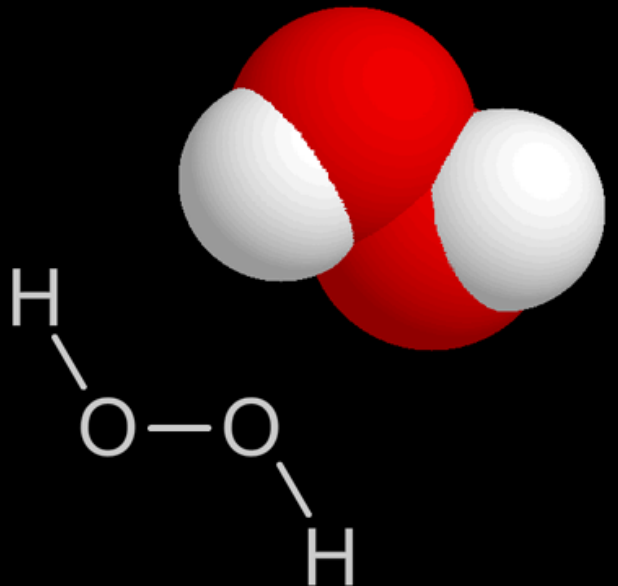
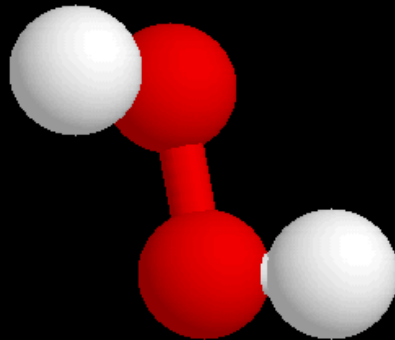


2016

Waterstofperoxide meer dan een desinfectiemiddel??



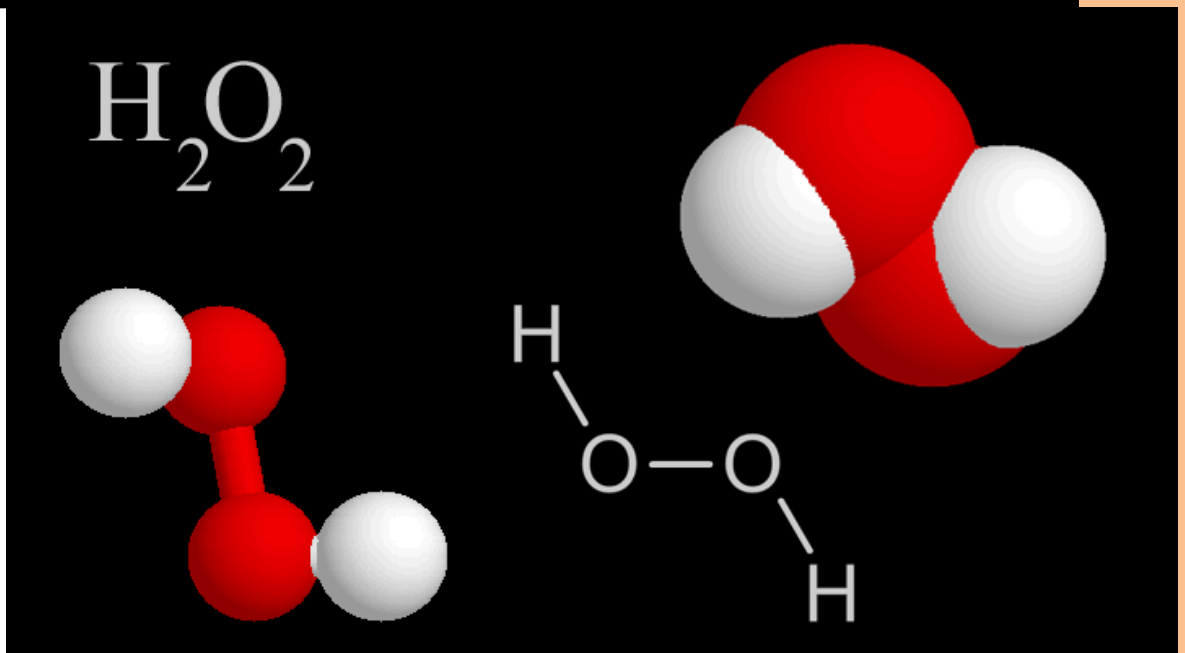
Naam: Marius van Duijn

23-5-2016

Naam: Marius van Duijn
Studentnummer: 3017751
Afstudeerbegeleider: Barend Gehner
Opdrachtgever: Cah Vilentum
Datum: Dronten, 23 mei 2016

2016

Waterstofperoxide meer dan een desinfectiemiddel?



Voorwoord

Voor u ligt de scriptie 'Waterstofperoxide meer dan een desinfectiemiddel?' Het onderzoek naar de mogelijke toekomstige toepassingen van waterstofperoxide is uitgevoerd op het bedrijf van de Gebroeders Alkemade BV. Deze scriptie is geschreven in het kader van mijn afstuderen aan de opleiding tuin/akkerbouw aan het CAH Vilentum te Dronten.

Tijdens dit onderzoek stond mijn afstudeerbegeleider, Barend Gehner, altijd voor mij klaar om mij op moeilijke momenten te voorzien van helder advies en tips waardoor ik mijn onderzoek kon vervolgen. Bij deze wil ik graag mijn afstudeerbegeleider bedanken voor de goede begeleiding en ondersteuning tijdens dit traject. Verder wil ik iedereen bedanken die hebben meegewerkt om dit onderzoek tot een succes te maken.

Ik wens u veel lees plezier,

Marius van Duijn

Katwijk, 23 mei 2016

Inhoud

Voorwoord	2
Samenvatting.....	6
1. Inleiding	8
2. Literatuuronderzoek naar de mogelijke toepassingen van waterstofperoxide in de tuinbouw...	10
2.1 De chemische eigenschappen van waterstofperoxide.....	10
2.2 H ₂ O ₂ in de plantencel	10
2.3 Huidige toepassingen van waterstofperoxide.....	11
2.4 Mogelijke nieuwe toepassingen voor waterstofperoxide in de tuinbouw.	13
2.4.1 Waterstofperoxide als wortelbevorderaar	13
2.4.2 Waterstofperoxide als fungicide	13
2.4.3 Waterstofperoxide tegen dierlijke belagers.....	16
3 Proef effecten van verschillende concentraties waterstofperoxide op gezondheid en beworteling van stekken.....	18
proef 1- wortelinductie	18
3.1 materiaal en methoden.....	18
3.2 Resultaten(bijlage: 1, 2, 3).....	19
3.3 Conclusie	22
Proef opstelling 2 - Schimmelbestrijding.....	23
3.4 Materiaal en methoden.....	23
3.4.1 Gebruikte soorten en pathogenen.....	23
3.4.2 Besmetting met pathogenen.....	23
3.4.3 De installatie	23
3.5 Resultaten(bijlage: 4, 5).....	24
3.6 resultaten	24
3.7 Conclusie	27
Proefopstelling 3 – Waterstofperoxide tegen dierlijke plagen	28
3.8 Materiaal en methoden.....	28
3.8.1 Besmetten met pathogenen	28
3.8.2 Bestrijdingsmethoden	28
3.9 De resultaten(bijlage 6)	28
3.10 Conclusie	29
4 Discussie en aanbevelingen.....	30

Financiële haalbaarheid	31
Bibliografie	32
Niet wetenschappelijke bronnen	33
Bijlage 1: Resultaten beworteling, stekken de gehele behandel periode in een concentratie waterstofperoxide. (Ruwe data)	34
Bijlage 2: Resultaten beworteling, 24 uur in een concentratie waterstofperoxide (ruwe data).	36
Bijlage 3: Resultaten beworteling, 48 uur in een concentratie waterstofperoxide (ruwe data).	39
Bijlage 4: Resultaten schimmelbestrijding <i>Cosmos</i>	42
Bijlage 5: Resultaten schimmel bestrijding Geranium(ruw data)	46
Bijlage 6: resultaten bestrijding varenrouwmug larve	50

Lijst van figuren en tabellen

Tabel 1: Middelen met waterstofperoxide	12
Tabel 2: Gebruikte concentraties H ₂ O ₂ in proef 1	18
Tabel 3: Resultaten stekken in water met waterstofperoxide	22
Tabel 4: Resultaten stekken 24 uur gedoopt en in grond gestoken	22
Tabel 5: Resultaten stekken 48 uur gedoopt en in grond gestoken	22
Tabel 6: Gebruikte concentraties H ₂ O ₂ in proef 2	23
Tabel 7: Gebruikte concentraties H ₂ O ₂ in proef 2 laatste week	24
Tabel 8: Met echte meeldauw besmet blad	25
Tabel 9: Besmetting Chalara bij Geranium	27
Tabel 10: Gebruikte gewassen en pathogenen	28
Tabel 11: Dosering waterstofperoxide als insecticide	28
Tabel 12: Aangemaakte doseringen	28
Tabel 13: Gemiddeld aantal gedode larve	29
Figuur 1: Waterstofperoxide	10
Figuur 2: Stabilisatie door Perazijnzuur	10
Figuur 3: Infectie cyclus Botrytis bron: Nicks	14
Figuur 4: Cleistothecien en conodium, bron: funder practical mycology	15
Figuur 5: Endospore bron: Eurofins	16
Figuur 6: Chlamidospore bron: Eurofins	16
Figuur 7: Varenrouwmug bron: beeldenbank	16
Figuur 8: score 1 - Geen ontwikkeling	19
Figuur 9: score 2 - Verdikking op de steel	20
Figuur 10: score 3 -Callus	20
Figuur 11: score 4 - Enkele wortel	21
Figuur 12: score 5 - Wortels	21
Figuur 13: Stekmedium voor en na behandeling met 0,5% waterstofperoxide	24
Figuur 14: score 1 - Geen aantasting	25
Figuur 15: score 2 - Schade op de steel	26
Figuur 16: score 3 - Schade blad en steel	26
Figuur 17: score 4 - Ernstige schade veroorzaakt door Chalara	26
Figuur 18: Vorming nieuwe wortels bij Geranium	27

Samenvatting

Waterstofperoxide kent vele toepassingen van het bleken van haar tot schone brandstof in de ruimtevaart. Daarnaast komt het van nature in bijna alle levende cellen van planten voor. Deze interne waterstofperoxide is een onderdeel van het Reactive Oxygen Species (ROS) en is betrokken bij veel processen in planten. Zo is waterstofperoxide onder andere betrokken bij het openen van de huidmondjes en het verdedigingsmechanisme tegen allerlei pathogenen, zowel schimmels als insecten.

In de tuinbouw wordt gestabiliseerde (met een zilverchelaat of Perazijnzuur) waterstofperoxide vooral gebruikt voor het reinigen van irrigatieleidingen. De bio-film in de irrigatieleidingen, bestaande uit bacteriën en schimmels, wordt door waterstofperoxide opgelost. Ook lijkt het er op dat stekken na een reinigingstoepassing in de hogedruknevel sneller bewortelen; of dit echt zo is wordt in dit rapport onderzocht. Is waterstofperoxide in de tuinbouw meer dan een desinfectiemiddel? Na het reinigen van de irrigatieleidingen blijft er een restproduct achter dat bestaat uit water en zuurstof. Dit laatste is wat waterstofperoxide interessant maakt. Het gebruik van waterstofperoxide kan zo een positieve bijdrage leveren aan het groener maken van de tuinbouw. In dit rapport zijn er drie mogelijke toepassingen van waterstofperoxide in de tuinbouw getest en onderzocht, te weten:

- Waterstofperoxide als wortelbevorderaar
- Waterstofperoxide als fungicide
- Waterstofperoxide als insecticide

resultaten

Uit de proeven met waterstofperoxide als wortelbevorderaar kwam naar voren dat waterstofperoxide een optimum heeft als het gaat om het stimuleren van wortels. Bij het gewas *Fuchsia Juicy Berry* lag het optimum rond de 1,5 mM. Bij hogere doseringen tot 5 mM, nam het aantal wortels af; toch was het resultaat nog altijd beter dan zonder het gebruik van waterstofperoxide. Het toevoegen van waterstofperoxide aan het water kan een positief effect hebben op de vorming van wortels bij stekken.

Voor de proef met waterstofperoxide als fungicide zijn er drie pathogenen schimmels gebruikt, namelijk: *Chalara elegans*, *Botrytis* en echte meeldauw. De schimmels werden beter bestreden toen de contacttijd werd verlengd van vijf naar tien minuten. Bij meeldauw werd het beste resultaat behaald bij een dosering van 100 ppm. Voor alle doseringen gold dat vooral de meeldauw op de onderste bladeren niet werd bestreden. Ook bij *Chalara* gaf de 100 ppm dosering de beste resultaten. Het was echter niet duidelijk of de *Chalara* werd bestreden of onderdrukt. De besmetting met *Botrytis* mislukte en hiervan zijn dus geen resultaten. Alle gewassen die behandeld waren met waterstofperoxide hadden opvallend veel nieuwe wortels gevormd.

Waterstofperoxide als insecticide gaf alleen een matig resultaat in hoge concentraties; deze hoge concentraties waren echter ook schadelijk voor het gewas en wortels. Waterstofperoxide lijkt dus minder geschikt om te gebruiken als insecticide.

Bij alle proeven werd duidelijk dat vooral de contacttijd een belangrijke factor was voor het succesvol inzetten van waterstofperoxide. Waterstofperoxide is een veelzijdige stof waarover nog veel onbekend is. Meer onderzoek is nodig om meer uit de mogelijkheden van waterstofperoxide te halen.

Abstract

Hydrogen peroxide has many practical applications ranging from hair dye to clean fuel for the space industry and it can be found in nearly all living plant cells. This endogenous hydrogen peroxide is part of the Reactive Oxygen Species (ROS) and is involved in many plant internal processes including stomata regulation and as a defense mechanism against all kinds of pathogens such as fungi and insects. In the horticultural sector is stabilised (with a silver chelate or peracetic acid) hydrogen peroxide mainly used to clean irrigation pipes. The bio film in the irrigation system, consisting of bacteria and fungi, is being dissolved by the hydrogen peroxide. It is also seems that cuttings rooted faster after an irrigation system cleaning session; whether this is true is being researched as part of this report. Is hydrogen peroxide more than a disinfectant for the horticultural sector? Following the cleaning of irrigation pipes the hydrogen peroxide breaks into water and oxygen and this makes its use very appealing. The use of hydrogen peroxide can have a positive influence and contribute to the greening of the sector. In this report there are three possible horticultural applications of hydrogen peroxide tested and researched:

- Hydrogen peroxide as root promoter
- Hydrogen peroxide as fungicide
- Hydrogen peroxide as pesticide

Results

The results of the tests with hydrogen peroxide as root promoter indicated that there is an optimal dosis of hydrogen peroxide when it comes to root growth. For the *Fuchsia* Juicy Berry type the optimal dosis was around 1,5 mM. The number of roots was lower when higher doses up to 5 mM were applied but these were still better than when no hydrogen peroxide was used. The addition of hydrogen peroxide to water can impact cutting root growth.

For the trials with hydrogen peroxide as fungicide there were three pathogens used: *Chalara elegans*, *Botrytis* and powdery mildew. The fungi were better eradicated when the contact time was extended from five to ten minutes. The best results against powdery mildew were obtained with a dosage of 100 ppm. In all applied dosages it was visible that the powdery mildew on the bottom leaves was not affected. For *Chalara* the best results were also obtained with the 100 ppm dosage. It was not clear whether the *Chalara* was eliminated or suppressed. The contamination with *Botrytis* was unsuccessful and there are no results to report on. All crops treated with hydrogen peroxide had made visibly more new roots. Hydrogen peroxide as pesticide gave only modest results in high concentrations which were also harmful to plants and roots. Hydrogen peroxide seems to be less suitable as pesticide.

From all the trial results it became obvious that mainly contact time was an important factor to successful use of hydrogen peroxide. Hydrogen peroxide is a versatile substance of which we know very little. More research is needed to get more out of hydrogen peroxide.

1. Inleiding

Als er wordt gevraagd naar toepassingen van waterstofperoxide denken de meeste mensen aan het bleken van haar. Toch heeft waterstofperoxide zeer veel toepassingen, zoals onder andere het reinigen en ontsmetten van wondjes en oppervlakten. Het wordt zelfs in de ruimtevaart gebruikt als schone brandstof voor raketten (European Space Agency, Z.D.). In de tuinbouw wordt vooral gebruik gemaakt van gestabiliseerde waterstofperoxide. Waterstofperoxide is een zeer instabiele stof die snel uiteen valt in water en een vrije radicaal. Een vrije radicaal is een klein, maar uiterst reactief deeltje. Dit reactieve deeltje heeft een molecuul te weinig en kan deze met geweld uit een andere verbinding trekken en deze beschadigen (Heidstra, 2015). Door het toevoegen van een zilververbinding wordt waterstofperoxide stabiel en valt het minder snel uiteen. Deze gestabiliseerde waterstofperoxide wordt veel gebruikt voor het reinigen van irrigatiesystemen (Wateriq, 2012). Bij het reinigen van irrigatiesystemen wordt de bio-film in de leidingen opgelost. Deze bio-film bestaat uit algen, bacteriën, schimmels en virussen. Als waterstofperoxide, in zeer lage doseringen van ongeveer 30 ppm, in staat is om bacteriën, schimmels en virussen te doden waarom zou het dan niet als gewas behandeling werken? Op het bedrijf bij de Gebroeders Alkemade wordt waterstofperoxide sinds een jaar met de vernevelleiding meegegeven. Dit werd in eerste instantie gedaan om verstoppingen in de leidingen te voorkomen, maar in de loop van het jaar begonnen er steeds meer zaken op te vallen. Eén van de zaken die opviel was dat de stekken in de winter even snel bewortelden als in de zomer. Ook leek het erop dat schimmelaantastingen zich minder snel door de kas verplaatsten. Kwam dit door het gebruik van waterstofperoxide of was het puur toeval? Is waterstofperoxide meer dan een ontsmettingsmiddel voor irrigatieleidingen? Uit literatuurstudie blijkt dat er weinig wetenschappelijk onderzoek is gedaan naar de mogelijkheden van waterstofperoxide in de tuinbouw. Er zijn niet tot nauwelijks goed onderbouwde antwoorden te vinden op bovenstaande vragen.

Bij hobbytuinders is waterstofperoxide al een veel gebruikt middel. Men gebruikt het tegen schimmels en insecten. Ook wordt het ingezet bij het stimuleren van wortels. De meeste van deze kwekers zijn enthousiast over het gebruik van waterstofperoxide. Een veel gebruikte kreet onder deze tuinders is: *less is more*. Met andere woorden: hoe lager de dosering, hoe hoger de kans op succes. Waterstofperoxide heeft een snelle en korte werking en laat geen residu achter op de plant. Daarnaast blijven water en zuurstof achter in de bodem als restproduct. Het klinkt bijna te mooi om waar te zijn. In dit rapport kunt u lezen of dit daadwerkelijk zo is.

In dit onderzoek is er gekeken naar drie mogelijkheden voor een professionele kweker om waterstofperoxide in te zetten op de kwekerij. De drie mogelijkheden die onderzocht zijn:

- Waterstofperoxide als wortelbevorderaar
- Waterstofperoxide als fungicide
- Waterstofperoxide als insecticide

Het eerste hoofdstuk van dit rapport bestaat uit een literatuurstudie waarbij de achtergrond van gestabiliseerde waterstofperoxide is bekeken. Wat is het, waar komt het voor en wat kan er allemaal mee. Verder zijn, tijdens deze literatuurstudie, de drie mogelijkheden voor waterstofperoxide onderzocht. In het tweede hoofdstuk komen de praktijkproeven aan bod. In dit hoofdstuk zijn de opstellingen voor de drie mogelijkheden voor waterstofperoxide en gebruikte materialen

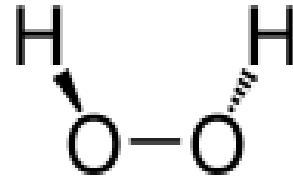
beschreven. Uiteraard worden er in dit hoofdstuk ook de resultaten van de proeven beschreven. Het derde hoofdstuk van dit rapport biedt ruimte voor discussie.

2. Literatuuronderzoek naar de mogelijke toepassingen van waterstofperoxide in de tuinbouw

In dit hoofdstuk wordt er eerst naar de eigenschappen van waterstofperoxide gekeken. Wat is het, wat doet het en waar komt het voor. Vervolgens wordt er gekeken naar de huidige toepassingen, en wordt de stap gemaakt naar de eventuele toekomstige toepassingen.

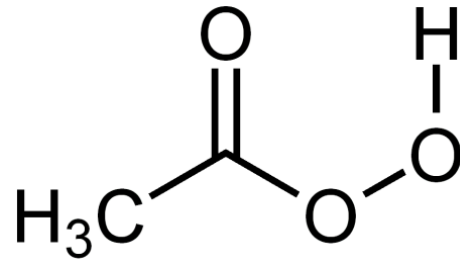
2.1 De chemische eigenschappen van waterstofperoxide

Waterstofperoxide is een zeer instabiele stof die bestaat uit de structuurformule H_2O_2 (Figuur 1). Waterstofperoxide ontstaat op natuurlijke wijze als water en ozon elkaar tegenkomen in de atmosfeer (Zheng, Dunets, & Cayan, 2012). Als waterstofperoxide in contact komt met een organische verbinding breekt de waterstofperoxide verbinding af bij de twee zuurstofverbindingen en valt het uiteen in H_2O en OH . Deze OH is een vrije radicaal die agressief met/op de organische verbinding reageert en deze uit elkaar trekt (Heidstra, 2015).



Figuur 1: Waterstofperoxide

Waterstofperoxide heeft een molecuulmassa van 34,01 g/Mol en is goed oplosbaar in water, ethanol en ether (Wateriq, 2012). De afbraaksnelheid van waterstofperoxide wordt versneld door stijgende temperaturen en een dalende pH. Ook heeft de hoeveelheid vervuiling, zowel in de leiding als op het gewas, invloed op de afbraaksnelheid van waterstofperoxide. Waterstofperoxide kent een autoredox reactie. Dit houdt in dat als de reactie is



Figuur 2: Stabilisatie door Perazijnzuur

begonnen deze niet meer te stoppen is. Om een te snel verval van waterstofperoxide te voorkomen wordt het gestabiliseerd met onder andere een zilverchelaat of Perazijnzuur (Figuur 2). Door deze toevoeging wordt de waterstofperoxide stabiel en wordt de werking verlengd. Een nadeel van Perazijnzuur is dat het schade aan opstal en apparatuur kan geven. Daarom heeft een stabilisatie met een zilverchelaat, zeker wanneer het een langdurige behandeling betreft, de voorkeur. Als er geen organische verbinding/vervuiling is valt de waterstofperoxide niet uiteen, maar blijft stabiel totdat het in contact komt met een organische vervuiling. Een groot voordeel van het gebruik van waterstofperoxide is dat het snel uiteen valt en daardoor geen schadelijke residuen achterlaat op het product. Een ander voordeel is dat er geen resistentie opbouw mogelijk is door schadelijke organismen. Een organisme kan namelijk geen resistentie ontwikkelen bij afbranden. Het grootste nadeel van waterstofperoxide is dat er, vooral op het gebied van de toxiciteit voor planten, zo weinig over bekend is. Op dit moment wordt waterstofperoxide voornamelijk gebruikt in de tuinbouw voor reiniging van irrigatieleidingen. Waterstofperoxide verwijdert de bio-film uit de leidingen waardoor de kans op verstoppingen veroorzaakt door micro-organismen en algen afnemen. Ook neemt de kans, dat schadelijke micro-organismen zich door de waterleiding verspreiden over het gewas, af.

2.2 H_2O_2 in de plantencel

Waterstofperoxide, als Reactive Oxygen Species (ROS), komt van nature ook voor in eukaryote cellen (Rijks Universiteit Groningen, 2014). Deze eukaryote cellen komen voor in alle levende organismen, zoals mensen, dieren, planten en schimmels. Eukaryote cellen zijn complexe cellen met een celkern.

In deze cellen bevinden zich de organellen. Organellen zijn de organen van een cel met elk hun eigen specialisatie, vorm en functie. Het organel peroxisoom (RUG, 2014) is in staat om waterstofperoxide te produceren. De waterstofperoxide fungeert binnenin de plant als signaalstof voor fysiologische en biochemische processen, zoals het openen en sluiten van de huidmondjes en de ontwikkeling van de celwand (Ivanchenko, et al., 2013). Ook bij stress in de plant, zowel biotische als abiotische stress, wordt er waterstofperoxide geproduceerd (ROS). Als de concentratie waterstofperoxide in de cel te hoog wordt, gaat de cel dood. Dit wordt ook wel programmed cel death genoemd (Gechev & Hille, 2005). Programmed cel death kan worden gezien als een verdedigingsmechanisme tegen pathogenen. Door cellen te laten afsterven, raakt de pathogeen ingesloten en kan deze niet verder de plant binnendringen. Ook zorgt de hoge concentratie waterstofperoxide dat de plant minder aantrekkelijk wordt voor een pathogeen. Vaak is het voor de plant niet nodig om de cel te laten afsterven. Om de concentratie waterstofperoxide in de cel weer te verlagen wordt er in het peroxisoom ook het enzym katalase (CAT) geproduceerd. Dit enzym breekt waterstofperoxide af in $H_2O_2 + O_2 + \text{warmte}$.

De aanwezigheid van katalase kan met een scheikundig experiment worden aangetoond. Als eerste wordt er een beetje gist in een reageerbuisje gedaan. Daarna wordt er waterstofperoxide bij de gist gevoegd. De gist reageert met de waterstofperoxide door middel van bruisen en wordt door katalase omgezet in water en zuurstof. Als er vervolgens een gloeiend stukje hout in het reageerbuisje wordt gestoken, komt deze door het vrij gekomen zuurstof tot ontbranding. Als het gist eerst wordt gekookt en dan bij de waterstofperoxide wordt gedaan gebeurt er niets. Door het koken zijn de gistcellen gedood en kunnen deze de waterstofperoxide niet meer omzetten in water en zuurstof. Hiermee is aangetoond dat het enzym katalase waterstofperoxide om kan zetten in water en zuurstof.

2.3 Huidige toepassingen van waterstofperoxide

Er zijn vele toepassingen voor waterstofperoxide. Op dit moment wordt het onder andere vaak gebruikt als ontsmettingsmiddel in de tuinbouw (zie Tabel 1). Enkele andere toepassingen zijn:

- **Reinigen watersystemen:** Het wordt gebruikt om waterleidingen en water te reinigen van schimmels bacteriën en virussen. Ook lost het de bio-film, die in de leidingen ontstaat, op. Het voordeel hiervan is dat er minder verstoppingen in het systeem ontstaan en dat ziekten niet door het water systeem worden verspreid.
- **Vervanger van chloor:** Waterstofperoxide wordt tevens gebruikt als vervanger van chloor in druppelleidingen. Chloor wordt gebruikt voor het reinigen van druppelleidingen. Het voordeel van waterstofperoxide ten opzichte van chloor is dat er geen residu in het recirculatie water komt (Zheng, Dunets, & Cayan, 2012). Daarnaast wordt waterstofperoxide ook niet door het product opgenomen.
- **Afbraak gewasbeschermingsmiddelen:** De laatste tijd staat waterstofperoxide ook in de belangstelling. Waterstofperoxide kan namelijk, in combinatie met UV, resten van gewasbeschermingsmiddelen afbreken, zodat deze veilig in het oppervlaktewater geloosd kunnen worden (Bezemer & Maas, 2012).
- **Ontsmetting materiaal:** Waterstofperoxide kan daarnaast gebruikt worden als oppervlaktereiniging/-ontsmetting van diverse materialen.
- **Buiten de tuinbouw:** Waterstofperoxide wordt onder andere gebruikt als mondspoeling of bij het bleken van haar. Ook wordt het gebruikt bij het steriel maken van een operatiekamer en operatiegereedschap. Waterstofperoxide heeft ook een goede werking bij het ontsmetten van wondjes. Verder wordt het ook gebruikt in de ruimtevaart als schone brandstof voor raketten (ESA, Z.D.).

Wanneer we terugkijken naar waterstofperoxide als ontsmettingsmiddel in de tuinbouw zien we dat waterstofperoxide vaak in een lage concentraties van 50 ppm wordt mee gedoseerd. Om het goed door het water te kunnen mengen wordt waterstofperoxide in de leidingen geïnjecteerd met een dosatron doseerpomp. Dosatron zijn pompjes die zeer precies, kleine hoeveelheden waterstofperoxide in het water injecteren. Een nadeel is dat waterstofperoxide snel uit elkaar valt en daarom is de kans op storingen veroorzaakt door lucht in de leidingen erg groot. Om dit te voorkomen moet het systeem regelmatig worden ontluicht. Een andere methode om lucht in de leidingen te voorkomen is door het pompje elk uur een paar seconde te laten draaien. De hoeveelheid waterstofperoxide in het water kan worden gemeten met een teststrip. Deze teststrip geeft, door middel van een kleur, aan hoeveel waterstofperoxide er ongeveer in het water aanwezig is. Voor een nauwkeurige meting is het beter om gebruik te maken van een spectrometer.

Tabel 1: Middelen met waterstofperoxide

Middel	Gehalte w/v	Stabilisatie	toepassing
Huwa san agro tr50 Producent Roam chemie	50%	zilverchelaat	• Reinigen oppervlakte • Verwijderen bio-film uit leidingen • Grond ontsmetting • Ruimte reiniging
Oxyl pro s producent Cindro	50%	zilverchelaat	• Reinigen oppervlakte • Verwijderen bio-film uit leidingen • Grond ontsmetting • Ruimte reiniging
Intra hydracare producent Intracare	50%	zilverchelaat	• Reinigen oppervlakte • Verwijderen bio-film uit leidingen • Grond ontsmetting • Ruimte reiniging
Jet 5 producent Certis	22%	Perazijnzuur	• Reinigen oppervlakte • Verwijderen groene aanslag
Freebac producent Free bac	35%	gel van natuurlijke bestanddelen	• Reinigen voedsel • Ontslrijven van vis • Reinigen oppervlakte • Verwijderen bio-film uit leidingen • Grond ontsmetting • Ruimte reiniging

Freebac is speciaal voor de voedselverwerkende industrie ontwikkeld. Er worden geen metalen gebruikt voor het stabiliseren van de waterstof waardoor de kans dat er metalen achterblijven op het product/voedsel afneemt. Jet 5 maakt gebruik van Perazijnzuur, deze stabilisator is erg schadelijk voor machines en is daarom niet geschikt voor dagelijks gebruik. De andere drie waterstofperoxides

zijn speciaal voor de tuinbouw ontwikkeld en kunnen waarschijnlijk probleemloos dagelijks worden gebruikt.

2.4 Mogelijke nieuwe toepassingen voor waterstofperoxide in de tuinbouw.

2.4.1 Waterstofperoxide als wortelbevorderaar

Auxine (IAA) is een belangrijk plantenhormoon dat vooral bekend staat als bewortelingshormoon. Auxine wordt gevormd uit de basisstof tryptofaan en wordt in de groeiende delen met delend weefsel van een plant geproduceerd. Dit zijn onder andere de groeipunten van de bladeren, stengels, en zaden. Vervolgens wordt het basipetaal door de parenchymcellen van cel tot cel naar de wortelpunten getransporteerd. Eenmaal in de wortelpunten aangekomen geeft auxine de opdracht aan het peroxisoom voor de productie van Reactive Oxygen Species (ROS). Zoals eerder beschreven in dit rapport bestaat Reactive Oxygen Species (ROS) onder andere uit waterstofperoxide. De waterstofperoxide hoopt zich op in de plantencel, waardoor de cellen zich uitstrekken. Deze celstrekking wordt vertaald in het groeien van de plantenwortels (Ivanchenko, et al., 2013). Er zijn kunstmatige auxine in de handel, één daarvan is Indoline Buteric Acid (IBA). Dit kunstmatige plantenhormoon wordt veel gebruikt bij het bewortelen van stekken. De stekken worden in de IBA poeder gedoopt. Vervolgens gaat het proces zoals bij de natuurlijke auxine. Er wordt een signaal doorgegeven aan het peroxisoom om waterstofperoxide te produceren, zodat de wortels kunnen ontwikkelen/groeien. Naar deze interne waterstofperoxide productie is al veel onderzoek gedaan. Echter met betrekking tot het extern toedienen van waterstofperoxide is nog niet veel bekend. Een onderzoek op de zoete aardappel, met lage doseringen waterstofperoxide, gaven goede resultaten op de beworteling. Tevens ging het vers gewicht significant omhoog (Deng, et al., 2012). Bij zaaiingen van haver nam het aantal en de lengte van de wortels toe (Hameed, Farooq, Iqbal, & Arshad, 2004). Bij olijven werd er geen effect op de beworteling gevonden door het toedienen van waterstofperoxide (Asl moshtaghi & Shahsavar, 2011). Voor het experiment met olijven werd er wel een extreme hoge concentratie waterstofperoxide gebruikt. Daarnaast was het niet duidelijk hoe lang ze in de 3,5% oplossing hadden gestaan.

Opvallend bij een onderzoek over het extern toedienen van waterstofperoxide was dat na het toedienen van externe waterstofperoxide, de productie van interne waterstofperoxide afnam. Deze afname werd veroorzaakt doordat de productie van oxiderende enzymen, zoals katalase, toenam bij het toedienen van externe waterstofperoxide (Long, 2012).

Wortelstimulatie door waterstofperoxide, in plaats van auxine, kan om meerdere redenen interessant zijn. Zo is het makkelijker en sneller toe te dienen, waardoor er tijdswinst kan worden behaald. Het grootste voordeel zit echter in toekomstige toepassingen, zoals stekrobots. Op dit moment veroorzaakt stekpoeder nog veel storingen bij stekrobots. Wanneer waterstofperoxide succesvol kan worden toegepast ten behoeve van de beworteling van een breed aantal gewassen, is de weg voor robotisering van de stekteelt geopend.

2.4.2 Waterstofperoxide als fungicide

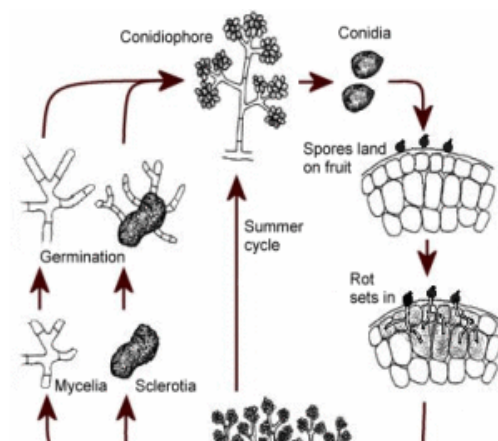
Interne waterstofperoxide (ROS) speelt een belangrijke rol bij de natuurlijke verdediging van de plant tegen pathogene schimmels (Mehdy, 1994). Naar de rol van de interne waterstofperoxide (ROS) is al veel onderzoek gedaan. Over de aanpak van schimmels door extern toegediende waterstofperoxide is nog maar weinig bekend. Op dit moment worden middelen op basis van waterstofperoxide vooral

gebruikt bij het ontsmetten van irrigatieleidingen, materialen en ruimte. Door de inzet van gestabiliseerde waterstofperoxide middels de irrigatieleidingen worden er al veel watergebonden pathogenen zoals schimmels, bacteriën en virussen preventief bestreden. Op het internet wordt er bij veel amateur tuinforums en thuiskweekforums geadviseerd om waterstofperoxide in te zetten tegen schimmels en insecten. Dit als een milieu vriendelijk alternatief voor chemische gewasbeschermingsmiddelen. Verder geven zij aan dat waterstofperoxide helpt om de wortels gezond te houden. Veel gebruikers zijn positief, maar toch zijn er maar weinig wetenschappelijke bronnen te vinden over het gebruik van waterstofperoxide als fungicide. Eén van de redenen zou de zeer korte werkingsduur van waterstofperoxide kunnen zijn. Door deze korte werking zal de behandeling elke dag herhaald moeten worden. In het geval bij de Gebroeders Alkemade zou dit geen probleem zijn, doordat er een hogedruknevel op het bedrijf aanwezig is. Door middel van deze hogedruknevel kan de waterstofperoxide eenvoudig en snel worden toegediend. Om schimmels te bestrijden wordt er als richtlijn een dosering van 100-135 ppm aangegeven (Zheng, Dunets, & Cayan, 2012). Op de verschillende tuinforums wordt vooral een goede werking geclaimd tegen *echte meeldauw* (Hura, 2013), *Pythium*, *Phytophthora* (Zheng, Dunets, & Cayan, 2012) en *Botrytis* (NWFS, Z.D.). Bij de bestrijding van schimmels moet rekening worden gehouden met het feit dat elk levend organisme het enzym katalase kan produceren/produceert, zo ook schimmels. Dit enzym is in staat om kleine hoeveelheden waterstofperoxide af te breken. Om afbraak van waterstofperoxide door oxiderende enzymen(katalase) van schimmels te voorkomen moet er met een relatief hoge dosering worden gewerkt en moet er een zolang mogelijke bladnat/contact periode worden bereikt. De vrije radicale zuurstof atoom(O.) in waterstofperoxide brandt het schimmelmycelium af. Tegen dit afbranden kan een schimmel geen resistentie ontwikkelen. Het is te verwachten dat vooral schimmels waarvan het mycelium bovenop de plant ligt effectief worden bestreden. De schimmels waarvan het mycelium in het blad zit wordt waarschijnlijk niet afgedood. De verwachting is wel dat sporendragers en delen die zich buiten het blad bevinden worden afgebrand waardoor de verspreiding en verdere ontwikkeling van de schimmel voorkomen wordt.

In deze literatuurstudie is er vooral gekeken naar drie pathogenen schimmels te weten; *Botrytis*, *echte meeldauw* en *Chalara elegans*. Schimmels zijn voor hun voeding volledig afhankelijk van andere organismen(heterotroof). Schimmels behoren tot de lagere planten. Ze onderscheiden zich door het ontbreken van stengels, wortels en bladeren.

Botrytis; Botrytis is waarschijnlijk één van de meest voorkomende pathogene schimmels. *Botrytis* wordt ook wel grauwe schimmel genoemd. *Botrytis* is een facultatieve endo parasiet. Dit houdt in dat *Botrytis* op zowel levend als dood materiaal kan leven.

De schimmel kan zich vermeerderen door het mycelium en sporen(zie Figuur 3). De sporen kunnen al kiemen bij een lage temperatuur van 2°C. De infectie hyphe van botrytis verplaatst zich intercellulair door de plant. *Botrytis* is een zwakke parasiet, maar valt ook gezonde planten aan. *Botrytis* komt in vrijwel elk gewas voor. Om een slechte periode te kunnen overleven produceert *Botrytis*, chlamydosporen. Dit zijn dikkere sporen dan normaal. *Botrytis* kan ook sclerotien vormen door het mycelium aan elkaar te laten klonteren. *Botrytis* is in staat om, door middel van

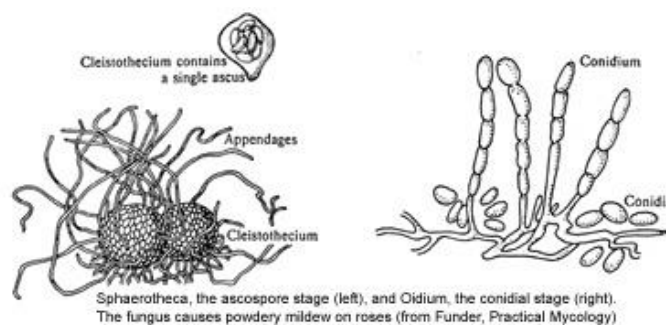


Figuur 3: Infectie cyclus Botrytis bron: Nicks

katalase, waterstofperoxide om te zetten in water en zuurstof (Nir L. Gil-ad, 1999). Het preventief af laten sterven van cellen, als verdedigingsmechanisme (Gechev & Hille, 2005), zorgt ervoor dat een facultatieve schimmel als *Botrytis* zich sneller door de plant kan verplaatsen (Govrin E & Levine, 2000).

Door waterstofperoxide te vernevelen wordt er gehoopt om de rondzwevende *Botrytis* sporen te beschadigen of te doden. Ook is de verwachting dat uitstekende conodien en kiemende sporen worden afgebrand. *Botrytis* zal niet volledig worden gedood door waterstofperoxide. De verwachting is echter wel dat de verspreiding van *Botrytis* door middel van waterstofperoxide wordt beperkt.

Meeldauw(echte); Echte meeldauw is een ecto parasiet (Hanemaaijer & Jong, 1992). Dit houdt in dat het mycelium van de schimmel vooral aan de buitenzijde, op de bovenkant van het blad, te vinden is. Alleen de houstorien(voedingsorganen) penetreren het blad oppervlakkig. Meeldauw vormt onvertakte sporendragers(conodium) en produceert, om ongunstige omstandigheden te overleven, zwart bruine vruchtlichamen. Deze vruchtlichamen worden ook wel Cleistothecien(zie Figuur 4) genoemd. Als het Cleistothecium openbarst komen de Ascosporen, die zich in het Cleistothecium bevinden, vrij. Meeldauwsporen bevatten veel vocht(70%) en kunnen daarom ook kiemen onder droge omstandigheden.



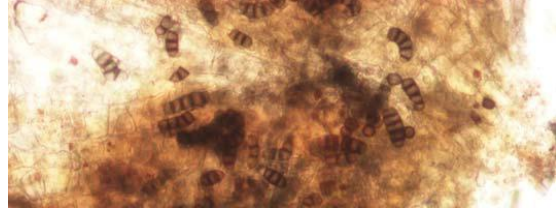
Figuur 4: Cleistothecien en conodium, bron: funder practical mycology

Doordat echte meeldauw zich voor het grootste gedeelte buiten de plant bevindt, is de verwachting dat echte meeldauw goed met waterstofperoxide te bestrijden is.

Chalara elegans: *Chalara elegans* wordt ook wel *Thielaviopsis basicola* genoemd. Het is een bodem gebonden pathogenen schimmel (Walker, 2008). *Chalara* produceert twee soorten sporen; chlamidospore (Figuur 6). Deze sporen zijn duidelijk zichtbaar, blijven in de grond achter en kunnen vijf jaar in de bodem overleven. De endospore (Figuur 5) zijn doorzichtig en moeilijk te detecteren. Deze sporen komen in grote getalen voor en verspreiden zich door de lucht en door het (drain)water. De sporen kunnen enkele maanden overleven (Coenen, 2015). Op dit moment zijn er geen goede chemische gewasbeschermingsmiddelen om *Chalara* afdoende te bestrijden; een geïnfecteerde partij wordt vaak in zijn geheel geruimd. De verwachting is dat waterstofperoxide de *Chalara* schimmelsporen in het water zal doden, waardoor verdere verspreiding wordt tegengegaan.



Figuur 5: Endospore bron: Eurofins



Figuur 6: Chlamidospore bron: Eurofins

2.4.3 Waterstofperoxide tegen dierlijke belagers

Biologische bestrijding van plagen is in de stekteelt bijna onmogelijk. Door de korte teelt kunnen biologische bestrijders geen populatie opbouwen. Veel plagen zijn steeds moeilijker te bestrijden en chemische gewasbeschermingsmiddelen zijn niet meer de oplossing voor alle plagen. Het gebruik van waterstofperoxide kan een goed alternatief zijn voor chemische gewasbeschermingsmiddelen. Tegen waterstofperoxide kan een insect geen resistentie opbouwen en het rest product is water en zuurstof. Waterstofperoxide als bestrijding tegen dierlijke belagers kan vooral interessant zijn tegen insecten die resistent geworden zijn voor chemische gewasbeschermingsmiddelen. Daarnaast kan het interessant zijn voor de moeilijk te bestrijden plagen waar nu nog geen goede chemische oplossingen voor zijn. Zo wordt gedacht aan varenrouwmug larve en bladaal. Er werden tijdens deze literatuurstudie nauwelijks wetenschappelijke bronnen gevonden over de bestrijding van insecten met waterstofperoxide. Er werd één artikel gevonden over de bestrijding/onderdrukking van wortelknobelaaltjes met waterstofperoxide (Karajeh, 2008). Echter op verschillende forums werd waterstofperoxide door verschillende mensen/ervaringsdeskundigen succesvol ingezet tegen Spint, luis, en de larve van de varenrouwmug.

Bonen spint: (*Tetranychus urticae*) Spintmijten leven vooral aan de onderzijde van het blad waar ze ook hun eieren leggen. Het schadebeeld dat ze door zuigen veroorzaken zijn, witte puntjes aan de bovenzijde van het blad. De generatieduur bij spint is ongeveer drie tot vier weken. Vooral bij droog en warm weer gaat de vermeerdering erg snel (groenkennisnet, Z.D.). De hoeveelheid chemische gewasbeschermingsmiddelen tegen deze moeilijk bereikbare plaag is beperkt en het gevaar van resistenties ligt op de loer. Waarschijnlijk is het, door middel van waterstofperoxide, ook mogelijk om spint in de Diapauze te bestrijden. De diapauze is een soort winterrust (Gilbert, 2013) waarbij de spintmijten van een geel/groene kleur naar een rode kleur verkleuren. In de diapauze eten de spintmijten niet of nauwelijks, waardoor ze onvoldoende bestrijdingsmiddelen naar binnen krijgen om ze te doden. Daardoor zijn ze in deze periode niet of nauwelijks te bestrijden met de chemische gewasbeschermingsmiddelen. De verwachting is dat waterstofperoxide de spintmijten in alle fases zal doodbranden.

Varenrouwmug (Figuur 7): (*Sciara*) Op verschillende thuisweek websites wordt waterstofperoxide gebruikt als milieu vriendelijke oplossing tegen de larve van de varenrouwmug (Manicbotanix, 2016). Door het wegvallen van verschillende chemische gewasbeschermingsmiddelen wordt deze methode wellicht ook interessant voor de professionele kweker. Varenrouwmuggen of *Sciara* kunnen veel schade veroorzaken bij bedrijven die uitgangsmateriaal produceren. De larve leven namelijk van algen en



Figuur 7: Varenrouwmug bron: beeldenbank

jonge plantenwortels. De varenrouwmug is een kleine (3-5mm), in grote aantallen voorkomende mug. Ze hebben grijs zwart geaderde vleugels, lange poten en antennen(groenkennisnet, Z.D.). Een volwassen mug wordt ongeveer 7 dagen oud. In die tijd legt ze rond de 1000 eieren in groepjes van 200 eieren (Arkesteijn & Pijnakker, 2011). De larven zijn doorzichtig en hebben een zwate kop. De varenrouwmug kent vier larvare stadia.

Varenrouwmuggen larve worden vooral preventief bestreden door het inzetten van aaltjes en roofmijten. De volwassen muggen worden vooral chemisch bestreden met Decis of Sumicidin. Deze methode van bestrijden werkt met name goed in het voor- en najaar. In de zomer kan de druk zo hoog oplopen dat deze methoden niet meer afdoende werken. Tevens wordt het gebruik van Decis door steeds minder afnemers geaccepteerd en het wordt dan ook om die reden niet meer gebruikt. Als er een infectie van varenrouwmug larve heeft plaats gevonden duurt het vaak erg lang voordat deze weer onder controle is. Snel werkende middelen zijn er niet en daarom ontstaat er vaak veel schade. Verschillende tuinforums zijn zeer positief over het gebruik van waterstofperoxide tegen de larve van de varenrouwmug. Vaak wordt er gewerkt met hoge doseringen tot 3%. De grond wordt met waterstofperoxide aangegoten tot de grond verzadigd is. Door de oxiderende werking klappt de larve uit elkaar en komt er een grote hoeveelheid zuurstof vrij. Vooral de snelle werking kan interessant zijn voor een vermeerderingsbedrijf.

Bladaal: Bij eerdere studies is gebleken dat waterstofperoxide het wortelknobbelaaltje (*Meloidogyne Javanica*) in het tomaat gewas succesvol onderdrukt (Karajeh, 2008). De verwachting is dat dit ook het geval zal zijn voor bladaaltjes. Als het blad nat is komen de bladaaltjes uit het blad (van den Berg, 2013). Dit kan een goed moment zijn om de bladaaltjes te bestrijden. De aanwezigheid van bladaaltjes zijn onder de huidige omstandigheden moeilijk aantoonbaar en zullen daarom niet worden meegenomen in dit onderzoek.

Zwarte bonenluis: (*Aphis fabae*) De luizen komen vooral voor in de top van de plant. Daar prikken ze hun zuigsnuut in het floem en drinken het suikerrijke floemsap. In het najaar gaan de gevleugelde mannetjes en vrouwtjes naar een waardplant om daar hun eieren te leggen. Hieruit worden de stammoeders geboren. Deze luizen zijn levendbarend (beeldenbank, Z.D.). Zwarte bonenluis komt in zeer veel gewassen voor. De verwachting is dat waterstofperoxide de luizen dood zal branden.

3 Proef effecten van verschillende concentraties waterstofperoxide op gezondheid en beworteling van stekken

Om de mogelijke toepassingen van waterstofperoxide te onderzoeken zijn er verschillende proeven uitgevoerd. In dit hoofdstuk worden de proefopstellingen en de resultaten van de proeven besproken. Ook wordt er aan de hand van de verkregen resultaten een conclusie getrokken. Voor alle proeven is er gebruik gemaakt van gestabiliseerde waterstofperoxide van het merk Oxyl Pro S van Cindro.

proef 1- wortelinductie

3.1 materiaal en methoden

Voor het onderzoek naar de inductie van wortels met waterstofperoxide is gebruik gemaakt van het gewas Fuchsia Juicy Berry. De stekken zijn op vrijdag geplukt en het weekend overgehouden in de koelcel. Bij deze proeven is gebruik gemaakt van waterstofperoxide van het merk Oxyl pro S. Er zijn zes verschillende doseringen met Oxyl pro S aangemaakt. Zie Tabel 2 voor de gebruikte doseringen.

Tabel 2: Gebruikte concentraties H₂O₂ in proef 1

Concentratie H ₂ O ₂ (mM)	Dosering Oxyl Pro S
0,0 mM	0,000 ml/L
0,5 mM	0,029 ml/L
1,5 mM	0,085 ml/L
2,5 mM	0,142 ml/L
3,5 mM	0,199 ml/L
5,0 mM	0,285 ml/L

Voor het afmeten van de doseringen is gebruik gemaakt van injectiespuiten met een maximale inhoud van één milliliter. Voor elke dosering zijn vier bakjes met een halve liter leidingwater vermengt met de dosering waterstofperoxide. Zo waren er in totaal 24 bakjes met water en een dosering waterstofperoxide. In elk bakje zijn 25 stekken gezet. Bij de behandeling zijn drie verschillende behandel tijden gebruikt te weten: 24 uur, 48 uur en de gehele behandel tijd van veertien dagen. Uit ieder bakje werden 20 stekken uitgeplant op een tray. De overige vijf stekken werden in het bakje gelaten. Deze vijf stekken werden, nadat eerst het water ververs was voor een maximale dosering, recht op door de deksel gestoken. Op deze manier raakten alleen de stelen de vloeistof. De stekken op de trays en in de bakjes zijn vervolgens twee weken in de stekkas gezet. De stekkas had een gemiddelde temperatuur van 18°C en een gemiddelde relatieve luchtvochtigheid van 90%. De stekken zijn in het droge gedeelte van de stekkas gezet, zodat de waterstofperoxide die al mee wordt gedoseerd op het bedrijf minimaal van invloed zou zijn.

3.2 Resultaten(bijlage: 1, 2, 3)

Om de beoordelingen meetbaar te maken zijn de resultaten in een schaal van één tot vijf gezet.

- 1: de stekken zien er hetzelfde uit als voor de behandeling. Er is dus niets gebeurd(Figuur 8).
- 2: De steel van de stekken begint onder te verdikken(Figuur 9).
- 3: Er is duidelijk callus gevormd onder aan de steel(Figuur 10).
- 4: Eerste wortelpuntje zichtbaar(Figuur 11).
- 5: Meerdere wortels duidelijk zichtbaar(Figuur 12).



Figuur 8: score 1 - Geen ontwikkeling



Figuur 9: score 2 - Verdikking op de steel



Figuur 10: score 3 -Callus



Figuur 11: score 4 - Enkele wortel



Figuur 12: score 5 - Wortels

De stekken die in het water waren gelaten zijn als eerste bekeken. Bij de eerste twee concentraties was er nauwelijks iets van wortelvorming zichtbaar. Bij de dosering van 1,5 mM waren er duidelijk meer wortels zichtbaar dan bij de andere concentraties (Tabel 3). Bij de concentratie van 2,5 mM waren er ook veel wortels zichtbaar, maar duidelijk minder dan bij de 1,5 mM dosering. Deze afnemende trend ging door met de andere twee concentraties van 3,5mM en 5mM.

Tabel 3: Resultaten stekken in water met waterstofperoxide

Concentratie(mM)	Gemiddelde score
0,0 mM	1,7
0,5 mM	1,5
1,5 mM	4,3
2,5 mM	3,4
3,5 mM	2,6
5,0 mM	2,6

Een dag later zijn de stekken die 24 uur gedoopt waren bekeken. Bij deze stekken waren er onderling minder grote verschillen (Tabel 4). Toch bleven de stekken die alleen in water gedoopt zijn licht achter tegenover de stekken die in water met waterstofperoxide gedoopt zijn.

Tabel 4: Resultaten stekken 24 uur gedoopt en in grond gestoken

Concentratie(mM)	Gemiddelde score
0,0 mM	3,1
0,5 mM	3,5
1,5 mM	3,75
2,5 mM	3,65
3,5 mM	4,075
5,0 mM	4,025

De stekken die 48 uur zijn gedoopt zijn als laatste bekeken en hadden duidelijk meer wortels dan de stekken die 24 uur waren gedoopt. Ook hier bleven de stekken enkel gedoopt in water licht achter ten aanzien van de stekken die in water met waterstofperoxide gedoopt zijn (Tabel 5).

Tabel 5: Resultaten stekken 48 uur gedoopt en in grond gestoken

Concentratie(mM)	Gemiddelde score
0,0 mM	3,25
0,5 mM	4,25
1,5 mM	4,25
2,5 mM	4,7
3,5 mM	4,375
5,0 mM	4,325

3.3 Conclusie

Waterstofperoxide heeft invloed op de inductie van wortels bij planten. Echter de invloed wordt sterk bepaald door de contacttijd van de stek met de waterstofperoxide. Hoe langer de contacttijd des te meer invloed van waterstofperoxide op de inductie van wortels bij stekken. Ook laat de proef,

met stekken die in het water bleven staan, zien dat er een optimum is voor het gebruik met waterstofperoxide. De beste resultaten werden behaald met een concentratie die lag tussen de 1,5 mM en de 2,5 mM.

Proef opstelling 2 - Schimmelbestrijding

3.4 Materiaal en methoden

Voor de proefopstelling, schimmelbestrijding is er gebruik gemaakt van een viertal gewassen met drie verschillende pathogene schimmelaantastingen. De stekken die gebruikt zijn voor deze proef waren goed geworteld. Eén gewas (*Amsonia*) is gebruikt om de effecten van langdurig vernevelen op het gewas te kunnen waarnemen. Voor deze proef is er gebruik gemaakt van vier verschillende concentraties te weten 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm en 200 ppm (Tabel 6).

Tabel 6: Gebruikte concentraties H_2O_2 in proef 2

Concentratie H_2O_2 (ppm)	Dosering Oxyl Pro S Per 5 liter
0 ppm	0 ml
50 ppm	0,25ml
100 ppm	0,50ml
200 ppm	1,00ml

3.4.1 Gebruikte soorten en pathogenen

De proef is opgedeeld in eenheden van 24 stekken met vier herhalingen. Zo zijn er in totaal zijn ongeveer 1600 stekken gebruikt voor deze proefopstelling. Voor deze proefopstelling zijn de volgende gewassen en ziekten gebruikt:

- *Cosmos atrosanguineus*, geïnfecteerd met echte meeldauw
- *Lavandula hidcote*, geïnfecteerd met *Botrytis*
- *Geranium cantabrigiense* st Ola, geïnfecteerd met *Chalara*
- *Amsonia blue ice*, geen ziekte

3.4.2 Besmetting met pathogenen

Het gewas *Cosmos* was al met echte meeldauw geïnfecteerd. Om het gewas *Lavandula* te infecteren met *Botrytis* is er gebruik gemaakt van zieke planten. De zieke takken zijn los geknipt en in het water gelegd met daarbij een suikeroplossing. Vervolgens zijn de gezonde planten twee keer met dit mengsel aangegoten.

Voor het gewas *Geranium* zijn met *Chalara* besmette *Geranium's* in het water gelegd. Aan het water is een suikeroplossing toegevoegd. Vervolgens is het gewas tweemaal aangegoten met dit water. De uitgekozen *Geraniums* waren al licht besmet met *Chalara* en het verder infecteren leverde geen probleem op.

3.4.3 De installatie

Omdat de verneveling niet losgekoppeld kan worden, is er gebruik gemaakt van een fijne neveldop. Deze doppen komen het dichtst bij een hogedruk nevel. Er is een dop geplaatst op een leiding en deze leiding is aangesloten op een hogedrukspuit. Per bespuiting wordt vijf liter water met oplossing gebruikt. Het duurt ongeveer zes minuten om de vijf liter te vernevelen.

3.5 Resultaten(bijlage: 4, 5)

Na twee weken van dagelijks zes minuten vernevelen werden de stekken voor de eerste keer visueel beoordeeld. Bij de met echte meeldauw besmette *Cosmos* was vooral de echte meeldauw boven in de plant bestreden. De onderste bladeren hadden nog veel echte meeldauw sporen.

De *lavandula* toonde geen teken van besmetting met *Botrytis*.

De geraniums die met *Chalara* besmet waren lieten een verbetering zien, nadat ze behandeld waren met waterstofperoxide. Opvallend was dat de stekken die behandeld waren met waterstofperoxide opvallend veel nieuwe wortels hadden gevormd in vergelijking met de nul meting. De behaalde resultaten voldeden niet aan de verwachtingen.

De licht tegenvallende resultaten werden waarschijnlijk veroorzaakt doordat de contacttijd te kort was en één sproeier het gewas niet nat genoeg kreeg. Daarom zijn er in de derde en laatste testweek twee sproeiers bijgezet en werd er tien minuten met de verschillende doseringen waterstofperoxide over het gewas geneveld. Omdat het gewas geen tekenen van schade, veroorzaakt door waterstofperoxide, vertoonde is hoogste dosering in de laatste week fors verhoogd van 200 ppm naar 0,5% (Tabel 7). Door omstandigheden zijn er in de laatste week maar drie dagen verneveld.

Tabel 7: Gebruikte concentraties H_2O_2 in proef 2 laatste week

Concentratie H_2O_2 (ppm)	Dosering Oxyl Pro S per 20 liter
0	0
50 ppm	1 ml
100 ppm	2 ml
0,5%	100 ml

3.6 resultaten

Bij de hoogste concentratie drukte de vrijgekomen zuurstof de grond uit de kuipjes (Figuur 13).



Figuur 13: Stekmedium voor en na behandeling met 0,5% waterstofperoxide

Daarnaast loste de groene aanslag, die op het stekmedium was ontstaan, op. Het stekmedium voelde opvallend luchtig aan, maar was wel stevig.

Cosmos: Na het verhogen van de contacttijd verdween de hoeveelheid echte meeldauw op de plant snel. Dit gold voor elke dosering, ook voor de 0% dosering. Bij de allerhoogste en de nul dosering werd er een lichte verkleuring van het blad waargenomen. Ondanks de verhoging was niet alle meeldauw van het blad verdwenen(Tabel 8). Voornamelijk op de moeilijker te bereiken plaatsen

onder in de plant waren er nog echte meeldauwsporen op het blad aanwezig. Ook werden er *Botrytis* sporen op het blad waargenomen. Om het meetbaar te maken zijn van alle *Cosmos* de besmette bladeren geteld. Elke stek had ongeveer tien bladeren; vooral de onderste bladeren hadden nog veel meeldauw symptomen op het blad.

Tabel 8: Met echte meeldauw besmet blad

Concentratie(ppm)	Score	opmerking
0,0 ppm	2,16	Lichte blad verbranding
50 ppm	1,06	
100 ppm	1,46	
200 ppm/ 0,5%	0,84	Blad verbranding

Lavandula: Bij geen van de gewassen werd er een aantasting door *Botrytis* waargenomen ook niet bij de nul meting. Er zijn wel sporen op het blad waargenomen, maar deze veroorzaakten geen schade. Opvallend aan de *Lavandula* was, dat de onbehandelde *lavandula* stekken meer gedrongen waren en ook meer grondscheuten hadden. De *Lavandula* stekken die behandeld waren met 50 en 100ppm waterstofperoxide waren langgerekt en hadden weinig grondscheuten. De *lavandula* stekken die behandeld zijn met 200 ppm en 0,5% waterstofperoxide waren ook kort en gedrongen, maar hadden tevens niet zoveel grondscheuten als de onbehandelde partij.

Amsonia: Met dit gewas gebeurde weinig gedurende alle behandelingen. Ook bij de hoogste dosering werd er geen schade aan het gewas geconstateerd. Dit gewas werd vooral gebruikt om te zien of er schade aan het gewas zou ontstaan na dagelijks gebruik van waterstofperoxide.

Geranium: Bij de hoogste en laagste dosering kreeg het blad een grauwe kleur. De dosering met 100 ppm gaf de beste bladkleur. Bij alle doseringen met waterstofperoxide was er een duidelijke afname van *Chalara* te zien, ten opzichte van de nul meting (Tabel 9). Om het meetbaar te maken is de volgende verdeling gemaakt:

- 1: geen schade(Figuur 14)
- 2: schade op de steel(Figuur 15)
- 3: schade op steel en blad(Figuur 16)
- 4: zware schade over de gehele plant/ dood(Figuur 17)



Figuur 14: score 1 - Geen aantasting



Figuur 15: score 2 - Schade op de steel



Figuur 16: score 3 - Schade blad en steel



Figuur 17: score 4 - Ernstige schade veroorzaakt door Chalara

Tabel 9: Besmetting *Chalara* bij *Geranium*

Concentratie (ppm)	Score	opmerking
0,0 ppm	2,03	
50 ppm	1,35	Nieuwe wortels(Figuur 18)
100 ppm	1,30	Nieuwe wortels
200 ppm/ 0,5%	1,40	Nieuwe wortels/ bladverbranding



Figuur 18: Vorming nieuwe wortels bij *Geranium*

3.7 Conclusie

Uit de proeven blijkt dat waterstofperoxide geschikt kan zijn als fungicide. De schimmels werden bij twee aangetaste gewassen bestreden. Doordat er geen aantasting heeft plaatsgevonden bij het gewas *Lavandula* kan over de werking tegen *Botrytis* niets gezegd worden. Voor een goede contacttijd moet het gewas wel goed nat gemaakt worden. Er zijn echter ook nadelen: zo wordt het onderste bad niet bereikt en zal het waarschijnlijk ook niet werken op een dicht gewas. Wel werd *Chalara* effectief onderdrukt. Waarschijnlijk is dit te danken aan de sterke wortel ontwikkeling. Bij de dosering van 100 ppm herstelde de plant zich en kreeg een frisse groene kleur. Bij de dosering van 50 ppm werd *Chalara* gestopt, echter het gewas herstelde maar langzaam. Bij een besmetting met *Chalara* is het van belang dat het gewas weer snel tot groei komt. Bij de dosering 200 ppm/0,5% ging het gewas weer licht achteruit dit werd waarschijnlijk veroorzaakt doordat de bovenste wortels in het stekmedium waren verbrand. Hierdoor kreeg het gewas een groeiachterstand. Ook het blad had een grauwe kleur gekregen van de hoogste dosering waterstofperoxide. Het herstel tegen een schimmel als *Chalara* werd waarschijnlijk veroorzaakt door de snelle wortel ontwikkeling (Figuur 18) en toename van zuurstof in de bodem.

Proefopstelling 3 – Waterstofperoxide tegen dierlijke plagen

3.8 Materiaal en methoden

Voor de proef opstelling tegen dierlijke plagen is voornamelijk gebruikt gemaakt van de aanwezige plagen, dit was efficiënter dan het gewas zelf te infecteren (Tabel 10).

Tabel 10: Gebruikte gewassen en pathogenen

gewas	aantasting	Aantal planten
<i>Nepeta</i>	spint	15
<i>Persicaria</i>	spint	15
<i>Veronicastrum</i>	luis	15
<i>Campanula</i>	Varenrouwmug larve	15

Voor de bestrijding van dierlijke plagen zijn er drie doseringen met waterstofperoxide gebruikt, namelijk (Tabel 11):

Tabel 11: Dosering waterstofperoxide als insecticide

dosering	In ml per liter
0,5%	10ml
1%	20ml
3%	60ml

3.8.1 Besmetten met pathogenen

Voor de besmetting met varenrouwmug larve zijn er per dosering vijf planten gebruikt. Bij al deze planten zijn er vijf larve van de varenrouwmug toegevoegd. De planten zijn vervolgens 24 uur weggezet zodat de larve zich door de grond konden verspreiden. De overige aantastingen met luis en spint kwamen al voor op het gewas.

3.8.2 Bestrijdingsmethoden

Als eerste werd er voor alle doseringen een liter spuitvloeistof aangemaakt (Tabel 12).

Tabel 12: Aangemaakte doseringen

ml Oxyl Pro S	water
10 ml	990 ml
20 ml	980 ml
60 ml	940 ml

Daarna werd van elke dosering 50ml afgehaald. Deze 50 ml werd over de met varenrouwmug larve besmette grond gegoten (10ml per plant). De rest van de vloeistof werd in een plantenspuit gegoten. De met luis en spint aangetaste stekken werden hier vervolgens mee besproeid. Er werd evenveel vloeistof gebruikt als met een normale gewasbespuiting met een insecticide.

3.9 De resultaten(bijlage 6)

Varenrouwmug: Bij alle drie de doseringen begon het stekmedium te sissen en werd het stekmedium na een paar seconden omhoog gedrukt als een rijzende cake. Bij de 3% dosering klapte de

varenrouwmug larve uit elkaar en werden er vervolgens geen levende larve meer gevonden. Bij de andere twee doseringen werden niet alle varenrouwmug larve gedood. Bij de 3% dosering werd er schade aan de wortels waargenomen(

Tabel 13).

Tabel 13: Gemiddeld aantal gedode larve

Dosering (%)	score	opmerking
0,5%	0	
1,0%	2	
3,0%	5	Schade aan de wortels

Spint en luis: Gelijk na de eerste bespuiting werden de stekken geïnspecteerd. De spint leek verdwenen en de spint eieren waren spierwit geworden. De volgende morgen werden de stekken opnieuw gecontroleerd. De stekken zaten nog/weer? onder de spint en de eieren waren weer doorzichtig geworden. Wat opviel was dat de spint van bruin/groen naar rood was gekleurd. Deze veranderingen gold voor alle doseringen. Bij de hoogste dosering was het blad van de *Nepeta* verkleurd naar een grijs groene kleur.

De luizen waren wel bij alle doseringen verdwenen. Er werden echter geen dode luizen op de stekken gevonden. Waarschijnlijk hadden de luizen zich verplaatst naar een gunstigere omgeving. De volgende dag werden de gewassen die aangetast waren door spint opnieuw bespoten. Na 24 uur werden de gewassen opnieuw geïnspecteerd of de gewassen vrij van spint waren. Dit was niet het geval, bij alle doseringen waren er nog levende spint mijten te vinden. Bij de 3% dosering nam de schade aan het gewas toe en positieve resultaten bleven uit.

3.10 Conclusie

Waarschijnlijk is waterstofperoxide minder geschikt als een insecticide. De larve van de varenrouwmug en luizen werden wel enigszins bestreden, maar de spint ging niet dood. Chemische gewasbeschermingsmiddelen zijn waarschijnlijk effectiever in het bestrijden van deze plagen. Uitgangsmateriaal dient zoveel mogelijk vrij te zijn van ziekte en plagen en dus kan er geen risico worden genomen met middelen die de plaag niet voor 100% bestrijden.

4 Discussie en aanbevelingen

Op de vraag of waterstofperoxide meer dan een desinfectiemiddel is, kan waarschijnlijk een positief antwoord worden gegeven. Twee van de drie onderzochte deelvragen konden positief worden beantwoord. Toch blijven er echter vragen onbeantwoord en is er veel ruimte voor een vervolgonderzoek.

Uit literatuuronderzoek met betrekking tot de beworteling met waterstofperoxide bleek dat de werking bij zoete aardappels optimaal was bij 0,5 mM. Bij olijven werden bij 3,5% concentratie geen wortels gevormd. Uit het onderzoek in dit rapport is echter gebleken dat een concentratie van 3,5% veel te hoog is en dat dit wortels zelfs ernstig kan beschadigen. Bij het onderzochte gewas Fuchsia lag het optimum rond de 1,5 mM. De proeven waren slechts met één gewas gedaan. In de toekomst zouden er meer gewassen en rassen getest moeten worden om te kunnen vaststellen of dit optimum voor meer gewassen geldt.

Tevens werd het beste resultaat, met betrekking tot beworteling met waterstofperoxide, behaald in een hydroponic omgeving waarbij de stekken de gehele testperiode in water met waterstofperoxide werden gehouden. Ook herhalingen van deze test gaven hetzelfde beeld. Wat verder opviel was dat de concentraties van 3,5 mM en 5 mM hadden de zelfde score. Dit kan worden verklaard doordat het bakje met de 5mM concentratie bijna was omgevallen en snel bijgevuld is met normaal water. Dit leidde hoogstwaarschijnlijk tot een verdunning van de concentratie waterstofperoxide, waardoor het resultaat bij de dosering van 5 mM niet betrouwbaar is. Op dit moment worden bij de Gebroeders Alkemade de stektrays ingeregend met regenwater. Het zou beter zijn als ze worden ingeregend met een mengsel van 100 ppm waterstofperoxide in het regenwater. De stekken hebben op die manier een lange contacttijd en de verwachting is dat dit de beworteling ten goede zal komen. Uit de literatuurstudie en het onderzoek over waterstofperoxide als fungicide is gebleken dat echte meeldauw goed met waterstofperoxide te bestrijden is. In het huidige onderzoek is de waterstofperoxide boven het gewas verneveld dit resulteerde dat de echte meeldauw op de onderste bladeren niet werd bestreden. Het zou echter beter zijn als het gewas met een hogedrukspuit wordt bespoten, zodat de waterstofperoxiden diep in het gewas kan dringen. De bespuitingen zouden dan wel bij donker weer moeten plaatsvinden om het gewas lang genoeg nat te houden.

Het besmetten van *Lavandula* met *Botrytis* was niet gelukt. Om het gewas te besmetten met *Botrytis* was het beter geweest als het gewas eerst handmatig beschadigd was. Op die manier zouden de *Botrytis* sporen makkelijker het gewas binnen kunnen dringen. Ondanks dat de besmetting bij *Lavandula* was mislukt viel er wel wat op aan het gewas. Bij de proeven met de *Lavandula* werd duidelijk dat waterstofperoxide de apicale dominantie van de topspruit niet remt. Sterker nog, de onbehandelde stekken waren korter en gaven meer grondscheuten. Dit, terwijl de behandelde stekken in de lengte waren gegroeid. Bij de proeven met waterstofperoxide als fungicide gaven de nulmeting en de hoogste dosering in sommige gevallen hetzelfde resultaat. Dit kan verklaard worden doordat er met de hoogste dosering werd geëindigd en de volgende dag met de laagste dosering werd begonnen. De leidingen werden wel nagespoeld, maar waarschijnlijk was dit te kort. Om vermenging te voorkomen zou het beter zijn geweest als er voor elke dosering een eigen hogedrukspuit en nevelleiding gebruikt zou zijn. Ook zijn er in dit onderzoek slechts een paar schimmels gebruikt en niet elke infectie slaagde. In een vervolgonderzoek kan het interessant zijn om te zien welke schimmels er door waterstofperoxide worden bestreden/onderdrukt. Een ander punt is dat de hogedruk verneveling ongeveer 0,5 liter water per uur, per m² verbruikt. In de testsituatie werd er een liter per minuut verneveld en later bijna drie liter per minuut. Of dit gevolgen heeft voor

de schimmelbestrijdende werking moet onderzocht worden. Als er gekeken wordt naar waterstofperoxide als bestrijder van dierlijke plagen wordt duidelijk dat bij een concentratie van 3% varenrouwmug larve enigszins werden bestreden. Het nadeel van een hoge concentratie is dat er wortelverbranding optreedt dit maakt dat werking even erg is als de plaag. Daarom moet er worden afgevraagd of het wel nut heeft om waterstofperoxide tegen varenrouwmug larve in te zetten. Daarnaast kan er ook bladverbranding optreden als het blad wordt geraakt. Tevens zal er nog onderzoek gedaan moeten worden naar de effecten van waterstofperoxide op de bodem om meer inzicht te krijgen in wat waterstofperoxide doet met het bodemleven en de structuur van de grond. Uit het onderzoek bleek verder dat waterstofperoxide waarschijnlijk geen werking tegen spint heeft dit in tegenstelling tot wat er door sommige hobbytuinders beweerd werd. Waterstofperoxide is een veelzijdige stof waarover nog niet veel bekend is. Om meer uit de mogelijkheden van waterstofperoxide te halen is meer onderzoek noodzakelijk.

Financiële haalbaarheid

Veel plannen lopen stuk doordat ze financieel niet haalbaar zijn. In deze paragraaf wordt bekeken of dit ook voor de drie behandelingen met waterstofperoxide uit dit rapport geldt.

Wortelbevordering; Om de trays nat te maken met 100 ppm waterstofperoxide is er twee liter water nodig per tray. De totale productie is 18.000.000 stekken. Dit zijn 180.000 trays wat neerkomt op 360.000 liter water. Er wordt 100ml waterstofperoxide per 1000 liter water gebruikt. Het totale verbruikt komt neer op $100\text{ml} \times 360 = 36000\text{ml}$. Dit komt neer op 36 liter waterstofperoxide per jaar. Voor een liter waterstofperoxide wordt gemiddeld 4,75 euro per liter betaald; $4,75 \times 36 = 171$ euro. Om de waterstofperoxide in de leiding te doseren is er een dosatron nodig. Deze kost 1.500 euro. De gemiddelde levensduur van een dosatron is ongeveer 10 jaar. Er wordt met 5% rente gerekend. De totale kosten komen dan neer op $171 + 150 + 75 = 396$ euro per jaar. De voordelen zijn waarschijnlijk minder uitval en de stekken zullen minder lang in de bewortelingsruimte staan. Stel dat de uitval met 0,25% wordt beperkt levert dit 45.000 stekken extra op. Een gemiddelde prijs van een stek is 0,21 eurocent en het totaal aantal extra stekken zal dan 9.450 euro opleveren. Dit is ruim voldoende om de kosten te dekken.

Fungicide; De verneveling gebruikt ongeveer 0,5 liter per m². Het bedrijf is 28.000m² groot. Het verbruik komt dan neer op 14.000 liter per dag. Per maand is dit 420m³. Ook voor deze behandeling werd het beste resultaat behaald met 100ppm. De kosten per maand bedragen in dit geval $42 \times 4,75 = 199,5$ euro. Of dit haalbaar is ligt aan de hoeveelheid schimmels die met waterstofperoxide worden bestreden. Hiervoor is er meer onderzoek nodig. Voor een gemiddelde breed werkende fungicide wordt ongeveer 100 euro per liter betaald. De dosering van deze fungicide is gemiddeld 100ml op 100 liter water. Op een hectare wordt er 600 liter gespoten. Om het hele bedrijf te spuiten is er dus 1680 liter nodig en 1,68 liter middel. De kosten bedragen dan 168 euro. Er wordt gemiddeld twee keer per maand gespoten waardoor de kosten voor de fungicide dan 336 euro per maand bedragen. Ook levert het gebruik van waterstofperoxide een besparing met betrekking tot arbeid op en geeft het minder belasting aan het milieu.

Insecticide: Doordat de resultaten niet waren zoals verwacht, heeft het geen zin om de financiële haalbaarheid te berekenen.

Bibliografie

- Arkesteijn, M., & Pijnakker, J. (2011). lastige varenrouwmug bestrijden met aaltjes en roofmijten. *onder glas*, 44-45.
- Asl moshtaghi, E., & Shahsavar, E. R. (2011). The Effects of IBA and H₂O₂ on Rooting of 2 Olive Cultivars. *Journal of chemical Health Risks*, 1(1): 35-38.
- Bezemer, J., & Maas, A. A. (2012). Nieuwe techniek tegen groeiremming: schot in duister, maar met effect . *onder glas*, 9 48-49.
- Coenen, T. (2015). *Chalara elegans* veroorzaker zwart wortelrot. *Eurofins agro*, 3-2.
- Deng, X.-P., Cheng, Y.-J., Wu, X.-B., Kwak, S.-S., Chen, W., & Egrinya, A. (2012). Exogenous hydrogen peroxide positively influences root growth and exogenous hydrogen. *Australian journal crop science*, AJCS 6(11):1572-1578.
- Gechev, T. S., & Hille, J. (2005). Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death. *PMC*, 168(1): 17–20.
- Gilbert, S. F. (2013). *developmental biology*. Helsinki: University of Helsinki, Swarthmore college.
- Govrin E, M., & Levine, A. (2000). The hypersensitive response facilitates plant infection by the necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea*. *Current Biology*, Volume 10, Issue 13, p751–757.
- Hameed, A., Farooq, S., Iqbal, N., & Arshad, R. (2004). Influence of Exogenous Application of Hydrogen Peroxide on Root and Seedling Growth on Wheat (*Triticum aestivum* L.). *INTERNATIONAL JOURNAL OF AGRICULTURE & BIOLOGY*, 1560–8530/06–2–366–369.
- Hanemaaijer, p., & Jong, C. d. (1992). schimmels. In p. Hanemaaijer, & C. d. Jong, *gewasbescherming omschreven* (pp. 193-194). Veenendaal: MK publishing.
- Heidstra, R. (2015). Vrije radicalen je moet er niet te veel van hebben. In R. Heidstra, *Cel herstel concept* (p. 92). Enschede: CITT.
- Ivanchenko, M., Os den, D., Monshausen, G., Dubrovsky, J., Bednárová, A., & Krishnan, N. (2013). Auxin increases the hydrogen peroxide (H₂O₂) concentration in tomato (*Solanum lycopersicum*) root tips while inhibiting root growth. *NCBI*, 112(6):1107-16.
- Karajeh, M. (2008). Interaction of Root-Knot Nematode (*Meloidogyne Javanica*) and Tomato As Affected By Hydrogen Peroxide. *Journal of Plant Protection Research*, Volume 48, Issue 2, Pages 181–187.
- Long, J. J. (2012). *Exogenous Hydrogen Peroxide Inhibits Root Gravitropism and Induces Horizontal Curvature of Primary Roots During Gras Pea Germination*. Lanzhou,China: Lanzhou University .
- Mehdy, M. C. (1994). Active Oxygen Species in Plant Defense against Pathogens. *Plant Physiol.* , 105: 467-472.

Nir L. Gil-ad, A. M. (1999). *Evidence for rapid breakdown of hydrogen peroxide by Botrytis cinerea*. Federation of European Microbiological Societies.

van den Berg, H. (2013). Bladaal Pioen; vasteplanten. *Bloembollennisie*, 49.

Walker, M. (2008). *Black Root Rot: Thielaviopsis basicola*. Ithaca, NY 14853-5904, USA: Cornell university, Plant Pathology and Plant-Microbe Biology Section.

Zheng, Y., Dunets, S., & Cayan, D. (2012). *Stabilized Hydrogen Peroxide*. Ontario, Canada: University of Guelph, Guelph .

Niet wetenschappelijke bronnen

European Space Agency(Z.D.). Groene raketbrandstof. Geraadpleegd op 1 mei 2016.

[http://www.esa.int/dut/ESA_in_your_country/The_Netherlands/Groene_raketbrandstof/\(print\)](http://www.esa.int/dut/ESA_in_your_country/The_Netherlands/Groene_raketbrandstof/(print))

Groenkennisnet(Z.D.). Informatie over spintmijt. Geraadpleegd op 30 april 2016.

<https://wiki.groenkennisnet.nl/display/BEEL/Spintmijt>

Groenkennisnet(Z.D.). Informatie over varenrouwmug. Geraadpleegd op 30 april 2016.

<http://databank.groenkennisnet.nl/varenrouwmug.htm>

Hura(2013). Hoe waterstofperoxide in de tuin. Geraadpleegd op 20 maart 2016.

<http://e2r.obolen.com/hoe-waterstofperoxide-in-de-tuin>

Manic botanix(2016). Fungus gnats in coco coir. Geraadpleegd op 3 mei 2016.

<http://manicbotanix.com/fungus-gnats-in-coco-coir/>

NWFS(Z.D.). Fungus in *Fuchsia*. Geraadpleegd op 1 april 2016.

<http://www.nwfuchsiasociety.com/pests.htm>

Rijks Universiteit Groningen(2014). Peroxisomen voor scholieren. Geraadpleegd op 20 maart 2016.

<http://www.rug.nl/research/molecular-cell-biology/informationfor/>

Water iq(2012). Gestabiliseerde waterstofperoxide. Geraadpleegd op 20 maart 2016.

http://www.wateriq.nl/wp-content/uploads/2012/11/Productinformatie-Water-IQ_Huwa-San-AGRO-TR-50.pdf

Bijlage 1: Resultaten beworteling, stekken de gehele
behandel periode in een concentratie waterstofperoxide.
(Ruwe data)

Concentratie	0,0mM	0,5mM	1,5mM	2,5mM	3,5mM	5,0mM
score	1	1	4	4	1	2
	2	1	5	3	4	3
	4	1	5	4	4	3
	3	1	3	3	3	4
	1	2	4	2	2	3
	1	1	5	5	1	2
	1	2	5	5	1	1
	1	1	3	3	4	2
	1	4	5	3	3	2
	2	1	4	2	3	4
som	17	15	43	34	26	26
gemiddelde						
score	1,7	1,5	4,3	3,4	2,6	2,6

legenda	gewas	0	Fuchsia juicy berry
	legenda	0	dood
		1	niets
		2	verdikking
		3	callus
		4	enkele wortel
		5	wortels

Bijlage 2: Resultaten beworteling, 24 uur in een concentratie waterstofperoxide (ruwe data).

Concentratie	0,0mM	0,5mM	1,5mM	2,5mM	3,5mM	5,0mM
Score	5	0	4	1	5	5
	5	1	1	1	2	5
	5	1	4	5	1	5
	1	4	4	2	5	2
	2	5	5	5	4	5
	5	5	5	2	1	4
	2	2	5	4	3	5
	4	4	5	4	3	5
	2	5	2	4	1	5
	5	1	4	5	5	5
	3	5	5	5	5	5
	5	1	5	5	5	5
	3	2	2	5	5	3
	4	5	1	5	5	5
	2	5	5	5	5	3
	2	4	4	2	1	5
	4	4	4	5	1	5
	2	5	5	5	4	5
	4	1	5	4	5	1
	4	5	5	4	5	4
	1	5	5	1	5	4
	4	2	1	5	5	1
	1	5	4	5	3	4
	1	2	3	4	5	3
	5	2	1	2	5	5
	2	4	5	2	5	1
	1	5	4	1	5	4
	5	4	5	1	5	5
	5	3	3	1	5	5
	1	2	5	5	5	5
	1	4	5	5	5	5
	3	5	3	5	5	5
	3	5	5	5	5	2
	1	5	4	5	4	4
	5	5	4	1	5	5
	4	4	1	1	5	3
	3	4	1	4	5	2
	4	1	5	5	5	5
	4	4	5	5	4	1
	1	4	1	5	1	5
Som	124	140	150	146	163	161
gemiddelde score	3,1	3,5	3,75	3,65	4,075	4,025

legenda	gewas		Fuchsia juicy berry
	legenda	0	dood
		1	niets
		2	verdikking
		3	callus
		4	enkele wortel
		5	wortels

Bijlage 3: Resultaten beworteling, 48 uur in een concentratie waterstofperoxide (ruwe data).

Concentratie	0,0mM	0,5mM	1,5mM	2,5mM	3,5mM	5,0mM
	5	5	5	5	5	5
	5	4	5	5	5	5
	4	4	5	5	5	5
	4	5	5	5	5	5
	2	4	5	5	5	5
	2	5	5	5	5	5
	1	5	5	5	5	5
	2	5	5	5	5	5
	2	5	5	5	5	5
	1	4	5	5	5	5
	1	5	5	5	5	4
	1	5	5	5	5	4
	1	2	5	5	4	4
	2	5	5	5	4	4
	2	5	5	5	4	4
	1	5	5	5	4	3
	1	5	5	5	3	3
	1	1	3	4	3	3
	1	4	1	1	3	1
	1	1	1	1	3	1
	5	4	5	5	5	5
	5	4	5	5	5	5
	5	5	5	5	5	5
	4	3	5	5	5	5
	4	5	5	5	5	5
	5	5	5	5	5	5
	5	4	5	5	5	5
	5	4	5	5	5	5
	5	5	5	5	5	5
	5	5	4	5	5	5
	5	5	4	5	4	5
	5	4	4	5	4	5
	5	5	3	5	4	5
	5	5	3	5	4	5
	5	5	1	5	4	5
	5	5	4	5	4	5
	4	5	3	5	4	5
	1	1	3	5	3	5
	2	2	3	4	3	1
	5	5	3	3	3	1
som	130	170	170	188	175	173
gemiddelde score	3,25	4,25	4,25	4,7	4,375	4,325

legenda	gewas	0	Fuchsia juicy berry
	legenda	0	dood
		1	niets
		2	verdikking
		3	callus
		4	enkele wortel
		5	wortels

Bijlage 4: Resultaten schimmelbestrijding *Cosmos*

Concentratie	0 ppm	50ppm	100ppm	200ppm	Legenda	gewas	<i>Cosmos</i> met echte meeldauw besmette bladeren
	4	3	2	2	score		
	3	1	3	2			
	2	0	0	2			
	4	2	2	0			
	1	2	0	0			
	3	1	1	2			
	4	2	1	2			
	2	0	4	2			
	1	2	0	1			
	2	0	1	2			
	3	3	0	1			
	3	1	2	0			
	0	2	2	2			
	0	3	2	3			
	2	4	3	0			
	4	2	2	1			
	0	2	2	1			
	5	2	0	1			
	3	0	3	0			
	0	2	0	0			
	2	1	1	2			
	1	1	2	0			
	4	0	2	0			
	3	1	3	2			
	2	2	0	0			
	4	1	2	2			
	2	1	3	0			
	2	0	2	0			
	4	0	2	0			
	4	2	1	1			
	4	0	2	0			
	4	0	1	2			
	5	2	2	2			
	6	1	0	1			
	1	1	0	2			
	2	1	0	0			
	2	0	2	0			
	1	0	4	1			
	0	0	2	2			
	1	1	3	0			
	0	0	0	0			
	2	2	1	0			
	1	2	2	2			
	2	1	0	0			

2	1	1	1
0	2	2	1
1	0	1	2
0	0	2	2
2	1	2	1
0	4	4	1
1	2	2	0
0	0	0	0
2	0	3	0
3	1	0	0
0	0	3	0
2	1	2	0
2	1	2	0
0	2	2	2
0	1	2	3
1	3	4	0
2	2	3	1
1	2	1	2
2	0	2	4
1	0	2	2
0	1	2	2
1	0	1	0
3	0	0	0
3	2	1	0
0	0	3	2
5	0	1	0
6	0	1	0
3	0	2	0
4	0	1	2
2	0	0	1
3	0	0	0
0	0	2	0
3	0	0	0
2	0	0	0
4	0	0	0
3	2	3	0
4	2	2	0
0	2	0	0
3	0	0	1
4	2	1	2
3	0	0	0
2	0	2	0
1	0	0	1
2	1	0	0
2	3	1	0
4	2	2	2

	2	2	4	1
	2	2	0	0
	4	0	0	0
	3	2	0	0
	3	2	0	0
	2	2	3	0
	1	0	2	1
	2	0	1	0
	2	1	2	2
	1	1	2	2
som	216	106	146	84
gemiddelde	2,16	1,06	1,46	0,84

Bijlage 5: Resultaten schimmel bestrijding Geranium(ruw data)

Concentratie	0 ppm	50ppm	100ppm	200ppm	legenda	gewas	Geranium
1	1	1	1	1	score	1	geen schade
4	1	1	4	4		2	schade op steel
1	4	1	1	1		3	schade blad en steel
2	2	1	3	3		4	zware schade
1	1	1	2	2			
4	1	1	2	2			
2	1	1	3	3			
1	1	1	1	1			
1	1	1	3	3			
4	1	1	1	1			
1	1	1	3	3			
1	1	1	1	1			
1	1	1	2	2			
1	1	1	1	1			
2	1	1	1	1			
1	4	4	1	1			
1	1	2	1	1			
1	1	1	1	1			
1	1	1	1	1			
2	2	1	4	4			
4	1	1	1	1			
1	1	1	3	3			
1	1	1	1	1			
4	1	1	4	4			
2	1	1	1	1			
2	4	1	1	1			
1	1	1	1	1			
1	1	1	1	1			
2	1	4	3	3			
4	1	4	3	3			
2	1	1	4	4			
2	1	1	3	3			
3	1	1	1	1			
2	1	1	1	1			
4	1	4	1	1			
3	1	1	2	2			

1	1	1	1
1	1	1	1
1	4	1	1
1	1	1	1
1	2	2	4
2	1	2	1
1	4	1	3
2	1	1	1
3	1	4	4
1	1	1	1
3	1	1	1
1	1	1	1
2	1	1	1
1	1	1	1
4	1	1	1
1	1	1	1
2	1	1	1
4	1	1	1
3	1	1	1
1	1	1	1
3	1	1	1
2	1	1	1
1	1	1	1
3	3	1	1
3	2	1	1
1	1	1	1
4	1	1	1
4	1	1	1
3	1	1	1
3	1	1	1
1	1	1	1
4	1	1	1
4	4	1	1
4	1	1	1
1	2	1	1
4	4	1	1
1	1	1	1

	2	1	1	1
	3	1	1	1
	4	1	1	1
	1	1	1	1
	1	1	1	1
	1	1	1	1
	1	4	1	1
	1	1	1	1
	1	1	1	2
	1	1	2	1
	4	1	2	1
	4	1	4	4
	4	1	1	1
	1	3	1	1
	1	1	4	1
	4	1	1	1
	1	1	2	1
	1	1	1	1
	1	2	3	1
	1	1	1	1
	3	1	1	1
	1	2	2	1
	1	1	1	1
	1	1	1	1
	2	1	1	1
	3	1	1	1
	1	1	1	1
som	203	135	130	144
mean	2,03	1,35	1,3	1,44

Bijlage 6: resultaten bestrijding varenrouwmug larve

concentratie	0,50%	1,00%	3,00%
score	0	2	5
	0	1	5
	0	3	5
	0	2	5
	0	2	5
som	0	10	25
gemiddeld	0	2	5

legenda	gewas	<i>Campanula</i>
score		aantal gedode larve