



“ Inhoudsstoffen bloembolgewassen, de basis voor een innovatieve keten”



Ludwig & Co.
The amaryllis innovator



Firma Veul



Holland Biodiversity
Knowledge of Nature



Universiteit Leiden

Werd mede mogelijk gemaakt door:



Ministerie van Economische Zaken,
Landbouw en Innovatie



Rabobank

“ Inhoudsstoffen bloembolgewassen, de basis voor een innovatieve keten”

Project nummer; 3030001607076.

Periode: 1 september 2007 resp. 31 augustus 2010

Een keten-project met de volgende deelnemers:

Leenen Innovation B.V.

Ludwig & Co. B.V.

Fa. Veul

Holland Biodiversity B.V.

Universiteit Leiden

WUR PPO Lisse

Gefinancierd door:

Ministerie van Landbouw Natuur en Visserij

Stichting Innovatie Flowers & Food

Rabobank Bollenstreek

WUR-PPO Lisse

Universiteit Leiden

Holland Biodiversity B.V.

Leenen Innovation B.V.

Ludwig & Co. B.V.

Fa. Veul

Inhoudsopgave

Index	Pagina
Probleemstelling	4
Doelstellingen	4
Werkpakketten	5
Verantwoordelijkheid	7
Hoofdstuk 1: Werkpakket 1, Pilot Galanthamine	8
<i>1.1 Tijdsverloop van bol- en plantgewichten en van het galanthamine gehalte tijdens de teelt van narcissenbollen</i>	<i>8</i>
1.1.1 Veldproef PPO Lisse 2007/2008, éénjarige teelt	8
1.1.2 Invloed van teeltlocatie en -omstandigheden op het galanthamine gehalte (seizoen 2008/2009)	9
1.1.3 Het verloop van het galanthamine gehalte in narcissen tijdens een 1.5- of 2-jarige teelt	11
Conclusies hoofdstuk 1.1	12
Discussie hoofdstuk 1.1	13
<i>1.2 Beïnvloeding van het galanthamine gehalte tijdens de bewaring van bollen</i>	<i>13</i>
1.2.1 Bewaarproeven bij verschillende constante temperaturen	13
1.2.2 De effecten van afwisselende schoktemperaturen tijdens de bewaring	15
1.2.3 De effecten van specifieke temperaturen en omstandigheden, die de spruitontwikkeling mogelijk stimuleren op het galanthamine gehalte	15
1.2.4 De effecten van verschillende manieren van verwonden op het galanthamine gehalte	15
1.2.5 De effecten van het toedienen van elicitoren op het galanthamine gehalte	16
1.2.6 Vergelijking van ziek en gezond bolweefsel	17
1.2.7 De effecten van warm waterbehandelingen op het galanthamine gehalte	17
1.2.8 Galanthamine gehalten in bollen van verschillende leeftijd	18
1.2.9 Statistische analyse van temperatuur en tijdeffecten	18
Conclusies hoofdstuk 1.2	18
Discussie hoofdstuk 1.2	18
<i>1.3 Het ontwikkelen van een beslismodel voor het optimale oogsttijdstip en de optimale behandelmethode voor een maximale galanthamine opbrengst</i>	<i>19</i>
Conclusies hoofdstuk 1.3	24
Algemene discussie hoofdstukken 1.1, 1.2 en 1.3	25
<i>1.4 Kwaliteit en veiligheid van narcissenbollen, bestemd voor galanthamine productie</i>	<i>25</i>
1.4.1 Het bepalen van residuen van gewasbeschermingsmiddelen in narcissenbollen	25
1.4.2 De aanwezigheid van een mycotoxine in narcissenbollen, die aangetast zijn door de bolrotschimmel fusarium oxysporum	26
Conclusies en discussie hoofdstuk 1.4	27
<i>1.5 Onderzoek naar verwerking plantmateriaal</i>	<i>28</i>
Conclusies en discussie hoofdstuk 1.5	29
Hoofdstuk 2: Werkpakket 2, Ontwikkelen van nieuwe (vraaggestuurde) ketens	30
<i>2.1. Ketenanalyse</i>	<i>30</i>
Hoofdstuk 3: Werkpakket 3, Vormen Kenniscentrum Plantenstoffen en communicatie	32
<i>3.1 Het vormen van een Kenniscentrum Plantenstoffen</i>	<i>32</i>
3.1.1 Oriëntatie op doelen en samenwerking	32
3.1.2 Aanleiding tot oprichting van de Stichting Kenniscentrum Plantenstoffen	32
3.1.3 Doel van de Stichting Kenniscentrum Plantenstoffen	33
3.1.4 Activiteiten Stichting Kenniscentrum Plantenstoffen	35
3.1.5 Resultaten Stichting Kenniscentrum Plantenstoffen	35
3.1.6 Lange termijn effecten Stichting Kenniscentrum Plantenstoffen	36
<i>3.2 Communicatie</i>	<i>36</i>
3.2.1 Communicatieplan	36
3.2.2 Opzetten van een databank	37
3.2.3 Overzicht interviews en voordrachten	37
Literatuur	39
Bijlage 1	40
Bijlage 2	41

Probleemstelling

Op basis van een inventarisatie van innovatieve farmaceutische bedrijven is geconstateerd dat er op het gebied van inhoudsstoffen uit planten geen gestructureerde samenwerking is tussen producent van plantmateriaal en afnemer, maar dat de vraag naar producten op individuele basis door de cosmetische en farmaceutische bedrijven wordt bepaald. Het tot stand brengen van deze samenwerking wordt gezien als een belangrijke opgave.

Het opzetten van een gestructureerde samenwerking, in dit project omschreven als een nieuwe keten, van productie tot afzet van inhoudsstoffen vergt een aantal doorbraken op technologisch en organisatorisch vlak. Het is natuurlijk van belang om stoffen te selecteren die een potentie hebben op de markt. Eén van de grote knelpunten die opgelost moet worden is het verhogen van het percentage inhoudsstoffen in het plantmateriaal voor gunstige rendementen.

Innovaties in teelt en preparatie van bollen zijn nodig om naar een reproduceerbare bulkproductie van gewenste inhoudsstoffen te komen. De verwachting is dat de teeltsturing wel eens behoorlijk anders kan worden dan nu gebruikelijk. Ook zal aan het verwerken en vermarkten van inhoudsstoffen aandacht worden besteed. Dit is belangrijk omdat er allerlei patenten op bepaalde inhoudsstoffen van kracht zijn en het economisch interessant is te weten wanneer bepaalde patenten aflopen.

Voor de productie is het nodig om geheel nieuwe ketens van plantproductie tot afzet te realiseren, met nieuwe samenwerkingsverbanden tussen producenten, verwerkers en partners in de farmaceutische en cosmetische sector, alsook kennisinstellingen. Een nieuwe keten kan alleen ontstaan als een ketenontwikkelaar vraag en aanbod goed op elkaar afstemt. Voor deze rol is het noodzakelijk om beschikbare kennis en expertise te bundelen in een "kenniscentrum inhoudsstoffen".

Samenvatting probleemstelling

- 1) Welke toepassingen zijn mogelijk met de inhoudsstoffen?
- 2) Hoe wordt de vraag naar deze stoffen aan de primaire producenten gebracht?
- 3) Hoe worden deze nieuwe ketens georganiseerd en gerealiseerd?
- 4) Hoe kan de kwaliteit en kwantiteit van de inhoudsstof in alle schakels van de keten worden geoptimaliseerd om zo tot rendabele ketens te komen?
- 5) Hoe kan een "kenniscentrum inhoudsstoffen" vorm worden gegeven?

Doelstellingen

Beoogd wordt om ketens te ontwikkelen (conceptualiseren) die producten op leveren die ten goede komen aan de gezondheid en het welbevinden van de consument en die op een natuurlijke wijze tot stand zijn gekomen (life style). In potentie beperken de producten zich niet alleen tot de consument zelf maar betreft ze ook dier, plant (geneesmiddelen, gewasbescherming, plantversterkers) en omgeving (bijv. toevoegingen voor verf, coating, kit etc). Dit wordt uitgewerkt aan de hand van een case rond de stof galanthamine en het bolgewas narcis.

Deze case moet daarmee leiden tot een koppelvlak van nieuwe markten aan plantproducenten en creëert daarmee nieuwe concepten.

Aan de teeltkant ligt er de opgave de concentratie inhoudsstoffen op een duurzame wijze te verhogen en zo de teelt winstgevender te maken. Dit vraagt om een goede sturing van de teelt en bewaring. De toepassing van de geproduceerde stoffen vraagt daarbij om een gewaarborgde productie waarbij een intelligente teelt een rol kan vervullen.

Het kenniscentrum heeft tot doel de kennis op gebied van inhoudsstoffen te verzamelen en het aanbod aan inhoudsstoffen te matchen aan de vragende partijen. Het speelt een cruciale rol bij het tot stand komen van een nieuwe keten, waarbij organisatorische, economische, technische, marketing- en juridische aspecten een rol spelen. In het kenniscentrum wordt deelgenomen door de diverse partijen die in de keten van belang zijn (producenten, verwerkers, marktpartijen, kennis). Indien er geen kenniscentrum ontstaat, zal de Nederlandse agro sector voor deze nieuwe kans afhankelijk zijn van toevallige initiatieven van multinationals omdat de individuele bedrijven te klein en te gespecialiseerd zijn om deze innovatieve nieuwe keten(s) te realiseren.

Om nieuwe toepassingen te vinden worden databases opgezet met inhoudsstoffen, toepassingen, bedrijven, etc. Onderzoeken worden geïnitieerd om nieuwe toepassingen te realiseren. Communicatie middels workshops, website, symposia, nieuwsbrieven is het middel waarmee potentiële gegadigden op het bestaan worden gewezen.

Er is gekozen voor één modelproduct om de daarbij behorende ketenorganisatie op te zetten en de knelpunten in kaart te brengen en die door verdere research en development op te lossen. Voor het wel-slagen van deze concepten zijn namelijk nieuwe ketenstandaards nodig om tussen primaire productie en stofproductie te communiceren en te schakelen.

Dit wordt gerealiseerd door de uitvoering van een pilot-studie rond de productie van galanthamine uit narcissen. Om de galanthamine opbrengst uit de narcis met de huidige extractie-methoden rendabel te houden dient deze met ca 30% verhoogd te worden. De verwachting is dat door veranderde teeltmethoden, o.a. het moment van oogsten en de manier van verwerken, dit percentage reëel haalbaar is.

Verder heeft dit project tot doel het exploreren van de verschillende gewassen uit de tuinbouw en glastuinbouw voor nieuwe producten. Daartoe zal er een bibliotheek opgezet worden van extracten van alle plantensoorten die als basis voor verdere screening naar interessante stoffen zal dienen. Tevens zal een begin gemaakt worden met het in kaart brengen van de belangrijkste inhoudstoffen van deze planten. Ook hier is weer een belangrijk onderdeel de documentatie van de keten plant tot extract. Binnen het kenniscentrum moet deze informatie worden vastgelegd in nauwe samenhang met andere kennis rond de inhoudstoffen en toepassingen.

Uit de pilot-galanthamineketen moet onder andere naar voren komen hoe het kenniscentrum dient te worden geconcretiseerd qua organisatievorm, investeringsconstructies, positionering, risicoaspecten, en de vorming van een vertrouwensbasis.

Samenvatting doelstelling

- Creëren van nieuwe ketens voor de agrosector in samenwerking met andere sectoren.
- Nieuwe inhoudstoffen en producten van inhoudstoffen vinden.
- Het economisch haalbaar maken van inhoudstoffen productie uit teelten (o.a. bollen).
- Ontwikkelen van kennis en regierol voor deze nieuwe product-marktcombinaties.
- Uitvoering nieuwe keten in de vorm van een case rond galanthamine en het bolgewas narcis.
- Het opzetten van een kenniscentrum over het ontwikkelen van nieuwe producten en productieketens voor de tuinbouw en kasteelt die nodig zijn om de productie van inhoudstoffen uit plantaardige grondstoffen op economische basis te realiseren.
- Het waarborgen van kwaliteit en kwantiteit, dit wordt onderzocht door de uitvoering van de pilot rond de productie van galanthamine in narcis. Om het galanthamine gehalte in de narcis met de huidige extractie methoden rendabel te houden dient deze met ca. 30% toe te nemen. De verwachting is dat door veranderde teeltmethoden, moment van oogsten en de manier van verwerken dit percentage reëel haalbaar is

Werkpakket 1: Pilot Galanthamine

In het eerste werkpakket zijn verschillende teelttechnische aspecten van de narcissenteelt ten behoeve van galanthamine productie onderzocht:

- Het verloop van de bol- en plantgewichten (vers- en droog-) tijdens de teelt van narcis te velde en het verloop van het galanthamine gehalte in de bol en in de bovengrondse delen. Met behulp van deze gegevens werd de galanthamine productie per hectare uitgedrukt en kon bepaald worden op welk moment de hoogste galanthamine productie per hectare kan worden verkregen.
- De effecten van teeltlocatie en bemestingsregime op de galanthamine productie.
- De mogelijkheden van 1.5- en 2-jarige bollenteelt voor galanthamine productie
- Het verloop van het galanthamine gehalte tijdens de bewaring en de effecten daarop van temperaturen, diverse stressfactoren en elicitoren en de aanwezigheid van ziekteverwekkers.
- Een rekenmodel is ontwikkeld dat telers ondersteunt in het nemen van beslissingen over de wijze van telen, bewaren en afzet.
- Ten behoeve van de verwerking van bollen zijn verschillende droogmethoden onderzocht.
- De risico's van de aanwezigheid van residuen van gewasbeschermingsmiddelen en de aanwezigheid van mycotoxines in bollen met schimmelaantasting zijn onderzocht.

Werkpakket 2: Ontwikkelen van nieuwe (vraaggestuurde) ketens

In werkpakket 2 is na een fase van oriëntatie op doelen en het vaststellen van wederzijds vertrouwen bij de consortiumpartners een ketenanalyse uitgevoerd, zijn kwaliteitscriteria vastgesteld en methoden voor het waarborgen van productie en kwaliteit onderzocht. In gesprekken met farmaceutische bedrijven en andere bedrijven die stoffen uit planten winnen of verwerken zijn de mogelijkheden voor nieuwe ketens van plantenstoffen verkend. Ook is in die gesprekken het onderwerp ketenstandaard (protocollen, toetssystemen) besproken.

Werkpakket 3: Vormen Kenniscentrum Plantenstoffen en communicatie

In werkpakket 3 zijn de voorbereidingen getroffen voor het vormen van een Kenniscentrum Plantenstoffen en is het Kenniscentrum daadwerkelijk opgericht. De activiteiten van het Kenniscentrum en de resultaten die daarbinnen geboekt zullen worden, worden beschreven in hoofdstuk 3. Binnen werkpakket 3 is ook aandacht besteed aan communicatie en een databank ten behoeve van de bibliotheek van inhoudsstoffen opgezet en uitgebreid. De gegevens in de bibliotheek worden door het Kenniscentrum gecommuniceerd met primaire producenten en stofproducenten.

De werkpakketten worden in achtereenvolgende hoofdstukken behandeld.

Verantwoordelijkheid

Stuurgroep

Het Project is uitgevoerd onder leiding van een door de betrokken partijen ingestelde Stuurgroep, welke bestond uit een gelijk aantal vertegenwoordigers van ieder der partijen. De Stuurgroep heeft toezicht gehouden op de voortgang van de activiteiten binnen het Project en voorts zorg gedragen voor de coördinatie van de financiële verslaglegging van het Project.

In de Stuurgroep hadden zitting de directies van de deelnemende instituten en bedrijven, te weten:

Fa. Veul, F.Veul (Voorzitter)

Leenen innovation, J. Leenen

Ludwig & Co, R. Berbee

Holland Biodiversity, J. Zuidgeest

Universiteit Leiden, het Institute of Biology Leiden, Prof. R. Verpoorte

Praktijkonderzoek Plant en Omgeving BV, Dr. Ir. E. van de Ende, later opgevolgd door Drs. A. T. Krikke

De Stuurgroep is zeven maal bijeengeweeest.

Projectgroep

Voor een goede coördinatie van het project welke op diverse plaatsen plaatsvond is een Projectgroep ingesteld waarin zitting hadden alle deelnemende onderzoekers en van iedere projectdeelnemer een afgevaardigde.

De Projectgroep is verantwoordelijk voor de rapportage aan de Stuurgroep over de voortgang van het project.

Haar activiteiten hebben bestaan uit:

- Bewaking van de onderlinge afstemming van alle inhoudelijke activiteiten van het project.
- Verantwoordelijk voor de voorbereiding en uitvoering van besluitvorming in de Stuurgroep door het verstrekken van de nodige informatie aan de Projectcoördinator benodigd voor het opstellen van de berichten en rapportages aan de Stuurgroep en Partijen.

In de Projectgroep hadden de volgende personen zitting:

Vanuit Universiteit Leiden, het Institute of Biology Leiden:

De heer Prof R. Verpoorte, mevr. Dr. B. Pomahacova, mevr. A. Lubbe M. Sc. (de positie van mevr. Lubbe was voor 50% door Wageningen Universiteit en voor 50% door de Universiteit van Leiden gefinancierd).

vanuit Praktijkonderzoek Plant en Omgeving BV:

de heren Dr. H. Gude en P. Vreeburg

vanuit de deelnemende bedrijven:

de heren J. Leenen, R. Berbee, F. Veul en J. Zuidgeest

De Projectgroep is elf maal bijeengeweeest.

De Projectcoördinator

Voor de projectcoördinatie was Holland Biodiversity B.V. aangesteld.

Vanuit Holland Biodiversity B.V. heeft mevrouw A. Nieuwenhuijs deze taak verricht.

Het verdient te vermelden dat de overleggen, zowel op Stuurgroep als op Projectgroep niveau, zeer constructief zijn verlopen en dat deze door Mevrouw Nieuwenhuijs altijd op adequate wijze zijn vastgelegd.

Consortium overeenkomst

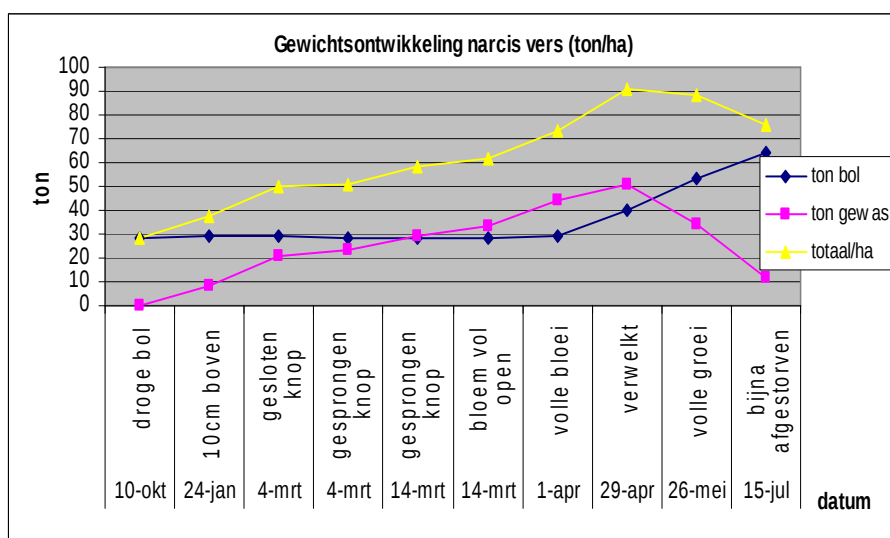
De deelnemende partijen hebben de verplichtingen en verantwoordelijkheden betreffende de uitvoering van het onderhavige onderzoek, zoals omschreven in het onderzoeksvoorstel, in een consortium overeenkomst vastgelegd. Zie bijlage 2.

Hoofdstuk 1: Werkpakket 1, Pilot Galanthamine

Hoofdstuk 1.1 Tijdsverloop van bol- en plantgewichten en van het galanthamine gehalte tijdens de teelt van narcissenbollen

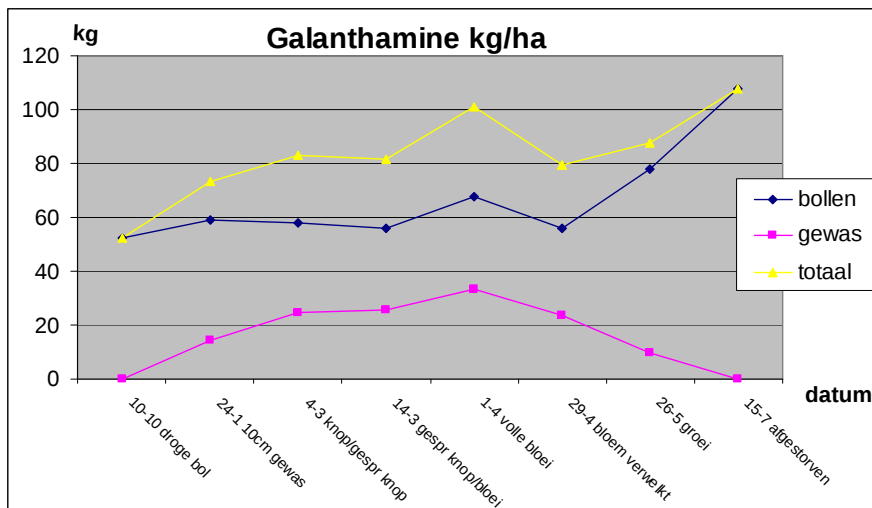
1.1.1 Veldproef PPO Lisse 2007/2008, éénjarige teelt

Voor de productie van galanthamine uit narcis is het voor teler van belang om te weten hoe het gehalte aan galanthamine in de tijd verloopt in de verschillende onderdelen van de bol en de plant en hoe de groei van bol en plant in de tijd verlopen. Om dit te onderzoeken zijn op het proefveld van PPO in Lisse veldjes van 1x1.5 meter beplant met plantgoed (maat 'rond', 100 bollen per veldje) van bollen van de cultivar carlton. Op verschillende momenten tijdens de ontwikkeling te velde zijn alle planten uit random gekozen veldjes met bol en al geoogst om het vers- en drooggewicht van de bol en de spruit (afgesneden boven de bol, dus een ondergronds en een bovengronds deel) te bepalen. In dezelfde monsters is het galanthamine gehalte bepaald volgens de methode, beschreven in bijlage 1. In oriënterende proeven met narcissen op pot in de kas en op het veld is de trend waargenomen dat rond het moment van bloei het galanthamine gehalte in spruit en bol hoger was dan tijdens andere ontwikkelingsstadia (resultaten niet vermeld). Om die reden zijn in de hier beschreven proef in vrij gedetailleerde stadia rond de bloei (zie figuur 1) monsters genomen.



Figuur 1. Tijdsverloop van het versgewicht van bollen en spruiten (boven bol afgesneden; 'gewas') in tonnen per hectare. Ontwikkelingsstadia: droge bol: bij het planten; 10 cm boven: 10 cm gewas boven de grond. Zowel op 4 als op 14 maart worden 2 stadia per datum weergegeven; op die data zijn dus 2 ontwikkelingsstadia op het veld geselecteerd. N.B. De x-as is geen continue tijdschaal, maar een reeks ontwikkelingsstadia.

In figuur 1 is te zien dat het versgewicht aan bollen (de blauwe lijn) constant bleef van het moment van planten (ca. 30 ton/ha) tot aan de volle bloei. Vanaf dat moment begint de bol te groeien. Deze bolgroei verloopt exponentieel, maar door de gekozen weergave in de grafiek is dit niet zichtbaar: op de x-as is niet de tijd uitgezet, maar het ontwikkelingsstadium. De spruitontwikkeling ('gewas') begint direct na het planten en kent een maximum vlak voordat de bloem begint te verwelken. Na het verwelken neemt het gewasgewicht af. Als gevolg daarvan neemt ook het totale versgewicht van bol + gewas na het verwelken iets af.



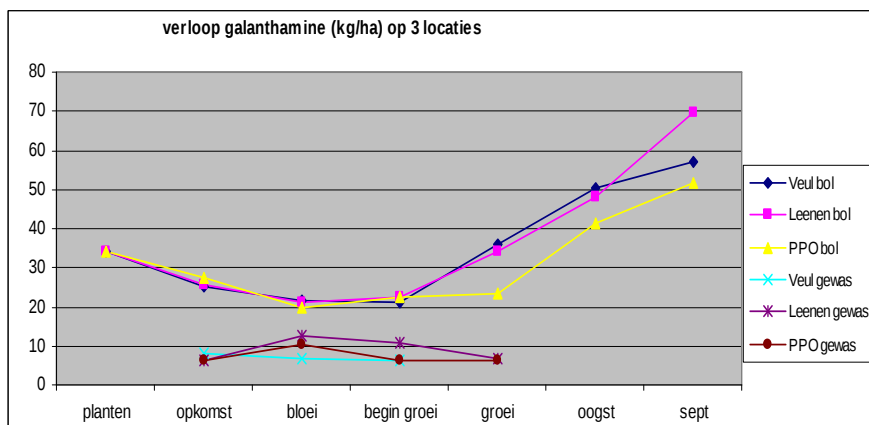
Figuur 2. Tijdsverloop van het galanthamine gehalte (kg/ha) in bollen en spruiten (boven bol afgesneden; 'gewas'). Ontwikkelingsstadia: droge bol: bij het planten; 10 cm gewas: 10 cm gewas boven de grond. Gespr. knop: gesprongen knop. Groei: bolvormingsstadium na de bloei. N.B. De x-as is geen continue tijdschaal, maar geeft een reeks ontwikkelingsstadia weer.

In alle monsters is het galanthamine gehalte bepaald. Daartoe zijn de monsters eerst gehomogeniseerd en vervolgens gevriesdroogd. Het galanthamine gehalte is daardoor eerst uitgedrukt op basis van drooggewicht. Door het bepalen van vers- en drooggewichten per bol kon het galanthamine gehalte vervolgens uitgedrukt worden per bol en doordat het aantal geplante bollen per hectare bekend is eveneens per hectare (figuur 2, galanthamine kg/ha). Figuur 2 laat zien dat het plantgoed reeds ruim 50 kg galanthamine per hectare bevatte. Het galanthamine gehalte in de bol bleef lange tijd constant, tot aan het verwelken van de bloem. Ook in de spruiten (gewas) werd galanthamine gevormd tot een maximaal niveau van ongeveer van 30 kg per ha bij volle bloei. Opvallend is dat ook in dit experiment rond de bloei een lichte stijging in galanthamine gehalte waarneembaar was, zowel in de bol als in het gewas. Na de bloei nam het galanthamine gehalte in het gewas geleidelijk af en in de bol nam het toe tot een maximaal niveau bij de oogst. In het totaal van bol en gewas was het gehalte bij de oogst ongeveer even hoog als rond de bloei. Op de vraag op welk moment het gewas het best geoogst kan worden om de hoogst mogelijke galanthamine opbrengst te verkrijgen tegen de laagst mogelijke kosten wordt verderop in dit verslag ingegaan.

1.1.2 Invloed van teeltlocatie en -omstandigheden op het galanthamine gehalte (seizoen 2008/2009)

In de literatuur wordt gemeld dat alkaloïdengehaltes in planten beïnvloed kunnen worden door stress en door variaties in het aanbod van meststoffen, met name stikstofbevattende meststoffen (Baricevic et al, 1999). Dat zou betekenen dat het telen van narcissenbollen op verschillende grondsoorten of met verschillende hoeveelheden stikstof tot verschillende galanthamine gehalten zou kunnen leiden. Voor de bollenteler die galanthamine wil produceren voor commerciële doeleinden is het belangrijk om te weten op welke manier het gehalte zo hoog mogelijk wordt. Om deze mogelijkheid te onderzoeken is één partij narcissenplantgoed, cultivar carlton, in 3 gelijke porties opgedeeld en geplant. Op iedere locatie is een voor dat perceel gebruikelijke hoeveelheid stikstof gegeven (ca. 100 kg/ha) of de standaard met een extra hoeveelheid (110 kg/ha).

Ook in deze proef is het tijdsverloop van bol- en spruitgewicht bepaald (vers- en droog-) en is in alle monsters die voor dat doel genomen zijn het galanthamine gehalte bepaald. Met behulp van deze parameters konden gewichten en gehalten per bol en vervolgens per hectare bepaald worden.



Figuur 3. Galanthamine gehalte in bollen en spruiten ('gewas') in verschillende ontwikkelingsstadia op 3 verschillende teeltlocaties (zie tekst), omgerekend naar kg/ha. Teeltseizoen 2008/2009. Tussen oogst (tussen 14 en 24 juli) en september zijn de bollen 2 maanden droog in een bewaarcel bewaard.

In deze proef is plantgoed van een andere partij gebruikt dan in het vorige proefjaar. In dit proefjaar bevatte het plantgoed ongeveer 35 kg/ha (tegenover ruim 50 kg/ha in 2007/2008; Figuur 3). Tussen het moment van planten en het begin van de bolgroei ('groei' in de grafiek) nam het galanthamine gehalte op alle 3 locaties in gelijke mate af. Vanaf het begin van de groei van de bollen begon het galanthamine gehalte in kg/ha op de locaties 'Veul' en 'Leenen' toe te nemen terwijl dat bij PPO pas tijdens de groeifase van de bollen begon. Bij de oogst was het galanthamine gehalte op de locaties 'Veul' en 'Leenen' ongeveer 10 kg/ha hoger dan op de locatie 'PPO'. Bij de oogst kwam het galanthamine gehalte met 40 à 50 kg/ha dit jaar beduidend lager uit dan in 2007/2008 (ca. 110 kg/ha). Dit verschil wordt deels veroorzaakt door de 20 tot 40% lagere bolopbrengst dit jaar op deze locaties vergeleken met de opbrengst in 2007/2008. Voor het overige deel is de afname veroorzaakt door een lager galanthamine gehalte van de bollen.

Tussen oogst en september is het galanthamine gehalte in de bewaarcel toegenomen met 14, 24 en 46% in bollen van de resp. teeltlocaties Veul, PPO-Lisse en Leenen. In het gewas schommelde het galanthamine gehalte rond de 10 kg/ha op de 3 teeltlocaties (Fig. 3).

Locatie	Standaard stikstof	Extra stikstof
Veul	50.5	Niet bepaald
Leenen	48.1	60.8
PPO	41.4	50.7

Tabel 1. Galanthamine gehalte in narcissenbollen (kg/ha) bij de oogst op 3 verschillende locaties (zie tekst). Standaard stikstof: ca. 100 kg/ha. Extra stikstof: 110 kg/ha (totaal ca. 210 kg/ha).

Door toediening van extra stikstof kon het galanthamine gehalte met ca 20% verhoogd worden (resultaten op locaties Leenen en PPO-Lisse, tabel 1).

In een parallel experiment (met andere bollen, alleen op de locatie PPO-Lisse) is eveneens het effect van toediening van meststoffen onderzocht. In datzelfde experiment is het effect van de groeiregulator Benzyladenine (BA, een cytokinine) op het galanthamine gehalte onderzocht. Voor dit laatste is gekozen omdat van deze groeiregulator bekend is dat deze de sink-activiteit van het orgaan waarop hij aangebracht is verhoogt (kort gezegd: er gaan meer suikers naar dat orgaan toe). Omdat in een eerder genoemd kasexperiment en het experiment in paragraaf 1.1 is gevonden dat rond de bloei het galanthamine gehalte verhoogd was, zou het stimuleren van de bloemontwikkeling door Benzyladenine mogelijk ook het galanthamine gehalte in de bloem verhogen. De volgende behandelingen zijn onderzocht:

- geen N- of K-bevattende meststoffen gestrooid
- Standaardhoeveelheden N en K gestrooid (110 kg N/ha, 150 kg K/ha)
- Extra N gestrooid (110kg/ha); standaard K
- Na de bloei extra N toegediend via bladbemesting met ureum, 4x 15kg N/ha; standaard K

- Voor het knopstadium is het gewas 2 maal bespoten met Benzyladenine (BA, 1 mM, omgerekend 100 l/ha); standaard N en K

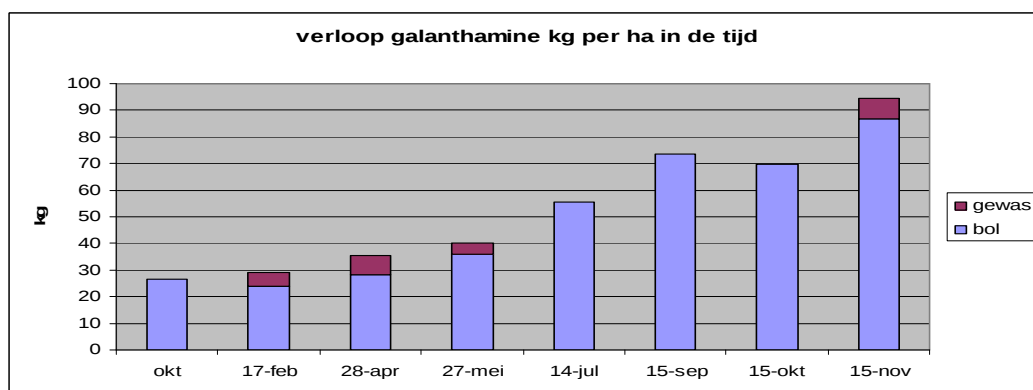
Behandeling	Kg galanthamine/ha
Geen stikstof (N) en Kalium (K)	54.3
Standaard N en K	57.8
Extra veel N strooien; standaard K	63.3
Na bloei extra N-bladbemesting; standaard N en K	62.0
Voor knopstadium 2 x groeistof BA standaard N en K	48.4

Tabel 2. Galanthamine gehalte (kg/ha) bij de oogst in bollen geteeld bij PPO-Lisse. Behandelingen: zie tekst boven tabel.

De standaardbemestingsgift van N en K had een kleine stijging in het galanthamine gehalte bij de oogst tot gevolg (Tabel 2). Ook in dit experiment bleek dat extra stikstof tot een verdere verhoging van het galanthamine gehalte bij de oogst heeft geleid. De toedieningwijze, door strooien of door bladbemesting, maakte hierbij geen verschil. Toediening van een BA-oplossing aan de spruit heeft geleid tot een verhoogd galanthamine gehalte in de spruit, zolang deze nog niet verwelkt was (resultaat niet getoond), maar bij de oogst was het resultaat dat het galanthamine gehalte in de bollen juist lager was.

1.1.3 Het verloop van het galanthamine gehalte in narcissen tijdens een 1.5- of 2-jarige teelt

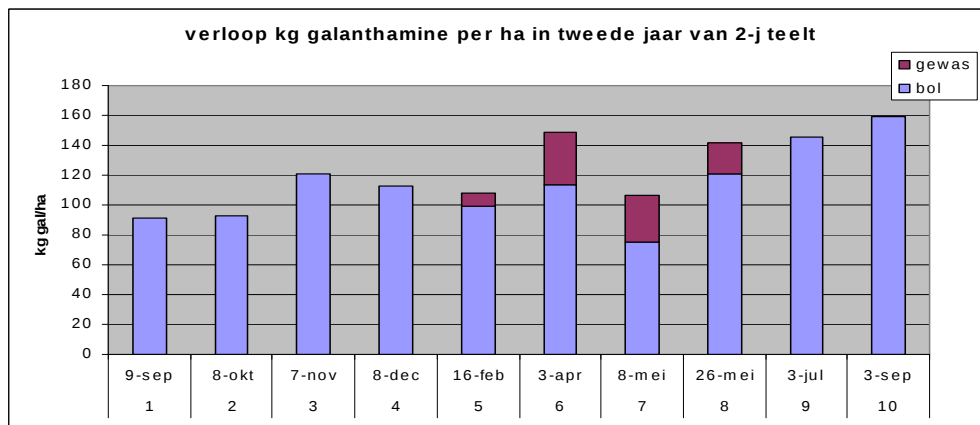
Bij de bollenteelt van narcis ten behoeve van de galanthamine productie kan op een geheel andere wijze tegen de teelt aangekeken worden dan bij de bollenteelt voor bloemproductie. Zo is het mogelijk dat het gebruikelijke, optimale oogsttijdstip voor plantgoed- en leverbaarteelt niet het optimale tijdstip is voor een maximale galanthamine oogst. In de studie beschreven in hoofdstuk 1.1 is waargenomen dat het galanthamine gehalte in de bol in de periode na de bloei toeneemt tot aan het gebruikelijke oogstmoment. In de hieronder beschreven proeven is onderzocht of, en zo ja in welke mate, het galanthamine gehalte in de bollen toeneemt wanneer de bollen pas in het najaar gerooid zouden worden (hieronder 1.5-jarige teelt genoemd) of in juli het jaar daarop (2-jarige teelt).



Figuur 4. Verloop van het galanthamine gehalte (kg/ha) in narcissenbollen en –gewas tijdens een 1.5-jarige teelt. De x-as is niet lineair. Teeltseizoen 2007/2008.

In Figuur 4 is het verloop van het galanthamine gehalte tijdens een 1.5 jarige teelt weergegeven (de x-as is niet lineair). De paarse blokken boven op de violetkleurige balken laten zien hoeveel galanthamine er in de spruiten zit. In november van het 2^e teeltjaar bevinden die spruiten zich onder de grond. In deze proef bedroeg het galanthamine gehalte bij het planten in oktober ongeveer 25 kg/ha. Het gehalte nam toe tot ongeveer 55 kg/ha op het normale oogstmoment in juli. In de hoogte van de balken voor september, oktober en november zit een onverklaarbare schommeling (de afname tussen september en oktober is onwaarschijnlijk), maar gemiddeld genomen lijkt het galanthamine gehalte in de bollen tussen juli en november toe te nemen van ca. 55 tot 85 kg/ha, alleen door de bollen in de grond te laten zitten (Figuur 4).

Oogsten in november maakt het echter onmogelijk om een deel van de bollen alsnog voor verdere teelt te gebruiken of om het land voor een volgend voorjaarsbloeiend bolgewas te gebruiken. De afweging over de vraag of het gunstig is om de bollen 1.5 jaar te laten staan wordt verderop in dit verslag gemaakt.



Figuur 5. Verloop van het galanthamine gehalte (kg/ha) in narcissenbollen en –gewas tijdens het 2^e seizoen van een 2-jarige teelt. Tussen juli en september aan het einde van de 2-jarige teelt zijn de bollen droog bewaard bij 20 °C. De x-as is niet lineair. Teeltseizoenen 2008/2009.

Aan het begin van het 2^e jaar van een 2-jarige teelt bedroeg het galanthamine gehalte in september ongeveer 90 kg/ha (figuur 5). In de proef met 1.5 jarige teelt bedroeg het gehalte in september van het 2^e teeltseizoen ongeveer 75 kg/ha (figuur 4). Dit verschil wordt veroorzaakt door het verschil in partij en plaats op het veld tijdens de teelt. Aan het begin van het 2^e jaar van de 2 –jarige teelt (de periode die overeenkomt met het eind van de 1.5-jarige teelt) nam het galanthamine gehalte in de bollen tussen september en november toe van ca. 90 naar 120 kg/ha. Deze toename is absoluut gezien gelijk aan de toename van 55 naar 85 kg/ha in de proef met de 1.5-jarige teelt, maar relatief gezien een stuk kleiner. Ook dit verschil moet toegeschreven worden aan verschillen in bolmateriaal en mogelijk ook groeiplaats. Tot aan april/mei in het 2^e groeiseizoen veranderde het galanthamine gehalte in de bollen nauwelijks (figuur 5), maar in de maanden mei en juni, na het afsterven van het gewas, nam het gehalte toe tot bijna 150 kg/ha begin juli (figuur 5). Gerekend van juli 2008 (galanthamine gehalte niet getoond in grafiek) tot juli 2009 is het galanthamine gehalte in het tweede jaar ook ongeveer verdubbeld. De toename tussen juli en september aan het eind van het tweede jaar heeft plaatsgevonden tijdens de bewaring van de bollen. De rol van de bewaring in het beïnvloeden van het galanthamine gehalte wordt in het volgende hoofdstuk besproken.

Conclusies hoofdstuk 1.1

- Het galanthamine gehalte per ha in narcis is het hoogst in de bol en een stuk lager in de spruit.
- Het galanthamine gehalte in narcissenbollen verschilt per partij en per teeltseizoen.
- Tijdens het teeltseizoen neemt het galanthamine gehalte in de bollen toe met ruwweg 100%, vooral tijdens de bolgroeifase na de bloei. Tot dat moment blijft het gehalte min of meer constant.
- Met de toename in de hoeveelheid bovengrondse delen van de narcissenplant neemt het galanthamine gehalte ook daarin toe, maar met het afsterven van het gewas verdwijnt ook deze galanthamine.
- De teeltlocatie heeft invloed op het uiteindelijke galanthamine gehalte in narcissenbollen bij de oogst. Rijkere gronden leiden tot hogere gehalten dan armere gronden.
- Toediening van het cytokinine benzyladenine aan de spruit leidt tot een lager galanthamine gehalte bij de oogst.
- In een 1.5-jarige teelt van narcissen neemt het galanthamine gehalte tussen het normale oogsttijdstip (juli) en november toe met ruim 50% (in slechts één proef vastgesteld).
- In een 2-jarige teelt neemt het galanthamine gehalte in het 2^e jaar eveneens toe met ongeveer 100%.

Discussie hoofdstuk 1.1

Dit hoofdstuk beschrijft voor het eerst hoe het galanthamine gehalte in narcissenbollen verloopt tijdens het teeltseizoen in Nederland en hoe dit gehalte verhoogd kan worden door gebruik van extra stikstofbevattende meststoffen. Meer bolgroei leidt ook tot meer galanthamine per ha. Bollentelers kunnen de galanthamine verhogende behandelingen direct toepassen. Bij de extra stikstofgift is er wel een verhoogde kans op aantasting door fusarium. Daarnaast is het verloop in galanthamine gehalte tijdens een 1.5- of 2-jarige teelt beschreven. Met behulp van deze informatie kan de bollenteler strategische keuzes maken in het kader van zijn teeltplan en vruchtwisseling. Een hulpmiddel voor het maken van bedrijfseconomische keuzes wordt verderop in dit verslag geboden. De bolopbrengsten en galanthamine productie kunnen per jaar en per partij uitgangsmateriaal sterk verschillen.

Hoofdstuk 1.2 Beïnvloeding van het galanthamine gehalte tijdens de bewaring van bollen

In hoofdstuk 1.1 is duidelijk geworden dat het galanthamine gehalte in narcissen te velde beïnvloed kan worden d.m.v. het oogstmoment, de perceelkeuze en het bemestingsregime. In het nu volgende hoofdstuk wordt ingegaan op de mogelijkheden om het galanthamine gehalte in bollen te verhogen tijdens de bewaring. Galanthamine is een zgn. secundair metaboliet uit de groep van de alkaloiden. Van dit type stoffen is bekend dat ze een rol kunnen spelen in de afweer tegen ziekteverwekkers. De plant kan gestimuleerd worden om meer van deze stoffen aan te maken door het nabootsen van een 'aanval' door pathogenen door stoffen toe te dienen die van nature een rol spelen in de plant-pathogeen interactie, de zgn. elicitoren (ethyleen, jasmonzuur etc.). Het toepassen van verschillende vormen van stress (temperatuur, verwonding etc.) zou mogelijk ook een rol kunnen spelen in het verhogen van het galanthamine gehalte in bollen. In de hieronder beschreven paragrafen worden proeven beschreven waarin de effecten van verschillende constante temperaturen, schoktemperaturen, verwonding, elicitoren en schimmelaantasting op het galanthamine gehalte in narcissenbollen tijdens de bewaring zijn onderzocht.

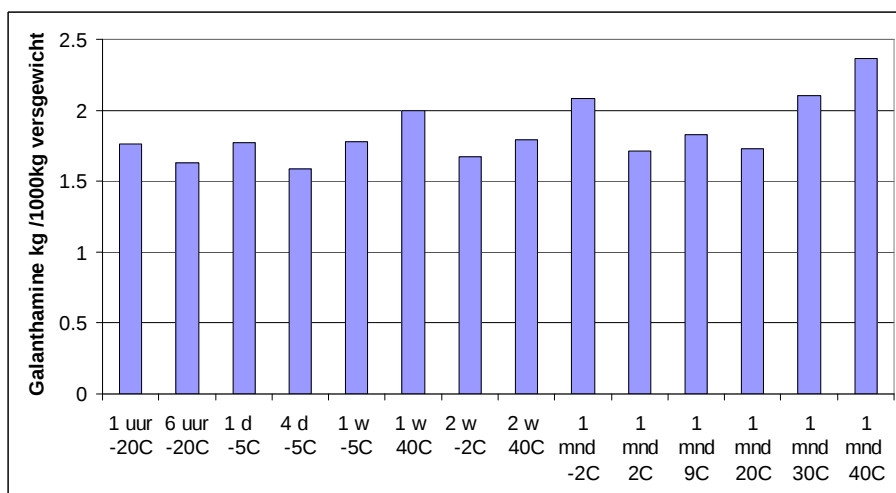
In hoofdstuk 1 werd de galanthamine 'oogst' vanuit telerperspectief uitgedrukt in kilogrammen per hectare. In de bewaarfase is het logischer om de hoeveelheid galanthamine te relateren aan een hoeveelheid bollen, omdat vanuit de bewaring een hoeveelheid bollen wordt afgeleverd aan de afnemer (een farmaceutisch bedrijf). Een complicerende factor bij het uitdrukken van het galanthamine gehalte per hoeveelheid bollen is het feit dat in de loop van de bewaring het versgewicht van de bollen afneemt. De grootste component van die afname is waterverlies en een klein deel komt voor rekening van verademing van koolhydraten (drooggewicht). Bij een gelijkblijvende hoeveelheid per bol lijkt het erop dat het galanthamine gehalte per kg in de bewaring toeneemt doordat gewicht per bol afneemt als gevolg van waterverlies. Er vanuit gaande de kweker uiteindelijk toch afgerekend wordt op een hoeveelheid bollen die hij aflevert wordt in de hieronder gepresenteerde resultaten meestal gebruikgemaakt van de eenheid kg galanthamine per 1000 kg (ton) bollen.

1.2.1 Bewaarproeven bij verschillende constante temperaturen

In een eerste bewaarproef (2007) zijn de bollen na binnenkomst begin september een week bewaard bij 20°C en vervolgens onderworpen aan de volgende temperatuurregimes:

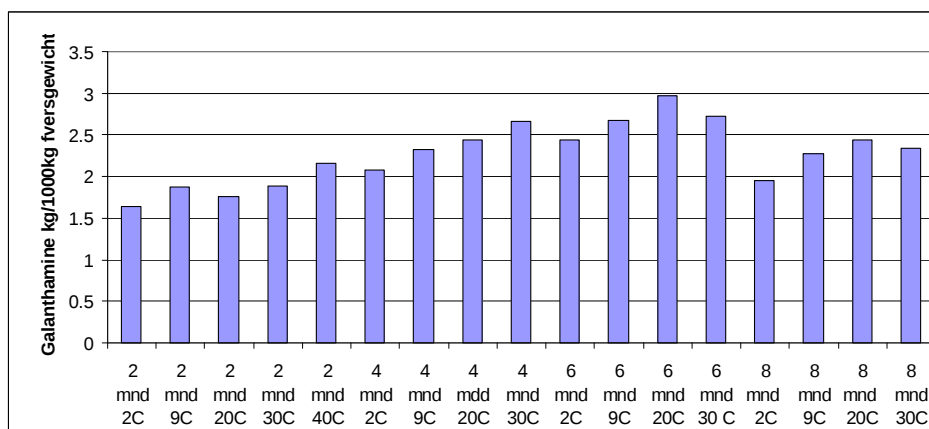
1 uur -20°C	2 weken 40°C
6 uur -20°C	1 maand -2°C
1 dag -5°C	1 maand 2°C
4 dagen -5°C	1 maand 9°C
1 week -5°C	1 maand 20°C
1 week 40°C	1 maand 30°C
2 weken -2°C	1 maand 40°C

Na afloop van de temperatuurbehandelingen werden per behandeling 5 bollen ingevroren bij -20°C. Na enkele weken tot maanden werden de monsters uit de vriezer gehaald en gevriesdroogd, en werd in het droge materiaal het galanthamine gehalte bepaald volgens de HPLC-methode, die in bijlage 1 beschreven wordt. In een onafhankelijk experiment is aangetoond dat bij -20°C het galanthamine gehalte in bolmateriaal niet verandert (resultaten niet vermeld).



Figuur 6. Galanthamine gehaltes in narcissenbollen tijdens de bewaring gedurende verschillende periodes bij verschillende temperaturen (zie bijschriften bij X-as en tekst boven figuur). Bewaarseizoen 2007. Gemiddelde waarden van 5 bollen.

Het galanthamine gehalte na de verschillende temperatuurbehandelingen varieerde tussen de 1.6 en 2.3 kg per 1000 kg bollen zonder een duidelijk effect van een bepaalde behandeling. De laatste 3 balken in Figuur 6 suggereren een verhoging in galanthamine gehalte door een verhoging van de bewaartemperatuur van 20 naar 30 of 40°C. Dit houdt mogelijk verband met het feit dat de bollen gedurende een maand meer uitdrogen naarmate de temperatuur hoger is. De absolute hoeveelheid galanthamine per bol veranderde nauwelijks, maar door de verhoogde uitdroging leek het gehalte per 1000 kg toe te nemen.



Figuur 7. Galanthamine gehaltes in narcissenbollen tijdens de bewaring gedurende 2, 4, 6 of 8 maanden bij verschillende temperaturen (zie bijschriften bij X-as). Bewaarseizoen 2007. Gemiddelde waarden van 5 bollen.

Bij een langduriger bewaring (2, 4, 6 of 8 maanden) bij 2, 9, 20, 30 of 40°C bleek dat er een effect was van de temperatuur op het galanthamine gehalte waarbij bij een hogere bewaartemperatuur gunstig was mits de bewaarduur niet te lang was (figuur 7). Gemiddeld over de temperatuurbehandelingen bij één tijdsduur was het galanthamine gehalte na 4 maanden hoger dan na 2 maanden en na 6 maanden hoger dan na 4 maanden. Na 8 maanden leek het gehalte gemiddeld over de temperatuurbehandelingen weer wat lager geworden, hetgeen vooral een gevolg was van de dalende hoeveelheden bij de bewaartemperaturen boven de 20°C. Ook bij deze langdurige bewaring zou het verhoogde gehalte per 1000 kg bollen veroorzaakt kunnen zijn door afname in het versgewicht van de bollen, maar uitgedrukt in absolute hoeveelheid galanthamine per bol werd eenzelfde beeld waargenomen als in figuur 6. De hoeveelheid galanthamine per hoeveelheid bollen nam dus echt toe. Het lijkt dus aantrekkelijk om de bollen na de oogst enkele maanden te bewaren om een hoger galanthamine gehalte te verkrijgen. Er moet dan wel rekening gehouden worden met het feit dat de hoeveelheid bollen afneemt door uitdroging en verademing ('verbranding') van drooggewicht en dat bewaring energie kost.

In 2008 is een vergelijkbare bewaarproef uitgevoerd, maar hierbij werden de temperaturen 9 en 20°C vervangen door resp. 11 en 17°C, omdat laatstgenoemde temperaturen optimaal zijn voor resp. wortel- en spruitontwikkeling van de narcis. Als de aanmaak van galanthamine verband houdt met wortel- of spruitontwikkeling zou bewaring bij 11 of 17°C eerder tot verschillen kunnen leiden dan bewaring bij 9 of 20°C.

De bollen werden bewaard gedurende 1, 2, 4 of 6 maanden bij 2, 11, 17, 20 of 30°C. Na afloop van ieder bewaarregime werden de bollen 1 week of 1 maand bij 11 of 17°C bewaard. Aanleiding hiertoe was de overweging dat bollen die lang bij 2 of 30°C bewaard zijn mogelijk wél aangezet zijn tot galanthamine productie, maar dat de temperatuur de stofwisseling zodanig vertraagt dat een toename niet zichtbaar wordt. Bij 11 of 17°C zou een door bijv. 2°C geïnduceerde galanthamine productie kunnen plaatsvinden. Ook in deze proef werden geen significante verschillen waargenomen. Ook de temperaturen 11 en 17°C hadden dus geen invloed op het galanthamine gehalte. Over alle behandelingen schommelde het galanthamine gehalte tussen 1.1 en 1.6 kg/ton.

1.2.2 De effecten van afwisselende schoktemperaturen tijdens de bewaring

In 2007 in direct na binnenkomst van de bollen gestart met een afwisseling van temperaturen:

- 2 weken 2°C, gevolgd door 2 weken 30 of 40°C of andersom:
- 2 weken 30 of 40°C, gevolgd door 2 weken 2°C

Aansluitend is de proef herhaald in de maand november. De bollen, waar die proef mee uitgevoerd is, zijn tot begin november bewaard bij 20°C.

De afwisseling tussen 2 en 30 of 40°C heeft niet geleid tot significante verschillen in galanthamine gehalte. Het gehalte varieerde tussen 1.6 en 2.3 kg per ton.

In 2008 is op de volgende wijze gevarieerd in de temperatuurbehandelingen:

2 of 4 weken 20°C, gevolgd door 1, 2 of 4 weken -2°C of 40°C. Na afloop van deze stresstemperaturen werden de bollen 1 of 4 weken bij 20°C bewaard om het metabolisme de kans te geven om eventueel als reactie op de stress het galanthamine gehalte te verhogen. Ook in deze proef werden geen significante verschillen in galanthamine gehalten waargenomen. De gehalten varieerden tussen 0.9 en 1.4 kg per ton.

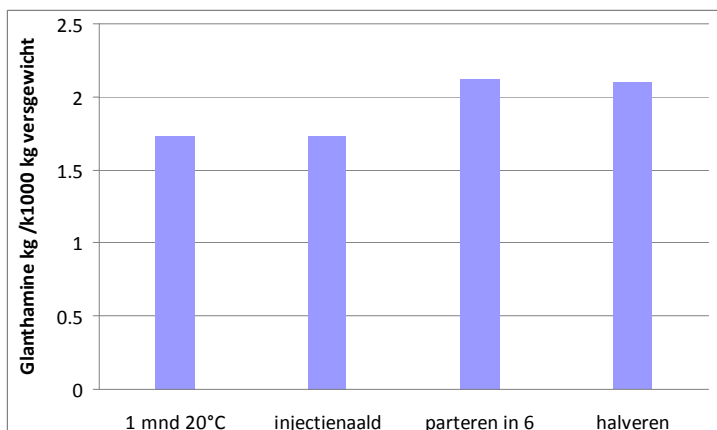
1.2.3 De effecten van specifieke temperaturen en omstandigheden, die de spruitontwikkeling stimuleren op het galanthamine gehalte

In 2007 zijn de bollen onderworpen aan een reeks temperatuurbehandelingen waarin allereerst 16 weken 9°C werd gegeven en vervolgens 1 of 3 weken 16 of 30°C. De koudebehandeling was bedoeld om de spruitgroei en bloemontwikkeling te induceren. De behandeling bij 16°C stelt de bol in staat de spruit ook daadwerkelijk te laten strekken en de bloem te laten ontwikkelen. Een temperatuur van 30°C zou de bloem in aanleg laten verdrogen. Deze geïnduceerde verschillen in ontwikkeling hebben niet geleid tot verschillen in galanthamine gehalte. Het galanthamine gehalte schommelde tussen 2.1 en 2.8 kg/ton.

In 2008 is getracht door het geven van 8 of 16 weken 17°C, waarvan 6 weken onder zeer vochtige condities de spruit- en wortelvorming te stimuleren. Na afloop van die vochtige periode bleek inderdaad dat de bollen enkele cm's spruit en wortels hadden gevormd. Dit ging echter niet samen met verhoogde galanthamine gehalten.

1.2.4 De effecten van verschillende manieren van verwonden op het galanthamine gehalte

Om te onderzoeken of het galanthamine gehalte verhoogd kan worden door verwonding zijn verschillende monsters bollen in 2007 onderworpen aan verschillende manieren van verwonding: enkele malen aanprikken met een naald, halveren en parteren in 6 parten. Na 1 maand bij 20°C is het galanthamine gehalte bepaald. Het galanthamine gehalte leek na halvering of parteren iets verhoogd ten opzichte van de controle (1 maand bij 20°C) of aanprikken met een naald, maar de verschillen lagen in de dezelfde 'spreidingsrange' als die in de voorgaande proeven en waren niet significant (figuur 8).



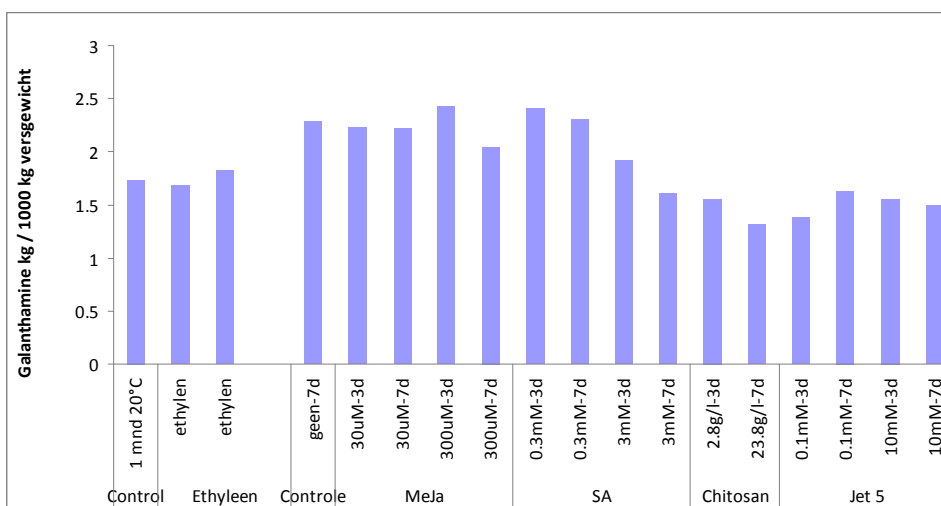
Figuur 8. Galanthamine gehalten in narcissenbollen, die op verschillende manieren verwond zijn. Gehaltes bepaald na 1 week bij 20°C; gemiddeldes van 5 bollen.

1.2.5 De effecten van het toedienen van elicitoren op het galanthamine gehalte

Elicitoren zijn stoffen die het secundair metabolisme, of zelfs de afweer tegen pathogenen stimuleren. Het zijn bijvoorbeeld stoffen, die in de plant een rol spelen in de signaaloverdracht tussen het proces van pathogeenaanval en het proces van afweer daartegen. In dit onderzoek zijn de volgende elicitoren getest:

- Ethyleen, 100 ppm gas gedurende 2 maal 24 uur (tussendoor 'gespoeld')
- Methyl-Jasmonaat, vloeistof met concentratie van 30 of 300 μM
- Salicylzuur, vloeistof met concentratie van 0.3 of 3 mM
- Chitosan, vloeistof met concentratie van 2.4 of 23.8 g/l
- Jet 5 (ontsmettingsmiddel op basis van waterstofperoxide en perazijnzuur), vloeistof met concentratie van 0.1 of 10 mM (waterstofperoxide).

De toedieningen met vloeistoffen zijn uitgevoerd door de bollen te besproeien met vloeistof totdat deze van de bol afleef. De monsters zijn 3 en 7 dagen na toediening ingevroren bij -20°C, en enkele weken daarna geanalyseerd op galanthamine gehalte.

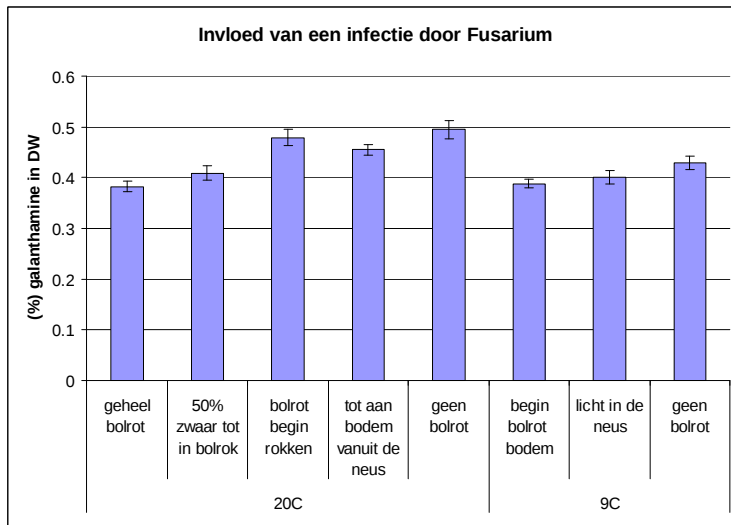


Figuur 9. Galanthamine gehalten in bollen, 3 of 7 dagen na toediening van elicitoren (zie tekst boven Figuur). MeJa: Methyl-Jasmonaat; SA: salicylzuur. De eerste balk dient als controle voor de 2 ethyleenbehandelingen. De vierde balk vertegenwoordigt een controlebehandeling (7 dagen bij 20°C) voor alle volgende balken.

Het galanthamine gehalte varieerde over alle behandelingen tussen 1.3 en 2.4 kg per ton bollen (Figuur 9). De ethyleenbehandelingen, de hoge concentratie Salicylzuur en de behandelingen met Chitosan en Jet5 leken het galanthamine gehalte te verlagen. Het bleek dus niet mogelijk om het galanthamine gehalte te verhogen met behulp van elicitoren.

1.2.6 Vergelijking van ziek en gezond bolweefsel

Volgens dezelfde theorie als vermeld in paragraaf 2.5 zou het mogelijk zijn dat het galanthamine gehalte in narcissenbollen door de bol zelf verhoogd wordt na een aantasting door een pathogene schimmel.



Figuur 10. Invloed van fusarium aantasting op het galanthamine gehalte in narcissenbollen, uitgedrukt als percentage van het drooggewicht. In categorieën op de x-as de mate van aantasting (geen, licht, zwaar) en de plaats op de bol. 1^e 5 balken: bollen bewaard bij 20°C. Laatste 3 balken bij 20°C.

Het galanthamine gehalte varieerde tussen 0.37 en 0.49% van het drooggewicht (figuur 10). Het laagste gehalte werd gemeten in geheel bolrotte bollen en het hoogste gehalte in gezonde bollen. De overige behandelingen lagen daar tussenin. De verschillen waren niet significant. Het galanthamine gehalte was dus eerder hoger in gezonde dan in zieke bollen en een rol voor galanthamine in de afweer tegen plantensoort specifieke pathogene schimmels lijkt dus niet waarschijnlijk.

1.2.7 De effecten van warm waterbehandelingen op het galanthamine gehalte

Narcissenbollen worden soms bij de teler onderworpen aan warm waterbehandelingen om aaltjes en bepaalde schimmels te doden. Deze warm waterbehandelingen zijn ook een vorm van stress. In een proef werd onderzocht of warm waterbehandelingen, gegeven tijdens bewaring bij verschillende temperaturen, invloed hadden op het galanthamine gehalte:

Bewaartemperatuur	Warm waterbehandeling
5°C	2 uur 45°C
5°C	4 uur 47°C
5°C	1 uur 55°C
20°C	2 uur 45°C
20°C	2 uur 47°C
20°C	1 uur 55°C
30°C	4 uur 47°C

De warm waterbehandelingen waren zodanig gekozen dat ze in de praktijk door telers gecombineerd konden worden met de standaard warm waterbehandelingen. Het galanthamine gehalte werd echter niet beïnvloed door de warm waterbehandelingen.

1.2.8 Galanthamine gehaltes in bollen van verschillende leeftijd

Het galanthamine gehalte is gemeten in narcissenbollen, die verschillen in leeftijd, soms in jaren dat de bollen oud zijn, soms in 'fysiologische' leeftijd (bijvoorbeeld 2 jaar oude bollen, waarvan de één gebloeid heeft en de ander niet: de bol die gebloeid heeft is 'fysiologisch' ouder): ronde bollen (hebben nog niet gebloeid), zgn. dubbelneuzen, spanen (dochterbollen) en moederbollen (bollen met spanen). Er zijn geen verschillen in galanthamine gehaltes gevonden.

1.2.9 Statistische analyse van temperatuur en tijdeffecten

Na afloop van alle bewaarproeven in de seizoenen 2007/2008 en 2008/2009 is d.m.v. een zogenaamde Multivariate Analysis met alle data statistisch getoetst welke van de onderzochte factoren (temperatuur, elicitoren, verwonding etc.) een significant effect hadden op het galanthamine gehalte. De methode wordt beschreven in het boek Multi- and Megavariate Data Analysis Part I, Basic Principles and Applications (Eriksson et al. 2001). De statistische toets liet duidelijk zien dat alléén de factor tijd een significant effect had. Hoe langer de bollen bewaard waren, des te hoger het galanthamine gehalte was. Géén van de overige factoren had een significant effect.

Conclusies hoofdstuk 1.2

- Kortere of langere bewaring van narcissenbollen (uren tot maanden) bij uiteenlopende constante temperaturen in de range van -20 tot + 40°C heeft géén effect op het galanthamine gehalte. Ook temperaturen, waarvan bekend is dat ze wortelvorming of spruitvorming stimuleren hebben geen effect.
- Het onderwerpen van de bollen aan temperatuurschokken op de volgende wijze: 2 weken 2°C, gevolgd door 2 weken 30 of 40°C of andersom: 2 weken 30 of 40°C, gevolgd door 2 weken 2°C heeft geen effect op het galanthamine gehalte. Ook de temperatuurbehandeling van 2 of 4 weken 20°C, gevolgd door 1, 2 of 4 weken -2°C of 40°C heeft geen effect.
- Het verwonden van narcissenbollen door aanprikken, halveren of parteren in 6 parten heeft geen effect op het galanthamine gehalte.
- Toediening van de elicitoren ethyleen, jasmonzuur, salicylzuur, chitosan en waterstofperoxide (Jet5) heeft geen verhogend effect op het galanthamine gehalte.
- Bollen, die aangetast zijn door de bolrotschimmel fusarium hebben een lager galanthamine gehalte dan gezonde bollen.
- Warm waterbehandelingen (bij voor narcis gebruikelijke temperaturen) hebben geen effect op het galanthamine gehalte.
- Er is geen verschil in galanthamine gehalte in bollen, die verschillen in (fysiologische) leeftijd.
- De enige onderzochte factor die tot een verhoging van het galanthamine gehalte leidt is de factor TIJD.

Discussie hoofdstuk 1.2

Géén van de factoren temperatuur(stress), verwonding, elicitoren, ziekteverwekkers of warm waterbehandeling had een significant effect op het galanthamine gehalte in narcissenbollen tijdens de bewaring. Secundaire metabolieten uit de groep van de alkaloiden (zoals galanthamine) spelen vaak een rol in de afweer tegen ziekteverwekkers. De aanmaak van die stoffen wordt vaak door ziekteverwekkers, door elicitoren of verschillende vormen van stress gestimuleerd. In de hierboven beschreven proeven was dit niet het geval, waardoor de conclusie gerechtvaardigd lijkt dat galanthamine in narcis géén rol speelt in de afweer tegen ziekteverwekkers, verwonding of andere vormen van stress (tenzij een zeker gehalte 'constitutief' aanwezig is om onverwachte belagers af te weren). Toch is het opmerkelijk dat de zeer uiteenlopende temperaturen geen invloed hebben op het gehalte. Zowel het primair als het secundair metabolisme worden beïnvloed door de temperatuur. Een bol die langdurig bij 2 of 30°C bewaard wordt zal bij die temperaturen een verschillende ademhalingsactiviteit en koolhydraatafbraak hebben. Het is moeilijk voor te stellen dat dit geen invloed heeft op de aanmaak van energetisch 'dure' stoffen als alkaloiden. Ook het aanzetten van verschillende ontwikkelingsroutes (spruit-, wortelvorming) had geen effect. Er lijkt dus geen enkel verband te bestaan tussen galanthamine gehalte en welk stofwisselings- of ontwikkelingsproces dan ook. Alleen de factor tijd had een effect op het galanthamine gehalte, maar het is moeilijk om daar een fysiologisch of biochemisch proces bij voor te stellen. Het enige type stoffen dat in planten ophoopt in de tijd zijn afvalstoffen of restproducten van andere (wel) nuttige stoffen. Het is verleidelijk om te veronderstellen dat

galanthamine dus een afbraakproduct is van een proces dat onder alle omstandigheden even actief is. Het is echter evolutionair moeilijk voorstelbaar dat een plant een zo 'dure' verbinding als galanthamine als afvalproduct laat ophopen.

Hoofdstuk 1.3

Het ontwikkelen van een beslismodel voor het optimale oogsttijdstip en de optimale behandelmethode voor een maximale galanthamine opbrengst

In hoofdstuk 1.1 is gebleken dat het galanthamine gehalte in narcissenbollen met ongeveer 50% kan toenemen tussen het normale oogstmoment in juli en het uitgestelde rooimoment in november. Dit is op zich een interessante toename, maar een gevolg van deze methode is dat er dan geen nieuw plantgoed verkregen wordt. Bij de oogst op het normale moment, gevolgd door bewaring neemt het galanthamine gehalte ook toe, zij het in mindere mate en kan wél de normale hoeveelheid plantgoed voor een vervolgteelt apart gehouden worden. Het verloop van het galanthamine gehalte tijdens de bewaring hangt sterk af van de bewaarduur en de temperatuur waarbij bewaard wordt, laatstgenoemde factor doordat deze een sterk effect heeft op de uitdroging van de bollen (waardoor de concentratie galanthamine toeneemt).

Om bollentelers te ondersteunen in hun afwegingen omtrent rooimoment en bewaarmethode hebben bedrijfskundigen van PPO een rekenmodel gemaakt waarmee de kosten en baten van de verschillende beslissingen worden berekend. De output van het rekenmodel is een tabel (Tabel 4 en verder) waarbij in de kolommen de volgende uitkomsten weergegeven worden:

- De hoeveelheid afgeleverde narcissenbollen (ton/ha)
- De hoeveelheid afgeleverd galanthamine (kg/ha)
- De kosten per kg galanthamine
- De inkomsten in € per ha
- De kosten in € per ha (zie toelichting * onder tabel)
- Het marginaal saldo in € per ha

Het bovenste blok 'alles afleveren na rooien' toont de uitkomsten van de genoemde parameters wanneer alle bollen (leverbaar én plantgoed) gerooid en afgeleverd worden in juli, september, oktober of november. De teler heeft in deze voorbeeldberekening geen plantgoed beschikbaar voor een volgend teeltjaar. Een snelle blik op de kolom marginaal saldo in Tabel 3 leert dat het marginaal saldo hoger wordt naarmate er later gerooid wordt.

De onderste 4 blokken 'bewaren ... °C' tonen de uitkomsten voor de situatie wanneer op het normale tijdstip gerooid wordt (medio juli) en de bollen vervolgens 1, 2, 4 of 6 maanden bewaard worden. In deze situatie wordt ervan uitgegaan dat de teler plantgoed apart houdt voor een volgende teelt (en moet bij het marginaal saldo een bedrag van ongeveer € 14.000 opgeteld worden, de gemiddelde waarde van plantgoedopbrengst per ha).

Naast een aantal voor de hand liggende variabelen die de gebruiker kan invullen, zoals de teeltkosten per ha, de hoeveelheid geplant materiaal, de hoeveelheid geoogst materiaal en de prijs per ton plantgoed etc. vraagt het model om een keuze bij de volgende input- variabelen:

- Mate van fusarium aantasting: laag, midden, hoog
- Begingehalte galanthamine: laag, hoog
- Opbrengst uitgedrukt als prijs per ton bollen of als prijs per kg galanthamine (in een bepaalde hoeveelheid bollen)

Uit tabel 3 blijkt waarom deze keuzes belangrijk zijn: naarmate de bollen ernstiger aangetast zijn door de bolrotschimmel fusarium neemt de snelheid waarmee de bollen uitdrogen drastisch toe. Bij een gelijkblijvend galanthamine gehalte per bol neemt het galanthamine gehalte per ton bollen toe naarmate de bollen meer uitdrogen. Het derde blok van boven (tabel 3) toont hoe het galanthamine gehalte toeneemt tijdens de bewaring en dat de toename afhangt van het begingehalte in het plantgoed. Verder schetst de tabel het verband tussen bewaar temperatuur en bewaarduur en gewichtsverlies ten gevolge van indrogen en het verband tussen oogsttijdstip en galanthamine gehalte. Al deze kwantitatieve verbanden zijn gebaseerd op de resultaten van 3 jaar teel- en bewaaronderzoek en vormen de basis van het beslismodel.

Gewichtverlies ten gevolge van Fusarium:

	besmettingsniveau		
	laag	midden	hoog
direct na rooien	0%	1%	2%
1 mnd bewaren	1%	3%	5%
2 mnd bewaren	2%	5%	10%
4 mnd bewaren	3%	10%	20%
6 mnd bewaren	5%	15%	30%

Gewichtverlies ten gevolge van indrogen:

	bewaartemperatuur			
	17 °C	20 °C	25 °C	30 °C
direct na rooien	0%	0%	0%	0%
1 mnd bewaren	4%	5%	6%	8%
2 mnd bewaren	7%	8%	11%	13%
4 mnd bewaren	11%	13%	14%	15%
6 mnd bewaren	14%	15%	15%	15%

Verloop van de concentratie galanthamine in vers gewicht, afhankelijk van bewaarduur en van beginconcentratie (= na rooien & 2 wkn drogen)

bewaarduur	Galanthamine (%)	
	laag	hoog
direct na rooien	0.093%	0.12%
1 mnd bewaren	0.127%	0.16%
2 mnd bewaren	0.151%	0.19%
4 mnd bewaren	0.163%	0.21%
6 mnd bewaren	0.175%	0.23%

Concentratie galanthamine bij rooien, afh. van rooidatum

rooidatum	Galanthamine (%)
15 juli	0.107%
15 september	0.130%
15 oktober	0.140%
15 november	0.175%

Tabel 3. Kwantitatieve relaties tussen:

- gewichtsverlies van narcissenbollen in de tijd en de mate van fusarium aantasting (tijdens bewaring)
- gewichtsverlies in de tijd en bewaartemperatuur
- verloop in galanthamine gehalte in narcissenbollen en het begingehalte
- rooidatum en galanthamine gehalte.

De verbanden zijn empirisch vastgesteld in 3 jaar teelt- en bewaarproeven en vervolgens gemiddeld. De kwantitatieve verbanden dienen als basis voor het beschreven beslismodel.

Op de volgende bladzijden worden 4 scenario's doorgerekend:

- Scenario 1: een situatie met een laag niveau van fusarium aantasting, een laag begingehalte aan galanthamine en een opbrengst uitgedrukt per ton narcis (uitgaande van € 700/ton)
- Scenario 2: als 1, maar met een hoog niveau van fusarium aantasting
- Scenario 3: een situatie met een laag begingehalte aan galanthamine, een laag niveau van fusarium aantasting en een opbrengst uitgedrukt per kg galanthamine (uitgaande van een hypothetische prijs van € 700 per kg)
- Scenario 4: als 3, maar met een hoog begingehalte aan galanthamine.

Productie (kg galanthamine/ha), opbrengsten (€/ha) en kosten (€/kg galanthamine en per ha) per scenario

	afgeleverde narcis (ton/ha)	afgeleverde galanthamine (kg/ha)	kosten/kg galanthamine	inkomsten (€/ha)	kosten * (€/ha)	marginiaal saldo (€/ha)
alles afleveren na rooien **						
medio juli	38.8	41.3	€ 94	€ 27,160	€ 3,889	€ 23,271
medio september	39.8	51.7	€ 75	€ 27,839	€ 3,889	€ 23,950
medio oktober	39.8	55.7	€ 70	€ 27,839	€ 3,889	€ 23,950
medio november	37.8	66.2	€ 59	€ 26,481	€ 3,889	€ 22,592
bewaren 17 °C						
1 mnd	19.0	24.1	€ 166	€ 13,300	€ 3,998	€ 9,302
2 mnd	18.2	27.5	€ 149	€ 12,740	€ 4,103	€ 8,637
4 mnd	17.2	28.0	€ 161	€ 12,040	€ 4,513	€ 7,527
6 mnd	16.2	28.4	€ 183	€ 11,340	€ 5,198	€ 6,142
bewaren 20 °C						
1 mnd	18.8	23.9	€ 167	€ 13,160	€ 3,998	€ 9,162
2 mnd	18.0	27.2	€ 152	€ 12,600	€ 4,122	€ 8,478
4 mnd	16.8	27.4	€ 171	€ 11,760	€ 4,673	€ 7,087
6 mnd	16.0	28.0	€ 197	€ 11,200	€ 5,502	€ 5,698
bewaren 25 °C						
1 mnd	18.6	23.6	€ 173	€ 13,020	€ 4,077	€ 8,943
2 mnd	17.4	26.3	€ 164	€ 12,180	€ 4,317	€ 7,863
4 mnd	16.6	27.1	€ 189	€ 11,620	€ 5,102	€ 6,518
6 mnd	16.0	28.0	€ 220	€ 11,200	€ 6,169	€ 5,031
bewaren 30 °C						
1 mnd	18.2	23.1	€ 182	€ 12,740	€ 4,197	€ 8,543
2 mnd	17.0	25.7	€ 177	€ 11,900	€ 4,551	€ 7,349
4 mnd	16.4	26.7	€ 208	€ 11,480	€ 5,571	€ 5,909
6 mnd	16.0	28.0	€ 246	€ 11,200	€ 6,877	€ 4,323

* Kosten zijn toegerekende teeltkosten en (afh. van scenario) kosten voor bewaren en afleveren. Bewaarkosten bestaan uit energiekosten.

** Bij scenario 'alles afleveren na rooien' is er geen plantgoed meer voor het volgende jaar. Bij de scenario's 'bewaren ...°C' is er wél plantgoed over en moet dus bij het marginiaal saldo € 14,000 opgeteld worden (de gemiddelde waarde van het plantgoed per ha)

Tabel 4. Resultaat van scenario 1 in het rekenmodel 'opbrengst narcissenteelt t.b.v. galanthamine': een situatie met een laag niveau van fusarium aantasting, een laag begingehalte aan galanthamine en een opbrengst uitgedrukt per ton narcis (uitgaande van € 700/ton).

Het doorrekenen van scenario 1 laat zien dat in de situatie waarin de volledige oogst (plantgoed en leverbaar) geleverd wordt (bovenste blok in tabel 4), het nauwelijks uitmaakt of gerooid wordt in juli, september, oktober of november. Het marginiaal saldo (laatste kolom) is evenredig met de opbrengst aan bolmateriaal per ha (1^e kolom). Uit de vergelijking met kolom 2 blijkt dat het niet gunstig is om per ton bollen af te rekenen, omdat in november dezelfde hoeveelheid bollen beduidend meer galanthamine bevat dan in juli (66.2 tegenover 41.3 kg/ha).

In de situaties waarbij in juli gerooid wordt en vervolgens het leverbaar bewaard wordt gedurende 1 tot 6 maanden bij 17 tot 30°C blijkt dat het marginiaal saldo (laatste kolom) ook hier vooral verband houdt met de hoeveelheid geleverd bolmateriaal (1^e kolom). Hierbij moet wel rekening gehouden worden met het feit dat de teler per ha 20 ton plantgoed 'overhoudt' voor een volgende teelt. Dat plantgoed vertegenwoordigt een waarde van ongeveer € 14.000 en dient dus bij het saldo in de laatste kolom opgeteld te worden. De hoeveelheid bolmateriaal neemt meer af naarmate langer en bij hogere temperaturen bewaard wordt. Bovendien kost langer en warmer bewaren meer energie dan korter en koeler bewaren. Als gevolg daarvan neemt in de laatste kolom het saldo af naarmate langer en warmer bewaard wordt. Als de waarde van het plantgoed bij het marginiaal saldo opgeteld wordt blijkt de opbrengst per hectare in dezelfde orde van grootte te liggen als in de situatie waarbij alles geleverd wordt. Alleen heeft de teler in het eerste geval nog de beschikking over uitgangsmateriaal voor een vervolgteelt. Als alles bij de oogst geleverd wordt, heeft hij dat niet en zou hij eerst weer voor € 14.000 plantgoed moeten aankopen.

Productie (kg galanthamine/ha), opbrengsten (€/ha) en kosten (€/kg galanthamine en per ha) per scenario

	afgeleverde narcis (ton/ha)	afgeleverde galanthamine (kg/ha)	kosten/kg galanthamine	inkomsten (€/ha)	kosten * (€/ha)	marginaal saldo (€/ha)
alles afleveren na rooien **						
medio juli	38,8	41,3	€ 94	€ 27.160	€ 3.889	€ 23.271
medio september	39,8	51,7	€ 75	€ 27.839	€ 3.889	€ 23.950
medio oktober	39,8	55,7	€ 70	€ 27.839	€ 3.889	€ 23.950
medio november	37,8	66,2	€ 59	€ 26.481	€ 3.889	€ 22.592
bewaren 17 °C						
1 mnd	18,2	23,1	€ 173	€ 12.740	€ 3.998	€ 8.742
2 mnd	16,6	25,1	€ 164	€ 11.620	€ 4.103	€ 7.517
4 mnd	13,8	22,5	€ 201	€ 9.660	€ 4.513	€ 5.147
6 mnd	11,2	19,6	€ 265	€ 7.840	€ 5.198	€ 2.642
bewaren 20 °C						
1 mnd	18,0	22,9	€ 175	€ 12.600	€ 3.998	€ 8.602
2 mnd	16,4	24,8	€ 166	€ 11.480	€ 4.122	€ 7.358
4 mnd	13,4	21,8	€ 214	€ 9.380	€ 4.673	€ 4.707
6 mnd	11,0	19,3	€ 286	€ 7.700	€ 5.502	€ 2.198
bewaren 25 °C						
1 mnd	17,8	22,6	€ 180	€ 12.460	€ 4.077	€ 8.383
2 mnd	15,8	23,9	€ 181	€ 11.060	€ 4.317	€ 6.743
4 mnd	13,2	21,5	€ 237	€ 9.240	€ 5.102	€ 4.138
6 mnd	11,0	19,3	€ 320	€ 7.700	€ 6.169	€ 1.531
bewaren 30 °C						
1 mnd	17,4	22,1	€ 190	€ 12.180	€ 4.197	€ 7.983
2 mnd	15,4	23,3	€ 196	€ 10.780	€ 4.551	€ 6.229
4 mnd	13,0	21,2	€ 263	€ 9.100	€ 5.571	€ 3.529
6 mnd	11,0	19,3	€ 357	€ 7.700	€ 6.877	€ 823

* Kosten zijn toegerekende teeltkosten en (afh. van scenario) kosten voor bewaren en afleveren. Bewaarkosten bestaan uit energiekosten.

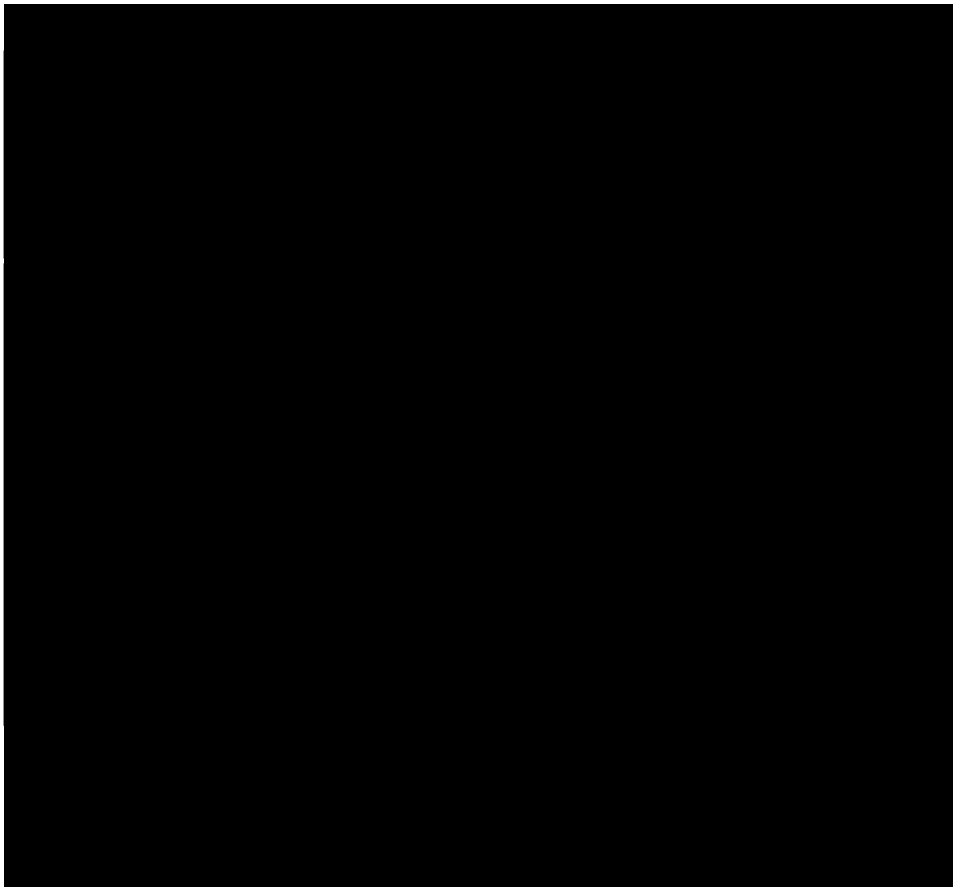
** Bij scenario 'alles afleveren na rooien' is er geen plantgoed meer voor het volgende jaar. Bij de scenario's 'bewaren°C' is er wél plantgoed over en moet dus bij het marginaal saldo € 14.000 opgeteld worden (de gemiddelde waarde van het plantgoed per ha)

Tabel 5. Resultaat van scenario 2 in het rekenmodel 'opbrengst narcissenteelt t.b.v. galanthamine': een situatie met een hoog niveau van fusarium aantasting, een laag begingehalte aan galanthamine en een opbrengst uitgedrukt per ton narcis (uitgaande van € 700/ton).

In scenario 2 wordt uitgegaan van een hoog niveau van fusarium aantasting tegenover een laag niveau in scenario 1. In de situatie waarin alles afgeleverd wordt na rooien (tabel 5, bovenste blok) verandert er niets ten opzichte van scenario 1, doordat een fusarium aantasting bij de oogst nog geen effect heeft gehad op de gewichtsafname.

Uit tabel 3, het bovenste blok, blijkt hoe sterk de narcissenbollen in gewicht afnemen bij een hoger niveau van fusarium aantasting. Die grotere gewichtsafname is de oorzaak van een lagere bolopbrengst na enkele maanden van bewaring, vooral bij hogere temperaturen (tabel 5, onderste 4 blokken, 1^e kolom). Doordat in dit scenario per ton 'afgerekend' wordt met de afnemer nemen met de afname in gewicht ook de inkomsten (€/ha) en het marginaal saldo zeer sterk af (nog sterker dan in scenario 1). Wanneer de waarde van het achtergehouden plantgoed (€ 14.000) bij het marginaal saldo opgeteld wordt, komt het saldo alleen in de buurt van de situatie 'alles afleveren na rooien' bij de kortste bewaarduur van 1 maand (ca. € 8.000 + € 14.000 = € 22.000).

In de situatie waarin alles afgeleverd wordt na rooien (tabel 5, bovenste blok) verandert er niets ten opzichte van scenario 1, doordat een fusarium aantasting bij de oogst nog geen effect heeft gehad op de gewichtsafname.



Tabel 6. Resultaat van scenario 3 in het rekenmodel 'opbrengst narcissenteelt t.b.v. galanthamine': een situatie met een laag niveau van fusarium aantasting, een laag begingehalte aan galanthamine en een opbrengst uitgedrukt per kg galanthamine (uitgaande de hypothetische prijs van € 700/kg).

In de scenario's 3 en 4 wordt de saldoberekening uitgevoerd, uitgaande van een opbrengstberekening op basis van een prijs voor galanthamine per kilo in plaats van een prijs per ton geleverde bollen. In deze hypothetische gevallen wordt uitgegaan van een kiloprijs voor galanthamine van €700. Deze hypothetische prijs is gebaseerd op het feit dat in de vorige hoofdstukken bleek dat een ton narcissenbollen (versgewicht) ongeveer een kilo galanthamine bevat en ongeveer € 700 waard is. Die waarde heeft echter betrekking op de gangbare teeltsituatie.

Het afrekenen met de afnemer per kilo galanthamine leidt tot andere effecten op het marginale saldo dan het afrekenen per ton bollen (tabellen 6 en 7). Wat vooral opvalt is dat de 1.5-jarige teelt (oogst in november, alles afleveren na rooien, het bovenste blok in de tabellen) tot verreweg het hoogste saldo leidt (€ 42.453 bij rooien in november vergeleken met € 25.037 bij rooien in juli). De oorzaak van dit positieve effect is de toename in galanthamine gehalte tijdens de verlengde teeltfase (hoofdstuk 1). Verder valt op dat de situatie waarbij in juli geoogst wordt en vervolgens enkele maanden bewaard wordt bij verschillende temperaturen nauwelijks effect heeft op het marginaal saldo (tabel 6, laatste kolom, onderste 4 blokken). Door langer bewaren nam het galanthamine gehalte wel iets toe (hoofdstuk 2), maar vanwege de hogere kosten die daarmee gepaard gaan, was het netto resultaat op het marginaal saldo gering. Bij oogsten in juli, gevolgd door bewaring, wordt het hoogste marginaal saldo verkregen na 2 maanden bewaring.

Productie (kg galanthamine/ha), opbrengsten (€/ha) en kosten (€/kg galanthamine en per ha) per scenario

	afgeleverde narcis (ton/ha)	afgeleverde galanthamine (kg/ha)	kosten/kg galanthamine	inkomsten (€/ha)	kosten * (€/ha)	marginaal saldo (€/ha)
alles afleveren na rooien **						
medio juli	38,8	41,3	€ 94	€ 28.925	€ 3.889	€ 25.037
medio september	39,8	51,7	€ 75	€ 36.191	€ 3.889	€ 32.302
medio oktober	39,8	55,7	€ 70	€ 38.975	€ 3.889	€ 35.086
medio november	37,8	66,2	€ 59	€ 46.342	€ 3.889	€ 42.453
bewaren 17 °C						
1 mnd	19,0	30,4	€ 132	€ 21.280	€ 3.998	€ 17.282
2 mnd	18,2	34,6	€ 119	€ 24.206	€ 4.103	€ 20.103
4 mnd	17,2	36,1	€ 125	€ 25.284	€ 4.513	€ 20.771
6 mnd	16,2	37,3	€ 140	€ 26.082	€ 5.198	€ 20.884
bewaren 20 °C						
1 mnd	18,8	30,1	€ 133	€ 21.056	€ 3.998	€ 17.058
2 mnd	18,0	34,2	€ 121	€ 23.940	€ 4.122	€ 19.818
4 mnd	16,8	35,3	€ 132	€ 24.696	€ 4.673	€ 20.023
6 mnd	16,0	36,8	€ 150	€ 25.760	€ 5.502	€ 20.258
bewaren 25 °C						
1 mnd	18,6	29,8	€ 137	€ 20.832	€ 4.077	€ 16.755
2 mnd	17,4	33,1	€ 131	€ 23.142	€ 4.317	€ 18.825
4 mnd	16,6	34,9	€ 146	€ 24.402	€ 5.102	€ 19.300
6 mnd	16,0	36,8	€ 168	€ 25.760	€ 6.169	€ 19.591
bewaren 30 °C						
1 mnd	18,2	29,1	€ 144	€ 20.384	€ 4.197	€ 16.187
2 mnd	17,0	32,3	€ 141	€ 22.610	€ 4.551	€ 18.059
4 mnd	16,4	34,4	€ 162	€ 24.108	€ 5.571	€ 18.537
6 mnd	16,0	36,8	€ 187	€ 25.760	€ 6.877	€ 18.883

* Kosten zijn toegerekende teeltkosten en (afh. van scenario) kosten voor bewaren en afleveren.
Bewaarkosten bestaan uit energiekosten.

** Bij scenario 'alles afleveren na rooien' is er geen plantgoed meer voor het volgende jaar.

Bij de scenario's 'bewaren°C is er wél plantgoed over en moet dus bij het marginaal saldo € 14,000 opgeteld worden (de gemiddelde waarde van het plantgoed per ha)

Tabel 7. Resultaat van scenario 4 in het rekenmodel 'opbrengst narcissenteelt t.b.v. galanthamine': een situatie met een laag niveau van fusarium aantasting, een hoog begingehalte aan galanthamine en een opbrengst uitgedrukt per kg galanthamine (uitgaande de hypothetische prijs van € 700/kg).

In scenario 4 wordt eveneens afgerekend per kg galanthamine, maar wordt uitgegaan van een partij plantgoed met een hoger galanthamine gehalte. In Tabel 3, derde blok van boven, blijkt dat een hoger galanthamine gehalte bij aanvang van de teelt ook leidt tot een hoger gehalte bij de oogst. Dit scenario pakt gunstig uit: bij oogst in juli, gevolgd door bewaring (tabel 7, onderste 4 blokken) komt het marginaal saldo uit op bedragen van rond de € 20.000, ongeacht de bewaarduur en –temperatuur. Het saldo is beduidend hoger dan in de situatie met een lager begingehalte aan galanthamine (scenario 3, tabel 6).

Het marginaal saldo in de situatie waarbij alles afgeleverd wordt na rooien verschilt niet tussen tabel 6 en 7. Dit wordt veroorzaakt door het feit dat het onderzoek naar de effecten van de 1.5-jarige teelt niet is uitgevoerd met verschillende begingehaltes aan galanthamine. Het is wél aannemelijk dat ook na een 1.5-jarige teelt het galanthamine gehalte bij de oogst hoger is naarmate het begingehalte hoger is. Die situatie kan met het beslismodel echter niet doorgerekend worden.

N.B.: Het is niet mogelijk om uit de beschreven scenario's de optimale teelt- en behandelmethode af te leiden, doordat de prijs van een kg galanthamine niet bekend is en omdat de keuze per teler enorm kan verschillen afhankelijk van het teeltplan en de overige bedrijfsvoering.

Conclusies hoofdstuk 1.3

- Het beslismodel voor het optimale oogsttijdstip en de optimale behandelmethode voor een maximaal rendement t.a.v. galanthamine productie blijkt geschikt om verschillende scenario's door te rekenen en een snel overzicht van de financiële consequenties te geven
- Wanneer de prijs van de te leveren narcissenbollen bepaald wordt op basis van gewicht, dan is het ongunstig om de bollen langer dan 1 of 2 maanden en bij hogere temperaturen dan ca. 20°C te bewaren, omdat door uitdroging de hoeveelheid bolgewicht dan snel afneemt (en daarmee het marginaal saldo)
- In hetzelfde scenario vormt de aanwezigheid van een fusarium aantasting een extra bedreiging, omdat dan het gewicht nog veel sterker afneemt in de tijd (en daarmee het marginaal saldo)

- Wanneer de prijs van de te leveren narcissenbollen bepaald wordt op basis van de hoeveelheid galanthamine in die bollen, dan heeft bewaring na de oogst weinig effect op het saldo, doordat een geringe toename in galanthamine door de factor tijd teniet gedaan wordt door de kosten van bewaring.
- In hetzelfde scenario (afrekenen per kg galanthamine) leidt de situatie 'oogsten in november en alles direct afleveren' tot het hoogste saldo, waarbij opgemerkt moet worden dat de teler dan niet meer over het plantgoed voor een vervolgteelt beschikt.
- Een hoger galanthamine gehalte in een partij plantgoed leidt ook tot een hoger galanthamine gehalte bij de oogst (en daarmee tot een hoger saldo).
- Een optimale teelt- en behandelmethode is niet af te leiden uit het beslismodel doordat de prijs per kg galanthamine niet bekend is en vanwege individuele verschillen tussen telers op het gebied van teeltplan en overige bedrijfsvoering.

Algemene discussie en aanbevelingen hoofdstukken 1.1, 1.2 en 1.3

De conclusies uit de hoofdstukken 1.1, 1.2 en 1.3 laten zich vertalen in de volgende aanbevelingen: Om te komen tot een zo rendabel mogelijke teelt van narcis ten behoeve van galanthamine productie is het aan te bevelen om:

- Een plantgoedpartij te zoeken met een zo hoog mogelijk galanthamine gehalte
- De bollen te telen op wat rijkere grond en extra stikstof tijdens de teelt toe te voegen (hierbij moet wel rekening gehouden worden met een verhoogd risico van fusarium aantasting).
- Afhankelijk van het teeltplan en overige bedrijfsvoering is het verstandig om de bollen te rooien:
 - o In juli, en vervolgens 1 of 2 maanden te bewaren bij temperaturen van 17 of 20°C.
 - o in november na het eerste teeltjaar, waarna ervoor gekozen kan worden om alle bollen direct af te leveren of een hoeveelheid plantgoed voor een volgende teelt apart te houden. Hierbij kan het hierboven beschreven beslismodel als hulpmiddel dienen. Dit scenario is gunstig als per kg galanthamine afgerekend wordt met de afnemer.
- Als de bollen per ton afgerekend worden met de afnemer is het raadzaam te bollen niet te lang en te warm te bewaren.

Hoofdstuk 1.4 Kwaliteit en veiligheid van narcissenbollen, bestemd voor galanthamine productie

1.4.1 Het bepalen van residuen van gewasbeschermingsmiddelen in narcissenbollen

Farmaceutische bedrijven, die planten gebruiken voor het winnen van medicinale stoffen, stellen hoge eisen aan de kwaliteit en veiligheid van het aangeleverde plantmateriaal. De aanwezigheid van residuen van bestrijdingsmiddelen in plantmateriaal vormt in dit verband een probleem. In 'The European Pharmacopoeia' is voor een aantal bestrijdingsmiddelen vastgesteld hoeveel daarvan maximaal in plantmateriaal bestemd voor medicijnenproductie mag voorkomen (zgn. MRL's: Maximum Residue Limits). De teelt van dit type gewassen gebeurt doorgaans onder certificeringssystemen zoals GAP (Good Agricultural Practice), waarin iedere stap in de teelt en verwerking nauwkeurig wordt gedocumenteerd. In dit hoofdstuk wordt beschreven of, en zo ja in welke mate ontsmettingsmiddelen van narcissenbollen voor het planten en gewasbeschermingsmiddelen tijdens de teelt te velde teruggevonden worden in narcissenbollen na de oogst.

Narcissenbollen zijn voor het planten gedompeld in de ontsmettingsmiddelen, die vermeld staan in tabel 8 (de nummers 2 t/m 10). Er zijn ook dompelings uitgevoerd in combinaties van middelen. Let wel: niet alle middelen worden standaard gebruikt voor het ontsmetten van bollen van de cultivar carlton. In de proef zijn zoveel mogelijk middelen opgenomen om het mogelijke achterblijven van residuen zo breed mogelijk te onderzoeken. Op het veld zijn bespuitingen uitgevoerd met middelen tegen onkruid en schimmels (tabel 8, de nummers 11 t/m 30).

Controle	Ontsmettingsbad	Gewasbespuitingen	
1. Geen behandeling	2. Formaldehyde	11. Chloor IPC	22. Shirlan
	3. Luxan	12. Stomp	23. Allure
	4. Sportak	13. Linuron	24. Maneb
	5. Topsin	14. Pyramin	25. Kenbyo
	6. Standard mix (2-5)	15. Mix (11-13)	26. Chlorothalonil
	7. Securo	16. Goltix	27. Rudis
	8. Mix2 (2,3,5,7)	17. Herbasan	28. Fungicide mix (22,24,25,27)
	9. Admire	18. Mix2 (11-13,16,17)	29. Calypso
	10. Shirlan	19. Aramo	30. Mix (15-17,21,28)
		20. Fusilade	
		21. Focus Plus	

Tabel 8. Gewasbeschermingsmiddelen voor Narcis. De behandelingen 1 t/m 10 betreffen (combinaties van) middelen die gebruikt worden in dompelbaden voor het planten, de behandelingen 11 t/m 30 betreffen (combinaties van) middelen die als gewasbespuiting worden toegepast.

De bollen zijn volgens de standaard methode geteeld (op het veld bij PPO in Lisse) en geoogst. Na de oogst zijn de bollen getoetst op eventuele residuen van de gebruikte middelen in het bolweefsel op het laboratorium van de RUL. Daarbij is gebruik gemaakt van 2 technieken: vloeistofchromatografie gevolgd door massaspectroscopie (LC-MS) en gaschromatografie gevolgd door massaspectroscopie (GC-MS).

De meeste middelen konden op een gevoelige manier aangetoond worden. Voor sommige middelen moet de extractie- en meetmethode echter verder geoptimaliseerd worden. De gehalten in de bollen bleken in het overgrote deel van de middelen lager dan de maximaal toelaatbare waarde, in enkele gevallen zelfs lager dan de detectiegrens. Drie stoffen, bestanddelen van 2 ontsmettingsmiddelen, bleken echter terug te vinden in concentraties, die in dezelfde range liggen als de MRL: pyraclostrobine en folpet (de werkzame bestanddelen van Securo) en Captan (het actieve bestanddeel van Luxan). Beide middelen worden toegediend aan het ontsmettingsbad van narcissenbollen vóór het planten. Securo niet altijd (bij narcissus carlton is het bijvoorbeeld niet nodig), Captan vrijwel altijd. Dit onderzoek toont aan dat:

- Het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen in de teelt van narcissenbollen ten behoeve van galanthamine productie kritisch afgewogen dient te worden.
- Telen onder GAP een vereiste is.

1.4.2 De aanwezigheid van een mycotoxine in narcissenbollen, die aangetast zijn door de bolrotschimmel fusarium oxysporum

In één oriënterend experiment, uitgevoerd in samenwerking met het RIKILT is aangetoond dat het mycotoxine beauvericine aanwezig is in narcissenbollen, die aangetast zijn door de bolrotschimmel (tabel 9). De overige in tabel 9 genoemde mycotoxines waren óf niet aanwezig óf in zulke lage concentraties dat ze met de gebruikte methode niet aantoonbaar waren. De aanwezigheid van mycotoxine beauvericine toont nogmaals aan hoe belangrijk het is dat de teelt van narcissenbollen voor galanthamine productie plaatsvindt onder de regels van GAP.

	gezond mg/kg	aangetast door fusarium mg/kg
3&15-AcetylDON (sum of)	<0.05	<0.05
Aflatoxin B1	<0.0005	<0.0005
Aflatoxin B2	<0.0005	<0.0005
Aflatoxin G1	<0.0005	<0.0005
Aflatoxin G2	<0.001	<0.001
Agroclavine	<0.001	<0.001
Alternariol	<0.02	<0.02
Alternariol-methylether	<0.005	<0.005
Beauvericin	<0.005	0.195
Citreoviridin	<0.02	<0.02
Citrinin	<0.01	<0.01
Deoxynivalenol	<0.1	<0.1
Diacetoxyscirpenol	<0.01	<0.01
Fumagillin	<0.04	<0.04
Fumonisin B1	<0.01	<0.01
Fumonisin B2	<0.01	<0.01
Fumonisin B3	<0.01	<0.01
HT2 toxin	<0.01	<0.01
Moniliformin	<0.05	<0.05
Mycophenolic acid	<0.05	<0.05
Neosolaniol	<0.02	<0.02
Nitropropionic acid	<0.01	<0.01
Ochratoxin A	<0.005	<0.005
Penicillic acid	<0.05	<0.05
Roquefortine C	<0.005	<0.005
Sterigmatocystin	<0.001	<0.001
T-2 Toxin	<0.01	<0.01
Verruculogen	<0.4	<0.4
ZON	<0.005	<0.005
α -Zearalenol	<0.025	<0.025
β -Zearalenol	<0.05	<0.05

Tabel 9. Lijst van mycotoxines, die op hun aanwezigheid zijn getest in gezonde narcissenbollen en bollen die aangetast waren door de bolrotschimmel. Alle waarden met het 'kleiner dan'-symbool betekenen: de stof is óf niet aanwezig óf in concentraties die zo laag waren dat ze onder de detectielimiet lagen.

Conclusies en discussie hoofdstuk 1.4

Narcissenbollen, die voor het planten zijn ontsmet in Securo (met als werkzame stoffen pyraclostrobine en folpet) of Luxan (met als werkzame stof captan) blijken bij de oogst duidelijk meetbare hoeveelheden residuen van de werkzame stoffen te bevatten, in eenzelfde concentratierange als de maximaal toegelaten hoeveelheid (Maximum Residue Limit). Hierbij dient opgemerkt te worden dat genoemde middelen niet altijd gebruikt hoeven te worden. Securo wordt bijvoorbeeld niet gebruikt bij de cultivar carlton.

In bollen, die aangetast waren door de bolrotschimmel *fusarium oxysporum*, is het giftige mycotoxine beauvericine aangetoond. De mogelijke aanwezigheid van beide typen giftige stoffen toont aan hoe belangrijk het is dat:

- bollen aangeleverd worden volgens protocollen, waarin vastligt hoe de kwaliteit en de gezondheid van het bolmateriaal vastgesteld worden.
- bollen geteeld worden onder GAP

Hoofdstuk 1.5 Onderzoek naar verwerking plantmateriaal

Bij het optimaliseren van de verwerking van bollen is vooral het onafhankelijk van de oogsttijd kunnen leveren van het bolmateriaal in het onderzoek meegenomen. Immers het jaarrond kunnen leveren van bolmateriaal met onveranderde concentratie galanthamine geeft een meerwaarde. Een van de methoden, om het bolmateriaal en mogelijk daarmee ook de concentratie van inhoudstof te stabiliseren is het drogen van het materiaal. De vraag is of bij het droogproces de concentratie van de inhoudstof wordt beïnvloed.

Samen met TNO afdeling Quality of Life in Zeist is onderzoek verricht naar het effect van verschillende droogmethodes op bolmateriaal. Hierbij is ook een geheel nieuwe methode van drogen onderzocht namelijk vriesdrogen in combinatie met microwave.

Voor deze proeven hebben we twee partijen bollen gebruikt, bollen die in bewaring hadden gelegen en verse bollen. De bollen werden in gelijke stukjes versnipperd.

In elke droogmethode werd 200 tot 250 gram gesnipperd bolmateriaal gebruikt. De droging werd gestopt wanneer het berekende vochtgehalte minder was dan 10%. Bij luchtdrogen is bij de verschillende temperaturen dezelfde droogtijd gehanteerd.

De volgende milde droogprocessen zijn vergeleken:

- conventioneel vriesdrogen zonder additionele verwarming
- conventioneel vriesdrogen met verwarmde platen
- microwave ondersteund vriesdrogen (FND-haalbaarheidsstudie)
- lage temperatuur luchtdrogen
- oververhitte stoom drogen
- drogen met adsorbentia

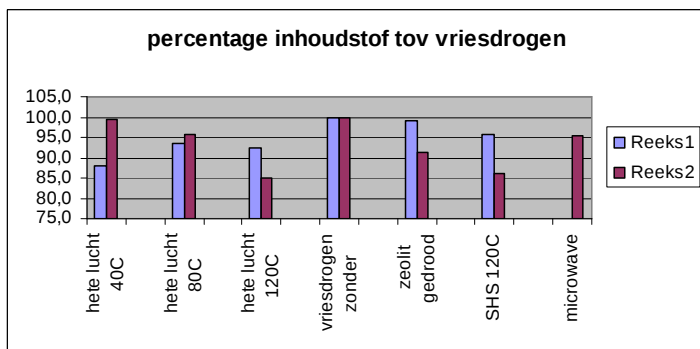
De experimenten zijn uitgevoerd in de laboratoria van TNO in Zeist. Deze experimenten geven inzicht in het effect van een droogtechnologie op de kwaliteit en op het behoud van galanthamine.

droog methode	start gewicht in gram	gewicht na drogen	droogtijd	eindvocht gehalte in %
vriesdrogen met				
Plaatverwarming	250	110,3	3 dagen	2
zonder plaatverwarming	250	109,7	2 dagen	1
luchtdrogen 40°C	200	95,6	2 uur	9
luchtdrogen 80°C	200	89,2	2 uur	3
luchtdrogen 120°C	200	86,3	2 uur	1
SHS drogen 120°C	200	90,3	0,5 uur	4
SHS drogen 150°C	200	86,4	0,25 uur	0
zeoliet drogen 20°C	200	87,4	5 dagen	1

Tabel 10. Resultaten droogexperimenten

Bovenstaande tabel 10 geeft weer hoelang elke droogmethode heeft geduurd alvorens de grens van 10% is bereikt. SHS drogen bij 150°C kwam er als snelste proces uit. Het droogproces is bij twee verschillende partijen bollen onderzocht.

Het gedroogde materiaal is vervolgens in Leiden op de aanwezigheid van Galanthamine geanalyseerd.



Figuur 11. Galanthamine gehalte in twee verschillende batches van bollen gedroogd met verschillende methodes. Gevriesdroogde bollen zijn op 100% gesteld.

Figuur 11 geeft het verschil in percentage van galanthamine per drooggewicht weer bij verschillende droogmethoden waarbij het percentage van de vriesdroogmethode op 100 % is gesteld. De experimenten met de twee partijen bollen hebben op verschillende momenten plaatsgevonden.

Zoals de grafiek weergeeft zijn er zowel verschillen tussen de droogmethoden als tussen de partijen bollen waargenomen. Wel lijkt er een tendens dat het galanthamine gehalte afneemt bij hogere temperaturen. De lage temperaturen en het vacuüm (weinig zuurstof) waarin het materiaal zich bevindt bij vriesdrogen zijn duidelijk van belang voor de stabiliteit van galanthamine.

De keuze voor een bepaalde droogtechnologie is uiteraard niet alleen afhankelijk van het behoud van de inhoudsstoffen, maar ook van de structuur en de toepassingsmogelijkheden van het gedroogde materiaal in het extractieproces. Uiteindelijk is de keuze van het droogproces een economische afweging; wat verlies je aan inhoudsstoffen en andere kwaliteitsbepalende criteria en wat zijn de (investerings- en operationele) kosten van de diverse manieren van drogen. Wat betreft deze economische aspecten zijn de onderzochte droogtechnologieën kwalitatief vergeleken. Vriesdrogen levert in principe de beste kwaliteit maar gaat gepaard met hoge operationele kosten. Bij andere droogtechnologieën is het behoud van structuur en componenten minder vanzelfsprekend. Vriesdrogen kan versneld worden door het te drogen product op verwarmde platen te leggen. Dit geeft geen kwaliteitsafname, zolang de plaattemperatuur onder 30 à 40°C blijft. Warmtetoevoer middels microwave straling versnelt het vriesdroogproces ook, maar lijkt een kleine afname van het behoud van inhoudsstoffen te veroorzaken. Drogen met warme of hete lucht is een veel gebruikte technologie. Afhankelijk van de toepassing en de eisen aan het gedroogde product, kan een lage luchttemperatuur gekozen worden, waarbij droging weliswaar langzamer gaat, maar minder degradatie van het product optreedt. Drogen met oververhitte stoom gebeurt bij relatief hoge temperaturen en is daardoor snel. Een voordeel is het ontbreken van zuurstof tijdens het drogen, waardoor ondanks de hoge temperatuur inhoudsstoffen toch goed behouden blijven. Drogen van het bollenmateriaal op een bed met adsorbentia (een zeoliet) is ongeschikt voor het drogen van plantaardige materialen door de zeer lange droogtijden.

Conclusies en discussie hoofdstuk 1.5

De technisch beste manier om bollen te drogen met behoud van de hoogste concentratie galanthamine is de relatief dure vriesdroogmethode. Echter het is de vraag of de hete lucht methode van 80°C economisch gezien niet gunstiger is, de veel grotere schaal waarop dit kan gebeuren en de lagere kosten wegen mogelijk op tegen het 5-10% verlies aan galanthamine. Verdere experimenten over de stabiliteit van het gedroogde materiaal bij bewaren, de extractie eigenschappen van de verschillende gedroogde materialen en een diepgaande kostenanalyse zijn noodzakelijk om een economische afweging te kunnen maken of bewaren van gedroogd materiaal een reële meerwaarde geeft.

Hoofdstuk 2: Werkpakket 2, Ontwikkelen van nieuwe (vraaggestuurde) ketens

In werkpakket 2 is na een fase van oriëntatie op doelen en het vaststellen van wederzijds vertrouwen bij de consortiumpartners een ketenanalyse uitgevoerd, zijn kwaliteitscriteria vastgesteld en methoden voor het waarborgen van productie en kwaliteit onderzocht. In gesprekken met farmaceutische bedrijven en andere bedrijven die stoffen uit planten winnen of verwerken zijn de mogelijkheden voor nieuwe ketens van plantenstoffen verkend. Ook is in die gesprekken het onderwerp ketenstandaard (protocollen, toetssystemen) besproken.

Hoofdstuk 2.1 Ketenanalyse

In het kader van het project zijn verschillende bedrijven in binnen- en buitenland bezocht en aan de hand van een serie vragen met deze bedrijven het kwaliteitsbeheer en controle van plantaardige farmaceutische grondstoffen besproken. De bezochte bedrijven zijn in twee groepen in te delen. Extractiebedrijven die zuivere stoffen of plantenextracten leveren aan de industrie die deze verder bewerkt en formuleert (Firmenich in Zwitserland, Finzelberg in Duitsland en Indena in Italië), en bedrijven die de hele keten van plant tot eindproduct in huis hebben (in Zwitserland: Farmaton, Vitaplast, DSM Nutritional products, en in Nederland VSM). Daarbij komt een duidelijk beeld naar voren dat we hier onder in meer detail zullen beschrijven, zonder verder in te gaan op specifieke punten voor bepaalde gewassen. Een manuscript van een publicatie (*Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials*, Andrea Lubbe and Robert Verpoorte) dat onlangs bij een wetenschappelijk tijdschrift is aangeboden is beschikbaar.

Voor de farmaceutische industrie zijn er drie soorten van plantaardige bronnen voor de productie van geneesmiddelen. Allereerst zijn er de planten die als zodanig gebruikt worden (de fytotherapie). In de tweede plaats zijn er planten die gebruikt worden om een natuurstof te isoleren die als geneesmiddel gebruikt wordt. De derde groep betreft planten waaruit een natuurstof wordt geïsoleerd die via verdere chemische omzettingen een geneesmiddel oplevert. Het zal duidelijk zijn dat voor iedere categorie andere kwaliteitseisen gesteld worden aan het plantenmateriaal.

Voor de groep van de fytotherapeutica gelden de hoogste eisen omdat daar het plantenmateriaal zelf of een ruw extract aan een patiënt wordt toegediend. Die eisen zijn: een constant goed gedefinieerd gehalte van werkzame stof(fen) in de juiste plantensoort en variëteit en vrij van verontreinigingen zoals zware metalen, pesticiden en mycotoxines. Voor de meeste fytotherapeutica zijn de kwaliteitseisen en methodes van kwaliteitscontrole beschreven in de Europese Farmacopee.

Ook voor de tweede groep gelden deze eisen, hoewel minder stringent omdat bij de zuivering van het geneesmiddel de verontreinigingen niet meekomen in het eindproduct. Wat betreft gehalte aan werkzame stof in het plantenmateriaal geldt "hoe meer hoe beter". Galanthamine uit narcisbollen, is een goed voorbeeld van deze groep.

Voor de derde groep zijn de eisen het laagst omdat de hele productieketen zo lang is dat eventuele verontreinigingen nauwelijks een rol spelen voor het eindproduct, bijvoorbeeld de productie van farmaceutische steroïden uit sitosterol dat als één van de afvalproducten van soja wordt verkregen. Om de hoogst mogelijke kwaliteit te verkrijgen wordt in de farmacie de hele productieketen bewaakt. Alternatief is het plantenmateriaal op de vrije markt te kopen na uitvoerige kwaliteitscontrole. Met de honderden pesticiden die er wereldwijd gebruikt worden en de verdere mogelijke verontreinigingen uit het milieu en mycotoxines door infecties met micro-organismen is het aantal analyses dat verricht moet worden zeer aanzienlijk. Daarom wordt in het algemeen "total quality management" toegepast waarbij de hele keten van de productie in het veld of kas gecontroleerd wordt. Dat wil zeggen bij voorkeur productie onder GAP regels.

Bij "total quality management" wordt de hele keten in kaart gebracht en worden de kritieke punten geïdentificeerd. Voor de kritieke punten worden methodes ontwikkeld om de kwaliteit te waarborgen. Bijvoorbeeld wanneer in de productie in het veld het gebruik van pesticide noodzakelijk is dan wordt het eindproduct gericht op residuen van het gebruikte middel onderzocht, wat eenvoudiger is dan te testen op residuen van alle mogelijke pesticiden. Het zal duidelijk zijn dat vooral voor de fytofarmaceutica een teelt zonder gebruik van pesticiden de voorkeur heeft.

Op basis van deze hier bovengenoemde principes is met de bollentelers het hele proces van de teelt en oogst van bollen voor de galanthamine extractie doorgenomen. Pesticiden en mycotoxines zijn daarbij als belangrijkste punten van kwaliteitsbewaking naar voren gekomen. Voor pesticiden zijn vervolgens voor een groot aantal gangbare middelen analyse methodes geïmplementeerd voor de analyse van narcissus bollen (zie bijlage) en zijn vervolgens bollen monsters onderzocht op residuen (zie hoofdstuk 1.4). Extern hebben we de bollen laten testen op de aanwezigheid van mycotoxines. Daarbij bleek dat met name voor beauvericin de

bollen positief testen. Hetgeen duidt op infectie met fusarium. Omdat dergelijke bollen ook een lager galanthamine gehalte hebben is de controle op fusarium dus van groot belang. Protocollen voor de GAP teelt van narcissus bollen moeten dus met name aan deze punten aandacht geven.

Hoofdstuk 3: Werkpakket 3, Vormen Kenniscentrum Plantenstoffen en communicatie

Hoofdstuk 3.1 Het vormen van een Kenniscentrum Plantenstoffen

Voor de productie is het noodzakelijk om geheel nieuwe ketens van plantproductie tot afzet te realiseren, met nieuwe samenwerkingsverbanden tussen producenten, verwerkers en partners in de farmaceutische en cosmetische sector, alsook kennisinstellingen. Een nieuwe keten kan alleen ontstaan als een ketenontwikkelaar vraag en aanbod goed op elkaar afstemt. Voor deze rol is het noodzakelijk om beschikbare kennis en expertise te bundelen in een "Kenniscentrum Plantenstoffen".

Hoofdstuk 3.1.1 Oriëntatie op doelen en samenwerking

Holland Biodiversity heeft het initiatief genomen om samen met Provincie Zuid-Holland (beleid Greenports van de Toekomst), Productschap Tuinbouw Flowers & Food (Innovatie- en Kennisagenda), Rabobank, Kennisalliantie Zuid-Holland en Universiteit Leiden (IBL) een kenniscentrum op te richten.

In de periode van juli tot november 2009 heeft in een geconcentreerde aanpak een aantal gesprekken plaatsgehad met diverse instanties en het bedrijfsleven met vier doelen:

1. zicht krijgen op lopende activiteiten in de greenports en bij kennisinstellingen om daarop effectief te kunnen aansluiten.
2. zicht krijgen op verwachtingen bij de inrichting van een kenniscentrum (functies, voorzieningen, middelen, organisatie) om daarop effectief aan te sluiten.
3. draagvlak voor, behoefte aan en functies van een kenniscentrum vaststellen als gemeenschappelijke infrastructuur voor het verwaarden van inhoudsstoffen uit planten;
4. financiering te organiseren in samenwerking tussen markt en overheid, in het bijzonder door gebruik van EFRO regeling en clusterregeling.

Vastgesteld is dat er draagvlak is voor een marktgericht kenniscentrum om inhoudsstoffen en kennis daarvan in de greenports tot waarde te brengen. Heldere keuzes zijn nodig om potenties en beloftes door te zetten in business. Dat is leidend geweest voor dit kenniscentrum: lengte maken door breedte te beperken, aansluiten bij wat er al gebeurt en toevoegen wat de noodzakelijke versnelling kan brengen.

Op 11 januari 2010 is de *Stichting Kenniscentrum Plantenstoffen* hieruit voortgekomen.

Hoofdstuk 3.1.2 Aanleiding tot oprichting van de Stichting Kenniscentrum Plantenstoffen

De behoefte van vooraanstaande marktpartijen uit de greenports om inhoudsstoffen uit planten te verwaarden is de reden voor het opstarten van het Kenniscentrum Plantenstoffen. Daarbij wordt in de eerste plaats gedacht aan:

- het versterken van de economische basis voor de greenports door innovaties op basis van werkzame stoffen in plantenresten, productresten en als daarvoor voldoende basis is nieuwe specifiek geteelde en/of veredelde producten
- verduurzaming van de teelt en verwerking door benutting van reststromen voor innovatieve toepassingen (vierkantsverwaardig), volgens principes van cradle to cradle.

Bij de voorbereiding van het Kenniscentrum Plantenstoffen is gebleken dat er veel initiatieven worden genomen door marktpartijen en kennisinstellingen, die meestal stranden op weg naar toepassingsmarkten. We weten beperkt wat erin zit en hoe het eruit kan worden gehaald, we kennen soms de waarde en de toepassingsmarkten. De verbinding tussen kennis en markt ontbreekt of is onvoldoende ontwikkeld.

Waardecreatie loopt vast op gebrek aan kennis en op blokkades en gevestigde belangen op de route van kennis naar markt.

Research & Development moet effectiever worden aangestuurd op basis van marktbehoeften aan de vraagzijde (toepassingsmarkten) of aanbodzijde (greenports als leverancier van grondstoffen), zodat kennis kan worden omgezet in economische waarde, wat resulteert in versterking van de concurrentiepositie en verduurzaming van de greenports. Er liggen goede kansen voor de greenports in de biobased economy als de verbinding kan worden gelegd tussen vraag, aanbod en kennis.

Een begin kan worden gemaakt door reststromen van de greenports te gebruiken als grondstof voor innovatieve toepassingen in de greenports: fungiciden/pesticiden en fertilizers op basis van beschikbare natuurlijke grondstoffen. Dat kan worden verbreed naar andere toepassingsmarkten, bijvoorbeeld voor vezels uit plantenresten of werkzame stoffen uit planten voor farma, cosmetica en food.

Maatschappelijk is er grote behoefte aan hernieuwbare grondstoffen en natuurlijke producten voor uiteenlopende markten. In de praktijk blijft toepassing vastzitten op gevestigde processen en ketenrelaties. Er is grote behoefte om ingrediënten uit reststromen te verwaarden, in de praktijk eindigen reststromen nu bij de afvalverwerking, als kostenpost voor de tuinbouw.

De greenports hebben strategisch belang bij hoogwaardige, kennisintensieve teelten en toepassingen en zijn als geen ander in staat tot gecontroleerde, industriële productie van grondstoffen en snelle opschaling als de markt dat vraagt. Toch bewegen de greenports zich nu nog vooral in traditionele markten waar de laagste prijs de doorslag geeft.

Hoofdstuk 3.1.3 Doel van de Stichting Kenniscentrum Plantenstoffen

Het Kenniscentrum Plantenstoffen heeft tot een doel een doorbraak te bewerkstelligen voor vierkantsverwaardiging (valorisatie) van werkzame stoffen uit plantenresten en productresten, dan wel specifiek geteelde en veredelde planten en producten voor farmaceutische toepassingen, (functional) food ingredients, flavors, fragrances en kleurstoffen, fungiciden en pesticiden, fabrics en fibers, feed en fuel, op natuurlijk basis ontwikkeld en toegepast.

In eerste instantie richt het Kenniscentrum Plantenstoffen zich op gebruik van grondstoffen uit de greenports in de thuishmarkt, zonder bredere sourcing en andere afzetmarkten uit te sluiten:

- gebruik van reststromen uit de tuinbouwcluster voor innovatieve toepassingen in het bijzonder bolgewassen (uien, bloembollen) en kasgroenten (tomaten, paprika, komkommer) om bij te dragen aan economische kracht, duurzaamheid en license to produce: verlaging van kosten en verhoging van opbrengsten in alle schakels van de keten.
- toepassing voor fungiciden en pesticiden en fertilizers in de (glas)tuinbouw ter bevordering van duurzaamheid in de teelt en beperking van gebruik van chemische bestrijdingsmiddelen.

Door deze keuzes voor innovaties binnen het domein van de greenports heeft het Kenniscentrum Plantenstoffen een helder focus met duidelijke prioriteiten, zonder andere grondstoffen uit het tuinbouwcluster en andere toepassingsmarkten uit te sluiten. Gaandeweg wil het Kenniscentrum Plantenstoffen vierkantsverwaardiging bereiken van werkzame stoffen uit planten, zoals de petrochemische industrie er de afgelopen eeuw in is geslaagd met steeds nieuwe toepassingen en markten volledige valorisatie te bereiken, met affakkelen van een verwaarloosbare fractie.

Vierkantsverwaardiging vereist een breed contactvlak met de markt, in uiteenlopende sectoren en toepassingsgebieden. Dat is nodig om de hoge kosten van valorisatie met opbrengsten uit de markt te kunnen overtreffen. Het vergt grote inspanningen en kosten om kleine fracties werkzame stof voor bijvoorbeeld farma en food te extraheren uit planten, producten of plantenresten. Daarvoor is nodig dat het gehele spectrum aan inhoudsstoffen wordt geanalyseerd, geraffineerd en gevaloriseerd (waarde krijgt), waarbij de reststroom wordt gebruikt voor energie, zoals gebeurt bij het kraken van aardolie.

Het Kenniscentrum Plantenstoffen heeft tot doel een breed contactvlak te organiseren tussen de grondstofmarkten in de greenports, afzetmarkten voor toepassingen die daarop worden gebaseerd en

publieke en private kennispartijen zodat afzonderlijke innovaties en R&D projecten tot succesvolle marktintroductie leiden.

Het Kenniscentrum Plantenstoffen richt zich vooral op het initiëren van innovatieprojecten in deze driehoek van vraag, aanbod en kennis: keteninnovaties met ondersteunende R&D. Daardoor ontstaat waarde in de markt (vraag en aanbod) en wordt een impuls gegeven aan R&D voor gebruik van natuurlijke grondstoffen uit de greenports met als resultaat verduurzaming in alle schakels van de keten en nieuwe economische kansen.

Het Kenniscentrum Plantenstoffen heeft een aanjagende functie, waarbij innovaties en R&D in afzonderlijk bestuurd en gefinancierde ketenprojecten tot stand komen. Kwantitatief wil het Kenniscentrum over de looptijd van 4 jaar de volgende doelstellingen bereiken:

- nieuwe werkgelegenheid voor tenminste 100 arbeidsplaatsen, in de greenports en relevante afzetmarkten, direct verbonden aan innovatieprojecten.
- 10 R&D projecten in samenwerking tussen publieke en private samenwerking voor omstreeks € 3 mln per jaar, € 10 mln over de looptijd, waarvan € 5 mln privaat.
- tenminste 20 MKB bedrijven te betrekken bij ketenprojecten voor verwaarden van plantenstoffen uit de greenports en toepassingsmarkten, waarvan 5 bestaande en nieuwe start-ups.
- € 10 mln uitgelokte vervolginvesteringen voor analyse van plantenstoffen en proeffabricage voor extractie en verwerking.
- omstreeks 10 innovatieve coalities voor keteninnovatie, die R&D activiteiten aansturen met het genoemde volume van € 10 mln over de looptijd.
- innovatieve oplossingen voor vraagstukken in de bestaande teelt en verwerking waardoor license to produce, levering aan afzetmarkten of economische positie worden versterkt, met een resulterend behoud van economische waarde van € 50 mln.

Om deze ambitieuze doelen te bereiken is een breed draagvlak vereist in de markt. De brieven van marktpartijen die bij de subsidieaanvraag zijn gevoegd en de commitments die daarin zijn opgenomen, wijzen daarop. Gaandeweg zal de betrokkenheid van marktpartijen binnen en buiten de greenports worden uitgebreid onder meer door het vormen van ketencoalities rond kansrijke thema's (marktscans, projectinitiatie) en netwerkbijschikkingen (marktcommunicatie).

Na vier jaar moet het Kenniscentrum Plantenstoffen zichzelf financieren uit bijdragen van marktpartijen en/of inkomsten uit uitgevoerde projecten en daarmee bereikte resultaten. Dat is een signaal dat de markt de beweging adopteert en de waarde van het Kenniscentrum bevestigt. Na 4 jaar zijn er twee andere opties

1. De markt is voldoende op gang gekomen, er is geen aanleiding het Kenniscentrum Plantenstoffen voort te zetten met bijdragen van marktpartijen en/of inkomsten uit projecten en bereikte resultaten. Dan is de missie bereikt en houdt het Kenniscentrum op te bestaan.
2. De doorbraak blijft uit, marktpartijen willen de financiering van het Kenniscentrum Plantenstoffen niet op zich nemen en op andere manieren kan geen financiering worden aangetrokken. Dan is ondanks de inspanningen de missie niet bereikt en houdt het Kenniscentrum op te bestaan.

Het Kenniscentrum Plantenstoffen in deze vorm is dus een tijdelijke (netwerk)organisatie met een kleine bezetting, om de markt voor toepassing van inhoudsstoffen aan te jagen.

Het Kenniscentrum Plantenstoffen start met kasgroente (tomaten, paprika, komkommer en andere gewassen) en bolgewassen (bloembollen, uien) gaandeweg uit de breiden naar sierteelt en wellicht ook andere greenport producten (paddenstoelen, fruit). Het doel is meerwaarde te genereren voor deze sectoren door de vraagzijde (de toepassingsmarkten) te ontwikkelen en de brug te slaan naar kennis over inhoudsstoffen en de productie daarvan in de greenports en kennisinstellingen.

1. De sleutel zit aan de vraagzijde, bij de (toepassingsmarkten). Om een laagdrempelige start te maken worden vraag en aanbod in eerste aanleg binnen de greenport zelf gezocht: gebruik van reststromen voor fertilizers, fungiciden en pesticiden, gaandeweg uit te breiden naar toepassingen en markten buiten de greenports.
2. gebruik van reststromen draagt bij aan duurzaamheid van de greenports, verlaging van kosten en verhoging van opbrengsten. Dat kan overgaan in specifieke teelten en verwaarden van competenties in de greenports voor nieuwe markten en toepassingen.

3. fertilizers en fungiciden/pesticiden (biopesticiden) zijn toepassingen in de greenports zelf (vraag en aanbod in één hand) om zo bij te dragen aan duurzaamheid. Daarnaast kunnen toepassingen gevonden worden in nieuwe markten, buiten de greenports.

Deze uitgangspunten brengen afwegingen met zich mee: gaat het om de kosten van reststromen of om de waarde van eindproducten. Gaat het om hoogwaardige ingrediënten en markten, met kleine gehalten, of om de grotere volumes met laagwaardige ingrediënten. Gaat het om teelt en veredeling van nieuwe producten of om de reststromen van bestaande teelten. Daarin zullen pragmatische oplossingen worden gezocht bij het vormen van ketencoalities met gaandeweg een verbreding van de aandacht van reststromen naar nieuwe producten en teelten.

Hoofdstuk 3.1.4 Activiteiten stichting Kenniscentrum Plantenstoffen

Het Kenniscentrum Plantenstoffen kent de volgende hoofdactiviteiten, die nader zijn uitgewerkt in het Projectplan:

- **projectinitiatie** door het bijeenbrengen van (keten)coalities voor kansrijke onderwerpen, opstellen van projectplannen met ondersteunende R&D inspanningen (publiek en privaat) en vinden van financiering. De ketencoalities zijn verantwoordelijk voor besturen en uitvoeren van de projecten en voor het realiseren van daaraan gerelateerde business doelen.
- **scans en marktonderzoek** door inventariseren van beschikbare kennis, technologie en marktontwikkelingen, in samenwerking tussen deskundigen op het gebied van R&D en business development bij betrokken ondernemers en publieke en private kennisinstellingen. Verdiepend **precompetitief marktonderzoek** van specifieke target markten, om beter inzicht te krijgen in kansen voor ketencoalities die daarin willen investeren.
- **marktcommunicatie** om de brug te slaan tussen kennis in de greenports en bij publieke kennisinstellingen, producenten in de greenports en ondernemers in potentiële toepassingsmarkten binnen en buiten de greenports. Daarbij staat voor ogen het organiseren van een jaarconferentie in samenwerking met E,L&I, een kenniscongres in samenwerking met de kennisinstellingen, invitational conferences over specifieke thema's en deelname aan (inter) nationale vakbeurzen, bedoeld om de brug te slaan tussen vraag, aanbod en kennis.
- **wetgeving** om blokkades weg te nemen die snelle innovatie en het verwaarden van R&D resultaten in de weg staan, respectievelijk ruimte te scheppen voor snelle marktintroductie van kansrijke toepassingen (experimenteer ruimte, trials in gecontroleerde omgevingen). Daarbij wordt samenwerking gezocht met gelijkgerichte initiatieven bij Food & Nutrition Delta, Innovatieplatform en andere op innovatie gerichte initiatieven.

Voor deze hoofdactiviteiten is het leeuwendeel van de begroting van het Kenniscentrum bestemd (85%) met ondersteunende activiteiten voor de organisatie van het centrum (bestuur, directie, facilitaire kosten, financiële verantwoording), totaal omstreeks 15% van de begroting.

Hoofdstuk 3.1.5 Resultaten Stichting Kenniscentrum Plantenstoffen

De kwantitatieve doelen van het Kenniscentrum Plantenstoffen zijn hiervoor vermeld onder *1, wat wil het Kenniscentrum bereiken*. Daarin staat beschreven wat het Kenniscentrum teweeg wil brengen in de markt (vraag en aanbod), welke R&D inspanningen worden gegenereerd, welke aantallen coalities tot stand komen, om hoeveel arbeidsplaatsen het gaat en welke vervolginvesteringen. Deze doelstellingen vormen de aanleiding voor de sector en de ondernemers om in het Kenniscentrum Plantenstoffen te investeren. Daarbij is een helder onderscheid nodig tussen het Kenniscentrum Plantenstoffen zelf, dat coalities en R&D aanjaagt, en de afzonderlijke, door ketencoalities bestuurde, uitgevoerde en gefinancierde projecten. De combinatie van beide (het Kenniscentrum Plantenstoffen en de projecten) is nodig om de gestelde doelen te bereiken.

De zichtbare resultaten van het Kenniscentrum Plantenstoffen zelf over de looptijd van 4 jaar zijn:

- 10 ketencoalities voor innovatieprojecten met omstreeks 15 ondersteunende R&D activiteiten, met een totaal budget van € 10 mln over de looptijd.
- Viertal jaarlijkse conferenties/marktplaatsen/beurzen, in samenwerking met het Ministerie van LNV (programmadirectie inhoudsstoffen)

- Viertal kenniscongressen (specifieke markt- en kennisgerichte thema's), om kennis te delen en kansen op te sporen.
- Vertegenwoordiging op 10 (inter)nationale congressen/beurzen
- jaarlijkse scans van markten, technologie en kennis voor toepassing, analyse, extractie en verwerking van plantenstoffen
- identificatie van blokkades in de wet- en regelgeving, maatregelen voor de oplossing daarvan en initiatieven voor wet- en regelgeving die bijdraagt aan vereiste versnelling van innovatie.

Het bijeenbrengen van ketencoalities, organiseren van projectplannen en financiering en het initiëren van innovatieprojecten met ondersteunende R&D vormen de kernresultaten van het Kenniscentrum Plantenstoffen. Jaarconferenties, kenniscongressen, deelname aan vakbeurzen en scans van markten, technologie en kennis en maatregelen in de wetgeving zijn daaraan ondersteunend. Als de weg geblokkeerd lijkt door wet- en regelgeving of onbekendheid met inzichten in de kenniswereld komt de markt niet op gang. Het Kenniscentrum heeft als overkoepelend resultaat doorbraak voor de markt van plantenstoffen in alle schakels van de keten: afzetmarkten (start-ups, gevestigde bedrijven), teeltbedrijven (plantenresten, nieuwe teelten), vermeerderaars en veredelaars (nieuwe productlijnen).

Hoofdstuk 3.1.6 Lange termijn effecten Stichting Kenniscentrum Plantenstoffen

Op lange termijn moet het Kenniscentrum Plantenstoffen bijdragen aan een doorbraak voor

- Verwaarden van werkzame stoffen uit plantenresten, productresten en specifiek geteelde en/of veredelde producten in de greenports
- Versterken van kennisintensieve teelten in de greenport en het verwaarden van de kennis van producten en teelttechnologie
- Verwaarden van de kennis van veredeling door toepassing daarvan voor nieuwe markten en producten.
- Verduurzamen van de greenports door vierkantsverwaardiging van reststromen (alles krijgt waarde, verschil tussen product- en reststroom wordt arbitrair).
- Verduurzamen van greenports door toepassing van natuurlijke bemestings-, beschermings- en bestrijdingsmiddelen (cradle-to-cradle).
- Ontwikkelen van nieuwe verdien capaciteit voor de verschillende schakels in de keten (toepassing, teelt, vermeerdering, veredeling) met hoogwaardige, kennisintensieve producten.

Op lange termijn moeten de greenports zich ontwikkelen tot productie, research en development centrum voor natuurlijke ingrediënten met industriële, gecontroleerde teelten.

Hoofdstuk 3.2 Communicatie

Hoofdstuk 3.2.1 Communicatieplan

In een nieuwe vraaggestuurde markt is communicatie van groot belang. Hiervoor wordt gebruikt gemaakt van de modernste communicatiemiddelen. Uit gesprekken met bedrijven die wij in het kader van ketenvorming hebben bezocht is vastgesteld dat duidelijk communicatie van het grootse belang is en dat contact op individuniveau essentieel is. Voor producten van hoge kwaliteit is het van groot belang, dat "Total quality control" wordt geïmplementeerd waarvoor intensieve samenwerking tussen alle in het project betrokken sectoren van producent tot afnemer noodzakelijk is.

Via het kenniscentrum worden de ervaringen uit de pilots gedeeld met andere geïnteresseerde partijen, wat resulteert in nieuwe ketens voor nieuwe innovatieve producten en valorisatie van kennis waarborgt.

De kennisoverdracht binnen de sector wordt gewaarborgd doordat verschillende bedrijven en instituten binnen de sector en de keten vertegenwoordigd zijn in het project (Anthos, KAVB, Stiverbol, Productschap Tuinbouw).

Alle media zijn en zullen worden benut voor een optimale communicatie : zoals

- nieuwsbrief
- website
- workshops (symposia)
- artikelen in de vakbladen

Om met de aanwezige en nieuw verworven kennis potentiële gebruikers en opdrachtgevers te benaderen wordt nu een gedetailleerd communicatieplan verder uitgewerkt.

Gedurende het onderzoek hebben de in hoofdstuk 3.2.3 vermelde interviews en lezingen plaatsgevonden. De financiers zijn in deze voordrachten en interviews op evenwichtige wijze gepresenteerd.

Voor mevrouw A. Lubbe M. Sc. dienen delen van het onderzoek voor haar promotie onderzoek, dat zij medio 2012 verwacht af te ronden. Een overzichtsartikel over de internationale productieketen van natuurstoffen en medicinale planten is inmiddels afgerond en voor publicatie aan een internationaal vaktijdschrift aangeboden. Het concept van dit artikel is beschikbaar voor geïnteresseerden.

Hoofdstuk 3.2.2 Opzetten van een databank

Holland Biodiversity heeft een library met extracten van ca. 600 bolgewassen opgezet. Van elk gewas is een zogenaamd "polar" en "non-polar" extract gemaakt, dit om zoveel mogelijk inhoudstoffen te kunnen aanbieden aan een bedrijf dat geïnteresseerd is om plantenextracten te screenen voor biologisch actieve stoffen. Indien in een extract een interessante inhoudstof is gevonden en HBD wordt gevraagd meer materiaal te leveren is het van groot belang dat de herhalingslevering hetzelfde bolmateriaal weer te kunnen leveren, dat wil zeggen dezelfde cultivar en bij voorkeur ook zelfde groeiplaats. Aan het extract wordt dan ook alle noodzakelijke informatie gekoppeld zoals: plantenfamilie, genus, species naam, cultivar, datum van oogst, plaats van herkomst, grondsoort.

Voor het opnemen van een gewas in de library is een protocol opgesteld. Als onderdeel van dit project is de library verder uitgebreid met literatuur informatie en is al deze informatie, in samenwerking met een software bedrijf, in een databank ondergebracht. Dit biedt HBD de mogelijkheid om, indien gewenst, bolextracten eventueel te verkopen met een overzicht van de inhoudstoffen en mogelijke biologische activiteiten.

Hoofdstuk 3.2.3 Overzicht interviews en voordrachten

Interviews in vakbladen

Jaar	Organisatie	Artikel
2007	Veldpost	Derde dimensie geven aan gewassen
2008	Rabobank Westland	Holland Biodiversity Genomineerd voor Innovatieprijs
2008	FloraHolland	Meer dan een Bloem
2008	Schager courant	Snoep verstandig eet een bloembol
2008	Weekendkrant	Bol als geneesmiddel
2008	Leids Dagblad	Nominatie innovatieprijs voor bedrijf uit Lisse
2008	Vara Radio	Kassa
2008	Radio groene hart	Nominatie Herman Wijfelprijs
2009	Vakwerk	Bollenteelt voor Alzheimer-medicijn gloort
2009	Duin en Bollenstreek	Narcis helpt bij onderzoek Alzheimer
2009	Farma Magazine	De plant; een chemische fabriek?
2009	Vakblad bloemisterij	Inhoudstoffen
2010	Agrarisch dagblad	Bloembollen als wapen tegen de ziekte Alzheimer
2010	Veld Post	Toen & Nu

Voordrachten

Jaar	Organisatie	Doel
2008	Bollen symposium:	Bioprospecting: exploring our only renewable natural resource
2008	Jaar congres KNMP	Systeem biologie en Medicinale planten: een perfecte holistische match
2008	Rabobank Hillegom	Voortgangsrapportage
2009	Green Port, Berkel Rodenrijs	Pecunia: van Petunia naar Salvia of Artemisia
2009	Phytopharm 2009, Bonn, Duitsland	Botanicals and systems biology, a perfect holistic match.
2009	Productschap Tuinbouw	Biobased
2009	Alzheimer Nederland	Actie Narcissen veiling voor Alzheimer
2009	probus Hillegom	Probus leden
2009	Bioscience park Leiden	Gemeente Hillegom
2009	Gemeente Westland	Westland Invent

2010	Campina, Deventer	Do negative results exist?
2010	Nijmegen, Science cafe	Planten, gezondheid, cultuur en (on)geloof
2010	Dies Universiteit Leiden	Plants and health, a complex relation
2010	Firmenich, Geneva	Metabolomics and Systems biology: gateway to novel Discoveries
2010	Bioscience park Leiden	Systems biology and traditional knowledge: gateway to novel discoveries
2010	Bestfresh Group, Poeldijk	Bioprospecting; Some food for thought and discussion
2010	World Congress on Chinese medicine, Den Haag:	Traditional Chinese Medicine: now or never!
2010	Kennisalliantie ZH	Hortifair

Overig

Jaar Organisatie

2008	Herman Wijfelprijs
2010	Hillenraad top 15 innoverende bedrijven

Doel

genomineerd
plaats 4

Literatuur

- Baricevic, D., A. Umek, S. Kreft, B. Maticic and A. Zupancic, 1999. Effect of water stress and nitrogen fertilization on the content of hyoscyamine and scopolamine in the roots of deadly nightshade (*Atropa belladonna*). **Environmental and Experimental Botany** 42, 17–24.
- Eriksson L., E. Johansson, N. Kettaneh-Wold, en S. Wold, 2001. Multi- and Megavariate Data Analysis. Principles and Applications. ISBN 91-973730-1-X, Umetrics Publisher.
- Lubbe A., B. Pomahacova, Y.H. Choi, and R. Verpoorte (2010) Analysis of metabolic variation and galanthamine content in *Narcissus* bulbs by ¹HNMR. **Phytochemical Analysis**, 21, 66-72
- Lubbe A., and Robert Verpoorte. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials, submitted for publication
- Mustafa N.K., I. K. Rhee and R. Verpoorte (2003) Rapid method for determination of galanthamine in Amaryllidaceae plants using high performance liquid chromatography. **Journal Liquid Chromatography & Related Technologies** 26, 3217-3224
- Sreevalli, Y., R.N. Kulkarni, K. Baskaran en R.S. Chandrashekara, 2004. Increasing the content of leaf and root alkaloids of high alkaloid content mutants of periwinkle through nitrogen fertilization. **Industrial Crops and Products** 19, 191–195.

Bijlage 1

HPLC analysis of galanthamine

For routine analysis of galanthamine in *Narcissus* bulbs, the high performance liquid chromatography (HPLC) method of Mustafa et al. (2003, *J Liq Chromatogr Relat Tech* **26**: 3217–3233) was used. Samples were prepared by grinding the bulbs to a fine powder in liquid nitrogen, and freeze-drying the ground material. The freeze-dried material (200 mg) was extracted with 10 mL of an acidic water solution (0.1% trifluoroacetic acid). The acidic water solution was collected, and centrifuged to remove any solid particles. The centrifuged extract was collected and 20 µl injected into the HPLC. Detection and quantitative analysis was performed at a wavelength of 210 nm, by comparing to a commercially available galanthamine analytical standard.

Bijlage 2

CONSORTIUM OVEREENKOMST

DE ONDERGETEKENDEN:

1. **Leenen Innovation BV**, een rechtspersoon ingevolge boek 2 van het Burgerlijk Wetboek, gevestigd te Sassenheim, , kantoorhoudende aan de Rijksstraatweg 58, 2171 AM te Sassenheim, hierna te noemen: "**Leenen**";
2. **Ludwig & Co. BV**, een rechtspersoon ingevolge boek 2 van het Burgerlijk Wetboek, gevestigd te Lisse, , kantoorhoudende aan de Middenweg 13, 2161 LR te Lisse hierna te noemen: "**Ludwig**";
3. **Fa. Veul**, een rechtspersoon ingevolge boek 2 van het Burgerlijk Wetboek, gevestigd te Anna Paulowna, kantoorhoudende aan de Boermansweg 28A, 1761 LL te Anna Paulowna hierna te noemen: "**Veul**";
4. **Holland Biodiversiteit B.V.**, een rechtspersoon ingevolge boek 2 van het Burgerlijk Wetboek, gevestigd te Lisse, kantoorhoudende aan de Middenweg 13, 2161 LR te Lisse hierna te noemen: "**HBD**";
5. **Universiteit Leiden, het Institute of Biology Leiden**, een publiekrechtelijke rechtspersoon ingevolge de Wet op het hoger onderwijs en wetenschappelijk onderzoek, statutair gevestigd te Leiden, mede kantoorhoudende aan de Einsteinweg 2, 2333 CC Leiden, hierna te noemen: "**UL**";
6. **Praktijkonderzoek Plant en Omgeving BV**, een rechtspersoon ingevolge boek 2 van het Burgerlijk Wetboek, gevestigd te Wageningen, kantoorhoudende aan de Borneosteeg 47, 6708 PD, hierna te noemen "**PPO**"

De partijen genoemd onder 5 en 6 hierna te noemen "Academische Partijen", de partijen genoemd onder 1, 2, 3 en 4 hierna te noemen "Industriële Partijen" en de partijen genoemd onder 1, 2, 3, 4, 5 en 6 worden hierna elk aangeduid als een "**Partij**" en gezamenlijk als "**Partijen**".

OVERWEGENDE DAT:

- (A) De Partijen genoemd onder 1, 2 en 3 van de aanhef gezamenlijk een onderzoeksvoorstel hebben ingediend bij het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Voedselkwaliteit genaamd "*Inhoudstoffen Bloembolgewassen, de basis voor een innovatieve keten*", waarin aan de hand van een casestudy naar galanthamine in narcis een model tot stand zal worden gebracht voor de koppeling van nieuwe markten aan plantproducenten, waardoor nieuwe businessconcepten kunnen worden gecreëerd. Tevens zal een kenniscentrum inhoudstoffen worden gecreëerd dat als spin-off in andere gewassen zal fungeren. De Partijen die aan het project deelnemen zijn complementair voor de uitvoering van het onderzoek;
- (B) Het onderzoeksvoorstel werd ingediend met als doel in aanmerking te komen voor een subsidie in het kader van het initiatief van het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Voedselkwaliteit genaamd "Samenwerking bij innovatie projecten";
- (C) Het ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Voedselkwaliteit heeft de aanvraag tot subsidie gehonoreerd op 19 november 2007 onder nummer 201343338;
- (D) Partijen wensen de verplichtingen die zij jegens elkaar aangaan in verband met de uitvoering van het onderzoek zoals vastgelegd in het onderzoeksvoorstel vast te leggen in de overeenkomst;

VERKLAREN ALS VOLGT TE ZIJN OVEREENGEKOMEN:

1 **Definities**

- 1.1 In het kader van deze overeenkomst zullen de navolgende begrippen de volgende betekenis hebben. Het meervoud van die begrippen omvat tevens het enkelvoud en het enkelvoud tevens het meervoud:

"Background IP": alle Know-How en rechten van Intellectuele Eigendom die aan een Partij toekomen ten tijde van het aangaan van de Samenwerkingsovereenkomst of die buiten het Project ten tijde van de uitvoering van het Project door een Partij worden gegenereerd en die door die Partij voor de uitvoering van het Project ter beschikking worden gesteld, voor zover die noodzakelijk zijn voor de uitvoering van het Project.

"Effectieve Datum": de datum vermeld in artikel 2.2.

"Eigenaar": de eigenaar van bepaalde Resultaten zoals voortvloeit uit artikel 6.1.

"Intellectuele Eigendomsrechten": industriële eigendomsrechten, auteursrecht en naburige rechten, kwekersrechten etc.

"Know How": het geheel van niet-geoctrooieerde praktische informatie voortvloeiend uit ervaring en onderzoek, die wezenlijk, geïdentificeerd en niet algemeen bekend of gemakkelijk verkrijgbaar is;

"Project" het te verrichte onderzoek als beschreven in het Projectplan;

"Projectbegroting": de begroting van het Project welke is opgenomen als bijlage 2 bij deze Samenwerkingsovereenkomst.

"Projectcoördinator": de Partij ingevolge artikel 5 aangewezen als Projectcoördinator en met de taken en bevoegdheden als genoemd in artikel 5.

"Projectplan": de beschrijving van de onderzoeksactiviteiten welke is opgenomen als bijlage 1 bij deze Samenwerkingsovereenkomst.

"Resultaten": alle resultaten gegenereerd in de uitvoering van het Projectplan, waaronder mede dienen te worden begrepen uitsluitend als onderdeel van het Projectplan ontwikkelde Know How en technologieën of nieuwe toepassingen, al dan niet beschermd door middel van Intellectuele Eigendomsrechten.

"Samenwerkingsovereenkomst": deze samenwerkingsovereenkomst en de bijlagen daarbij.

"Stuurgroep": de Stuurgroep van het Project met de samenstelling, taken en bevoegdheden zoals beschreven in artikel 4.

"Vertrouwelijke Informatie": alle informatie omtrent Background IP, Resultaten en (bedrijfs)informatie over een andere Partij, welke gedurende de duur van deze Samenwerkingsovereenkomst en in het kader van het Project door een Partij wordt verkregen

2 Doel van de samenwerking, Effectieve Datum

2.1 Partijen wensen samen te werken teneinde het onderzoek te verrichten als beschreven in het Projectplan met de titel: *"Inhoudstoffen Bloembolgewassen, de basis voor een innovatieve keten"*. Partijen verbinden zich het Project, voor het aan ieder van hen in het Projectplan opgedragen deel van de activiteiten, uit te voeren overeenkomstig het Projectplan.

2.2 De geplande startdatum voor het Project is 1 september 2007 (de **"Effectieve Datum"**).

3 Kosten

Het budget voor het Project is opgenomen in de Projectbegroting. Partijen zullen aan het Project de (financiële) bijdrage leveren die in de Projectbegroting bij hun naam is vermeld. Ieder van Partijen draagt de door haarzelf gemaakte kosten die niet zijn opgenomen in de Projectbegroting.

4 De Stuurgroep

- 1.1 Het Project zal worden uitgevoerd onder leiding van een door Partijen in te stellen Stuurgroep, welke zal bestaan uit een gelijk aantal vertegenwoordigers van ieder der partijen
- 1.2 De Stuurgroep zal toezicht houden op de voortgang van de activiteiten binnen het Project en zal voorts zorg dragen voor de coördinatie van de financiële verslaglegging van het Project.
- 1.3 De Stuurgroep zal elke [zes] ([6]) maanden bijeenkomen om de voortgang van het Project te bespreken.
- 1.4 De Stuurgroep kiest uit haar midden een voorzitter met uitzondering van de projectcoördinator

2 De Projectcoördinator

- 2.1 Als Projectcoördinator voor het Project zal optreden HBD.
- 2.2 De taken van de Projectcoördinator zijn:
 - 2.2.1 het notuleren van de vergaderingen van de Stuurgroep;
 - 2.2.2 het toezien op en bevorderen van de naleving van het in het Projectplan opgenomen werkprogramma en de in de Stuurgroep genomen besluiten;
 - 2.2.3 het verzorgen van berichten en rapportages aan de Stuurgroep en Partijen als beschreven in artikel 4

3 De Projectgroep

- 3.1 De Projectgroep is verantwoordelijk voor de rapportage aan de Stuurgroep over de voortgang van het project. Haar activiteiten bestaan uit:
 - 3.1.1 Bewaking van de onderlinge afstemming van alle inhoudelijke activiteiten van het project
 - 3.1.2 Verantwoordelijk voor de voorbereiding en uitvoering van besluitvorming in de Stuurgroep, door het verstrekken van de nodige informatie aan de Projectcoördinator benodigd voor het opstellen van de berichten en rapportages aan de Stuurgroep en Partijen als beschreven in artikel 4;

4 Berichten en rapportage

De Projectcoördinator zal er voor zorg dragen dat de Stuurgroep tenminste vijftien (15) dagen voor de datum van elk van de bijeenkomsten als bedoeld in artikel 1.3 schriftelijk wordt geïnformeerd omtrent de stand van zaken, voortgang van het Project en ten aanzien van eventuele Resultaten. Voorts zal de Projectcoördinator op redelijk verzoek van Partijen naar beste vermogen inlichtingen verschaffen met betrekking tot specifieke vraagpunten, sturing en ontwikkeling ter zake het Project.

5 Background IP

- 5.1 Gedurende de uitvoering van het Project verleent elke Partij de andere Partijen een niet-exclusieve, niet overdraagbare licentie om de Background IP die zij wenst in te brengen in het Project te gebruiken uitsluitend indien en voor zover dat ten behoeve van de uitvoering van het Project noodzakelijk is en zonder het recht sublicenties te verlenen.
- 5.2 De beschikkingsbevoegdheid van de eigenaar van Background IP wordt door deze Samenwerkingsovereenkomst en de uitvoering daarvan onverlet gelaten met dien verstande dat de beschikbaarheid van de Background IP voor de uitvoering van het Project dient te worden gewaarborgd.

6 Resultaten

- 6.1 Een Academische Partij is, met uitsluiting van alle andere Partijen, eigenaar van de Resultaten welke zijzelf heeft gegenereerd in het kader van het Project. Resultaten (gedeeltelijk) gegenereerd door de Industriële Partijen worden hierbij voor alsdan (voor dat deel) in eigendom overgedragen aan HBD en de Industriële Partijen garanderen mee te werken aan al hetgeen nodig is voor een dergelijke overdracht. Indien de uitvoering van het Project leidt tot een gezamenlijke eigendom van Resultaten, zullen Partijen ieder voor een gelijk onverdeeld aandeel tot die Resultaten zijn gerechtigd, tenzij partijen dat onderling anders vaststellen, waarbij ervan uit wordt gegaan dat HBD eigenaar is geworden van alle Resultaten gegenereerd door de Industriële Partijen. De Partij waaraan de Resultaten toebehoren verkrijgt ook de Intellectuele Eigendomsrechten hierop, zoals beschreven in de artikelen **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.** en **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden..**
- 6.2 De Academische Partijen krijgen om niet een wereldwijde, niet-exclusieve, onherroepelijke licentie om de Resultaten te gebruiken voor al hun toekomstige opleidings- en onderzoeksactiviteiten, al dan niet met derde partijen.
- 6.3 Partijen krijgen op de Resultaten een niet-exclusieve, niet overdraagbare licentie, zonder het recht sublicenties te verlenen, indien en voor zover die ten behoeve van de uitvoering van het Project noodzakelijk is.
- 6.4 Met uitzondering van hetgeen is bepaald in de artikelen 6.2 en 6.3 van deze Samenwerkingsovereenkomst, zijn de Eigenaar of enige andere Partij slechts gerechtigd de Resultaten te gebruiken, te exploiteren of daarop licenties te verlenen, nadat de procedure zoals voorgeschreven in deze Samenwerkingsovereenkomst is nageleefd.
- 6.5 De Eigenaar zal Partijen binnen een redelijke termijn op de hoogte stellen van door haar gegenereerde Resultaten in de vorm van schriftelijke rapportages.
- 6.6 Indien een of meerdere Partijen geïnteresseerd zijn de Resultaten te gebruiken, dienen zij dat binnen 45 dagen nadat de Eigenaar de schriftelijke rapportage heeft rondgestuurd, aan te geven aan die Eigenaar. Indien een of meerdere Partijen aangeven in het gebruik van de Resultaten geïnteresseerd te zijn zullen de geïnteresseerde partijen en de Eigenaar met elkaar in onderhandeling treden over de toe te kennen gebruiksrechten. Deze onderhandelingen worden geleid door de Eigenaar, tenzij de Eigenaar zelf een gebruiksrecht wenst te verkrijgen. In dat geval worden de onderhandelingen geleid door een door partijen in onderling overleg aan te wijzen persoon. Exploitatierechten in welke vorm dan ook (e.g. in de vorm van gebruiksrechten of het recht licenties aan derden te verstrekken) zullen worden verstrekt op marktconforme condities, waarbij rekening wordt gehouden met de relatieve in cash en in kind bijdrage aan het Project van de verkrijger van de licentie.
- 6.7 Indien (a) geen enkele Partij binnen 45 dagen na de schriftelijke rapportage van de Eigenaar over de Resultaten heeft aangegeven geïnteresseerd te zijn in een gebruiksrecht als beschreven in artikel 8.6, of (b) binnen 4 maanden nadat de bovengenoemde termijn van 45 dagen is verstreken geen overeenstemming is bereikt over de te verstrekken gebruiksrechten aan geïnteresseerde partijen en de voorwaarden daarvan, staat het de eigenaar vrij gebruiksrechten te verstrekken aan partijen buiten het Project.
- 6.8 De opbrengsten uit het verstrekken van gebruiksrechten op Resultaten, bestaande uit alle inkomsten daaruit minus de daadwerkelijk kosten die daartoe zijn gemaakt, zullen op de volgende wijze worden verdeeld tussen de Partijen:
40% voor de Eigenaar(en) en 60% voor de Academische Partijen. Deze 60% te verdelen tussen hen naar rato van hun relatieve bijdrage aan het Project
- 6.9 Indien de uitvoering van het Project leidt tot octrooieerbare of anderszins door Intellectuele Eigendomsrechten te beschermen Resultaten, heeft/hebben de Partij(en) die de betreffende Resultaten in eigendom heeft/hebben op grond van artikel . 9.1 het recht op eigen naam en voor eigen rekening octrooi of een ander Intellectueel Eigendomsrecht aan te vragen.
- 6.10 Indien een van de andere Partijen geïnteresseerd is in een gebruiksrecht op het Resultaat, kan hij in onderling overleg met de Eigenaar afspraken maken over een octrooiaanvraag. De Eigenaar zal geen

octrooiaanvraag weigeren, indien de Partij die in (gebruik van) het octrooi geïnteresseerd is de kosten zal dragen voor de aanvraag en het onderhoud van een dergelijk octrooi. Dit recht geldt slechts gedurende de periode van 4 maanden genoemd in artikel 6.7 sub b.

7 Publicatie van Resultaten

Partijen mogen publiceren over de Resultaten en anderen toestaan daarover te publiceren in welke vorm dan ook. Echter, indien een Partij over Resultaten wil (laten) publiceren of anderszins informatie daarover publiek wil (laten) maken, zal deze het concept voor deze publicatie of die andere openbaarmaking schriftelijk aan de Projectcoördinator voorleggen uiterlijk dertig (30) dagen voor de datum van de voorgenomen publicatie of openbaarmaking. Op eerste schriftelijk verzoek van een Projectcoördinator aan de Partij die de publicatie of openbaarmaking wenst te doen, zal die Partij (i) de publicatie of openbaarmaking uitstellen voor de in het verzoek aangegeven periode, die niet langer dan drie (3) maanden zal zijn, indien, naar de redelijke mening van de verzoekende Partij, uitstel noodzakelijk is om de Resultaten te kunnen beschermen door middel van een Intellectueel Eigendomsrecht of anderszins, en (ii) in de publicatie opgenomen Vertrouwelijke Informatie van een Partij, in onderling overleg met die Partij, daaruit verwijderen. Indien de Partij, die wenst te publiceren niet een dergelijk verzoek heeft ontvangen binnen drie (3) weken nadat het concept voor de publicatie of openbaarmaking aan de Projectcoördinator is verzonden, is deze vrij om tot publicatie dan wel openbaarmaking over te gaan in de vorm als aan de andere Partij in concept voorgelegd.

8 Geheimhouding

- 8.1 Partijen komen overeen dat alle Vertrouwelijke Informatie vertrouwelijk zal zijn en door de ontvangende Partij niet zal worden gebruikt noch worden geopenbaard aan derden zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de betreffende andere Partij(en). De term Vertrouwelijke Informatie omvat ook informatie omtrent Resultaten. De publicatie van Resultaten wordt geregeld in artikel 7. Indien de procedure uit artikel 7 wordt gevolgd is bij openbaarmaking van Resultaten geen sprake van het schending van dit artikel 8.
- 8.2 De verplichting tot geheimhouding als in voorgaand artikel gesteld, is niet van toepassing op informatie waarvan een Partij kan aantonen dat zij:
 - a. daarover reeds beschikte voor aanvang van het Project of die zelfstandig is ontwikkeld zonder gebruik te maken van Vertrouwelijke Informatie, zoals door schriftelijke stukken bewezen; of
 - b. al publiekelijk bekend was ten tijde van de openbaarmaking; of
 - c. rechtmatig is verkregen van een derde die niet gebonden was aan een geheimhoudingsplicht ten aanzien van die informatie; of
 - d. publiekelijk bekend is of is geraakt buiten toedoen van de betrokken Partij;
 - e. deze heeft moeten openbaren in het kader van bescherming van intellectuele eigendomsrechten ten aanzien van Resultaten waartoe de Partij gerechtigd was; of
 - f. deze dient te openbaren op bevel van een rechterlijke instantie, administratief orgaan dan wel een overheidsinstelling, met dien verstande dat de betrokken Partij de andere Partij daarvan onverwijld in kennis stelt opdat die Partij in de gelegenheid wordt gesteld om hierin te interveniëren en mogelijkerwijs de openbaring te voorkomen.
- 8.3 Iedere Partij zal de Vertrouwelijke Informatie op dezelfde manier en met dezelfde zorg behandelen en beschermen als zij haar eigen Vertrouwelijke Informatie behandelt en beschermt.
- 8.4 Partijen verplichten zich de kring van medewerkers die in verband met (de voorbereiding en/of uitvoering van) het Project toegang tot de Vertrouwelijke Informatie dienen te verkrijgen zo beperkt mogelijk te houden en de verplichtingen ten aanzien van geheimhouding en gebruik ingevolge dit artikel 8 op dezelfde wijze op te leggen aan die medewerkers. Elk van Partijen is aansprakelijk voor een toerekenbare tekortkoming in de nakoming van hun verplichtingen ingevolge dit artikel 8 door hun medewerkers.
- 8.5 Indien een Partij ten behoeve van het Project gebruik maakt van de diensten van een derde, zal zij ervoor zorg dragen dat deze derde zich verbindt tot ten aanzien van geheimhouding en gebruik

ingevolge dit artikel 8 voordat deze derde met zijn activiteiten start en/of voordat aan die derde Vertrouwelijke Informatie omtrent het Project ter beschikking wordt gesteld.

- 8.6 Ongeacht de bepalingen omtrent beëindiging of het einde van de Samenwerkingsovereenkomst, zullen alle rechten en plichten ingevolge dit artikel 8 blijven bestaan ten aanzien van Vertrouwelijke Informatie.

9 Duur en beëindiging van de Samenwerkingsovereenkomst

- 9.1 Deze Samenwerkingsovereenkomst is aangegaan voor de duur van 4 jaar en 3 maanden te rekenen vanaf de Effectieve Datum. Deze Samenwerkingsovereenkomst eindigt derhalve van rechtswege op 31 december 2011, tenzij de overeenkomst door Partijen voor die datum door een schriftelijke overeenkomst en voor een daarin te vermelden termijn wordt voortgezet.
- 9.1 Deze Samenwerkingsovereenkomst kan jegens een Partij door de andere Partij worden opgezegd, onverminderd het recht tot schadevergoeding, in het geval dat:
- a. de betreffende Partij na schriftelijke sommatie door de andere Partij gedurende een periode van vier (4) weken ernstig toerekenbaar tekortschiet in de nakoming van enige verbintenis voortvloeiende uit deze Samenwerkingsovereenkomst; en/of
 - b. de betreffende Partij in surséance dan wel in staat van faillissement wordt verklaard.
- 9.3 In geval van beëindiging zal een Partij ten aanzien waarvan de Samenwerkingsovereenkomst eindigt gehouden blijven tot het verschaffen van toegang tot Background IP voor zover dat voor het voltooiën van het Project noodzakelijk is.

10 Aansprakelijkheid

- 10.1 De aansprakelijkheid van een Partij voor schade op enigerlei wijze verband houdend met (dan wel veroorzaakt door een fout in) de uitvoering van werkzaamheden uit hoofde van deze Samenwerkingsovereenkomst is uitgesloten, tenzij het schadebrengende feit wordt gedekt door een aansprakelijkheidsverzekering van de betreffende Partij, in welk geval de aansprakelijkheid is beperkt tot het door die aansprakelijkheidsverzekering uit te betalen bedrag. Een Partij is nimmer aansprakelijk voor indirecte schade en/of gevolgschade.
- 10.2 Een Partij is niet aansprakelijk voor schade welke voortvloeit uit het gebruik van informatie, Background IP en/of de Resultaten door de andere Partij, tenzij sprake is van opzet of grove schuld.
- 10.3 Partijen vrijwaren elkaar tegen aanspraken van derden uit hoofde van door deze derden geleden schade voortvloeiende uit de uitvoering van de Samenwerkingsovereenkomst, tenzij sprake is van opzet of grove schuld aan de zijde van een Partij die de vrijwaring inroept.
- 10.4 Partijen kunnen in onderling overleg gedurende en in verband met het Project materialen aan elkaar ter beschikking stellen. De Partij die deze materialen ter beschikking stelt, behoudt de eigendomsrechten hierop, is niet aansprakelijk voor enige schade voortvloeiend uit het gebruik van die materialen en geeft geen garanties ten aanzien van de gebruiksmogelijkheden en de geschiktheid van deze materialen, evenmin is deze Partij aansprakelijk voor mogelijke inbreuken op Intellectuele Eigendomsrechten. Partijen komen overeen dat zij het aan hen door een andere Partij ter beschikking gestelde materiaal slechts zullen gebruiken voor gebruik in het Project. Partijen zullen het voor gebruik in het Project aan hen ter beschikking gestelde materiaal niet aan derden verstrekken of door hen doen gebruiken.

11 Overdraagbaarheid

De Samenwerkingsovereenkomst en de rechten en plichten zoals vastgelegd in deze Samenwerkingsovereenkomst zijn niet overdraagbaar door een Partij zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de andere Partij.

12 Nietigheid van enige bepaling tast de overeenkomst niet aan

Ingeval een of meer bepalingen van deze Samenwerkingsovereenkomst door de daartoe bevoegde rechter nietig of vernietigbaar wordt/worden geacht, blijven de overige bepalingen van deze Samenwerkingsovereenkomst onverkort van kracht. De betreffende bepaling zal door Partijen c.q. de rechter worden vervangen door een bepaling die zoveel mogelijk hetgeen met de oorspronkelijke bepaling werd beoogd zal benaderen.

13 Mededelingen

- 13.1 Alle correspondentie, nota's en alle andere rapportage zoals vereist of toegestaan onder deze Samenwerkingsovereenkomst zal door Partijen en de Projectcoördinator aan de hierboven vermelde adressen worden gestuurd.

14 Rechts- en forumkeuze

- 14.1 Op deze Samenwerkingsovereenkomst is uitsluitend Nederlands recht van toepassing.
- 14.2 Alle geschillen voortvloeiende uit deze Samenwerkingsovereenkomst dan wel verband houdend met de uitvoering van deze Samenwerkingsovereenkomst zullen in eerste aanleg bij uitsluiting worden beslecht door de daartoe bevoegde rechter te 's-Gravenhage.

15 Overige bepalingen

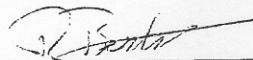
- 15.1 Wijziging en/of aanvulling van deze Samenwerkingsovereenkomst is slechts mogelijk bij nadere, schriftelijke overeenkomst.
- 15.2 Deze overeenkomst bevat alle afspraken die Partijen over de in deze overeenkomst behandelde onderwerpen hebben gemaakt en treedt in de plaats van alle eerdere schriftelijke en mondelinge afspraken welke partijen ter zake hebben gemaakt.
- 15.3 Ieder van Partijen draagt zijn eigen kosten in verband met de totstandkoming van deze overeenkomst.
- 15.4 Partijen doen over en weer afstand van het recht ontbinding of vernietiging van deze overeenkomst buiten rechte in te roepen of in rechte te vorderen.

Aldus overeengekomen en getekend in tweevoud

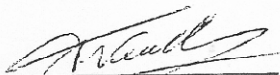
Aldus overeengekomen en getekend in zesvoud.



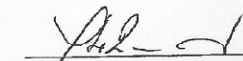
door: Leenen Innovation B.V.
titel:
datum:



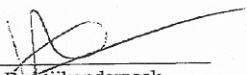
door: Ludwig & Co B.V.
titel:
datum: 27/4/09



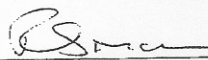
door: Fa. Veuf B.V.
titel:
datum:



door: Holland Biodiversity B.V.
titel: Driedaars
datum: 27-04-2009



door: Praktijkonderzoek
Plant & Omgeving B.V.
titel: Prof. dr. R. J. Bino
datum: Algemeen directeur
26.03.2009



door: Universiteit Leiden
titel:
datum: