilvlekjes

3.1.1 Rijpheidsmonster vóór de pluk

Op 14 augustus zijn van de 4 betrokken percelen monsters genomen van een controleobject om een indruk te krijgen van de volgorde in de vruchtontwikkeling. De resultaten zijn in tabel 1 weergegeven

tabel 1. Vruchtkarakteristieken van Elstar van de vier betrokken percelen op 14 augustus 2002

Perceel	Regio	Vrucht Gewicht (g)	Hardheid (kg)	Zetmeel (schaal 1-10)	% suiker	Streifindex
1	Betuwe	124	7,1	1,08	10,8	0,64
2	NOP	121	7,6	1,04	9,9	0,75
3	NOP	125	7,3	1,04	9,2	0,78
4	NHolland	127	7,5	1,00	10,8	0,70
Gemiddeld		124	7,4	1,04	10,2	0,72

De volgorde in ontwikkeling afgaande op de Streifindex was dus Betuwe -> Noord-Holland -> NOP.

3.1.2 vruchtkarakteristieken bij pluk

De feitelijke plukdatum werd gekozen in overleg met de betrokken teler en was er op gericht om vruchten van een tamelijk late 2^e pluk te verzamelen om de kans op het optreden van schilvlekjes in de controle zo groot mogelijk te maken. De feitelijke plukdata zijn vermeld in tabel 2.

3.1.2.1 rijpheid en kwaliteit

Uit het overzicht van de toestand van de vruchten bij de pluk (vergelijking objecten) kan de indruk ontstaan dat we in object 1 (Polyram vanaf april) met een enigszins afwijkende situatie te maken hebben met een lager zuur- en suikergehalte, een iets lagere hardheid en een iets verder gevorderde rijping (zetmeel). Hier kunnen verder op grond van deze gegevens geen conclusies aan worden verbonden. Uit praktische overwegingen zijn de vruchten ongeveer op dezelfde datum geplukt, in de NOP volgens plan redelijk laat voor een 2^e pluk, in Noord-Holland en de Betuwe extra laat. Dit laatste is met het oog op de wens om in het onbehandelde object zoveel mogelijk schilvlekjes te krijgen dus geen probleem. Het is dus niet verbazend dat in ieder geval de vruchten van perceel 1 (Betuwe) rijper zijn (zetmeelwaarde) en een lagere Streifwaarde laten zien dan de 2 NOP-partijen (maar ook dan de NH partij!).

Tabel 2. Overzicht van de vruchtkarakteristieken bij pluk, gerangschikt volgens object (gemiddeld over de percelen) en volgens perceel (gemiddeld over de objecten): vruchtgewicht (g), grondkleur (L, a, b), hardheid (kg), zetmeel (jodiumtest), zuur- en suikergehalte (%) en Streifwaarde (hardheid/[zetmeel*suiker]); objecten: Polyram vanaf april (1), Polyram vanaf Juni (2), controle volgens de praktijk (3) + MAP (mono-ammoniumfosfaat) indien normaal geen MAP en -MAP indien normaal wel MAP (4). Basisgegevens (per perceel per object) zijn steeds gemiddelden van minimaal 20 vruchten.

Object		Gewicht	L	a	b	hardheid	zetmeel	zuur	suiker	Streif
1		150	82,08	-10,19	34,86	5,27	4,39	0,67	12,03	0,10
2		163	82,17	-8,85	34,66	5,34	3,86	0,73	12,90	0,11
3		151	79,82	-11,22	37,31	5,52	4,13	0,76	12,63	0,11
4		161	81,11	-9,70	37,08	5,53	3,96	0,77	12,85	0,11
Perceel	datum									
1	26/9	141	85,80	-9,18	31,41	5,15	5,35	0,72	12,48	0,08
2	25/9	166	80,34	-9,76	36,42	5,60	3,83	0,73	12,30	0,12
3	25/9	152	77,14	-12,71	39,52	5,47	3,91	0,72	12,33	0,11
4	26/9	166	81,90	-8,30	36,55	5,44	3,25	0,76	13,30	0,13

3.1.2.2 gehalten aan nutriënten

In tabel 3 zijn de nutriëntengehalten bij pluk weergegeven. Het enig opvallende gegeven is hier het hoge ijzergehalte in perceel 2. Deze gehalten verschillen van analyses in monsters die door DLV zijn genomen (resultaten niet in dit verslag). Daarvoor zijn tenminste drie mogelijke oorzaken nl. (1) het DLV monster is 2 á 3 weken vóór de pluk genomen, (2) DLV laat de monsters wassen en schrobben, hetgeen in de op het PPO gebruikelijke routine niet wordt toegepast en (3) het monster in dit onderzoek is een directe afspiegeling van de 2^e pluk en komt dus meer uit de binnenkant van de boom. Indien correlaties worden bekeken tussen de gehalten bij pluk en de schilvlekjesindex (b.v. in tabel 7), dan blijkt dat er interessante verbanden zijn met het kalium- het borium, en het mangaangehalte. Dit wordt hier niet verder uitgewerkt maar is iets om in eventueel later onderzoek nader aandacht aan te schenken.

Tabel 3. Gehalten in Elstar in mg per 100 gram versgewicht (N, P, Ca, K, Mg) of in microgram per 100 gram versgewicht (B, Fe, Mn, Zn, Cu); mengmonster van 25 vruchten van de tweede pluk.

	Perceel 1	Perceel 2	Perceel 3	Perceel 4
%DS	13,4	14,3	13,4	14,9
N	45,8	42,5	52,3	53,4
P	9,7	14,1	12,6	13,3
Ca	4,1	4,0	5,4	5,0
K	100,7	123,0	110,6	102,2
Mg	4,6	4,8	4,7	5,1
B	21,4	37,2	33,5	29,8
Fe	17,4	60,1	20,1	19,4
Mn	6,70	5,72	5,36	7,45
Zn	8,0	11,4	16,18	16,4
Cu	2,4	3,0	2,6	3,1

3.1.3 schilvlekjes bij uitslag

Hier volgen alleen de gegevens gemiddeld per behandeling en gemiddeld per perceel. In bijlage 1 zijn de gedetailleerde gegevens te vinden.

3.1.3.1 gemiddeld per behandeling

In tabel 4 zijn van de twee bewaarvarianten de effecten van de behandelingen weergegeven, gemiddeld over de 4 percelen (voor de basisgegevens zie bijlage 1). We zien dat bij de standaardbewaarvariant behandeling 2 (Polyram DF vanaf juni) de laagste index heeft met een reductie van ongeveer 24% ten opzichte van het gemiddelde van behandelingen 3 en 4. Polyram vanaf april heeft hier slechts een gering effect. Tussen de 50 en 60% van de vruchten valt in categorie 1 (0-1 cm² van de vrucht bezet met schilvlekjes).

In de voorzichtige bewaarvariant ligt de schilvlekjesindex over de hele linie lager (gemiddeld 17%) . Ook hier scoort behandeling 2 het beste met een reductie van 21% ten opzichte van het gemiddelde van behandelingen 3 en 4. Bij de hoogste waarden van de schilvlekjesindex zien we vooral hogere waarden in categorie 2 en 3. Het niveau van de aantasting in de 'junivariant' van Polyram ligt net rond het kritieke punt waarboven van deklassing sprake is.

Tabel 4. Overzicht van de schilvlekjesindex bij uitslag per behandeling, gemiddeld over de percelen, en van de categorieën waaruit deze index is berekend volgens: schilvlekjesindex = % categorie 1 + 2(% in categorie 2) + 3(% in categorie 3) + 4(% in categorie 4), voor twee typen bewaring.

Bewaring	Behand.	cat 0	cat 1	cat 2	cat 3	cat 4	INDEX
Standaard	1	15,38	57,86	17,53	8,13	1,10	121,73
Standaard	2	22,18	58,20	16,55	3,07	0,00	100,52
Standaard	3	12,62	56,37	19,57	11,26	0,17	130,01
Standaard	4	10,98	54,87	25,22	8,75	0,18	132,27
Voorzichtig	1	26,15	57,84	12,75	3,16	0,10	93,21
Voorzichtig	2	27,82	58,29	12,33	1,56	0,00	87,62
Voorzichtig	3	21,14	57,22	17,81	3,43	0,41	104,75
Voorzichtig	4	15,76	55,56	24,79	3,75	0,14	116,94

3.1.3.2 gemiddeld per perceel

Tabel 5 laat zien dat er duidelijk verschillen zijn tussen de percelen, waarbij de twee percelen uit de NOP (percelen 2 en 3) het hoogst scoren. Opnieuw zijn het vooral de scores in categorie 2 en 3 die het verschil maken.

Tabel 5. Overzicht van de schilvlekjesindex bij uitslag per perceel, gemiddelde over de behandelingen, en van de categorieën waaruit deze index is berekend.

Bewaring	Perceel	cat 0	cat 1	cat 2	cat 3	cat 4	INDEX
Standaard	1	17,22	54,63	20,14	7,67	0,35	119,31
Standaard	2	6,62	51,18	26,98	14,11	1,10	151,89
Standaard	3	12,47	61,81	18,03	7,69	0,00	120,93
Standaard	4	24,84	59,67	13,74	1,75	0,00	92,39
Voorzichtig	1	31,42	55,51	12,39	0,68	0,00	82,35
Voorzichtig	2	12,53	52,36	27,31	7,28	0,53	130,91
Voorzichtig	3	20,73	57,65	18,24	3,26	0,12	104,37
Voorzichtig	4	26,19	63,39	9,74	0,67	0,00	84,90

3.1.4 schilvlekjes na uitstalling

3.1.4.1 gemiddeld per behandeling

Na uitstalling was er van de verschillen tussen de bewaarvarianten weinig meer over. De voorzichtige variant valt zelfs gemiddeld maar 4% beter uit. Ten opzichte van de situatie bij uitslag is de aantasting met 26% toegenomen in de standaard bewaarvariant en met liefst 47% in de voorzichtige bewaarvariant. Gemeten naar dit moment in de proef is er voor alle percelen sprake van deklassering omdat de index ruim boven de 100 ligt. Polyram lijkt nog steeds een voordeel te hebben en er lijkt nog een gering voordeel over te zijn van de junitoepassing vergeleken met de apriltoepassing.

Tabel 6. Overzicht van de schilvlekjesindex na uitstalling per behandeling, gemiddeld over de percelen, en van de categorieën waaruit deze index is berekend.

Bewaring	behandeling	index 0	index 1	index 2	index 3	index 4	INDEX
Standaard	1	11,06	48,77	24,11	15,52	0,54	145,71
Standaard	2	12,94	50,59	27,26	8,80	0,40	133,14
Standaard	3	8,53	39,54	26,98	23,99	0,96	169,32
Standaard	4	9,56	39,18	28,37	22,76	0,13	164,73
Voorzichtig	1	13,51	47,22	23,11	15,95	0,21	142,13
Voorzichtig	2	16,91	52,12	20,15	10,52	0,30	125,19
Voorzichtig	3	12,68	44,56	22,27	19,35	1,13	151,68
Voorzichtig	4	7,09	39,86	28,04	24,37	0,64	171,61

3.1.4.2 gemiddeld per perceel

Alleen voor perceel 4 in de voorzichtige bewaarvariant is de situatie na uitstalling nog zodanig dat deklassering kan worden ontlopen. Uit de gedetailleerde gegevens (hier niet getoond) blijkt dat beide polyrambehandelingen gunstig uitpakken.

Tabel 7. Overzicht van de schilvlekjesindex na uitstalling per perceel, gemiddelde over de behandelingen, en van de categorieën waaruit deze index is berekend.

Bewaring	Perceel	index 0	index 1	index 2	index 3	index 4	INDEX
Standaard	1	16,05	45,48	22,56	15,91	0,00	138,33
Standaard	2	5,31	38,73	32,25	22,35	1,37	175,75
Standaard	3	4,71	42,66	29,20	22,77	0,66	172,03
Standaard	4	16,02	51,22	22,71	10,05	0,00	126,78
Voorzichtig	1	13,33	51,55	23,19	11,62	0,30	134,00
Voorzichtig	2	8,15	32,72	31,17	27,54	0,42	179,35
Voorzichtig	3	6,30	44,73	21,00	26,81	1,17	171,82
Voorzichtig	4	22,41	54,76	18,21	4,21	0,41	105,45

3.1.5 Spuitschema's

Tabel 8 laat zien welke hoeveelheden Polyram in beide behandelingen zijn toegepast. De hoeveelheden zijn niet voorgeschreven. De toepassing vond plaats op basis van wekelijkse bespuitingen waarbij afhankelijk van de weersomstandigheden 0,5 tot 1,5 kg per ha werd toegepast. In object 4 is éénmaal ten onrechte Polyram toegepast (0,5 kg op 9 mei).

Tabel 8. totale hoeveelheid Polyram (kg/ha) in de toepassing vanaf april en in de toepassing vanaf juni (in beide gevallen tot de eerste helft van augustus)

	Perceel			
	1	2	3	4
vanaf april	18,2	25,2	10,0	13,9
vanaf juni	7,1	12,9	1,9	7,3

3.1.6 Statistiek

De volledige analyse is opgenomen in bijlage 3.

Er is over de volledige dataset, dus zowel de gegevens bij uitslag als na uitstalling, een aantal verschillende testen uitgevoerd, een F-test, een t-test op paarsgewijze verschillen, een test op verschillen in het aandeel categorie 0 + categorie 1 en tenslotte een test op verschillen in verdeling van de vruchten over alle categorieën (0 t/m 4). Hieronder worden de resultaten schematisch weergegeven

F-test

- geen significant verschil tussen beide bewaartypen
- het verschil tussen schilvlekjes bij uitslag en na uitstalling is significant (grotere na uitstalling)

T-test

- behandeling 1 verschilt significant van behandeling 2 (juni toepassing beter dan april toepassing)
- samen (1 en 2) verschillen ze significant van behandelingen 3 en 4 (significant effect van Polyram)
- behandeling 3 en 4 verschillen onderling niet

verschillen aandeel categorie 0 + categorie 1

- zelfde resultaat als F-test

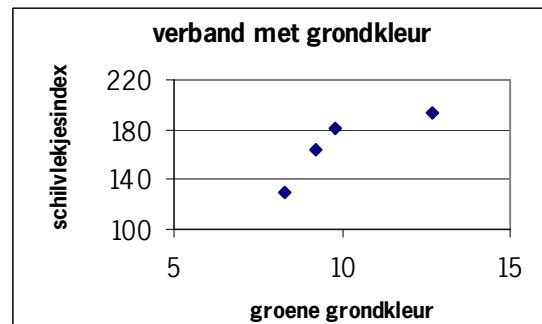
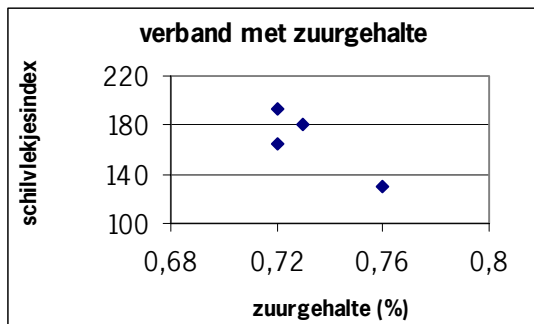
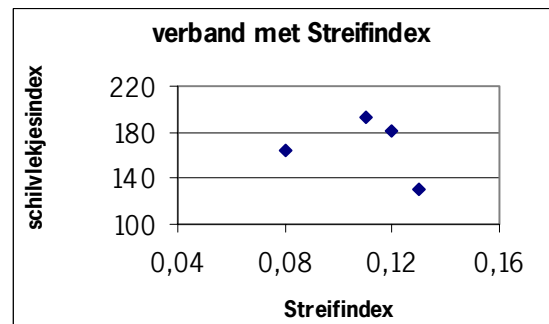
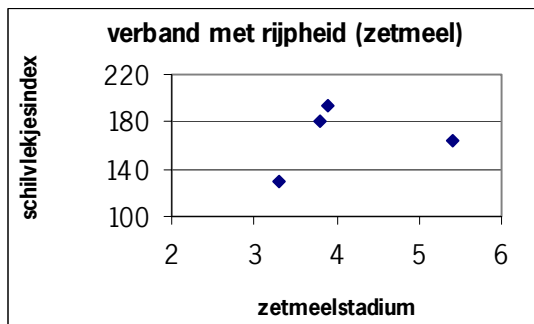
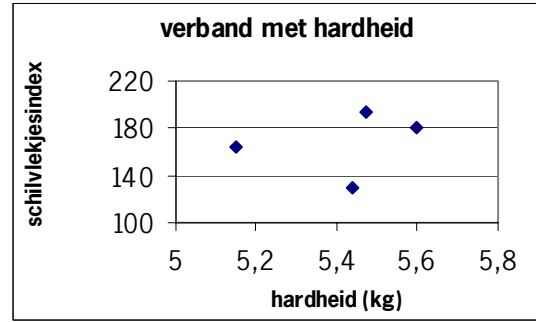
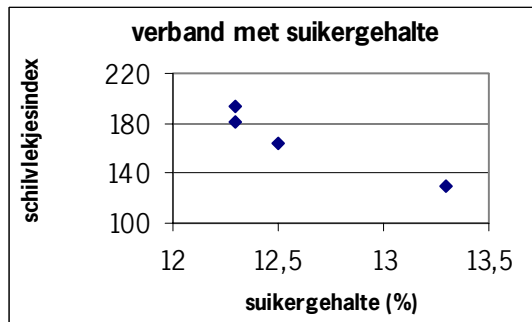
verschillen in verdeling over alle categorieën

- behandeling 1 en 2 verschillen significant van behandelingen 3 en 4 (significant effect van Polyram)
- onderlinge verschillen tussen 1 en 2 en tussen 3 en 4 zijn niet significant

Deze laatste analyse is niet zoals de t-test gebaseerd op een paarsgewijze vergelijking maar betreft een analyse over alle gegevens in één keer. Het totaalbeeld is dat in ieder geval de Polyram behandeling een significant effect heeft, en dat er wellicht ook een verschil is tussen starten in juni en starten in april (ten gunste van starten in juni). Voorzichtige bewaring lijkt vooral bij uitslag beter dan standaard bewaring maar dit effect gaat tijdens uitstalling voor een deel verloren zodat het totaalbeeld geen significant voordeel voor voorzichtige bewaring oplevert.

3.1.7 Verbanden van schilvlekjesindex met rijpheid/kwaliteit

Omdat er slechts 4 bedrijven in deze proef zijn opgenomen zijn er geen hele duidelijke verbanden te verwachten van schilvlekjes (index na uitstallen, tabel 7) met vruchtkenmerken bij pluk. In de nu volgende grafieken is het verband weergegeven van schilvlekjes index na uitstallen met een zes-tal vruchtkenmerken bij pluk (figuur 1). De negatieve relatie met suiker en zuur bevestigt het beeld dat vruchten die zich meer aan de buitenkant van de boom bevinden minder risico op schilvlekjes lopen. Ook de positieve relatie met grondkleur (hoe groener, hoe meer schilvlekjes) past in dit beeld: als op één moment alle vruchten (van de tweede pluk) worden geanalyseerd (zoals in deze proef) is de grondkleur van de vruchten aan de binnenkant groener. Verwarring kan ontstaan als de ontwikkeling in de tijd wordt gezien omdat toename van het risico van schilvlekjes toeneemt met een latere pluk, waarbij de groene kleur juist afneemt.



Figuur 1. Verband tussen schilvlekjesindex in het controleobject, bij normale bewaring, en het suiker- en zuurgehalte, de hardheid, de groene grondkleur (x-as loopt van -5 tot -15), de rijpheid (zetmeelindex) en de Streifindex, bij 4 telers.

3.2 Anatomische aspecten van de schil vóór en na het ontstaan van schilvlekjes

3.2.1 de schil bij pluk

Bij de pluk waren met het blote oog geen bijzonderheden op de schil waarneembaar, en schilvlekjes al helemaal niet. Toch bleek onder de elektronenmicroscopie dat bij alle bekeken vruchten barstjes zichtbaar waren in de schil. Bij de meeste rassen is normaal gesproken een min of meer homogene waslaag ontwikkeld bij de pluk. Bij de Elstar is echter duidelijk waarneembaar dat de waslaag en onderliggende cuticula (een voornamelijk uit het polymeer cutine bestaande laag zonder cellen) op veel plaatsen al in meerdere of mindere mate beschadigd is. Het patroon van de beschadigingen lijkt steeds sterk overeen te komen met de structuur van de bovenste laag (epitheel)cellen in de schil, die zich juist onder de cuticula bevinden (zie foto 1).

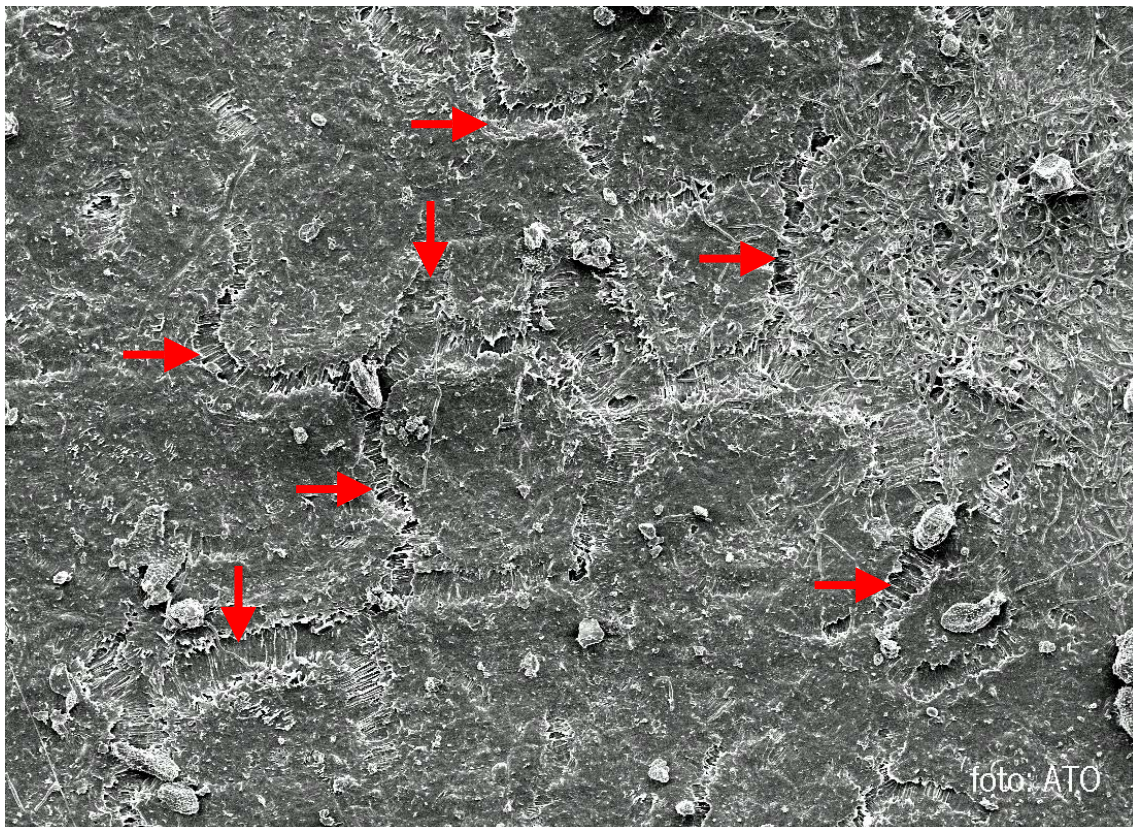


Foto 1: Boven-aanzicht schil Elstar bij pluk, vergroting 200 X. De waslaag is geen mooie ononderbroken laag maar vertoont barstjes (→).

In de ontstane barstjes zijn steeds vezels zichtbaar die uitgerekte lijken dwars op de richting van de barstjes. Dit duidt op onvermogen van de waslaag en/of de cuticula om voldoende mee te rekken of te ontwikkelen met onderliggend weefsel (foto 2).

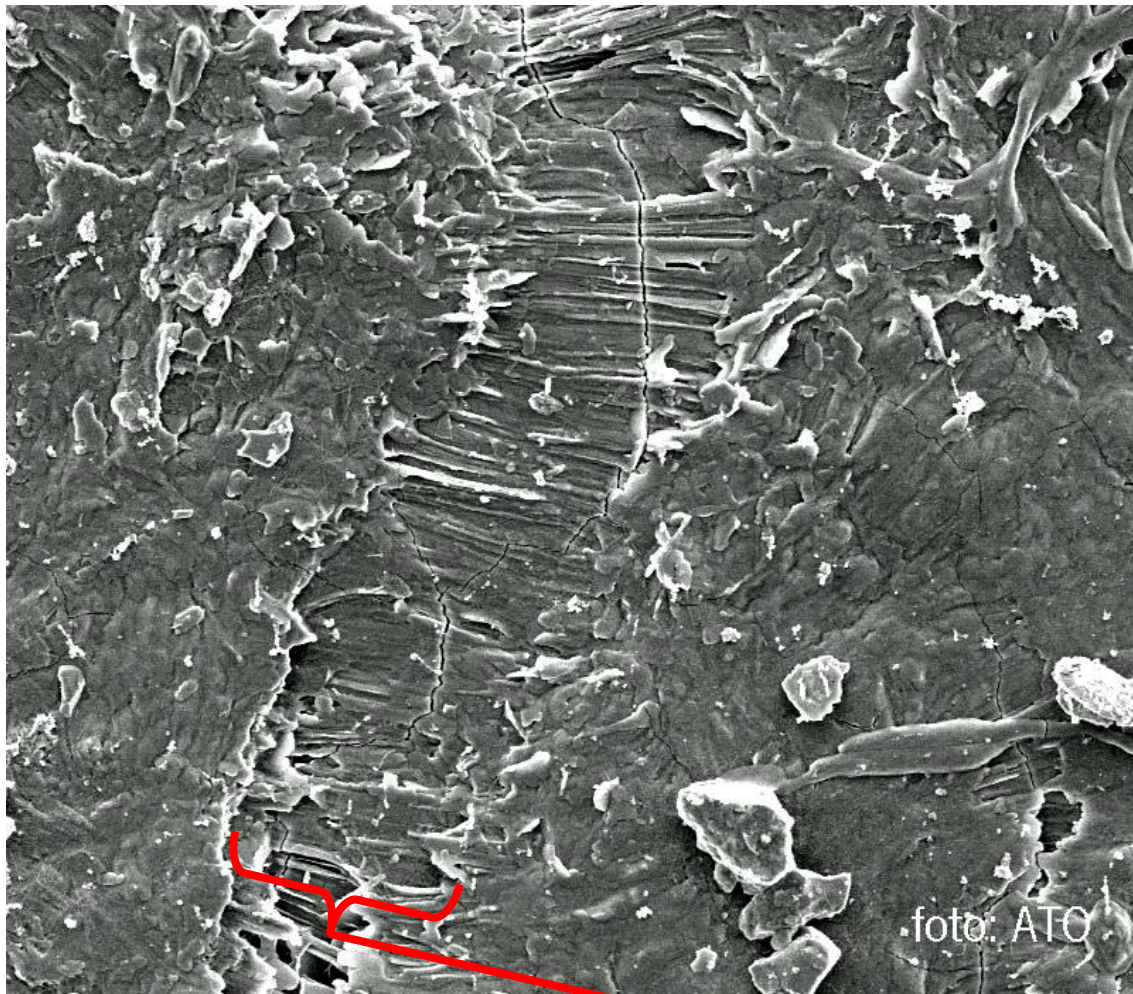


Foto 2: Boveaanzicht schil Elstar bij pluk, vergroting 1000 X: uitgerekte vezels in een barstje duiden op onvermogen om de groei van onderliggend weefsel onder de schil te kunnen compenseren.

Het zijn dus niet de onderliggende cellen, maar de buitenste lagen van de schil, de waslaag en de cuticula, die bij de oogst al barstjes vertonen. Met name de waslaag lijkt veelal gescheurd, terwijl vaak een vezelstructuur van de daaronder gelegen cuticula zichtbaar is, wat duidt op mechanische stress vanuit onderliggende cellagen. Mogelijk is de samenstelling van deze lagen in de schil bij (schilvlek-gevoelige) Elstar anders dan normaal, of is de mechanische belasting van de schil door rek en krimp van onderliggend weefsel groter.

Bij de oogst konden geen duidelijke structurele verschillen tussen de verschillende behandelingen worden waargenomen. Doordat er binnen een vrucht een flinke spreiding bestaat over bijvoorbeeld de laagdikte van waslaag en cuticula, was het niet mogelijk om kwantitatieve uitspraken te doen door het beperkte aantal preparaten dat geanalyseerd kon worden. Duidelijk was wel dat genoemde barstjes voorkwamen in alle preparaten.

3.2.2 de schil na bewaring tot april

Omdat in de praktijkproef bij alle objecten in meerdere of mindere mate schilvlekjes gevonden werden, is bij de selectie van de te prepareren vruchten gekozen voor ook qua schilvlekjesindex representatieve vruchten. Na bewaring lijkt de waslaag in het algemeen dikker, homogener en wat meer uitgevloeid. Toch waren ook hier in alle preparaten zones te vinden met barstjes in de schil. De indruk is dat de barstjes tijdens bewaring kunnen leiden tot diepere scheurtjes (foto 3).

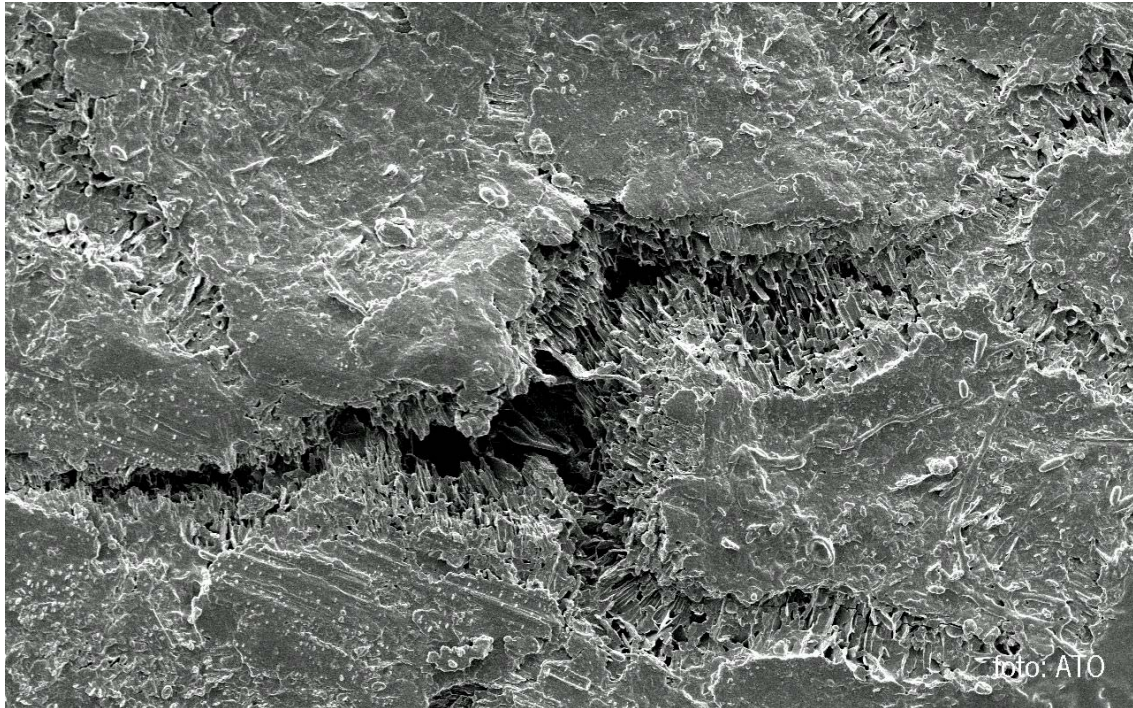


Foto 3: Bovenaanzicht schil Elstar na bewaring, vergroting 500 X. De scheurtjes lijken vaak dieper dan na de pluk

De nu reeds aanwezige en zichtbare schilvlekjes lijken zich steeds ontwikkeld te hebben op plaatsen met relatief veel barstjes, en het is goed mogelijk dat door een verdieping van een barstje de onderliggende epitheelcellen beschadigd kunnen raken hetgeen een wondreactie oproept met een schilvlekje als uiteindelijk resultaat (foto 4).

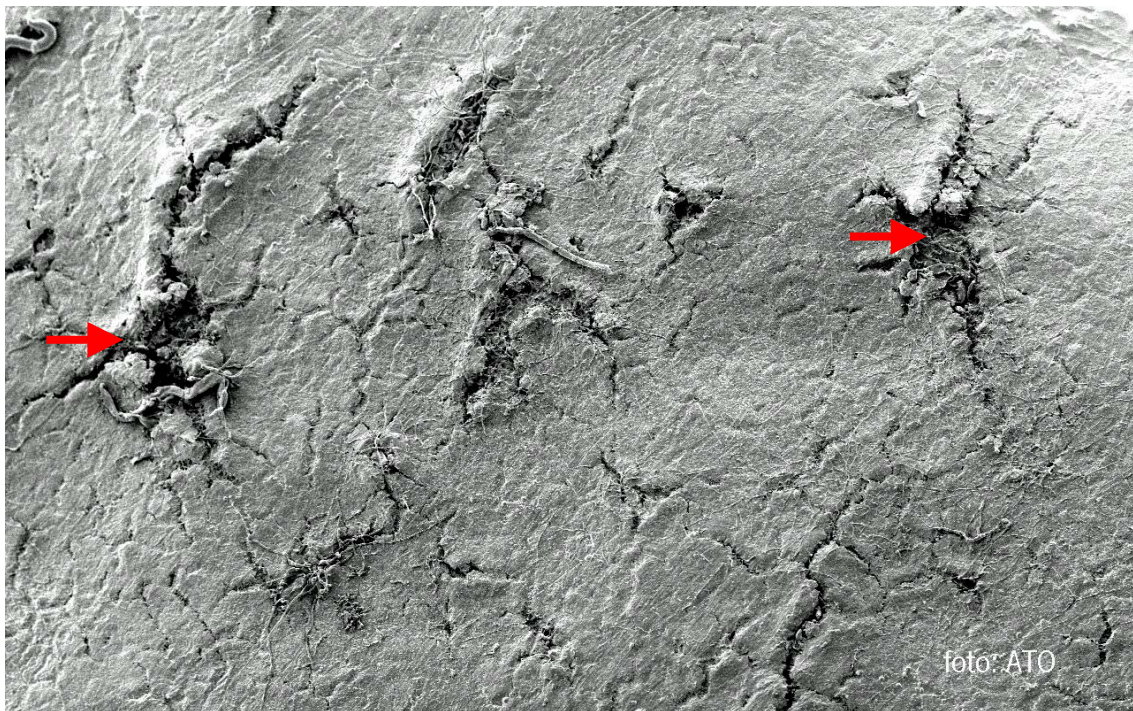


Foto 4: Bovenaanzicht schil Elstar na bewaring, vergroting 70 X: schilvlekjes (→) vallen veelal samen met het barstjespatroon

Door het beperkte aantal preparaten is het niet mogelijk om kwantitatieve uitspraken te doen over het effect van Polyrambespuitingen op de schilstructuur. Wel is duidelijk dat er geen grote morfologische verschillen tussen de behandelingen gevonden zijn. Omdat uiteindelijk in alle behandelingen en herkomsten schilvlekjes werden aangetroffen, kan geen uitspraak gedaan worden over de schilstructuur bij niet-gevoelige partijen.

Met name het verschijnsel dat al bij de pluk barstjes zichtbaar zijn, roept vragen op: Is er een verband tussen de barstjes bij de pluk en het risico op schilvlekjes? Hangt dit samen met een niet-optimale waslaagsamenstelling? Kan op basis van de schilstructuur bij pluk een voorspellingsmethode ontwikkeld worden om het schilvlekjesrisico op partijbasis te bepalen? De aanwijzing dat tijdens de pluk de schil niet optimaal is biedt hiervoor perspectief.

4 Conclusies

Alle conclusies zijn gebonden aan de beperking dat het gaat om een proef op slechts 4 percelen in slechts één jaar, waarin in de praktijk geen grote problemen met schilvlekjes werden geconstateerd. Dit neemt niet weg dat hele duidelijke effecten een grote kans hebben om in zo'n proef tot uiting te komen.

De resultaten van deze praktijkproef laten de conclusie toe dat Polyram DF in zekere mate werkzaam is tegen schilvlekjes in Elstar. Hoewel de grootte van het effect varieert van bedrijf tot bedrijf was het effect in 2002 gemiddeld niet groter dan 25%. Dit is in jaren met een grote aantasting onvoldoende om deklassing te voorkomen.

Op basis van de gegevens van dit ene jaar kan niet worden vastgesteld dat starten met Polyram DF in april beter is dan starten in juni. Er zijn eerder aanwijzingen dat starten in juni beter is, hoewel in dat schema minder dan de helft wordt toegepast van de hoeveelheid Polyram DF in het 'april-schema'. Ook bij de vergelijking van de bedrijven valt op dat er geen eenvoudige relatie is met de hoeveelheid Polyram DF: op het perceel met de meeste schilvlekjes is de grootste hoeveelheid Polyram toegepast. Voorzichtige aanpak van de oogsthandelingen (inslag, bewaring, uitslag) levert uiteindelijk nauwelijks winst op hoewel deze aanpak bij uitslag wel beter lijkt.

Er lijkt een verband te zijn van de schilvlekjesindex met suikergehalte (-), zuurgehalte (-) en met groene grondkleur (+). Dit kan worden verklaard uit de positie van vruchten in de boom, waarbij vruchten aan de buitenzijde (minder last van schilvlekken) een hoger suiker- en zuurgehalte hebben en een minder groene grondkleur. Ook zijn er interessante relaties met K, B en Mn maar de gegevens uit deze proef zijn niet geschikt om daaruit verdere conclusies te trekken.

De elektronenmicroscopische analyse van de schil liet zien dat de gebruikte partijen Elstar bij de oogst al beschadigingen (barstjes) vertoonden, die na bewaring tot april verdiepten en verwijdden tot schilvlekjes bij alle behandelingen/controles van de twee gebruikte herkomsten. Er werden zowel bij oogst als na bewaring geen grote anatomische verschillen gevonden tussen de preparaten afkomstig uit verschillende behandelingen.

Omdat op basis van het beperkte aantal preparaten, de grote spreiding binnen een vrucht, en het ontbreken van een partij zonder herkenbare schilvlekjesaantasting geen kwantitatieve uitspraken gedaan kunnen worden, is het niet mogelijk om op basis van deze gegevens een voorspelling bij de oogst te doen omtrent het risico op schilvlekjes. Het lijkt echter zeer wel mogelijk, dat er een duidelijke relatie bestaat tussen de schilkwiteit (c.q. de hoeveelheid barstjes) bij oogst, en de kans op schilvlekjes na bewaring. Met name de observatie dat de schilvlekjes ontstaan in een barstjespatroon zoals reeds aanwezig bij de pluk lijkt een aanwijzing in deze richting.

5 Relevante publicaties

F.P.M.M. Roelofs, 1997. Schilkwiteit lijkt de sleutel voor oplossing schilvlekjes. *Fruitteelt* 22(1997):12-13

G. Poldervaart, 2002. Schilvlekjesprobleem opgelost (??). *Fruitteelt* 13 (2002):8-9

J.A. Verschoor, R. Veltman en F. van de Geijn, 2002. Minder schilvlekjes en betere kwaliteit door DCS-bewaring. *Fruitteelt* 22 (2002):8-9

M. Kers, 2002. Schilvlekjes een kwaliteitsprobleem met een teeltoorzaak. *Fruitteelt* 32/33 (2002):9-11

A. de Jager, C.G. Westerweele, J. A. Verschoor, A.C.R. van Schaik en M. Kers, 2003. Polyram DF kan schilvlekjes reduceren. *Fruitteelt* 21 (2003):10-12

Bijlage 1

1. Analyse op INDEX

*** Approximate stratum variances ***

		Effective d.f.
stslow.bedrijf	10337.5	6.00
stslow.bedrijf.tijstip	1164.1	6.00
stslow.bedrijf.tijstip.behandeling	513.0	45.00
stslow.bedrijf.tijstip.behandeling.kist	172.1	64.00

*** Wald tests for fixed effects ***

Fixed term	Wald statistic	d.f.	Wald/d.f.	Chi-sq prob
stslow	0.53	1	0.53	0.468
tijstip	43.01	1	43.01	<0.001
stslow.tijstip	1.53	1	1.53	0.216
behandeling	43.86	3	14.62	<0.001

* Message: chi-square distribution for Wald tests is an asymptotic approximation (i.e. for large samples) and underestimates the probabilities in other cases.

*** Table of predicted means for Constant ***

130.7 Standard error: 8.99

*** Table of predicted means for stslow ***

stslow	SPD	standaard
	124.1	137.2

Standard error of differences: 17.97

*** Table of predicted means for tijstip ***

tijstip	naweek	uitslag
	150.4	110.9

Standard error of differences: 6.032

*** Table of predicted means for stslow.tijstip ***

tijstip	naweek	uitslag
stslow		
SPD	147.7	100.6
standaard	153.2	121.1

Standard error of differences: Average 15.48
Maximum 18.96
Minimum 8.530

Standard error of differences for same level of factor:

	stslow	tijstip
Average	8.530	18.96
Maximum	8.530	18.96
Minimum	8.530	18.96

*** Table of predicted means for behandeling ***

behandeling	1	2	3	4	s.e.d.
	125.7	111.6	138.9	146.4	5.663

***** REMLPAIR *****

t-Probabilities of pairwise differences of means based on the s.e.d. matrix (alldifferences) of REML.

1		*			
2	0.017		*		
3	0.024	0.000		*	
4	0.001	0.000	0.195		*
	1	2	3	4	

conclusie: beh 1 > beh 2 > beh 3 = beh 4

2. Analyse op fractie index[0+1]

De te analyseren grootheid heeft een binomiale verdeling (fractie). Omdat er bovendien meerdere strata voorkomen is de analyse uitgevoerd volgens een GLMM (generalized linear mixed model). Hiervoor is de genstatprocedure IRREML gebruikt.

Eerste analyse: volledig model (+ alle interacties)

*** Approximate stratum variances ***

		Effective d.f.
stslow.bedrijf	107.579	6.00
stslow.bedrijf.tijstip.behandeling	7.022	41.48
Dispersn	2.385	64.52

*** Wald tests for fixed effects ***

Fixed term	Wald statistic	d.f.	Wald/d.f.	Chi-sq prob
stslow	0.46	1	0.46	0.496
tijstip	76.74	1	76.74	<0.001
behandeling	32.82	3	10.94	<0.001
stslow.tijstip	2.35	1	2.35	0.125
stslow.behandeling	1.56	3	0.52	0.670
tijstip.behandeling	0.12	3	0.04	0.989
stslow.tijstip.behandeling	1.40	3	0.47	0.706

Conclusie: er zijn geen betrouwbare interacties.

Na verwijderen van de Wald/d.f.-waarden kleiner dan 1 is een tweede analyse uitgevoerd

*** Approximate stratum variances ***

		Effective d.f.
stslow.bedrijf	107.774	6.00
stslow.bedrijf.tijstip.behandeling	6.184	50.20
Dispersn	2.404	64.80

*** Wald tests for fixed effects ***

Fixed term	Wald statistic	d.f.	Wald/d.f.	Chi-sq prob
stslow	0.46	1	0.46	0.499
tijstip	87.73	1	87.73	<0.001
stslow.tijstip	2.57	1	2.57	0.109
behandeling	37.95	3	12.65	<0.001

Uit deze analyse blijkt dat er alleen duidelijke effecten zijn van tijdstip van beoordelen (direct na uithalen of na een week) en van behandeling (bespuiting in de boomgaard).

Na deze analyse is voor alle gemiddelden-tabellen een paargewijze toets uitgevoerd.

De gemiddelde zijn teruggetransformeerd naar de %-schaal.

*** Gemiddelden tabellen***

tabel	gemiddelden			P-waarden van paarsgewijze vergelijking van de gemiddelden (t-toets), gebaseerd op de s.e.d.-matrices (alldifferences) van de REML-analyse.			
stslow	SPD	72.17		SPD	*		
	standaard	65.05		Standaard	0.440		*
					SPD	standaard	
tijstip	naweek	57.42		naweek	*		
	uitslag	78.15		uitslag	0.000		*
					naweek	uitslag	
stslow.tijstip	Tijstip	naweek	uitslag	SPD.naw	*		
	Stslow			SPD.uit	0.000		*
	SPD	59.42	82.11	Stan.naw	0.708	0.004	*
	standaard	55.41	73.60	Stan.uit	0.147	0.262	0.000
					SPD.naw	SPD.uit	stan.naw
							stan.uit
Behandeling	1	72.25		1	*		
	2	76.68		2	0.116		*
	3	65.11		3	0.025	0.000	*
	4	59.30		4	0.000	0.000	0.084
					1	2	3
							4

Bij de 4 behandelingen is vooral te zien dat 1 en 2 afwijken van 3 en 4. Het verschil tussen 1 en 2 is niet betrouwbaar. Het verschil tussen 3 en 4 is zwak (.05 < p < .1).

3. Analyse via multinomiale verdeling

Tot slot is er een analyse uitgevoerd op alle index-waarden samen [0,1,2,3,4]

Op basis van de (multinomiale) verdeling van de percentages over de 5 indexklassen.

Omdat voor deze analyse alleen een procedure voorhanden is via regressie en met slechts 1 behandelingsfactor, zijn de factoren stslow en behandeling gecombineerd in een factor van 8 levels. De strata zijn eveneens buiten beschouwing gelaten.

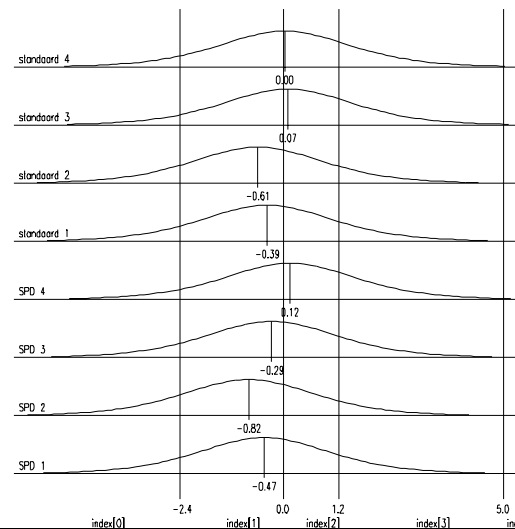
***** Regression Analysis *****

*** Accumulated analysis of deviance ***

Change	d.f.	deviance	mean deviance	deviance approx ratio	F pr.
+ combi	7	186.931	26.704	6.20	<.001
Residual	245	1056.106	4.311		
Total	252	1243.037	4.933		

Percentages of the parts of the plotted distributions:						Grafiek 1: geschatte verdelingen over de klassen (indices) per behandelings-combinatie
Index combi	[0]	[1]	[2]	[3]	[4]	
SPD 1	13	48	24	15	0	
SPD 2	17	51	20	11	0	
SPD 3	11	46	25	17	1	
SPD 4	8	39	29	24	1	
standaard 1	12	47	24	16	0	
standaard 2	15	50	22	13	0	
standaard 3	8	40	29	23	1	
standaard 4	9	41	28	22	1	

De gemiddelden zijn berekend op een getransformeerde schaal.
Het is de ligging van de top van de verdeling per behandeling.



*** Homogeneous groups in tprob, P=0.05

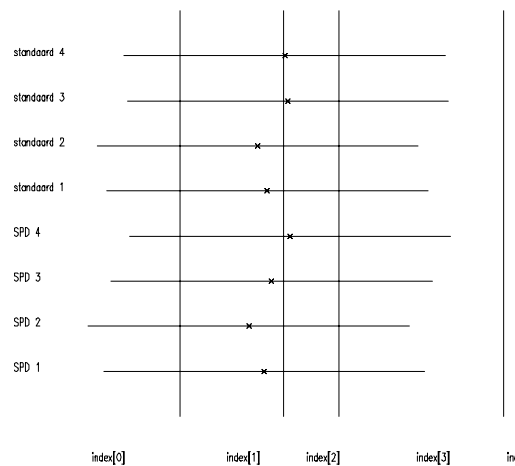
stslow	beh	mean			
SPD	2	-0.8156	a	.	.
standaard	2	-0.6089	a	b	.
SPD	1	-0.4662	a	b	.
standaard	1	-0.3930	.	b	.
SPD	3	-0.2949	.	b	c
standaard	4	0.0000	.	.	c
standaard	3	0.0740	.	.	c
SPD	4	0.1205	.	.	d

Opgesplitst per bewaarmethode

SPD	2	-0.8156	a	.	.
SPD	1	-0.4662	a	b	.
SPD	3	-0.2949	.	b	c
SPD	4	0.1205	.	.	d

standaard	2	-0.6089	a	b	.
standaard	1	-0.3930	.	b	.
standaard	4	0.0000	.	.	c
standaard	3	0.0740	.	.	c

Grafiek 2: gemiddelde per behandelingscombinatie



(reference: McCullagh and Nelder, Generalized Linear Models, Chapman & Hall, 1989)