

'N STUDIE VAN BOTRYTIS CINEREA MET VERWYSING NA  
DIE EFFEK VAN SWAELDIOKSIEDTOEDIENINGS, VERSKILLEND  
TYE NA BESPUITING VAN DRUIWEKORRELS MET KONIDIA,  
OP DIE INTENSITEIT VAN VAALVROT

deur

J.C. COMBRINK



Skripsie goedgekeur vir die  
Graad Magister in Landbou  
aan die Universiteit van  
Stellenbosch

STELLENBOSCH  
Desember 1972

Opgedra aan

Ria

BEDANKINGS

Hiermee wil ek my opregte dank uitspreek teenoor:

Prof. H.A. Louw, vir sy waardevolle hulp en leiding met die navorsing, asook tydens die voorbereiding van die manuskrip.

Dr. F.N. Matthee, NIVV, vir sy bekwame leiding tydens die opstelling en ook die uitvoering van die projek.

Mnr. L. Ginsburg, NIVV, vir sy nuttige wenke, asook sy volgehoue steun en belangstelling in die projek.

Dr. P.G. Marais, Direkteur, NIVV, vir die beskikbaarstelling van fasiliteite.

Dr. C.J. Rabie, Fakulteit Landbouwetenskappe, Universiteit Pretoria, vir sy wenke en vir die beskikbaarstelling van 'n model van die sikloon wat in hierdie studie gebruik is.

Die Sekretaris, Departement Landbou-tegniese Dienste, vir toestemming om die projek vir proefskrifdoeleindes te gebruik.

Die personeel van die seksie Koelopbergging, vir die verlening van tegniese hulp.

My familie en vriende, vir hulle gewaardeerde belangstelling en morele ondersteuning.

Mej. G.M. Kaltwasser, vir die bekwame wyse waarop sy die tikwerk behartig het en die aangename gees waarin dit gedoen is.

INHOUDSOPGAWE

<u>INLEIDING</u>	1
<u>LITERATUUROORSIG</u>	3
<u>Die koelopberging van bederfbare produkte</u>	3
<u>Na-oesverrotting van vrugte</u>	4
Na-oessiektes van kernvrugte	5
Na-oessiektes van steenvrugte	5
Na-oessiektes van druiwe	5
Na-oessiektes van sitrusvrugte	6
Faktore wat na-oesverrotting beïnvloed	6
Vrugkwaliteit	6
Omgewingstoestande	6
Hantering tydens en na oestyd	6
Voorkoming en beheer van na-oessiektes	7
Fisiese en ander metodes	7
Gebruikmaking van chemikalieë	8
<u>Botrytis cinerea, die grysskimmel</u>	9
Beskrywing	9
Geslagtelike stadium en paraseksualisme by <u>B. cinerea</u>	9
Antagonisme teenoor <u>B. cinerea</u> in die natuur	10
Verrottings veroorsaak deur <u>B. cinerea</u>	11
Nuttige gebruike van <u>B. cinerea</u>	11
<u>Vaalvrot van tafeldruiwe</u>	12
Aard van die infeksiebron	12
Simptome van vaalvrot	12
Die meganisme van infeksie	13
Ontkieming van konidia op druiwekorrels	13
Penetrasie van die kutikula	15
Vernietiging van die plantweefsel	17
Faktore wat verrotting beïnvloed	18
Cultivar	18
Spoorkonsentrasie	18

Relatiewe humiditeit	19
Teenwoordigheid van voedingstowwe	19
Temperatuur	19
Hantering	20
Voorkoming van vaalvrot	20
In die wingerd	20
Nadat die druiwe ge-oes is	20
<u>MATERIAAL EN METODEDES</u>	25
<u>Bron van Botrytis-kultuur</u>	25
<u>Enkelspoorisolasies</u>	25
<u>Versameling van konidia</u>	25
<u>Bepaling van spoorontkieming</u>	26
<u>Opberging van voorraadkulture</u>	28
<u>Bepaling van toestande wat optimaal is vir sporulasie</u>	28
Temperatuur	29
Medium	29
Vaste media	30
Vloeibare media	30
Beligting	31
Dikte van medium	32
<u>Tegnieke waarmee spoorkonsentrasies tydens inokulasie-</u> <u>studies bepaal kon word</u>	32
Die gebruik van 'n hemasitometer	32
Die gebruik van 'n spektrofotometer of kolorimeter	33
<u>Die verspreiding van swaeldioksied in geslote ruimtes</u>	33
<u>Die verband tussen verrotting en spoorkonsentrasie</u>	34
Vorbereiding van die druiwe	34
Vorbereiding van die spoorsuspensie	34
Inokulasie van die druiwekorrels	35

<u>Die toediening van swaeldioksied op verskillende tye na inokulasie</u>	36
Voorbereiding van die druiwe	36
Voorbereiding van die spoorsuspensie gebruik	36
Inokulasie van die druiwekorrels	36
Die toediening van swaeldioksied	37

RESULTATE 38

Enkelspoorisolasies 38

Versameling van konidia 38

Spoorontkieming 38

Opberging van voorraadkulture 39

Toestande wat optimaal is vir sporulasie 41

    Temperatuur 41

    Medium 41

        Vaste media 41

        Vloeibare media 44

    Beligting 44

    Dikte van medium 45

Tegnieke waarmee spoorkonsentrasies tydens inokulasie-studies bepaal kon word 46

Die verspreiding van swaeldioksied in geslote ruimtes 49

Die verband tussen verrotting en spoorkonsentrasie 49

Die toediening van swaeldioksied op verskillende tye na inokulasie 52

BESPREKING 55

Die evaluering van tegnieke gebruik vir die bestudering van B. cinerea 55

    Enkelspoorisolasies 55

Die versameling van konidia	55
Spoorontkieming	55
Die opberging van voorraadkulture	56
Die bepaling van sporkonsentrasies in 'n inokulum	57
<u>Sporulasie deur <i>B. cinerea</i> en faktore wat dit beïnvloed</u>	57
<u>Verrotting deur <i>B. cinerea</i> en die voorkoming daarvan met swaeldioksied</u>	58
Die verspreiding van swaeldioksied in geslote ruimtes	58
Die verband tussen verrotting en sporkonsentrasie	59
Die effek van die swaeldioksiedtoediening verskillende tye na inokulasie	60
<u>OPSOMMING</u>	63
<u>LITERATUURLYS</u>	66

## INLEIDING

Putterill (1923) het gesê dat die meeste vraagstukke wat tydens vrugte-opberging opduik, gepaard gaan met moeilike probleme wat intensiewe studie verg voordat 'n bevredigende oplossing gevind kan word. Hierdie stelling geld ook in die tafeldruif-industrie.

Groot hoeveelhede tafeldruive word jaarliks na oorsese markte uitgevoer, waar hulle moet kompeteer met druiwe wat baie nader aan die afsetgebied geproduseer word. Engeland se toetrede tot die Europese Ekonomiese Gemeenskap sal verdere druk op hierdie industrie plaas. Die tafeldruif-industrie beleef moeilike tye en sal moontlik in die toekoms nog moeiliker tye beleef.

Die probleme van die tafeldruif-industrie kan alleen deur daadwerklike optrede oorkom word. Die kwaliteit van tafeldruive wat uitgevoer word, is baie belangrik. Die grootste enkele kenmerk van goeie kwaliteit druiwe is die afwesigheid van swamverrotting (Ginsburg & Combrink, 1972). Die swam wat die ernstigste verrotting tydens die opberging van tafeldruive veroorsaak is Botrytis cinerea (Pers) ex Fries (Harvey & Pentzer, 1960), bekend as die grys-skimmel. Dit veroorsaak vaalvrot (of vaalverrotting) van druiwe.

Hierdie studie is uitgevoer om sekere aspekte in die beheer van vaalvrot te bestudeer. Swaeldioksied word baie algemeen gebruik om vaalvrot te beheer. Alhoewel dit tans die enigste na-oesbehandeling is wat suksesvol gebruik kan word, het dit tog sekere nadele. Indien die swaeldioksiedkonsentrasie te hoog is, kan dit die druiwe verbleik. Die moontlikheid om die aanbevole konsentrasie te verlaag en sodoende beskadiging te verminder, is in hierdie studie



nagegaan. Verder is die effek van die lengte van die periode wat verloop het nadat druiwekorrels met konidia van B. cinerea bespuit is, totdat dit die swaeldioksiedbehandeling ontvang het, nagegaan. Die doeltreffendheid van hierdie na-oesbehandeling, indien dit nie kort nadat druiwe ge-oes is, toegedien word nie, kon sodoende bepaal word. Sekere tegnieke vir die aankweek van B. cinerea is eers geëvalueer voordat inokulasie-studies met druiwekorrels onderneem is.

## LITERATUUROORSIG

### DIE KOELOPBERGING VAN BEDERFBARE PRODUKTE

Enige biologiese produk is onderhewig aan 'n kwaliteitsverlies tensy metodes om hierdie kwaliteitsverlies te stuit of te vertraag toegepas word. Produkte wat in 'n vars toestand bewaar word, word behandel om, in die eerste plek, die biologiese prosesse wat in die produk self plaasvind, te vertraag. In die tweede plek word hierdie produkte behandel om die groei van mikro-organismes in of op die produk te verhoed of te vertraag.

'n Metode wat baie algemeen aangewend word om vrugte in 'n vars toestand te bewaar, is koelopberging. Vrugte word op grond van hulle respiratoriese aktiwiteit in twee groepe verdeel - klimakteriese en nie-klimakteriese vrugte (Biale, 1960). In die geval van klimakteriese vrugte, is die doel van koelopberging nie alleen die vertraging van die groei van mikro-organismes nie, maar ook vertraging van ensimatiese prosesse in die vrugte. Druie is nie-klimakteriese vrugte en in hierdie geval word dus geen metaboliese prosesse vertraag nie. Tydens koelopberging word die kwaliteitsverlies slegs fisies vertraag deur bv. die verlaging van vogverlies en die vertraging van swamgroei.

Koelopberging bestaan uit twee stappe: Eerstens word die vrugte voorverkoel tot 'n sekere temperatuur en tweedens word die vrugte by 'n bepaalde lae temperatuur gehou totdat hulle bemark word. Voorverkoeling is die behandeling waartydens die veldhitte wat die vrugte besit nadat hulle ge-oes is, verwyder word. 'n Temperatuur wat baie algemeen vir die opberging van vrugte gebruik word, is  $-0,5^{\circ}\text{C}$  (Ginsburg, 1965a).

'n Faktor wat byna van netsoveel belang is as die temperatuur, is die relatiewe humiditeit wat tydens koelopberging in die koelkamer heers (Lutz & Hardenburg, 1968). Indien die relatiewe humiditeit te laag daal, vind 'n te groot gewigsverlies plaas en sodoende word die na-oeskwaliteit van die produk verlaag (Ginsburg & Combrink, 1969).

Opbergingsleeftyte, d.w.s. die langste tydperk wat 'n vrug met sukses opgeberg kan word, verskil van vrugsoort tot vrugsoort en word deur 'n hele reeks faktore bepaal (De Swardt & Louw, 1968; Lutz & Hardenburg, 1968). In Suid-Afrika is die nut van koelopberging eers besef nadat besendings vrugte wat sonder verkoeling na Brittanje uitgevoer is in 'n verrotte toestand daar aangekom het (Ginsburg, 1960). Vandag word koelopberging as 'n integrale deel van die sagtevrugtebedryf beskou.

#### NA-OESVERROTING VAN VRUGTE

Ten spyte van die lae temperature wat vir die koelopberging van vrugte gebruik word, verrot die vrugte nogtans in die koelkamer. Die rede hiervoor is dat die meeste bederfveroorsoekende swamme by hierdie lae temperature kan groei. Die swamme is nie streng psikrofiele nie, maar psikrotrofe, d.w.s. alhoewel hulle in staat is om by lae temperature te groei, is hulle optimum groei-temperatuur in die mesofiele gebied (Frazier, 1967).

Die meeste swamme wat vrugte tydens koelopberging laat verrot, behoort tot die vorm-klas Deuteromycetes (Fungi Imperfecti) en meer spesifiek tot die vorm-orde Moniliales (Alexopoulos, 1962). Hierdie swamme is saprofiete wat onder sekere omstandighede patogenies kan optree. Na-oesverrotting is nie beperk tot enkele

vrugsoorte nie, maar kan by enige vrugsoort wat opgeberg word, voorkom. Een swam is ook nie tot 'n enkele vrugsoort beperk nie.

#### Na-oessiektes van kernvrugte:

Die na-oessiekte wat vir die meeste verliese tydens die koelopberging van kernvrugte verantwoordelik is, is blouskimmelvrot wat deur Penicillium expansum veroorsaak word (Mathee, 1962; 1968). Die swam kom wyd verspreid voor; ryp en oorryp vrugte is veral besonder vatbaar. Blouskimmel word soms as 'n wondparasiet beskou, maar kan ook deur die lentiselle van appels en pere indring (Mathee, 1968). Mathee (1962) het ook 'n hele paar ander swamme gevind wat na-oesverrotting kan veroorsaak. Pierson, Ceponis en McColloch (1971) het ook na-oesverrotting van appels, pere en kwepers beskryf.

#### Na-oessiektes van steenvrugte:

Sekere perske-cultivars moet om fisiologiese redes vir 36 tot 48 uur by kamertemperatuur gehou word (Ginsburg, 1965a). Gedurende hierdie tydperk is Rhizopus nigricans in staat om op die perskes te ontwikkel. Hierdie swam kom ook wydverspreid in die natuur voor en kan ernstige ekonomiese verliese tot gevolg hê (Heyns & Ginsburg, 1967). Hoewel bruinverrotting, veroorsaak deur Monilinia fructicola, ook verliese tot gevolg kan hê, was dit in Suid-Afrika tot dusver 'n minder belangrike na-oessiekte (Heyns, 1967).

#### Na-oessiektes van druie:

Vaalvrot, veroorsaak deur Botrytis cinerea, is vir die ernstigste verrotting van tafeldruie gedurende opberging verantwoordelik (Ryall & Harvey, 1959; De Swardt &

Louw, 1968). Ander tipes verrotting soos Penicillium-verrotting, Alternaria-verrotting en Cladosporium-verrotting kan ook voorkom maar is normaalweg nie van groot ekonomiese belang nie (Harvey & Pentzer, 1960).

#### Na-oessiektes van sitrusvrugte:

Die mees algemene verrotting wat by sitrusvrugte gevind word, is groenskimmelverrotting, veroorsaak deur Penicillium italicum en P. digitatum (Rose et al, 1955). Meganiese beskadigings, wat kan ontstaan a.g.v. rowwe hantering of insekbytplekke, is die primêre oorsaak van infeksie.

#### Faktore wat na-oesverrotting beïnvloed:

Vrugkwaliteit: Vrugkwaliteit word uiteindelik bepaal deur die smaak van die verbruiker (Ginsburg, 1970). Slegs vrugte van 'n goeie kwaliteit behoort opgeberg te word (Ginsburg & De Swardt, 1962; Lötter, 1962; De Swardt & Louw, 1968). Vrugte van 'n swak kwaliteit is baie meer onderhewig aan verrotting.

Omgewingstoestande: Reënbuie of hoë lugvogtighede kort voor oestyd het tot gevolg dat hoë spoorladings op die vrugte voorkom en dus ook meer verrotting tydens opberging in die koelkamer (Du Plessis, 1936; Nelson, 1956). In die koelkamer self heers daar toestande wat baie bevorderlik is vir swamgroei nl. 'n hoë relatiewe humiditeit en 'n geskikte groeibodem. Die meeste vrugteverrottende swamme is ook in staat om by die lae temperature te kan groei (Matthee, 1968).

Hantering tydens en na oestyd: Rowwe hantering van vrugte het kneusings en

meganiese beskadiging tot gevolg. Sulke vrugte is baie meer vatbaar vir bederf as vrugte waarvan die skil onbeskadig is (Ginsburg & De Swardt, 1962; Lötter, 1962; Matthee & Ginsburg, 1963).

#### Voorkoming en beheer van na-oessiektes:

Fisiese en ander metodes: Deur die spoorlading in boorde en koelkamers laag te hou, kan verrotting in 'n groot mate uitgeskakel word (Putterill, 1923; Harvey, 1955; Ryall & Harvey, 1959). Dit kan teweeggebring word deur die toepassing van boord-sanitasie of deur die toediening van swamdoders in die wingerd of boord (Matthee & Ginsburg, 1963). Aangesien meganiese beskadiging so belangrik is vir infeksie deur swamme, kan verrotting ook deur versigtige hantering verminder word (Lötter, 1962; Matthee & Ginsburg, 1963).

Sommige navorsers staan die gebruik van ioniserende bestraling vir die bekamping van na-oessiektes voor (Matthee & Marais, 1962; Sommer & Fortlage, 1966). Hoewel dit 'n baie effektiewe bekampingsmetode blyk te wees, is dit onwaarskynlik dat hierdie tegniek ooit in die praktyk 'n toepassing sal vind.

Die na-oesbehandeling van perskes met warm water verlaag die mate van verrotting wat voorkom (Smith, et al, 1964). Die nadeel van hierdie metode is egter die temperatuurstyging wat die perskes ondergaan. Dit kan 'n nadelige invloed op hulle opbergingsleeftyd hê. Die aanwending van 'n lae opbergings temperatuur is 'n geskikte metode om Rhizopus-verrotting in vrugte te verhoed (Heyns & Ginsburg, 1967), omdat R. nigricans 'n minimum groeitemperatuur van 6°C het (Weimer & Harter, 1923a). Deur vrugte by -0,5°C op te berg, word hierdie tipe verrotting dus heeltemal uitgeskakel.

Gebruikmaking van chemikalieë: Daar is 'n wye reeks chemikalieë wat met sukses aangewend kan word om na-oessiektes te beheer. Die sogenaamde „wondparasiete" word makliker chemies beheer as organismes wat die vrugte voor oestyd infekteer en tydens oestyd nog geen verrotting toon nie (Eckert, 1969).

Die chemiese middel wat gebruik sal word, sal in 'n groot mate bepaal word deur die manier waarop dit toegedien gaan word. Dit kan in die vorm van 'n vloeistof gebruik word sodat die vrugte daarmee bedek kan word deur hulle daarin te doop of deur hulle daarmee te bespuit (Smith, 1962). 'n Ander metode is die beroking met geskikte gasse soos swaeldioksied of stikstoftrichloried (Smith, 1962). Deur toedraaipapier tjies met chemikalieë te impregneer, kan na-oesverrotting ook baie effektief beheer word (Smith, 1962; Eckert, 1969). Hedendaagse chemiese middels is so aangepas dat die meeste swamdoders sonder moeite in toedraaipapier geïmpregneer kan word.

Die toksisiteit van swamdoders en dus hulle effektiwiteit, word binne perke verhoog met styging in temperatuur (Spalding et al, 1969). Die verhoogde temperatuur kan moontlik 'n nadelige effek op die vrugte hê deurdat dit die tempo van metabolisme kan verhoog.

'n Ander moontlikheid om die doeltreffendheid van chemiese behandeling te verhoog, is die insluiting van 'n chemiese middel wat stadig dampe in die vrugtehouer vrystel en sodoende die berokingsproses 'n geruime tyd na verpakking voortsit (Van der Plank, 1939; Nelson & Gentry, 1966). Hierdie beginsel is al jarelank bekend, maar nuwere ontwikkelings in verpakkingstegniese het die bruikbaarheid daarvan verhoog.

BOTRYTIS CINEREA, DIE GRYSKIMMELBeskrywing:

Persoon (Du Plessis, 1936) het Botrytis cinerea in 1801 beskryf as 'n saprofiet op verrottende blare en organiese materiaal. In 1822 het hy B. acinorum beskryf as die oorsaak van 'n grysverrotting by druiwe. Müller-Thurgau (1888) was egter van mening dat hierdie twee swamme een en dieselfde is. Latere navorsers het B. cinerea bo alle twyfel beskou as die oorsaak van vaalvrot van druiwe (Putterill, 1923). Du Plessis (1936) het ook 'n beskrywing gegee van B. cinerea wat ooreenstem met die van Müller-Thurgau (1888) en Putterill (1923). Smith (1960) beskryf B. cinerea Persoon ex Fries as volg: Kolonies is vlokkig met 'n ligte bruin-gryskleur; konidiofore is styf en regop en baie vertak naby die punte. Trosse konidia word soos druiwe aan die punte van konidiofore gedra. Die konidia is ovaalvormig, het 'n gryserige kleur en is 8 tot 12  $\mu\text{m}$  en soms 8 tot 15  $\mu\text{m}$  lank met 'n deursnee van 6 tot 10  $\mu\text{m}$ . Sclerotia ontwikkel na 'n paar dae as klein groen miseliëre knope, maar neem vinnig toe in grootte en word later heeltemal swart, met 'n onreëlmatige vorm.

Geslagtelike stadium en paraseksualisme by B. cinerea:

Aanvanklik is vermoed dat Sclerotinia fuckeliana en B. cinerea dieselfde swam is (Du Plessis, 1936), maar Groves & Loveland (1953) het vasgestel dat Botryotinia fuckeliana (De Bary) Whetz. die geslagtelike stadium van B. cinerea is.

Omdat B. cinerea 'n swam sonder 'n geslagsiklus is, is dieselfde patroon van genetiese variasie nie moontlik soos aangetref by swamme wat wel 'n geslagtelike stadium het nie. Hansen & Smith (1932) het egter gevind dat swamdraadsele en



konidia van Botrytis-kulture meerkernig is en dat anastomose geredelik tussen twee swamdrade plaasvind. As gevolg van hierdie anastomose tussen swamdrade, kan genetiese variasie dus verkry word. Paul (1929) en Hansen (1938) het drie kultuurlyne wat by B. cinerea aangetref is, onderskei, nl. die sclerotium-tipe (sclerotia word oorwegend gevorm), die miselium-tipe (steriele miselium word oorwegend gevorm) en die konidium-tipe (konidia word oorwegend gevorm). Kultuurlyne wat intermediêr is, is ook waargeneem (Hansen, 1938). In wese stem dié verskynsel ooreen met die paraseksuele siklus wat genetiese variasies by ander swamme onder die Fungi Imperfecti moontlik maak (Roper, 1966).

Hierdie genetiese variasie het tot gevolg gehad dat dit nodig was om enkel-spoorisolasies te maak tydens studies met hierdie swam om sodoende 'n kultuurlyn te verkry wat oorwegend konidia sou vorm.

#### Antagonisme teenoor B. cinerea in die natuur:

Antagonisme is welbekend in die biologie. Verskeie mikro-organismes is antagonisties teenoor B. cinerea. Sommige van hierdie antagoniste inhibeer groei deur die pH te verhoog en sodoende die pektolitiese ensieme van Botrytis te inaktiveer. Ander produseer weer antibiotika wat groei verhoed (Darpoux, 1960). Die groei van B. cinerea onder gekontroleerde laboratoriumtoestande is al m.b.v. antagoniste gestuit (Wood, 1951; Huber & Gottlieb, 1968; Blakeman & Fraser, 1971), maar hierdie metode sal nie op 'n kommersiële skaal in die vrugtenywerheid toegepas kan word om verrotting te bestry nie. Sekere plante kan ook stowwe afskei wat B. cinerea beïnvloed. Dit kan op enige stadium tydens plantgroei voorkom (Deverall, 1967; Schönbeck & Schroeder, 1972) of namate die plant verouder (Blakeman, 1972). Die verskynsel kom alleen voor op die groeiende plant

sodat hierdie tipe van antagonisme dus ook nie ingespan kan word om vrugverrotting wat deur B. cinerea veroorsaak word, te verhoed nie.

#### Verrottings veroorsaak deur B. cinerea:

In Suid-Afrika is B. cinerea besonder vernietigend op druie, aarbeie, appels, pere, kwepers en koejawels. Dit veroorsaak ook 'n hele aantal siektes by sierplante (Matthee, Heyns & Ginsburg, 1969).

Alle vrugte en groente is vatbaar vir infeksie deur hierdie swam en vaalvrot is 'n bekende tipe verrotting by die meeste vrugsoorte (Ramsey & Wiant, 1941; Rose et al, 1955; Harvey & Pentzer, 1960; Lutz & Hardenburg, 1968). Die grootste finansiële verliese word egter gelyk as gevolg van vaalvrot op tafeldruie (Harvey & Pentzer, 1969; Matthee et al, 1969). Verliese varieer van jaar tot jaar, maar kan so hoog as 5% van die oes wees.

#### Die nuttige gebruike van B. cinerea:

Wanneer 'n druiekorrel wat met B. cinerea geïnokuleer is, sonder beheerde toestande verrot, word die epidermisselle van die druif beskadig en dit lei tot verhoogde transpirasie. Die sap in die korrels word sodoende gekonsentreer. Die vlugtige sure word gedeeltelik vernietig en verskeie ander komponente ondergaan ook veranderinge wat voordelig kan wees vir die smaak (Müller-Thurgau, 1888). Sulke druie word dan gebruik vir die vervaardiging van die sogenaamde edelwyn (Nelson & Amerine, 1957a,b). Die stikstofinhoud van hierdie korrels is laer sodat stadige en onvolledige fermentasie van die sap moontlik is. Die natuurlike soet tafelwyne wat vanaf Botrytis-besmette druie geproduseer word, word onder die beste en duurste wyne in die wêreld gereken (Nelson &

Amerine, 1957a).

### VAALVROT VAN TAFELDRUIWE

#### Aard van die infeksiebron:

In die wingerd groei B. cinerea op enige dooie organiese materiaal. Gedurende koel en vogtige weer produseer die swam konidia wat deur lugstrome tot op die druiwekorrels vervoer word (Harvey & Pentzer, 1960; Ginsburg, 1965b). Infeksie kan in die wingerd plaasvind wanneer die konidia onder invloed van die koel klam toestande ontkiem. Dit is egter nie die verrotting wat as gevolg hiervan ontstaan wat probleme skep nie. Dit is die konidia wat nie in die wingerd ontkiem nie en dus nie gedurende oes en verpakking waargeneem kan word nie, wat later probleme sal skep. Hierdie konidia sal in die koelkamer ontkiem, aangesien B. cinerea in staat is om by die lae temperatuur wat vir opberging gebruik word, te groei en die druiwekorrels te infekteer. Die infeksiebron in die wingerd is teen die einde van die seisoen groter as aan die begin daarvan, omdat vogtiger omgewingstoestande dan heers (De Swardt & Louw, 1968) en dit verhoog die tempo waarteen konidia gevorm word.

#### Simptome van vaalvrot:

Verskeie algemene name word gebruik om hierdie tipe verrotting te beskryf. Al hierdie name is beskrywend van een of ander simptoem tydens die verrottingsproses.

Die vroeë stadium word glyskil of kraakdop genoem (Harvey & Pentzer, 1960; Ginsburg, 1965b). Na infeksie word die weefsel net onder die skil aangeval en vernietig, sodat die skil los kom van die onderliggende weefsel. Die ge-

ringste druk wat op die korrel uitgeoefen word, laat die skil weggliip van die onderliggende weefsel. Vandaar die naam glyskil. Die geaffekteerde deel van die korrel mag op hierdie stadium 'n effense verbruining toon. Hierdie simptome kan vier dae na 'n reën bui al in die wingerd waarneembaar wees (Nelson, 1956). Na sewe dae kan die swam op die oppervlakte van die korrel sporuleer indien die relatiewe humiditeit hoog genoeg is (Nelson, 1956). Talle konidia wat grys in voorkoms is, word gevorm; vandaar die Engelse naam „gray mould rot" (Harvey & Pentzer, 1960). Hierdie verskynsel staan egter in Afrikaans bekend as vaalverrotting of vaalvrot (Du Plessis, 1947; Doidge et al, 1953). In die koelkamer, kan die verrotting binne-in 'n houer vanaf een tros na 'n naasliggende versprei en so aanleiding gee tot nesverrotting (Harvey & Pentzer, 1960). Op hierdie stadium is daar 'n goed ontwikkelde gryswit miseliummat wat die oppervlakte van die aangetaste korrels bedek.

#### Die meganisme van infeksie:

Infeksie kan plaasvind deurdat 'n konidium wat op 'n druiwekorrel beland het in staat is om te ontkiem indien optimale toestande in die mikro-omgewing van die spoor heers.

Ontkieming van konidia op druiwekorrels: Op die vogtige oppervlakte van 'n druiwekorrel neem die konidium water uit sy omgewing op, swel uit en vorm 'n kiembuis wat begin verleng (Gärtel, 1970). Sowat twee tot drie uur nadat die spoor begin swel het, begin die kiembuis vorm (Blackman & Welsford, 1916). Sommige navorsers beweer ook dat die teenwoordigheid van voedingstowwe op die oppervlakte van die korrel noodsaaklik is vir ontkieming (Kosuge & Hewitt, 1964;

Barash, Klisiewitz & Kosuge, 1964). Die laasgenoemde werkers vind 'n baie hoër persentasie ontkieming in blaaruitskeidings van wilde saffraan (Carthamus tinctorius) as in steriele water. Daarteenoor het Couey & Bramlage (1965) 100% verrotting verkry met druiwe wat hulle afgewas het en konidia wat in gedistilleerde water gesuspendeer was.

Terwyl die kiembuis verleng, skei dit 'n slymagtige substans af wat die hele ontkiemende spoor stewig aan die korreloppervlakte vasanker. Stellwaag-Kittler (1969) beweer dat die spoor sal afsterf indien die vog op hierdie stadium sou wegdroog, maar Nelson (1951b) het gevind dat infeksie plaasvind selfs al is daar net vir een uur vrye vog teenwoordig. Gärtel (1970) het ook gevind dat swamdrade nog groei by 'n lae relatiewe humiditeit in die afwesigheid van vrye vog. Nelson (1951b) het verrotting by lae relatiewe humiditeit teweeggebring. Die korrels was egter in die meeste gevalle by die stingel-end geïnfekteer; 'n verskynsel wat hy toegeskryf het aan vrye vog in dié gebied of omdat verhoogde transpirasie daar genoeg vog vir ontkieming verskaf het. Die kwessie van die invloed van relatiewe humiditeit op ontkieming het al baie meningsverskil laat ontstaan (Gärtel, 1970). Dit kom daarop neer dat sommige werkers sê dat B. cinerea definitief vrye vog nodig het vir ontkieming, terwyl andere beweer dat 'n hoër relatiewe humiditeit ook ontkieming kan laat plaasvind. Dit wil voorkom asof die teenwoordigheid van vrye vog wel 'n vereiste vir spoorontkieming is, veral na aanleiding van die werk van Nelson (1951b). Vanev (Gärtel, 1970) het ontkieming by hoër relatiewe humiditeite as volg verklaar: In 'n geslote ruimte, met 'n relatiewe humiditeit van 100%, sal 'n baie klein daling in temperatuur die kondensasie van water tot gevolg hê. By hoër relatiewe humiditeite vind ontkieming dus in werklikheid in 'n dun laagie kondensasiewater plaas. Dit word ondersteun deur die bevinding van Nelson (1951b) dat die

teenwoordigheid van vrye vog nie noodsaaklik is vir ontkieming by hoër relatiewe humiditeit nie.

Na ontkieming groei die kiembuis op die oppervlakte van die korrel en heg stewig aan die kutikula vas (Blackman & Welsford, 1916). Dit vind 24 uur na inokulasie plaas (Gärtel, 1970). Nelson (1958) het egter gevind dat die periode ses tot twaalf uur is. 'n Suieragtige appressorium word op die punt van die ontkiemingsbuis gevorm (Blackman & Welsford, 1916; Nelson, 1956; Gärtel, 1970). Volgens Kosuge & Hewitt (1964) is voedingstowwe nodig vir die vorming van appressoria. Die appressorium druk so styf teen die kutikula vas dat dit lyk of die kutikula effens induik (Blackman & Welsford, 1916). Dit is die eerste teken van penetrasie.

Penetrasie van die kutikula: Uit die gevormde appressorium, groei 'n baie kort infeksiebuis wat die kutikula penetreer (Blackman & Welsford, 1916; Gärtel, 1970). Wastie (1962) het min penetrasie gevind in die afwesigheid van voedingstowwe. Hoewel hy sy bevindings op studies met boontjieblare gebaseer het, het Kosuge & Hewitt (1964) dieselfde met druiwe gevind.

Die presiese wyse waarop penetrasie plaasvind, kan op twee maniere verklaar word - meganies of nie-meganies (d.w.s. fisiologies). Müller-Thurgau (1888) het gesê penetrasie kan deur beskadigings, soos inseksteekplekke, deur huidmondjies of deur die skil plaasvind. De Bary het in 1886 (Brown, 1916) gepostuleer dat 'n toksiese stof deur die kutikula diffundeer en die kutikula eers „sagmaak" voordat werklike penetrasie plaasvind. Die selle disintegreer en die swam leef dan in werklikheid op die dooie selle. Brown (1916) het gevind dat die kutikula eers gepenetreer moet word voordat die selle gedood kan

word. | Dit stem ooreen met die bevindings van Blackman & Welsford (1916) en Gärstel (1970). Blackman & Welsford (1916) verwys ook na die feit dat Miyoshi reeds in 1895 bewys het dat ontkiemende spore van B. cinerea in staat is om goudfoelie te penetreer - dit sluit penetrasie op 'n chemiese wyse uit. Purkayastha & Deverall (1965) het ook tot die gevolgtrekking gekom dat die kutikula nie weerstand teen penetrasie bied nie. Volgens Du Plessis (1937b) is 'n onbeskadigde kutikula 'n goeie beskerming teen penetrasie deur B. cinerea. Guillou (Nelson, 1956) beweer dat penetrasie slegs deur beserings wat deur insekte veroorsaak is, plaasvind. Du Plessis (1937b) meld egter nie of die oppervlakte van die druiwe waarmee hy gewerk het, ontsmet is of nie. Dit kan wees dat hy a.g.v. die moontlike afwassing van die voedingstowwe op die oppervlakte van korrels, nie penetrasie gekry het nie. Volgens Brown (1922) en Wastie (1962) is voedingstowwe noodsaaklik en vind geen penetrasie in die afwesigheid daarvan plaas nie. Die rol van selbeskadiging is waarskynlik die daarstelling van voldoende voedingstowwe, maar penetrasie mag ook makliker deur 'n wond plaasvind.

Penetrasie van die kutikulá geskied dus meganies en is 18 uur nadat ontkieming in aanvang geneem het, waarneembaar (Nelson, 1956) hoewel hierdie periode ook korter kan wees (Nelson, 1958). Nelson (1956) het nie meer as een infeksiepunt deur 'n enkele konidium waargeneem nie, maar hy het nie die moontlikheid uitgesluit nie. Dit beteken dat in die meeste gevalle slegs een kiembuis wat vanuit 'n konidium ontstaan, die weefsel binnedring. Ainsworth, Oyler & Read (1938) het gevind dat verlepte tamaties, of tamaties wat hulle vogspanning verloor het, minder infeksie getoon het as tamaties met 'n hoë vogspanning. 'n Moontlike verklaring is dat aangesien penetrasie meganies geskied en die kutikula ook effens elasties is, sal infeksie plaasvind as die kutikula styfgespan is. By verlepte tamaties is die kutikula verslap.

Vernietiging van die plantweefsel: Na penetrasie groei die kiembuis verder en dring 'n epidermissel binne (Blackman & Welsford, 1916). Die eerste aktiewe reaksie vind plaas sodra die swam hierdie lewende weefsel bereik (Gärtel, 1970). Die weefsel in die onmiddellike omgewing van die indringende swamdrade verbruin (Nelson, 1956; Gärtel, 1970). Die appressorium verloor sy protoplasma en die swamdrade brei uit tot 'n sub-kutikulêre en intersellulêre miselium (Nelson, 1956).

Volgens Smith kan die vernietiging van weefsel toegeskryf word aan die werking van oksaalsuur (Brown, 1915). Weimer & Harter (1923b) kon egter, net soos Brown (1915) geen suurvorming waarneem nie. Navorsers op hierdie gebied is dit egter eens dat die vernietigingsproses tweeledig van aard kan wees: In die eerste plek word 'n ensiem deur die swam afgeskei wat die selle hulle kohesie laat verloor en in die tweede plek word 'n toksien gevorm wat die selle doodmaak (Brown, 1915; Wiemer & Harter, 1923b; Rubin & Aksenova, 1964). Dit is met sekerheid vasgestel dat die ensiem wat vir die afbraakproses verantwoordelik is, 'n poligalakturonase-sisteem is (Husain & Kelman, 1959; Hancock, Millar & Lorbeer, 1964; Gärtel, 1970). Volgens Gärtel (1970) word die middellamellae van selle afgebreek. Middellamellae bestaan uit poligalakturonsuurkettings wat by die karboksielgroepe gekoppel is deur divalente kalsium- of magnesium-ione. Pektiemetiel-esterases en trans-eliminases breek hierdie kettings langs verskeie weë af (Gärtel, 1970). Hancock et al (1964) het gevind dat B. cinerea groot hoeveelhede endo-poligalakturonase op medium produseer, terwyl Barash et al (1964) en Van den Berg & Yang (1969) gevind het dat min poligalakturonase deur konidia wat in D-glukose of D-fruktose ontkiem het, geproduseer is. Barash et al (1964) postuleer ook dat die teenwoordigheid van polimere van poligalakturonsuur in uitskeidings van sekere blomsoorte, die vorming van poligalakturonase induseer. Die teenwoordigheid van geskikte voedingstowwe as induseermiddels, is in dié geval skynbaar noodsaaklik vir die vorming van die ensieme.



Die presiese manier waarop die selle gedood word is nie bekend nie. Sommige navorsers (Brown, 1915; Weimer & Harter, 1923b; Rubin & Aksenova, 1964) het 'n tweeledige afbraakproses voorgestel, maar Tribe (1955) skryf die verlies aan kohesie tussen selle en die toksiese effek aan 'n ensiem of ensiemkompleks toe en is van mening dat daar nie toksiene gevorm word nie. Husain & Kelman (1959) het ook tot die gevolgtrekking gekom dat daar slegs ensieme en geen toksiene by die afbraakproses betrokke is nie. Hulle het die moontlikheid gestel dat die plantselle deur die ensiemwerking meer toeganklik gemaak word vir penetrasie deur toksiese metaboliete. Die moontlikheid bestaan egter dat afbraakprodukte van die pektiene ook 'n dodingseffek op die plantselle kan hê. Die verrottingsproses is voltooi wanneer 'n geïnfecteerde druiwekorrel se skil gebars het, konidiofore in die barse ontstaan en konidia gevorm is wat tot nuwe verrotting aanleiding kan gee.

#### Faktore wat verrotting beïnvloed:

Cultivar: Rattray (1936a) het gevind dat druiwe met 'n hoë suiker tot suurverhouding meer verrotting ondergaan het as dié met 'n laer suiker tot suurverhouding. Nelson (1951a) het ook tot dieselfde gevolgtrekking gekom. Die rypheid van druiwe het dus 'n invloed op die weerstand teen Botrytis-infeksie. Du Plessis (1937b) het in teenstelling hiermee gevind dat faktore soos die totale hoeveelheid suur en die suikerinhoud nie altyd verantwoordelik is vir B. cinerea se onvermoë om druiwekorrels te infekteer nie. Die trosse van cultivars wat groot korrels het, is geneig om baie vas te wees. So 'n tros sal baie makliker verrot as een wat nie so vas is nie (De Swardt & Louw, 1968).

Spoorkonsentrasie: Omdat die relatiewe humiditeit laat in die seisoen gewoonlik hoog is, is daar meer konidia in die wingerd aanwesig en is die gevaar van

verrotting dus groter as vroeër in die seisoen (De Swardt & Louw, 1968).

Relatiewe humiditeit: Die relatiewe humiditeit speel 'n belangrike rol by infeksie. Nelson (1951b) het 'n toename in verrotting met toename in relatiewe humiditeit gevind. Van den Berg & Yang (1969) het egter gevind dat 'n hoër relatiewe humiditeit ensiemvorming deur B. cinerea by geelwortels inhibeer. Hoewel meer verrotting by 'n hoër as by 'n lae relatiewe humiditeit plaasvind, is die toksisiteit van swaeldioksied teenoor Botrytis-konidia ook hoër by hoër relatiewe humiditeite (Couey & Uota, 1961). Opberging by hoër relatiewe humiditeit is dus nie so 'n groot risiko indien swaeldioksied gebruik word nie.

Teenwoordigheid van voedingstowwe: Voedingstowwe stimuleer spoorontkieming en gevolglik infeksie (Barash et al, 1964; Kosuge & Hewitt, 1964). Nelson (1951a) is van mening dat mikroskopies-klein wonde op ryp druiwe waarskynlik eerder as 'n bron van voedingstowwe dien as wat dit 'n infeksiepunt is.

Temperatuur: Lae temperature vertraag slegs die infeksieproses en is nie in staat om verrotting te keer nie (Nelson, 1951a). Botrytis cinerea is ook in staat om by baie lae temperature te oorleef. Van den Berg & Lentz (1968) het gevind dat die miselium 'n temperatuur van 0°C vir een jaar kan oorleef, mits die relatiewe humiditeit 90 tot 100% is. Konidia het gewoonlik 'n korter oorlewingstyd gehad. Nelson, Kosuge & Nightingale (1963) het egter ook konidia vir lang tye by lae temperature gehou sonder dat die kiemkrag benadeel is. Dit lyk dus asof koue winters nie in staat is om die spoorlading in 'n wingerd te verlaag nie.

Hantering: Rowwe hantering van tafeldruie het gebarste korrels tot gevolg wat dus as 'n voedingsbron vir ontkiemende konidia kan dien.

Voorkoming van vaalvrot:

In die wingerd: Voor die ontwikkeling van geskikte na-oesbehandelings was wingerd-sanitasie die enigste metode om vaalvrot te bekamp (Putterill, 1923). Tans word daar pogings aangewend om voor-oesbehandelings te kombineer met na-oesbehandelings. Harvey (1955) het hierdie beginsel met sukses toegepas.

Nadat die druie ge-oes is: Winkler & Jacob (1925) was die eerste om 'n na-oesbehandeling aan te wend vir die bekamping van druieverrotting. Sedertdien is 'n groot verskeidenheid middels al uitgetoets. Die mees belowende middels wat tot dusver uitgetoets is, is swaeldioksied, 2-asetiel-3-hidroksifuraan (Capellini et al, 1968) en dibromotetrachloro-etaan (Ginsburg & Matthee, 1963). Navorsing met die laaste twee middels is in Suid-Afrika gestaak omdat hulle nie plaaslik geregistreer is vir gebruik op druie nie.

Winkler & Jacob (1925) het swaeldioksied gebruik en het verrotting doeltreffend beheer. Hulle het gevind dat 50 tot 100 d.p.m. swaeldioksied in die atmosfeer genoeg is om verrotting te beheer. Pentzer, Asbury & Hamner (1932) het bewys dat 20 d.p.m. swaeldioksied voldoende is. Ginsburg (1965b) het 15 d.p.m. vir langtermynopberging aanbeveel, maar die jongste aanbeveling is 7 tot 10 d.p.m. swaeldioksied (Ginsburg & Combrink, 1969). Nelson (1958) het gevind dat 6 d.p.m. swaeldioksied binne-in die druifweefsel verrotting verhoed. Al die spore wat op die oppervlakte van die korrel voorkom, word gedood deur swaeldioksied (Ginsburg, 1965b). Die swaeldioksiedgas verbind met die vog op die

korrel om swaeligsuur te vorm. Die swaeligsuur is die aktiewe middel (Couey & Uota, 1961). As druiwekorrels reeds geïnfekteer is, is 'n enkele behandeling met swaeldioksied ondoeltreffend om die verrotting volkome te beheer (De Swardt, 1962).

Swaeldioksied is 'n sterk oksideermiddel en het dus sekere nadele (Ginsburg & De Swardt, 1962). Eerstens kan te hoë konsentrasies van die gas die druiwe beskadig en tweedens laat dit alle metaaldele in die koelkamer vinnig roes.

In die V.S.A. word saamgeperste swaeldioksiedgas reeds vir baie jare gebruik. Nuwe neigings is om die gas vry te stel uit 'n chemiese stof soos natriumbisulfaat (Nelson & Gentry, 1966; Gentry & Nelson, 1968). Deur die vrystellings-tempo van die gas te beheer, kan die druiwe gedurig onder 'n atmosfeer van swaeldioksied gehou word. In die V.S.A. is sukses behaal op hierdie wyse maar tydens studies aan die Navorsingsinstituut vir Vrugte en Vrugtetegnologie, Stellenbosch, is 'n baie hoë persentasie swaeldioksiedskade gevind. (Ongepubliseerde data).

In Suid-Afrika is verskeie chemikalieë uitgetoets voordat daar op die gebruik van swaeldioksied besluit is (Boyes, Beyers & De Villiers, 1935; Rattray, 1936b). Du Plessis (1934; 1936; 1937a,b) het baie navorsing in hierdie verband gedoen, maar kon geen suksesvolle beheer van verrotting met swaeldioksied verkry nie. Hy was van mening dat die Suid-Afrikaanse druiwe-cultivars baie meer vatbaar vir swaeldioksiedbeskadiging was as die Amerikaanse cultivars. Hy het egter hoofsaaklik met Henab Turki proewe gedoen; 'n relatief onbelangrike druif-cultivar.

Van der Plank (1939) het 'n stelsel ontwerp vir die stadige vrystelling van swaeldioksied. Nelson & Gentry (1966) het van dieselfde beginsel gebruik gemaak. Die stelsel van Van der Plank het berus op die hidrolise van aluminiumsulfiet deur die vog binne-in die verpakking. Hierdeur ontstaan swaeligsuur wat 'n dodende uitwerking het. Hoewel hierdie tegniek baie belofte ingehou het, moes navorsing daarmee a.g.v. praktiese probleme gestaak word. Die vernaamste rede was waarskynlik dat die verbruiker enige vreemde stowwe in 'n vrugteverpakking met agterdog bejeën (Ginsburg - persoonlike mededeling). Navorsing deur Reyneke & Du Plessis (1943) en Reyneke & Piaget (1952) het aanleiding daartoe gegee dat swaeldioksied gaandeweg meer en meer op 'n kommersiële skaal aangewend is. 'n Baie groot verbetering was die oorskakeling na die gebruik van 'n oplossing van natriumbisulfiet teenoor beroking met swaeldioksiedgas. Die behandeling aanbeveel deur Reyneke & Piaget (1952) nl. die bespuiting van die gepakte druiwekissie met 20 ml van 'n 40% natriumbisulfiet- of natriummetabisulfietoplossing net voordat dit toegespyker word, is lank gebruik. Navorsing aan die NIVV te Stellenbosch het daarop gedui dat die vervanging van die houtwolverpakking met 'n skuimrubberverpakking, daartoe lei dat die swaeldioksiedkonsentrasie verlaag kan word (Ongepubliseerde data). Tans word 18 ml van 'n 20% natriummetabisulfietoplossing gebruik. Hierdie oplossing lewer baie meer swaeldioksied as wat nodig is om Botrytis-konidia te dood (Nelson, 1958). Deur die konsentrasie dus verder te verlaag, kan dieselfde mate van verrottingsbeheer verkry word, maar met minder swaeldioksiedbeskadiging.

'n Hele aantal faktore het 'n invloed op die effektiwiteit van 'n swaeldioksiedbehandeling. Nelson & De Swardt (1963) het gevind dat die lugspoed in 'n koelkamer die hoeveelheid gas wat die druiwe bereik, beïnvloed. Dit geld

hoofsaaklik vir langtermynopberging waar swaeldioksiedgas gebruik word i.p.v. natriummetabisulfieloplossings. Die relatiewe humiditeit het ook 'n invloed op die toksisiteit van swaeldioksied. Couey & Uota (1961) het gevind dat die toksisiteit van swaeldioksied meer is by hoër relatiewe humiditeite as by lae relatiewe humiditeite. Volgens Cant & Nelson (1957) word swaeldioksiedgas by hoër relatiewe humiditeite vinnig geabsorbeer deur die plantweefsel. Die toksisiteit van swaeldioksiedgas is ook afhanklik van die gaskonsentrasie en die blootstellingstyd (Couey & Uota, 1961). In teenstelling hiermee het Nelson (1958) bevind dat die dodende effek van swaeldioksiedgas die grootste gedurende die eerste 5 tot 10 min van die berokingsproses is. Die blootstellingstyd moet dus ten minste 10 min wees.

'n Ander faktor wat die effektiwiteit van swaeldioksied beïnvloed, is die periode wat verloop nadat die druiwe ge-oes is totdat hulle met swaeldioksied behandel word. Nelson (1958) het druiwe met Botrytis-konidia geïnokuleer en na verskillende periodes van inkubasie beroking met swaeldioksiedgas toegepas. Hy het gevind dat die hoogste graad van infeksie ses tot 12 uur na inokulasie voorgekom het. Indien swaeldioksiedgas dus 12 uur na inokulasie sou toegedien word, sal dit min of geen invloed op verrotting hê. Hoewel hierdie navorsing lig op die belang van 'n spoedige behandeling nadat die druiwe ge-oes is werp, kon dit nie sondermeer plaaslik van toepassing gemaak word nie. Een rede hiervoor is die feit dat Nelson Tokay-druiwe, 'n onbelangrike kultivar in Suid-Afrika, in sy proewe gebruik het. Nelson het ook die druiwe behandel met swaeldioksiedgas en nie met oplossings wat die gas vrystel, soos plaaslik gedoen word nie. Hy noem ook nie die konsentrasie van die spoorsuspensies waarmee hy geïnokuleer het nie. Die spoorkonsentrasie sal waarskynlik 'n invloed op die effektiwiteit van swaeldioksied uitoefen in dié sin dat 'n baie hoër spoorkonsentrasie die

effektiwiteit sal verlaag. Nelson se bevindings is vanuit 'n kommersiële oogpunt gesien belangrik. In die praktyk sal dit beteken dat druiwe ten minste ses uur, en definitief nie langer as 12 uur na oes nie, met swael-dioksied behandel moet word. Indien dit nie gebeur nie, sal die swael-dioksied nie meer in staat wees om verrotting effektief te beheer nie.

## MATERIAAL EN METODES

### BRON VAN BOTRYTIS-KULTUUR

Konidia van B. cinerea, afkomstig van 'n aangetaste druiwekorrel is op aar-tappel-dekstrose-agar (ADA) met 'n pH van 5,6 uitgestreep. Sub-kulture van-af hierdie ADA-plate is gemaak.

### ENKELSPORISOLASIES

Enkelsporisolasies is met 'n Leitz-mikromanipulator gedoen. 'n Leitz-Laborlux II-mikroskoop is op die mikromanipulator gemonteer met die twee manipulators weerskante van die mikroskooptafel. Mikronaalde, een met 'n geboë punt en een met 'n reguit punt is met 'n Leitz-naaldtrekapparaat gemaak en gebruik in die manipulators. Konidia van B. cinerea is vanaf 'n plaatkultuur droog op 'n dek-glasie (35 x 30 mm), wat op die kultuurkamer van die mikromanipulator gemonteer is, geplaas. 'n Enkele konidium is m.b.v. die manipulators oorgeplaas op ADA in 'n Petribakkie en by kamertemperatuur gebroei. Kulture wat so verkry is en die meeste gesporuleer het, is geselekteer vir verdere enkelsporisolasies. Op hierdie manier is vier reekse enkelsporisolasies gemaak.

### VERSAMELING VAN KONIDIA

Drie tegnieke vir die versameling van konidia is uitgetoets ten einde vas te stel watter een die mees geskikte sou wees onder die spesifieke omstandighede. In al die gevalle is 'n 14 dae-oue Botrytis-kultuur gebruik wat goed gesporuleer het op ADA of in 'n vloeibare aartappel-dekstrose medium.



Tegniek nr. 1: Tien ml steriele water, bevattende 0,1% Teepol as benattingsmiddel, is by 'n kultuur in 'n Petri-bakkie gevoeg. Die miselium en konidia is met 'n afgevlamde glasstafie afgekrap en in 'n leë 100 ml platfles („medical flat“) geplaas. Die fles is vir 15 min op 'n Edmund Bühler-skudapparaat geskud sodat die konidia goed kon versprei in die suspenseermiddel. Die suspensie is daarna deur 'n dubbeld-gevoude, of 'n vierdubbeld-gevoude, steriele kaasdoek gefiltreer. 'n Stukkie watte is in die tuit van 'n tregter geplaas om fyner miseliumstukkies te keer.

Tegniek nr. 2: Konidia vanaf 'n kultuur op 'n Petri-bakkie is ook droog met 'n sikloon ge-oes. Die sikloon is gemaak volgens die beginsel van Tervet et al (1951).

Tegniek nr. 3: Die kulture wat in vloeibare medium aangekweek is, is vir 10 min geskud en daarna deur steriele kaasdoek gefiltreer. Die filtrate is vir 1 min teen 3 000 o.p.m. gesentrifugeer in 'n International-sentrifuge en drie-maal in steriele water gewas na sentrifugasie. Hierna is die spoorsuspensies weer vir 5 min geskud op die skudapparaat om die konidia te suspendeer.

#### BEPALING VAN SPOORONTKIEMING

Ringetjies is met naelpolitoer op 'n voorwerpglasie getrek en goed laat droog word. 'n Druppel van 'n spoorsuspensie is hierin geplaas en met 'n dekglasie bedek. Die voorwerpglasie is daarna binne-in 'n Petri-bakkie, wat met klam filtreerpapier uitgevoer is om 'n hoë humiditeit te handhaaf, geplaas en by 22°C gehou.

Die persentasie spoorontkieming is in alle gevalle bepaal deur vas te stel hoeveel konidia uit 400 ontkiem het na 12 uur by 22°C. Wanneer die lengte van 'n kiembuis die breedte daarvan oortref het, is aangeneem dat 'n konidium ontkiem het (American Phytopathological Society, 1943). Slegs alleendrywende konidia, wat eweredig versprei was oor die mikroskoopveld, is ondersoek en getel. Tellings is ongeveer 2 mm vanaf lugblasies en die wande van die naelpolitoer-telkamer gedoen om variasie uit te skakel. Variasie tussen verskillende herhalings en verskillende proewe is so ver as moontlik uitgeskakel deur te werk volgens die voorskrifte van McCallan & Wilcoxon (1932).

Die volgende suspendeermiddels is met mekaar vergelyk d.m.v. ontkiemingstoetse: 0,1% (v/v) Nonidet, 2% (m/v) dekstrose-oplossing, Tween 80-druiwesap (1% v/v Tween 80 en 10% v/v druiwesap) en gedistilleerde water. Die ontkieming van konidia wat vanaf 'n verrotte druiwekorrel ge-oes is, is ook vergelyk met dié vanaf 'n ADA-gietplaat ge-oes. Die gemiddelde groottes van die konidia is in hierdie geval ook met 'n okulêrmikrometer bepaal.

In die geval van die ontkiemingstoetse wat gedoen is om verskillende kultuurmedia met mekaar te vergelyk (sien later), is 'n druppel van elke medium in die naelpolitoer-telkamers geplaas. Nadat die medium gestol het, is 'n druppel gedistilleerde water, bevattende konidia, op die medium geplaas. Die telkamers is in Petri-bakkies met klam filtreerpapier by 22°C gehou. Die persentasie spoorontkieming op elke medium is na 3, 6, 9 en 12 uur bepaal. Die lengtes van kiembuise is terselfdertyd gemeet m.b.v. 'n okulêrmikrometer. Die kiembuislengtes van 20 ontkiemende konidia wat heeltemal gelykkansig geneem is, is bepaal. In die gevalle waar daar na verloop van tyd twee kiembuise ontstaan het, is die langste kiembuis as die primêre een beskou.

OPBERGING VAN VOORRAADKULTURE

Konidia wat vanaf enkelspoorisolasies verkry is, is uitgestreep op ADA-skuinsbuis. Die skuinskulture is by 22°C gehou. Minerale olie is vir drie uur by 180°C in 'n elektriese droogoond gesteriliseer. Die skuinskulture is bedek met steriele minerale olie nadat konidia gevorm het en is daarna by 0°C opgeberg. Die lewensvatbaarheid van hierdie kulture is na drie en ses maande nagegaan deur die kulture uit te streep op ADA-gietplate, te broei by 22°C en waar te neem in welke mate die kulture sporuleer.

'n Ander metode van opberging van die konidia wat ook gebruik is, is as volg gedoen: Veertien dae-oue konidia is met 'n sikloon vanaf 'n ADA-gietplaat ge-oes en in leë 2,5 ml proefbuisies geplaas. By sommige konidia is 0,5 ml water gevoeg. Alle buisies met konidia is by 0°C en -23°C gehou en die kiemkrag van die konidia is na drie en ses maande bepaal deur ontkiemingsproewe op voorwerpglasies uit te voer. Van die konidia is ook uitgestreep op ADA-gietplate. In die ontkiemingsproewe is die konidia wat vir drie maande opgeberg is, in 'n 0,1% Nonidet-oplossing gesuspendeer. Die konidia waarvan die kiemkrag eers na ses maande nagegaan is, is in Tween 80-druiwesap gesuspendeer. Die konidia waarby water gevoeg is, is eers 'n tydlank (ongeveer 1 uur) by kamertemperatuur gehou om te ontdooi voordat die kiemkrag getoets is. As kontrole is die kiemkrag van 14 dae-oue konidia gelyktydig nagegaan.

BEPALING VAN TOESTANDE WAT OPTIMAAL IS VIR SPORULASIE

Optimale kondisies is beskou as dié waaronder die meeste konidia gevorm is.

### Temperatuur:

Die optimale temperatuur-interval vir groei en sporulasie is gevind om 20 tot 22°C te wees. Aan die begin van hierdie studie is die kulture gedurende die somermaande by kamertemperatuur gebroei, maar later is selfs gedurende die somer van broeikaste en verligte kabinette gebruik gemaak. Die kabinette is verlig deur 'n 100 W matglas-gloeilamp wat op 'n afstand van 60 cm vanaf die kulture geplaas is. Die invloed van hoër kamertemperature (25 tot 30°C) is ook nagegaan.

### Medium:

Die invloed van verskeie agarmedia op die snelheid van spoorontkieming en kiembuisverlenging is in naelpolitoer-telkamers nagegaan. Die kolonie-deursnee en die persentasie sporulasie op agarmediumplate is ook daagliks genoteer. Die sporulasie is uitgedruk as 'n persentasie, geoordeel aan die plaatoppervlakte wat met spore oordek is. Groei en sporulasie in vloeibare media is ook nagegaan deur observasie. Beide die vloeibare en vaste media is geïnokuleer met konidia vanaf 'n 14 dae-oue kultuur deur gebruik te maak van 'n standaard oognaald. Die oognaald is vooraf gesteriliseer en dan in steriele water gedoop. Die klam naald het elke keer ongeveer dieselfde spoormassa opgetel as daarmee aan die sporulerende kultuur geraak is. Die spore wat daaraan vassit, is dan as inokulum gebruik. Die kulture is in alle gevalle by 20 tot 22°C gebroei na inokulasie en is vir 12 uur uit elke 24 uur-periode belig. Daar is besluit om hierdie periode van beligting te gebruik aan die hand van ondervinding wat opgedoen is deur beligtingstudies wat gelyktydig met hierdie ondersoek uitgevoer is (sien later).

Vaste media: Die volgende agarmedia is geëvalueer:

- (i) Glukose-peptoon-agar (GPA) van Blakeman & Fraser (1971),
- (ii) Aartappel-dekstrose-agar (ADA) soos opgemaak deur Johnson et al (1960),
- (iii) Druiwesap-agarmedium (M20) met die volgende samestelling:

Agar	15 g
Druiwesap	100 ml
Kraanwater	900 ml
pH =	4,4

- (iv) Moutekstrak-agar (MA) soos gebruik deur Johnson et al (1960),
- (v) Czapek-Dox-agar (CD) soos aangegee deur Collins (1967).

Al hierdie media is na sterilisasie (10 min by 70 kPa) in Petri-bakkies of in 100 ml platflesse („medical flats“) geplaas. Die flesse is plat neergesit om sodoende plate te verkry.

Vloeibare media: Die volgende vloeibare media is getoets:

- (i) Aartappel-dekstrose-medium soos opgemaak deur Johnson et al (1960).
- (ii) Druiwesapmedium:

Druiwesap	1 000 ml
pH =	3,6

- (iii) Druiwesap-dekstrose media:

(a) Druiwesap	1 000 ml
Dekstrose	25 g
pH =	3,6

(b) Water	500 ml
Druiwesap	500 ml
Dekstrose	25 g
pH =	3,7

Hierdie media is na sterilisasie (10 min by 70 kPa) in 250 ml koniese flesses gestoor en wel in hoeveelhede van 100 ml.

Beligting:

Om die effek van beligting op groei en sporulasie na te gaan, is die volgende media gebruik:

- (i) ADA
- (ii) M20
- (iii) Druiwesap-agar medium (M40)

met die volgende samestelling:

Agar	15 g
Druiwesap	200 ml
Kraanwater	800 ml
pH	= 4,0

- (iv) Druiwesap agar medium (M10 + 4) met die volgende samestelling:

Agar	15 g
Druiwesap	50 ml
Dekstrose	4 g
Kraanwater	950 ml
pH	= 4,6

- (v) Druiwesap-dekstrose-agar (DDA) bevattende die volgende bestanddele:

Agar	20 g
Dekstrose	20 g
Druiwesap	200 ml
Kraanwater	800 ml
pH	= 5,0

Die agarkonsentrasie van hierdie medium is van 1,5% (m/v) na 2,0% (m/v) verhoog omdat die medium te sag was as die laer agarkonsentrasie gebruik is.

Die beligting van die kulture is as volg gevarieer: 12 uur beligting gedurende elke 24 uur-periode, geen beligting en onafgebroke beligting.

#### Dikte van medium:

Die dikte van die agarlaag in die Petri-bakkies en die platflesse is gevarieer deur verskillende hoeveelhede medium daarin te giet. Slegs ADA is in hierdie eksperiment gebruik. Tien ml en 25 ml is in die Petri-bakkies gegiet, terwyl 10 ml, 15 ml en 20 ml in die platflesse gegiet is. Die kulture is in hierdie geval ook vir 12 uur-periodes belig.

### TEGNIEKE WAARMEE SPOORKONSENTRASIES TYDENS

#### INOKULASIE-STUDIES BEPAAL KAN WORD

#### Die gebruik van 'n hemasitometer:

'n Hemasitometer met 'n diepte van 0,1 mm is gebruik. Nadat 'n druppel van die spoorsuspensie (konidia versamel m.b.v. 'n sikloon en in 0,1% Nonidet gesuspendeer) in die telkamer geplaas is, is 0 min, 5 min, 10 min en 15 min gewag voordat tellings gedoen is.

'n Variansie-analise volgens Snedecor & Cochran (1969) is op hierdie resultate uitgevoer om vas te stel of daar betekenisvolle verskille tussen die verskillende wagtye was.

### Die gebruik van 'n spektrofotometer of kolorimeter:

Die ligabsorpsie van 'n swaar ongestandaardiseerde spoorsuspensie (konidia ge-oes m.b.v. 'n sikloon en in 0,1% Nonidet gesuspendeer) is eers met 'n Unicam SP 1800-skandeerspektrofotometer tussen die golflengtes 200 nm en 700 nm gemeet om te bepaal of daar nie 'n absorpsiepiek voorkom nie. Die spesifieke spektrofotometer kon slegs tussen hierdie golflengtes gebruik word. Daarna is verdunnings vanaf  $\frac{1}{2}$  tot  $\frac{1}{8}$  gemaak en is die ligabsorpsie van hierdie verdunnings by 550 nm bepaal. Aangesien daar in die geskandeerde golflengtegebied geen absorpsiepiek was nie en 550 nm die middelpunt van die liniêre gedeelte van die absorpsiekurwe voorstel (kyk Figuur 1), is besluit om alle verdere lesings by hierdie golflengte te neem. 'n Spectronic 20-kolorimeter is ook gebruik om die ligabsorpsie van die verdunnings te meet. Dit is gedoen om die twee apparate met mekaar te vergelyk en sodoende hulle praktiese aanwending te evalueer. Die aantal spore in elke verdunning wat in hierdie studies berei is, is met 'n hemasitometer bepaal.

### DIE VERSPREIDING VAN SWAELDIOKSIED IN GESLOTE RUIMTES

Die metaalhouers, wat in hierdie proef gebruik is, het die volgende afmetings gehad: lengte, 56 cm; breedte, 30 cm; en hoogte, 45 cm.

Die houers het ses verwyderbare draadrakke, wat op 'n afstand van 6 cm vertikaal van mekaar af gespaseer was, bevat. Onder in die houers was 'n pan waarin water gegooi is om die relatiewe humiditeit hoog te hou.

Die verspreiding van swaeldioksied in die leë houers is as volg bepaal: Die pan van die houer is met water gevul. 'n Miniatuur plastiese waaier wat deur 'n flitsbattery aangedryf is, is met 'n rubber suigdoopie in die waterpan vas-



gesit. 'n Stuk chromatografiepapier is op die onderste rak van die houer geplaas. Die houer is in 'n poli-etileensak geplaas. Voordat die poli-etileensak verseël is, is 'n oplossing (20 ml) natriummetabisulfaat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) op die chromatografiepapier toegedien m.b.v. 'n pipet. Die waaier is aangestek en die poli-etileensak is verseël. Die konsentrasie swaeldioksied in die geslote houer by  $22^\circ\text{C}$  is kort-kort m.b.v. 'n Kitagawa-apparaat (Komyo Rikagaku Kogyo K.K., Tokio, Japan) bepaal. Die bepaling is drie maal met 'n 10% oplossing en drie maal met 'n 20% oplossing herhaal.

Die verspreiding van swaeldioksied is ook nagegaan in houters met net drie rakke en 300 druiwekorrels (100 per rak) in elke houer. Die houer is bedek met 'n klam kaasdoek voordat dit in die poli-etileensak verseël is. Die doel van die kaasdoek was om die persentasie relatiewe humiditeit in die houters tussen 95 en 100% te hou. Die humiditeit is in hierdie geval bepaal deur gebruik te maak van 'n Griffin-higrometer.

#### DIE VERBAND TUSSEN VERROTTING EN SPOORKONSENTRASIE

##### Vorbereiding van die druiwe:

Waltham Cross-druiwekorrels is losgesny van die trosse en eers met 2% (v/v) soutsuur vir 2 min behandel voordat dit vir 5 min met 70% (v/v) etielalkohol ontsmet is. Na ontsmetting is die korrels goed afgespoel met steriele water. Die soutsuurbehandeling is toegepas om die druiwedop te verswak en sodoende infeksie te vergemaklik.

##### Vorbereiding van die spoorsuspensie:

Veertien dae-oue konidia wat op ADA aangekweek is, is gebruik. Die konidia is met 'n sikloon ge-oes en in Tween 80-druiwesap gesuspendeer en vir 15 minute ge-

formeer, is gebruik (sien Snedecor & Cochran, Tabel A 16).

DIE TOEDIENING VAN SWAELDIOKSID OP VERSKILLENDE TYE  
NA INOKULASIE

Voorbereiding van die druiwe:

Waltham Cross-druiwekorrels is losgeknip van die trosse, behandel met 2% (v/v) soutsuur, ontsmet met 70% (v/v) alkohol en afgespoel met steriele water.

Voorbereiding van die spoorsuspensie gebruik:

Veertien dae-oue konidia is vanaf ADA-plate met die sikloon ge-oes, in Tween 80-druiwesap gesuspendeer, vir 15 minute geskud op die skudmasjien en met die hemasitometer getel. Die spoorsuspensie is, afhangende van hierdie telling, verdun totdat 'n teoretiese spoorkonsentrasie van 30 000 spore/ml bereik is wat 'n persentasie verrotting van ongeveer 40% lewer. Daar is op hierdie spoorkonsentrasie besluit aan die hand van gegewens wat verkry is toe die verband tussen spoorkonsentrasie en verrotting nagegaan is (sien vorige afdeling). 'n Druppel toluen is elke keer by 1 ml van die verdunde suspensie gevoeg en die werklike spoorkonsentrasie is later met 'n hemasitometer bepaal.

Inokulasie van die druiwekorrels:

Honderd ontsmette korrels is op elke rak geplaas en geïnokuleer met 5 ml van die spoorsuspensie deur gebruik te maak van die verstuiwer. Die kontrole-druiwe is met steriele water bespuit. Voordat die korrels kon afdroog, is die rakke in

die metaalhouters geplaas, drie rakke per houer. 'n Klam steriele kaasdoek is oor elke houer gevou en water is in die pan gegooi. 'n Vel chromatografiepapier is op die onderste rak van elke houer geplaas en die miniatuur plastiese waaier is op so 'n manier in elke pan geplaas dat die water in die pan nie die werking van die waaiertjie kon beïnvloed nie. Die houters is in poli-etieleensakke gesit en die sakke is verseël. Die sakke met houters is in die donker by 22°C gehou.

#### Die toediening van swaeldioksied:

Die geïnokuleerde druiwe is vir verskillende tye by 22°C gehou voordat swaeldioksied toegedien is. Die periodes wat verloop het vanaf inokulasie tot dat druiwekorrels met swaeldioksied behandel is, was die volgende: 1 uur, 3 uur, 6 uur, 12 uur en 20 uur.

Tien of twintig persent natriummetabisulfieloplossings is met 'n pipet op die chromatografiepapier toegedien, teen 'n volume van 20 ml per houer. Steriele water wat op dieselfde manier toegedien is, het as kontrole gedien. Die waaiers is in werking gestel, die poli-etieleensakke is weer verseël en die sakke plus die houters is teruggeplaas by 22°C.

Die persentasie verrotting is 48 uur na inokulasie bepaal deur die aantal verrotte korrels te tel. Die persentasie swaeldioksiedbeskadiging is terselfdertyd bepaal deur die aantal korrels te tel wat verbleiking getoon het. 'n Variansie analise is op die resultate uitgevoer nadat die syfers getransformeer is om vas te stel of daar betekenisvolle verskille tussen die behandelings voorgekom het.

## RESULTATE

### ENKELSPOORISOLASIES

Die enkelspoorisolate het na tien dae by 22<sup>o</sup>C begin sporuleer. Die meeste isolate het konidia net in 'n strook naby die rand van die medium in die Petri-bakkie gevorm. Sporulasie was meer uniform versprei oor die plate as die Petri-bakkies met die deksel na bo gebroei is. Na vier reekse isolasies het die isolate onder optimale omgewingstoestande altyd uniform oor die hele oppervlakte van die Petri-bakkie gesporuleer.

### VERSAMELING VAN KONIDIA

Die versameling van konidia deur filtrasie of filtrasie en sentrifugasie het tot gevolg gehad dat klein stukkies miselium en konidiofore in die spoorsuspensies voorgekom het. Konidia wat met die sikloon ge-oes is, het geen onsuiverhede bevat nie. Hierdie tegniek het ook baie minder tyd in beslag geneem en is deurgaans gebruik in die studies wat onderneem is.

### SPOORONTKIEMING

Tabel 1 toon die resultate wat verkry is toe 0,1% Nonidet, gedistilleerde water, 2% dekstrose en Tween 80-druiwesap met mekaar vergelyk is. Die Tween 80-druiwesap-oplossing was die beste suspenseermiddel en het by verre die hoogste persentasie spoorontkieming (95%) gegee.

Tabel 1: Die gemiddelde persentasie spoorontkieming van 14 dae-oue Botrytis-konidia in verskillende suspendeermiddels.

Suspendeermiddel	% Spoorontkieming na 12 uur <sup>a</sup>
0,1% Nonidet	40,0
2% dekstrose	46,0
Tween 80-druiwesap	95,0
Gedistilleerde H <sub>2</sub> O	70,0

<sup>a</sup> Gemiddelde van drie herhalings

Konidia ge-oes vanaf 'n verrotte druiwekorrel en konidia ge-oes vanaf 'n ADA-gietplaat, ontkiem byna ewe goed (100% in e.g. geval en 92% in lg. geval) in Tween 80-druiwesap. Daar is egter verskille wat betref die groottes van hierdie konidia. Dié wat vanaf 'n verrotte druiwekorrel verkry is, was 17 µm lank met 'n deursnee van 13 µm, terwyl konidia wat op ADA aangekweek is, 10 µm lank was met 'n deursnee van 7 µm.

#### OPBERGING VAN VOORRAADKULTURE

Die Botrytis-kulture wat op skuinsbuisse onder minerale olie bewaar is, het na drie maande en na ses maande se opberging by 0°C geen afname in groei en sporulasie getoon nie. Sub-kulture hiervan op ADA het net soos vars kulture gegroei en na agt tot tien dae konidia begin vorm. Die konidia was eweredig oor die hele oppervlakte van die Petri-bakkie versprei.

Die konidia wat by  $0^{\circ}\text{C}$  en  $-23^{\circ}\text{C}$  in proefbuise gehou is, het in 'n groot mate hulle kiemkrag na drie maande en ses maande van opberging behou. Tabel 2 toon die resultate aan wat met in vitro ontkiemingsproewe verkry is.

Tabel 2: Die gemiddelde persentasie spoorontkieming van konidia wat vir 3 maande en 6 maande by  $0^{\circ}\text{C}$  en  $-23^{\circ}\text{C}$  opgeberg is.

Metode en temperatuur tydens opberging	% spoorontkieming na 12 uur by $22^{\circ}\text{C}$	
	3 maande (in 0,1% Nonidet)	6 maande (in Tween 80-druiwesap)
$-23^{\circ}\text{C}$ (Water bygevoeg)	0,5	58
$-23^{\circ}\text{C}$ (Droog)	1,0	60
$0^{\circ}\text{C}$ (Droog)	0,5	65
14 dae-oue konidia	1,5	92

Na drie maande kon geen morfologiese verskille tussen die opgebergde konidia en 14 dae-oue konidia bemerk word nie. Na ses maande is beskadigde konidia opgemerk by dié waarby 'n klein hoeveelheid water gevoeg is. Ook is in hierdie geval minder-kiemkragtige konidia met redelike lang verrimpelde kiembuise gevind. Beide die konidia wat vir drie maande of ses maande opgeberg is, het stadig in die naelpolitoer-telkamers ontkiem, maar ADA-subkulture wat hiervan gemaak is, het net so goed gegroei en gesporuleer as dié wat vanaf 14 dae-oue konidia gemaak is.

TOESTANDE WAT OPTIMAAL IS VIR SPORULASIETemperatuur:

Die optimale temperatuurinterval vir die groei en sporulasie van B. cinerea was 20 tot 22<sup>o</sup>C.

Medium:

Vaste media: In vergelyking met ADA was die groei sowel as sporulasie op al die ander media wat getoets is, swak.

Tabel 3 gee die gemiddelde persentasie ontkieming van 400 spore op elke medium aan, terwyl Tabel 4 die gemiddelde kiembuislengtes van 20 kiembuise in elke geval aangee. Op druiwesap-agar (M20) het die konidia die vinnigste ontkiem. Na ses uur is reeds 100% ontkieming gevind. Septa is eerste gevorm op ADA, GPA en M20 terwyl sytakke eerste op GPA en MA gevorm is. Op ADA het die kiembuise deurgaans die vinnigste gegroei. Hoewel die konidia op M20 gouer 100% ontkieming gegee het, het die kiembuise op hierdie medium nie so vinnig verleng soos op ADA nie. Op CD was die persentasie spoorontkieming na 12 uur relatief laag (60,8%) en die kiembuise het op hierdie medium ook nie vinnig gegroei nie.

**Tabel 3:** Die gemiddelde persentasie ontkieming van 14 dae-oue Botrytis-konidia op verskillende media

Medium	% Ontkieming			
	3 uur	6 uur	9 uur	12 uur
Aartappel-dekstrose-agar (ADA)	82,00	92,00 <sup>a</sup>	100,00 <sup>b</sup>	100,00
Glukose-peptoon-agar (GPA)	27,00	90,00 <sup>a</sup>	97,70 <sup>b</sup>	100,00 <sup>c</sup>
Czapek-Dox-agar (CD)	0,25	3,00	38,80 <sup>a</sup>	60,80
Mout-agar (MA)	18,75	75,00	94,30 <sup>a</sup>	99,00 <sup>c</sup>
Druiwesap-agar (M20)	34,75	100,00 <sup>a</sup>	100,00 <sup>b</sup>	100,00

<sup>a</sup> Eerste septum gevorm

<sup>b</sup> Tweede septum gevorm

<sup>c</sup> Sytakke begin ontwikkel

Dit is opvallend dat hoewel die konidia op M20 baie gou ontkiem het, daar na 12 uur nog geen sytakke ontwikkel het nie. Op MA het die sytakke, daarenteen, binne 'n periode van drie uur gevorm (Tabel 3).

**Tabel 4:** Die gemiddelde kiembuislengtes van 14 dae-oue Botrytis-konidia wat op verskillende media ontkiem het

Medium <sup>a</sup>	Kiembuislengtes ( $\mu\text{m}$ )			
	3 uur	6 uur	9 uur	12 uur
ADA	10,53	31,32	79,79	123,27
GPA	5,40	19,80	40,07	69,66
CD	1,35	9,94	16,13	25,99
MA	6,21	15,43	40,22	95,92
M20	5,94	22,95	50,76	90,59

<sup>a</sup> Vir verklaring, kyk Tabel 3



Tabel 5 dui die kolonie-deursnee aan. Aan die begin van die waarnemings het die vinnigste groei op GPA plaasgevind. Vinniger groei is egter na drie dae op ADA gevind as dit met GPA vergelyk is. Hoewel die swam op CD na die eerste dag van groei die tweede grootste kolonie-deursnee gelewer het, was die kolonie-deursnee na sewe dae slegs 63,3 mm, in vergelyking met die 80 mm in die geval van die ander media. Die groei op CD het met verloop van tyd digter geword, maar die kolonie-deursnee het nie vinnig toegeneem nie. Op MA en M20 het die kolonie-deursnee vinnig toegeneem, maar die groei was yl.

Tabel 5: Die gemiddelde kolonie-deursnee van Botrytis-kulture wat op verskillende media aangekweek is

Medium <sup>a</sup>	Kolonie-deursnee (mm) <sup>b</sup>						
	1 dag	2 dae	3 dae	4 dae	5 dae	6 dae	7 dae
ADA	6,7	17,7	34,7	52,3	69,3	80,0	80,0
GPA	11,7	20,3	33,7	46,0	63,3	73,3	80,0
CD	7,0	8,0	16,7	22,3	35,3	46,0	63,3
MA	5,3	20,0	40,0	60,0	80,0	80,0	80,0
M20	5,0	24,0	42,3	62,7	78,3	80,0	80,0

<sup>a</sup> Vir verklaring, kyk Tabel 3

<sup>b</sup> Die metings is die gemiddelde van drie herhalings

Na sewe dae het die kulture op ADA begin sporuleer (Tabel 6). Teen die negende dag het die swam op al die media, behalwe GPA, sporulasie getoon. Na nege dae was die ADA-plate geheel en al met konidia oordek.

Tabel 6: Die gemiddelde persentasie sporulasie op verskillende media by 22°C

Medium <sup>a</sup>	% sporulasie			
	7 dae	8 dae	9 dae	10 dae
ADA	25,0	30,0	100,0	100,0
GPA	0	0	0	0
CD	0	0	10,0	30,0
MA	0	0	1,0	1,0
M20	0	1,0	1,0	1,0

<sup>a</sup> Vir verklaring, kyk Tabel 3

Vloeibare media: Die vloeibare media wat gebruik is, het in die meeste gevalle groei goed onderhou. Sporulasie is na sewe dae in hierdie media waargeneem. In die gevalle waar dekstrose en druiwesap saam gebruik is, het die kulture egter swak gesporuleer.

Beligting:

Botrytis cinerea het op die druiwesap-agarmedia met 'n beligting van 12 uur per dag, nie op al hierdie media tot dieselfde mate gegroei en gesporuleer nie. Na 14 dae is die volgende resultate verkry:

M20: Groei yl, minder as 5% van die oppervlakte van die Petri-bakkie oordek met konidia.

M40: Geil miseliumgroei; min konidia, hoofsaaklik in 'n strook op die rande van die medium in die Petri-bakkie.

M(10 + 4): So te sê geen lugmieselium; groei yl, geen konidia.

Die swam het na tien dae op ADA en DDA begin sporuleer onder 12 uur-periodes van beligting. Op die ADA is egter baie meer konidia gevorm as op die DDA.

Die kulture wat onafgebroke belig is, het na 14 dae die volgende getoon:

M20: Vegetatiewe groei en sclerotia; geen konidia.

M40: Geil groei van steriele miselium; geen konidia.

M(10 + 4): Min vegetatiewe groei; geen konidia.

Die kulture wat onafgebroke belig is, het op ADA en DDA ook min konidiumvorming getoon. Die kulture wat geen beligting ontvang het nie, het op geen een van die media wat gebruik is, konidia gevorm nie. Die kulture wat in 100 ml platflesse aangekweek is, het onder alle toestande van beligting min konidia of geen gevorm nie.

#### Dikte van medium:

In die platflesse is geen konidia deur die swam geproduseer nie. Slegs sclerotia en steriele miselium is gevorm ten spyte daarvan dat die hoeveelheid medium ge-

varieer is. In Petri-bakkies is baie sclerotia gevorm wanneer 10 ml medium gebruik is. Met 25 ml ADA is min sclerotia of geen gevorm nie, maar konidia is uniform oor die hele oppervlakte van die Petri-bakkie geproduseer.

TEGNIEKE WAARMEE SPOORKONSENTRASIES TYDENS  
INOKULASIE-STUDIES BEPAAL KON WORD

Tabel 7 toon die resultate wat verkry is nadat konidia met 'n hemasitometer getel is.

Tabel 7: Spoortellings verkry met 'n hemasitometer nadat die spoorsuspensies vir verskillende tye in die telkamer gelaat is

Tyd in telkamer gelaat	Spore per ml ( $\times 6400$ ) <sup>a</sup>			
	0 min	5 min	10 min	15 min
	84	298	437	451
	87	319	433	431
	76	268	464	395
	75	324	460	482

<sup>a</sup> Kleinste betekenisvolle verskil (KBV) = 24,51

F-waarde = 208,68\*\*

(P = 0,01)

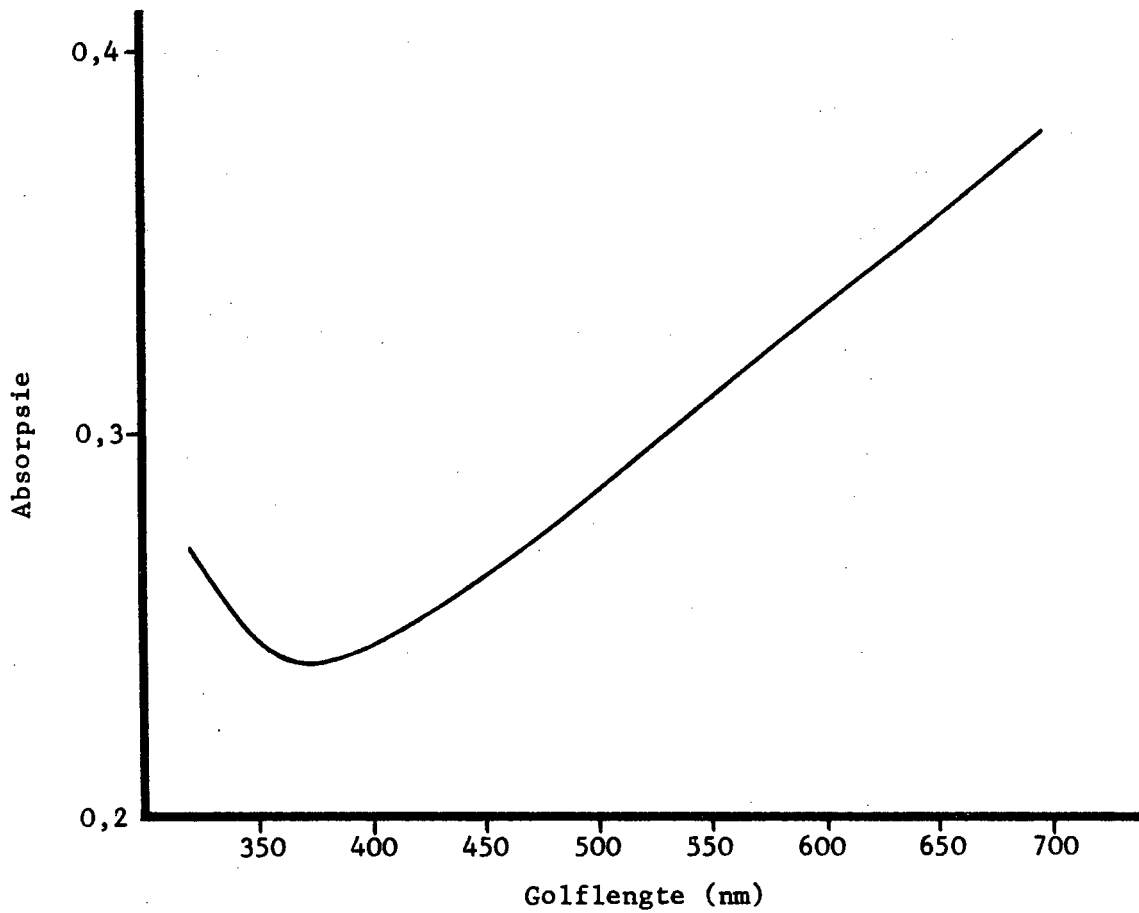
Volgens die KBV-waarde verskil die tellings by 10 min en 15 min betekenisvol van dié by 0 min en 5 min.

Figuur 1 toon die absorpsiekurwe wat in die sigbare gebied verkry is toe die absorpsie van 'n swaar spoorsuspensie met 'n skandeerspektrofotometer bepaal is. Dit is opvallend dat daar geen absorpsiepiek in die golflengte-interval tussen 400 tot 700 nm voorgekom het nie. In hierdie deel van die sigbare gebied het daar slegs 'n liniêre verwantskap tussen absorpsie en golflengte bestaan.

Toe die absorpsie van gestandaardiseerde spoorsuspensies by 550 nm (d.i. die middelpunt v.d. liniêre gedeelte van die kurwe) m.b.v. die spektrofotometer of kolorimeter bepaal is, is nie dieselfde absorpsie gevind nie (Tabel 8). Die spektrofotometerlesing was byna deurgaans ongeveer twee maal hoër as dié van die kolorimeter.

Tabel 8: Die absorpsie deur spoorsuspensies met bekende spoorkonsentrasies soos bepaal m.b.v. 'n kolorimeter en 'n spektrofotometer

Aantal spore per ml (x 6400)	Absorpsie	
	Kolorimeter	Spektrofotometer
1 928	0,575	1,265
964	0,285	0,645
482	0,145	0,333
241	0,073	0,168
124	0,033	0,087
62	0,018	0,042
36	0,009	0,02
20	0,005	0,007



**FIGUUR 1:** Die absorpsiekurwe van 'n ongestandaardiseerde spoorsuspensie in die sigbare gebied.

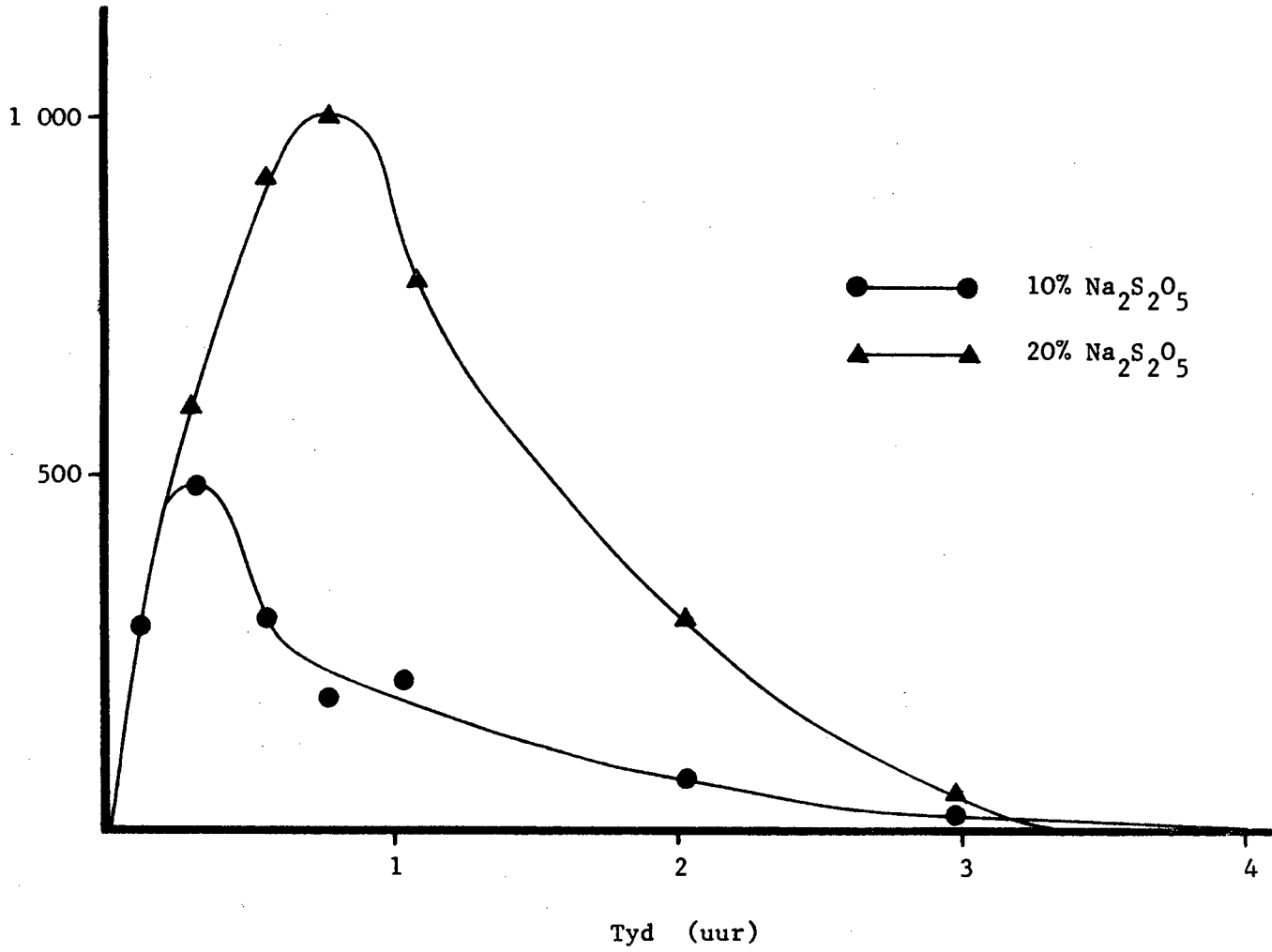
Die absorpsie wat met die lae sporkonsentrasies ( $20 \times 6400 = 128\ 000$  spore/ml en  $36 \times 6400 = 230\ 000$  spore/ml) verkry is, was te laag om akkuraat gelees te kan word. In die lig hiervan en omdat daar in die inokulasie-studies sporkonsentrasies van minder as  $100\ 000$  spore per ml gebruik is, het dit geblyk dat hemasitometertellings die mees praktiese metode vir die bepaling van sporkonsentrasies is.

#### DIE VERSPREIDING VAN SWAELDIOKSID IN GESLOTE RUIMTES

Figuur 2 toon die tempo (gemiddelde van drie herhalings) waarteen swaeldioksied uit 'n natriummetabisulfieloplossing in 'n leë houer vrygestel is. Hoewel die 20% oplossing ongeveer twee maal soveel swaeldioksied vrygestel het as die 10% oplossing, het die swaeldioksied in beide gevalle ewe vinnig verdwyn. Die konsentrasie swaeldioksied was heelwat laer in 'n houer wat druiwekorrels bevat het en met 'n klam kaasdoek oordek was (Figuur 3).

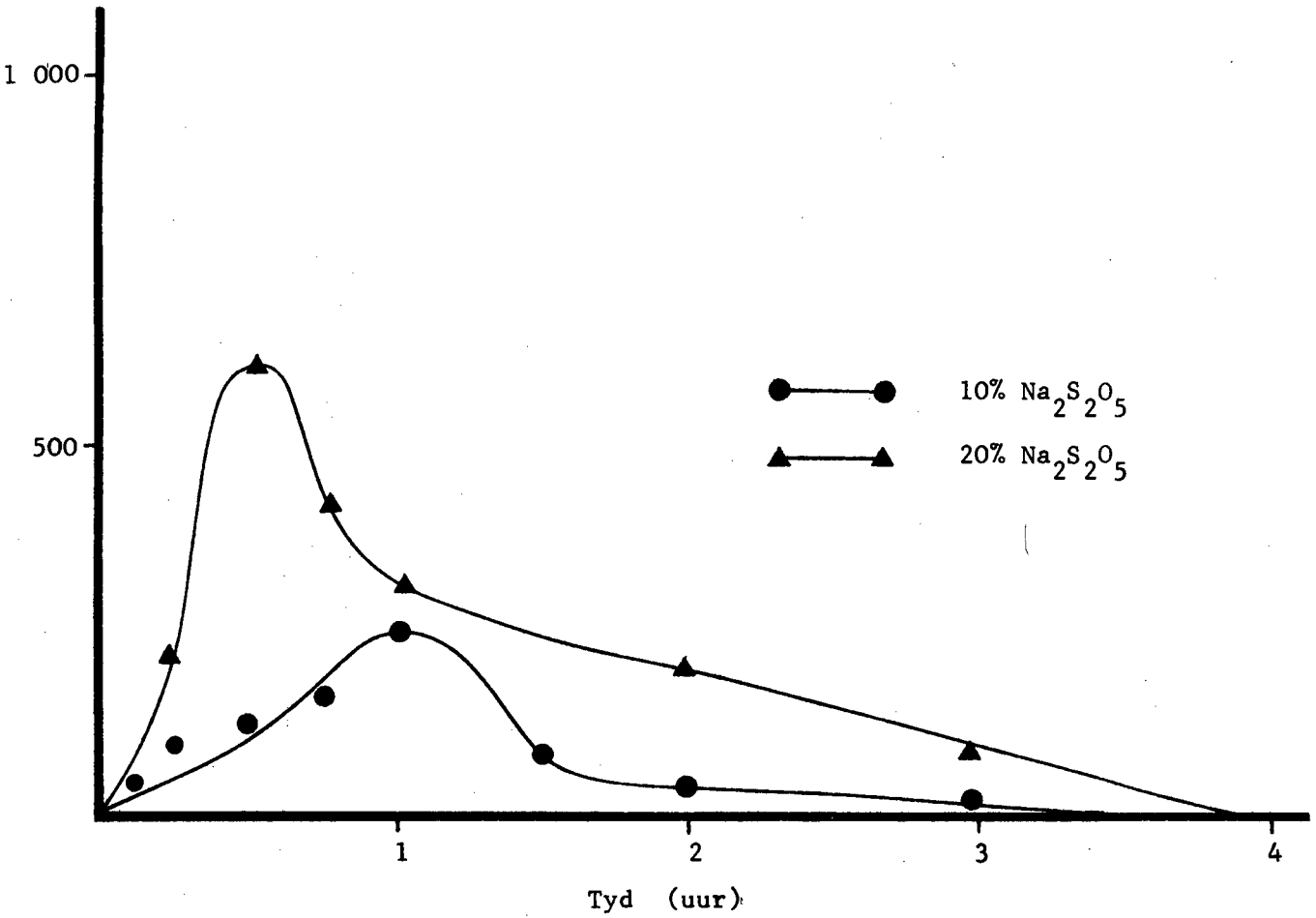
#### DIE VERBAND TUSSEN VERROTTING EN SPOORKONSENTRASIE

Tabel 9 toon die verrotting aan wat verkry is met spoorverdunnings wat teoreties meer as  $5\ 000$  spore per ml bevat het. Geen verrotting is verkry met spoorverdunnings wat teoreties minder as  $5\ 000$  spore per ml bevat het nie. In die gevalle waar wel verrotting gevind is, is geen diskrete letsels opgemerk nie.



**FIGUUR 2:** Die vrystellingstempo van SO<sub>2</sub> in 'n leë houer





**FIGUUR 3:** Die vrystellingstempo van  $\text{SO}_2$  in 'n houer met druiwekorrels en oordek met 'n klam kaasdoek.

Tabel 9: Die gemiddelde persentasie verrotting by Waltham Cross-druive, wat met verskillende spoorsuspensies geïnokuleer is, na 48 uur by 22°C

Spoorverdunding gebruik (Teoretiese aantal spore/ml)	Werklike spoorkonsentrasie <sup>a</sup> (spore/ml)	% verrotting <sup>b</sup>
5 000	6 000	31,3 (34,02)
10 000	11 000	32,7 (34,88)
15 000	16 000	41,0 (39,82)
20 000	32 000	39,0 (38,65)

<sup>a</sup> Bepaal d.m.v. 'n hemasitometer

<sup>b</sup> Getransformeerde waardes in hakies

Transformasie:  $\text{Hoek} = \text{boog Sin (Persentasie)}^{\frac{1}{2}}$ ; sien Snedecor & Cochran (1969), Tabel A 16

F-waarde = 0,24

(P = 0,05)

Die F-waarde wat verkry is, was nie betekenisvol op die 5% vlak nie. Daar het dus nie 'n duidelike verband tussen die spoorkonsentrasie en die persentasie verrotting bestaan nie.

#### DIE TOEDIENING VAN SWAELDIOKSID OP VERSKILLENDE

#### TYE NA INOKULASIE

Tabel 10 toon die resultate aan wat in hierdie eksperiment verkry is.

**Tabel 10:** Die persentasie verrotting gevind op geïnokuleerde druiwekorrels wanneer die natriummetabisulfitoplossings verskillende tye na inokulasie toegedien is.

Tydsduur tussen inokulasie en swaeldioksied- behandeling	% Verrotting <sup>b</sup>					
	Met spoorsuspensie gespuit			Met steriele water gespuit		
	Geen Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	10% Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	20% Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Geen Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	10% Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	20% Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
1 uur (90 000) <sup>a</sup>	4,67 (12,52)	0 (0)	0 (0)	0,33 (3,29)	0 (0)	0 (0)
3 uur (26 000) <sup>a</sup>	5,00 (12,92)	0 (0)	0 (0)	0,67 (4,69)	0 (0)	0 (0)
6 uur (70 000) <sup>a</sup>	10,00 (18,44)	0,33 (3,29)	1,00 (5,74)	0,67 (4,69)	1,00 (5,74)	1,00 (5,74)
12 uur (46 000) <sup>a</sup>	22,00 (27,97)	2,00 (8,13)	1,67 (7,49)	3,00 (9,98)	1,67 (7,49)	1,33 (6,55)
20 uur (58 000) <sup>a</sup>	4,00 (11,54)	4,67 (12,52)	4,00 (11,54)	1,67 (7,49)	1,00 (5,74)	1,00 (5,74)

<sup>a</sup> Die waardes in hakies dui die werklike aantal spore per ml wat in die inokula gebruik is, aan.

<sup>b</sup> Getransformeerde syfers in hakies (kyk Tabel 9)

$$\text{KBV (Tyd} \times \text{Verrotting} \times \text{SO}_2) = 1,00$$

$$\text{F-waarde} = 45,12^{**}$$

$$(P = 0,01)$$

Die persentasie verrotting by die kontroles wat met konidia bespuit is maar geen swaeldioksiedbehandeling ontvang het nie, was deurgaans laag behalwe dié na 12 uur. Die persentasie verrotting by die kontrole wat nie met konidia bespuit is nie, was soos verwag, ook laag. Dit is ook opvallend dat verrotting altyd voorgekom het as die natriummetabisulfieloplossings langer as drie uur na inokulasie toegedien is. Die swaeldioksiedbehandelings wat een uur en drie uur na inokulasie toegedien is, het die verrotting effektief beheer. Die konsentrasies van die natriummetabisulfiel wat gebruik is, het egter min effek op die doeltreffendheid van die middel gehad.

Die swaeldioksiedbeskadiging wat met 20% natriummetabisulfiel gevind is, het betekenisvol verskil van dié wat met 10% verkry is (Tabel 11).

Tabel 11: Die gemiddelde persentasie swaeldioksiedbeskadiging by Waltham Cross-druiwekorrels wat met 10% en 20% natriummetabisulfieloplossings behandel is

	Tydsduur <sup>a</sup>	% SO <sub>2</sub> -beskadiging <sup>b</sup>	
		10% Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	20% Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
Swaeldioksied-konsentrasie	1 uur	0,33 (3,29)	3,33 (10,47)
	3 uur	0,33 (3,29)	1,67 ( 7,49)
	6 uur	1,00 (5,74)	3,00 ( 8,98)
	12 uur	0,67 (4,69)	5,00 (12,92)
	20 uur	0 (0)	4,67 (12,52)

<sup>a</sup> Kyk Tabel 10

<sup>b</sup> Getransformeerde waardes in hakies (kyk Tabel 9)

KBV = 2,24

F-waarde = 27,96\*\*

P = (0,01)

## BESPREKING

### DIE EVALUERING VAN TEGNIEKE GEBRUIK VIR DIE BESTUDERING VAN BOTRYTIS CINEREA

#### Enkelspoorisolasies:

Die tegniek wat in hierdie studie gebruik is, het bevredigende resultate gelewer. Aanvanklike swak sporulasie (net om die rande van die Petri-bakkies) kan toegeskryf word aan sub-optimale groeitoestande eerder as aan die heterogeniteit van die Botrytis-kultuur, hoewel dit waarskynlik ook 'n rol gespeel het.

#### Die versameling van konidia:

Die metode om konidia in water te oes en die stukkies miselium af te filtreer, word algemeen gebruik (Couey & Bramlage, 1965; Buckley, Sjalom & Sommer, 1966). 'n Spoorsuspensie wat geheel en al vry van enige onsuierhede is, kon nie met hierdie tegniek berei word nie. 'n Suspensie wat slegs uit konidia bestaan het, moes egter gebruik word in hierdie studie. Tervet et al (1951) het 'n sikloon gebruik vir die versameling van roesspore. Die gebruik van dié tipe sikloon in hierdie ondersoek het die oes van Botrytis-konidia baie vergemaklik en ook bespoedig. Die spoorsuspensies wat met hierdie konidia berei is, het nie onsuierhede bevat nie.

#### Spoorontkieming:

Die telkamers wat met naelpolitoer gemaak is, kon met sukses gebruik word om spoorontkieming na te gaan. Tween 80-druiwesap was die beste suspendermiddel.

Die temperatuur waarby spoorontkiemingstoetse gedoen is en die suspendeermiddel wat gebruik is, was belangrik. Dit was nodig om die glasware, asook die water wat in die Petri-bakkies gebruik is om 'n hoër relatiewe humiditeit te handhaaf, by 22°C te hou voordat ontkiemingstoetse gedoen is. In water het die konidia ook betreklik goed ontkiem maar was nie goed versprei in die suspendeermiddel nie en daarom was dit nodig om 'n benattingsmiddel te gebruik. Die 0,1% Nonidet was geneig om baie te skuim en dit het lugblasies in die telkamers tot gevolg gehad, wat die resultate kon beïnvloed. Die spore naby die lugblasies het skynbaar 'n beter suurstofvoorsiening gehad as dié wat verder weg was van die lugblasies.

#### Die opberging van voorraadkulture:

Die geskikste metode om kulture te bewaar, was deur konidia wat droog geoes is by -23°C of 0°C op te berg. Rich (1971) het gevind dat konidia van Venturia inaequalis na een jaar by -10°C nog goed ontkiem. In hierdie studie is dit gevind dat die Botrytis-konidia wat opgeberg is, nie direk vir inokulasiedoelendes gebruik kon word nie, omdat hulle stadig ontkiem en ook beskadig mog wees. Sub-kulture het egter goed gesporuleer. Hierdie metode van opberging het die gebruik van steriele minerale olie uitgeskakel, wat 'n groot voordeel was. Die kleinere proefbuisies wat in dié geval gebruik is, het ook baie minder plek in beslag geneem as die skuinsbuisie. Die afwesigheid van enige voedselbron, het groei vir hierdie konidia onmoontlik gemaak en genetiese veranderinge kon dus ook nie plaasvind nie.

### Die bepaling van spoorkonsentrasies in 'n inokulum:

Die Botrytis-konidia wat gebruik is, was ongeveer 10  $\mu\text{m}$  lank met 'n deursnee van 7  $\mu\text{m}$ . Die hemasitometer wat gebruik is, was 100  $\mu\text{m}$  diep. Teoreties was dit dus moontlik vir 14 of 15 konidia om vertikaal op mekaar in die telkamer te kan lê. Dit was onmoontlik om al hierdie konidia gelyktydig onder 'n mikroskoop waar te neem omdat hulle op verskillende fokusvlakke gelê het. Die konidia sak egter mettertyd uit. Deur 10 min te wag nadat die spore in die telkamer geplaas is en dan tellings te maak, is hierdie probleem voorkom en kon alle spore getel word. Hoewel daar 'n verband tussen die ligabsorpsie van 'n spoorsuspensie en die spoorkonsentrasie bestaan (Tabel 8), kon hierdie metode nie gebruik word om spoorkonsentrasies te bepaal d.m.v. 'n kolorimeter of spektrofotometer nie. Slegs baie hoë konsentrasies spore gee lesings wat betroubaar is.

### SPORULASIE DEUR B. CINEREA EN FAKTORE WAT DIT BEÏNVLOED

Wat duidelik uit die resultate geblyk het, was dat 'n groeimedium nie op grond van 'n enkele aspek as die mees geskikte medium onder spesifieke toestande beskou kon word nie. Spoorontkieming, kiembuislengte, koloniegroei en sporulasie behoort dus as 'n „eenheid" geëvalueer te word wanneer die doeltreffendheid van sporulasie-media bepaal word. Die rede hiervoor is dat vinnige spoorontkieming op sommige media (mout-agar en druiwesap-agar-M20) plaasgevind het maar min konidia is op hierdie media gevorm. Dié media was waarskynlik te ryk aan voedingstowwe om sporulasie te stimuleer. Blakeman & Fraser (1971) het glukose-peptoon-agar as sporulasie-medium gebruik, maar hulle het ultravioletlig as 'n bron van beligting gebruik. Aartappel-dekstrose-agar was, as alle parameters in aanmerking geneem word, die mees geskikte medium. In

die geval van die vloeibare media het sporulasie redelik uniform op die oppervlakte plaasgevind, maar die gebruik van 'n sikloon om konidia mee te oes, het dit onmoontlik gemaak om vloeibare media te gebruik.

Die beligting wat 'n kultuur ontvang, beïnvloed sporulasie grootliks. Miller & Reid (1961) het gevind dat die sporulasie van Trichoderma lignorum deur witlig gestimuleer word. Nelson et al (1963) het met Botrytis-kulture die beste sporulasie in daglig gevind. Onder die eksperimentele toestande van hierdie studie, was daglig alleen egter nie genoeg om kulture te laat sporuleer nie. Kunsmatige beligting is gebruik en dit is ook gevind dat afwisselende lig- en donkerperiodes nodig was om konidiumvorming te induseer.

Dit is ook gevind dat die dikte van die laag van medium, d.w.s. die hoeveelheid medium wat in elke houer gebruik is 'n effek het. Die laag moet dik genoeg wees (ongeveer 6 mm). Dit was moontlik die rede waarom die kulture wat in platflesse aangekweek is, nie gesporuleer het nie.

#### VERROTTING DEUR B. CINEREA EN DIE VOORKOMING DAARVAN

##### MET SWAELDIOKSID

##### Die verspreiding van swaeldioksied in geslote ruimtes:

Die rede waarom die swaeldioksiedkonsentrasie laer was in 'n houer wat met 'n klam kaasdoek oordek was en druiwekorrels bevat het, as in 'n leë houer, was omdat daar van die swaeldioksied deur die kaasdoek en die druiwekorrels geabsorbeer is. Cant & Nelson (1957) het gevind dat swaeldioksied vinnig by hoë relatiewe humiditeite geabsorbeer word. Die relatiewe humiditeit waarby daar gewerk is in hierdie studie was tussen 95 en 100%. Die beginsel dat swael-



dioksied geabsorbeer word, het ook 'n toepassing in die praktyk: Gedurende langtermynopberging word 'n konstante swaeldioksiedkonsentrasie in 'n koelkamer gehandhaaf. Wanneer swaeldioksiedgas aan die begin van die opbergingsperiode in 'n koelkamer ingelaat word om hierdie konsentrasie te bereik, word aanvanklik 'n oormaat toegedien (Nelson & De Swardt, 1963). Hierdie oormaat word deur die verpakkingsmateriaal geabsorbeer. Op hierdie wyse kan die korrekte swaeldioksiedkonsentrasie tog vinnig bereik word.

Die swaeldioksiedkonsentrasie wat in die houers bereik is, was baie hoër as die 6 d.p.m. wat deur Nelson (1958) as voldoende beskou is. Teoreties kan laer swaeldioksiedkonsentrasies as dit wat vrygestel word deur die 20% natriummetabisulfaat, wat tans in die praktyk gebruik word, ook bevredigende resultate gee. Hierdie feit het ook uit die resultate wat met inokulasie-studies verkry is, geblyk (sien Tabela 10 en 11).

#### Die verband tussen verrotting en spoorkonsentrasie:

Wilson (1937) het tydens sy studie i.v.m. 'n siekte van boerbone (Vicia faba) wat deur B. cinerea veroorsaak word, diskrete letsels gevind nadat hy boontjieblare met Botrytis-konidia geïnokuleer het. Last & Hamley (1956) het dieselfde met B. fabae gevind. Nelson (1951a) het druiwe met B. cinerea geïnokuleer en kon duidelike letsels na 48 uur waarneem. Geen duidelike letsels is op die geïnokuleerde Waltham Cross-korrels wat in hierdie studie gebruik is, gevorm nie. Korrels kon slegs as verrot of nie verrot nie geklassifiseer word. 'n Moontlike verklaring is dat die spoorkonsentrasies wat gebruik is, te hoog was en die spore dus nie verspreid genoeg was om letsels te vorm nie. Die moontlikheid bestaan ook dat die soutsuurbehandeling die samestelling van die kutikula sodanig verander het dat letsels nie kon vorm nie.

In hierdie studie is konidia gesuspendeer in 'n suspendeermiddel wat druiwesap bevat het. Purkayastha & Deverall (1965) se bevindings was dat letsels op boerboontjies meer geredelik in die teenwoordigheid van voedingstowwe gevorm is. Daarenteen was Van der Berg & Yang (1969) van mening dat die teenwoordigheid van dekstrose die vorming van pektolitiese ensieme inhibeer. Die Tween 80-druiwesap-suspendeermiddel was egter die mees geskikte suspendeermiddel wat kon gebruik word.

Die effek van die swaeldioksiedtoediening verskillende tye na inokulasie:

Die persentasie verrotting wat by die kontroles wat met konidia bespuit is maar geen swaeldioksiedbehandeling ontvang het nie, gevind is, was deurgaans laag (Tabel 10) as dit vergelyk word met die verrotting verkry in die voorafgaande eksperiment (Tabel 9) wat drie weke vantevore uitgevoer is. Daar is verskeie moontlike verklarings hiervoor. Die druiwecultivar (Waltham Cross) mag moontlik 'n weerstand teen verrotting opbou hoewel dit verwag sou word dat behandeling met soutsuur hierdie weerstand sou afbreek. Verskillende besendings druiwe is in hierdie eksperimente gebruik. Van der Berg & Lentz (1968) het ook gevind dat geelwortels by 'n relatiewe humiditeit van 98% tot 100% minder verrot as by 'n laer relatiewe humiditeit. Nelson (1951b) het egter met druiwe gevind dat die persentasie verrotting toeneem soos die relatiewe humiditeit toeneem. Die hoë relatiewe humiditeit behoort dus nie 'n rol te gespeel het nie.

Die waarskynlikste verklaring is dat die kultuurlyn van B. cinerea wat gebruik is, die vermoë om pektolitiese ensieme te vorm verloor het a.g.v. herhaalde oorplanting. 'n Moontlike verklaring hiervoor is die volgende: In die natuur sal slegs die konidia wat sterk ensiemproduseerders is, voortbestaan, maar op

'n ADA-gietplaat is daar geen kompetisie nie en ook geen natuurlike seleksie nie. Kerne wat 'n stukkie kernmateriaal tydens seldeling verloor het, kan moontlik bly voortbestaan met 'n verlaagde patogenisiteit (prof. P.S. Knox-Davies, Univ. Stellenbosch - persoonlike mededeling). Die resultaat sal waarskynlik 'n kultuur wees met 'n lae patogenisiteit wat nie in staat sal wees om druiwekorrels te infekteer nie.

Die konidia van B. cinerea is kleiner as dié van B. fabae (Purkayastha & Deverall, 1965). Volgens Purkayastha & Deverall groei B. fabae vinniger en infekteer die swam boerbone makliker as B. cinerea. Dit wil dus voorkom asof konidiumgrootte ook 'n rol speel by infeksie. In hierdie studie is dit gevind dat die konidia van 'n Botrytis-kultuur wat vir 'n lang tyd op ADA in stand gehou is, kleiner is as Botrytis-konidia afkomstig van 'n verrotte druiwekorrel. Hierdie verskil in grootte kon ook 'n faktor gewees het wat bygedra het tot die lae infektiwiteit van die kultuur van B. cinerea wat gebruik is.

Nelson (1958) het gevind dat die hoogste infeksie ses tot 12 uur nadat druiwe met Botrytis-konidia geïnkuleer is, plaasvind. Dié bevinding is deur hierdie ondersoek gestaaf, ten spyte van die feit dat die persentasie verrotting verkry in die kontrole-behandelings (geen swaeldioksied) laag was. Dit is gevind dat indien swaeldioksied ses uur en langer na inokulasie toegedien is, verrotting nie effektief beheer kon word nie. Die verrotting wat gevind is by die druiwekorrels wat slegs met steriele water bespuit is (d.w.s. nie geïnkuleer is nie), ondersteun die bevinding van De Swardt (1962), dat swaeldioksied nie verrotting kan beheer indien infeksie reeds voor behandeling met swaeldioksied plaasgevind het nie. Dit is duidelik vanuit Tabel 10 dat alhoewel die korrels in hierdie geval nie geïnkuleer is nie, daar tog infeksie vooraf voorgekom het wat nie doeltreffend deur die swaeldioksiedbehandelings beheer is nie.

Die 10% natriummetabisulfieloplossing het minder swaeldioksiedbeskadiging tot gevolg gehad as die 20% oplossing, maar nogtans het dit verrotting effektief beheer (Tabel 11). Hierdie bevinding kan ook moontlik praktiese implikasies hê: Tans word 'n 20% oplossing van natriummetabisulfiel in die praktyk gebruik. Dit het voorgekom asof hierdie konsentrasie verlaag kan word na 10% sonder om die effektiwiteit van die na-oesbehandeling te verlaag. So 'n verlaging kan veroorsaak dat baie minder swaeldioksiedbeskadiging voorkom as wat tans die geval is.

In druiwe-pakhuis is dit dikwels nodig om druiwe wat in die middag ge-oes word, in 'n koelkamer te laat oorstaan en die volgende dag te verpak. Behandeling met swaeldioksied geskied dan meestal langer as 12 uur nadat die druiwe ge-oes is. In die lig van die resultate wat verkry is, kan so 'n praktyk skadelik wees. Druiwe behoort dus so gou as moontlik nadat hulle ge-oes is, verpak te word en met swaeldioksied behandel word. Sodoende word die Botrytis-konidia op die oppervlakte van korrels, gedood voordat hulle die korrels kan infekteer en verrotting tydens koelopberging kan veroorsaak.

OPSOMMING

- 1) 'n Studie is uitgevoer om sekere aspekte in die beheer van vaalvrot van tafeldruiwe, wat deur Botrytis cinerea veroorsaak word, na te gaan.
- 2) 'n Literatuuroorsig is gegee. Dit het koelopberging en na-oesverrotting van vrugte in die algemeen gedek, maar met spesifieke verwysing na die grysskimmel, B. cinerea, en vaalvrot van tafeldruiwe.
- 3) Enkelspoorisolasies is gedoen met 'n kultuur van B. cinerea wat vanuit 'n verrotte druiwekorrel geïsoleer is en kulture wat oorwegend konidia gevorm het, is sodoende verkry.
- 4) Verskeie tegnieke wat vir die versameling van konidia gebruik kon word, is geëvalueer. Die beste resultate is verkry deur gebruik te maak van 'n sikloon. Filtrasie-tegnieke was onbevredigend.
- 5) Spoorontkieming in verskillende suspendeermiddels is in 'n telkamer wat met naelpolitoer op 'n voorwerpglasie gemaak is, nagegaan. Dit is gevind dat Tween 80-druiwesap die beste suspendeermiddel was.
- 6) Botrytis-kulture is op ADA-skuinsbuisse aangekweek en bedek met steriele minerale olie. Hierdie skuinskulture is vir ses maande by 0°C opgeberg. Droë konidia is ook vir ses maande by 0°C en -23°C opgeberg. Die opberging van droë konidia het die geskikste metode blyk te wees.

- 7) Die toestande wat optimaal is vir die sporulasie van 'n Botrytis-kultuur is bepaal. Dit is gevind dat kulture die beste gesporuleer het in 'n Petri-bakkie wat 25 ml ADA bevat het en by 22<sup>o</sup>C gebroei is. Die kultuur moes ook 'n beligtingsperiode van 12 uur uit elke 24 uur vir optimale sporulasie ontvang het.
- 8) Spoorkonsentrasies is met 'n hemasitometer, spektrofotometer en kolorimeter bepaal. Die tegniek waarin 'n hemasitometer gebruik is, is die beste gevind. Dit is ook gevind dat dit nodig was om 10 min te wag nadat 'n spoor-suspensie in die telkamer geplaas is voordat tellings gedoen kon word sodat drywende konidia kon uitsak.
- 9) Die vrystelling van swaeldioksied in geslote ruimtes is nagegaan. Dit is gevind dat 'n 20% oplossing van natriummetabisulfaat ongeveer twee maal soveel swaeldioksied vrygestel het as 'n 10% oplossing. In houers wat druiwekorrels en 'n kaasdoek bevat het, is baie swaeldioksied geabsorbeer met die gevolg dat laer swaeldioksiedkonsentrasies daar gemeet is.
- 10) Die verband tussen verrotting en spoorkonsentrasie is ondersoek. Waltham Cross-druiwekorrels is geïnkuleer met gestandaardiseerde spoor-suspensies. Geen duidelike liniêre verband tussen verrotting en spoorkonsentrasie kon aangedui word nie.
- 11) Swaeldioksied is verder op verskillende tye nadat Waltham Cross-druiwekorrels met Botrytis-konidia geïnkuleer is, toegedien. Die persentasie verrotting is 48 uur na inokulasie bepaal. Dit is vasgestel dat indien swaeldioksied ses uur en langer na inokulasie toegedien is, dit verrotting nie effektief beheer het nie.

- 12) Die lae persentasie verrotting wat tydens hierdie inokulasie-studies in die kontrole-behandelings (d.w.s. geïnkuleer maar geen swaeldioksied-behandeling nie) verkry is, is veral toegeskryf aan die swak infeksie-vermoë van die Botrytis-konidia.
  
- 13) 'n Twintig persent natriummetabisulfieloplossing het betekenisvol meer swaeldioksiedbeskadiging tot gevolg gehad as 'n 10% oplossing, maar het nie verrotting meer effektief beheer nie.
  
- 14) Op grond van die resultate wat tydens die inokulasie-studies verkry is, is die aanbeveling gemaak dat druiwe nie oornag in 'n koelkamer gelaat moet word en dan verpak en met swaeldioksied behandel word nie.

LITERATUURLYS

(Afkortings volgens „World list of Scientific Periodicals“).

AINSWORTH, G.C., OYLER, ENID & READ, W.H., 1938.

Observations on the spotting of tomato fruits by Botrytis cinerea  
Pers. Ann. appl. Biol. 25, 308-321.

ALEXOPOULOS, C.J., 1962.

Introductory Mycology. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons.

AMERICAN PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY, 1943.

The slide-germination method of evaluating protectant fungicides.  
Phytopathology 33, 627-632.

BARASH, I., KLISIEWITZ, J.M. & KOSUGE, T., 1964.

Biochemical factors affecting pathogenicity of Botrytis cinerea on safflower.  
Phytopathology 54, 923-927.

BIALE, J.B., 1960.

Respiration of fruits. In Encyclopaedia of plant physiology. Vol. 12,  
part 2. ed. W. Ruhland. Berlin: Springer-Verlag.

BLACKMAN, V.H. & WELSFORD, E.J., 1916.

Studies in the physiology of parasitism. II. Infection by Botrytis  
cinerea. Ann. Bot. 30, 391-397.

BLAKEMAN, J.P., 1972.

Effect of plant age on inhibition of Botrytis cinerea species by bacteria  
on beetroot leaves. Physiol. Pl. Path. 2, 143-162.

BLAKEMAN, J.P. & FRASER, A.K., 1971.

Inhibition of Botrytis cinerea spores by bacteria on the surface of  
chrysanthemum leaves. Physiol. Pl. Path. 1, 45-54.



BOYES, W.W., BEYERS, E. & DE VILLIERS, D.J.R., 1935.

Preliminary experiments on the control of wastage of table grapes.  
Rep. low Temp. Res. Lab., Cape Tn, 1933.

BROWN, W., 1915.

Studies in the physiology of parasitism. I. The action of Botrytis cinerea. Ann. Bot. 29, 313-348.

BROWN, W., 1916.

Studies in the physiology of parasitism. III. On the relation between the infection drop and the underlying host tissue. Ann. Bot. 30, 399-406.

BROWN, W., 1922.

Studies in the physiology of parasitism. IX. The effect of the germination of fungal spores of volatile substances arising from plant tissues. Ann. Bot. Lond. 36, 285-300.

BUCKLEY, PATRICIA M., SJALOM, VIRGINIA E. & SOMMER, N.F., 1966.

Electron microscopy of Botrytis cinerea conidia. J. Bact. 91, 2037-2044.

CANT, R.R. & NELSON, K.E., 1957.

Factors affecting the concentration of the sulfur dioxide in fumigation atmospheres for table grapes. Proc. Am. Soc. hort. Sci. 69, 240-249.

CAPPELLINI, R.A., MATTHEE, F.N., DE SWARDT, G.H., BEEREBOOM, J. & GINSBURG, L., 1968.

Control of gray-mold of Barlinka grapes during storage and transit.  
Pl. Dis. Repr. 52, 479-482.

COLLINS, C.H., 1967.

Microbiological methods. 2nd ed. London: Butterworths.

COUEY, H.M. & BRAMLAGE, W.M., 1965.

Effect of spore population and age of infection on the response of Botrytis cinerea to gamma radiation. Phytopathology 55, 1013-1015.

COUEY, H.M. & UOTA, M., 1961.

Effect of concentration, exposure time, temperature and relative humidity on the toxicity of sulfur dioxide to the spores of Botrytis cinerea.  
Phytopathology 51, 815-819.

DARPOUX, H., 1960.

Biological interference with epidemics. In Plant pathology. An advanced treatise. Vol. III. ed. J.G. Horsfall & A.E. Dimond. London: Acad. Press.

DE SWARDT, G.H., 1962.

Die invloed van verskillende SO<sub>2</sub>-behandelings by die bewaring van tafeldruie. M.Sc. (Agric)-proefskrif, Univ. Stell.

DE SWARDT, G.H. & LOUW, A.I., 1968.

Faktore wat suksesvolle langtermynopberging van tafeldruie beïnvloed. Sagtevrugteboer 18, 23-26.

DEVERALL, B.J., 1967.

Biochemical changes in infection droplets containing spores of Botrytis -spp. incubated in the seed cavities of pods of bean (Vicia faba L).  
Ann. appl. Biol. 59, 375-387.

DOIDGE, F.M., BOTTOMLEY, A.M., VAN DER PLANK, J.E. & PAUER, G.D., 1953.

'n Hersiene lys van plantsiektes in Suid-Afrika. Dep. Landb., Wet. Pamf. 346.

DU PLESSIS, S.J., 1934.

Botrytis-rot of grapes and its control during 1933-1934. Fmg. S. Afr. 9, 439-442.

DU PLESSIS, S.J., 1936.

Studies on the wastage of export grapes. Un. S. Afr. Sci. Bull. 151.

DU PLESSIS, S.J., 1937a.

Bestryding van Botrytis-verrotting van druie. Boerd. S. Afr. 12, 36-37.

DU PLESSIS, S.J., 1937b.

Studies on the physiology and parasitism of Botrytis cinerea Pers. Ann. appl. Biol. 24, 733-745.

DU PLESSIS, S.J., 1947.

Wingerdsiektes in Suid-Afrika. Stellenbosch: Pro Ecclesia.

ECKERT, J.W., 1969.

Chemical treatments for control of post-harvest diseases. Wrlld Rev. Pest Control 8, 116-137.

FRAZIER, W.C., 1967.

Food microbiology. 2nd ed. London: McGraw-Hill.

GRATEL, W., 1970.

Über die Eigenschaften der Botrytis cinerea Pers. als Rebenparasit unter besonderer Berücksichtigung von Infektion und Inkubation. Weinberg Keller 17, 15-52.

GENTRY, J.P. & NELSON, K.E., 1968.

Further studies on control of decay of table grapes by two-stage generation of sulfur dioxide within unvented containers. Am. J. Enol. Vitic. 19, 70-81.

GINSBURG, L., 1960.

Activities and development of the P.P.E.C.B. Decid. Fruit Grow. 19, 92-94.

GINSBURG, L., 1965a.

Aanbevole opbergingsstemperature, persentasie relatiewe lugvogtigheid en opbergingslewenduur vir vrugte en groente. Sagtevrugteboer 15, 80-86.

GINSBURG, L., 1965b.

Die behandeling van tafeldruiwe na oes. Sagtevrugteboer 15, 192-199.

GINSBURG, L., 1970.

What is fruit quality? Decid. Fruit Grow. 20, 248-252.

GINSBURG, L., & COMBRINK, J.C., 1969.

Die rol van verkoeling in behoud van kwaliteit van Suid-Afrikaanse tafeldruie. *Sagtevrugteboer* 19, 155-159.

GINSBURG, L. & COMBRINK, J.C., 1972.

Die belangrikheid van voorverkoeling van tafeldruie. *Sagtevrugteboer* 22, 60-64.

GINSBURG, L. & DE SWARDT, G.H., 1962.

Langtermynopberging van druie in Suid-Afrika. *Sagtevrugteboer* 12, 295-299.

GINSBURG, L. & MATTHEE, F.N., 1963.

(i) Dibromotetrachloroethane (DBTCE) as a means for controlling fungal rot development in grapes held at 31<sup>o</sup>F for 3 weeks and one week at 50<sup>o</sup>F.

(ii) The use of DBTCE for the long term storage of grapes. XVI Ann. Conf. Packag., Handling, Transp. Decid. fruit, 1963.

GROVES, J.W. & LOVELAND, CONSTANCE, A., 1953.

The connection between Botryotinia fuckeliana and Botrytis cinerea. *Mycologia* 45, 415-425.

HANCOCK, J.G., MILLAR, R.L. & LORBEER, J.W., 1964.

Pectolitic and cellulolitic enzymes produced by Botrytis allii, B. cinerea and B. squamosum, in vitro and in vivo. *Phytopathology* 54, 928-931.

HANSEN, H.N., 1938.

The dual phenomenon in imperfect fungi. *Mycologia* 30, 442-455.

HANSEN, H.N. & SMITH, R.E., 1932.

The mechanism of variation in imperfect fungi: Botrytis cinerea. *Phytopathology* 22, 953-964.

HARVEY, J.M., 1955.

Decay in stored grapes reduced by field applications of fungicides. *Phytopathology* 45, 137-140.

HARVEY, J.M. & PENTZER, W.T., 1960.

Market diseases of grapes and other small fruits. U.S. Dep. Agric., Agric. Handb. 189. Washington: U.S. Gov. Print. Off.

HEYNS, A.J., 1967.

Brown rot of peaches. Decid. Fruit Grow. 17, 326-329.

HEYNS, A.J. & GINSBURG, L., 1967.

Rhizopus-verrotting by perskes. Sagtevrugteboer 17, 359-361.

HUBER, F.M. & GOTTLIEB, D., 1968.

The mechanism of action of griseofulvin. Can. J. Microbiol. 14, 111-118.

HUSAIN, A. & KELMAN, A., 1959.

Tissue is disintegrated. In Plant pathology. An advanced treatise. Vol. I. ed. J.G. Horsfall & A.E. Dimond. London: Acad. Press.

JOHNSON, L.F., CURL, E.A., BOND, J.H. & FRIBOURG, H.A., 1960.

Methods for studying soil microflora-plant disease relationships. 2nd ed. Minneapolis: Burgess Publ. Co.

KOSUGE, T. & HEWITT, W.B., 1964.

Exudates of grape berries and their effect on germination of conidia of Botrytis cinerea. Phytopathology 54, 167-172.

LAST, F.T. & HAMLEY, ROSEMARY E., 1956.

A local-lesion technique for measuring the infectivity of conidia of Botrytis fabae Sardina. Ann. appl. Biol. 44, 410-418.

LÖTTER, J. DE V., 1962.

Improved handling of fruit ensures better quality. Decid. Fruit Grow. 12, 59-65.

LUTZ, J.M. & HARDENBURG, T.E., 1968.

The commercial storage of fruits, vegetables and florist and nursery stocks. U.S. Dep. Agric., Agric. Handb. 66. Washington: U.S. Gov. Print. Off.

MATTHEE, F.N., 1962.

Die voorkoms van bederfveroorakende swamme by appels onder koelopbergings-toestande en faktore wat hulle binnedringingsvermoë beïnvloed. M.Sc.(Agric.)-proefskrif, Univ. Stell.

MATTHEE, F.N., 1968.

Blouskimmelvrot by kernvrugte. Sagtevrugteboer 18, 109-111.

MATTHEE, F.N. & GINSBURG, L., 1963.

Die verrottingsprobleem by die hantering van vrugte. Sagtevrugteboer 13, 69-74.

MATTHEE, F.N., HEYNS, A.J. & GINSBURG, L., 1969.

Vrugverrottings veroorsaak deur Botrytis cinerea. Sagtevrugteboer 19, 233-236.

MATTHEE, F.N. & MARAIS, P.G., 1962.

Preservering van voedsel met gammastrale. Sagtevrugteboer 12, 117-122.

McCALLAN, S.E.A. & WILCOXON, F., 1932.

The precision of spore germination tests. Contr. Boyce Thomson Inst. Pl. Res. 4, 233-243.

MILLER, J.J. & REID, J., 1961.

Stimulation by light of sporulation in Trichoderma lignorum (Tode) Harz. Can. J. Bot. 39, 259-262.

MULLER-THURGAU, H., 1888.

Die Edelfäule der Trauben. Landw. Jbr 17, 83-160.

NELSON, K.E., 1951a.

Factors influencing the infection of table grapes by Botrytis cinerea (Pers.). Phytopathology 41, 319-326.

NELSON, K.E., 1951b.

Effect of humidity on infection of table grapes by Botrytis cinerea. Phytopathology 41, 859-864.

NELSON, K.E., 1956.

The effect of Botrytis infection on the tissue of Tokay grapes.  
Phytopathology 46, 223-229.

NELSON, K.E., 1958.

Some studies of the action of sulfur dioxide in the control of Botrytis rot of Tokay grapes. Proc. Am. Soc. hort. Sci. 71, 183-189.

NELSON, K.E. & AMERINE, M.A., 1957a.

Further studies on the production of natural sweet table wines from botrytised grapes. Am. J. Enol. 8, 127-134.

NELSON, K.E. & AMERINE, M.A., 1957b.

The use of Botrytis cinerea Pers. in the production of sweet table wines. Hilgardia 26, 521-563.

NELSON, K.E. & DE SWARDT, G.H., 1963.

Factors affecting the dosage of sulphur dioxide received by grapes during gas fumigation. S. Afr. J. agric. Sci. 6, 239-248.

NELSON, K.E. & GENTRY, J.P., 1966.

Two-stage generation of sulfur dioxide within closed containers to control decay of table grapes. Am. J. Enol. Vitic. 17, 290-301.

NELSON, K.E., KOSUGE, T. & NIGHTINGALE, ALICE, 1963.

Large-scale production of spores to botrytise grapes for commercial natural sweet wine production. Am. J. Enol. Vitic. 14, 118-128.

PAUL, W.R.C., 1929.

A comparative morphological and physiological study of a number of strains of Botrytis cinerea Pers. with special reference to their virulence. Trans. Br. mycol. Soc. 14, 118-135.

PENTZER, W.T., ASBURY, C.E. & HAMNER, K.C., 1932.

Effects of fumigation of different varieties of vinifera grapes with sulfur dioxide gas. Proc. Am. Soc. hort. Sci. 29, 339-344.

PIERSON, C.F., CEPONIS, M.J. & McCOLLOCH, L.P. 1971.

Market diseases of apples, pears and quinces. U.S. Dep. Agric., Agric. Handb. 376. Washington: U.S. Gov. Print. Off.

PURKAYASTHA, R.P. & DEVERALL, B.J., 1965.

The growth of Botrytis fabae and B. cinerea into leaves of bean (Vicia faba. L). Ann. appl. Biol. 56, 139-147.

PUTTERILL, V.A., 1923.

Plant diseases in the Western Cape Province. J. Dep. Agric. Un. S. Afr. 7, 332-336.

RAMSEY, G.B. & WIANT, J.S., 1941.

Market diseases of fruits and vegetables: Asparagus, onions, beans, peas, carrots, celery and related vegetables. U.S. Dep. Agric., Misc. Pub. 440. Washington: U.S. Gov. Print. Off.

RATTRAY, J.M., 1936a.

The relation between the maturity of the grape and Botrytis infection. Rep. low Temp. Res. Lab., Cape Tn, 1934-35.

RATTRAY, J.M., 1936b.

The use of iodised wrappers as a means of controlling Botrytis wastage. Rep. low Temp. Res. Lab. Cape Tn, 1934-35.

REYNEKE, J. & DU PLESSIS, S.J., 1943.

Behandeling van tafeldruiwe vir die binnelandse marke. Boerd. S. Afr. 18, 443-445.

REYNEKE, J. & PIAGET, J.E.H., 1952.

Gebruik van bisulfiete vir behandeling van vars druiwe teen bederf. Boerd. S. Afr. 27, 477-479.

RICH, A.E., 1971.

A simple method for maintaining Venturia inaequalis inoculum. Pl. Dis. Reprtr 55, 976.



ROPER, J.A., 1966.

Mechanisms of inheritance. In The Fungi. Vol. II. ed. G.C. Ainsworth & A.S. Sussman. New York: Acad. Press.

ROSE, D.H., BROOKS, C., BRATLEY, C.O. & WINSTON, J.R., 1955.

Market diseases of fruits and vegetables: Citrus and other subtropical fruits. U.S. Dep. Agric., Misc. Pub. 498. Washington: U.S. Gov. Print. Off.

RUBIN, B.A. & AKSENOVA, V.A., 1964.

Effect of the toxin of Botrytis cinerea and its poly-saccharide fraction on oxidative phosphorylation in cabbage tissues. Fiziologiya Rast. 11, 59-63. (Biol. Abstr. 46, 13 201).

RYALL, A.L. & HARVEY, J.M., 1959.

The cold storage of vinifera table grapes. U.S. Dep. Agric., Agric. Handb. 159. Washington: U.S. Gov. Print. Off.

SCHONBECK, F. & SCHROEDER, C., 1972.

Role of antimicrobial substances (tuliposides) in tulips attacked by Botrytis-spp. Physiol. Pl. Path. 2, 91-99.

SMITH, G., 1960.

An introduction to industrial mycology. 5th ed. London: Edward Arnold.

SMITH, W.L., 1962.

Chemical treatments to reduce postharvest spoilage of fruits and vegetables. Bot. Rev. 28, 411-445.

SMITH, W.L., BASSETT, R.D., PARSONS, C.S. & ANDERSON, R.E., 1964.

Reduction of postharvest decay of peaches and nectarines with heat treatments. U.S. Dep. Agric., Market Res. Rep. 643. Washington: U.S. Gov. Print. Off.

SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G., 1969.

Statistical methods. 6th ed. Ames: Iowa State Univ. Press.

SOMMER, N.F. & FORTLAGE, R.J., 1966.

Ionizing radiation for control of postharvest diseases of fruit and vegetables. *Adv. Fd Res.* 15, 147-193.

SPALDING, D.H., VAUGHT, H.C., DAY, R.H. & BROWN, G.A., 1969.

Control of blue mold rot development in apples treated with heated and unheated fungicides. *Pl. Dis. Reprtr* 53, 738-742.

STELLWAAG-KITTLER, F., 1969.

Möglichkeiten der Botrytis - bekämpfung an Trauben unter Berücksichtigung der epidemiologischen Grundlagen. *Weinberg Keller* 16, 109-134.

TERVET, I.W., RAWSON, A.J., CHERRY, E. & SAXON, R.B., 1951.

A method for the collection of microscopic particles. *Phytopathology* 41, 282-285.

TRIBE, H.T., 1955.

Studies in the physiology of parasitism. XIX. On the killing of plant cells by enzymes from Botrytis cinerea and Bacterium aroideae. *Ann. Bot. N.S.* 19, 351-368.

VAN DEN BERG, L. & LENTZ, C.P., 1968.

The effect of relative humidity and temperature on survival and growth of Botrytis cinerea and Sclerotinia sclerotiorum. *Can. J. Bot.* 46, 1477-1481.

VAN DEN BERG, L. & YANG, S.M., 1969.

Effect of relative humidity on production of extracellular pectolytic enzymes by Botrytis cinerea and Sclerotinia sclerotiorum. *Can. J. Bot.* 47, 1007-1010.

VAN DER PLANK, J.E., 1939.

A device for the regulated release of sulphur dioxide in packages of stored table grapes. *Rep. low Temp. Res. Lab., Cape Tn*, 1937-38.

WASTIE, R.L., 1962.

Mechanism of action of an infective dose of Botrytis spores on bean leaves. *Trans. Br. mycol. Soc.* 45, 465-473.

WEIMER, J.L. & HARTER, J.C., 1923a.

Temperature relations of eleven species of Rhizopus. J. agric. Res. 24, 1-40.

WEIMER, J.L. & HARTER, J.L., 1923b.

Hydrogen-ion changes induced by species of Rhizopus and Botrytis cinerea. J. agric. Res. 25, 155-164.

WILSON, A.R., 1937.

The chocolate spot disease of beans (Vicia faba. L.) caused by Botrytis cinerea Pers. Ann. appl. Biol. 24, 258-288.

WINKLER, A.J. & JACOB, H.E., 1925.

The utilization of sulfur dioxide in the marketing of grapes. Hilgardia 1, 107-131.

WOOD, R.K.S., 1951.

The control of diseases of lettuce by the use of antagonistic organisms.  
I. The control of Botrytis cinerea. Ann. appl. Biol. 38, 203-230.