

# Haalbaarheidsstudie voor een UV-afdodings- systeem voor latent zuur in tulp

Onderzoek uitgevoerd in samenwerking met Relitech B.V. en NEDAP B.V.

H.A.E. de Werd en S.J. Breeuwsma

J.C. Musters en F.P. Houwen

T. Telgenhof Oude Koehorst en P. Wolberink

*PPO Bollen, Bomen & Fruit*

*Relitech B.V.*

*Nedap N.V.*

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.  
BU Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit  
Relitech - Reliable Technology  
PPO nr. 3234009800

April 2006



# Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	4
1 INLEIDING .....	5
2 MATERIAAL & METHODE .....	7
2.1 Bestralen met UV-licht .....	7
2.2 Doden van sporen en mycelium in waterige oplossing.....	7
2.3 Invloed van UV op mycelium op petrischalen .....	7
2.4 Doordringbaarheid bolhuid.....	8
2.5 Neveneffecten van UV op de bol en bloemontwikkeling .....	8
2.6 Effect van UV op latent besmette bollen.....	10
3 RESULTATEN .....	11
3.1 Doden van sporen en mycelium .....	11
3.2 Doordringbaarheid bolhuid.....	12
3.3 Effect op de bol en gewasontwikkeling .....	14
3.4 Doden latent zuur .....	16
4 CONCLUSIES .....	17
Doden van sporen en mycelium.....	17
Doordringbaarheid bolhuid .....	17
Doden latent zuur.....	17
Neveneffecten op de bol.....	17
LITERATUUR.....	18

# Samenvatting

In een haalbaarheidsstudie is onderzocht of en in welke mate latente *Fusarium*-infecties van tulpenbollen bestreden kunnen worden met UV-licht. Laboratoriumproeven toonden aan dat sporen en mycelium van *Fusarium* zeer gevoelig zijn voor UV. Doses van minder dan 100 mJ/cm<sup>2</sup> reduceren het aantal sporen met een factor van meer dan 1000.

Indien *Fusarium* beschermd werd door de aanwezigheid van bolhuid of rokweefsel (dit is het geval bij latent zuur), had UV geen of nauwelijks effect.

Hogere doses, 1.000 mJ/cm<sup>2</sup> hadden tot gevolg dat de bollen (licht) bruin kleurden en na 20.000 mJ/cm<sup>2</sup> vertoonden de bollen ook paarse vlekken. De maximale dosis van 500.000 mJ/cm<sup>2</sup> veroorzaakte een algehele destructie van de bollen. UV-doses tot 20.000 mJ/cm<sup>2</sup> hadden geen invloed op de uiteindelijke gewasontwikkeling.

Algemeen kan geconcludeerd worden dat UV-bestraling met doses van 100 – 500 mJ/cm<sup>2</sup> in principe een voldoende afdodend effect heeft op *Fusarium*, terwijl er geen negatief effect op de gewasontwikkeling zal zijn. Doordat UV niet of onvoldoende door bolhuid en rokweefsel doordringt kunnen latente infecties er echter niet mee bestreden worden.

# 1 Inleiding

De schimmel *Fusarium* veroorzaakt bolrot bij tulpenbollen, ook wel zuur genaamd. Symptomen kunnen zich voordoen tijdens de bewaring van de bollen, op het veld wanneer geïnfecteerde of besmette bollen geplant zijn, of door infectie vanuit de grond. Zuur kan ook schade veroorzaken in de broeierij. Latent zure bollen bevatten schimmeldraden (mycelium) in de buitenste bolrok. Het mycelium kan maanden in een rusttoestand (latent) overleven, zonder zichtbare symptomen. Onder invloed van warmte en vocht kan het mycelium uitgroeien tot zichtbare infecties (zure bollen). Bestaande chemische en biologische bestrijdingsmiddelen dringen niet tot in de buitenste bolrok door, waardoor deze latente infecties niet bestreden kunnen worden. De aanwezigheid van latente infecties maakt het onmogelijk partijen bollen volledig te schonen van zuur.

Bestralen met UV-licht is een methode waarmee sporen en mycelium van *Fusarium* beschadigd en/of gedood kunnen worden. Een UV-behandeling als onderdeel van de verwerkingslijn zou daarom een snelle manier kunnen zijn om het zuurprobleem te bestrijden.

PPO bollen heeft in 2004 in het kader van PT project 11617 / PPO 320943 oriënterende proeven uitgevoerd met UV-licht. De (voorlopige) conclusie van deze proeven was dat sporen aan de buitenkant van de bol voor meer dan 40% werden gedood en dat de gebruikte dosering UV geen negatieve effecten had op de groei van de tulpen. Ook werd er afname van latent zuur waargenomen. Door de beperkte opzet van deze proef konden hieruit echter geen harde conclusies worden getrokken. Deze positieve uitkomst was wel aanleiding om met een verbeterde behandelingsopstelling, een groter aantal bollen en een sterkere UV-lamp, uitgebreidere proeven uit te voeren. In deze fase zijn de bedrijven Relitech en Nedap bij het onderzoek betrokken. De technische kennis van Relitech op het gebied van meet- en regelapparatuur en de kennis en materialen van Nedap op het gebied van UV-toepassingen zijn ingezet bij de uitvoering van dit onderzoek.

In een laboratoriumexperiment is bepaald welke dosis (tijd x intensiteit) UV minimaal nodig is om sporen en mycelium van *Fusarium* te inactiveren of doden.

De verkregen resultaten zijn vervolgens gebruikt om de doordringbaarheid van de bolhuid en het effect op latente infecties te bepalen. Hiervoor werden lage tot extreem hoge doses UV toegepast. Om ook eventuele ongewenste neveneffecten van de gebruikte UV-doses op de bolkwaliteit en bloemvorming zichtbaar te maken zijn de tulpen na behandeling bewaard en afgebroeid.



## 2 Materiaal & Methode

### 2.1 Bestralen met UV-licht

Voor het bestralen is gebruik gemaakt van een opstelling bestaande uit een gesloten kast met 2 lampen met aan de voorzijde een perspex plaat. De voorzijde kon half geopend worden middels een klep. Om zeker te zijn van de juiste dosis, werd UV tijdens bestraling de dosis met een UV-sensor gemeten. UV-intensiteiten werden tijdens bestraling voortdurend geïntegreerd, zodat UV-doses (intensiteit x tijd) afgelezen konden worden.

### 2.2 Doden van sporen en mycelium in waterige oplossing

*Fusarium* werd gekweekt op Komada selectief medium in petrischalen. Van vijf volgroeide petrischalen werden de sporen verzameld. De verkregen sporensuspensie bevatte  $1,5 \times 10^6$  sporen/ml. Voor het bestralen van sporen en mycelium van *Fusarium* werden petrischalen in de bestralingsopstelling geplaatst en gedurende verschillende tijden bestraald. Vóór de bestraling werd een controlemonster genomen ( $0 \text{ mJ/cm}^2$ ). Vervolgens werd een bepaalde dosis UV toegepast, waarna weer een monster genomen werd. Daarna werd opnieuw bestraald enz. De verschillende doses UV zijn optelbaar. De in deze proef gebruikte doses UV zijn gebaseerd op de resultaten uit eerder onderzoek (Asthana & Tuveson, 1992; Giraud & Lhomme, 2003; Mebalds et al, 1996). Het bestralen van de sporen werd in duplo uitgevoerd waarbij doses van 0, 30, 60, 90 en  $120 \text{ mJ/cm}^2$  UV werden toegepast. In een tweede experiment werden de sporen ook met  $300 \text{ mJ/cm}^2$  bestraald. Fragmenten van mycelium werden bestraald met 0, 130, 300 en  $600 \text{ mJ/cm}^2$  UV. De dichtheid van het mycelium is vooraf niet bepaald. Na bestraling werden de sporen en myceliumfragmenten in verschillende verdunningen op Komada medium gebracht en geïncubeerd bij  $24 \text{ }^\circ\text{C}$ . Aantallen uitgegroeide sporen en mycelium werden na enkele dagen bepaald.

### 2.3 Invloed van UV op mycelium op petrischalen

In de proeven in 2004 was een hogere dosis UV nodig om mycelium van *Fusarium* op petrischalen te inactiveren of doden dan op grond van ervaring met doden van sporen verwacht mocht worden. Mogelijk is mycelium minder gevoelig dan sporen of wordt door de hoge dichtheid van het mycelium op de petrischalen niet ieder stukje schimmel goed geraakt. Om te zien de dichtheid de kritische factor is, is het effect van UV op mycelium in water (2.2) vergeleken met het effect op een hoge dichtheid mycelium op een petrischaal. Hiervoor werden blokjes agar van ongeveer  $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ , volgroeid met mycelium, geplaatst in het midden van een nieuwe petrischaal met voedingsbodemp. Zes op deze manier geënte schalen werden bestraald met UV-doses van 0, 30, 60, 90, 120 en  $240 \text{ mJ/cm}^2$  UV. De groei van het mycelium werd regelmatig bepaald door het markeren van het groeifront met een stift.

## 2.4 Doordringbaarheid bolhuid

In een oriënterend experiment werd de doordringbaarheid van de bolhuid bepaald door de huid direct op de UV-sensor te leggen. Door het toepassen van een zeer hoge intensiteit UV werd een indicatie verkregen van de doordringbaarheid.

De bolle vorm van de huid vormde echter een probleem bij bovengenoemde methode. De huid sloot niet goed aan op de sensor. Het kan daarom niet uitgesloten worden dat straling langs de huid gaat en de sensor bereikt. Om dit probleem te omzeilen is vervolgens gekozen voor een praktische opstelling, waarbij de afdoding van sporen onder een bolhuid werd bepaald.

Van 2 ml reactievaatjes (ependorf) werden de afgeknipte deksels (cupjes) geplaatst in een doorgesneden (halve) tulpenbol, voorzien van een geboord gat. In de cupjes werd vervolgens een suspensie van *Fusarium*-sporen in water aangebracht. Afdekking gebeurde met de bijbehorende, niet gescheurde bolhuid, die al dan niet extra vastgezet werd met plakband. Ter illustratie zijn foto's weergegeven (figuur 2.1).



Fig. 2.1: Illustraties bij de cupjesproef (zie tekst)

Voor het bepalen van de doordringbaarheid van de bolhuid werden zeer hoge doses van  $1,5 \times 10^5$ ,  $3,3 \times 10^5$  en  $4,8 \times 10^5$   $\text{mJ}/\text{cm}^2$  toegepast, omdat op basis van het oriënterende proefje het vermoeden ontstond dat de doordringbaarheid van de huid zeer beperkt was. De stralingsduur varieerde van drie uur bij de laagste dosis tot tien uur bij de hoogste dosis. De overleving van de sporen werd bepaald door uitplaten van verschillende verdunningen.

## 2.5 Neveneffecten van UV op de bol en bloemontwikkeling

In dit experiment werd onder meer de invloed van UV-licht op de bol zelf onderzocht.

Tabel 2.1: Overzicht van de behandelingen van tulpenbollen (onbesmet). Voor toelichting zie tekst.

Behandeling	Dosis ( $\text{mJ}/\text{cm}^2$ )	Bolhuid	Aantal bollen		
			Spruit en wortelkrans <sup>a</sup>	Afbroei <sup>b</sup>	Totaal
01	0	aanwezig	3	13	16
02	100	aanwezig	3	13	16
03	1.000	aanwezig	3	13	16
04	20.000	aanwezig	3	13	16
05	500.000	aanwezig	3	13	16
06	0	afwezig	3	13	16
07	100	afwezig	3	13	16
08	1.000	afwezig	3	13	16
09	20.000	afwezig	3	13	16



O10	500.000	afwezig	3	13	16
Totaal aantal bollen			30	130	160

<sup>a</sup> Doorsnijden van de bol ter beoordeling van de groeipuntontwikkeling en wortelkrans vlak voor opplanten

<sup>b</sup> Planten van de bol ter beoordeling van bolinfectie en bloemkwaliteit

Alle bollen werden op een plek gelegd waar de ontvangen dosis maximaal 15% afweek van de in het midden gemeten waarde (van tevoren gemeten).

De gebruikte doses zijn als volgt gekozen:

Dosis 1: 0 mJ/cm<sup>2</sup>. Onbehandeld

Dosis 2: 100 mJ/cm<sup>2</sup>. Bij deze dosis worden *Fusarium*-sporen in een suspensie gedood (resultaat van proef 2.2 en op basis van literatuurgegevens)

Dosis 3: 1.000 mJ/cm<sup>2</sup>. Tussenstap tussen dosis 2 en 4.

Dosis 4: 20.000 mJ/cm<sup>2</sup>. Eén van de doses in het PPO onderzoek in 2004 waarbij een effect (echter niet significant) waargenomen werd.

Dosis 5: 500.000 mJ/cm<sup>2</sup>. In het eerste proefje met bolhuid (2.4) leek de bolhuid UV-straling met een factor van 500 te verminderen. Om dan een dosis van 100 mJ/cm<sup>2</sup> onder de huid te bereiken zou de bol met huid aan een dosis van 500.000 mJ/cm<sup>2</sup> blootgesteld moeten worden. Deze dosis is met de huidige stand der techniek ook het maximum wat in een tijdsbestek van enkele seconden gegeven kan worden. Dit is belangrijk met het oog op toepassing in bestaande verwerkingslijnen.



Fig. 2.2: Opstelling voor het bestralen van tulpenbollen.

Het effect van UV-licht op de bol werd op twee manieren onderzocht, namelijk door middel van visuele beoordeling van de bollen en een afbroeioproef. Bollen kregen een (standaard) temperatuurbehandeling van 4 weken 20°C gevolgd door 10 weken 5°C. Na de 4 weken 20°C werden de bollen visueel uitwendig beoordeeld. Na de totaal 14 weken temperatuurbehandeling werden de bollen in de kas geplant om af te broeien. Per behandeling werden 3 bollen (Tabel 2.1) vlak voor het opplanten van de andere bollen doorgesneden ter beoordeling van de toestand van de spruit- en wortelontwikkeling. Na 8 weken in de kas, werden de bollen en de gewasontwikkeling beoordeeld.

## 2.6 Effect van UV op latent besmette bollen

In dit experiment werd de mogelijkheid onderzocht om latent aanwezige *Fusarium*-infecties te bestrijden met UV-licht.

Honderd bollen werden latent zuur gemaakt volgens de PPO standaardmethode (Tabel 2.2, L1 –L5). In totaal 80 onbehandelde bollen dienden als controle. De bollen werden in UV-gesteriliseerde eiertrays gelegd met de inoculatieplaats naar boven gericht.

Na bestraling werden de geïnoculeerde stukjes bolrok op vaste voedingsbodem (petrischaal) uitgelegd en geïncubeerd. Levende *Fusarium* zal hierbij zichtbaar uitgroeien.

Tabel 2.2: Overzicht van de behandelingen van latent zure tulpenbollen en onbesmette bollen. Zie tekst voor toelichting.

Behandeling	Dosis (mJ/cm <sup>2</sup> )	Bolhuid	Aantal bollen
L1	0	afwezig	25
L3	1.000	afwezig	25
L4	20.000	afwezig	25
L5	500.000	afwezig	25
O6 <sup>a</sup>	0	afwezig	16
O7 <sup>a</sup>	100	afwezig	16
O8 <sup>a</sup>	1.000	afwezig	16
O9 <sup>a</sup>	20.000	afwezig	16
O10 <sup>a</sup>	500.000	afwezig	16
Totaal aantal bollen			180

<sup>a</sup> Deze controles zijn dezelfde als in Tabel 2.1

## 3 Resultaten

### 3.1 Doden van sporen en mycelium

Figuur 3.1 geeft afdodingscurven weer van *Fusarium*-sporen in water. De verticale as toont  $\log N_0/N$  als functie van de UV-dosis, waarbij  $N_0$  het aantal levende sporen is na een dosis van  $0 \text{ mJ/cm}^2$  en  $N$  het aantal levende sporen is bij een bepaalde hogere UV-dosis. Bij een dosis van  $50 \text{ mJ/cm}^2$  wordt 98% - 99% van de sporen gedood. Een verdubbeling van de dosis tot  $100 \text{ mJ/cm}^2$  leidt tot 99,95% - 99,97% afdoding. Voor een afdoding van 99,9% van de sporen is ongeveer een dosis nodig van 70 – 80  $\text{mJ/cm}^2$  nodig.

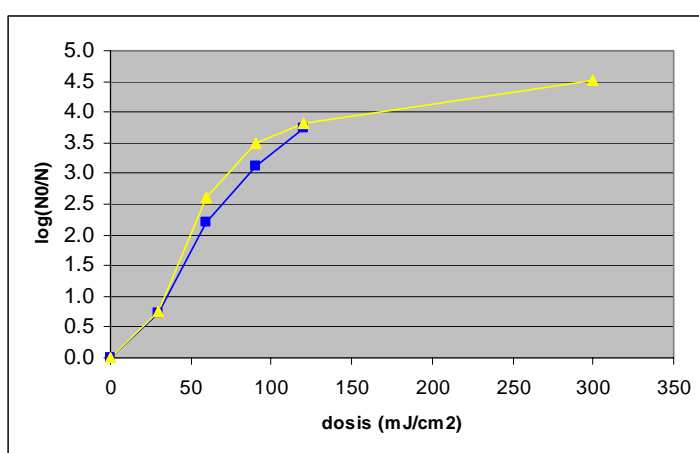


Fig. 3.1: Afdoden van *Fusarium*-sporen door UV. In de figuur zijn de resultaten van duplo experimenten weergegeven.

Behalve van sporen werd ook het afdoden van myceliumfragmenten in water onderzocht met doses van 0, 130, 300 en  $600 \text{ mJ/cm}^2$ . Zonder bestraling groeide het mycelium zeer goed na uitplaten. Doses van  $130 \text{ mJ/cm}^2$  en hoger hadden tot gevolg dat helemaal geen uitgroei plaatsvond.

In een ander experiment werd de invloed van UV op mycelium in agar bepaald; direct na het enten van mycelium werd bestraald met verschillende doses UV. Er werd geen verschil waargenomen in groeisnelheid van mycelium na bestraling met UV-doses van 0, 30, 60, 90, 120 en  $240 \text{ mJ/cm}^2$ . De groeisnelheden werden vergeleken door het op bepaalde tijdstippen markeren van het groeifront met een stift op geënte petrischalen. De resultaten zijn weergegeven in Figuur 3.2.

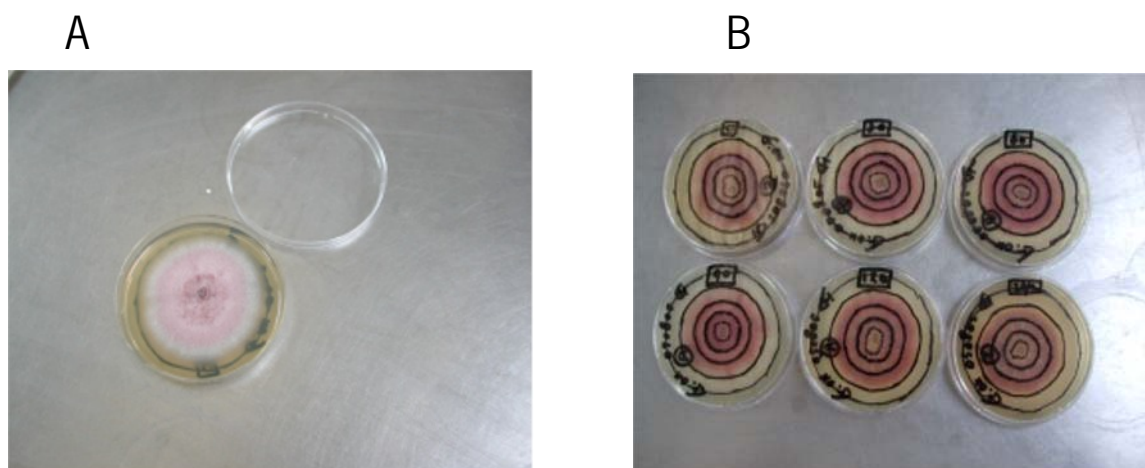


Fig. 3.2: Groei van *Fusarium* na enten van mycelium op vaste voedingsbodem (A) en weergave van groeifronten op bepaalde tijden na bestraling met verschillende doses UV direct na enten (B)

## 3.2 Doordringbaarheid bolhuid

In een oriënterend experiment werd de vermindering van de intensiteit van UV na het passeren van de bolhuid gemeten. Voor dit doel werd gekromde bolhuid(en) op de platte UV-sensor gelegd; om volledige afdekking te bewerkstelligen kon niet voorkomen worden dat op sommige plaatsen 2 lagen bolhuid aanwezig waren.

Ondanks de beperkte nauwkeurigheid van de methode kon als voorlopige conclusie aangenomen worden, dat een bolhuid de UV-intensiteit met een factor 5.000 vermindert. Omdat dosis en intensiteit lineair gecorreleerd zijn,  $\text{dosis} = \text{intensiteit} \times \text{tijd}$ , geldt deze factor ook voor vermindering van dosis.

Uitgaande van een benodigd afdodingspercentage van 99,9%, zou een UV-dosis nodig zijn van minder dan  $100 \text{ mJ/cm}^2$  (Fig. 3.1). Rekening houdend met de verminderingfactor van 5.000 is daarom in de vervolgprouf voor het bepalen van de doordringbaarheid van de huid (prouf met de cupjes in de halve bollen) voor een maximale dosis gekozen van  $4,8 \times 10^5 \text{ mJ/cm}^2$ . De resultaten van dit experiment zijn weergegeven in Tabel 3.1. De afdodingspercentages zijn berekend op basis van het aantal sporen/ml in de oorspronkelijke suspensie; deze werd tijdens de bestralingen bewaard in een erlenmeyer bij omgevingstemperatuur.

Tabel 3.1: Afdodingspercentages van *Fusarium*-sporen in cupjes na bestraling met verschillende doses UV.

Behandeling-herhaling	Dosis x $10^5$ ( $\text{mJ/cm}^2$ )	Bolhuid	Sporen* (aantal/ml)	% afdoding*
+H1-1	1,5	aanwezig	637.500	23
+H1-2	1,5	aanwezig	320.000	61
+H1-3	1,5	aanwezig	707.500	14
+H3-1	3,3	aanwezig	292.500	65
+H3-2	3,3	aanwezig	37.500	95
+H3-3	3,3	aanwezig	102.500	88
+H3-4	3,3	aanwezig	327.500	60
+H3-5	3,3	aanwezig	277.500	66
+H3-6	3,3	aanwezig	385.000	53
+H5-1	4,8	aanwezig	615.000	25

\* De oorspronkelijke sporensuspensie bevatte 825.000 sporen/ml

Ter controle van de gebruikte methode werden ook cupjes met sporensuspensie zónder bolhuid bestraald met een dosis van  $1,5 \times 10^5$  en  $3,3 \times 10^5$  mJ/cm<sup>2</sup>. Tijdens de bestralingen was in deze cupjes echter alle vloeistof verdampt. Omdat dit gevolgen heeft voor de overleving van de sporen is de controle voor de methode opnieuw uitgevoerd in een zelfde opzet, maar met lagere doses (minder verdamping). Hierin werden UV-doses toegepast van 0, 1.000 en 26.000 mJ/cm<sup>2</sup>. Zowel bij 1.000 mJ/cm<sup>2</sup> als bij 26.000 mJ/cm<sup>2</sup> werden alle sporen gedood. Dit betekent dat de gebruikte methode geschikt was voor het doel van de proef.

Bestraling van *Fusarium*-sporen door de bolhuid resulteerde in afdodingspercentages van 20% tot 95%. Opvallend is de variatie binnen eenzelfde dosis, en het feit dat hogere doses geen hoger afdodingspercentage geven. Een mogelijke verklaring hiervoor is verschil in doordringbaarheid voor UV tussen de verschillende bolhuiden. Een tweede, meer waarschijnlijke verklaring is het verschil in verdamping van vloeistof in de cupjes tijdens de bestraling. Het resultaat van deze proef laat zien dat zelfs bij UV-doses die technisch gezien in een korte tijdsduur (met het oog op opname in een verwerkingslijn) het hoogst haalbare zijn, slechts in enkele gevallen een redelijke doding optreedt. De doordringbaarheid van de bolhuid is minder dan op grond van het oriënterende proefje werd verwacht. Inactiveren of doden van *Fusarium*-sporen die aanwezig zijn onder de bolhuid, is in de praktijk dus niet goed mogelijk. Doden van latente infecties onder de bolhuid lijkt hiermee ook niet haalbaar. De proef met latent zuur (3.4) is uitgevoerd na oriënterende proef met bolhuid. Hierbij werd dus nog uitgegaan van een betere doordringbaarheid van de bolhuid.

### 3.3 Effect op de bol en gewasontwikkeling

Een gedeelte van de bollen dat met UV is behandeld, is geprepareerd (temperatuurbehandeling) om in de kas af te kunnen broeien en hierbij het effect op de bol te bepalen. Na de eerste vier weken van de preparatie zijn de bollen visueel beoordeeld. De resultaten hiervan zijn weergegeven in Tabel 3.2. De behandeling worden toegelicht in Tabel 2.1: 1-5: 0 tot 500.000 mJ/cm<sup>2</sup>, met huid; 6-10: idem, zonder huid.

Tabel 3.2: Visuele beoordeling van tulpenbollen na bestraling met verschillende doses UV. Voor proefopzet zie legenda Tabel 2.1.

Behandeling	dosis mJ/cm <sup>2</sup>	variabele	spruitontwikkeling	wortelkrans ontwikkeling	bruinverkleuring	paarse vlekken	overige opmerkingen
O1	0	met huid	goed ontwikkeld	wortels komen er bijna uit	nee	nee	
O2	100	met huid	goed ontwikkeld	wortels komen er bijna uit	nee	nee	
O3	1000	met huid	klein	geen	bij scheuren in huid	nee	
O4	20000	met huid	klein	geen	bij scheuren in huid	nee	
O5	500000	met huid	verdroogd	geen	alle bollen	nee	bollen hard, 2 grote bollen wel spruit
O6	0	zonder huid	goed ontwikkeld	niet beoordeeld	nee	nee	
O7	100	zonder huid	goed ontwikkeld	niet beoordeeld	nee	nee	
O8	1000	zonder huid	klein	geen	alle bollen	ja, aantal	
O9	20000	zonder huid	klein	geen	alle bollen	ja, aantal	
O10	500000	zonder huid	verdroogd	geen	alle bollen	niet te beoordelen	bollen zijn keihard, veel andere schimmels

Aan de buitenkant van de bollen werden drie effecten van UV-licht waargenomen. Daar waar de bollen niet door huid bedekt waren, verkleurden de bollen licht bruin na bestraling met 1.000 en 20.000 mJ/cm<sup>2</sup>. Dit gebeurde niet bij doses van 100 mJ/cm<sup>2</sup> en bij de controle zonder bestraling (Tabel 3.2 en Figuur 3.4). Bestraling met 500.000 mJ/cm<sup>2</sup> gaf een sterkere bruinverkleuring.

Een geheel andere verkleuring waren grote paarse vlekken, met daarop witte strepen, die waargenomen werden op vrijwel alle bollen bestraald met 20.000 mJ/cm<sup>2</sup> en op enkele bollen die een dosis van 1.000 mJ/cm<sup>2</sup> hadden gehad. Deze paarse plekken waren uitsluitend aanwezig in de buitenste cellagen van de bolrok (Figuur 3.4). Ook met betrekking tot de paarse vlekken kan geconcludeerd worden, dat geen verkleuring optrad bij aanwezigheid van bolhuid.

De bolhuid veranderde na bestraling met 1.000 en 20.000 mJ/cm<sup>2</sup>; de huid was minder glad. Waarschijnlijk zijn de cellen beschadigd.

Tenslotte vertoonde een groot aantal van de bollen na bestraling met 500.000 mJ/cm<sup>2</sup>, aantasting door de schimmel *Penicillium* (Figuur 3.4). De aanwezigheid van de bolhuid leek hierbij geen verschil te maken.

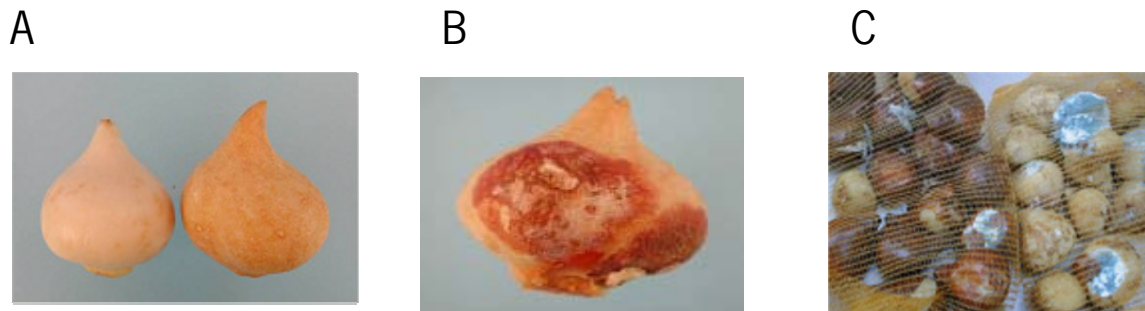


Fig. 3.4: Visuele beoordeling van tulpenbollen, na bestraling met verschillende doses UV. Licht bruine verkleuring (A), paarse vlekken (B) en aantasting door *Penicillium* (C)

Naast de uitwendige beoordeling van de bollen, werden per behandeling 3 bollen doorgesneden ter beoordeling van de toestand van de spruit en de wortelkrans (Tabel 3.2). Dit werd uitgevoerd vlak voor het planten van de resterende bollen, dus aan het einde van de preparatie (14 weken na de UV-behandeling). De ontwikkeling van de spruit en wortelkrans werd negatief beïnvloed door UV-doses van 1.000 mJ/cm<sup>2</sup> en hoger; bij 500.000 mJ/cm<sup>2</sup> bleken de spruiten volledig verdroogd. De ontwikkeling van spruit en wortels was minder bij bollen zonder huid dan bij bollen met huid.

De overgebleven 10 bollen per behandeling werden in schone potgrond geplant. De bollen van de behandelingen met de hoogste UV-dosering (B5, B10, O5 en O10) zijn niet geplant. Deze bollen waren hard en verdroogd en zwaar aangetast door *Penicillium*. Deze bollen zouden in ieder geval geen bloem meer ontwikkelen. De bollen uit de overige behandelingen werden verdeeld over twee potjes per behandeling. Na 8 weken in een 18°C kas werden de tulpen boven- en ondergronds beoordeeld.

### 3.4 Doden latent zuur

Voor deze proef zijn bollen gebruikt zonder huid, die latent zuur gemaakt zijn en waarvan de bolhuid verwijderd is. Aanwezigheid van latent zuur, d.w.z. levend *Fusarium* mycelium in de buitenste bolrok, is direct na de UV-behandeling bepaald door de geïnfecteerde stukjes bolrok uit te leggen op een vaste voedingsbodem. Latente infecties werden niet gedood door te bestralen met doses van 1.000 en 20.000 mJ/cm<sup>2</sup> (Figuur 3.5). Na bestraling met 500.000 mJ/cm<sup>2</sup>, kon door bacteriegroei niet bepaald worden of *Fusarium* gedood werd.

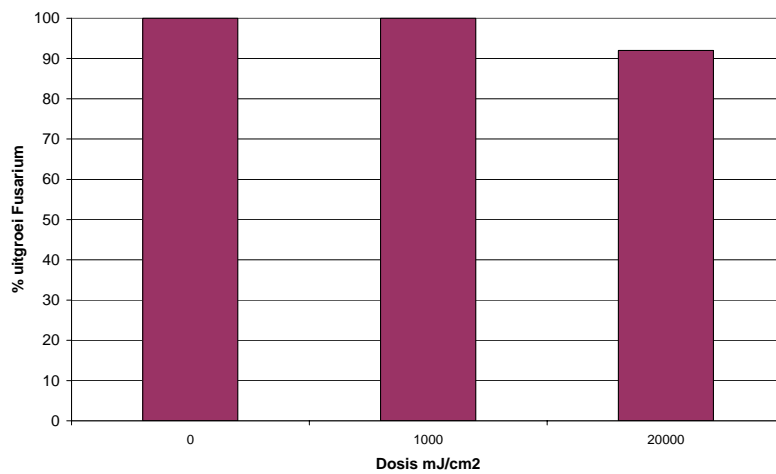


Fig. 3.5: Groei van *Fusarium* mycelium uit stukjes geïnoculeerd bolweefsel (latent zuur), na bestraling met verschillende doses UV.



## 4 Conclusies

### Doden van sporen en mycelium

De gemeten afdodingspercentages van *Fusarium*-sporen in water bij verschillende doses UV, kwamen zeer goed overeen met literatuurwaarden. Een dosis van minder dan 100 mJ/cm<sup>2</sup> is voldoende voor een afdoding van meer dan 99,9%.

Mycelium van *Fusarium* in water is ook zeer gevoelig voor UV. Dit geldt niet voor mycelium aangebracht op agar. Dit wordt veroorzaakt door de bescherming van levend mycelium door bovenliggend mycelium en/of bovenliggende agar.

### Doordringbaarheid bolhuid

*Fusarium*-sporen en mycelium onder de bolhuid worden met een dosis van 500.000 mJ/cm<sup>2</sup> niet gedood. Deze dosis is al hoger dan wat op basis van neveneffecten haalbaar is. Doden van *Fusarium* onder de huid met de gebruikte UV-straling is dus niet haalbaar.

### Doden latent zuur

Doses van 1.000 en 20.000 mJ/cm<sup>2</sup> zijn niet voldoende om *Fusarium* die latent aanwezig is in de buitenste bolrok te inactiveren of doden. Het is niet duidelijk of een dosis van 500.000 mJ/cm<sup>2</sup> voldoende is om latent aanwezige *Fusarium* te inactiveren of doden, maar gezien de schadelijke effecten van deze dosis op de bol is deze vraag niet meer relevant. Toepassing van de gebruikte UV-straling biedt dus geen mogelijkheid om latente infecties van *Fusarium* te inactiveren of te doden.

### Neveneffecten op de bol

Vanaf een dosis van 1.000 mJ/cm<sup>2</sup> zijn er in- en uitwendige effecten op de bol zichtbaar. Bij 1.000 en 20.000 mJ/cm<sup>2</sup> beperkt de afwijking zich tot verkleuring en beschadiging van de buitenste bolrok en het iets achterblijven van de spruit en wortelkransontwikkeling. Bollen (met of zonder huid) behandeld met 500.000 mJ/cm<sup>2</sup> lijken waardeloos geworden, vanwege het optreden van bewaarziekten en de verdroging van de spruit in de bol. De dosis van 100 mJ/cm<sup>2</sup>, die wel *Fusarium* op het oppervlak kan inactiveren of doden, heeft niet tot zichtbare neveneffecten geleid.

Uit de afbroeioproef blijkt dat een UV-dosis tot 20.000 mJ/cm<sup>2</sup> geen effect heeft op de gewasontwikkeling. De achtergebleven spruitontwikkeling bij het doorsnijden van de bollen en de achterstand in spruitontwikkeling bij dosis van 1.000 mJ/cm<sup>2</sup> en hoger heeft geen effect op de latere bloemontwikkeling. Dit geldt ook voor de uitwendige paarse vlekken en de bruinverkleuring van de bollen.

# Literatuur

Asthana, A. en R.W. Tuveson, (1992), Effects of UV and phototoxins on selected fungal pathogens of citrus, *International Journal of Plant Sciences*, 153 (3), 442-452

Dam, M. van, (2003), *Het zuurprobleem in tulp*, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Lisse, 37 pp

Giraud, M. en C. Lhomme, (2003), Recycling of water from grading stations. The potential efficacy of UV-C (Recyclage des eaux de calibrage en stations: léfficacite potentielle des UV-C, *Infos-Ctifl.*, 194, 30-33

Mebalds, M., A. van der Linden, M. Bankier en D. Beardsell, (1996), Using ultra violet radiation and chlorine dioxide to control fungal plant pathogens in water, *The Nursery Papers*, 1996-05, 1-2