

BRUINE WORTELS IN TULP

Praktijkoplossingen

Onderzoek naar de mogelijkheden van de toepassing van anti-oxidanten en PVPP tegen het ontstaan van bruine wortels bij tulp

ing. M.F.N. van Dam en Dr. H. Gude

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Bloembollen en bolbloemen
Oktober 2006
PPO nr. 360114

© 2006 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

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

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



Projectnummer: PPO 360114

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Sector bloembollen en bolbloemen

Adres : Prof. van Slogterenweg 2, Lisse

: Postbus 85, 2160 AB Lisse

Tel. : 0252 – 46 21 21

Fax : 0252 – 46 21 00

E-mail : infobollen.ppo@wur.nl

Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	5
1 INLEIDING	7
2 MATERIAAL EN METHODE	9
2.1 Controle van de gebruikte partijen op bruinverkleuring	9
2.2 Anti-oxidanten	9
2.3 PVPP	9
3 RESULTAAT.....	11
3.1 Controle van de gebruikte partijen op bruinverkleuring	11
3.2 Anti-oxidanten	11
3.3 PVPP	14
3.3.1 Kasproeven	14
3.3.2 Praktijkproef met PVPP	14
4 CONCLUSIES EN DISCUSSIE	17
5 KENNISOVERDRACHT.	19

Samenvatting

Bij de broei van tulpen op water doet zich het verschijnsel voor dat wortels bruin verkleuren en te kort worden. Dit leidt tot kwaliteitsverlies van de tulpen.

Er is in eerder onderzoek aangetoond dat fenolen uit de bolhuid een oxidatiereactie aangaan onder invloed van enzymen uit de wortels (polyfenoloxidase). Hierbij komen polyfenolen en chinonen vrij die een bruine neerslag en de bijbehorende groeiremming van de wortels veroorzaken. In dit onderzoek kwam naar voren dat anti-oxidanten perspectiefvol lijken om het proces tot staan te brengen. Ook is gewerkt met de fenolvanger polyvinylpyrrolidone (PVPP) waarmee fenolen kunnen worden vastgelegd zodat de oxidatiereactie niet kan plaatsvinden. Ook deze stof leek perspectiefvol.

In dit vervolgonderzoek werd de praktische toepassing van anti-oxidanten (citroenzuur en ascorbinezuur) nader beproefd. Bij gebruik van citroenzuur werd de polyfenoloxidase-activiteit geremd. Door de toevoeging daalde de pH van de voedingsoplossing echter naar pH-waarden van 3 à 4. De wortelgroei werd hierbij sterk geremd. In de verdere proeven met citroenzuur en ascorbinezuur werd de pH gecorrigeerd om deze neveneffecten te voorkomen. Bij de gekozen concentraties van de anti-oxidanten met pH-correctie trad geen verbetering op in de hoeveelheid bruine wortels. De verklaring hiervan ligt in het feit, dat de polyfenoloxidase-reactie blijkbaar voornamelijk wordt geremd doordat dit proces moeilijk verloopt bij een lage pH. Omdat wortelvorming bij tulp uiteraard een eis is zijn daarmee deze pH-verlagende anti-oxidanten ongeschikt gebleken als toepassing tegen bruine wortels in tulp.

PVPP bleek goed toepasbaar als middel tegen bruine wortels. Bruine wortels kunnen worden voorkomen door het gebruik van PVPP. Bij de toepassing van dit middel zijn bovendien geen negatieve effecten op de kwaliteit van de tulpen waargenomen. Om PVPP praktisch en met lage kosten te kunnen toepassen is een systeem met regeneratie en hergebruik nodig. Als voorschot op een verkenning van de technische mogelijkheden is de toepassing van PVPP in de bierindustrie bestudeerd.

1 Inleiding

Bij de broei van tulpen op water doet zich het verschijnsel voor dat wortels bruin verkleuren en te kort worden. Dit leidt tot kwaliteitsverlies van de tulpen. De oorzaak en het achterliggende proces van bruine wortels zijn onderzocht door PPO bloembollen in samenwerking met de Wageningen Universiteit (PPO-project 330952). Er is aangetoond dat fenolen uit de bolhuid een oxidatiereactie aangaan onder invloed van enzymen uit de wortels (polyfenoloxidase). De hierbij gevormde polyfenolen en chinonen veroorzaken de bruine neerslag en de bijbehorende groeiremming van de wortels. Uit dit voorgaande onderzoek kwam verder naar voren dat anti-oxidanten perspectiefvol lijken om het proces tot staan te brengen. Ook is gewerkt met de fenolvanger polyvinylpyrrolidone (PVPP) waarmee fenolen kunnen worden vastgelegd zodat de oxidatiereactie niet kan plaatsvinden. Ook deze stof leek perspectiefvol.

In dit vervolgonderzoek werd de praktische toepassing van anti-oxidanten en van PVPP nader beproefd. Om de dosering te bepalen zijn concentratiereeksen van deze stoffen toegepast. Bij de proeven is er op gelet dat een toepassing in de praktijk gemakkelijk toepasbaar moet zijn met een geringe kans op problemen voor het gewas. Een oplossing voor het probleem van de bruine wortels, waarbij in principe hergebruik mogelijk is, verdient daarbij de voorkeur.

Van de proeven worden materiaal en methode beschreven in hoofdstuk 2. Resultaten worden vermeld in hoofdstuk 3. Conclusies en discussie komen aan bod in hoofdstuk 4.

PVPP wordt ook toegepast bij het klaren (helder maken) van bier. Binnen dit onderzoeksproject is overleg gevoerd met de afdeling procestechnologie van Koninklijke Grolsch NV om de mogelijkheden van de toepassing en het hergebruik van PVPP te bespreken. De resultaten van dit overleg zijn toegevoegd aan hoofdstuk 4.

2 Materiaal en methode

2.1 Controle van de gebruikte partijen op bruinverkleuring

Van twee cultivars ('Strong Gold' en 'Erna Lindgreen') zijn bollen opgeplant. Van de partij 'Strong Gold' was bekend dat deze geen bruine wortels maakte. Van de partij 'Erna Lindgreen' werd beweerd dat deze wel bruine wortels maakte. De bollen zouden in meerdere proeven worden gebruikt. Om zeker te zijn van deze beweringen ten aanzien van bruinverkleuring werden de bollen opgeplant om te bewortelen op water met en zonder eigen huid en met huiden van de andere partij.

Nr. Omschrijving

1. 'Strong Gold' met huid
2. 'Erna Lindgreen' met huid
3. 'Strong Gold' kaal gemaakt
4. 'Erna Lindgreen' kaal gemaakt
5. 'Strong Gold' met huiden van 'Erna Lindgreen'
6. 'Erna Lindgreen' met huiden van 'Strong Gold'

Na een bewortelingsperiode van ca. 1,5 week bij 5 °C werd de kleur van de wortels beoordeeld.

2.2 Anti-oxidanten

In dit deel van het onderzoek werd getoetst of met anti-oxidanten het proces van bruin worden van de wortels kon worden tegengegaan. In eerste instantie werd daarvoor citroenzuur gebruikt. Er moest ervaring worden opgedaan met de benodigde concentratie van citroenzuur. Hiertoe werden bollen van de cultivar Erna Lindgreen opgeplant (met huid) op bemest water (1,5 mS/cm) en met citroenzuur in 3 concentraties (10, 20 en 30 millimol) per liter daaraan toegevoegd. Ter controle werden dezelfde bollen ook opgeplant op water zonder citroenzuur.

Na een bewortelingsperiode van ca. 1,5 week bij 5 °C werd de kleur van de wortels beoordeeld.

Na deze proef is een tweede serie ingezet, nu met ascorbinezuur en citroenzuur. Voor deze proef werden de bollen geplant en op water gezet om te bewortelen bij 5 °C. Aan het water was toegevoegd:

- Citroenzuur in de concentraties 0,01 – 0,03 – 0,1 – 0,3 en 1 mmol/liter
- Ascorbinezuur 0,1 – 1 – en 10 mmol/liter

Na een bewortelingsperiode van ca. 1,5 week bij 5 °C werd de kleur van de wortels beoordeeld.

pH –waarden lager dan 6,5 werden opgehoogd met KOH. Bij citroenzuur moest de pH worden gecorrigeerd bij de concentraties 0,3 en 1 mmol. Bij ascorbinezuur was correctie nodig vanaf 1 mmol.

De correcties hadden niet meer dan 0,1 EC verhoging van het zoutgehalte tot gevolg.

2.3 PVPP

Bij het onderzoek dat was uitgevoerd in 2005 kwam polyvinylpyrrolidone (PVPP) naar voren als mogelijke oplossing voor problemen met bruine wortels. PVPP is in staat fenolen aan zich te binden. Zonder fenolen kan geen polyfenoloxidase-reactie plaatsvinden en zullen de wortels niet bruin verkleuren.

In een proef werden bollen van de cultivar 'Erna Lindgreen' opgeplant. Aan het water was PVPP toegevoegd in de concentraties 0,3 – 1,0 – 10,0 en 30 mmol/l.

De proef is herhaald met de cultivar 'White Dream'.

De wortels van de bollen werden beoordeeld op lengte en bruinverkleuring.

PVPP werd ook proefgewijs toegepast in de praktijk bij het bedrijf van de Firma Smak uit Wervershoof. Hier werden de concentraties 0,3 – 1,0 en 10,0 mmol/l toegepast, elk op 1 tablet (ca. 25 kisten à 110 tulpen) met diverse cultivars.

3 Resultaat

3.1 Controle van de gebruikte partijen op bruinverkleuring

In deze proef werden twee cultivars opgeplant met en zonder eigen huid en met de huid van de andere cultivar. De beoordeling van de wortelkleur na 9 dagen bewortelen is vermeld in tabel 1. Verschillen werden toen net zichtbaar. Bij 'Erna Lindgreen' met eigen huid (behandeling 2) verkleurden de wortels zichtbaar bruiner, maar niet extreem. Zonder huid en met huiden van 'Strong Gold' waren de wortels wit. De wortels van 'Strong Gold' bleven mooi wit bij de bollen met eigen huid en de kaal gemaakte bollen (foto 1). Bij behandeling 5, waar huiden van 'Erna Lindgreen' waren toegevoegd, waren de wortels lichtbruin verkleurd en iets korter dan bij behandeling 3 en 1.

Nr.	Omschrijving	Beoordeling wortelkleur
1	'Strong Gold' met huid	wit
2	'Erna Lindgreen' met huid	lichtbruin
3	'Strong Gold' kaal gemaakt	wit
4	'Erna Lindgreen' kaal gemaakt	wit
5	'Strong Gold' met huiden van 'Erna Lindgreen'	lichtbruin iets verkort
6	'Erna Lindgreen' met huiden van 'Strong Gold'	wit

Tabel 1. Kleur van de wortels van 'Erna Lindgreen' en 'Strong Gold' na 9 dagen bewortelen.



Foto 1. Bewortelde bollen van 'Strong Gold' met vlnr. huiden van 'Erna Lindgreen' (behandeling 5), eigen bolhuid (behandeling 1) en kaal gemaakte bollen (behandeling 3). In het bakje links zijn de wortels lichtbruin verkleurd en iets korter dan in de beide andere bakjes.

3.2 Anti-oxidanten

CITROENZUUR

Bij deze proef werd citroenzuur in 3 concentraties toegediend aan het water tijdens de beworteling. Na 9 dagen bewortelen werden de wortels beoordeeld op de groei en verkleuring. De resultaten staan vermeld in tabel 2. De wortels in de bakjes met citroenzuur konden door de hoge zuurgraad (lage pH) niet uitlopen. Wel viel op dat het water van deze 3 behandelingen nog mooi helder en kleurloos was. Bij de controle zonder citroenzuur was het water al bruin verkleurd (foto 2). In volgende proeven werd een minimale pH aangehouden van 4,0.

Nummer	citroenzuur (mmol / l)	pH	EC (mS/cm)	resultaat wortels en water
1	0	6,2	1,2	wortelgroei langzaam, iets bruin later bruiner dan behandelingen 2, 3 en 4
2	10	3,3	1,7	wortels groeien niet
3	20	3,1	1,9	wortels groeien niet
4	30	3	2,1	wortels groeien niet

Tabel 2. Effect van de beworteling op toediening van citroenzuur. Door de lagen pH-waarden liepen de wortels bij geen van de concentraties citroenzuur uit.

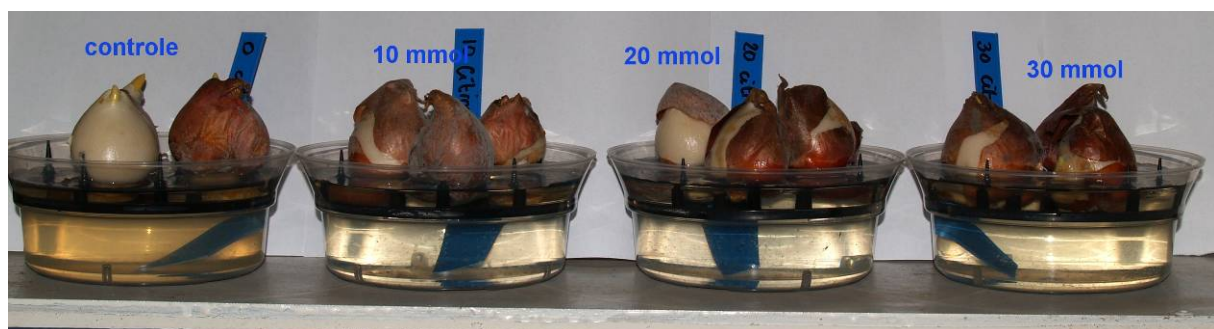


Foto 2. Resultaat na 10 dagen bewortelen in een proef met een concentratiereeks met citroenzuur. Er was nog vrij weinig wortelactiviteit te zien bij de behandelingen met citroenzuur. De bruinverkleuring werd door citroenzuur tegengegaan.

Uit de tweede proef met een reeks concentraties van citroenzuur (tabel 3 en foto 3) kwam geen beter resultaat. Er was nu wel beworteling, maar bij alle behandelingen werden de wortels bruin. De waarde voor bruinverkleuring is hier weergegeven als percentage, zijnde het gedeelte van de wortel, aan de kant van de bol, wat bruin was verkleurd.

Behandeling 1 bevatte geen citroenzuur. Hier zouden theoretisch meer bruine wortels ontstaan. Dit was echter niet het geval.



foto 3. Bij behandeling 6 met 1 mmol citroenzuur en gecorrigeerde pH werd bruinverkleuring niet voorkomen

Nr	citroenzuur	wortellengte	bruin verkleurde deel	pH na correctie met KOH
1	geen	6,5	68%	7,5
2	0.01 mmol	6	73%	7,2
3	0.03 mmol	6,5	83%	7,0
4	0.1 mmol	6,5	79%	6,5
5	0.3 mmol	6	80%	6,7
6	1 mmol	5	83%	6,8

Tabel 3. Resultaat van toevoeging van citroenzuur op het ontstaan van bruine wortels. Citroenzuur gaf bij alle concentraties nog veel bruine wortels.

ASCORBINEZUUR

Naast citroenzuur werd ascorbinezuur getoetst als toevoeging tegen bruine wortels. De getoetste concentraties waren 0,1 – 1,0 en 10 mmol. De algemene indruk was dat ook ascorbinezuur geen verbetering gaf ten aanzien van het voorkomen van bruine wortels. In tabel 4 zien we dat bij toevoeging van ascorbinezuur nog steeds ruim 70 van de wortellengte bruin was verkleurd. Bij 10 mmol was geen wortelgroei waarneembaar of alleen een iets uitgelopen wortelwal met oranjegeel verkleurde wortelpuntjes (foto 5).

Nr	ascorbinezuur	wortellengte	bruin verkleurde deel van de wortel	pH na correctie met KOH
1	geen	6,5	68%	7,5
7	0.1 mmol	5	73%	7,0
8	1,0 mmol	4,5	83%	6,7
9	10 mmol	geen of 1	-	6,7

Tabel 4. Resultaat van toevoeging van ascorbinezuur op het ontstaan van bruine wortels.



Foto 4. Behandeling 7 (ascorbinezuur 0,1 mmol/l).



Foto 5. Behandeling 9. Bij 10 mmol ascorbinezuur was er vaak geen beworteling of de wortels waren kort met oranjegele kleur.

3.3 PVPP

3.3.1 Kasproeven

In de eerste proef met PVPP werd de cultivar 'Erna Lindgreen' gebruikt. Hierbij bleek de mate van bruin worden van de wortels af te nemen naarmate er meer PVPP was toegediend (tabel 5).

Nr.	concentratie PVPP mmol/liter	Bruin verkleurde deel van de wortel
1	0	70 %
15	0,3	80 %
16	1	55%
17	10	30%
18	30	20%

Tabel 5. Resultaat van de toevoeging van PVPP op de bruilverkleuring van wortels bij 'Erna Lindgreen'.

In een tweede proef met 'White Dream' werd dit beeld ook waargenomen, bij een toenemende concentratie PVPP werden de wortels steeds witter (foto's 6 t/m 10). Bruine wortels blijven ook vaak korter. In deze proef was dat effect op de wortellengte licht waarneembaar: meer PVPP gaf iets langere wortels (tabel 6). PVPP had geen invloed op de EC op de pH van de voedingsoplossing.

Nr.	concentratie PVPP mmol/liter	wortellengte
1	0	3,8
2	0,3	5,0
3	1	4,8
4	10	5,7
5	30	5,7

Tabel 6. De wortellengte nam iets toe naarmate ze minder bruin werden door toevoeging van PVPP.

3.3.2 Praktijkproef met PVPP

Bij de praktijkproef (3 concentraties PVPP) op het bedrijf van Dhr. Smak te Wervershoof kwamen geen bruine wortels voor, noch bij de drie concentraties PVPP noch bij de tafels zonder PVPP. Blijkbaar bevatten de gebruikte tulpenbollen weinig fenolen. Dhr. Smak verklaarde dat hij bij voorkeur rijp gerooide bollen broeit, omdat daarmee minder problemen zijn met bruine wortels en met *Penicillium*. Er werden in deze proef geen negatieve effecten waargenomen van het gebruik van PVPP op de kwaliteit. De kwaliteit van de geoogste bloemen met PVPP was vergelijkbaar met die van de onbehandelde tulpen. Als negatief aspect kwam naar voren dat bij het in het water brengen van de poedervormige PVPP het middel erg stuift.



Foto 6.
Controle (zonder PVPP)



Foto 7.
PVPP 0,3 mmol/liter
De wortels zijn vooral aan de punt
iets lichter van kleur.



Foto 8.
PVPP 1 mmol/liter.

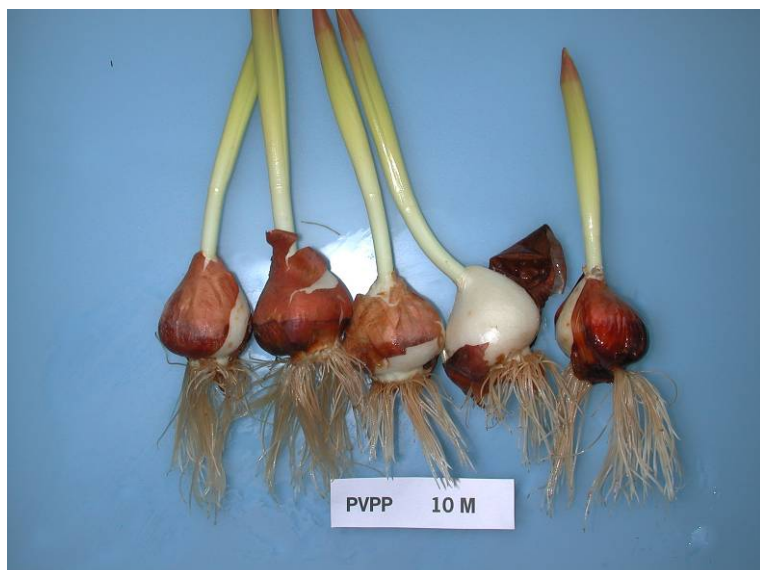


Foto 9.
10 mmol/liter



Foto 10.
PVPP 30 mmol/liter

4 Conclusies en discussie

De eerste proef met bollen en huiden van 'Erna Lindgreen' en 'Strong Gold' bevestigde dat bruine wortels alleen ontstaan in aanwezigheid van fenolen uit de huid en dat die fenolen, afhankelijk van ondermeer de rooidatum van een partij bollen, al dan niet aanwezig zijn. Als slechts 1 partij in een waterbroeisysteem fenolen bevat kunnen andere partijen zonder fenolen daarvan hinder ondervinden.

Bij gebruik van citroenzuur werd de polyfenoloxidase-activiteit geremd. Door de toevoeging daalde de pH van de voedingsoplossing echter naar pH-waarden van 3 à 4. De wortelgroei werd geremd of zelfs geheel onmogelijk bij deze lage pH. In de verdere proeven met citroenzuur en ascorbinezuur werd de pH gecorrigeerd naar een waarde rond 6,5 om deze neveneffecten te voorkomen. Bij de gekozen concentraties van de anti-oxidanten met pH-correctie trad geen verbetering op in de hoeveelheid bruine wortels.

In het voorgaande onderzoek naar de achtergronden van het mechanisme van bruinverkleuring (PPO-330952) werd opgemerkt dat anti-oxidanten naast een rechtstreekse invloed op de oxidatie ook een indirect effect hebben op de polyfenoloxidase doordat ze pH-verlagend zijn of zuurstof binden.

De resultaten van deze proeven wijzen ook in de richting dat citroenzuur zijn werking tegen bruine wortels vooral te danken heeft aan de sterke pH daling. Omdat wortelvorming bij tulp uiteraard een eis is zijn daarmee deze middelen (pH-verlagende anti-oxidanten) ongeschikt gebleken als toepassing tegen bruine wortels.

Bruine wortels werden voorkomen door het gebruik van PVPP. Het effect neemt toe met de concentratie van het middel. Bij de toepassing van dit middel zijn geen negatieve effecten op de kwaliteit van de tulpen waargenomen.

Voor een praktische toepassing die bovendien kosten bespaart, lijkt hergebruik (met regeneratie) van PVPP noodzakelijk. Als de technische mogelijkheden daarvan zijn verkend kan een kostenraming worden gemaakt voor de toepassing in de tulpenbroei. Voor verdere invoering is samenwerking tussen een producent van PVPP, een filterproducent en een installatiebedrijf nodig.

PVPP in de bierindustrie

Filteren van water met PVPP lijkt een goed bruikbare methode om fenolen uit dat water te verwijderen. De stof kan daarna zelf eenvoudig weer uit het water gefilterd worden. PVPP wordt geproduceerd in een regenereerbare vorm. De aan PVPP gehechte fenol kan met een 1 à 2 % natronloogoplossing worden uitgespoeld. Het product kan daarna weer opnieuw worden gebruikt om fenolen te binden. Bij regeneratie en hergebruik moet met een verlies van PVPP van 0,3 tot 1% per keer rekening worden gehouden. Na de aanschaf van een eerst filtervulling kan worden volstaan met aanvullen van dit verlies.

PVPP wordt in de industrie ondermeer gebruikt bij de stabilisering van bier. In het kader van dit onderzoek is gesproken met een van de procestechnologen van Koninklijke Grolsch NV.

Fenolen in bier (uit de mout) kunnen samen met eiwitten een verbinding aangaan waardoor op den duur troebeling in het bier wordt veroorzaakt. Door de fenolen weg te filteren blijft bier langer helder en beter houdbaar.

Grolsch gebruikt regenereerbaar PVPP in poedervorm in zogenaamde kiezelgoefilters. Na elke batch wordt de PVPP in de filters achtereenvolgens gespoeld met een natronloogoplossing en een licht zure oplossing. Hierna is de PVPP weer klaar voor de volgende batch bier.

Voor toepassing in de tuinbouw bij tulpenbroei, met veel kleinere volumestromen, deed men de suggestie hiervoor filterkaarsen (foto 11) te gebruiken. Hierbij kan door de producent van de filters de PVPP al in de filters worden aangebracht. De fenolen blijven dan in de filter achter bij doorstroming met proceswater. Wat

de uiteindelijke toepassing zal worden hangt af van de snelheid waarmee fenol in zo'n filter kan worden gebonden. Ook zal het systeem dat de broeier voor de beworteling gebruikt bij voorkeur een stromend systeem moeten zijn. De filtermodule kan worden geregenereerd als deze verzadigd raakt. Zodoende hoeft men niet met PVPP in poedervorm te werken waardoor het werken ermee eenvoudiger wordt.

Voor de toepassing van PVPP, ter voorkoming van bruine wortels bij tulp, is volgens onze informatie geen toelating vereist. Het is geen meststof en ook geen gewasbeschermingsmiddel en wordt ook niet als zodanig gebruikt. Een en ander zal nog officieel door de CTB (Commissie Toelating Bestrijdingsmiddelen in Wageningen) moeten worden bevestigd.



Foto 11. Filterkaarsen in diverse maten

5 Kennisoverdracht.

Tijdens de open dagen op 9 en 10 februari 2006 bij PPO in Lisse is aan de bezoekers een toelichting gegeven op het project en van de resultaten tot dat moment.

Er zal een artikel verschijnen over het eindresultaat in Bloembollenvisie en in het vakblad voor de bloemisterij eind november 2006.

In januari 2007 zal over dit project uitleg worden gegeven tijdens een avond over broeierij onderzoek voor de LTO Werkgroep Noord-Holland.