A 412

ato-dlo

Onderzoekprogramma Bloembollen

Beschrijving van de onderzoekprojekten die uitgevoerd worden in het kader van het onderzoekprogramma bloembollen voor het PVS

Programmaleider: A. Hoogerwerf

Instituut voor Agrotechnologisch Onderzoek (ATO-DLO)
Haagsteeg 6
Postbus 17
6700 AA Wageningen

© ATO-DLO, Augustus 1991

ato-dlo

Onderzoekprogramma Bloembollen

Beschrijving van de onderzoekprojekten die uitgevoerd worden in het kader van het onderzoekprogramma bloembollen voor het PVS

Instituut voor Agrotechnologisch Onderzoek (ATO-DLO)
Haagsteeg 6
Postbus 17
6700 AA Wageningen

Programmaleider: A. Hoogerwerf

© ATO-DLO, Augustus 1991

2251146

Inhoud

Voorwoord 3

1. Projektbeschrijvingen 4

1.1. Invloed van temperatuur op de ontwikkeling van bolgewasssen 5

1.2. Bestrijding van bewaarpathogenen bij bloembollen 13

1.3. Logistieke besturing tijdens de distributie van bloembollen 24

1.3.1. Kwaliteitsverloopmodellering 29

1.3.2. Intelligente bloembollencontainer 35

1.3.3. Produktieplanning op bloembollenbedrijven 38

1.3.4. Computer Beeld Analyse 48

1.4. Verpakken en coaten van bloembollen 53

2. Projektorganisatie 61

Voorwoord

In dit stuk is het onderzoeksprogramma bloembollen beschreven, zoals dat door ATO-DLO zal worden uitgevoerd. Op instigatie van het LBO zijn een aantal projekten inelkaar geschoven, vanwege de sterke samenhang en onderlinge afhankelijkheid, die de projekten vertoonden. Dit nieuwe onderzoekprogramma bestaat daarom uit vier onderzoeksclusters, die elk beschreven worden in één uitgebreide projektbeschrijving. Het gaat om de volgende clusters:

1. De invloed van temperatuur op de ontwikkeling van bolgewassen. Fysiologische, histologische, moleculaire en biochemische karakterisering, gericht op de ontwikkeling van toetsmethoden en controlesystemen.
2. Bestrijding van bewaarpathogenen bij bloembollen door toepassing van etherische oliën, plantaardige metabolieten en antagonistische microörganismen.
3. Logistieke besturing tijdens de distributie van bloembollen.
4. Verpakken en coaten van bloembollen.

In deze nieuwe projektbeschrijvingen zijn de commentaren en suggesties van het LBO, voorzover nog relevant, opgenomen en uitgewerkt. De projektbeschrijvingen zijn wetenschappelijk onderbouwd, maar niet op dàt detailleringsniveau dat door het LBO via de verstrekte voorbeeld-projektbeschrijvingen van IPO en Rijksuniversiteit Leiden werd gesuggereerd. Belangrijkste reden is dat deze projektbeschrijvingen ook voor de leden van de begeleidingscommissie leesbaar moeten zijn.

Hierna treft u eerst een beschrijving aan van de vier genoemde projektclusters. Duidelijk moet zijn, dat het onderzoek zoals hierin gepresenteerd niet wezenlijk anders is dan eerder gepresenteerde voorstellen. Daarna volgt een overzicht van de geplande capaciteiten en een overzicht van samenwerkingsverbanden met andere organisaties per onderzoeksaspekt.

Ik hoop dat hiermee voldoende basis is gelegd voor vruchtbare besprekingen in de begeleidingscommissie van het Bloembollenprogramma.

Wageningen, augustus 1991.

Andries Hoogerwerf

Deel 1: Projektbeschrijvingen

1. Invloed van temperatuur op de ontwikkeling van bolgewassen

Moleculaire, biochemische, fysiologische en histologische karakterisering.

1. Probleem, aard en doelstelling

Bij de meeste bolgewassen is elk jaar een temperatuurscyclus nodig voor hun normale groei en ontwikkeling. Om tot volledige bloei te komen is een koude periode nodig bij zowel narcissen, tulpen, hyacinten, Iris en lelie (Rees, 1972). Als de koude behandeling bij bijvoorbeeld de tulp afwezig blijft of onvolledig is, dan zal de bloemstengel zich slechts gedeeltelijk en traag strekken (Rees, 1972). Voor initiatie van de bloemontwikkeling is alleen bij de Iris een koude periode nodig (Rees,1972).

Tulpebollen worden meestal gerooid voor of tijdens de bloemontwikkeling, ongeveer eind juni of in juli (De Hertogh, 1983). Hierna worden de bollen bij een temperatuur van 20 C bewaard totdat de bloemaanleg is voltooid; dit wordt stadium G genoemd (De Hertogh). Soms wordt in het vegetatieve stadium (stadium I) een hoge temperatuur (34 C) behandeling gegeven, om de bloemontwikkeling te synchroniseren en te versnellen (Hoogeterp, 1973). De bollen worden vervolgens bij lage temperatuur opgeslagen. De temperatuur en de duur van de opslag zijn afhankelijk van het gewenste bloeitijdstip en de cultivar. Bij de cv. 'Apeldoorn' wordt bijvoorbeeld 12 weken bij 5 C aangehouden om bloei voor kerstmis te realiseren (Hoogeterp, 1967).

Er is zeer weinig bekend omtrent de fysiologische processen die ten grondslag liggen aan de bloemontwikkeling, de uitgroei van de bloemstengel en de invloed van de temperatuur hierop. Bij andere systemen is echter al meer bekend over de invloed van temperatuur op het doorbreken van een rust periode. Bij zaden bijvoorbeeld, die een koude periode nodig hebben, blijkt dat het hormoon gibberelline de genexpressie stimuleert terwijl abscissinezuur deze remt; de rust wordt doorbroken na induktie van deze genexpressie, meestal door aktivatie van een α-amylase gen (Jacobsen en Beach, 1985; Chandler en Jacobsen, 1991). Gibberellines blijken ook invloed te hebben op de stengelstrekking bij bijvoorbeeld mais en erwt (MacMillan en Phinney, 1987). Het hormoon auxine dat duidelijk stimulerend werkt op de cel-elongatie blijkt zijn invloed ook voornamelijk uit te oefenen via de aktivatie van genexpressie (Theologis, 1987).

Een vergelijkbaar effekt op de genexpressie tgv een veranderde hormoonbalans mag verwacht worden voor de induktie van stengel-elongatie bij bolgewassen. Onduidelijk is echter of dezelfde hormonen hierbij een rol spelen. Over de genen die worden geïnduceerd door deze hormonen en de eiwitten waarvoor zij koderen is nog minder bekend. Hierdoor is het nog onduidelijk welke processen met name een rol spelen bij de induktie van stengel-elongatie bij bolgewassen.

2. Motivering en te verwachten effecten

Het verkrijgen van een beter inzicht in deze koude afhankelijke processen en hun regulatie is van groot belang om gericht de ontwikkeling van bolgewassen te kunnen beïnvloeden en om toetsen te ontwikkelen die kunnen bepalen in welk stadium van de ontwikkeling de bol zich op een bepaald moment bevindt. Deze kennis zal de kweker uiteindelijk in staat stellen doelmatiger en gekontroleerder

in te grijpen in de ontwikkelingsgang die van belang is voor het tot bloei komen van de bol. De huidige procedures zijn voornamelijk verkregen door een 'trial and error' benadering, waarbij de invloed van verschillende temperatuurtrajekten op de ontwikkeling van de bol werd nagegaan, vaak door nabootsing van de natuurlijke omstandigheden (Rees, 1972). Deze werkwijze heeft als nadeel dat het tijdrovend is en dat de voorspellende waarde in een nieuwe situatie minimaal is doordat een werkelijk inzicht in de processen ontbreekt.

3. Werkwijze en uitvoering

Voor de bestuderingen van koude-afhankelijke processen bij bolgewassen, zal gekozen worden voor de Darwin-Hybride tulp cv. 'Apeldoorn' als modelsysteem. Deze cultivar wordt momenteel ook gebruikt in een samenwerkings projekt van vier Nederlandse Universiteiten, het laboratorium voor bloembollen onderzoek (LBO) in Lisse en dit instituut (ATO-DLO). Dit onderzoek maakt gedeeltelijk deel uit van dit samenwerkingsprojekt, dat beoogt om parameters te vinden die aangeven dat de koude behandeling die is gegeven afdoende is voor bloei (Boonekamp et al., 1990).

De resultaten die mbv cv. 'Apeldoorn' worden verkregen, zullen in een later stadium getoetst worden aan andere cultivars en er zal worden bepaald in hoeverre ze opgaan voor andere bolgewassen.

Het onderzoek naar de fysiologische processen die tijdens de ontwikkeling van de bol een rol spelen zal worden gesplitst in twee onderdelen en worden aangepakt mbv een kombinatie van histologische, fysiologische, biochemische en molekulair biologische technieken. De splitsing die wordt aangebracht is gekozen omdat er duidelijk twee verschillende processen zijn te onderscheiden in de periode van bloemontwikkeling tot de bloei. De eerste vraagstelling richt zich op de processen die betrekking hebben op de induktie en de ontwikkeling van de bloemknop, terwijl de tweede zich zal richten op de uitgroei van de bloemstengel tgv de koude periode. De tweede vraagstelling leent zich bij uitstek voor een moleculaire benadering, terwijl voor de eerste vraagstelling eerst morfologisch onderzoek noodzakelijk is.

1. Induktie en ontwikkeling van de bloemknop
Er zal worden onderzocht welke processen van belang zijn bij de induktie en de ontwikkeling van de bloemknop. Dit onderzoek zal zich in de eerste plaats richten op de morfologische veranderingen die plaatsvinden in de florigene apex en worden uitgevoerd mbv histologische technieken, elektronen mikroscopie, elektrofysiologie en mikroinjektie met fluorochromen. Speciale aandacht zal worden gegeven aan het vaststellen van de aan/afwezigheid van plasmodesmata. De bloemaanleg is een ontwikkelings biologisch proces, dat via herstrukturering van de symplast wordt voorbereid (Goodwin, 1985); de uit het meristeem gevormde homogene groep aaneengeschakelde cellen kommuniceert met elkaar via deze plasmodesmata (Gunning en Robards, 1976; Robards et al., 1990; Wolf et al., 1989). Na verdere differentiatie zullen groepen van gespecialiseerde cellen (weefsels) ontstaan, die ook weer voor hun kommunicatie van plasmodesmata

afhankelijk zijn (Santiago en Goodwin, 1988; Tilney et al., 1990). Nadat bekend is hoe de verschillende weefsels in de tijd uit elkaar ontstaan wordt het mogelijk mbv moleculaire technieken de signalen voor differentiatie en de onderliggende fysiologische processen te karakteriseren. Hiervoor zal voornamelijk gebruik worden gemaakt van cDNA banken, die worden gemaakt van RNA dat wordt geisoleerd op verschillende tijdstippen in een zich ontwikkelend weefsel. Door differentiële screening van deze banken kunnen cDNA kloons worden geisoleerd die een rol spelen in de ontwikkeling van het weefsel. Verdere analyse zal plaatsvinden zoals weergegeven onder punt 2.

2. *Koude afhankelijke stengelstrekking*
Er zal onderzocht worden welke veranderingen, met name op het niveau van genexpressie, plaatsvinden in de bol tijdens een bewaarperiode bij een temperatuur van 5°C tov een bol die bewaard is bij een temperatuur van 17°C. Daarnaast zal worden bepaald wat deze veranderingen tot gevolg hebben voor de fysiologische processen die plaatsvinden na uitplanten.

De benadering waarvoor zal worden gekozen is een molekulair genetische, omdat veel van de veranderingen primair waarneembaar zijn op het niveau van genexpressie. Er zullen cDNA banken worden gemaakt van RNA dat wordt geïsoleerd uit bollen die verschillende tijden bewaard zijn bij 5°C en 17°C en van RNA dat wordt geïsoleerd op verschillende tijden na uitplanten. Deze banken worden met elkaar vergeleken, mbv differentiële screening om zodoende RNA's te identificeren die geïnduceerd worden door de koude en om RNA's te identificeren die direkt na uitplanten geïnduceerd worden. Met behulp van DNA sequentieanalyse zal de base volgorde van het cDNA worden bepaald en hiervan zal de aminozuur sequentie van de gekodeerde eiwitten worden afgeleid. Hierna zal worden geprobeerd deze eiwitten te identificeren, om zodoende een indruk te krijgen welke processen een rol spelen (zie voor achtergrond informatie Old en Primrose, 1989; Sambrook et al. 1989). Tevens zullen de geïsoleerde cDNA's als probe dienen om het exakte moment te bepalen waarop een bepaald gen wordt geaktiveerd. Hiermee kan inzicht worden verkregen in de volgorde van de processen die zich afspelen en mogelijk in het belang van het desbetreffende proces. Bovendien worden op deze manier markers verkregen die de diverse stadia kunnen typeren.

De geïsoleerde cDNA's zullen ook worden gebruikt om te bepalen welke invloed de diverse hormonen hebben op de genexpressie. Hiervoor zal de invloed op de genexpressie in de tijd worden bekenen aan weefsels die *in vitro* met diverse hormonen worden geïnkubeerd.

Op beperkte schaal zal worden bepaald welke processen zijn gestoord in de diverse mutanten die er zijn, zoals dwergvormen.

Naast deze benadering zal gericht worden gekeken naar genen, die koderen voor eiwitten die betrokken zijn bij de sink vorming in de bloemstengel. Uit recent onderzoek aan de Rijksuniversiteit van Utrecht door Hilde Lambrechts en uit

aanvullend onderzoek in samenwerking met het ATO-DLO is namelijk duidelijk geworden dat na het uitplanten van koude behandelde tulpebollen een celwand gebonden, sucrose splitsende aktiviteit wordt geaktiveerd in de internodiën van de bloemstengel. Deze enzymatische aktiviteit heeft een pH-optimum in het zure gebied en is naar alle waarschijnlijkheid het enzym invertase. De invertase aktiviteit kan mbv IAA worden geïnduceerd in de stengel van de tulp zoals eerder is aangetoond (Banasik en Saniewski, 1979). De verhoogde sucrose splitsende aktiviteit is als eerste te detekteren in het laagste internodium, nadat de stengelstrekking is begonnen en vervolgens in de hogere internodia. De induktie blijft achterwege, of wordt sterk vertraagd, in planten die bij 17 C zijn bewaard. Uit onderzoek aan bijvoorbeeld erwteplanten blijkt, dat de induktie van invertase gekorreleerd is met de aanwezigheid van een sink in dat weefsel (Weil en Rausch, 1990; Turgeon, 1989; Turgeon en Beebe, 1991). Bovendien blijkt dat invertase ook geïnduceerd kan worden mbv gibberelline (Morris en Arthur, 1985; Estruch en Beltrán, 1991). Deze gegevens maken het aannemelijk, dat de aanleg van een sink in de stengel van koude behandelde tulpebollen een van de processen is die door de veranderde toestand van de bol wordt geïnduceerd. Niet duidelijk is nog of de induktie van een sink primair door de koude wordt gereguleerd of dat het een secundair effekt is, dat optreedt als de stengel al aan het strekken is.

Enkele van de genen die betrokken zijn bij de sink vorming, zoals de genen voor invertase en de hexose transporter zullen rechtstreeks worden gekloneerd. Dit is mogelijk doordat de sequentie van deze genen al is bepaald in andere planten (Sturm en Chrispeels, 1990; Sauer et al., 1990). De verdere analyses zijn zoals boven beschreven. Echter met deze genen zal met name worden getracht te bepalen waarom en hoe juist deze worden geaktiveerd na een koude behandeling.

Tenslotte zal worden nagegaan of genen die een rol spelen bij de vorming van een source in de bolrokken, zoals bijvoorbeeld α-amylase, ook worden geïnduceerd door de koude behandeling. Als dit het geval blijkt te zijn zal worden nagegaan hoe de relatie source/sink een invloed heeft op de uitgroei van de stengel.

4. Fasering

1. Induktie en ontwikkeling van de bloemknop

1e jaar: het in kaart brengen van de ruimtelijke opbouw van de apex en de topografie van de weefsels

2e jaar: het vaststellen van de aan/afwezigheid van plasmodesmata tussen de verschillende weefsels oa mbv mikroinjektie van membraan impermeabele fluorochromen

3e jaar: het karakteriseren van de veranderingen die optreden tijdens de aanleg van de bloem, met name om te bepalen hoe de symplast in de florigene apex zijn structuur reorganiseert

4e jaar: bepalen van de ultrastructuur van plasmodesmata die een rol spelen bij de reorganisatie processen, aanvang moleculaire analyse.

2. *Koude afhankelijke stengelstrekking*
1e jaar: literatuurstudie en verzamelen van tulpebollen
kloneren mbv pcr van genen betrokken bij de sink vorming in de stengel en kloneren van genen betrokken bij de source in de bolrokken
2e jaar: analyse genexpressie van genen betrokken bij sink en source
konstrueren van cDNA banken en screenen op koude geinduceerde RNA's
3e jaar: verdere analyse sink/source op grond van bevindingen van het 2e jaar
analyse genexpressie koude geinduceerde genen; sequentie analyse koude geinduceerde genen; oppikken genomische kloons voor promoter analyse;
4e jaar: verdere transcriptie en sequentie analyse koude geinduceerde RNA's
analyse van de invloed verschillende hormonen op de genexpressie en analyse defekten bij enkele mutanten
algehele evaluatie en selektie van genen die als markers kunnen dienen voor het ontwikkelings stadium

Literatuur

Banasil, L. and Saniewski, M. *Activity of invertase as related to IAA-induced shoot growth in comparison to intact tulips.* **Acta Hortic.** 91 (1979) 235-240.

Boonekamp, P.M., Beijersbergen, J.C.M. and Franssen, J.M. *The development of flowering assays for cold-treated tulip bulbs.* **Acta Hortic.** 266 (1990) 177-181.

Chandler, P.M. and Jacobsen, J.V. *Primer extension studies on α-amylase mRNAs in barley aleuron: II. hormonal regulation of expression.* **Plant Mol.Biol.** 16 (1991) 637-645.

De Hertogh, A.A., Aung, L.H. and Benschop, M. *The tulip: botany, usage, growth and development.* **Hort.Rev.** 5 (1983) 45-125.

Estruch, J.J. and Beltrán, J.P. *Changes in invertase activities precede ovary growth induced by gibberellic acid in Pisum sativum.* **Physiol.Plant.** 81 (1991) 319-326.

Goodwin, P. *Symplast domains in extrastelar tissue of Egeria densa Planch.* **Planta** 163 (1985) 9-19.

Gunning, B.E.S. and Robards, A.W. *Intercellular communication in plants: studies on plasmodesmata.* Springer-Verlag, Berlin. (1976).

Hoogeterp, P. *De vroege bloei (december) van tulpebollen die bij 5 C zijn gekoeld.* **LBO Lisse Praktijkmededeling** 21 (1967).

Hoogeterp, P. *De invloed van een behandeling van de bol bij hoge temperatuur kort na de oogst op de blad- en bloemaanleg en de bloei van tulpen.* **LBO Lisse Praktijkmededeling** 40 (1973).

Jacobsen, J.V. and Beach, L.R. *Control of transcription of α-amylase and rRNA genes in barley aleurone protoplasts by gibberellin and abscisic acid.* **Nature** 316 (1985) 275-277.

MacMillan, J. and Phinney, B.O. *Biochemical genetics and the regulation of stem elongation by gibberellins.* In: Physiology of cell expansion during plant growth, edited by D.J. Cosgrove and D.P. Knievel. The Pennsylvania State University, (1987) p. 156-171.

Morris, D.A. and Arthur, E.D. *Effects of gibberellic acid on patterns of carbohydrate distribution and acid invertase activity in Phaseolus vulgaris.* **Physiol.Plant.** 65 (1985) 257-262.

Old, R.W. and Primrose, S.B. *Principles of gene manipulation: an introduction to genetic engineering.* Blackwell Scientific Publications, Oxford. (1989)

Rees, A.R. *The growth of bulbs: applied aspects of physiology of ornamental bulbous crop plants.* Academic Press, New York. (1972).

Robards, A.W., Lucas, W.J., Pitts, J.D., Jongsma, H.J. and Spray, D.C. *Parallels in cell to cell junctions in plant and animals.* Springer-Verlag, Berlin. (1991).

Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. *Molecular cloning: a laboratory manual.* Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. (1989).

Santiago, J.F. and Goodwin, P.B. *Restricted cell/cell communication in the shoot apex of Silene coeli-rosa during the transition to flowering is associated with a high mitotic indez rather than with evocation.* **Protoplasma** 146 (1988) 52-60.

Sauer, N., Friedländer, K. and Gräml-Wicke, U. *Primary structure, genomic organization and heterologous expression of a glucose transporter from Arabidopsis thaliana.* **EMBO J.** 9 (1990) 3045-3050.

Sturm, A. and Chrispeels, M.J. *cDNA cloning of carrot extracellular β-fructosidase and its expression in response to wounding and bacterial infection.* **Plant Cell** 2 (1990) 1107-1119.

Theologis, A. *Possible link between auxin regulated gene expression, H+ secretion, and cell elongation: a hypothesis.* In: Physiology of cell expansion during plant growth, edited by D.J. Cosgrove and D.P. Knievel. The Pennsylvania State University, (1987) p. 133-144.

Tilney, L.W., Cooke, T.J., Connely, P.S. and Tilney, M.S. *The distribution of plasmodesmata and its relation to morphogenesis in fern gametophytes.* **Development** 110 (1990) 1209-1221.

Turgeon, R. *The sink-source transition in leaves.* **Ann.Rev.Plant Physiol.Plant Mol.Biol.** 40 (1989) 119-138.

Turgeon, R. and Beebe, D.U. *The evidence for symplastic phloem loading.* **Plant Physiol.** 96 (1991) 349-354.

Weil, M. and Rausch, T. *Cell wall invertase in tobacco crown gall cells.* **Plant Physiol.** 94 (1990) 1575-1581.

Wolf, S., Deom, C.M., Beachy, R.N. and Lucas, W.J. *Movement protein of tobacco mosaic virus modifies plasmodesmatal size exclusion limit.* **Science** 246 (1989) 377-379.

2. Bestrijding van bewaarpathogenen bij bloembollen

Toepassing van etherische oliën, plantaardige metabolieten en antagonistische microörganismen

1. Probleem, aard en doelstelling.

Een algemeen voorkomende bewaarziekte bij bloembollen is bewaarrot. Deze ziekte wordt veroorzaakt door schimmels behorende tot het geslacht *Penicillium*. Aantasting door deze schimmel leidt tot kwalitatieve en kwantitatieve verliezen bij bewaring van met name bol- en knolgewassen behorende tot de lelie- en irisachtigen (Mandersloot; 1981).

Chauhan en Saaltink (1969) hebben aangetoond dat op hyacint bollen *Penicillium hirsutum* Dierckx (syn. *P. verrucosum* var. *corymbiferum* Westling, *P. corymbiferum* Westling) de pathogene soort is. Dezelfde *Penicillium*-soort is verantwoordelijk voor aantasting van iris bollen (Saaltink; 1965; 1968), krokus (Sutton & Wale; 1986), narcis (Plate & Schneider; 1967), lelie (Boontjes; 1971) en tulp (Schipper & Muller; 1968, Saaltink; 1971). Aantasting van *Gladiolus* tijdens de bewaring wordt veroorzaakt door *P. gladioli* (McCulloch; 1928).

Bij onbeschadigde en gezonde bloembollen geven de genoemde pathogene schimmels in het algemeen geen problemen. Sporen kiemen bij temperaturen van rond 17°C en een hoge relatieve luchtvochtigheid. Infectie van de bloembol door *P. hirsutum* en *P. gladioli* vindt alleen plaats via verwondingen aan de bol (Saaltink; 1965). Deze beschadigingen kunnen op twee manieren ontstaan: (i) bij het manipuleren van de bollen tijdens de oogst, behandeling, transport en opslag, (ii) door het uitgroeien van de worteluiteinden, waarbij tijdelijk scheuren ontstaan in het bolweefsel (Saaltink; 1966; 1968). De zodanig gevormde beschadigingen aan de bloembol vormen een toegangsweg voor de pathogene *Penicillium*-soorten. Om deze reden worden de genoemde schimmels wond-afhankelijke parasieten genoemd (Saaltink; 1968).

De eerste symptomen verschijnen aan de rand van de bodem van de bol, waarna verspreiding in laterale en verticale richting plaatsvindt via het weefsel van de bolrokken. De aangetaste weefsels zijn lichtbruin en de mycelium dichtheid is het hoogst nabij de oorsprong van de wortels rond de bodemplaat van de bol. Sporulering wordt in het algemeen waargenomen tussen de bolrokken en geeft de aangetaste bol een groen-blauw uiterlijk (Chauhan & Saaltink; 1969). Bij een droge bewaring kan het groene schimmelpluis geheel ontbreken. Aangetaste lelie-, hyacint-, gladiool- en krokus-bollen komen na aantasting niet meer op en zijn waardeloos geworden. Aangetaste iris bollen kunnen nog normaal in bloei komen of blijven blind omdat niet alleen de bolrokken, maar ook de bolbodem is aangetast. Bij tulpebollen worden de bolrokken niet aangetast en wordt de bloeibaarheid niet beïnvloed na aantasting (Mandersloot; 1981).

Praktijk ervaringen en onderzoek hebben duidelijk gemaakt dat de mate van *Penicillium* aantasting van bloembollen sterk afhankelijk is van de bewaaromstandigheden. Chauhan en Saaltink (1969) hebben aangetoond dat een bewaartemperatuur van 9°C een sterkere aantasting van hyacintbollen geeft dan bewaring bij 13°C of 25°C. Lage temperatuur en hoge relatieve luchtvochtigheid kunnen de aantasting van hyacintbollen sterk bevorderen omdat deze omstandigheden zowel de groei van de schimmel stimuleert als ook de vorming van

wortels induceert (Saaltink; 1971). Dit laatste leidt tot de vorming van wonden welke ingangspoorten voor de schimmel zijn. Manipulatie van beide parameters (temperatuur en relatieve luchtvochtigheid) tijdens bewaaromstandigheden leidt echter niet altijd tot het terugdringen van bewaarrot.

De waargenomen temperatuurseffecten bij bewaring laten zien dat wondheling een belangrijke rol kan spelen bij de afweer van de bol tegen infectie door *P. hirsutum*. Artschwager en Starlett (1931) hebben aangetoond dat er bij *Gladiolus* periderm weefsel wordt gevormd op de plaats van verwonding. Bij 22°C bleek periderm vorming rond het wondweefsel in één dag volledig. Bij 4,5°C bleek de bol vijftien dagen nodig te hebben voor een volledige afsluiting van het beschadigde weefsel. Hierdoor zijn bloembollen bij bewaring bij relatief lage temperaturen dus langer vatbaar voor *Penicillium* infectie. Hoewel in verwond weefsel van de irisbollen in tegenstelling tot een gladioolbol, geen cambium of periderm vorming wordt waargenomen, ontwikkelen deze bollen, met name onder vochtige omstandigheden, een resistentie tegen *Penicillium* infectie (Saaltink; 1971). Het mechanisme van deze vorm van resistentie ontwikkeling is onbekend.

Er zijn in de praktijk verschillende bewaarmethoden ontwikkeld om uitval tengevolge van *Penicillium* infectie te beperken (Vreeburg & Korsuize; 1991[B], Meesters; 1991, Braam; 1991). Een voorbeeld hiervan is dat bewaring na de oogst enkele dagen bij 30°C plaats vindt, waarna bewaring bij een lage temperatuur (2°C) wordt voortgezet. Onderzoek van Roebroeck en Mes (1989) heeft aangetoond dat het vaststellen van de optimale duur van de 30°C behandeling essentieel is en mogelijk per soort bol verschilt. Bij leliebollen is 2 dagen bij 30°C onvoldoende om *Penicillium* aantasting te onderdrukken.

Penicillium sporen zijn altijd en overal aanwezig. Als gevolg hiervan kunnen schijnbaar schone bollen na de opslag, toch bewaarrot ontwikkelen in de broeierij. Speciale kultuurmaatregelen met betrekking tot de preparatie van hyacintbollen kan de uitval door bewaarrot echter beperken (Vreeburg & Korsuize; 1991[A]). De behandeling na bewaring van irisbollen heeft als ongewenst neveneffect dat uitval door *Penicillium* zeer hoog kan zijn (Schippers & van der Weijden; 1990). Eveneens kan in dit geval de uitval beperkt worden door optimalisering van de nabehandeling. Een volledige controle van de schimmel is echter niet mogelijk.

Het gebruik van chemische middelen ter bestrijding van *Penicillium* brengt steeds meer problemen met zich mee onder meer vanwege het gevaar van deze stoffen voor mens en milieu. Mede daarom is te verwachten dat van verschillende chemische middelen op korte termijn de produktie wordt gestopt en de toelating wordt ingetrokken (o.a captofol bij lelie). Verder blijken verschillende middelen niet effectief tegen bewaarrot (benomyl, captofol, mancozeb en thiram bij krokus) (Sutton & Wale; 1986). Toepassing van middelen zoals benzimidazole bij de beheersing van *Penicillium* op iris bleek alleen enig effect te hebben indien werd gewerkt onder de juiste bewaaromstandigheden (Gould & Miller; 1970).

Tengevolge van de boven geschetste situatie is er behoefte aan nieuwe, milieuvriendelijke en meer effectieve methoden waarmee bewaarrot bij bloembollen bestreden kan worden. Het doel van dit project is het ontwikkelen van biologische en biochemische methoden om bij bewaring, infectie van bloembollen (tulp, iris, lelie, narcis en hyacint) door *P. hirsutum* te voorkómen en/of te bestrijden. Op het biologische terrein zal gezocht worden naar antagonistisch werkzame micro-organismen (bacteriën, gisten en schimmels) waarmee *P. hirsutum* effectief bestreden kan worden. Op het biochemische terrein zullen alternatieve, bestrijdingsmiddelen onderzocht worden die van nature in bepaalde planten voorkomen en die, bij toepassing, het milieu niet belasten.

Biologische bestrijding. Een alternatieve manier om ziekten veroorzaakt door plantpathogenen te bestrijden is het gebruik van antagonistisch werkzame microorganismen (bacteriën, gisten of schimmels) welke zelf onschadelijk zijn voor de waardplant. Hierbij wordt gebruik gemaakt van het in de natuur voorkomende fenomeen van concurrerende microben. Gezocht wordt dan naar een type organisme (een antagonist) dat heel gericht één, of liever nog meerdere, ziekteverwekkers in hun groei remt of zelfs doodt. Deze vorm van bestrijding is tot op heden bij vele gewassen reeds onderzocht en in de praktijk bruikbare systemen zijn voor sommige toepassingen al ontwikkeld. Voorbeelden van antagonistische systemen die bij bolgewassen onderzocht werden zijn echter zeer schaars: o.a. de mycoparasitaire schimmel *Trichoderma* sp. tegen *Rhizoctonia, Sclerotinia, Sclerotium* en diverse typen rot (Campbell; 1989) bij bolgewassen naast *Trichoderma viride, Minimedusa polyspora* en *Streptomyces* sp. tegen zuurrot bij narcis (Beale & Pitt; 1990). In deze laatste studie worden veelbelovende resultaten gerapporteerd met geïntegreerde bestrijding van *Fusarium oxysporum* f. sp. *narcissi* (*T.viride* gecombineerd met thiabendazole). Met fluorescente pseudomonaden, geïsoleerd uit de rhizosfeer van *Pythium*-aangetaste tulpebollen, kon *Pythium*-aantasting van tulpebollen worden onderdrukt (Weststeijn; 1990). Deze effecten werden zowel waargenomen bij bacterisatie van de grond als bij bacterisatie van de bollen zelf. In het algemeen bevinden zich in de populatie van natuurlijke bewoners van de rhizosfeer verschillende soorten bacteriën met fungicide of fungistatische eigenschappen (Lievens e.a.; 1989).

Voor de toepassing van biologische bestrijding van *Penicillium*-soorten zijn de mogelijkheden van antagonistische schimmels (DeMatos; 1983, Borras & Aguilar; 1990), bacteriën en gisten (Wilson & Chalutz; 1989) onderzocht. *Pseudomonas cepacia* bleek bij *Penicillium digitatum* en *Penicillium italicum* (de veroorzakers van rot op citrusvruchten) effectief. De onlangs geïsoleerde en gekarakteriseerde nieuwe soort *Pseudomonas antimicrobica* heeft een breedspectrum antagonistische werking tegen 33 verschillende schimmel- en 8 bacteriesoorten (Attafuah & Bradbury; 1989). *P. antimicrobica* bleek sommige schimmels te remmen en andere te lyseren (mycolytische activiteit). De groei van *Penicillium ehrlichii* Klebahn, *P. expansum* Link en *P. funiculosum* Thom werd *in vitro* na 72 uur incubatie met de bacterie volledig tot staan gebracht. Deze inventarisatie van literatuur gegevens geeft aan dat het zinvol is de mogelijkheden van een biologische bestrijdingsmethode voor *P. hirsutum* op bloembollen te onderzoeken .

Biochemische bestrijding. Een alternatief voor biologische bestrijding van bewaarpathogenen is het toepassen van biochemische methoden. Deze methoden zijn gebaseerd op het gegeven dat vele planten metabolieten bevatten met een biocide of biostatische werking. Deze natuurlijke biociden kunnen een remmende werking hebben op pathogenen die vergelijkbaar goed is als die van synthetisch chemische middelen. Een voorbeeld zijn de glycoalkaloïden die in nachtschadegewassen (aardappel, tomaat) voorkomen en die de ontwikkeling van bijvoorbeeld *Fusarium*, *Phytophthora* en *Alternaria* kunnen remmen (Tingey; 1984).

Etherische oliën van gewassen als karwij en citrusvruchten, met als werkzaam bestanddeel respectievelijk carvon of citral, kunnen een biocide effect hebben (Göckeritz e.a.; 1974, Moleyar & Narasimham; 1986). De fungicide werking van een groot aantal componenten van etherische oliën (alifatische aldehyden en ketonen) is onderzocht op verschillende soorten schimmels. Cinnemaldehyde, perillaldehyde, citral en cuminaldehyde bleken een groeiremmend effect op *Penicillium cyclopium* en *P. frequentans* te hebben (Kurita e.a.; 1981). Dankzij het vluchtige karakter van terpenoiden (citral, carvon, limoneen en eugenol) kunnen deze verbindingen, door toediening via de gasfase (Matsuoka e.a.; 1990), op een relatief eenvoudige manier toegepast worden in de bewaarsituatie. Met relatief lage doseringen van citral en eugenol kon de groei van een typische bewaarschimmel als *Penicillium italicum* volledig geremd worden (Asthana e.a.; 1988).

Thionines vormen een derde groep plant-eigen verbindingen met antimicrobiële activiteit. Het zijn kleine eiwitten (48 aminozuur residuen) die in de celwanden van het endosperm van gewassen als tarwe, gerst, rogge en haver voorkomen. Verder zijn er bladspecifieke thionines aangetoond bij gerst (Bohlmannn e.a.; 1988). Van deze thionines wordt verondersteld dat ze een rol spelen bij de afweer tegen plantpathogene microörganismen. Van enkele bekende thionines is de antimicrobiële werking onderzocht. Thionine uit het endosperm van tarwe remt de groei van enkele bacteriesoorten (*Erwinia*, *Xanthomonas*, *Corynebacterium* en *Pseudomonas*) (Fernandez de Caleya e.a.; 1972). Verder is aangetoond dat bladspecifieke-thionines de groei van de fytopathogene schimmels *Thievaliopsis paradoxa* en *Drechslera teres* sterk remmmen. (Bohlmannn e.a.; 1988).

Aan alle drie groepen natuurlijke biociden wordt op het ATO in ander verband reeds onderzoek verricht. Zo wordt voor de thionines, die in zeer geringe hoeveelheid in de genoemde gewassen voorkomen, nagegaan of grootschalige produktie mogelijk is via microbiële producenten (bacteriën en gisten). Als voldoende materiaal voor handen is kan gestart worden met de toetsing van de werking van thionines t.o.v. de pathogenen in het bollenonderzoek.

Gezien het gegeven dat er voor *Penicillium*-rot momenteel geen afdoende bestrijding voorhanden is, lijkt het zinvol te zoeken naar zowel biologische als biochemische bestrijdingsmethoden van deze bewaarpathogeen.

2. Motivering en te verwachten effecten.

Bestrijding van bewaarziekten bij bloembollen met milieuvriendelijke middelen is van economisch belang. In het voorgestelde onderzoek zullen de mogelijkheden van antagonistische microörganismen, componenten van etherische oliën en thionines voor de bestrijding van bewaarrot worden nagegaan. Verder zullen de onderzochte bestrijdingsmethoden aangepast en geoptimaliseerd worden voor toepassing in de huidige bewaarpraktijk van verschillende bolgewassen.

Onderzoek van de interactie antagonist/pathogeen en bestrijdingsmiddel/pathogeen zal kennis opleveren die een bredere toepassing heeft.

3. Werkwijze.

ad. Biologische bestrijding

De gevoeligheid van een viertal stammen van *Penicillium hirsutum* Dierckx, geïsoleerd van respectievelijk *Hyacinthus*, *Iris*, *Lilium*, en *Tulipa*, voor (potentiele) antagonisten zal *in vitro* en *in situ* getoetst worden . De *in vitro* toetsing zal gedaan worden door de groei van de pathogenen in aanwezigheid van antagonisten op een voedingbodem te meten. De *in situ* toetsing wordt uitgevoerd door de ontwikkeling van de pathogeen (*Penicillium hirsutum*) op de waardplant (bol van tulp, lelie, iris, narcis of hyacint), in aanwezigheid van antagonisten, te volgen onder bewaaromstandigheden van de waardplant. De te testen antagonisten zullen betrokken worden uit bestaande, uit de literatuur geselecteerde collecties. Verder zullen antagonisten geïsoleerd worden uit de teeltaarde (rhizosfeer) van de waardplant. De geselecteerde antagonistische microörganismen zullen onder verschillende bewaaromstandigheden op hun werking worden onderzocht.

Verder zal de interactie tussen de geselecteerde antagonisten en *Penicillium*-isolaten bestudeerd worden.

ad. Biochemische bestrijding.

1. Etherische oliën. Karwijolie is een complex mengsel bestaande uit meer dan 30 geïdentificeerde componenten. De belangrijkste componenten zijn D-carvon (50.02 %) en limoneen (46.65 %). Deze twee monoterpenen zijn in grote hoeveelheden uit karwijolie te isoleren en te zuiveren. De gevoeligheid van de verschillende *Penicillium*-isolaten voor de remstoffen zal onderling vergeleken worden. In een *in vitro* toets wordt nagegaan hoe de diverse pathogenen zich op een voedingbodem kunnen ontwikkelen in aanwezigheid van een remstof. Verder is er op het ATO een *in situ* toetssysteem uitgewerkt waarbij de ontwikkeling van sporen van de pathogeen geënt op gastheerweefsel gevolgd kan worden i.a.v. de remstof. Tenslotte zal nagegaan worden hoe de effectiviteit afhangt van de methode van toediening (gasfase versus toediening in oplossing).

Bij eerder onderzoek op het ATO is, gebruik makend van beide toetstmethoden, gebleken dat carvon de ontwikkeling van bepaalde aardappelpathogene *Fusarium*-, *Phytophthora*- en *Phoma*-soorten zeer sterk kan remmen. Er bleken echter tussen nauw verwante soorten grote verschillen te bestaan met betrekking tot de mate van gevoeligheid voor de remstof. Het biologische mechanisme van dit

verschil is onduidelijk. Indien de *Penicillium*-isolaten verschillend reageren componenten van karwijolie, zal getracht worden hier een verklaring voor te vinden.

Afhankelijk van de effectiviteit van karwijolie zal toepassing van andere componenten van essentiële oliën voor de bestrijding van o.a. *P. hirsutum* onderzocht worden.

2. Thionines. Recentelijk is op het ATO een gen dat codeerd voor een thionine gekloneerd, gesequenced en tot expressie gebracht in *Escherichia coli* (Jacobs; 1990). Met dit expressie systeem kan 2 mg thionine geproduceerd worden per liter *E. coli* culture. Nagegaan zal worden of grootschalige produktie mogelijk is via de gist *Saccharomyces cerevisae.*

Het thionine-preparaat, geproduceerd via *E. coli*, kan gebruikt worden voor het uitvoeren van *in vitro* inhibitietoetsen op pathogene *Penicillium*-soorten. Hierbij wordt allereerst de concentratie afhankelijkheid van groeiremming van *P. hirsutum in vitro* bepaald.

Afhankelijk van de resultaten van deze inhibitieproeven, zal het werkingsmechanisme van thionine bestudeerd worden. Tenslotte zal er dan gezocht worden naar geschikte doseringsmethodieken voor thionine (o.a. slow release systemen).

4. Fasering.

1991	1992	1993	1994	Onderwerp
x				1. *in vitro* testen van monoterpenen op effectiviteit t.a.v. groeiremming van *Penicillium hirsutum* ex *Hyacinthus*, ex *Iris*, ex *Lilium* en ex *Tulipa.*
x	x			2. *in vitro* testen van thionine op effectiviteit t.a.v. groeiremming van *Penicillium hirsutum* ex *Hyacinthus*, ex *Iris*, ex *Lilium* en ex *Tulipa.*
x				3. Acquisitie van antagonistische schimmels en bacteriën.
	x			4. Bestudering van effectiviteit van componenten van eterische oliën bij toediening aan doelwitpathogenen via gasfase en in waterig milieu.

x	x			5. *in vitro* toetsen van groei van *Penicillium hirsutum* ex *Hyacinthus*, ex *Iris*, ex *Lilium* en ex *Tulipa* in aanwezigheid van antagonisten uit cultuurcollecties op effectiviteit.
x	x			6. Isolatie en identificatie van antagonisten uit teeltaarde.
	x			7. *in vitro* toetsen van groei van *Penicillium hirsutum* ex *Hyacinthus*, ex *Iris*, ex *Lilium* en ex *Tulipa* in aanwezigheid van geïsoleerde antagonisten.
		x		8. Bestudering van het mechanisme van schimmelgroei inhibitie door carvon of andere componenten uit karwijolie.
	x	x	x	9. *in situ* testen van monoterpenen op remming van infectie van de verschillende waardplanten (bol van tulp, iris, lelie en hyacint) door *Penicillium hirsutum* ex *Hyacinthus*, ex *Iris*, ex *Lilium* en ex *Tulipa*. Hierbij zullen waardplantspecifieke bewaarregimes opgelegd worden.
		x	x	10. Toepassing van de onder punt 5 en 7 geselecteerde antagonisten in een bewaarsituatie met geïnoculeerd waardplant materiaal. Hierbij zullen verschillende dosering technieken (bacterisatie, verstuiving) onderzocht worden.
			x	11. Ontwikkeling van applicatie technieken voor toepassing van thionines bij de bestrijding van *P. hirsutum* aantasting.
			x	12. Formulering van bewaaradviezen en nieuwe bestrijdingsmethodieken gebaseerd op de in dit onderzoek verkregen informatie.

Literatuur

Artschwager, E. and A.C. Starlett. 1931. Suberization and wound periderm formation in sweet potato and *Gladiolus* as affected by temperature and relative humudity. J. Agric. Res. **43**:353-364.

Astahana, A., K. Dixit and N. Kishore. 1988. Toxicity of citral and eugenol against some storage fungi. Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz, Berlin **24**:417-421.

Attafuah, A. and J.F. Bradbury. 1989. *Pseudomonas antimicrobica*, a new species strongly antagonistic to plant pathogens. J. Appl. Bacteriol. **67**:567-573.

Beale, R.E. and D. Pitt. 1990. Biological and integrated control of *Fusarium* basal rot of *Narcissus* using *Minimedusa polyspora* and other micro-organisms. Plant Pathology **39**:477-488.

Bohlmann, H., S. Clausen, S. Behnke, H. Giese, C. Hiller, U. Reimann-Philipp, G. Schrader, V. Barkholt and K. Apel. 1988. Leaf-specific thionins of barley -a novel class of cell wall proteins toxic to plant-pathogenic fungi and possibly involved in the defence mechanism of plants. EMBO J. **7**:1559-1565

Boontjes, J. 1971. *Penicillium*-rot bij leliebollen. Vakblad voor de Bloemisterij no. 26:8-9.

Borras, A.D. and R.V. Aguilar. 1990. Biological control of *Penicillium digitatum* by *Trichoderma viridi* on postharverst citrus fruits. Int. J. Food Microbiol. **11**:179-183.

Braam, G. 1991. Schimmels in miniatuurnarcissen. Goed drogen voorkomt problemen met *Botrytis* en *Penicillium*. Bloembollencultuur no. 14:18-19.

Campbell, R. 1989. The use of microbial inoculants in the biological control of plant diseases. *In*: Microbial inoculation of crop plants, Campbell, R.E. and R.M. Macdonald (Eds.) Special publications of the society for general microbiology vol. **25**:67-77, IRL Press at Oxford University Press, Oxford, U.K.

Chauhan, S.K. and G.J. Saaltink. 1969. A penicillium attack on hyacinth bulbs as affected by temperature and humidity. Neth. J. Pl. Path. **75**:197-204.

DeMatos, A.P. 1983. Chemical and microbiological factors influencing the infection of lemons by *Geotrichum candidum* and *Penicillium digitatum*. Ph.D. thesis, University of California, U.S.A.

Fernandez de Caleya, R., B. Gonzalez-Pascual, F. García-Olmedo and P. Carbonero. 1972. Susceptibility of phytopathogenic bacteria to wheat purothionins *in vitro*. Appl. Microbiol. **23**:998-1000.

Göckeritz, D., W. Weuffen and H. Höppe. 1974. Terpene und terpenderivate vom Carvon und Camphertyp - ihre antimikrobiellen und verminoxen Eigenschaften. Pharmazie **29**:339-344.

Gould, Ch.J. and V.L. Miller. 1970. Control of *Fusarium* and *Penicillium* rots of iris, tulip, and narcissus with thiabendazole and benomyl. Acta Horticulturae **23**:178-186.

Jacobs, M.H.J. 1990. Produktie van polypeptiden met preserverende eigenschappen voor toepassingen in de voedingsmiddelenindustrie. Jaarverslag ATO Agrotechnologie 1990. p.74.

Lievens, K.H., R. Van Rijsbergen, F.R. Leyns, B.J. Lambert, P. Tenning, J. Swings and H.J-P. Joos. 1989. Dominant rhizosphere bacteria as a source for antifungal agents. Pestic. Sci. **27**:141-154.

Kurita, N., M. Miyaji, R. Kuranje and Y. Takahara. 1981. Antifungal activity of components of essential oils. Agric. Biol. Chem. **45**:945-952.

Mandersloot, H.J. (ed.) 1981. Gids voor ziekten- en onkruidbestrijding in land- en tuinbouw. Consulentschappen voor planteziektenbestrijding-Wageningen, Nederland.

Matsuoku, H., Y. II, Y. Takekawa and T. Teraoka. 1990. Evaluation of antifungal volatile compounds on the basis of the elongation rate of a single hypha. Appl. Environ. Microbiol. **56**:3779-3784.

McCulloch, L. 1928. A rot of *Gladiolus* corms caused by *Penicillium gladioli* McCulloch & Thom. J. Agric. Res. **36**:217-224.

Meesters, H. 1991. *Penicillium* in iris. Bestrijden betekent beperken. Bleombollencultuur no. 14:27.

Moleyar, V. and P. Narasimham. 1986. Antifungal activity of some essential oil components. Food Microbiology **3**:331-336.

Plate, H.P. und R. Schneider. 1967. *Penicillium* Zwiebelfäule auch an Narzissen. Gartenwelt **67**:229-230.

Roebroeck, E.J.A. en J.J. Mes. 1989. *Penicillium* in bloembolgewassen. Jaarverslag 1989, Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, p.83-84, Lisse, The Netherlands

Saaltink, G.J. 1965. *Penicillium corymbiferum* als parasiet van boliris. Meded. Landb. Hogesch. Opzoekstns. Gent **30**:1652-1659.

Saaltink, G.J. 1966. *Penicillium corymbiferum* als gelegenheidsparasiet van boliris. Neth. J. Pl. Path. **72**:207.

Saaltink, G.J. 1968. *Penicillium corymbiferum* entering bulbous iris through wounds. Neth. J. Pl. Path. **74**:85-93.

Saaltink, G.J. 1971. The infection of bulbs by *Penicillium* sp. Acta Horticulture-a **23**:235-241.

Schipper, J.A. en P.J. Muller. 1968. De invloed van beschadiging en aantasting door *Penicillium* spec. op de kwaliteit van bloembollen. Mededelingen Rijksfaculteit voor Landbouwwetenschappen Gent nr. **33**:981-986.

Schippers, J.A., en J.A. van der Weijden. 1990. Nabehandeling iris bol bij 9 C constant. Risico *Penicillium* bij langere bewaring beperkt. Bloembollencultuur no. 19:24-26.

Sutton, M.W. and S.J. Wale. 1986. Husbandry practices and the control of *Penicillium corymbiferum* on *Crocus*. Acta Horticulturae **177**:92.

Tingey, W.M. 1984. Glycoalkaloids as pest resistance factors. Potato J. **61**:157-167.

Vreeburg, P.J.M. en C.A. Korsuize. 1991[A]. Penicillium bij geprepareerde hyacinthebollen. Cultuurmaatregelen kunnen uitval beperken. Bloembollencultuur no. 12:38-39.

Vreeburg, P.J.M. en C.A. Korsuize. 1991[B]. Tête-à-tête als potnarcis. Warm bewaren beperkt uitval en verhoogt kwaliteit. Bloembollencultuur no. 14:20-21.

Weststeijn, E.A. 1990. Fluorescent *Pseudomonas* isolate E11.3 as biocontrol agent for *Pythium* root rot in tulips. Neth. J. Pl. Path. **96**:261-272.

Wilson, C.L. and E. Chalutz. 1989. Postharvest biological control of *Penicillium* rots of citrus with antagonistic yeast and bacteria. Scientia Horticulturae **40**:105-112.

3. Logistieke besturing tijdens de distributie van bloembollen

1. Probleem, aard en doelstelling.

1.1. Inleiding.

Een cluster van projekten is gericht op de logistieke aspekten van de distributie van bloembollen. De volgende projekten maken deel uit van deze cluster:

1. Besturing van processen in de afzetketen van bloembollen
2. Kwaliteitsverloopmodellering
3. Intelligente regelsystemen voor gekonditioneerde opslag en transport
4. Computer Beeld Analyse (CBA).

Aan de groepering van deze 4 projekten in een cluster liggen een aantal redenen ten grondslag. Ten eerste is in het onderzoek een sterke cohesie te onderkennen tussen de werkzaamheden binnen de verschillende projekten. Ten tweede dient er uitwisseling van resultaten tussen de projekten plaats te vinden: logistieke besturing die rekening houdt met kwaliteit kan niet zonder een kwaliteitsverloopmodel, of gebruikt objektief te bepalen kwaliteitsparameters (middels CBA) voor de besturing.

Om deze redenen zal probleem, aard en doelstelling hieronder beschreven worden voor het logistieke onderzoek in het algemeen, dwz voor alle 4 genoemde projekten. Daarna zullen de verschillende onderdelen van de beschrijving zich richten op de afzonderlijke projekten, waarbij de probleemstelling uitgediept wordt, en de werkwijze wordt aangegeven.

1.2. Probleemstelling.

Sinds een aantal jaren is er toenemende belangstelling voor integrale ketenbesturing. In veel gevallen gaat het hierbij om onderzoek gericht op de effecten van handelingen in een bepaalde schakel van de keten op de performance van andere schakels (Hoogerwerf et al, 1991). Het blijkt echter dat veel van dit onderzoek eigenlijk niet de naam van integraal mag dragen, omdat slechts een of enkele aspekten worden meegenomen.

Onderzoek naar logistieke processen, zowel vanuit technische als bestuurskundige invalshoek, kent een veel langere traditie. Met name het technisch/technologische onderzoek is zeer uitgebreid. Vaak is dit onderzoek aspektgericht (bijvoorbeeld één bepaald proces in de keten, of één type machine). Nadeel van deze onderzoeken is dat ze veelal leiden tot lokale optima, maar dat het totale keteneffect suboptimaal is (Reinders, 1990). Onderzoek naar logistieke besturing van processen en organisaties kent een lange traditie.

Ook in de bollensektor is logistiek onderzoek verricht, met name technisch georienteerd (zie o.a. Boerrigter, 1986). Technisch onderzoek van bijvoorbeeld het LBO richt zich in grote mate op de teeltsektor, iets dat buiten het onderzoekveld van het ATO valt. Aandacht voor ketenbesturing is tot nu toe achterwege gebleven. Dit heeft ertoe geleid dat vele processen op lokaal niveau goed

bestuurd en beheerst kunnen worden, maar dat daarbij niet formeel rekening wordt gehouden met andere processen in de keten (Urlings en Hoogerwerf, 1991). Hierdoor worden sterke punten van de sektor te weinig uitgebaat (KWW, 1991, persoonlijke kommunikatie). Onderzoek dat zich richt op het expliciet maken van de interacties tussen processen en kwaliteit, en tussen processen onderling, kan bijdragen aan versterking cq betere benutting van de sterke punten van de sektor. Dit kan bijvoorbeeld via de vorming van kleine, lokale netwerken, een aanpak die KWW voorstaat. Daarnaast kan zowel technisch als bestuurskundig logistiek onderzoek oplossingen aanreiken voor huidige knelpunten.

Om zicht te krijgen op de sterke en zwakke kanten van de bloembollensektor, is door ATO een orienterende studie uitgevoerd (Urlings en Hoogerwerf, 1991). Op basis van literatuurstudie, gesprekken met organisaties en bedrijven, en bestudering van cijfermateriaal is de sektor in beeld gebracht. Op basis van deze studie is een aantal problemen geidentificeerd, die onderwerp van perspectiefvol onderzoek kunnen zijn. Het gaat om de volgende onderwerpen:

1. Vaststelling en objectivering van de kwaliteitsdefinitie in de verschillende schakels van de keten, en van het verloop van de kwaliteit onder heersende ketenomstandigheden, zodanig dat het aspekt kwaliteit op operationeel niveau nog beter bestuurd kan worden.
2. Besturing van logistieke processen, met name rekening houdend met een objectiever kwaliteitsbeeld (sorteren, besturing van opslag- en transportprocessen)

1.3. Aard van het onderzoek.

Logistiek is een multidiscipline. O.a. wiskunde, bedrijfskunde, marktkunde, techniek, leveren een input aan logistiek onderzoek. Ook in de praktijk kan het beoefenen van logistiek niet zonder de inbreng van kennis uit verschillende vakgebieden. Besturing van processen of bedrijven heeft immers altijd zowel technische, bestuurlijke, personele, marktkundige aspekten. Het logistiek onderzoek op het ATO zal daarom ook multidisciplinair zijn. Per onderwerp is echter, voor het realiseren van een konkrete en praktische doelstelling, wetenschappelijke input nodig. Hieronder wordt per projekt besproken wat de wetenschappelijke aspekten zijn, en tot welke konkrete resultaten de wetenschappelijke inspanningen dienen te leiden.

1.4. Doelstelling.

Uit de onder 1.2. beschreven 2 probleemstellingen kunnen een aantal doelstellingen worden afgeleid:

1. Beschrijf de definitie van het begrip kwaliteit, zoals dat in de verschillende schakels van de afzetketen wordt gehanteerd. Eerder onderzoek heeft aangetoond, dat per schakel, soms zelfs per bedrijf, het begrip kwaliteit anders wordt gedefinieerd (Laverman en Zuurbier, 1988). In het

algemeen geldt dat het begrip kwaliteit bestaat uit een aantal komponenten. Deze komponenten kunnen geinventariseerd worden per schakel van de keten. Vervolgens kan de kwaliteitsdefinitie geparametriseerd worden op bedrijfstype, dwz dat aangegeven wordt welk gewicht elke komponent van de algemene kwaliteitsdefinitie heeft voor het betreffende bedrijfstype. Inzicht in kwaliteitsdefinities is belangrijk, omdat componenten van de kwaliteitsdefinitie vaak performance indicatoren zijn waarop bestuurd wordt. Het onderzoek tot nu toe heeft vaak een fysiologische parameter gehanterd voor het begrip kwaliteit, terwijl in de dagelijkse praktijk bedrijven vaak veel sterker sturen op parameters, die slechts een deel, soms geheel geen deel uitmaken van fysiologische kwaliteitsbegrippen.

2. Beschrijf de relatie tussen de vastgestelde kwaliteitskomponenten en voorkomende omgevingsfactoren. Tijdens de na-oogstfase van bloembollen kunnen bloembollen aan verschillende omstandigheden worden blootgesteld. Deze omstandigheden zijn op algemeen niveau te beschrijven in termen van temperatuur, RV, ... Waardóór de omstandigheden veroorzaakt worden is in dit verband onbelangrijk. Door nu de relatie te beschrijven tussen relevante omgevingsfactoren en gehanteerde kwaliteitsparameters, wordt een kwaliteitverloopmodel verkregen dat ingezet kan worden bij de besturing van processen.
3. Ontwerp besturingssystemen voor processen in de afzetketen, die op dit moment niet optimaal zijn. Er zijn in dit verband 3 processen geidentificeerd:
   a. Containertransport. Hier dient een intelligente regeling ontworpen te worden voor transportcontainers, met gebruikmaking van het kwaliteitsverloopmodel;
   b. Produktieplanning op handelsbedrijven. Hier dient een besturingssysteem ontwikkeld te worden dat op basis van maximale leverbetrouwbaarheid een optimale capaciteitsbenutting van mens, machine en grondstof genereerd;
   c. Sortering. Hier dient een Computerbeeldanalyse-methode ontwikkeld te worden die sorteerders in staat stelt sneller en betrouwbaarder op belangrijke kwaliteits- en sorteringsaspekten te sorteren.

De onder punt 1 en 2 genoemde doelstellingen zijn verder uitgewerkt onder het projekt Kwaliteitsverloopmodellering. De onder 3.a. genoemde doelstelling is uitgewerkt in het projektvoorstel Intelligente Bloembollencontainer. Het onder punt 3.b. genoemde onderwerp wordt beschreven in het projekt 'Besturing van logistieke processen in de afzetketen'. Het onder 3.c. genoemde onderwerp wordt behandeld in het projekt 'Computer Beeld Analyse'.

Literatuur

Hoogerwerf, A., M.P. Reinders, S.J. Oosterloo en J. Kanis, 1991. Uitgebreid eindrapport van de programmeringsstudie agrologistiek. ATO-rapport nr. 174.

Hoogerwerf, A., M.P. Reinders, S.J. Oosterloo en J. Kanis, 1991. Een nationaal onderzoekprogramma agrologistiek. ATO-rapport nr. 175.

Reinders, M.P., 1990. Agrologistiek en techniek. Agro-informatica 2(3)pp34-38

Urlings, X.P.M. en A. Hoogerwerf. Ketenonderzoek bloembollen, 1991. ATO-rapport 173.

Kwaliteitsverloopmodellering van bloembollen.

1. Probleem, aard en doelstelling

In de praktijk wworden beslissingen over uit te voeren activiteiten, instellingen van opslag- en transportruimen, doorlooptijden etc mede bepaald door de invloed van de gekozen waarde op de kwaliteit van de bol. Voor een deel is kennis over de invloed van de omgeving op de kwaliteit zeer konkreet en adequaat. Denk bijvoorbeeld aan de voorschriften voor temperatuurbehandeling van diverse bolgewassen. Voor een zeer groot deel wordt de keuze voor een bepaalde instelling of activiteit vooral bepaald door empirie (Boonekamp, 1991, schriftelijke kommunikatie). In de praktijk van alledag voldoet deze benadering vaak goed, vooral op het niveau waarop men kan spreken van een produktexpert.

Steeds verderop in de keten neemt echter de expertise -en dus de empirische kennis- over bolkwaliteit en hoe deze te behouden af. Op supermarktniveau bijvoorbeeld is vrijwel nooit een bollenexpert aanwezig om te waken over de kwaliteit van het produkt. Eenzelfde redenering geldt voor de sektor zelf: de teler of handelaar is bolexpert, beleidsmakers staan vaak ver van het produkt af.

Toch worden zowel verderop in de keten als op beleidsniveau vaak maatregelen genomen die de bolkwaliteit rechtstreeks raken. Denk bijvoorbeeld aan het NMP, waarin bepaalde stoffen worden verboden zonder dat er alternatieven zijn. Het lijkt daarom zinvol om de kennis over kwaliteitsverloop te formaliseren in een model, waarmee beslissers in de keten en in de sektor hun inzicht in de effecten van hun maatregelen op de kwaliteit kunnen vergroten.

Momenteel is nog niet duidelijk hoeveel kwantitatieve en betrouwbare informatie aanwezig is voor het bouwen van een kwantitatief KVM. Boonekamp (1991, schriftelijke kommunikatie) betwijfeld dit. In het verleden is echter bewezen dat het ontwikkelen van een KVM ook mogelijk is bij afwezigheid van voldoende kwantitatieve informatie [13]. De aanpak is dan (mede) gericht op het formaliseren van de empirische kennis. Dit lijkt een perspectiefvolle aanpak in de bloembollensektor, omdat daar 'de empirische benadering goed voldoet' (Boonekamp, 1991, schriftelijke kommunikatie).

Op suggestie van het LBO is in dit projekt een duidelijk afgebakend voortrajekt geformuleerd, waarin wordt bezien welk type aanpak moet worden gekozen, gegeven de beschikbare kennis. Op basis van de resultaten uit dit voortrajekt zullen de in te zetten technieken en de scope van het KVM worden bepaald.

2. Motivering en te verwachte resultaten

Het project kwaliteitsverloopmodel bloembollen kan worden opgesplitst in twee delen, namelijk (i) bepaling van het begrip kwaliteit en (ii) onderzoek naar de relatie tussen omgevingsfaktoren en kwaliteitskenmerken.

(i). Het begrip kwaliteit van een bloembol wordt veel gebruikt maar blijft meestal vaag of beperkt (bv. aanwezigheid van schimmel). Het onderzoek zal tot een duidelijk afgebakend beeld van het begrip kwaliteit in de verschillende schakels van de keten leiden. De belangrijkste kwaliteitskenmerken zullen worden onderkend. Ook worden de gewichten geschat die elke schakel in de keten aan deze kenmerken toekent.

(ii). Het model moet inzicht geven in wat zich afspeelt in de afzetketen en het effect hiervan op de kwaliteit van de bollen. In 't bijzonder is het model bedoeld om te laten zien wat het effect op de kwaliteit is van afwijkingen van de optimale behandelingen. Hierdoor kunnen we zien voor welke behandelingen de tolerantie ten opzichte van kwaliteit laag is, dat wil zeggen voor welke behandelingsfaktoren geldt het dat een afwijking van de optimale nivo tot een grote daling in de bolkwaliteit leidt.
Het model kan worden gebruikt om het effect van bepaalde strategische en tactische maatregelen op de kwaliteit van de bol te berekenen. In hoe verre een nauwkeurige voorspelling mogelijk is, is echter nog niet duidelijk. Het is mede afhankelijk van de omvang en nauwkeurigheid van de aanwezige kwantitatieve en kwalitatieve kennis.

3. Werkwijze

a. Voorstudie
In de eerste maanden wordt een intensieve voorstudie uitgevoerd. Dit houdt in dat bollenliteratuur bestudeerd wordt en gesprekken gevoerd worden met een aantal experts in de praktijk (LBO Lisse, veilingen, exporteurs enz.). Doel van deze voorstudie is de afzetketen goed te verkennen, met de nadruk op kwaliteit binnen de keten. In de loop van de voorstudie wordt een aantal keuzen m.b.t. het model gemaakt.
i) Het model moet uiteraard zo algemeen mogelijk zijn maar het lijkt niettemin hoogst onwaarschijnlijk dat alle bolsoorten in eenzelfde (wiskundige) formulering kunnen worden beschreven. Het is echter nog niet zeker of cultivar-verschillen ook aparte modellen noodzakelijk zullen maken. In het laatste geval kunnen we de statistische techniek cluster analyse (Krzanowski, 1988) gebruiken om de cultivars in een klein aantal groepen op een voor ons doel optimale manier in te delen. Cluster analyse houdt in dat op basis van een aantal relevante cultivar-eigenschappen zodanig groepen (=clusters) worden gemaakt dat de variatie van eigenschapwaarden binnen de groepen t.o.v. de variatie tussen de groepen minimaal is.
ii) Bepaald wordt welke aspecten van de afzetketen knelpunten (kunnen) zijn. Knelpunten zijn punten waar er in de praktijk vaak/grote afwijkingen van de voor de kwaliteit optimale behandelingen voorkomen, maar ook punten waar vrij kleine afwijkingen van de optimum rampzalige effecten op de kwaliteit zouden kunnen hebben. Bij de modelbouw wordt meer aandacht aan die aspecten besteed.
iii) In het begin wordt de nadruk op tulpen en lelies gelegd. Gekozen wordt voor deze twee soorten omdat ze economisch belangrijk zijn, er relatief veel onder-

zoek aan gedaan is, en ze representatief zijn voor een voorjaarsbloeier en een zomersbloeier.

b. Kwaliteit van een bloembol

De generieke definitie van het algemeen begrip 'kwaliteit van een bloembol' wordt vastgelegd. Het belang van de verschillende componenten in deze definitie wordt per schakel in de afzetketen bepaald (d.w.z. wat vindt de veiling hoge kwaliteit, de exporteur, de consument?).

i) Eerst worden de kwaliteitskenmerken geïnventariseerd en een eerste aanzet gemaakt om het relatieve belang van elk kenmerk te bepalen. De bloembollenliteratuur en in het bijzonder de vakbladen geven een beeld van welke kwaliteitskenmerken belangrijk worden gevonden en welke de meeste klachten veroorzaken. Deze informatie wordt gebruikt om een eerste lijst te maken. Vervolgens wordt in gesprekken met mensen vanuit elke schakel in de keten de lijst voltooid en het relatieve belang van elke kenmerk geschat. Verwacht wordt dat per schakel maar een klein aantal van de kwaliteitskenmerken het grootste deel van de kwaliteit beschrijft, en dat verder onderzoek zich tot deze kenmerken kan beperken zonder significant verlies van informatie.

ii) De gewichten van de kenmerken worden per schakel (inclusief de nederlandse consument) bepaald. Hiervoor worden enquêtes gehouden, waarin vragen worden gesteld over de in (i) bepaalde kenmerken. Er zijn een aantal statistische technieken, afkomstig vanuit de marktkunde, om de gewichten de schatten. Een daarvan is Conjoint Analysis (SPSS, 1990) waarbij de respondent een aantal kombinaties van kenmerken in rang-orde moet leggen (heeft de respondent liever een bol met schimmel en zonder uitdroging of een bol zonder schimmel maar met uitdroging?). Er wordt gecontroleerd of de kenmerkwaarden en kombinaties daarvan realistisch zijn. Ook wordt de formulering van de vragen in een pilotstudie gecontroleerd (Moser en Kalton, 1985).

Bij de analyse van de enquête-resultaten wordt gekeken of sommige schakels in de keten voldoende overeenkomsten tonen om die schakels te kunnen combineren. De statistische techniek multivariate analyse van variantie (MANOVA) lijkt hiervoor geschikt (Krzanowski, 1988). De hypothese dat er geen significante verschillen zijn tussen de kenmerkgewichten voor twee of meer schakels wordt hiermee getoetst.

c. Verband behandelingsfaktoren en kwaliteitsaspecten

De behandelings- of omgevingsfaktoren die gedurende de afzetketen de kwaliteit beïnvloeden worden bepaald en het verband tussen faktoren en kwaliteitskenmerken worden geschat.

i) Eerst worden de belangrijke behandelingsfaktoren vastgelegd.

Literatuurstudie, samen met aanvullende informatie vanuit gesprekken, worden gebruikt om te bepalen welke behandelingsfaktoren van invloed zijn (bv. temperatuur en duur van temperatuurbehandeling, ethyleenconcentratie, r.v. enz.), op welke kwaliteitskenmerken en voor welke bolsoorten. Ook wordt vastgesteld binnen welke grenzen de nivo's van deze faktoren in de praktijk variëren.

ii) De kennis die bestaat over de relatie tussen faktoren en kwaliteitskenmerken is veelal empirisch, dus moet het model beschrijvend en niet verklarend opgebouwd worden. Het is nog niet uitgesloten dat een of meer delen wel op een verklarende manier te modelleren zijn, als er voldoende informatie in de literatuur beschikbaar blijkt. Vanwege het grotere geldigheidsdomein wordt in die gevallen natuurlijk aan een verklarend model de voorkeur gegeven.
iii) Om in een beschrijvend model de relaties te kunnen schatten, kunnen in principe proefgegevens statistisch verwerkt worden. Het is echter zeer twijfelachtig of de nodige proefgegevens in de juiste vorm al aanwezig zijn. Het is ook niet mogelijk om voor dit project de nodige proeven te laten uitvoeren.
iv) Als er geen ruwe proefgegevens beschikbaar zijn, is er een andere optie de gegevens zelf te verzamelen via observationeel onderzoek. Bijvoorbeeld, partijen bollen worden aan het einde van de afzetketen beoordeeld op basis van hun kwaliteit en er wordt m.b.v. enquêtes geprobeerd te schatten welke faktoren die uiteindelijke kwaliteit hebben bepaald. Deze methode is bij snijtulpen al gebruikt (Kortekaas, 1990). Hoewel observationeel onderzoek een antwoord zou kunnen geven op een aantal specifieke vragen, is de waarde daarvan in ons geval beperkt. Faktoren die door de praktijk niet belangrijk gevonden zijn, worden niet of niet nauwkeurig gemeten, er is grote afhankelijk van de medewerking van bedrijven, dus wordt het moeilijk om een represantief steekproef te krijgen (misschien zullen bedrijven die bollen van goede kwaliteit leveren eerder meewerken). Ook is het niet mogelijk om causale relaties vast te leggen - er kan altijd een derde ongemeten faktor zijn die en de behandelingsfaktorwaarde en de kenmerkwaarde beïnvloedt.
v) Kwantitatieve relaties worden berekend op basis van proefresultaten in publicaties (de gewasverslagen van de LBO (LBO, 1976-1990) vormen hier mogelijk een bron van informatie). Deze methode is met suces gebruikt bij het bouwen van FLORES, een kwaliteitsverloop model voor snijbloemen (van Doorn en Tijskens, 1991).
vi) Niet alle kennis die bestaat is in publicaties te vinden. Kwantitatieve kennis (proefresultaten) wordt niet altijd gepubliceerd, en ook is er veel kwalitatieve kennis. Kwalitatieve kennis kan worden vastgelegd d.m.v. enquêtes die worden voorgelegd aan experts. Twee technieken die hiervoor geschikt zijn en die ook met suces bij snijtulpen en pot-planten al gebruikt zijn Hoogerwerf et al, 1990), zijn conjunct-meet analyse en self-explicated weights modellen. Bij conjunct-meet analyse moet de respondent een aantal kombinaties van faktoren beoordelen (een score toekennen of in rangorde zetten) op basis van een inschatting van de daardoor totstandgekomen kwaliteit. Self-explicated weights analyse lijkt op conjunct-meet analyse maar met self-explicated weights kunnen geen interakties worden geschat - d.w.z. wanneer het effect van een faktor op de kwaliteit afhankelijk is van het nivo van een ander faktor. Dit komt omdat kombinaties van faktoren niet beoordeeld worden maar alleen de faktoren afzonderlijk.
Als alleen kwalitatieve kennis over sommige aspecten beschikbaar is, kunnen vuistregels via een kennisbank in een expertsysteem geïntegreerd worden. Daarvoor zijn uitvoerige gesprekken met experts nodig.

d. Modelbouw en validatie
Op basis van de verzamelde informatie wordt een beschrijvend, waar mogelijk

verklarend, model gebouwd. Om het model te valideren is het niet mogelijk zeer uitgebreide validatieproeven uit te voeren. Daarvoor zijn minstens twee jaar nodig. Wat wel mogelijk is, is een aantal scenario's (kombinaties van input-waarden) uit te rekenen en de modeluitkomsten te vergelijken met de ervaringen van de praktijk (lijken ze redelijk?). Bij het toetsen van het model kunnen proefopzet-technieken worden gebruikt. Ook bij een vrij klein model is het totaal aantal mogelijke kombinaties van input-waarden te groot om alle mogelijke kombinaties te proberen maar met behulp van een fractionele factoriele proefopzet (Cochran en Cox, 1957) kan maar een deel van de kombinaties gekozen worden en toch voldoende informatie over modeluitkomsten gekregen worden. Bij het modeltoetsen wordt extra aandacht aan de knelpunten besteed. Ook wordt het geldigheidsdomein van de modeluitkomsten bepaald.

Vooralsnog lijkt het de realisatie van een partieel (op enkele belangrijke omgevingsfactoren en enkele belangrijke gewassen) KVM, kans te hebben via een hybride aanpak: zoveel kwantitatieve kennis als mogelijk verwerken tot kwantitatieve modellen, en deze vervolgens aanvullen cq verfijnen mbv kwalitatieve modellen resp. redeneertechnieken op basis van een kennisbank.

4. Fasering

1. Voorstudie	1991
2. Vaststellen kwaliteitsdefinitie	1991-1992
3. Uitvoering veldonderzoek KVM-gegevens*	1992-1993
4. Analyse en modelbouw	1993-1994

* De te volgen aanpak is afhankelijk van de gemaakte keuzen t.a.v. de technieken.

Literatuur

Baardse A.A., 1977. Groot lelieboek. Uitgeverij Drukkerij 'West Friesland bv Hoorn', 152 blz.

Berghoef J., 1988. Bloembollenteelt. Vakgroep Tuinbouwplantenteelt, LU Wageningen, blz. 26-55 en 70 t/m 73.

NN. Gewasverslagen. De teelt en broeierij van lelies, 1976-1990. LBO-Lisse

Cochran, W.G., G.M. Cox, 1957. Experimental Designs. John Wiley & Sons, Inc. 244-276.

Doorn, W.G. van, L.M.M. Tijskens, 1991. FLORES: A model on the keeping quality of cut flowers. Agr. Systems Vol 35(2),111-127.

Dwarswaard, A., 1990. Kwaliteit moeilijk meetbaar maar bittere noodzaak. Bloembollencultuur nr. 24, 12-15.

Hertogh A.A. de et al., 1983. The tulip: Botany, Usage, Growth, and Development. Horticultural Reviews 5 (1983); 45-125.

Hertogh A.A. de, 1990. Perspectives on future marketing, research and educational programs for flower bulbs. Acta Hort. 266.

Hoogerwerf, A., F.C. Pladdet, M.M.J. Kempkes, W.G. van Doorn, 1990. Measurement of opinions on the relationship between environmental factors and keeping quality of ornamentals.

Hoogerwerf, A. (red), 1986. Snijbloemen, kwaliteitsbehoud in de afzetketen, Sprenger Instituut, 55-66.

Kortekaas, B.M.M., 1990. De kwaliteit van snijtulpen : een onderzoek naar samenhangen tussen produktkenmerken. Landbouw-Economisch Instituut Onderzoeksverslag 58.

Krzanowski, W.J., 1988. Principles of Multivariate Analysis, A user's perspective. 89-102.

Martens, M., 1984. Quality and quality evaluation. Acta Hort. 163, 15-30.

Moser, C.A., G. Kalton, 1985. Survey Methods in Social Investigation. Gower Publishing Company.

NN, 1990. Tulpengids 1990 nr. 2. Coöperatieve Nederlandse bloembollencentrale B.A.-Lisse.

NN, 1990. Leliegids 1990-1991, nr 5. Coöperatieve Nederlandse Bloembollencentrale B.A. Lisse.

NN. Gewasverslagen, De broeierij van tulpen, 1976-1990, LBO Lisse.

Roozen, F.M. ed., 1980. Forcing Flower Bulbs. International Flower-Bulb Centre, Hillegom.

SPSS, 1990. SPSS Categories. SPSS Inc., U.S.A. B15-20.

Urlings X.P.M. en A. Hoogerwerf, 1991. Ketenonderzoek Bloembollen. ATO-rapport nr. 173. 33 blz.

Onderzoek naar een Intelligente bloembollencontainer

1. Probleem, aard en doelstelling.

Veel van het transport van bloembollen vindt plaats per container overzee. De meeste van de bollen worden vervoerd op 17 °C. Voor enkele bolsoorten wordt 9 a 10 °C aangehouden. Een uitzondering vormt het transport van leliebollen bij -2/-1 °C, waarbij tevens een nauwe temperatuurtolerantie geldt. Tijdens het transport is het noodzakelijk om te ventileren het de ethyleen en koolzuurconcentratie in de container op een voldoende laag niveau te handhaven. Verder is tijdens het transport een relatief droog opslagklimaat noodzakelijk om schimmelvorming te voorkomen, met als nadeel echter dat bij een droog klimaat het uiterlijk van de bollen achteruit gaat. Op dit moment wordt een rlv van 75% geadviseerd voor lange-afstandstransporten, waarbij nog niet bekend is of dit als maximum geldt. Onderzocht moet worden of een hogere rlv is toegestaan als condensatie op het produkt wordt vermeden. Of dit gebeurt is afhankelijk van de klimaattoestand van de lucht in de container.

Aangezien de containers tijdens het transport grote afstanden overbruggen, kan het externe klimaat een aantal extreme wisselingen ondergaan. Als bij een buitenklimaat met hoge rlv de ventilatie wordt gehandhaafd, kan daardoor kwaliteitsverlies van de bollen optreden. Dit kan worden ondervangen door de bloembollencontainers uit te rusten met regelbaar droogsysteem, zoals koelerheater combinaties. Deze stellen echter hogere eisen aan het beschikbare koelvermogen van de koelmachines: de grotere afmetingen gaan ten koste van de nuttige laadruimte. Alternatieve droogmethoden verdienen dan ook de nodige aandacht (bijv regenereerbaar drogermateriaal).

Het onderzoek moet leiden tot verscherpte criteria ten aanzien van het behoud van de bollenkwaliteit tijdens het containervervoer. Deze moeten vervolgens te vertalen zijn in hanteerbare eisen waaraan bloembolcontainers moeten voldoen. Een verbeterde klimaatregeling in de bollencontainer is daarbij gewenst.

Eisen worden door ervaring en eerder onderzoek gesteld aan :

- temperatuurregeling
- luchtcirculatie en -verversing
- luchtverdeelkanalen
- waterafvoergaten

Gezien het voorgaande zullen zeker ook eisen moeten worden gesteld aan de vochtbeheersing.

2. Motivering en te verwachten effecten.

Het onderzoek beoogt een intelligent meet- en regelsysteem te ontwikkelen voor het gebruik in bloembollencontainers. Gezien de probleemstelling moet het systeem in staat zijn om de vochthuishouding in een bloembollencontainer

dusdaning te regelen dat de produktkwaliteit optimaal blijft. Hierbij is het van groot belang de relatie vast te leggen tussen het microklimaat rond de bol en het effect op de produktkwaliteit. Als zodaning kan dit project gebruik maken van de ontwikkeling van een KVM voor bloembollen. Uit recent onderzoek aan paprika's (Janssens et al. 1991) is gebleken dat een vertaling van microklimaat rond de bol naar het macroklimaat in principe mogelijk is. Het probleem ligt bij bollen echter aanzienlijk scherper gezien de tegenstrijdige effecten die ventilatie kan hebben op gas (ethyleen) en vochthuishouding, afhankelijk van het buitenklimaat. Naast de vraag of het praktisch realiseerbaar is om intelligente regeling toe te passen, moet er een dynamische beschrijving worden gemaakt van het klimaat in een bollencontainer. Op deze wijze kan het effect van diverse ladingen en regelingen worden gesimuleerd.
De ontwikkeling van een intelligente regeling is niet alleen gebaseerd op klassieke algoritmes (PID, aan/uit regeling) maar ook zal worden onderzocht of meer geavanceerde technieken kunnen worden toegepast zoals adaptieve regelingen (Vuerinckx 1991) of de inzet van neurale netwerken (Schuffelen 1990a, 1990b). Deze algoritmes maken in principe gebruik van meetgegevens, kennis van systeem en produkt en van simulatiemodellen (model reference).
Aangezien de regeling beslisacties neemt op grond van metingen staat ook de plaats en de aard van de te gebruiken sensoren centraal. Als eis geldt hier wel dat de robuustheid voldoende moet zijn voor toepassing in het containervervoer.

3. Werkwijze

1. Stel de invloed vast van de luchtvochtigheid op de kwaliteit van bollen in de bewaarfase door literatuuronderzoek en uitwisseling van praktijkinformatie.
2. Afhankelijk van de verkregen informatie moeten eventueel aanvullende experimenten worden uitgevoerd in klimaatruimtes met verschillende rlv.
3. Stel vast welke informatie benodigd is en in welke vorm om een simulatiemodel te ontwikkelen voor de regeling van temperatuur- en rlv in bollencontainers met een constant buitenklimaat.
4. Voer indien nodig experimenten uit om de warmteproduktie en vochtafgifte van afzondelijke bollen of groepjes bollen te bepalen. Deze informatie moet in het model ingebracht worden.
5. Stel vast welke detectiemogelijkheden er zijn om het externe klimaat te meten. De detectoren moeten aan specifieke eisen voor wat betreft robuustheid voldoen.
6. Pas de ontwikkelde modelregeling aan zodat een aanpassing aan elk extern klimaat mogelijk is.
7. Voer experimenten uit om de regeling te testen. Dit gebeurt met behulp van een speciaal hiervoor op te zetten meet- en regelsysteem, gekoppelde aan een volledig regelbare klimaatcel (bollencel). Het onderzoek naar de inzet van intelligente regelingen zal tevens hiermee plaatsvinden.
8. Stel eisen op die aan de intelligente bloemencontainer worden gesteld. In overleg met een grote transportonderneming (NedLloyd) zal worden bekeken of de realisering van een prototype mogelijk is.

4. Fasering

Intelligente bollencontainer	<jan 94> (prototype)
Aanpassen testfaciliteiten	<sep 91> (meet- en regelsysteem)
Relatie rlv, kwaliteit	<jul 92>
Aanvullende experimenten	<jan 92>
Opzet model	<jan 93>
Exp warmte, vochtafg	<jan 93>
Detectiemogel.	<jan 92>
Aanpassing model	<jul 93>
Testen regeling	<jul 93>
Eisen opstellen voor prototype	<jul 93>
Testen en aanpassen protype	<jul 94>

Literatuur

Janssens et al. 1991. CA-transport van rode paprika's ... (geheim tot 1 feb 1992).

Nieuwenhuizen, 1988. Dehumidification of flowerbulbs in transit. IEF meeting Davis.

Nieuwenhuizen, 1985. Kwaliteitsbehoud tijdens het transport van bloembollen. Bloembollentransport 25(4)8-10(1970).

Pagter, ... Het transport van bloembollen. Praktijkmededeling nr.38, 1971.

Schuffelen, ... Neurale netwerken : Theorie en toepassingsmogelijkheden in de procestechnologie. I2 procestechnologie nr.4 1991. Toepassingen in de besturingstechnologie. nr. 5 1991

Vuerinckx 1991. Invloed van de adaptieve regeling op de koelprestatie en de ontvochtiging bij luchtkoelers. Koude & Luchtbehandeling nr.7 1991.

Produktieplanning op bloembollenbedrijven.

1. Probleem, aard en doelstelling.

De bloembollengroothandel cq -export voert een reeks van activiteiten uit om de bloembollen in de goede toestand (kwaliteit, verpakking) op de juiste tijd op de juiste plaats te krijgen. Een van de belangrijkste planningsmomenten ligt bij het gereedmaken van de orders. Om dat op de juiste manier te doen moet een reeks van beslissingen genomen worden. Deze beslissingen kunnen op drie besturingsniveaus betrekking hebben:

- strategisch niveau
- tactisch niveau
- operationeel niveau

Op strategisch niveau moet bijvoorbeeld worden besloten dat men bloembollen wil exporteren op de USA, en wel naar supermarktketens. Het strategisch niveau heeft dus betrekking op de strategie van de onderneming. Op tactisch niveau moet capaciteit gecreëerd worden om de voorgenomen strategie tot uitvoer te brengen. En op operationeel niveau moet men beslissen (plannen) hoe men met de beschikbare capaciteit de strategie op de meest adequate manier kan uitvoeren.

De bloembollengroothandel levert bloembollen aan de detailhandel in verpakte vorm in stapelrekken, zodanig dat deze direct in de winkels geplaatst kunnen worden zonder omgepakt te worden. De groothandelaar gebruikt hiervoor diverse stapelrekken waarop verschillende soorten trays geplaatst kunnen worden. De trays kunnen op hun beurt gevuld worden met diverse soorten kleinverpakkingen met verschillende soorten bloembollen. Elke (klein-)verpakkingssoort (zakje, doosje of blister) bevat slechts één soort bloembol, allen zijn van dezelfde soort, cultivar, kleur en maat. Tevens is het mogelijk dat meerdere zakjes met bloembollen in een doos gaan waarvan er meerdere op één tray gaan.

De bloembollengroothandelaar heeft om de bloembollen in dergelijke verpakte vorm aan te bieden de beschikking over een aantal verpakkings- machines (doorgaans minder dan 10) en een aantal rolbanen (doorgaans 1 a 2) om de verpakte bloembollen samen te stellen tot stapelrekken (op pallets) met verpakte bloembollen. Binnen het groothandelsbedrijf zijn een beperkt aantal mensen werkzaam die voor de produktie moeten zorgen. Veelal beschikken de groothandelaren in de zomer over veel tijdelijke werknemers die tijdens de drukke periode in de zomer ingezet kunnen worden. Verder heeft de bloembollengroothandelaar te maken met een gelimiteerde hoeveelheid ruimte. Dit is vooral belangrijk voor de hoeveelheid produkt (van onverpakt tot samengestelde traysoorten), die tijdens het proces van onverpakte bol tot leverbare besteleenheden opgeslagen kan/moet worden.

De centrale vraag bij de planning van het produktieproces is wanneer welke verpakkingen op welke machines gedraaid moeten worden en vervolgens welke trays wanneer samengesteld moeten worden. Dit onder de beperking dat aan de

leveringseisen van de klant moet worden voldaan. Hierbij wordt gestreefd naar een optimalisatie van de capaciteitsbenutting (mens en machine), minimalisatie van de totale doorlooptijd van de bloembollen van het moment dat deze uit de "opslag aankomst" worden gehaald tot het moment dat deze in een container of vrachtwagen worden geplaatst. Tevens zal ernaar worden gestreefd om een gelijkmatige arbeidsverdeling te verkrijgen per dag, waarbij ernaar gestreefd moet worden om overwerk te vermijden.

Om de complexiteit van het probleem gemakkelijker aan te pakken is gekozen voor een opdeling in verschillende planningsniveaus. Een strategisch, tactisch en operationeel niveau, waarbij de strategische planning de minst en de operationele planning de meest gedetailleerde vorm van planning is.

Bij de strategische planning worden beslissingen genomen over de bedrijfsactiviteiten die door een bedrijf verricht zullen worden. Hierbij staat in principe alles ter discussie dus ook of het bedrijf zich bezig moet houden met het verhandelen van bloembollen of juist een ander produkt. De beslissingen die hierbij genomen worden hebben meestal invloed over meerdere jaren, mede doordat de beslissingen gepaard gaan met grote investeringen.

De tactische planning gaat uit van een vaststaand strategisch plan. De tactische planning geeft aan wanneer de orders en met welke middelen over een seizoen of jaar verwerkt en afgeleverd dienen te worden. Hierbij spelen zaken als prognoses en orderacceptatie een belangrijke rol. Om een goede planning te kunnen maken is het verder nodig om over nauwkeurige operationele informatie te beschikken. Hetgeen door het te ontwikkelen operationele planningsmodel geleverd kan worden.

Op operationeel niveau wordt de problematiek van het verpakken van bloembollen en het vervolgens samenstellen van partijen bloembollen aangepakt. Binnen deze schil zijn een vijftal hoofdfunkties te onderscheiden:

1) het toewijzen van partijen (een order bestaat uit een aantal standaard traysoorten met een beperkt aantal verpakkingssoorten, één partij bestaat uit één verpakkingssoort of sterk verwante verpakkingssoort(en) van eventueel meerdere orders) aan de beschikbare verpakkingslijnen.

2) een gedetailleerde toewijzing van de verpakkingssoorten aan de verpakkingslijnen

3) het verschaffen van informatie over de verpakkingscapaciteit ten behoeve van de orderacceptatie (sturing naar een egale werkbelasting van de verpakkingsmachines)

4) het verschaffen van de benodigde management informatie over effectiviteit en efficiency van de verpakkingslijnen

Het te ontwikkelen model zal zich in eerste instantie richten op de eerste twee hoofdfunkties van de operationele planning.

Voor wat betreft het proces van orders klaarmaken moet een operationele planning gemaakt worden van de uit te voeren handelingen met de beschikbare capaciteit. Op dit moment wordt deze planning nog handmatig gedaan. Dat houdt in, dat de bedrijfsleider kijkt welke orders op welk tijdstip de deur uit moeten, welke voorraden hij beschikbaar heeft aan bollen en verpakkingen, en welke capaciteit hij heeft aan mensen en machines. Vervolgens wijst hij orders of delen van orders toe aan machines of verpakkingslijnen, zodanig dat iedere order op tijd gereed is. Randvoorwaarde hierbij is natuurlijk een zo efficiënt mogelijke benutting van mensen (overwerk) en machines (leegloop). In dit onderzoek zal een planningsmodel gemaakt worden dat de planner ondersteunt bij het maken van de planning. Voor elk besturingsniveau zal een module ontwikkeld dienen te worden die de beslisser in staat stelt tijdig de beste beslissingen te nemen. Door een koppeling tussen de verschillende modules wordt een consistent DSS verkregen. In eerste instantie zal het onderzoek er op gericht zijn de planning op operationeel niveau te "optimaliseren". In een later stadium zal de tactische en strategische planning uitgewerkt worden.

2. Motivering en te verwachten effecten.

Het handmatig plannen van het proces van ordergereedmaken kent een aantal nadelen. Ten eerste wordt gepland op wat mogelijk is, en niet wat optimaal is. Dit kan een planner namelijk door de complexiteit van het planningsprobleem niet meer overzien. Ondersteuning van de planner kan dus een verbeterde planning opleveren, waardoor de leverbetrouwbaarheid toeneemt en/of de kosten afnemen. Ten eerste is het plannen een zeer arbeidsintensief proces, en indien ingeval van storingen de planning moet worden bijgesteld is een adequate bijstelling van de oorspronkelijke planning niet altijd snel genoeg mogelijk. Ook hier kan ondersteuning van de planner resultaten opleveren.

3. Werkwijze.

Het te ontwikkelen model zal zich in eerste instantie richten op de eerste twee hoofdfunkties van de operationele planning. Het produktieplanningsmodel zal op twee niveaus worden uitgewerkt: niveau 1, een weekplanning en niveau 2 een dagplanning. Redenen om het model in twee niveaus op te splitsen zijn:

- De complexiteit van het probleem kan beter worden aangepakt
- Op niveau 1 kan rekening gehouden worden met de speciale rol van een dagovergang (vrachtwagen moet aan het einde van de dag weg, eventueel overwerk)
- Organisatorisch, er kunnen per dag werkbriefjes worden gemaakt

<u>In niveau 1</u> zal een planning gemaakt worden met een tijdshorizon van een week. Deze planning zal elke week opnieuw gemaakt worden aan de hand van

de orders die op tactisch niveau zijn toegewezen aan de desbetreffende week. Het planningsmodel op niveau 1 zal een toekenning van de orders per dag en per verpakkingslijn geven.

Het doel bij deze planning is het voldoen aan de leveringseisen en een maximalisatie van de produktie-efficiëntie, waarbij omsteltijden per traysoort minimaal dienen te zijn en wachttijden voor personeel vermeden dienen te worden. Indien in een tijdsperiode een storing optreedt in het produktieproces dient opnieuw een planning gemaakt te worden waarbij uitgegaan wordt van reeds verrichte werkzaamheden. Deze mogelijkheid zal in een later stadium uitgewerkt worden.

In niveau 2 zal de planning zoals die in niveau 1 is geformuleerd in detail worden uitgewerkt. De planning zal hier per dag verder worden uitgewerkt. Uitgaande van de orders die in niveau 1 per dag gepland zijn per verpakkingslijn, zal het verpakken toegekend worden aan een tijdstip en een verpakkingslijn.

Het doel hierbij is de toekenning van te verpakken eenheden aan verpakkingslijnen zodanig dat de totale omlooptijd per dag minimaal is.

Rekening moet worden gehouden met de volgende procesgang in een bedrijf:

Opslag aankomst: De bloembollen worden in de regel direct aangevoerd vanaf de bloembollentelers in gaasbakken die eerder in het seizoen aan de telers zijn geleverd. Verder is het mogelijk dat levering plaatsvindt in curver kratten die op de veilingen als standaard worden gebruikt.

De bloembollen in gaasbakken worden bij aankomst, in speciaal daarvoor aangegeven vakken, (tijdelijk) opgeslagen in een ongekoelde aankomsthal. De bollen worden per partij gescheiden in de vakken geplaatst.

De aangevoerde partijen bloembollen hebben een partijkaart van de teler. Hierop staat vermeld: het aantal geleverde bollen, de teler, het soort, de cultivar en de maat. De aangevoerde partij wordt gecontroleerd met de schuurpaklijst die aanwezig is in de aankomsthal. Op deze schuurpaklijst staan de gegevens van de partij zoals deze is ingekocht. De partijkaart fungeert vervolgens als een soort label van de partij en zal tot het samenstellen van partijen verpakte bollen dienen voor de herkenning van de partij.

Aan het eind van een aanvoerdag dienen de opstelvakken leeg te zijn. De bloembollen zijn dan allen, na goedkeuring, naar de "opslag onverpakt"-plaats gebracht. Eventu-

eel worden de bollen eerst gespoeld en na droging naar de "opslag onverpakt"-plaats gebracht.

Keuren kwaliteit: In verband met de strenge fytosanitaire wetgeving die in verschillende landen geldt is het controleren van de binnenkomende partijen bloembollen van het grootste belang. Bij het keuren van de bloembollen wordt gelet op ziekten (b.v. zuur), beschadigingen en de aanwezigheid van grond of gewasresten. Tevens vindt er een steekproefsgewijze telling van het aantal bollen plaats. Indien de bollen niet schoon zijn (dit is met name belangrijk voor de export naar de USA en Canada) worden de bollen schoon gespoeld.

Spoelen: Afhankelijk van de gevoeligheid van de bollen wordt met een bepaalde waterdruk de bollen schoongespoeld. In sommige gevallen is het noodzakelijk meerdere keren te spoelen. Het is mogelijk om de spoelcapaciteit te verhogen door met twee spoelploegen te werken, een ochtend en een avondploeg.

Drogen: De bloembollen worden gedroogd in speciale cellen waarbij temperatuur, luchtvochtigheid en de luchtdoorstroming geregeld kunnen worden. Afhankelijk van de gevoeligheid van de bolhuid en het verwerkingstijdstip, worden de bollen maximaal een maand in de droogcellen bewaard.

Opslag onverpakt: De schone bollen worden in vakken, in de buurt van de verpakkingsmachines, geplaatst. In één vak kunnen meerdere stapels gaasbakken staan, waarbij elke stapel maximaal 22 gaasbakken kan bevatten. Een gaasbak kan 750 tulpebollen van de maat 11/12 bevatten.

De vakken zijn zodanig gegroepeerd dat tulpen bij tulpen komen te staan, gladiolen bij gladiolen, etcetera. Indien het aanbod tulpen de plaatsingsmogelijkheden overtreft kunnen ook andere vakken (waar in principe andere soorten bloembollen staan) gebruikt worden. Het is bij dit systeem van wegzetten erg belangrijk dat altijd het nummer van het vak en de partijgegevens van de geplaatste partij in de centrale administratie worden opgenomen, zodanig dat een geplaatste partij bloembollen te allen tijde terug te vinden is.

Verwerking

Het verwerken tot halffabrikaat houdt in het vullen van een plastic zakje, blister of doosje met bloembollen. Het halffabrikaat bestaat uit een zakje met een plaatje en een aantal bloembollen van één soort, of een blister (of doosje) met een aantal bloembollen van één soort. Zakjes met minder dan 5 bloembollen per zakje worden doorgaans met de hand gevuld terwijl de zakjes met 5 of meer bollen machinaal worden gevuld. Tevens is het mogelijk om i.p.v. een zakje een doosje of blister te gebruiken. De verpakte zakjes (doosjes, blisters) bloembollen worden vervolgens weer in gaasbakken opgeslagen.

Iedere week opnieuw wordt een weekplanning gemaakt voor het verpakken en het samenstellen van partijen. Er wordt bij deze planning gestreefd om aan het begin van de week de zakjes met zo min mogelijk bollen per zakje te vullen, zodat de werkers bij het samenstellen van de partijen zo snel mogelijk kunnen beginnen. (?)

Opslag halffabrikaat: Opslag van halffabrikaat vindt plaats in gaasbakken, per verpakkingssoort in een vak. Ook hier wordt bijgehouden waar welke partij staat en wordt op de partij zelf m.b.v. een partijkaart aangegeven wat er staat. (Hoeveel per gaasbak opgeslagen kan worden is afhankelijk van de verpakkingssoort en de maat van de bol.)

trays samenstellen: Het samenstellen van trays gebeurt aan een rolband. Een lege tray wordt aan een rolband gevuld met de verschillende halffabrikaten. Het samenstellen van trays kan pas beginnen wanneer alle verpakkingssoorten die binnen een tray gebruikt worden aanwezig zijn.

tussenopslag Voordat de compleet gevulde pallets met verpakte bloembollen in een vrachtwagen of een container worden gebracht kunnen zij opgeslagen worden in de bedrijfshal. Het is ook mogelijk de pallets wanneer zij nog niet geheel compleet zijn tijdelijk in deze opslag te plaatsen.

Opslag container: De compleet gevulde pallets met samengestelde trays worden, eventueel na eerst in "tussenopslag samengestelde trays" te hebben gestaan, worden opgeslagen in een vrachtwagen of container. De container en of vrachtwagen worden binnen in de bedrijfshal gevuld en blijven

net zolang in de bedrijfshal tot alle pallets die mee moeten erin zijn geplaatst.

Transport: Het transport geschiedt per vrachtwagen direct naar de klant of indien er transport over zee plaatsvindt, eerst naar de zeehaven.

In de operationele planning wordt uitgegaan van een aantal orders die in een bepaalde week moeten worden verwerkt. De planning per week is reeds op tactisch niveau gemaakt en dient als uitgangspunt voor de operationele planning.

De operationele planning richt zich vooral op het verwerken tot halffabrikaat, het samenstellen van trays en alle tussenopslagen die hierbij een rol spelen. Hieronder is nog een keer het goederenstroomschema gegeven met gericht op deze activiteiten.

De doelen die bij het maken van een operationele planning worden nagestreefd, zijn:
-- leveringstijden halen, t_6 is een vaststaand tijdstip waarop een vrachtwagen weg moet rijden om aan de leveringseisen van de klant te voldoen. OP dit tijdstip dienen alle bloembollen in de juiste vorm in de vrachtwagen aanwezig te zijn.
-- max. capaciteitsbenutting, een dusdanige inzet van machines en mensen weten te bewerkstelligen dat zij een maximale output leveren, dus voorkomen dat er wachttijden voor mens of machine ontstaan. Uitgegaan wordt hierbij van een standaard werktijd per dag waarbij overwerk vermeden dient te worden.
-- min. doorlooptijd tussen het moment dat de bloembollen uit de opslag onverpakt gaan om verwerkt te worden en het moment dat de bloembollen worden getransporteerd

eventueel:

-- min. tussenopslag tussen: (t_2 en t_3), (t_4 en t_5) en (t_5 en t_6)

* Minimalisatie van de opslag tussen (t_5 - t_6) per container/vrachtwagen, betekent een minimalisatie van de tijd dat het eerste pallet in een container of vrachtwagen wordt gebracht tot het moment dat het laatste pallet erin wordt gebracht. Om deze tijd te minimaliseren dient reeds bij het indelen van partijen voor de verwerking tot halffabrikaat rekening gehouden te worden met dit aspect.

* Voor de minimalisatie tussen (t_4 en t_5)per pallet, geldt ongeveer hetzelfde, namelijk een pallet met verpakte bloembollen kan niet eerder naar de container of vrachtwagen dan het tijdstip waarop alle trays met verpakkingen aanwezig zijn. Of de trays met verpakkingen aanwezig zijn is weer afhankelijk van welke bollen er reeds verwerkt zijn tot halffabrikaat.

* Minimalisatie van de opslag tussen (t_2 en t_3) per verpakking, is afhankelijk van het tijdstip waarop de verpakkingen samengesteld kunnen worden tot een tray (t_3) en het tijdstip waarop de verpakkingen beschikbaar komen voor samenstelling tot een tray.

Om te kunnen voldoen aan de gestelde doelen hierboven is het zinvol om van de verschillende orders dezelfde verpakkingssoorten (of andere verpakkingssoorten met geringe omsteltijden met deze verpakkingssoort) samen te clusteren tot partijen.

Het planningsprobleem zal op twee niveaus worden aangepakt. Het eerste niveau zal met behulp van de geclusterde partijen een weekplanning maken. Op het tweede niveau zal per verpakkingssoort een dagplanning gemaakt worden voor zowel het verpakken als voor het samenstellen van de trays. Voordelen van de opsplitsing in twee niveaus zijn:

- mogelijkheid om snel een weekplanning te genereren
- mogelijkheid om per dag te plannen wat het mogelijk maakt om overwerk per dag in te plannen.
- De complexiteit van het probleem beter aan te kunnen.

In niveau 1 zal een planning gemaakt worden per week op basis van partijen die de desbetreffende week verwerkt dienen te worden. Deze planning zal aangeven welke partijen op welke dag verwerkt dienen te worden.

Op niveau 2 zal aan de hand van de geplande partijen per dag een indeling gemaakt worden per verpakkingslijn per verpakkingssoort.

4. Fasering.

1. Probleembeschrijving en analyse in een voorbeeldbedrijf
2. Opzet van het model
3. Testen van oplossingstechnieken i.v.m. rekentijd (=planningssnelheid)
4. Toetsen van het model in de praktijk
5. Opwaarderen van het model naar prototype DSS-niveau

1: 1991
2. 1991-1992
3. 1992
4. 1992-1993 (twee seizoenen)
5. 1993-1994

Literatuur

Dannenbring, D.G. and M.K. Starr, 1981. Management Science, an introduction. McGraw Hill, New York.

Hoogerwerf, A., M.P. Reinders, S.J. Oosterloo en J. Kanis, 1991. Uitgebreid eindrapport van de programmeringsstudie agrologistiek. ATO-rapport nr. 174.

Hoogerwerf, A., M.P. Reinders, S.J. Oosterloo en J. Kanis, 1991. Een nationaal onderzoekprogramma agrologistiek. ATO-rapport nr. 175.

Ilbery, B.W., 1977. Point Score Analysis: A Methodological Framework for Analysing the Decision Making Process in Agriculture. Tijdschrift voor Economische en Sociale Geografie 68 (1977), 2, pp. 66-71.

Kast, F.E. and J.E. Rosenzweig, 1985. Organization and Management. McGraw Hill, New York.

Lilien, G.L. and P. Kotler, 1983. Marketing Decision Making: A Model Building Approach. Harper & Row, New York.

Pintelon, L., Wassenhove, L.N. van, A maintenance management tool, Katholieke Universiteit Leuven; Erasmus Universiteit Rotterdam.

Pladdet, F.C., Hoogerwerf, A., Witsen, R.M. van, Ketenonderzoek Bloemisterijprodukten - Eindrapport, Leiden, 1988.

Porter, M., 1989. Concurrentievoordeel. De beste bedrijfsresultaten behalen en behouden. L.J. Veen BV, Utrecht/Antwerpen.

Reinders, M.P., 1990. Agrologistiek en techniek. Agro-informatica 2(3)pp34-38

Rijn, Th.M.J. van, Produceren door informeren, Vol. 7, pp. 1-123, 1986.

Roboam, M., Doumeingts, G., Zanettin, M., Kiesewetter, S., Study of Manufacturing Systems: Need of integrated methodology, GRAI Lab., University of Bordeaux; WZL Lab., University of Aachen.

Sabherwal, R. and Grover, V., 1989. Computer Support for Strategic Decision Making Processes: Review and Analysis. Decision Sciences 20 (1989), pp. 54-76.

Simon, H.A. , Decision making and problem solving, Carnegie-Mellon University, Pittsburgh, USA, Interfaces, Vol. 17-5, pp. 11-31, 1987.

Simons, J.L., Integratie van Expert System Technieken in Decision Support Systemen, Rijksuniversiteit Groningen, Faculteit Bedrijfskunde.

Thierauf, R.J., 1975. Systems Analysis and Design of Real Time Management Information Systems. Prentice Hall, New Jersey.

Treur, J., Generic Inference Processes and their Interactions in Complex Diagnostic Tasks; a Logical Description, University of Amsterdam, 03/1988.

Treur, J, Renardel de Lavalette, G, Spijkervet A., Een ontwerpomgeving voor modulaire kennissystemen, gebaseerd op meta-kennis, Universiteit van Amsterdam, Vakgroep Programmatuur Pandata, pp. 1/25.

Urlings, X.P.M. en A. Hoogerwerf. Ketenonderzoek bloembollen, 1991. ATO-rapport 173.

Vaan, M.J.M. de, De betekenis van logistiek voor de Nederlandse industrie: 1900-1980-2000+, Vrije Universiteit Amsterdam, Postacademiale Controllers-opleiding, Systems Review, Vol. 1988, pp. 28 - 36, 07-1988.

Wassenhove, L. van, Maes, J., Pintelon, L., An Integrated approach to performance indicators, Erasmus Universiteit Rotterdam; Katholieke Universiteit Leuven.

Wielinga, B.J.; Breuker, J.A., Structured Knowledge Acquisition for Expert Systems, Universiteit van Amsterdam.

Witte, E. and H.J. Zimmermann, 1986. Empirical Research on Organizational Decision Making. Elseviers, Amsterdam, 408 p.

Zeleny, M., 1982. Multiple Criteria Decision Making. McGraw Hill, New York.

Sorteren van bloembollen m.b.v. Computer Beeld Analyse.

1. Probleem, aard en doelstelling.

1.1. Inleiding

Binnen het bloembollenprogramma van ATO-DLO wordt aandacht besteed aan de inzet van Computer Beeld Analyse (CBA-) technieken voor sortering en kwaliteitsbeoordeling van bloembollen. Classificatie van deze produkten op kwaliteit is een belangrijk proces in de afzetketen. De kwaliteitssortering bepaalt bijvoorbeeld de afzetmogelijkheid en de prijsvorming. Digitale beeldverwerking kan ingezet worden bij de beoordeling van visuele kwaliteit. Met deze techniek kan objectief vorm, afmetingen, kleur en kleurafwijkingen bepaald worden.
Door deze mogelijkheden wordt vaak bij landbouwkundige produkten de link gelegd naar toepassing in optische sorteerlijnen. Eenvoudig gesteld worden hierbij de produkten via een transportband langs een camera geleid, die een opname maakt van het object. Na digitalisatie wordt het beeld bewerkt volgens een bepaald algoritme en informatie over dat object komt beschikbaar. Na het nemen van een beslissing over de klasse-indeling wordt een mechanisch systeem geactiveerd om het produkt in de juiste sortering te doen belanden.
Sortering op afmeting is vaak mogelijk met puur mechanische sorteersystemen. Voor het detecteren van kleur en kleurafwijkingen is het nodig een systeem met een optische sensor te gebruiken. Er bestaan systemen uitgerust met camera's die bepaalde soorten groenten en fruit op vorm, kleur en afmetingen sorteren (Nunnink, 1991). Er moet dan bekend zijn hoe onder de beste opname-omstandigheden en met het meest geschikte analyse-algoritme de uitwendige kwaliteit gekwantificeerd kan worden. In samenwerking met het bedrijfsleven kan op basis van deze meetmethode een operationeel prototype sorteerinstallatie ontwikkeld worden.

Het CBA onderzoek op het ATO is naast het ontwikkelen van sorteersystemen ook gericht op onderzoekondersteuning. Met CBA-technieken kunnen bepaalde visuele kenmerken objectief en nauwkeurig gekarakteriseerd worden. Dit betekent dat CBA uitermate geschikt is om in te zetten bij onderzoek om het verloop van kwaliteit van produkten in de tijd te volgen (aantasting, spruitvorming, groei, verkleuring, etc.). Visuele kwaliteitsachteruitgang in verpakkings- en koeltechnische experimenten wordt gemeten en het optimale bewaarpad kan sneller gevonden worden. CBA is een hulpmiddel bij de verificatie van kwaliteitsverloopmodellen, die het gedrag van een produkt na oogst onder verschillende bewaaromstandigheden simuleren.

Fysiologen proberen o.a. inzicht te verkrijgen in de processen die ten grondslag liggen aan veroudering cq kwaliteitsverandering. Behandeling en opslag van produkten heeft een verandering van de celstructuur en celinhoud tot gevolg, waardoor de afmetingen veranderen. De behoefte is groot om CBA in te zetten bij het vastleggen van de grootte van deze veranderingen.

Tussen ondersteuning van ATO-onderzoek en ontwikkeling van geautomatiseerde sorteersystemen, ligt nog een interessant toepassingsgebied. Om met beeldverwerking meer ingewikkelde analyses uit te kunnen voeren is een minimale hoeveelheid rekentijd nodig. Inbouw van complexe routines in snelle sorteersystemen met speciale elektronica is vaak nog niet mogelijk. Door echter een steekproef uit het totale produktaanbod te controleren kan toch iets gezegd worden over de kwaliteit van die sortering (vgl. functie keurmeester op veilingen). Dergelijke kwaliteitstoetsen kunnen bijvoorbeeld bij telers, handel en onderzoeksinstellingen gebruikt worden. De snelheid van een beoordeling speelt dan een minder belangrijke rol. Dergelijke systemen zijn bijvoorbeeld al interessant om objectief kleur of mate van aantasting van produkten te vergelijken. Ook minder voor de hand liggende kenmerken, zoals voor de mens onzichtbare verschijnselen (in infrarood of ultraviolet gebied) en een bepaalde analyse die een directe relatie tussen de meting en interne kwaliteit aangeeft zijn denkbaar. In sommige gevallen bestaan reeds procedures om kwaliteitsaspecten vast te leggen. De introductie van een beeldanalyse apparaat dat een aantal van deze aspecten bepaald is dan vrij gemakkelijk realiseerbaar.

Beeldverwerkingsonderzoek bestaat grofweg uit de stappen opname- en belichtingoptimalisatie, beeldbewerking, segmentatie, analyse en interpretatie van de gegevens. De optimalisatie van de opname is voor landbouwkundige toepassingen erg belangrijk. De keuze van het juiste golflengtespectrum en het positioneren van belichting is erg belangrijk. Voor microscopische analyse is goede kleuring vaak een oplossing. Voor de analyse van interne kwaliteit zijn andere sensortechnieken nodig, zoals NMR (Nuclear Magnetic Resonance) en akoestiek. Met NMR is het bijvoorbeeld mogelijk non-destructief rijpheid en interne afwijkingen, zoals rotte plekken en wormvraat van fruit te meten (Chen, 1988).

Beeldbewerking en segmentatie zijn bedoeld om de gewenste elementen uit een beeld te halen. Afhankelijk van de toepassing kan het een probleem zijn hiervoor het juiste algoritme te ontwikkelen. Om een object van zijn achtergrond te onderscheiden zijn een aantal technieken mogelijk, waarvan vaak vooraf niet duidelijk is welke de beste is. We willen een stuk gereedschap ontwikkelen, om dit zoekprobleem te sturen. Normaal werkt beeldverwerking bottum-up van een beeld, via segmentatie en analyse naar informatie. Het te ontwikkelen systeem zal een top-down terugkoppellus bezitten, waardoor, indien niet voldoende informatie verkregen is, op beeldniveau nieuwe informatie gezocht kan worden. Als case kan bijvoorbeeld drie dimensionale beeldreconstructie van celstructuren of het herkennen van vezels gekozen worden. Voor remote sensing toepassingen bestaat reeds een dergelijk systeem (Matsuyama, 1990).

Interpretatie van meetgegevens kan een lastig probleem zijn. Gelukkig kan de statistiek hierbij behulpzaam zijn. Vaak is het echter lastig een directe relatie te vinden tussen kwaliteit zoals een 'expert' dat vind en wat een beeldverwerkingsalgoritme meet. Dit probleem is niet direct te vertalen in een wiskundige formule. Het gebruik van gesimuleerde neurale netwerken kan mogelijkheden bieden de patronen in dergelijke relaties te vinden. Deze systemen zijn namelijk beter in staat die problemen aan te kunnen die te maken hebben met een

hoeveelheid onzekere data met een hoge ruisfactor (Masson, 1990). Bijvoorbeeld bij het vastleggen van een relatie tussen de henneppulp parameters en de kwaliteit van papier kan het een nuttige gereedschap zijn.
Neurale netwerken zijn ook direct inzetbaar voor patroonherkenning op het beeldbewerkingsniveau. Een dergelijk systeem kan bijvoorbeeld leren randen te herkennen, door een leerpatroon bestaande uit een origineel beeld en een rand beeld aan te brengen. Wanneer het netwerk in voldoende mate geleerd heeft, is het in staat van nieuwe beelden een randbeeld te creëren.

Op dit moment staan twee beeldverwerkingssystemen tot de beschikking. Het Quantimet 520 apparaat wordt vooral voor het routinematig meten ingezet. Verder wordt Imaging Technology SR-151 hardware gebruikt, gekoppeld aan het Visilog softwarepakket voor de ontwikkeling van de meer complexe routines. Binnen het ATO staan nog twee andere beeldverwerkingssystemen. Een met TCL-Image software uitgeruste PC is gekoppeld aan de Confocale Laser Scan Microscoop (CLSM) voor opname en bewerking van de CLSM-beelden. Een Olympus systeem is speciaal aangeschaft voor het meten van microscoop fluorescentie om bijvoorbeeld Calcium concentraties in cellen te meten.

2. Motivering en te verwachten effecten

De beoordeling van de kwaliteit van bloembollen is een arbeidsintensieve en saaie taak. Omdat dit een herhaalbaar proces betreft, lijkt Computer Beeld Analyse geschikt om ondersteuning van de kwaliteitsbeoordeling te geven. Het doel is een sorteermachine te ontwikkelen die op uitwendige (en op later stadium ook inwendige-) kwaliteit sorteert. Het moet dan voor telers en exporteurs inzetbaar zijn. Er wordt gestreeft naar een sorteersnelheid van 5 bollen per sec per lijn. Een ruwe schatting van de kosten van de sorteermachine bedraagt fl 100.000. In eerste instantie zal het prototype als voorsortering van de uitwendige kwaliteit van tulpebollen ingezet gaan worden.
CBA is op diverse manieren inzetbaar bij de beoordeling van bloembollen. Ruwweg is een onderverdeling in drie aandachtsgebieden te maken:

a) Meting van grootte, vorm en kleur
b) Sortering op uitwendige beschadigingen (mechanisch en microbiëel)
c) Inspectie op interne kwaliteit (spruitlengte, inwendig rot, etc.)

ad a)
De meting en sortering op grootte, vorm en kleur is een relatief eenvoudig probleem. Op basis van standaard beeldanalyseroutines zijn de afmeting en vorm van een bol te bepalen. Voor een kleurmeting speelt de keuze van een geschikte camera en de uniformiteit van de belichting een grote rol. Van beelden opgenomen met een zwart/witkamera kan men de kleur beschrijven met een grijswaardenhistogram. Onderzoek zal nog plaats gaan vinden naar het gebruik van een kleurenkamera. Deze levert twee maal zoveel informatie als eerder genoemde.

ad b)
Uitwendige beschadigingen kunnen met behulp van CBA worden gedetecteerd. Dit gebeurt door het toepassen van beeldbewerkingsalgoritmen op de computerbeelden. Deze algoritmen werken pixel georiënteerd. Om de mate en plaats van beschadiging vast te stellen wordt er gebruik gemaakt van een maximum- en minimum filter, eventueel in combinatie met een Laplace filter.
Om verschillende oorzaken van aantastingen aan te tonen is het nodig gebruik te maken van spectrale informatie van specifieke aantastingen. Door spectraal filters of specifieke belichting toe te passen worden de verschillen zichtbaar. Het meetgebied voor microbiële aantastingen ligt meestal in het zichtbaar licht tot in het nabij-infrarood.

ad c)
Voor het onderzoek naar inwendige controle van bollen is het nodig speciale sensoren te gebruiken. Inventariserend onderzoek vindt plaats naar mogelijke technieken en methoden voor de inspectie van inwendige kwaliteit van verschillende landbouwkundige producten. Mogelijkheden liggen bij het gebruik van röntgen of akoestische apparatuur en NMR-technieken. Volgens CPRO-DLO is automatische beeldverwerking met röntgen goed mogelijk. Oriënterend onderzoek aan tulpebollen waren hoopgevend. Op basis van NMR-techniek wordt binnen het ATO-DLO instituut onderzoek gedaan naar systemen die met voldoende snelheid kunnen classificeren en sorteren. De inzetbaarheid van akoestische apparatuur moet nog onderzocht worden.

Voor succesvolle logistieke implementatie van CBA voor kwaliteitssortering dient inzicht te bestaan in wat in de verschillende schakels onder het begrip kwaliteit wordt verstaan. In konkreto betekent dit dat bekend moet zijn op welke aspekten een bol wordt beoordeeld cq zou moeten worden beoordeeld. Ten tweede dient bekend te zijn welke normen dan per aspekt gelden, bijv. welk percentage huidaantasting nog wel acceptabel is en welk niet. De vaststelling van de kwaliteitsdefinities zal gebeuren onder het projekt 'Kwaliteitsverloopmodellen'. In het CBA-onderzoek zal van de uitkomsten hiervan gebruik worden gemaakt.

3. Werkwijze

In overleg met de praktijk is besloten het onderzoek in de eerste fase te beperken tot tulpen en irissen. Gefaseerd zullen bovengenoemde aspecten onderzocht worden. Het doel is om uiteindelijk in samenwerking met een sorteerfabrikant een sorteersysteem te ontwikkelen die alle genoemde aspecten beoordeelt. Allereerst zal een inventarisatie van problemen bij tulpebollen en irisbollen met soortafhankelijke aantastingen uitgevoerd worden. Orienterende metingen aan vorm en kleurafwijkingen zullen uitgevoerd worden. Voor detectie van uitwendige afwijkingen (bijvoorbeeld schimmelaantasting) zal een spectraal analyse uitgevoerd worden. Op basis hiervan zal een geschikte sensor gezocht worden om de uitwendige (soort specifieke) afwijkingen te kunnen detecteren. Voor interne kwaliteit wordt literatuuronderzoek gedaan naar mogelijke technieken, zoals Nuclear Magnetic Resonance, Akoestische sensoren en röntgentechnieken.

Met thermisch infrarood technieken zal onderzocht worden in hoeverre warmteproduktie gerelateerd is met de inwendige kwaliteit. Met NMR-imaging zal een beeld gevormd worden en getracht wordt uit de beelden informatie over de interne kwaliteit af te leiden.

4. Fasering

juni 1991 :	inventarisatie bollensoort; voorlopig vaststellen kwaliteitsparameters. Toespitsen op 2 soorten:tulp,iris.
dec. 1991 :	literatuur onderzoek interne kwaliteit af; meetresultaten vorm en kleurbeoordeling.
1992 :	spectraal onderzoek uitwendige afwijkingen afgerond;
1993 :	onderzoek inwendige kwaliteit afgerond; prototype sorteersysteem uitwendige kwaliteit
1994 :	kwaliteittoets inwendige beoordeling.

Literatuur

Baltussen, W., Hendriks, J., 1989. **Het richten van Bloembollen met behulp van digitiale Beeldverwerking**, Landbouw Universiteit Wageningen, 1989.

Chen, P. et al., 1991. **A review of non destructive methods for quality evaluation and sorting of agricultural products.** Journal of agricultural engineering research, vol 49 no 2 (1991) p85-98.

Chen, P. et al, 1988. Potential use of NMR for Internal Quality Evaluation of Fruits and Vegetables, ASAE, 1988, papernr. 88-6572

Lammes, F., 1990. **Beeldherkenning; Robots voor sorteren en planten komen er aan**, Bloembollencultuur, 101 (1990), nr 26.

Masson, E., Wang, Y., 1990. Introduction to computation and learning in artificial neural networks, **European Journal of Operational Research**, 47 (1990), pag. 1-28.

Matsuyama, T., Hwang, V., 1990. SIGMA, A Knowledge Based Aerial Image Understanding System, Plenum Press, New York, 1990.

Nunnink, E., 1991. Sorteren kan nauwkeuriger, **Groenten en Fruit**, 1991 no 4.

Raschke, K., et al, 1990. Spatial and Temporal Heterogeneities of Photosynthesis Detected through Analysis of Chlorophyll-fluorescense Images of Leaves, **Current Research in Photosynthesis**, vol IV (1990), pag 573-578.

Sarkar, N., Wolfe, R. R., 1985. **Computer vision based system for quality separation of fresh market tomatoes.** Transactions of the american society of agricultural engineers, vol 28(5) (1985) p1714-1718.

4. Onderzoek naar verpakken en coaten van bloembollen.

1. Probleem, aard en doelstelling

De omzet in de bloembollenhandel bedraagt ruim 1 miljard aan exportwaarde. Bijna 40 % van de goederenstroom (in aantal) komt terecht in de droge verkoop. Deze bollen worden in Nederland verpakt en uiteindelijk in binnen- en buitenland via de detailhandel verkocht. De functie van de verpakking ten aanzien van de stapelbaarheid, klimaatbeheersing etc. is alom bekend. Bij de huidige open verpakkingen komen een aantal problemen voor:
- spruiten: Leliebollen en voorbehandelde tulpebollen kunnen het best bewaard worden bij lage temperaturen. De verkoop van de bloembollen vindt meestal bij hogere temperaturen plaats. Dit leidt veelal tot het uitlopen van de bollen in de verpakking.
- uitdroging: In een open verpakking kunnen bollen uitdrogen. Bij leliebollen kan dit tot ernstige nadelige gevolgen voor de bloei leiden (Maas 1974).
- vuil uit de verpakking: De supermarktketens hebben problemen met schilfers, stof, vuil ed. uit de verpakking.

Een mogelijke oplossing voor deze problemen is het gebruik van een gesloten verpakking. Deze kan b.v. bestaan uit een plastic folie om bollen en/of een coating op bollen. In dit project zal worden onderzocht in hoeverre het gebruik van coating en of folie het spruiten en de uitdroging kan voorkomen. In eerste instantie zal de aandacht gericht worden op gasregulerende coatings aangebracht op bollen. In een later stadium zullen folies worden overwogen. Het verschil tussen een coating en een folie is dat bij folieverpakking er volume rondom het produkt in de verpakking is (microklimaat).

Spruiten.
De gassamenstelling in een gesloten verpakking wijzigt door de ademhaling van de bol. De respiratie van de bollen en de permeabiliteitseigenschappen van het verpakkingsmateriaal bepalen de evenwichtsconditie in de verpakking. Dit fenomeen heet Modified Air Packaging (MAP). Het is van diverse agrarische produkten bekend dat deze gemodificeerde luchtsamenstelling tot remming van de ademhaling kan leiden (Ballantyne 1989). Andere processen, zoals groei en ontwikkeling, transpiratie, ethyleenproduktie ed. worden ook beïnvloed (Kader 1989). Voor het product bollen kan MAP mogelijk tot remming van de spruitgroei leiden en, meer in het algemeen, voor kwaliteitsbehoud van het produkt zorgen.
In dit onderzoek wordt de invloed van een gewijzigde gassamenstelling op de ontwikkeling van bloembollen bekeken. Uit vergelijkbaar onderzoek aan andere produkten blijkt vooral een tekort aan kennis over het gebied tussen visuele aspecten (de kwaliteitsindikatoren) en cellulaire processen. Het is daarom van groot belang om niet alleen van concentraties rond het produkt uit te gaan, maar ook de interne O_2- en CO_2-concentraties te meten (Burton, 1974).
Het verschil in optimale externe (bewaar-)concentraties bij diverse bollen kan deels worden veroorzaakt door een verschil in diffusieweerstand tussen de omgevingslucht en de plaats waar de O_2 en CO_2 werkzaam zijn. Mogelijke oorzaken hiervoor zijn ondermeer verschillen in morfologie, anatomie en membraanweerstanden.

Uitdroging
De uitdroging kan worden geremd in een gesloten verpakking. In het begin van de verpakte periode is de vochtafgifte van de bol groter dan de waterdiffusie door het verpakkingsmateriaal. In een verpakking kan de relatieve vochtigheid hierdoor zeer hoog worden. Doordat het dampdruk deficit afneemt zal zich uiteindelijk een evenwicht instellen van ca. 95 -100% (Boerrigter, 1981). Deze situatie voorkomt weliswaar verdere uitdroging en zou dus positief werken. Deze zeer hoge RV kan echter ook tot problemen leiden. Want een hoge RV in de verpakking gekombineerd met temperatuursschommelingen leidt tot condensvorming, wat de groei van de verschillende soorten schimmels zoals Fusarium, Botrytis en Pythium kan stimuleren (Prince 1988).
Er bestaat een aantal mogelijkheden om de relatieve vochtigheid in de verpakking te controleren. Ten eerste kan het verpakkingsmateriaal worden gewijzigd zodanig dat het vocht beter wordt afgevoerd naar het buitenklimaat. De diffusie-eigenschappen van het water door het verpakkingsmateriaal moet worden vergroot. Een aanpassing van de diffusie-eigenschappen van water zal veelal de diffusie-eigenschappen van de gassen door de verpakking beïnvloeden. Hierom is een uitgebreide studie van de permeabiliteit van verpakkingsmaterialen afhankelijk van de temperatuur en de RV essentieel. De permeabiliteitseigenschappen t.a.v. H_2O, O_2 en CO_2 staan hier centraal.
Ten tweede kan een additief in de verpakking worden geïntegreerd dat water opneemt. Deze moet gedurende de verpakte periode het vocht boven een bepaalde grens absorberen. Van diverse zouten is zo'n werking bekend (Young 1967). Ook zijn andere materialen op basis van plantaardig materiaal en mineralen mogelijk. In de literatuur over bewaaronderzoek van de gewassen tulp en lelies kunnen voor enkele cultivars optimale RV instellingen worden gevonden (Timmer, 1975). Er dient verder onderzoek te worden gedaan naar de grenzen waarbinnen de relatieve vochtigheid zich moet bevinden tijdens de verpakte periode. Binnen dit interval moet vervolgens voor de verschillende cultivars een optimale additief gevonden worden. Uiteindelijk moet dit additief in de verpakking worden geintegreerd.

Dit project omvat de volgende werkgebieden:
Relatie bol- klimaat.

Onderzocht wordt wat de invloed is van een gewijzigde gassamenstelling op de kwaliteit van (verschillende gewassen en cultivars) bloembollen. Daarbij is het van belang zowel de optimale concentraties O_2, CO_2 en H_2O als de tolerantiegrenzen van de bollen voor deze gassen te achterhalen. Kwaliteitsmetingen zullen zowel voor (ontwikkelingsstadium, uitwendige kwaliteit, versgewicht e.d.) als na het opplanten (bloei, trekduur) plaatsvinden.
Het onderzoek zal worden uitgevoerd met een doorstroomsysteem. Dit systeem bestaat uit 4 klimaatcellen met in elke cel 12 containers waarin de luchtsamenstelling nauwkeurig te regelen is.
Om meer inzicht te krijgen in de oorzaken van de invloeden van O_2 en CO_2 worden tijdens de bewaring aanvullende metingen uitgevoerd, waarbij getracht wordt de relatie te vinden tussen (interne) O_2- en CO_2-

concentraties en optredende processen. Daarom is het noodzakelijk om te weten wat er in een bol op cellulair niveau als gevolg van verhoogde CO_2- en verlaagde O_2-concentraties gebeurd.
Op een celwand bevindt zich een waterfilm waarin het externe CO_2 eenvoudig kan oplossen. Afhankelijk van de pH van die waterfilm, kunnen evrschillende ionen gevormd worden (H_2CO_3, $H^+ + HCO_3^-$ en/of $2H^+ + CO_3^+$). De vorm waarin het CO_2 in dit water oplost is bepalend voor de manier waarop het door de celmembraan getransporteerd wordt; via diffusie en/of via ioncarriërs (Pfanz en Heber, 1986).
Afhankelijk van de pH-buffercapaciteit van de cel, en de verschillende celorganellen, heeft een verhoogd CO_2-gehalte in de cel gevolgen voor de pH. Aannemelijk is dat bij hoge externe CO_2-concentraties de pH afneemt (verzuring).
Bekend is dat de activiteit van enzymen (zoals ion-carriërs) pH-afhankelijk is.
Tijdens de bewaring zullen ondermeer interne concentraties, pH (intracellulair en van waterfilm rond de cel), osmotische potentialen en enzymactiviteiten worden gemeten.

Bewerkstelligen van het klimaat in de verpakking.

In het kader van dit projekt zal onderzoek gedaan worden aan de regeling van de RV binnen de verpakking voor bollen. In het werkgebied bol-klimaat worden de tolerantie grenzen van de RV vastgesteld. Onderzocht wordt of deze RV door het toevoegen van additieven in de verpakking of coating kan worden benaderd. Dit sluit aan op onderzoek van Cameron waarin een gecontroleerde RV evenwichtssituatie in een gesloten tomatenverpakking wordt bereikt via het toevoegen van verschillende zouten.
De coating kan de bol zo afsluiten dat hij de gasuitwisseling van de bol en daarmee de gassamenstelling in het weefsel reguleert. De coating functioneert a.h.w. als een gesloten verpakking. Het is theoretisch mogelijk dat er in de bol een gassamenstelling ontstaat die correspondeert met een gemodificeerde atmosfeer buiten de bol die de afleving van de bol kan remmen. Zo kan een coating via een inwendig gewijzigde gassamenstelling de kwaliteit gunstig beïnvloeden. De permeatieeigenschappen van verschillende gassen (zoals CO_2, O_2 en C_2H_4) zijn van groot belang. Deze worden in diffusiekamers door het ATO gemeten. Hiernaast dient ook de waterdoorlaatbaarheid van de coating te worden bepaald. De coating moet de bloembol beschermen tegen eventuele uitdroging, maar ook tegen een te hoge RV waardoor de kans op schimmelgroei wordt vergroot.
Er zal een computermodel worden ontwikkeld dat de permeabiliteit van de coating in relatie tot de ademhaling van het produkt beschrijft, waarbij de temperatuur van de ruimte waarin het verpakte produkt zicht bevindt een belangrijke rol speelt. Via dit model kunnen uiteindelijk effecten van diverse soorten verpakkingen met bollen onder verschillende bewaarcondities worden doorgerekend. Deze gegevens kunnen het aantal tijdrovende experimenten beperken en werkt sturend op het onderzoek naar de keuze van geschikt verpakkingsmateriaal.

Ontwikkelen en selecteren van het verpakkingsmateriaal.

ATO-DLO heeft diverse processen in ontwikkeling voor het vervaardigen van biologische volledig afbreekbare coatings en folies op basis van zetmeel of plantaardige eiwitten. Gezien de aard van deze materialen is een goede hechting te verwachten evenals een goede mengbaarheid met een scala van toevoegingen. De materialen zullen volledig verdwijnen zodra de bol na opslag in de grond wordt gebracht. Dit open b.v. de mogelijkheid kiemremmers en fungiciden (functioneel tijdens opslag) of meststoffen (functioneel na oplossen van de film) aan de coating toe te voegen. Daarnaast kunnen toevoegingen de differentiële permeabiliteit van de coatings of folies moduleren waardoor mogelijkerwijze binnen de gecoate bol of een bol in een folie een MA ontstaat die de bewaarbaarheid positief beïnvloedt.

Coatings van bloembollen dient zo niet louter ter verpakking . Het verbetert mogelijkerwijze de bewaarbaarheid en biedt de mogelijkheid het gebruik van agrochemicalien fors terug te dringen door ze toe te dienen waar en wanneer ze nodig zijn.

Door het LBO zijn enkele experimenten met commercieel beschikbare coatings op het gewas tulp uitgevoerd. Deze uitkomsten van deze experimenten voorspellen geen significante reduktie in het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen. Bij de coatings die in het kader van dit projekt op het ATO worden ontwikkeld wordt ook de slow-release funktie gereguleerd. Dit is zeer belangrijk voor het efficient en effectief toedienen van gewasbeschermingsmiddelen, en biedt daarom wel perspectief op reduktie van de benodigde hoeveelheden.

Hiernaast zal er worden gekeken welke commercieel verkrijgbare en experimentele coatings op een bol hechten en niet de kwaliteit van de bol aantasten.

Een keuze van het soort kiemremmers volgt ondermeer uit deelonderzoek van in ditzelfde ATO-DLO bloembollenproject.

2. Motivering en te verwachten effecten.

De problemen spruitgroei en vochtregulering in de verpakking wordt systematisch aangepakt. Het onderzoek bestaat uit:

1) het bestuderen van de reactie van de bol op het klimaat (temperatuur en RV).
2) het bewerkstelligen van dit klimaat in de verpakking.
3) het ontwikkelen en/of selecteren van het verpakkingsmateriaal.

In het werkplan zijn een aantal alternatieven voor het oplossen van dit probleem opgenomen zodat de kans op verbetering van de huidige situatie groot is.

Het eerste deelonderzoek zal kennis opleveren omtrent de invloed van de luchtsamenstelling op bloembollen en de tolerantie grenzen voor de verschillende gassen en de luchtvochtigheid bij diverse temperaturen. Tevens levert dit onderzoek informatie over het verloop van pH, osmotische potentialen e.d. tijdens bewaring, wat nuttige informatie oplevert voor andere bewaarmethoden. Deze gegeven zullen een beter inzicht geven in de relatie tussen de gassamenstelling in en rond de bol en de fysiologische reactie van de bol hierop.

Centraal in dit project staat de regulering van de RV binnen de verpakking. De diffusie experimenten leveren informatie op over de structuur/ functionaliteit van de coating wat betreft de gas- en waterdoorlaatbaarheid. Deze gegevens kunnen in een door ATO te ontwikkelen computermodel gebruikt worden, samen met de gegevens over de ademhaling van de bol onder diverse omstandigheden, om de evenwichtssituatie in de verpakking te berekenen. Hiermee kan het onderzoek aan coatings worden gestuurd en het aantal experimenten worden teruggebracht.
Verwacht wordt dat op basis van de door ATO-DLO ontwikkelde procedees voor de voorbereiding van biologisch afbreekbare plastics, via optimalisering van de samenstelling (type en concentratie zetmeel/eiwit, weekmaker en andere additieven) reeds op korte termijn de eerste coatings en folies kunnen worden ontwikkeld. Technieken voor het aanbrengen van de coatings dienen speciaal voor de toepassing op bloembollen te worden ontwikkeld. Opplant experimenten zullen informatie leveren m.b.t. de functionaliteit van de coatings in de praktijk.

3. Werkwijze.

Er wordt binnen dit project gekozen voor de bolsoorten tulp en lelie. In overleg met Laboratorium voor Bloembollen Onderzoek is gekozen voor cultivar Kees Nelis en Prominence respectievelijk Enchantment en Connecticut King. Daarnaast zullen in enkele kleinschalige experimenten andere cultivars worden bekeken om een brede toepasbaarheid te garanderen.
Voor sommige onderdelen van dit project 'verpakken en coaten van bloembollen' is het vaststellen van een relatie tussen de omstandigheden waaraan de bol wordt bloot gesteld tijdens het experiment en de kwaliteit van de bloembol noodzakelijk. Bijvoorbeeld waar de invloed van de coating op de kwaliteit van de bol wordt nagegaan. Ook dient de optimale gassamenstelling gerelateerd te worden aan de kwaliteit van de bloembol. Zolang er geen directe kwaliteitsparameters van de bloembol zelf beschikbaar zijn, dient deze te worden getoetst in opplant experimenten. Er moet dan worden gekeken naar de volgende kwaliteitsaspecten: b.v het aantal bloemen, spruitlengte en wortelgroei. Afspraken hierover worden in het algemene deel van deze projectbeschrijving besproken.
Aan een aantal folies zal de permeabiliteit van CO_2, O_2, C_2H_4 en H_2O worden gemeten. Deze permeabiliteit zal worden bekeken als functie van de samenstelling van de film door variatie van het type en de concentratie van zetmeel/eiwit, weekmaker en van hydrofiele (b.v. zouten) en hydrofobe toevoegingen (oliën, vetzuren ed.). Van geschikte recepten zal de fysische sterkte, stabiliteit en de hechting op de bol worden onderzocht en ev. aangepast.
Werkzaamheden m.b.t. structuur-eigenschappenrelatie en bepalen van fysische en chemische parameters aan de bioplastics zullen worden afgestemd op lopende projecten binnen ATO-DLO.

Inwendige gasconcentraties zullen d.m.v. vacuumextractie gecombineerd met gaschromatografie (GC) en infrarood detectie worden bepaald. De permeabiliteitsmetingen worden in diffussiekamers in een nauwkeurig geregelde klimaatkast (temperatuur en RV) uitgevoerd. De gasanalyse wordt d.m.v. infrarood spectroscopie worden bepaald. Voor het onderzoek naar de structuur-functie

relatie zullen diverse technieken worden ingezet, zoals b.v. NMR, X-ray- of electronendiffractie, electronenmicroscopie confocal laser scanning microscopie.

4. Fasering

fase 1 (ca 1.5 jaar):

- meten van de invloed van CO_2, O_2 concentraties en de RV op de kwaliteit van de bol voor genoemde lelie-cultivars.
- het meten van rv, vochtafgifte en vochtabsorptie in gesloten verpakking. Materialen: sorbitol en calciumchloride en tulp cultivar Kees Nelis.
- verzamelen van fysische gegevens: produkt en verpakkingsmateriaal.
- realisering van gasdiffusiemeetopstelling.
- aan 'in vitro' films permeabiliteits metingen uitvoeren, en optimalizeren voor zetmeel/eiwit gehalte/type, weekmakers en additieven.
- meten van de hechting van de coating op de bol.
- bepaling van de fysische sterkte en stabiliteit van de coatings.
- modelleren en meten van gasdiffusie door coatings.

fase 2 (ca 1.0 jaar):

- meten van de invloed van CO_2, O_2 concentraties en de RV op de kwaliteit van de bol voor genoemde tulpencultivars.
- toespitsen op een aantal toepassingen door keuze op het gebied van coatingreceptuur en toevoegingen van agrochemicalien.
- experimentele coatings 'in vivo' op de bol

fase 3 (ca 1.5 jaar)

- valideren van de invloed van CO_2, O_2 concentraties en de RV op de kwaliteit van de bol voor genoemde cultivars van de gewassen tulp en lelie.
- functionaliteit van beperkt aantal coatings op 'in vivo' bollen, met opplant proeven.
- aanpassen op basis van praktijk gegevens.

Literatuur

Ballantyne, A. (1989). Modified atmosphere packaging of vegetables. Acta Hort., 224, pp 153-162.

Ballantyne A., 1989. Modified atmosphere packaging of vegetables. Acta Hort., 244, pp 153-162

Boerrigter, H.A.M. en ir. G. van Beek, 1981. Bepaling van het circulatievoud van tulpeplantegoed. Sprenger Instituut rapport no 2167.

Burton W.G., 1974. Some biophysical principles underlying the controlled atmosphere storage of plant material. Ann. Appl. Biol., 78, pp 149-168

Kader, A.A., D. Zagory en E.L. Kerbel, (1989), Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. In: Critical Review in food Science and nutrition, Vol 28 (1) 1-28.

Maas W., 1974. Het beproeven van CA-bewaring t.o.v. gewone bewaring bij 0-1 °C met leliebollen. Internverslag Sprenger Instituut no. 157

Pfanz H., Heber U., 1986. Buffer capacities of leaves, leaf cells, and leaf cell organelles in relation to fluxes of potentially acidic gases. Plant Physiol., 81, pp 597-60

Prince, T.A. en R.C. Herner, 1988. MA Packaging of tulip bulbs: physiological implications, disease control, and package performance under temperature fluctuation. Proceedings of the 4th national CA-research conference 1988.

Timmer, M.J.G. (1975), De invloed van de relatieve vochtigheid tijdens de bewaring op groei en produktie van een aantal tulpecultivars. LBO, rapport 28.

Young, J.F. (1967) Humidity control in the laboratory using salt solutions- A review. J Appl Chem. 17:241-245.

Deel 2: Projektorganisatie

Projekttitel	Onderzoekers	cap	Kontakten met:
Invloed van temperatuur op de ontwikkeling van bolgewassen	Douwe de Boer Peter Balk Anette Bergmans	3	LBO RUU LUW CPRO
Bestrijding van bewaarpathogenen	Eddy Smid Yke de Witte Mariken Jacobs	2	LBO IPO RUG
Logistieke besturing tijdens distributie	Xavier Urlings Andries Hoogerwerf Peter Reinders	1,4	LUW INSEAD
Kwaliteitsverloopmodellen	Clare Wilkonson Anneke Polderdijk	1	LBO LUW
Intelligente Bloembollencontainer	Matt Janssens Rob Bons	1	TUE TUD
Computer Beeld Analyse	Roger Willems Toine Timmermans Bouke van Zwol Sjors Vrieze Alex Hulzebosch	0.5	LUW LBO
Verpakken en coaten	Rob Evelo Henri Boerrigter Johan Vereijken Bert Tournois Herman Peppelenbos	1,1	LBO LUW RUG