

# De invloed van ethyleen op zuur in tulp

Effect van ethyleen direct na de oogst op zuur  
Toediening van FreshStart na het rooien op het veld  
Ontsmetting met ozon tegen latent zuur

Martin van Dam, Marjan de Boer, Henk Gude

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.  
Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit  
PPO rapport nr. 32 360971 00 / PT nr. 13762  
Oktober 2010

© 2010 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO)

Alle intellectuele eigendomsrechten en auteursrechten op de inhoud van dit document behoren uitsluitend toe aan de Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO). Elke openbaarmaking, reproductie, verspreiding en/of ongeoorloofd gebruik van de informatie beschreven in dit document is niet toegestaan zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van DLO.

Voor nadere informatie gelieve contact op te nemen met: DLO in het bijzonder onderzoeksinstituut Praktijkonderzoek Plant & Omgeving / Plant Research International, Business unit bomen bollen & fruit.

DLO is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Gefinancierd door:



Projectnummer PPO: 32 360971 00  
PT: 13762

Het in de proeven gebruikte FreshStart werd ter beschikking gesteld door Floralife®



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

Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit

Adres : Prof. Van Slogterenweg 2, Lisse

: Postbus 85, 2160 AB Lisse

Tel. : 0252 - 462121

Fax : 0252 - 462100

E-mail : [infobollen.ppo@wur.nl](mailto:infobollen.ppo@wur.nl)

Internet : [www.ppo.wur.nl](http://www.ppo.wur.nl)

# Inhoudsopgave

pagina

## Inhoud

1	SAMENVATTING.....	5
2	HET EFFECT VAN ETHYLEEN DIRECT NA ROOIEN OP DE ZURGEVOELIGHEID VAN TULPEN .....	7
2.1	Inleiding .....	7
2.2	Materiaal en methode.....	7
2.2.1	Retentie van zuurgevoeligheid.....	7
2.2.2	Invloed van de ethyleenconcentratie op de toename van zuurgevoeligheid.....	8
2.2.3	Waarnemingen.....	8
2.3	Resultaat.....	9
2.3.1	Retentie van zuurgevoeligheid.....	9
2.3.2	Ethyleenconcentratie.....	10
2.4	Discussie .....	11
2.5	Conclusies .....	11
3	EFFECTIVITEIT VAN EEN TOEPASSING MET FRESHSTART DIRECT NA HET ROOIEN OP HET VELD.....	13
3.1	Inleiding .....	13
3.2	Materiaal en methode.....	13
3.3	Resultaat.....	13
3.4	Discussie .....	14
3.5	Conclusie .....	14
4	ONTSMETTING MET OZON IN BEWAARCELLEN TEGEN LATENT ZUUR .....	15
4.1	Inleiding .....	15
4.2	Materiaal en methode.....	15
4.3	Resultaat.....	16
4.4	Discussie .....	17
4.5	Conclusie .....	17



# 1 Samenvatting

Uit onderzoek bij PPO in voorgaande jaren is bleek ethyleen de belangrijkste factor te zijn bij het ontstaan van hoge zuurpercentages. Dit heeft geleid tot onderzoek naar de invloed van ethyleen kort na het rooitijdstip. De aanwezigheid van zure bollen in een partij tulpen en de stressreactie van de bol op het rooien kunnen in de praktijk leiden tot ethyleenconcentraties van soms wel 1000 ppb gedurende de eerste 1 à 1½ week na het rooien. Als tulpen daaraan worden blootgesteld en ze vervolgens onder omstandigheden worden gebracht waarbij kieming van Fusariumsporen kan optreden, gaan veel bollen verloren door deze ziekte.

Het effect van ethyleen op zuurgevoeligheid werd eerder aangetoond voor ethyleenconcentraties van 1000 ppb en hoger. Dat onderzoek werd in het rooiseizoen van 2009 nog eens herhaald, dit keer ook met lagere ethyleenconcentraties (300 ppb). Hoewel het nivo van de zuurpercentages lager lag dan in voorgaande jaren werden veel conclusies bevestigd. De verhoogde zuurgevoeligheid door ethyleen hield in eerder onderzoek aan tot 17 dagen na de blootstelling van de bollen. Het nieuwe onderzoek was uitgebreid tot 4,5 week. Er was ook toen nog steeds sprake van dit ethyleeneffect. Daarnaast bleek er ook bij blootstelling aan 300 ppb ethyleen een zuurbevorderende reactie te zijn.

Door het toedienen van FreshStart (een ethyleenremmer) kon de uitbreiding van zuur in voorgaand onderzoek deels worden voorkomen. Ook dat feit werd in de huidige proeven weer aangetoond. De toediening van FreshStart kan helpen bij het voorkomen van hoge zuurpercentages. Het is daarbij van belang dat dit middel wordt toegepast voordat de tulpen met ethyleen in contact komen. In een praktijkproef werd nagegaan of de toepassing van FreshStart al op het veld kan plaatsvinden en of het middel bij toediening in minder dan 12 uur ook effectief kan werken. Bij een geslaagde toepassingsmethode kan dan worden nagedacht over hoe dit praktisch valt toe te passen in de logistiek rond het rooien. FreshStart werd direct na het rooien op het veld toegediend waarbij de bollen in kratten zaten die in plastic waren ingepakt. De behandeling werd 1, 4 en 12 uur gegeven, waarna de bollen werden blootgesteld aan ethyleen. In de betreffende partij tulpen bleek echter al een hoog percentage zuur aanwezig te zijn op het moment van rooien. Uit de resultaten kon geen effect van FreshStart worden waargenomen doordat het middel in feite al te laat werd toegediend.

In het zuuronderzoek bij PPO in 2009 werd nog een derde proef uitgevoerd. Hierbij werd de ontsmettende werking van ozon tegen latent zuur op tulpen onderzocht. Ozon kan in de bewaarcel worden gegeneerd en heeft als voordeel dat de bollen droog in een ruimtebehandeling kunnen worden behandeld. In eerder onderzoek was van ozon een positief effect gezien. In die proeven werd toen 23% zuur gevonden in bollen die door ethyleen gevoelig waren gemaakt. Door de ontsmetting met ozon werd dat percentage niet hoger dan 8,5%. Dit resultaat kon echter in de proef van 2009 niet opnieuw worden aangetoond, omdat in de gebruikte bollen in dat proefjaar maar maximaal 1,3 % zuur ontstond.

De proeven in 2009 waren afwijkend van andere jaren door de zeer lage zuurpercentages. In andere jaren kon het zuur oplopen tot 60 à 80%. Met name in de behandelingen waarbij ethyleen werd gebruikt liep het percentage vaak hoog op. In 2009 was ook in de praktijk sprake van veel minder zuur dan andere jaren. Men was onder meer van mening dat het groeiseizoen voor tulp dat jaar veel rustiger en gelijkmatiger verliep dan normaal. De gedachte was dat de bol hierdoor rustiger kon afrijpen en daardoor een betere weerstand tegen zuurinfectie kreeg. Ook kan de strenge winter 2008/2009 er toe hebben bijgedragen dat de sporendruk in de grond afnam of dat de schimmelsporen minder agressief konden infecteren, zowel in de grond als in de bewaring.

De lage zuurpercentages in de proeven waren oorzaak van het feit dat verschillen in de resultaten soms wegvielen tegen de spreiding daarvan. Desondanks kon voldoende bevestiging worden gevonden in een aantal eerder gevonden resultaten. Dit leidt tot de conclusies:

- Ethyleen na het rooien is verantwoordelijk voor een verhoogde kans op hoge zuurpercentages.
- De gevoeligheid van de bollen voor zuur wordt al bevorderd bij 300 ppb ethyleen.

- Dit effect blijft doorwerken in de bol tot 4,5 week na het rooien.
- Met FreshStart kan de toename van zuurgevoeligheid deels kan worden voorkomen, mits het tijdig wordt toegepast.

## 2 Het effect van ethyleen direct na rooien op de zuurgevoeligheid van tulpen

### 2.1 Inleiding

Dit onderzoek is een voortzetting van het onderzoek beschreven in het rapport "Voorkómen en bestrijden van latent zuur in tulp", (Van Dam e.a. 2009). Hierin werd geconcludeerd dat tulpenbollen verhoogde gevoeligheid voor aantasting door zuur vertonen, als gevolg van blootstelling aan ethyleen kort na de oogst. Deze verhoogde gevoeligheid was 17 dagen na de eerste blootstelling aan ethyleen nog steeds aanwezig. In dit vervolgonderzoek is getoetst of dit na-effect van ethyleen (de retentie) ook langer dan 2,5 week aanhoudt. Tevens is een proef opgezet om te zien of de ethyleenconcentratie hierbij een rol speelt.

### 2.2 Materiaal en methode

Dit onderzoek werd uitgevoerd in de vorm van 2 proeven. In de eerste proef werd onderzocht of de zuurgevoeligheid toeneemt door blootstelling aan ethyleen en of deze toegenomen gevoeligheid 2,5 en 4,5 week na het rooien nog merkbaar is. In de tweede proef werd nagegaan of de hoogte van de ethyleenconcentratie waaraan de bollen worden blootgesteld van invloed is op de toename van zuurgevoeligheid. In hoeverre zijn ethyleenconcentraties die in de praktijk worden aangetroffen verantwoordelijk voor het ontstaan van hoge zuurpercentages?

#### 2.2.1 Retentie van zuurgevoeligheid

Voor deze proef werden bollen van de cultivar Golden Parade geroid op 17 juni 2009 en direct daarna behandeld op 1 van de 3 onderstaande wijzen:

1. FreshStart + ethyleen: Dit deel werd eerst met FreshStart behandeld (0,2 ppm gedurende 8 uur) en daarna blootgesteld aan ethyleen (10.000 ppb, gedurende 24 uur).
2. Alleen ethyleen: Dit deel werd 8 uur bij 20°C bewaard en daarna behandeld met ethyleen (24 uur bij 10.000 ppb)
3. Controle: Dit deel werd alleen bij 20°C bewaard, zonder FreshStart of ethyleen

Vervolgens werden de bollen van deze behandelingen gepeld en besmet na 1 week of na 2,5 week of na 4,5 week. Het besmetten gebeurde door middel van een dompeling gedurende 15 minuten in een sporensuspensie met 100.000 sporen per ml van *Fusarium oxysporum f.sp. tulipae*. De bollen werden vervolgens 24 uur zonder luchtverversing opgeslagen (geïncubeerd) en daarna weer in een normaal geventileerde tulpencel bij 20°C bewaard. Op deze wijze ontstaan latente infecties.

De gehele bovenstaande proef werd herhaald met bollen die 1 week later (23 juni 2009) werden geoogst. In het schema in tabel 1 staan de behandelingen schematisch weergegeven.

De proef werd uitgevoerd in eenheden van 100 clusters en in 3 herhalingen. Na bewaring tot begin oktober werden de bollen beoordeeld op aantasting door zuur.

Tabel 1. Behandelschema van de proef "ethyleen direct na het rooien"

Nr	rooidatum	wel/geen FreshStart (FS)	wel/geen ethyleen 10.000 ppb	pellen, besmetten en incuberen na ..
1	17 juni	geen FS	geen ethyleen	1 week
2	17 juni	geen FS	wel ethyleen	1 week
3	17 juni	wel FS	wel ethyleen	1 week
4	17 juni	geen FS	geen ethyleen	2,5 week
5	17 juni	geen FS	wel ethyleen	2,5 week
6	17 juni	wel FS	wel ethyleen	2,5 week
7	17 juni	geen FS	geen ethyleen	4,5 week
8	17 juni	geen FS	wel ethyleen	4,5 week
9	17 juni	wel FS	wel ethyleen	4,5 week
10	23 juni	geen FS	geen ethyleen	1 week
11	23 juni	geen FS	wel ethyleen	1 week
12	23 juni	wel FS	wel ethyleen	1 week
13	23 juni	geen FS	geen ethyleen	2,5 week
14	23 juni	geen FS	wel ethyleen	2,5 week
15	23 juni	wel FS	wel ethyleen	2,5 week
16	23 juni	geen FS	geen ethyleen	4,5 week
17	23 juni	geen FS	wel ethyleen	4,5 week
18	23 juni	wel FS	wel ethyleen	4,5 week
19	17 juni	geen FS	geen ethyleen	ongepelde controle
20	23 juni	geen FS	geen ethyleen	ongepelde controle

### 2.2.2 Invloed van de ethyleenconcentratie op de toename van zuurgevoeligheid

Voor dit onderzoek werden bollen van de cultivar Golden Parade gerooid op 17 juni 2009 en binnen een dag blootgesteld aan ethyleen bij een concentratie van 300, 1000 of 10.000 ppb gedurende 24 uur. De helft van deze bollen werd daarvoor eerst behandeld met FreshStart (8 uur). Alle bollen werden vervolgens na 2,5 week gepeld en besmet door dompeling (15 minuten) in een sporensuspensie met 100.000 sporen van *Fusarium oxysporum f.sp. tulipae* per ml. De bollen werden vervolgens 24 uur zonder luchtverversing opgeslagen (geïncubeerd) en daarna weer in een normaal geventileerde tulpencil bij 20°C bewaard. Het bijbehorende behandelschema staat in tabel 2.

Tabel 2. Behandelschema ethyleen in verschillende concentraties na de oogst

Nr	rooidatum	wel/geen FreshStart (FS)	ethyleen concentratie (ppb)	pellen, besmetten en incuberen na ..
21	17 juni	geen FS	300	2,5 week
22	17 juni	geen FS	1000	2,5 week
23	17 juni	geen FS	10.000	2,5 week
24	17 juni	wel FS	300	2,5 week
25	17 juni	wel FS	1000	2,5 week
26	17 juni	wel FS	10.000	2,5 week

### 2.2.3 Waarnemingen

De bewaring van de bollen uit beide proeven werd tot eind september aangehouden, waarna de bollen gedurende 5 dagen in een vochtige cel (>98% RV) werden bewaard om latent zuur op te wekken. Hierna werd het zuurpercentage per behandelingseenheid bollen vastgesteld.

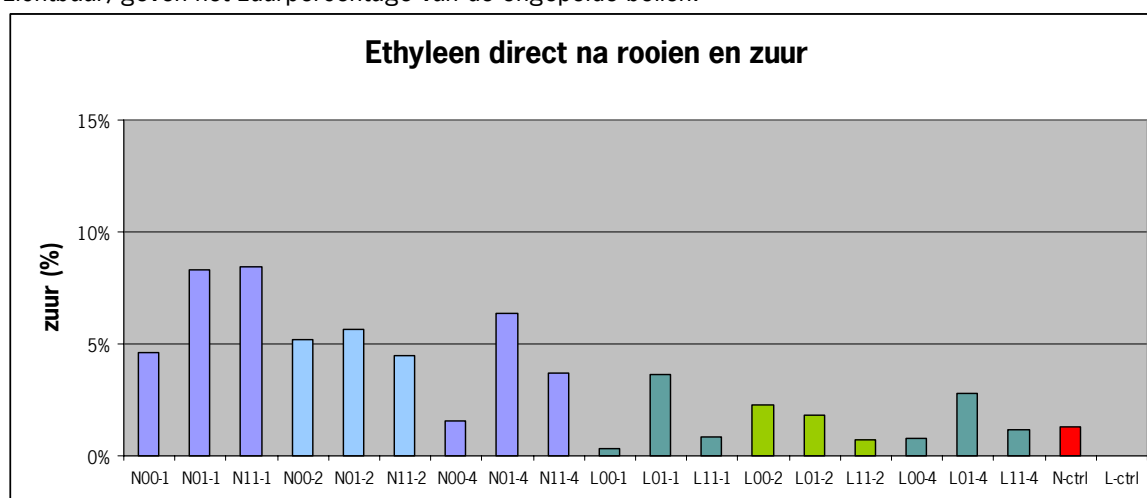


## 2.3 Resultaat

### 2.3.1 Retentie van zuurgevoeligheid

In figuur 1 staat een grafisch overzicht van de gevonden zuurpercentages in de proef. In de tabel daaronder (tabel 3) worden enkele percentages met resultaten van de statistische analyse weergegeven.

Figuur 1. Resultaat van de waargenomen zuurpercentages, gegroepeerd per 3 behandelingen met gelijke pel-en besmettingsdatum. De eerste drie groepen geven de uitslagen van de normaal gerooiden bollen (blauw), de volgende 3 groepen (groen) horen bij de laat gerooiden bollen. De laatste twee (rood, slechts 1 zichtbaar) geven het zuurpercentage van de ongepelde bollen.



De codering bij de uitslagen in de figuur:

N: N of L (normaal of laat gerooid)

00: 1<sup>e</sup> cijfer nul staat voor geen FreshStart, 1 = wel, 0 = geen FreshStart

2<sup>e</sup> cijfer nul staat voor geen ethyleen, 1 = wel, 0 = geen ethyleen

-1: Pellen, besmetten + incuberen: 1 = na 1 week, 2 = na 2,5 week; 4 = na 4,5 week.

Ctrl Controle ongepeld en onbesmet

Per groepje van 3 grafiekpaaltjes in figuur 1 staat het tweede paaltje steeds voor een behandeling met ethyleen, zonder FreshStart. Ten opzichte van het eerste paaltje (behandeling zonder ethyleen) was hierbij een toename van zuur te zien bij 4 van de 6 groepjes namelijk de 1<sup>e</sup>, 3<sup>e</sup>, 4<sup>e</sup> en de 6<sup>e</sup>. Dit betekent dat er ethyleeneffect is gezien 1 week en 4 ½ week na ethyleentoediening.

Het derde paaltje van elk groepje staat voor een behandeling met FreshStart, gevolgd door ethyleen. Hierbij werd ten opzichte van het tweede paaltje (alleen ethyleen) een afname van zuur gezien bij het 3<sup>e</sup>, 4<sup>e</sup>, 5<sup>e</sup>, en 6<sup>e</sup> groepje. Met FreshStart werd in een aantal gevallen erger zuur voorkomen.

Tabel 3. Gemiddeld zuurpercentage van vroeg en laat gerooiden bollen van een aantal behandelingen. L.s.d. is het kleinste verschil dat er moet zijn voor een betrouwbaar verschil. Gelijke letters duiden op gelijke uitslagen.

Rooidatum	percentage zuur
normaal	5,4% b
laat	1,6% a
l.s.d.	1,2%

Behandeling	percentage zuur
controle	2,5% a
ethyleen	4,8% b
FS+ethyleen	3,2% a
l.s.d.	1,4%

Gemiddeld werd er in deze proef een percentage zuur aangetroffen van 3,5%. De normaal gerooiden bollen (tabel 3) vertoonden een hogere zuuraantasting (5,4%) dan de laat gerooiden bollen (1,6%).

De behandelingen met ethyleen hadden gemiddeld een hoger zuurpercentage dan de controle. Het zuurper-

centage bij de combinatie FreshStart+ethyleen was statistisch gelijk aan de controle zonder ethyleen.

Tabel 4. Zuurpercentage per rooidatum en op verschillende peltijdstippen. Uitslagen met dezelfde letter zijn niet significant verschillend van elkaar.

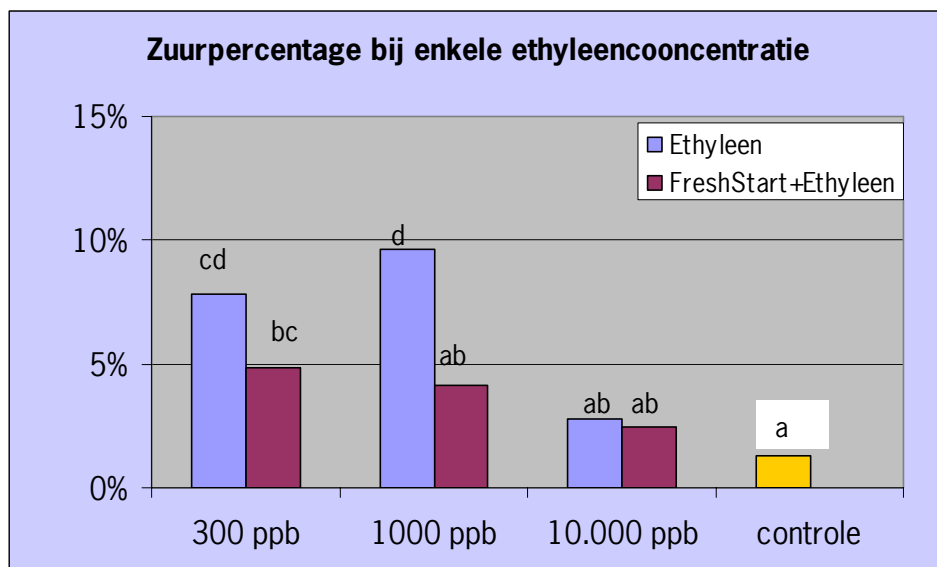
Pellen + besmetten na:	rooidatum	Percentage zuur	
1 week	normaal	7.1%	c
2,5 week	normaal	5.1%	bc
4,5 week	normaal	3.9%	b
1 week	laat	1.6%	a
2,5 week	laat	1.6%	a
4,5 week	laat	1.6%	a
l.s.d.		1,4%	

Bij de op het normale tijdstip gerooide bollen bleek meer zuur te zijn ontstaan als er eerder werd gepeld+besmet. Na 1 week pellen leverde 7,1% zuur op (tabel 4), na 4,5 week pellen+ besmetten 3,9%. Bij de laat gerooide bollen was het zuurpercentage steeds 1,6%. Hier was geen verschil als gevolg van het tijdstip van pellen en besmetten.

### 2.3.2 Ethyleenconcentratie

In dit proefdeel werd een gemiddeld gehalte zuur aangetroffen van 4,7%. Een zuurverhogend effect van ethyleen (zonder FreshStart) werd gezien bij 300 en 1000 ppb ethyleen (fig 2). Bij de hoogste dosering (10.000 ppb) werd echter geen toename van zuur ten opzichte van de controle geconstateerd. Bij de met 300 en 1000 ppb ethyleen behandelde tulpen waaraan vooraf FreshStart was toegediend werd een toename van zuur voorkomen. Bij 300 ppb zonder FreshStart werd 7,8% zuur gevonden. Door voorbehandeling met FreshStart bleef dit percentage staan op 4,8%. Na blootstelling aan 1000 ppb ethyleen ontstond 9,6% zuur. Dit percentage kwam door de FreshStart-behandeling niet hoger dan 4,2%. In de figuur staan boven de kolommen letters die aangeven of er sprake is van significant verschil (uitslagen met gelijke letters zijn niet statistisch verschillend van elkaar). Hieruit blijkt dat alleen de resultaten van het zuurpercentage bij de ethyleendosering van 1000 ppb een betrouwbaar verschil gaven. Toch laat ook de uitslag bij 300 ppb zien dat er aanleiding is om aan te nemen dat door ethyleen het zuurpercentage toeneemt en dat FreshStart dit (deels) voorkomt.

Figuur 2. Zuurpercentages in tulpen bij verschillende kort na de oogst toegepaste ethyleenconcentraties, al dan niet voorafgegaan door een behandeling met FreshStart.



## 2.4 Discussie

In de in dit onderzoek uitgevoerde proeven ontstond minder zuur dan wat in eerder onderzoek is waargenomen. In het voorgaande onderzoek (van Dam e.a., 2009) werden zuurpercentages gevonden die varieerden (afhankelijk van de behandeling) van 2 tot 55%. In de jaren daarvoor waren zelfs zuurgehaltes tot 80% waargenomen. Deze hoge waarden zijn daarbij steeds het gevolg geweest van ethyleenblootstelling. Het zuurpercentage kan door ethyleen verdubbelen tot verviervoudigen. Door toediening van FreshStart kon deze verhoging met tientallen procenten worden verminderd.

Door de zeer lage percentages in dit proefjaar kunnen verschillen als gevolg van de behandeling wegvallen in de spreiding die van nature in dit soort resultaten aanwezig is. Ook uitbijters, zoals het onverwacht lage zuurpercentage door 10.000 ppb ethyleen, zouden hierdoor verklaard kunnen worden.

In 2009 was er in de praktijk ook sprake van een sterk verminderde zuuraantasting. De oorzaak daarvan is niet bekend en kan zowel in de bol (weerstand) als bij de schimmel (virulentie) worden gezocht. Discussie in de praktijk leverde als mogelijke reden op dat de groeiomstandigheden (temperatuur en neerslag) in 2009 weinig extremen kende zodat een rustige groei en afsterving van de bollen kon plaatsvinden. Ook kan de strenge winter van 2008- 2009 eraan hebben bijgedragen dat de sporendruk in de grond afnam of dat de schimmelsporen minder agressief konden infecteren, zowel in de grond als na het rooien.

De resultaten van het eerste proefdeel laten een toename van zuur door ethyleentoediening zien, zij het in bescheiden mate. Ook is er in een aantal gevallen sprake van het uitblijven van die toename door de vooraf toegediende FreshStart. In combinatie met het vergelijkbare onderzoek uit het voorgaande project blijkt vroege toediening van FreshStart effectief tegen het verhogen van zuurgevoeligheid door ethyleen.

Het effect van ethyleen op zuur was in dit proefjaar ook na 4,5 week nog aanwezig. Het effect is dan iets afgenomen ten opzichte van de bollen die waren gepeld en besmet na 1 en 2,5 week.

Gezien de resultaten uit voorgaande jaren lijkt het, wat de ethyleenconcentraties betreft, aannemelijk dat het lage zuurpercentage bij 10.000 ppb ethyleendosering een uitzondering is. Dat er wel effect is bij 1000 en 300 ppb geeft aan dat de schadedrempel voor dit effect nog onder 300 ppb ligt. Deze aanwijzing is van belang, omdat in de praktijk geregeld hogere ethyleenwaarden dan 300 ppb worden aangetroffen. Ook bij dit proefonderdeel werd het positieve effect van FreshStart ondervonden. Met dit middel kan erger zuur dus worden voorkomen.

## 2.5 Conclusies

- Ethyleen na het rooien verhoogt bij tulpen de kans op aantasting door zuur.
- De ondergrens voor dit effect ligt onder 300 ppb (gedurende 24 uur).
- De verhoogde gevoeligheid voor zuuraantasting is na 4,5 week nog aanwezig.
- Met FreshStart kan de toename van zuur deels worden voorkomen, mits het tijdig wordt toegepast.



## 3 Effectiviteit van een toepassing met FreshStart direct na het rooien op het veld

### 3.1 Inleiding

In het voorgaande hoofdstuk werd de relatie tussen ethyleen en het toenemen van de zuurgevoeligheid van tulpen bevestigd. Door FreshStart te geven kon die toename deels voorkomen worden. Een vraag uit de praktijk die daarbij rijst is: hoe pas je FreshStart zo vroeg mogelijk na de oogst toe? Het antwoord op deze vraag moet in ieder geval een praktisch toepasbare zijn. In dit onderzoek werd onderzocht of een korte begassing met FreshStart in plastic zakken direct na de oogst effectief is.

### 3.2 Materiaal en methode

In de praktijk werd een partij tulpen 'Dynasty' geroid op 18 juni en nog op het veld direct behandeld met FreshStart. De behandeling werd uitgevoerd in leliekratten (lengte x breedte x diepte: 60 x 40 x 23 cm) die met plastic werden omhuld, waarbij een blootstellingduur werd gehanteerd van 1 uur, 4 uur en 12 uur. De lucht werd in beweging gehouden met een ventilator (unit op batterij die mee werd ingepakt). De bollen werden naar de bedrijfsruimte van PPO gebracht en daar aan ethyleen blootgesteld gedurende 24 uur bij 10 ppm. De kisten die 1 en 4 uur FreshStart hadden gehad werden direct aansluitend aan de 4 uur FreshStart-behandeling met ethyleen behandeld. De bollen die 12 uur met FreshStart werden behandeld, kregen 15 uur later een ethyleenbehandeling. Alle bollen werden na de behandelingen opgeslagen in een normaal geventileerde bewaarcel bij 20°C.

Na 5 dagen droog bewaren werden de bollen gepeld, besmet met Fusariumsporen en 24 uur zonder ventilatie bewaard (methode om latent zuur te maken). Daarna werden de bollen weer in de droge bewaring bij 20°C geplaatst. Twee maanden later, op 25 augustus, werden de bollen beoordeeld op het percentage zuur.

De proef werd uitgevoerd in eenheden van 1 leliekrat per behandeling (ca. 44 liter bollen). Er waren geen herhalingen. Ter controle werden 3 kisten niet met FreshStart behandeld. Twee daarvan werden met ethyleen behandeld en daarvan werd 1 kist ook besmet met Fusariumsporen. In tabel 5 staat naast de resultaten ook het schema van de proefopzet.

NB. In de partij waren al aangetaste zure bollen aanwezig op het moment van rooien. Bij een steekproef meting in een ongeventileerde palletkist ca. 2 uur na het rooien werd al een ethyleenconcentratie van meer dan 1 ppm gemeten.

### 3.3 Resultaat

Tabel 5. Schema van de proefopzet en de bijbehorende zuurpercentages.

Naam	FreshStart	Ethyleen	Besmetting	percentage zuur
controle-1	nee	nee	nee	7%
controle-2	nee	ja	nee	9%
controle-3	nee	ja	ja	32%
FreshStart 1 uur	ja, 1 uur	ja	ja	32%
FreshStart 4 uur	ja, 4 uur	ja	ja	23%
FreshStart 12 uur	ja, 12 uur	ja	ja	35%

In de proef werd een zuurgehalte tussen 7 en 35% aangetroffen. Van de controles hadden de twee niet

(extra) besmette kratten een laag percentage zuur (7 en 9%). De derde krat was wel extra besmet. Deze bevatte 32% zure bollen. Ethyleentoediening na het rooien veroorzaakte geen extra toename van zuur. Controle-2 was met ethyleen behandeld maar kreeg niet mee zuur dan controle-1.

Van de kratten met bollen met FreshStart-behandeling (1, 4 en 12 uur) was het zuurpercentage gemiddeld net zo hoog als de controle met ethyleen maar zonder FreshStart. De FreshStart-behandeling heeft deze toename niet kunnen voorkomen.

### 3.4 Discussie

De zuurpercentages in deze proef zijn in deze proef voornamelijk afhankelijk van het feit of de bollen na het pellen besmet werden of niet. Bollen die besmet waren kregen zuur in hogere percentages dan bollen die niet waren besmet. Ethyleentoediening na het rooien veroorzaakte geen extra toename van zuur, terwijl dit effect in voorgaande jaren altijd erg duidelijk aanwezig was. Controle-2 was met ethyleen behandeld maar kreeg niet mee zuur dan controle-1.

Er is in de proef geen effect van de FreshStart-behandeling waargenomen. FreshStart werkt doordat het werkzame molecuul zich hecht aan de ethyleenreceptoren in de bol. Als de receptoren echter al bezet zijn door ethyleenmoleculen kan dit proces niet plaatsvinden.

Doordat de partij al zure bollen bevatte in de grond, waren de bollen vòòr en kort na het rooien al blootgesteld aan ethyleen. De waarneming dat er in het hart van de palletkisten een ethyleengehalte werd gemeten van boven 1 ppm bevestigde nog eens. In zo'n situatie kan een FreshStart behandeling na het rooien uitbreiding van zuur niet meer voorkomen.

### 3.5 Conclusie

Door aanwezigheid van zuur op het moment van rooien kunnen voor de uitgevoerde proef geen conclusies worden getrokken voor de werking van FreshStart bij vroege toediening. Een tijdige toepassing van FreshStart is essentieel voor een goede werking. In dit geval was de toediening, ondanks het vroege moment, toch te laat.

Foto 1. FreshStartbehandeling in een met plastic ingepakte krat tulpen direct na het rooien.



## 4 Ontsmetting met ozon in bewaarcellen tegen latent zuur

### 4.1 Inleiding

Latente infecties van zuur in tulp kunnen niet bestreden worden met ontsmettingsmiddelen of fungiciden. Eén verklaring daarvoor is de volgende: na de initiële infectie in de bol gaat de gekiemde schimmel in rust in de vorm van een verdikt mycelium of als spore. Deze schimmelstadia zijn beter bestand tegen fungiciden dan normaal mycelium of kiemende sporen. Bovendien zitten deze schimmelstadia al in de bol en zijn zo minder bereikbaar voor fungiciden. Een andere verklaring is dat latent zuur niet kan worden bestreden doordat de schimmel in de huidmondjes binnendringt als de waspropjes verdwenen zijn. De schimmel wordt onbereikbaar voor fungiciden als zich daarna weer waspropjes hebben gevormd in de huidmondjes. Onder bepaalde omstandigheden (ethyleen, laag zuurstof of hoog CO<sub>2</sub>-gehalte) kan de wasprop tijdelijk verdwijnen. Fusarium dringt dan de bol binnen via een huidmondje. Onder droge omstandigheden kan de schimmel in zijn latente vorm overgaan en deze wordt vervolgens afgedekt door de zich herstellende waspropjes. Hierdoor kunnen middelen de schimmel niet bereiken.

Er is op basis van deze theorie onderzoek gedaan naar de bestrijding van die ingekapselde latenten infecties (van Dam e.a. 2009). Met behulp van CO<sub>2</sub> of ethyleen werden de waspropjes verwijderd en werd een droge ontsmetting toegepast. De gekozen middelen waren ozon (gas), chloordioxide (gas) en Jet-5 (nevel). In de eerste van twee pogingen werd gezien dat de middelen een effect hadden. Er was in de proef 23% zuur, gestimuleerd door de ethyleentoediening. Bij de behandelingen waarbij ook was ontsmet werd dat percentage maar half zo hoog (9 tot 11%). Dit resultaat kon in de tweede poging niet opnieuw worden aangetoond. Om zekerheid te krijgen over het resultaat van het eerste jaar werd besloten de proef één jaar te herhalen. Hierin werd alleen met ozon gewerkt.

Ozon zou in de praktijk kunnen worden toegepast op het moment dat tulpen onbedoeld aan ethyleen zijn blootgesteld. De ervaring is dat door ethyleenblootstelling tulpen gevoeliger worden voor zuuraantasting en dat het opwekken van latent zuur door ethyleen wordt gestimuleerd. In de praktijk is ethyleen vaak aanwezig bij tulpen. Onder andere is dat het geval in de eerste dagen na het rooien, door de aanwezigheid van (ethyleenproducerende) zure bollen. Ook treedt ethyleenophoping op als de ventilatie van de bewaarcel tijdelijk wordt gestopt vanwege een ruimtebehandeling met Actellic. Als bollen aan ethyleen zijn blootgesteld kan een ontsmetting met ozon erger zuur voorkomen. Met dit onderzoek gaan we na of er grond is voor een dergelijke toepassing.

### 4.2 Materiaal en methode

De bollen werden vooraf latent zuur gemaakt door ze te pellen, te besmetten en vochtig, ongeventileerd te bewaren gedurende 24 uur. Na enkele dagen bewaring werden ze blootgesteld aan ethyleen met de bedoeling de huidmondjes te openen om vervolgens het middel in contact te laten komen met de infectie. Hierna volgde de ontsmetting met ozon. Er zijn twee proeven uitgevoerd. In de eerste proef werd gevarieerd met de ozonconcentratie en -toedieningsduur. In de tweede proef werd met een aantal ethyleenconcentraties gewerkt om ook de ondergrens te bepalen waarbij ethyleen nog verhoging van de zuurgevoeligheid veroorzaakt. Alle behandelingen werden uitgevoerd in 3 herhalingen van 100 bollen. In onderstaande schema's (tabel 6 en 7) staan de onderzochte factoren schematisch weergegeven.

De bollen werden gedurende de bewaring, tot 15 oktober, visueel beoordeeld op de aanwezigheid van zuur. 10 Dagen voor die datum werden de bollen nog 5 dagen vochtig opgeslagen om eventueel latent zuur op te wekken tot zichtbaar zuur.

ANOVA ( $P \leq 0.05$ ), uitgevoerd in Gen Stat (13th Edition), is gebruikt om de gegevens statistisch te analyseren.

Tabel 6. Behandelschema met als factoren concentratie en tijdsduur van de ozondosering in de eerste proef. NB. In voorgaande proefjaren werd meestal de dosering 0,4 ppm gedurende 2 dagen aangehouden.

Materiaal	ethyleen 24 uur 10.000 ppb	Ozon concentratie	Ozon tijdsduur
'Leen van der Mark' met latent zuur	ja nee	0.4 ppm 0.8 ppm	1 dag 2 dagen 4 dagen

Tabel 7. Behandelschema met de factoren ethyleenconcentratie en tijdsduur, die werden getoetst in de tweede proef

Materiaal	ethyleen concentratie	ethyleen tijdsduur	Ozon concentratie	Ozon tijdsduur
'Leen van der Mark' met latent zuur	100 ppb 300 ppb 1000 ppb	6 uur 12 uur	0.4 ppm	2 dagen 0 dagen

### 4.3 Resultaat

De gevonden percentages staan in onderstaande tabellen (tabel 8 en 9). Zowel in de eerste als in de tweede proef kwam slechts sporadisch zuuraantasting voor, gemiddeld 0,45% en er waren geen zuuraantastingen boven 1% in de 1<sup>e</sup> proef en niet boven 1,3% in de 2<sup>e</sup> proef. Alle gevonden waarden zijn statistisch aan elkaar gelijk in beide proeven. Het is daarom niet mogelijk om hieruit conclusies te trekken over het effect van ontsmetting met ozon op het bestrijden van latent zuur en over het effect van de toegepaste ethyleenconcentraties op zuur.

Tabel 8. Zuurpercentages bij de proeven met verschillende combinaties van ozonconcentraties en tijdsduur van toepassen.

Behandelnr.	ethyleen	ozon concentratie (ppm)	ozon be- handeling (dagen)	Percentage zure bollen (%)
1	ja	0.4	1	0.7
2	ja	0.4	2	0.7
3	ja	0.4	4	0.3
4	ja	0.8	1	0.0
5	ja	0.8	2	1.0
6	ja	0.8	4	0.3
7	nee	0.4	1	0.3
8	nee	0.4	2	0.0
9	nee	0.4	4	0.0
10	nee	0.8	1	0.7
11	nee	0.8	2	0.3
12	nee	0.8	4	0.7
13	ja	geen	nvt	1.0
14	nee	geen	nvt	1.0



Tabel 9. Zuurpercentages bij de proeven met verschillende ethyleenconcentraties en tijdsduur van toepassen.

Behandelnr	ethyleen-concentratie ppb	ethyleen tijdsduur uur	Ozon 0.4 ppm	15-okt
15	100	6	ja	0.3
16	100	12	ja	0.0
17	300	6	ja	0.0
18	300	12	ja	0.0
19	1000	6	ja	0.7
20	1000	12	ja	0.3
21	100	6	nee	0.7
22	100	12	nee	1.3
23	300	6	nee	0.3
24	300	12	nee	0.7
25	1000	6	nee	0.3
26	1000	12	nee	0.0
27	0	n.v.t	ja	0.3
28	0	n.v.t.	nee	0.7

## 4.4 Discussie

Bij het type proeven, waarbij latent zuur gemaakte bollen in combinatie met ethyleen werden gebruikt, is het doorgaans zo dat het zuurpercentage door ethyleen sterk wordt bevorderd. Het jaar 2009 was daarop een uitzondering. In 2009 kon nauwelijks zuur worden opgewekt. In hoofdstuk 2 van dit rapport (Effect van vroege ethyleenblootstelling op de gevoeligheid van zuur) kwam dit ook aan de orde. De daar genoemde mogelijke oorzaken van het uitblijven van zuurinfectie zijn in het kort:

- Een verhoogde weerstand van de bol tegen zuur door het rustige groeiseizoen.
- Afname van de sporendruk of van de agressiviteit van *Fusarium* door de strenge winter

In deze proef was onduidelijk of het een van deze factoren betrof of dat mogelijk de werking van ethyleen dit jaar anders verliep. Daarom is naderhand ter controle een aantal bollen getoetst met PCR op de aanwezigheid van *Fusarium* in de bolrok. Hieruit bleek dat *Fusarium* in de latent zuur gemaakte bollen wel aanwezig was, maar dat het slechts een zwakke infectie betrof. Daarmee is de conclusie dat waarschijnlijk de bolweerstand of de afgenomen agressiviteit van de schimmel er de oorzaak van is dat er geen infectie optrad. Een verminderde invloed van ethyleen kon hiermee niet worden aangetoond.

Hoewel in één eerder proefjaar een positief effect is waargenomen van droge bolontsmetting, kon dit resultaat niet opnieuw worden aangetoond.

## 4.5 Conclusie

Doordat in de proef nauwelijks zuur kon worden opgewekt kunnen er geen conclusies worden getrokken over de ontzettende werking van ozon op latent zuur in tulp.