

Methoden ter voorkóming van Penicilliumaantasting tijdens de bewaring van tulpenbollen

Martin van Dam

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit
PPO 32 340553 00 / PT 13056
Oktober 2009

© 2009 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

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

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

Onderzoek gefinancierd door :



PPO - projectnummer: 32 340553 00

PT - projectnummer: 13056

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Sector 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

Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

	pagina
SAMENVATTING.....	5
1 INLEIDING	7
2 MATERIAAL EN METHODE	9
2.1 Werking van Delvolid®Instant tegen Penicilliumaantasting op tulpen tijdens de bewaring	9
2.2 Werking van enkele minerale oliën tegen Penicilliumaantasting	10
2.3 Toepassing van de AiroCide® luchtontsmetter tegen Penicilliumsporen in bewaarcellen	11
3 RESULTATEN	13
3.1 Resultaten van de proeven met Delvolid®Instant (natamycine).....	13
3.2 Resultaten van het toepassen van minerale olie tegen Penicilliumgroei	14
3.3 Resultaten van de proeven met de AiroCide® luchtontsmetter	18
4 CONCLUSIES EN DISCUSSIE	21

Samenvatting

Tulpen in de droogverkoop moeten er goed uit zien: goed in de huid en geen zichtbare beschadiging of aantastingen door schimmel. Tegenwoordig worden tulpen ook op de bol in glas of in andere verpakking verkocht. Ook daar is uitwendige schimmelgroei snel zichtbaar en kan dit leiden tot afwijzing.

Bollen vrij houden van uitwendige schimmelgroei begint met het voorkomen van beschadigingen. Daarna is het zaak de bollen goed droog te bewaren. Dat is niet altijd mogelijk, want tijdens transport en bewaring kan op verschillende momenten de luchtvochtigheid oplopen, vooral tijdens koeling.

Bestrijding van *Penicillium* met gewasbeschermingsmiddelen is voor bollen, bestemd voor de broeierij, ongewenst en voor bollen voor de droogverkoop onacceptabel. Er is daarom onderzoek uitgevoerd naar stoffen en methoden om *Penicillium* te bestrijden die milieuvriendelijk zijn. In het onderzoek is gewerkt aan het milieuvriendelijke fungicide Delvocide® Instant, etherische oliën (3 soorten) en aan ruimteontsmetting met ioniserende apparatuur AiroCide®.

Dit onderzoek heeft opgeleverd dat een dompeling van bollen in het schimmelwerende middel Delvocide® Instant penicilliumgroei op de bollen onder vochtige omstandigheden voorkómt. De preventieve werking van het middel was vooral zichtbaar door het wegblijven van schimmelpluis en -sporen op verwondingen en stootplekjes. Dit effect is des te gunstiger omdat *Penicillium* juist op die plaatsen makkelijk ontstaat.

Met de 3 geteste etherische oliën kon een vermindering van uitwendig *Penicillium* op de bollen worden gerealiseerd ten opzichte van onbehandelde bollen. Er bleek ook een schimmelreducerend effect te zijn op *Penicillium* op wondjes. Een bezwaar van deze groep van middelen is dat er bij verkeerd gebruik ook schade door de damp kan ontstaan. Dit uit zich in irritatie aan de wortelkrans en verkleuringen van de bolrok. Verder onderzoek naar de dosering en de toedieningswijze is daarom nog nodig.

De AiroCide® luchtontsmetter bleek in dit onderzoek niet effectief in het verminderen van het aantal sporen in de lucht. Het aantal sporen in de luchtstroom van de bewaarcel nam na enkele uren wel af, maar dit werd niet versneld door het gebruik van de ontsmetter.

Tijdens deze proef kwam een situatie voor waaruit bleek dat stoffilters waarschijnlijk ook effectief kunnen bijdragen aan de afname van het aantal sporen in de lucht.

1 Inleiding

Tijdens bewaring en transport in de handelsketen van tulpen treden situaties op met wisselende, soms hoge luchtvochtigheid. Door gebrek aan ventilatie kan op het product uitwendige schimmelgroei door *Penicillium spp.* en *Botrytis cinerea* optreden. De aantasting komt het eerst voor op wondjes en beschadigingen. Daarna kunnen schimmels ook groeien op de bolhuid, zich voedend op organisch materiaal aan de buitenzijde van de bol (foto 1). Hoewel deze laatste vorm van aantasting de kwaliteit van de bol nauwelijks aantast, maakt uitwendige schimmelgroei de bol minder geschikt voor de handel aan broeiers en voor de droogverkoop. Beschimmelde bollen worden geweigerd door afnemers.

Er wordt naar middelen gezocht om deze schimmelvorming te voorkomen, bij voorkeur met middelen die geen residuwerking hebben. Dit is met name vanwege het feit dat planters, broeiers en consumenten niet met middelen in contact mogen komen. Op de gebruikte stoffen mag bovendien geen beperking rusten, als de bollen naar het buitenland worden geëxporteerd.

De te gebruiken middelen moeten preventief kunnen worden toegepast, voordat schimmelgroei ontstaat. Een eenmaal aangetaste bol blijft visueel onaantrekkelijk, ook als de schimmel achteraf wordt gedood. Er zijn drie manieren van bestrijding onderzocht. De eerste hiervan is de toepassing van Delvolid® Instant (natamycine). Dit middel wordt al toegepast ter voorkoming van *Penicillium* bij de bewaring van kaas. De tweede bestrijdingswijze is de toepassing van etherische oliën uit de groep van gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong (GNO's). In dit onderzoek werden 3 GNO's onderzocht. Deze oliën worden toegepast in dampvorm, zodat de bollen droog kunnen blijven en er zodoende geen nieuwe infectiekansen ontstaan. Tenslotte werd de mogelijkheid van het doden van sporen door middel van een luchtontsmettingsapparaat in de bewaarcel onderzocht. Het betrof de AiroCide®, een ontsmetter die werkt met katalytische oxidatie.

Delvolid® Instant en de GNO's werden getest op tulpenbollen onder vochtige bewaaromstandigheden. De AiroCide® werd getest als luchtontsmetter in een bewaarcel.

Foto 1. Door uitwendige schimmelgroei zijn bollen moeilijk verkoopbaar.



2 Materiaal en methode

2.1 Werking van Delvocide® Instant tegen Penicilliumaantasting op tulpen tijdens de bewaring

2.1.1 Behandelingen

In deze proef werd onderzocht of Penicillium op tulpenbollen kan worden voorkomen door het gebruik van Delvocide® Instant (werkzame stof natamycine). Voor deze proeven werd Delvocide® Instant ter beschikking gesteld door DSM Biotechnology Centre

De gehele proef werd uitgevoerd met één partij tulpen (cultivar 'Leen van der Mark'). De behandelingen werden uitgevoerd aan zakjes met 50 bollen. De proef werd uitgevoerd in 4 herhalingen.

Achtereenvolgens werden met een deel van de bollen de volgende behandelstappen uitgevoerd:

Beschadigen: Penicillium treedt bij tulpenbollen vooral op rond en op beschadiging aan de bolrok. In de proef werd een deel van de bollen beschadigd door ze een keer te storten van een hoogte van 60 cm in een voorraadbunker, ze over een telmachine te laten gaan en weer op te vangen in een gaasbak daaronder (valhoogte gemiddeld 25 cm). Aan 10 van deze bollen (totaal 50 bollen per behandelingseenheid) werd ook nog een verse beschadiging aangebracht door ze met een mes in te kerven.

Ontsmetten met formaline. De helft van de partij bollen werd ontsmet door middel van een dompeling gedurende 15 minuten in 0,5% formaline. Deze stap diende ervoor om de eventuele eigen besmetting van de bollen uit te sluiten. Na deze stap werden de bollen gedroogd gedurende 1 dag bij 20 °C.

Dompeling in Delvocide® Instant: Een deel van de bollen werd ontsmet door middel van dompeling gedurende 15 minuten in Delvocide (4 g/l, bevat 2 g/l natamycine) waaraan een hechter was toegevoegd (1% Anti-stuif; polyvinylacetaat 620 g/l). Na deze stap werden de bollen gedurende enkele dagen bij 20 °C gedroogd.

Besmetten: De bollen werden in de zakken en in gaasbakken gelegd en daarna bestoven met sporen van Penicillium. Het besmetten met Penicillium gebeurde na de dompeling in Delvocide® Instant. Zodoende kon met deze toets worden nagegaan in hoeverre Delvocide® Instant preventief werkt tegen de schimmel.

Een deel van de behandelingsobjecten was niet besmet. Hierin trad geen Penicilliumaantasting op, zodat dit deel van de proef hier verder niet meer wordt besproken.

De behandelstappen tot dusver, werden volgens het schema in tabel 1 uitgevoerd.

Tabel 1. Behandelingschema van de proef met natamycine. Nummer 1 t/m 4 zonder en nummer 5 t/m 8 mét Formalinedompeling voordat in Delvocide® Instant werd ontsmet.

Nummer	Stap 1 Beschadiging	Stap 2 Formaline	Stap 3 Delvocide® Instant
1	geen	geen	geen
2	geen	geen	Delvocide
3	beschadigd	geen	geen
4	beschadigd	geen	Delvocide
5	geen	Formaline	geen
6	geen	Formaline	Delvocide
7	beschadigd	Formaline	geen
8	beschadigd	Formaline	Delvocide

Na stap 3 volgde de besmetting met Penicilliumsporen, vervolgens werden de kisten met bollen opgeslagen bij een luchtvochtigheid van ca 95%. Onder deze omstandigheden kon Penicillium zich op de bollen ontwikkelen.

Waarnemingen:

- Percentage Penicilliumaantasting van de bollen
- Aantal door Penicillium aangetaste verse wonden (van 10 bollen)

2.2 Werking van enkele minerale oliën tegen Penicillium-aantasting

In deze proef werd getracht de ontwikkeling van Penicillium te remmen door etherische olie in dampvorm toe te dienen. De volgende etherische oliën zijn gebruikt: (onder code) GNO-A, GNO-B en GNO-C. Tulpenbollen werden bestrooid met Penicilliumsporen nadat ze in een gesloten container (plastic vaatjes met een inhoud van 3,8 liter) werden gelegd. Hierin werd de RV hoog gehouden door in elke container een bekersglasje water te plaatsen, waarin ook stukken filtreerpapier rechtop werden gezet om het verdampend oppervlak te vergroten. De containers werden gedurende minimaal 5 dagen geplaatst bij een temperatuur van 25°C. Elke dag werd de container even geopend (gelucht) om CO₂ ophoping te voorkomen.

Onder deze omstandigheden groeit Penicillium op de buitenzijde van de bollen. De te toetsen etherische oliën werden als volgt toegediend: een hoeveelheid olie werd op een filtreerpapier aangebracht en dit werd op een open petrischaal bij de bollen in de container geplaatst. Na 24 of 48 uur werd het papier met de olie uit de container verwijderd. Er werd 24 uur en 48 toegediend. Bij een derde behandeling werd eerst 24 uur gewacht, waarna de bollen gedurende 24 uur werden blootgesteld aan de oliedamp. Bij deze laatste methode is de aanname dat de schimmel eerst moet kiemen voordat hij kan worden gedood, omdat niet de spore maar de kiembuis gevoelig is voor de etherische olie.

In het schema in tabel 2 staan de behandelingen die in deze proef zijn uitgevoerd samengevat. Elke behandeling werd in twee herhalingen van elk 15 bollen uitgevoerd.

Tabel 2. Behandelingschema voor de toepassing van etherische olie ter voorkoming van Penicilliumgroei op tulpenbollen

Nr	middel ml of µl per 3,8l vaatje	tijdsduur toediening
1	GNO-A 0,5 ml	24 uur
2	GNO-A 0,5 ml	48 uur
3	GNO-A 0,5 ml	24 uur na 24 uur
4	GNO-A 0,1 ml	24 uur
5	GNO-A 0,1 ml	48 uur
6	GNO-A 0,1 ml	24 uur na 24 uur
7	GNO-B 50 µl	24 uur
8	GNO-B 50 µl	48 uur
9	GNO-B 50 µl	24 uur na 24 uur
10	GNO-B 10 µl	24 uur
11	GNO-B 10 µl	48 uur
12	GNO-B 10 µl	24 uur na 24 uur
13	GNO-C 0,5 ml	24 uur
14	GNO-C 0,5 ml	48 uur
15	GNO-C 0,5 ml	24 uur na 24 uur
16	GNO-C 0,1 ml	24 uur
17	GNO-C 0,1 ml	48 uur
18	GNO-C 0,1 ml	24 uur na 24 uur
19	controle onbehandeld	
20	controle onbehandeld zonder besmetting	

Waarnemingen

Een week vanaf inzetten van de proef werden de bollen als volgt beoordeeld:

- aantal bollen met zichtbare schimmelvorming op de buitenzijde
- aantal bollen met schimmelgroei op schaaft- en stootplekjes die van nature aanwezig waren
- aantal gave bollen

Er werden verkleuringen en irritaties door inbranden van de etherische olie waargenomen aan de wortelkrans. Hieraan werd een beoordelingscijfer gegeven.

- geen verkleuring of irritatie: score = 0
- licht: score = 1
- matig: score = 2
- zwaar: score = 3

2.3 Toepassing van de AiroCide® luchtontsmetter tegen Penicilliumsporen in bewaarcellen

Bestrijding van Penicillium in bewaarruimtes is ondermeer mogelijk door de sporen in die ruimte te doden. Hiermee kan het probleem van de voortdurende besmetting tijdens geventileerde opslag van bollen worden opgelost.

Een van de producten die in de praktijk wordt aangeboden is de AiroCide®. AiroCide® is een luchtreinigingssysteem op basis van zogenaamde fotokatalytische oxidatie. Het apparaat combineert een titanium dioxide katalysator met UV-licht. De claim daarbij is dat (door middel van oxydatie) bacteriën, virussen en schimmels in de lucht worden gedood en dat vluchtige organische stoffen (o.a. ethyleen) worden afgebroken. Bij deze techniek worden geen chemische stoffen gebruikt en ontstaat er geen ozon. Om die reden lijkt deze techniek interessant als toepassing in bewaarcellen.

Werkwijze

De werking van de AiroCide® (type ACS100) werd als volgt getest: in een lege, ontsmette bewaarcel werden sporen van Penicillium in de circulatieluchtstroom gebracht.

De sporen waren afkomstig van bollen die waren begroeid met Penicillium. De bollen werden in een gaasbaaltje geschud voor de inblaasopening van de ventilator aan de binnenzijde van de cel. De ventilatie (luchtverversing) was tijdens de proeven afgesloten.

In de cel werden op gezette tijden petrischalen (3 herhalingen) met algemene voedingsbodem (PCA) geplaatst. Dit gebeurde met een tussentijd variërend van 1 tot 2 uur. De schalen stonden op een plaats ca. 1,2 meter van de grond en niet in de directe luchtstroom. De petrischalen werden na 30 minuten gesloten en geïncubeerd bij 24°C in een broedstoof.

Na 3 à 4 dagen incubatie werden de kiemgetallen op de voedingsbodems vastgesteld. De resultaten geven een beeld van het verloop van het aantal sporen in de lucht gedurende een periode van 6 à 7 uur.

3 Resultaten

3.1 Resultaten van de proeven met Delvocid®Instant (natamycine)

3.1.1 Penicilliumaantasting van de bollen

In deze proef werden bollen wel en niet beschadigd door middel van een korte machinale verwerkingsstap. In tabel 3 staan de percentages van de met Penicillium aangetaste bollen. Bij de bovenste twee behandelingen waren de bollen niet beschadigd. Hierbij werd bijna geen aantasting gevonden. Dat was wel het geval bij de beschadigde bollen van behandeling 3, waar 33,8% van de bollen met Penicillium was aangetast. Bij behandeling 4 is een afname van dat percentage naar 14,4% te zien als gevolg van dompeling in Delvocid®Instant.

In het tweede deel van de tabel staan de behandelingen (5 t/m 8) waarvan de bollen tussendoor (na beschadiging en voor de dompeling in Delvocid®Instant) in Formaline werden gedompeld. Hiermee werden de bollen van een eventuele aanwezige besmetting ontdaan. Bij deze behandelingen werd geen merkbaar effect van Delvocid®Instant tegen Penicillium meer geconstateerd. Bij behandeling 6 (onbeschadigd en een dompeling in Formaline en in Delvocid®Instant) is zelfs sprake van een toename ten opzichte van behandeling 5 (zonder Delvocid®Instant, maar met Formaline). Vermoedelijk heeft het feit dat de bollen tweemaal gedompeld zijn en dus ook tweemaal vochtig zijn geworden hiertoe bijgedragen. De lage percentages aantasting bij behandeling 7 en vooral ook 8, waarbij tweemaal werd gedompeld nadat eerst de bollen werden beschadigd zijn daarmee echter niet verklaard.

Tabel 3. Percentage bollen met Penicilliumaantasting van wel en niet beschadigde bollen die al dan niet met Delvocid®Instant waren behandeld. In de onderste helft van de tabel (Nr 5 t/m 8) staan uitslagen van bollen die eerst waren gedompeld in 0,5% Formaline voordat ze met Delvocid®Instant werden behandeld.

Nummer	Beschadiging	Formaline	Delvocid®Instant	Penicilliumaantasting (%)	LSD = 4,8
1	geen	geen	geen	1,0	a
2	geen	geen	Delvocid	0,0	a
3	beschadigd	geen	geen	33,8	c
4	beschadigd	geen	Delvocid	14,4	b
5	geen	Formaline	geen	1,5	a
6	geen	Formaline	Delvocid	10,5	b
7	beschadigd	Formaline	geen	3,8	a
8	beschadigd	Formaline	Delvocid	3,8	a

3.1.2 Penicillium aantasting op verse snijwonden.

Uit de beschadigde bollen van behandelingen 3, 4, 7 en 8 (schema zie tabel 3) waren telkens 10 bollen met een mes ingekerfd. Daarna werden ze achtereenvolgens al dan niet ontsmet in formaline en behandeld met Delvocid®Instant voordat ze werden besmet met Penicillium. De Penicilliumaantasting van deze extra verwonding werd na enkele dagen bewaren bij hoge RV beoordeeld. De resultaten hiervan staan in tabel 4.

Tabel 4. Percentage bollen met *Penicillium*aantasting op een aangebrachte beschadiging (per 10 bollen).

Nummer	Beschadiging	Formaline	Delvocid® Instant	Penicilliumaantasting (%)	LSD = 16%
3	kerf met mes	geen	geen	78	b
4	kerf met mes	geen	Delvocid	8	a
7	kerf met mes	Formaline	geen	15	a
8	kerf met mes	Formaline	Delvocid	0	a

Er bleek een duidelijke vermindering van aantasting door *Penicillium* als gevolg van de toepassing van Delvocid® Instant (van 78% naar 8% aangetaste bollen) als er geen formaline was gebruikt na het aansnijden (foto 2 en 3). Het effect van Delvocid® Instant bij de bollen die wél waren ontsmet met formaline na het aansnijden was niet significant. Hier trad hetzelfde effect op als bij het vorige deel van de proef; ontsmetten met formaline maskeerde het effect van Delvocid® Instant.

Foto 2. *Penicillium*groeï op de aangebrachte verwonding.



Foto 3. Verwondingen waarop geen *Penicillium* groeit als gevolg van een preventieve behandeling met Delvocid® Instant.



3.2 Resultaten van het toepassen van minerale olie tegen *Penicillium*groeï

Bij de beoordeling van resultaten werd onderscheid gemaakt tussen uitwendige schimmelgroeï, buiten op de bruine huid (foto 1 in hoofdstuk 1, Inleiding) en zichtbare aantasting van verwondingen op de bolrok.

3.2.1 Uitwendige schimmelgroeï

Uitwendige schimmelgroeï kon door het gebruik van etherische oliën worden verminderd (tabel 5). Van de bollen in de controlebehandeling was gemiddeld 44% aangetast, bij GNO-A daalde dit aantal naar 24%, bij GNO-B was er 9% en bij GNO-C 4% aantasting. De laatste twee zijn statistisch gezien niet verschillend.

Tabel 5. Gemiddeld percentage bollen met *Penicillium* (uitwendig)

Middel	Bollen aangetast met <i>Penicillium</i> (%)
Controle	44
GNO-A	24
GNO-B	9
GNO-C	4

Isd = 9%

In de proef is met twee doseringen per middel gewerkt (tabel 6). Over de alle behandelingen met GNO's gemiddeld was een hogere dosering beter werkzaam tegen uitwendig Penicillium dan een lage dosering. Lage dosering gaf 16% en hoge dosering 8% uitwendige schimmelgroei. Dit verschil werd hoofdzakelijk veroorzaakt door het verschil in aantasting bij lage en hoge dosering van GNO-A. Deze nam af van 31% naar 17% aangetaste bollen. Bij GNO-B en GNO-C waren de verschillen in aantasting niet statistisch betrouwbaar.

Tabel 6. Percentage uitwendige schimmelgroei (Penicillium) per middel bij een hoge en een lage dosering.

Middel	hoge dosering	lage dosering	
Gemiddeld (GNO-A B en C)	8 %	16 %	← Isd 6 %
GNO-A	17 %	31 %	
GNO-B	4 %	13 %	
GNO-C	3 %	4 %	

Isd = 13% F.pr. =0,063

Het effect van de toedieningstijd was in deze proeven niet duidelijk. Bij de behandeling 24 uur toedienen na 24 uur was minder (tendens) uitwendig Penicillium te zien dan bij de toediening gedurende 48 uur.

3.2.2 Schimmelgroei op verwondingen

Op tulpenbollen zijn altijd meer of minder wondjes aanwezig. Verwondingen worden sneller aangetast door Penicillium dan een gave bolrok. Na besmetting en incubatie werd het aantal bollen met 1 of meer aangetaste wondjes geteld. De resultaten staan vermeld in tabel 7.

Bij de behandelingen waarbij etherische oliën werden gebruikt, waren er minder bollen aangetast dan bij de controlebehandeling (zonder middel). Bij de controlebehandeling was gemiddeld 49% van de bollen aangetast. De bollen behandeld met GNO-A vertoonden 32% bollen met Penicillium op wonden. Bij GNO-B en GNO-C was dat respectievelijk 27 en 28% (l.s.d. = 12%). Tussen GNO A, B en C onderling was geen verschil.

Bij GNO-B en GNO-C was een tendens van een effect waarneembaar. Bij deze twee middelen nam de Penicilliumaantasting op wonden af bij de hoge dosering (zie tabel 8) t.o.v. de lage dosering. Bij GNO-A leek de hoge dosering juist de aantasting te verergeren. Het verschil is echter net te klein voor een statistisch betrouwbare uitspraak.

Tabel 7. Gemiddeld percentage bollen met Penicillium (op wonden)

Middel	Bollen aangetast met Penicillium (%)	
Controle	49	b
GNO-A	32	a
GNO-B	27	a
GNO-C	28	a

Isd = 12 %

Tabel 8 Percentage Penicilliumgroei op verwondingen, per middel, bij een hoge en een lage dosering.

Middel	hoge dosering	lage dosering
GNO-A	37%	28%
GNO-B	17%	37%
GNO-C	19%	37%

Isd = 11% F.pr. =0,08

3.2.3 Schade door etherische olie

Etherische oliën zijn weliswaar plantaardige producten, maar daarmee niet geheel ongevaarlijk in het gebruik. In deze proeven was er als gevolg van de oliën een geelverkleuring te zien op de bolrok en was de wortelkrans soms ingebrand. Dit werd zichtbaar als een donkerbruine tot zwart verkleurde wortelkrans. (foto 4). De ernstigste schade deed zich voor na toediening van GNO-C. Geïrriteerde bolrok kan leiden tot verlies van reservevoedsel. Dit kan bij de bloei ten koste gaan van het gewicht van de bloem. Een geïrriteerde wortelkrans vormt een groter probleem, omdat de wortels hierdoor niet meer uitlopen.

De mate van schade werd gewaardeerd met een cijfer:

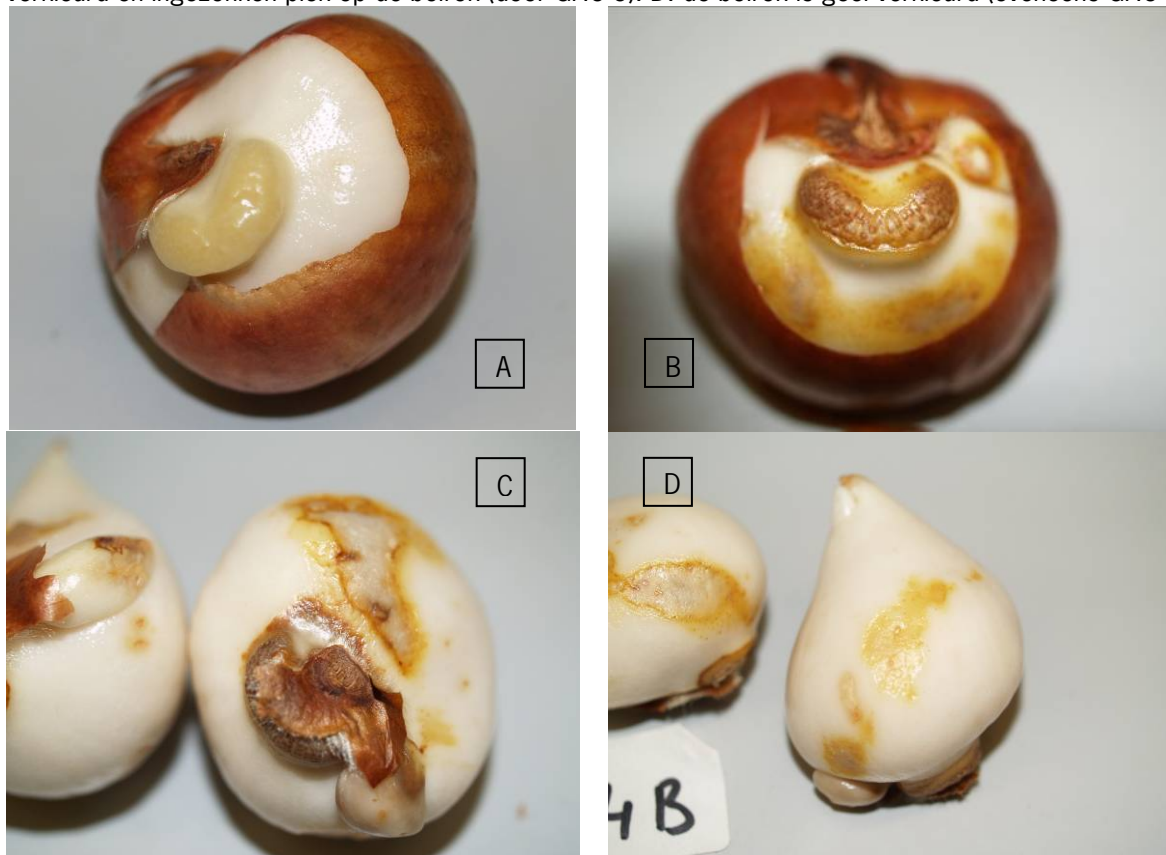
- geen verkleuring of irritatie: score = 0
- licht: score = 1
- matig: score = 2
- zwaar: score = 3

Bij de controlebehandeling (geen middel) was de gemiddelde score 0. GNO-A scoorde gemiddeld 0,1 GNO-B 0,5 en GNO-C scoorde 2,3. De toedieningsduur maakte per middel niet veel verschil. De hoge dosering van elk middel gaf meer schade (tabel 9). GNO-C gaf de meeste schade van de drie middelen, zowel bij de hoge als lage dosering.

Tabel 9. Score (0 = geen schade t/m 3 = zware schade) voor wortelschade en huidirritatie van de getoetste etherische oliën.

middel	hoge dosering	lage dosering
GNO-A	0,2	0
GNO-B	1,0	0
GNO-C	2,7	2,0

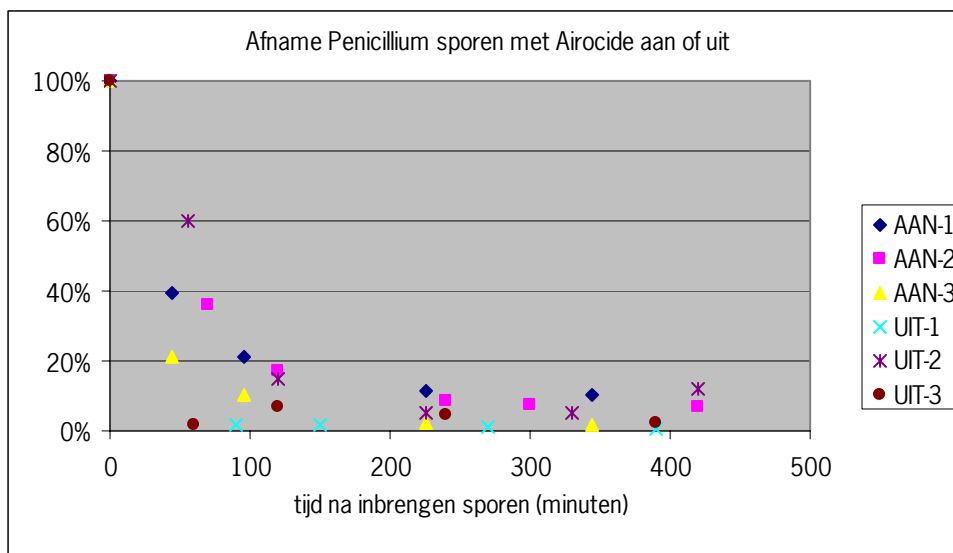
Foto 4 A t/m D Foto's van schade aan bollen door etherische olie. A: gave bol met normaal opgezwollen wortelkrans. B: zowel bolrok als wortelkrans zijn oranjebruin verkleurd (door GNO-C). C: Wortelkrans bruin verkleurd en ingezonken plek op de bolrok (door GNO-C). D: de bolrok is geel verkleurd (eveneens GNO-C).



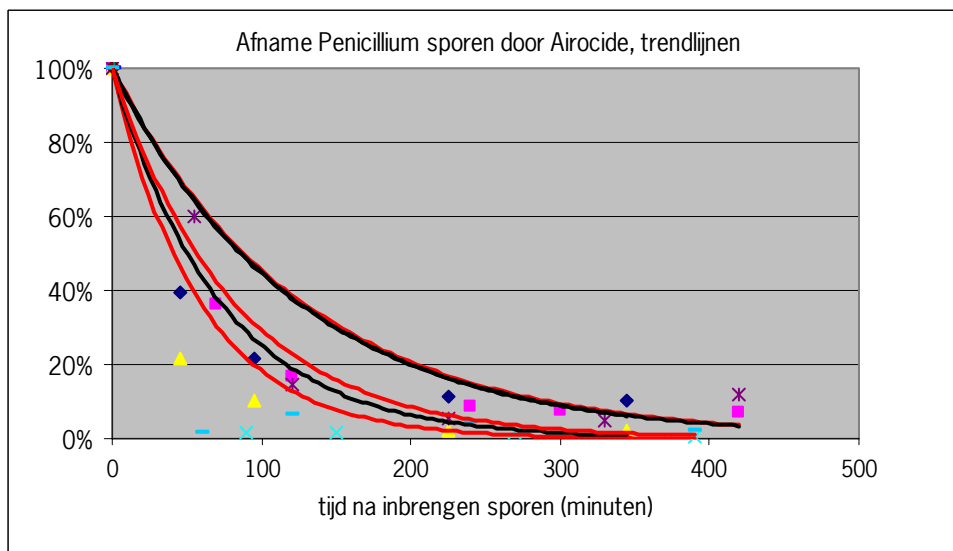
3.3 Resultaten van de proeven met de AiroCide® luchtontsmetter.

De kiemgetallen van de voedingsbodems (gemiddeld van 3), die op verschillende tijdstippen na het inbrengen van sporen in de cel zijn geplaatst staan in onderstaande figuren (figuur 1 en 2). Er werden 3 series metingen gedaan met de ontsmetter aan en eveneens 3 series met de ontsmetter uit. In grafiek 1 en 2 staat de afname van het aantal kolonies tijdens de eerste meting, afgezet tegen de tijd. In grafiek 2 zijn de punten per serie omgezet naar een (exponentiële) trendlijn. Uit deze grafiek zijn halfwaardetijden afgelezen. De halfwaardetijd (afname 50% ten opzichte van de aanvangsbesmetting) en de tijd die nodig is om tot 80% afname van het aantal sporen aan het begin te komen staan vermeld in tabel 10.

Figuur 1 Puntenreeksen van het aantal kolonies (gemiddeld van 3 petrischalen) op verschillende tijdstippen na het in de bewaarcel brengen van een aantal Penicilliumsporen. Er zijn 3 reeksen met de ontsmetter aan en 3 reeksen met de ontsmetter uit.



Figuur 2 Trendlijnen bij de puntenreeksen in grafiek 1. De zwarte lijnen horen bij de puntenreeksen met de ontsmetter aan, de rode lijnen horen bij puntenreeksen met de ontsmetter uit.



In de grafieken en in de tabel zien we dat het nauwelijks uitmaakt of de AiroCide aan- of uitgeschakeld staat. Om tot 50% of 80% afname van het aantal sporen te komen is bij een ingeschakelde ontsmetter niet minder tijd nodig.

Tabel 10. Halfwaardetijd en tijd tot 80% afname van metingen van Penicilliumsporen in de lucht. Er is gemeten in een bollenbewaarcel waarin de lucht al dan niet werd ontsmet d.m.v. een AiroCide-apparaat.

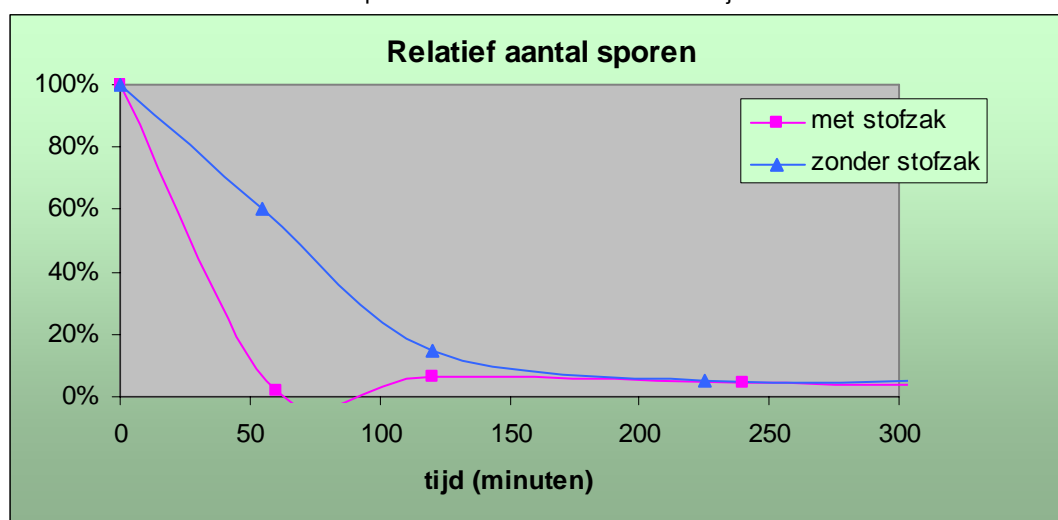
	50% afname (minuten)	80% afname (minuten)
AiroCide aan 1	86	198
AiroCide aan 2	86	198
AiroCide aan 3	49	116
gemiddeld	74	171
AiroCide uit 1	40	93
AiroCide uit 2	88	203
AiroCide uit3	57	130
gemiddeld	62	142

3.3.1 Stof filteren

In de cel waarin de proeven werden uitgevoerd was bij aanvang van de proef een luchtverdeelsysteem gemonteerd. Dit bestond uit een katoenen slurf van ca. 75 cm diameter die over de uitblaasopening van de ventilator was gemonteerd. De uitblaaslucht blaast de zak op en door de poriën van de stof wordt de lucht diffuus door de cel verspreid. Door de aanwezigheid van deze luchtzak bleken de in de cel ingebrachte sporen sneller te verdwijnen dan zonder deze luchtzak. Het geheel werkt als een soort stofzuigerzak. Het waargenomen effect is te zien in de grafiek van figuur 3. Hier is te zien dat het aantal sporen sneller verminderde naar de eindwaarde als de katoenen slurf aanwezig was.

NB. De overige in dit rapport genoemde uitslagen zijn verkregen uit metingen waarbij geen stofzak aanwezig was.

Figuur 3. Relatief aantal sporen (Penicillium) aanwezig in de lucht van een bollenbewaarcel in een situatie met en zonder luchtverdeelzak op de uitblaasventilator. Punten zijn verbonden door een vloeiende lijn.



4 Conclusies en discussie

Delvolid®Instant heeft een goede preventieve werking tegen *Penicillium* op wonden. Dit werd aangetoond op zowel de wonden die speciaal voor de proef waren aangebracht als op de wonden die door de normale verwerking ontstaan. De werking op uitwendig *Penicillium* op de bolhuid is in deze proeven niet gebleken, wegens het ontbreken van deze symptomen. De verwachting is dat Delvolid ook uitwendig *Penicillium* goed kan voorkomen, daar dit over het algemeen gemakkelijker is te voorkomen dan *Penicillium* op verwondingen. Ook heeft dit middel zich al bewezen als conserveermiddel (E235) in de kaasindustrie tegen uitwendig *Penicillium* in vochtige opslag.

De getoetste etherische oliën gaven ten opzichte van de controle vermindering van de hoeveelheid uitwendig *Penicillium* te zien. Een volledige bestrijding is niet gezien, maar kan mogelijk worden bereikt door herhaalde toepassing.

Het probleem met de schade door irritatie baart nog zorgen. De schade blijkt daarbij ook nog eens het grootst bij het middel (GNO-C) dat het beste werkt. In eerder onderzoek bij tulpen is een dergelijk beeld ook waargenomen. Het lijkt erop dat schade vooral optreedt op die plaatsen waar de bol in ontwikkeling is, (wortelkrans en spruit). Voor een beter en schadevrij resultaat is verder onderzoek naar de juiste dosering en doseringsmethode nodig.

Van deze groep middelen is algemeen bekend dat ze werkzaam zijn tegen insecten. Ook is al lang bekend dat sommige etherische oliën een goede fungicide werking hebben. Bij tulpen is van GNO-C al eerder gezien dat het een goede werking heeft tegen tulpengalmijt. De combinatie van de fungicide en insecticide werking maakt deze groep stoffen extra interessant.

Om verder onderzoek mogelijk te maken is perspectief op een toelating nodig. Helaas is tot nu toe geen fabrikant bereid gevonden om de aanvraag van een toelating op zich te nemen.

De AiroCide® luchtontsmetter blijkt in de geteste situatie geen merkbare dodende werking te hebben tegen *Penicillium*sporen in de lucht. In de documentatie op de website van de fabrikant worden wel resultaten genoemd van reductie van het aantal schimmelsporen in koelruimtes bij opslag van groente, echter bij een ontsmetduur van 48 en 72 uur. In de tulpenproef was het aantal sporen na ca 7 à 8 uur al behoorlijk afgenomen, doordat de sporen op de grond en in windluwe hoeken terecht komen. Meting van de doding van sporen is daardoor na die tijd niet goed meer mogelijk.

In bewaarcellen zou een luchtfiltersysteem ook effectief kunnen zijn, niet alleen tegen sporen maar ook tegen mijten in de luchtstroom. Voor een juiste afweging van de mogelijkheden van deze techniek moet nog duidelijk worden of de kosten opwegen tegen de voordelen. In bollenbewaarcellen is veel stof aanwezig, dus zal een filter vaker vervangen moeten worden om voldoende luchtdoorlaat te waarborgen.