



Pilot H₂O₂ in phalaenopsis

Effect van doseren gestabiliseerde H₂O₂ op groei en microbiom

Jim van Ruijven, Marco Hofman, Marta Streminska

Rapport WPR-1299

Referaat

Met zilver gestabiliseerde waterstofperoxide wordt gebruikt voor het schoonmaken en schoon houden van irrigatieleidingen. Telers van phalaenopsis zagen een verbeterde groei van het gewas na stoppen met dosering van waterstofperoxide. In een pilot op een praktijkbedrijf is onderzocht wat het effect is van de dosering van 30 mg/L met zilver gestabiliseerde waterstofperoxide op het gewas: groei, uitval en microbiel ecosysteem van wortel en blad. Tijdens de eerste 14 weken van de teelt is intensief gemeten, maar zijn slechts kleine verschillen waargenomen. De behandeling met waterstofperoxide maakte een iets groter bladoppervlak en had iets minder wortelpunten. Daarnaast was de waslaag op het blad iets dunner, wat het risico op ziekten iets vergroot. Kleine verschillen in microbiom zijn gevonden, maar de verschillen in de tijd waren groter dan de verschillen tussen de behandelingen. Visueel waren er na deze periode geen verschillen waarneembaar en ook bij het verder volgen van het gewas tot het einde van de teelt zijn geen visuele verschillen gevonden. Het doseren van waterstofperoxide had daarmee geen significant negatief effect op de teelt, maar heeft ook niet de uitval van planten door ziekten voorkomen.

Abstract

Silver stabilised hydrogen peroxide is used by greenhouse growers to clean irrigation lines. Growers of phalaenopsis saw an improved growth of the crop after stopping the dosage of hydrogen peroxide. In a pilot test in a commercial company is the effect of 30 mg/L silver stabilized hydrogen peroxide on the crop investigated: growth, loss of plants and microbial ecosystem rhizosphere and phyllosphere. During the first 14 weeks of cultivation an intensive measurement protocol was applied. However, just minor differences were observed. Treatment with hydrogen peroxide create a little bigger leaf area, but had a little less root tips. In addition, the wax layer on the leaves was a bit thinner, which increases the risk for diseases. Small differences were found in the microbial ecosystem, but differences in time were bigger than differences in treatments. No visual differences were found after this period and further follow-up of the crop until the end of cultivation did not result in visual differences. Dosing of hydrogen peroxide therefore had no significant effect on cultivation, but it also did not prevent loss of plants by diseases.

Rapportgegevens

Rapport WPR-1299

Projectnummer: 3742345700

DOI: <https://doi.org/10.18174/650893>

Disclaimer

© 2024 Wageningen, Stichting Wageningen Research, Wageningen Plant Research, Business unit Glastuinbouw, Postbus 20, 2665 MV Bleiswijk T 0317 48 56 06, www.wur.nl/plant-research.

Kamer van Koophandel nr.: 09098104

BTW nr.: NL 8113.83.696.B07

Stichting Wageningen Research. Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, 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 Stichting Wageningen Research.

Stichting Wageningen Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Adresgegevens

Wageningen University & Research, BU Glastuinbouw

Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk

Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk

T +31 (0)317 - 48 56 06

F +31 (0)10 - 522 51 93

glastuinbouw@wur.nl

wur.nl/glastuinbouw

Inhoud

1	Inleiding	5
	1.1 Aanleiding	5
	1.2 Doel	5
	1.3 Aanpak	5
	1.4 Organisatie	5
2	Materiaal en methode	6
	2.1 Proefopzet	6
	2.2 Analyses en metingen	6
3	Resultaten	8
	3.1 Analyses water	8
	3.2 Gewasmetingen	9
	3.3 Analyses microbioom	13
	3.4 Ziekten & plagen	17
	3.5 Visuele beoordeling	18
4	Discussie	19
5	Conclusies	20
	Literatuur	21
	Bijlage 1 Nutriënten voeding en drain	22
	Bijlage 2 Opgenomen nutriënten	23
	Bijlage 3 Microbiële taxonomie	24

1 Inleiding

1.1 Aanleiding

Telers van phalaenopsis gebruiken (gestabiliseerde) waterstofperoxide voor het schoonmaken en schoon houden van hun irrigatieleidingen. Hiervoor wordt tijdens de irrigatie een vaste concentratie waterstofperoxide toegediend, die niet volledig is uitgereageerd als de voedingsoplossing de sproeiers verlaat. Daarnaast bevat het product naast de werkzame stof H_2O_2 nog een aantal stoffen die zorgen voor stabiliteit of aanvullende werkzaamheid van het product (bijvoorbeeld: organische zuren, zilver). Het directe effect van een geformuleerd waterstofperoxide product op het gewas is niet bekend. In de praktijk werd groeivertraging waargenomen en bij stoppen met dosering van waterstofperoxide werd deze groeiremming weer opgeheven.

1.2 Doel

Vaststellen in een praktijkpilot wat het effect is van een geformuleerd waterstofperoxideproduct (Huwasan) op de groei van een gewas (phalaenopsis) en het microbioom in het substraat en rond de wortels.

1.3 Aanpak

Op een commercieel teeltbedrijf zijn twee behandelingen toegepast: een controle zonder dosering van waterstofperoxide en een behandeling met 30 mg/L zilver gestabiliseerde waterstofperoxide, meegegeven met iedere irrigatiebeurt.

1.4 Organisatie

De proef is uitgevoerd bij Optiflor. De teelt is vanuit Optiflor begeleid door Vincent van Dijk, die verantwoordelijk was voor de juiste irrigatie en de metingen aan het gewas. Vanuit Wageningen University & Research was Jim van Ruijven projectleider en Marco Hofman verantwoordelijk voor het verzamelen en analyseren van de watermonsters. Vanuit Glastuinbouw Nederland is het project begeleid door in eerste instantie Ingeborg Schouten en later door Liesbeth Nijs.

2 Materiaal en methode

2.1 Proefopzet

Phalaenopsis wordt bij Optiflor geteeld op beweegbare tafels die door de kas heen verplaatsen tijdens de teelt. In totaal zijn 4000 planten per week opgepot in 12 cm potten met bark als groeimedium. Per teelttafel staan 800 planten, dus er zijn 5 teelttafels in totaal per week, waarvan er twee per behandeling gebruikt zijn. De te volgen tafels worden op de achterste twee tafelbanen in de kas gehouden, waarbij de banen als aparte kraanvakken behandeld kunnen worden. Om verschillen in klimaat te voorkomen worden de tafels vastgezet vooraan de tafelbanen. Door overlap van de berekening van de ene baan naar de andere baan, kunnen alleen de planten binnen de railbuizen (onder de tafels) gebruikt worden voor bemonstering. Dit zijn 400 planten per tafel. Per behandeling zijn dus 800 planten beschikbaar.

De planten zijn in de week van 8 april in de kas geplaatst en zijn intensief gevolgd tot 14 juli. De behandeling met waterstofperoxide heeft plaatsgevonden tot 4 september. De planten zijn door de teler daarna nog verder gevolgd en er zijn een aantal losse metingen uitgevoerd in oktober 2023 en januari 2024 naar vers- en drooggewicht.

Behandeling A is de controle, waarbij geen waterstofperoxide wordt gedoseerd. Alleen bij het afsluiten van een gietbeurt wordt een lage dosering (2 – 5 mg/L) toegediend, om de leidingen tussen gietbeurten schoon te houden. Bij Behandeling B wordt tijdens het irrigeren continu 30 ppm Huwasan TR-50 meegedoseerd aan de voedingsoplossing.

2.2 Analyses en metingen

Voor het verzamelen van drainwater zijn bij de start van de gietbeurt een aantal planten in dichte buitenpotten geplaatst. Na de gietbeurt zijn de buitenpotten weer verwijderd. Nutriënten, pH en EC en zware metalen en zilver zijn geanalyseerd door een routinelab. Voor de metingen aan de plant door Optiflor zijn verschillende planten gelabeld. Voor meting van fusarium in drainwater is 2 L water opgevangen en gefilterd met 0.22 µm filter. Vervolgens is het DNA geïsoleerd uit het filter en met TaqMan PCR geanalyseerd op *F. oxysporum*, *F. solani* en *F. proliferatum*. De microbiom analyse is op drie momenten tijdens de teelt uitgevoerd op basis van sequenties van 16S rRNA gen (aanwezig in alle bacteriën).

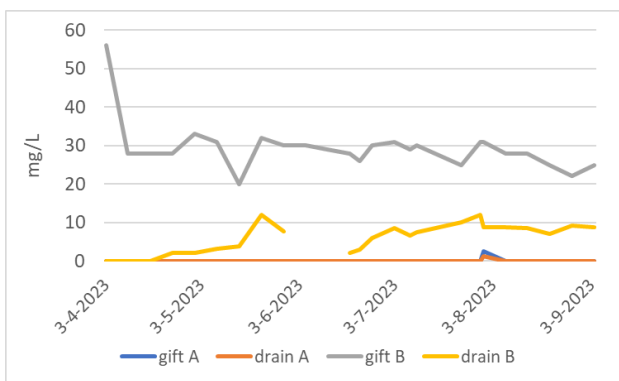
Tabel 1 *Overzicht analyses en metingen tijdens de pilot.*

Wat	Wie	Frequentie	Opmerkingen
Nutriënten gift en drain	Optiflor	1x per maand	1 per behandeling
Zware metalen en zilver	Optiflor	1x per maand	1 per behandeling
pH en EC gift	Optiflor	Iedere gietbeurt	beide behandelingen
Concentratie H ₂ O ₂	Optiflor	Iedere gietbeurt	Teststrookjes
Stapeling nieuw blad	Optiflor	Iedere 2 weken	26 planten per behandeling
Versgewicht planten	WUR	Juli (hele plant) en oktober 2023 (wortels en blad) en januari 2024 (wortels en blad)	7 planten per behandeling
Drooggewicht planten	WUR	Juli 2023 en Januari 2024	7 planten per behandeling
Lengte- en breedtegroei blad	Optiflor	Iedere 2 weken	6 planten per behandeling
Aantal actieve wortelpunten	Optiflor	Iedere 2 weken	26 planten per behandeling
Aantal zieke planten	Optiflor	Continu monitoren	Per behandeling vastleggen (hoeveel, welke symptomen, wanneer, etc.)
Aanwezigheid potworm	Optiflor	Continu monitoren	Per behandeling vastleggen
<i>Fusarium</i> in drainwater	WUR	1x per maand	qPCR, 2 L per sample
<i>Rhizoctonia</i>	Optiflor		symptomen bekijken
Microbioom op bladeren/wortels	WUR	Start, midden en einde teelt	5 planten per keer per behandeling
Waslaag op blad	WUR	Einde teelt	3 planten per behandeling
Opname elementen door het gewas	WUR	Einde teelt	5-10 planten per behandeling, gepoold sample maken
Visuele eindbeoordeling	Optiflor	Einde teelt	

3 Resultaten

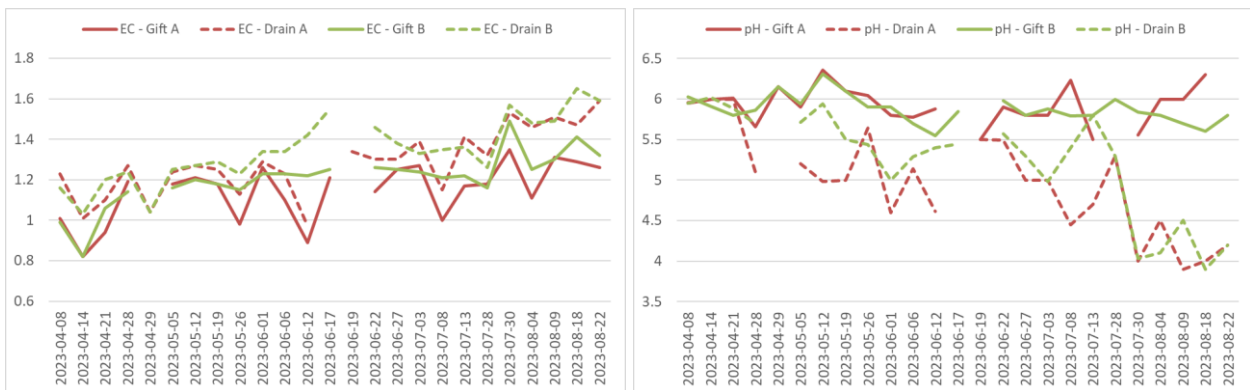
3.1 Analyses water

De gewenste concentratie waterstofperoxide in de proef voor behandeling B was 30 ppm (=mg/L). In Figuur 3-1 is de gemeten concentratie waterstofperoxide weergegeven. Na een eerste te hoge dosering van het project is de gewenste concentratie gemeten in de gift. Eind juli is een lage concentratie waterstofperoxide gevonden in behandeling A, maar deze is zo laag, dat hiervan geen effect verwacht mag worden op het gewas. Op 5 en 12 juni zijn geen metingen van het drainwater uitgevoerd bij behandeling B. De concentratie in het drainwater lijkt gedurende de teelt op te lopen tot een waarde van ongeveer 10 mg/L. In de eerste weken wordt geen waterstofperoxide gemeten, wellicht dat het hier reageert met makkelijk oxideerbare organische stoffen die daarna zijn afgebroken of zijn weggespoeld.



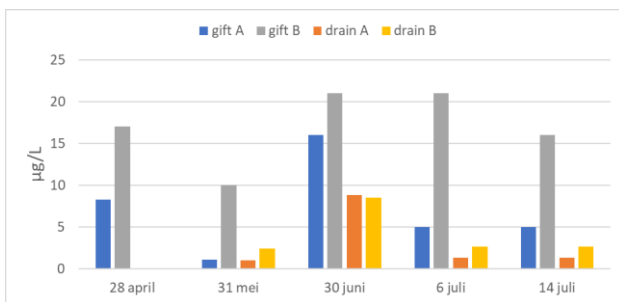
Figuur 3-1 Concentraties waterstofperoxide in gift en drain (A = onbehandelde controle; B = 30 mg/L H₂O₂).

Bij elke gietbeurt is zowel de EC als de pH van het gietwater en het drainwater door Optiflor gemeten. In Figuur 3-2 zijn de metingen van EC (links) en pH (rechts) in de voedingsoplossing en drain van beide behandelingen weergegeven. De EC in de voedingsoplossing loopt langzaam op van 1 mS/cm bij de start naar 1.3 mS/cm na 14 weken. De EC van de drain loopt iets sterker op, maar er is zowel in drain als in gift nauwelijks verschil te zien tussen beide behandelingen. De pH in de drain loopt sterk terug, maar is voor beide behandelingen hetzelfde. De metingen voor nutriënten zijn weergegeven in Bijlage 1, maar er zijn geen verschillen gevonden die veroorzaakt kunnen worden door de behandelingen.



Figuur 3-2 Analyses van EC (links) en pH (rechts) van de voedingsoplossing en drainwater (A = onbehandelde controle; B = 30 mg/L H₂O₂).

In de analyse van zware metalen in het water wordt ook gekeken naar zilver (de stabilisator in de toegepaste H_2O_2). In Figuur 3-3 wordt de concentratie zilver in de voedingsoplossing en het drainwater weergegeven, op 28 april is zilver in de drain niet gemeten. Zowel in behandeling A als in behandeling B wordt zilver teruggevonden, met hogere concentraties in behandeling B. Zilver in behandeling A komt waarschijnlijk uit het bijgevoegde drainwater en de kleine hoeveelheid waterstofperoxide die wordt meegegeven in de laatste 2 minuten van de watergift (bereikt niet de planten). De meting voor behandeling A op 30 juni geeft ook hogere concentraties zilver, in zowel gift als drain. Het lijkt erop dat de leidingen hier voor de gietbeurt niet voldoende zijn doorgespoeld, of dat er per ongeluk toch waterstofperoxide is gedoseerd (al blijkt dit niet uit de metingen van de concentratie H_2O_2). Vanuit de literatuur is bekend dat planten zilver kunnen opnemen en daar kunnen leiden tot verminderde groei van wortels en blad (Yan & Chen, 2019). Schadegrenzen voor phalaenopsis zijn niet bekend. Ook voor het milieu is zilver een toxische stof voor waterorganismen (Moreno-Garrido et al., 2015). Metingen in een eerder project ook bij Optiflor lieten vergelijkbare waarden voor zilver zien in voedingsoplossing en drainwater.



Figuur 3-3 Concentratie zilver ($\mu\text{g/L}$) in gift en drain (A = $-H_2O_2$; B = $+H_2O_2$).

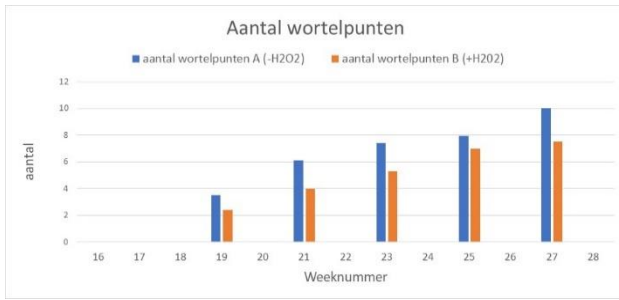
Ook is gekeken naar verschillen in de aanwezigheid van fusarium in het drainwater. De resultaten hiervan zijn weergegeven in Tabel 2. Opvallend is dat de behandeling met waterstofperoxide er niet voor zorgt dat er minder fusarium voorkomt in het systeem en er bij deze behandeling op 31 mei zelfs meer fusarium aanwezig is dan zonder behandeling, al is er op basis van 1 monster niets te zeggen over significantie van de gevonden verschillen. Dit laat zien dat waterstofperoxide niet sterk ontsmettend werkt op schimmels. *F. oxysporum* en *F. solani* zijn pathogeen in phalaenopsis, *F. proliferatum* is op zich niet pathogeen, maar kan een infectie door de andere soorten verergeren.

Tabel 2 Sporen van fusarium in drainwater (- weinig aanwezig; + aanwezig; ++ veel aanwezig; n.a. niet aanwezig).

	28 april		31 mei		14 juli	
	A ($-H_2O_2$)	B ($+H_2O_2$)	A ($-H_2O_2$)	B ($+H_2O_2$)	A ($-H_2O_2$)	B ($+H_2O_2$)
<i>F. oxysporum</i>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
<i>F. solani</i>	+	+	+	++	+	+
<i>F. proliferatum</i>	-	-	+	++	+	+

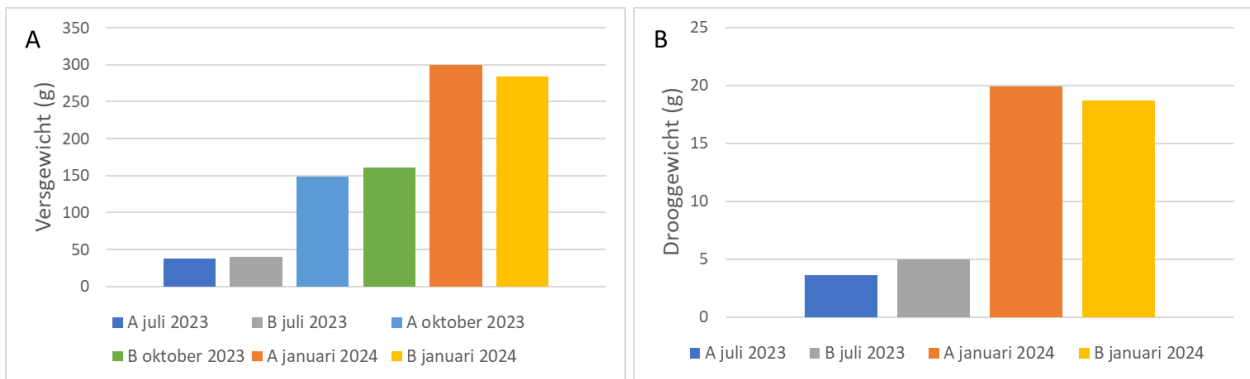
3.2 Gewasmetingen

Voor het vaststellen van het effect op wortelgroei zijn het aantal wortelpunten geteld dat zichtbaar was aan de buitenzijde van de pot. De resultaten zijn te zien in Figuur 3-4. Vanaf de eerste meting in week 19 is er een verschil tussen de behandelingen. De planten staan op dat moment al vier weken in de kas en hebben al meerdere gietbeurten ontvangen. In behandeling B blijft het aantal wortelpunten kleiner dan in behandeling A. Dit kan betekenen dat de wortelpunten zich meer aan de binnenzijde van de pot vormen, of dat er in totaal minder wortelpunten gevormd worden.

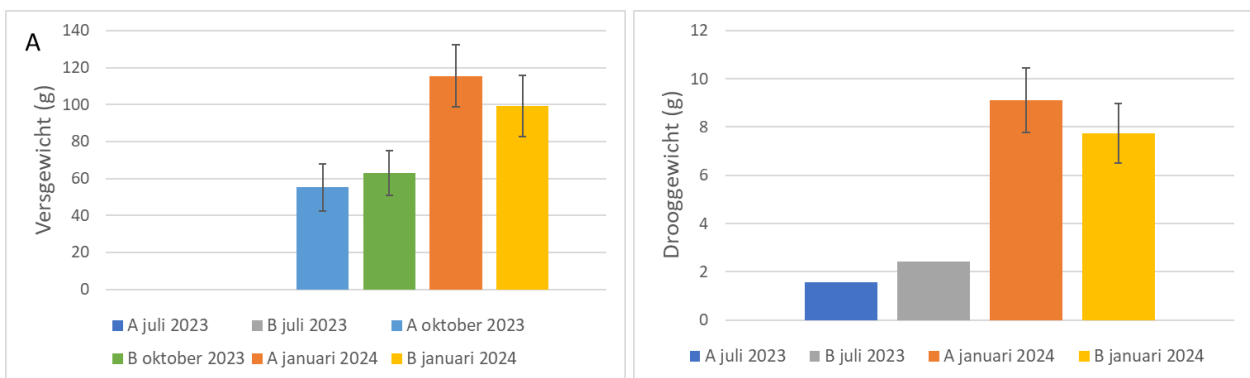


Figuur 3-4 Aantal wortelpunten zichtbaar aan de buitenzijde van de pot.

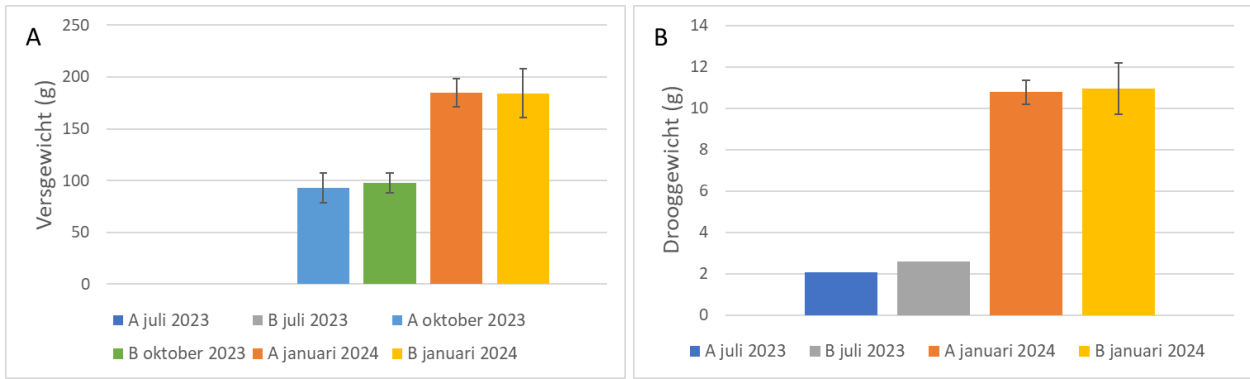
In aanvulling op de telling van het aantal wortelpunten is ook het versgewicht en het drooggewicht per plant van de hele planten op drie momenten tijdens de teelt vastgesteld Figuur 3-5. Hierin is nauwelijks verschil tussen de behandelingen te zien. In oktober 2023 en januari 2024 is deze meting opgesplitst over de wortels (Figuur 3-6) en het blad (Figuur 3-7), om te zien of er verschillen in de ontwikkeling van de plant te zien zouden zijn. Opvallend is dat bij de wortels in oktober het versgewicht bij behandeling B wat hoger is, terwijl dit in januari 2024 voor behandeling A geldt. In het blad is dit verschil niet te zien. In juli 2023 en januari 2024 is hier ook nog een drooggewichtsmeting aan toegevoegd (Figuur 3-5 D). De trends zijn hetzelfde als in de metingen van het versgewicht.



Figuur 3-5 Overzicht van metingen aan vers- (A) en drooggewicht (B) (per plant) van hele planten (A = -H₂O₂; B = +H₂O₂).



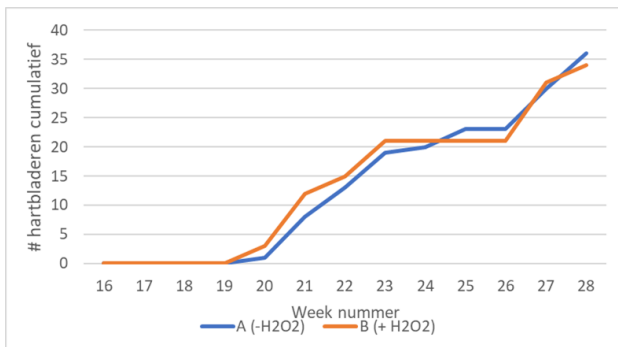
Figuur 3-6 Overzicht van metingen aan vers- (A) en drooggewicht (B) (per plant) van de wortels (A = -H₂O₂; B = +H₂O₂).



Figuur 3-7 Overzicht van metingen aan vers- (A) en drooggewicht (B)(per plant) van het blad (A = $-H_2O_2$; B = $+H_2O_2$).

Bij elkaar genomen lijkt het gewas in behandeling A meer wortelpunten te hebben, met in eerste instantie een hoger gewicht van de wortels in behandeling B. In januari is het gewicht in behandeling A hoger. De consequenties van dit verschil voor de planten kunnen pas aan het einde van de teelt worden vastgesteld, wellicht zelfs pas na het doen van uitbloeioproeven.

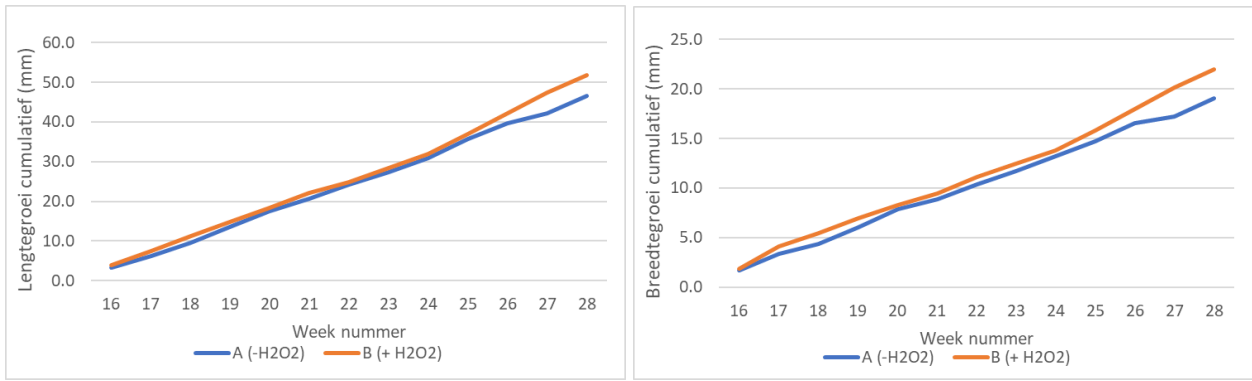
Bladgroei is vastgelegd in de snelheid van de vorming van nieuwe hartbladeren, lengte- en breedtegroei en in het vers- en drooggewicht van de bladmassa. De cumulatieve aanmaak van hartbladeren is weergegeven in Figuur 3-8. Hierin is geen significant verschil waargenomen.



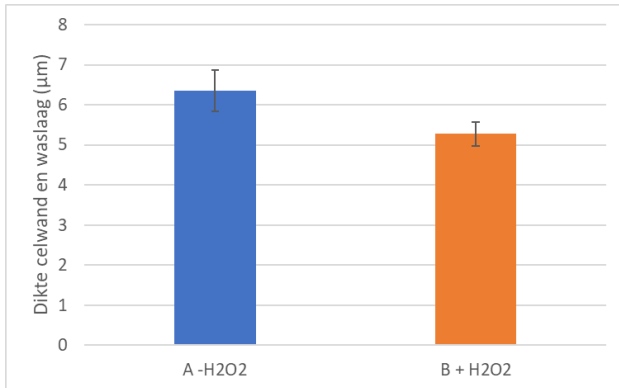
Figuur 3-8 Cumulatief aantal hartbladeren per behandeling, totaal over 26 planten.

De lengte- en breedtegroei is in behandeling B iets groter, zie Figuur 3-9. Het verschil wordt met name vanaf week 25 gemaakt.

Phalaenopsis heeft een waslaag op de bladeren om zichzelf te beschermen tegen ziekten en plagen. Hoe dikker deze waslaag, hoe beter de plant zichzelf beschermt. In Figuur 3-10 is te zien dat deze waslaag in behandeling A duidelijk dikker is dan in behandeling B. Eerder onderzoek in roos heeft aangetoond dat een betere waslaag zorgt voor een hogere weerbaarheid tegen meeldauw (Leiss et al., 2022).



Figuur 3-9 Cumulatieve lengte- (links) en breedtegroei (rechts) van blad, per plant.

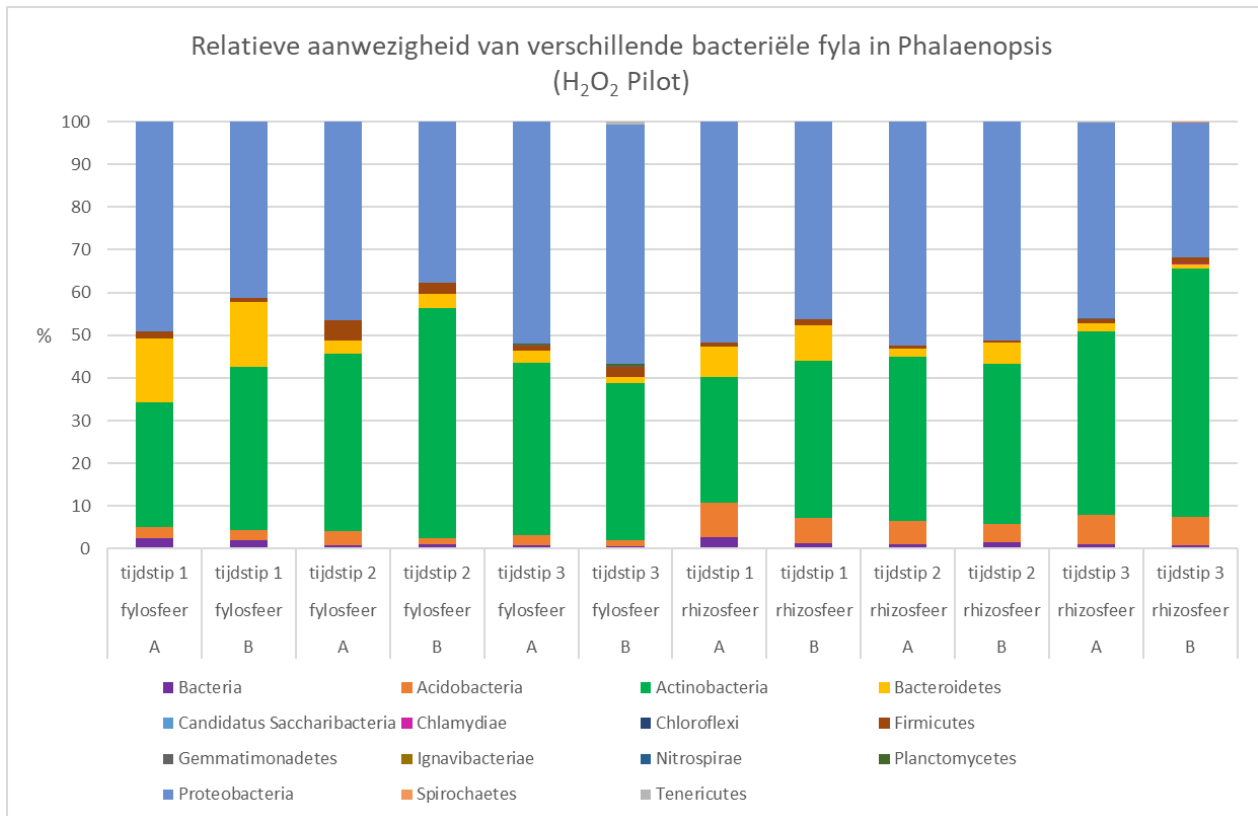


Figuur 3-10 Dikte van de celwand en de waslaag op het blad.

Er worden wat kleine verschillen waargenomen in de opgenomen elementen in de droge stof (DS) van de planten, zowel in de wortels als in het blad (Bijlage 2). Het opvallendst zijn de verschillen in concentratie van ijzer en molybdeen in de wortels, waarbij ijzer meer voorkomt in behandeling B en molybdeen meer in behandeling A. IJzer kan te maken hebben met een afweerreactie van de plant tegen waterstofperoxide, maar dit is op basis van de data niet hard te maken.

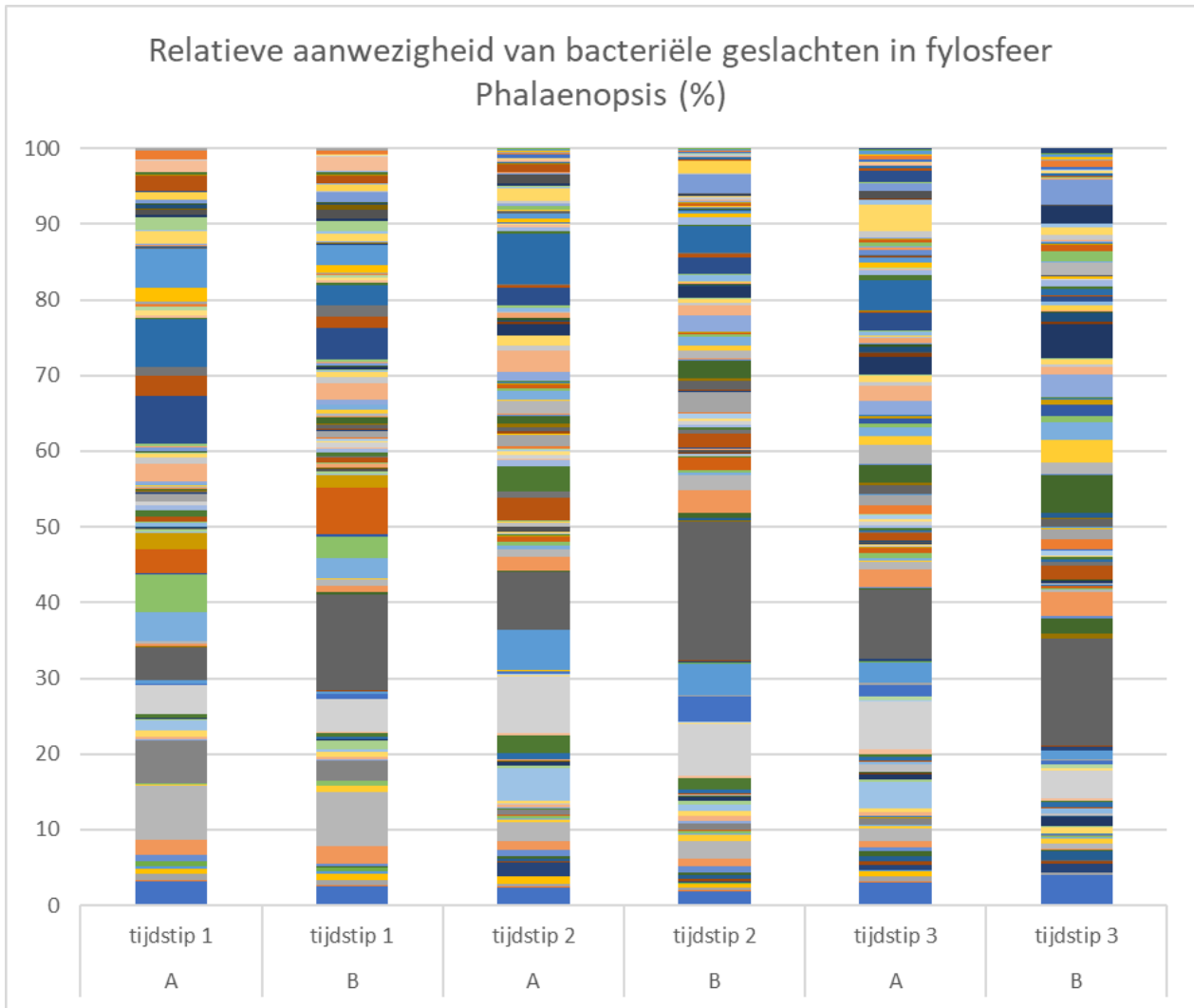
3.3 Analyses microbioom

Er is een microbioomanalyse uitgevoerd van zowel het blad (fylosfeer) als van de wortels (rhizosfeer). In deze analyse is gekeken naar de sequentie van het 16S rRNA gen, dat aanwezig is in alle bacteriën maar afhankelijk van de bacterie is de sequentie net even anders. Op basis van deze sequenties zijn bacteriën ingedeeld in verschillende taxonomische rangen. In Bijlage 2 is een overzicht gegeven van de verschillende rangen als gesproken wordt over microbioom. Deze analyse geeft informatie over relatieve verhoudingen tussen verschillende bacteriën in het microbioom.



Figuur 3-11 Relatieve aanwezigheid van verschillende bacteriële fyla in phalaenopsis, een vergelijking in tijd, fylosfeer/rhizosfeer en behandeling (A = -H₂O₂; B = +H₂O₂).

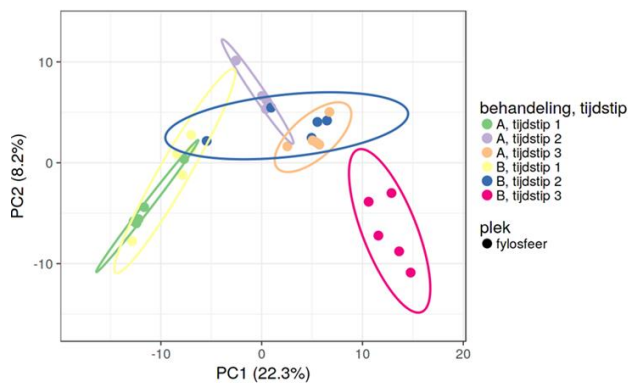
Er is op dit moment heel weinig informatie beschikbaar in wetenschappelijke literatuur over het microbioom van sierteeltgewassen, o.a. Phalaenopsis. In Figuur 3-11 is de relatieve aanwezigheid van verschillende fyla weergegeven in zowel de fylosfeer als de rhizosfeer, voor de drie bemonsteringsmomenten en de twee behandelingen. *Acidobacteria* komen meer voor in de rhizosfeer dan de fylosfeer (rond 10% van relatieve aanwezigheid in rhizosfeer). *Acidobacteria* zijn bacteriën die goed uitgerust zijn om in de omgeving met lage pH te overleven. Actinobacteria en Proteobacteria zijn met grote relatieve percentages dominant in fylosfeer en rhizosfeer. Er zijn duidelijke verschuivingen in de tijd te zien qua samenstelling, met name de aanwezigheid van *Bacteroidetes* die aanwezig zijn in het begin van de teelt, maar later veel lagere relatieve aanwezigheid hebben. Tussen de behandelingen zijn weinig verschillen te zien in de relatieve aanwezigheid van de verschillende fyla.



Figuur 3-12 Relatieve aanwezigheid van bacteriële geslachten in de fylosfeer (%) (A = $-H_2O_2$; B = $+H_2O_2$).

Inzoomen op de aanwezige bacteriële geslachten geeft wat meer inzicht in verschillen. In de fylosfeer (Figuur 3-12) zien we in behandeling B vooral meer *Streptomyces* (donkergrijs) en *Chitinophaga* en minder *Pseudomonas*, *Sphingomonas* en *Bacillus*. De verhoudingen tussen verschillende geslachten veranderen ook in de tijd, zowel in fylosfeer als in rhizosfeer.

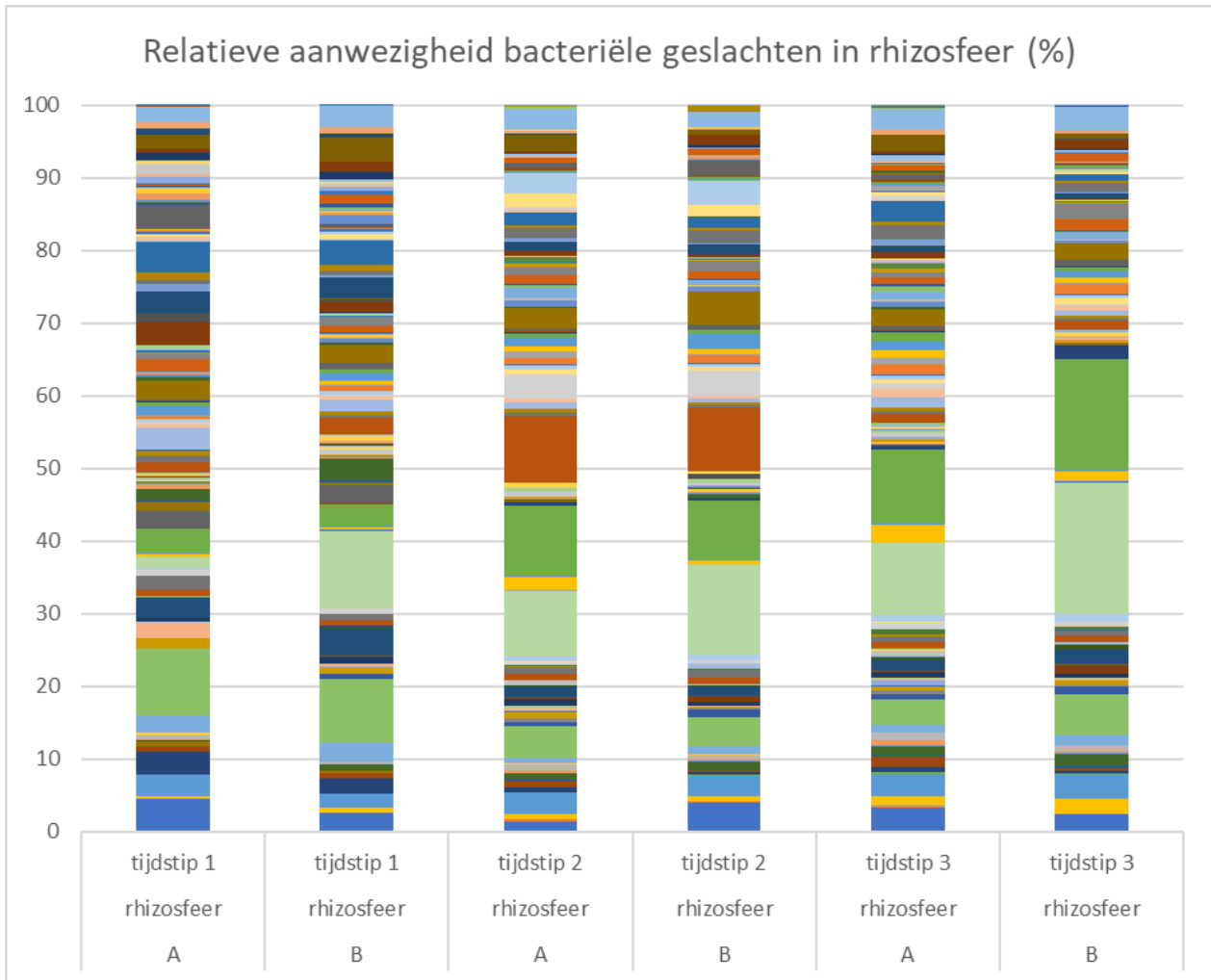
In Figuur 3-13 worden de verschillen nog op een andere manier weergegeven. Elk punt is totale bacteriële microbiom in het monster. De ellipsen geven aan, met 95% betrouwbaarheid, of de microbiomen in de monsters verschillend zijn. Hierin is te zien dat het groeistadium van de plant een significant effect heeft op het bacteriële microbiom in de fylosfeer (tijdstip van bemesting), terwijl effect van de behandeling (zonder of met H_2O_2) minder duidelijk zichtbaar is. Pas in juli (derde bemesting) is de microbiom samenstelling van fylosfeer significant anders in behandeling van H_2O_2 dan in controle.



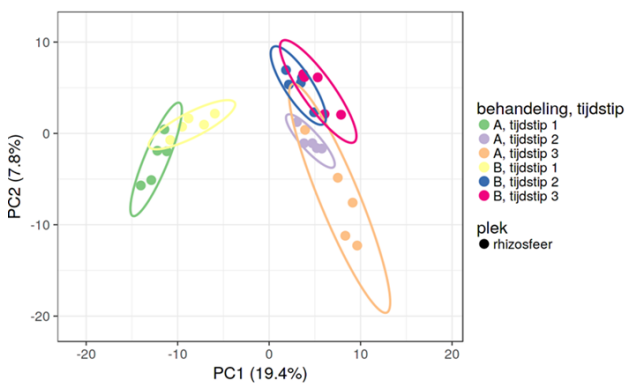
Figuur 3-13 Een analyse op geslachteniveau van het bacteriële microbiom in de fylosfeer van de plant (A = $-H_2O_2$; B = $+H_2O_2$).

In de rhizosfeer (Figuur 3-14 en Figuur 3-15) is dezelfde tendens te zien van een relatief grote verschuiving in de tijd en een kleinere invloed van de behandeling. Verschillende geslachten, die behoren tot fyllum Acidobacteria, zijn in grotere mate aanwezig in rhizosfeer dan in fylosfeer, zoals geslachten *Acidobacterium* en *Edaphobacter*. Er is een significant verschil in de samenstelling van het microbiom in april t.o.v. juni/juli (Figuur 3-15), waarschijnlijk beïnvloedt door o.a. pH van wortelzone en de wortellexudaten. Waterstofperoxide lijkt hierop een licht effect te hebben, met name te zien in meer o.a. *Streptomyces* en *Chitinophaga*.

Het is helaas op basis van deze data niet mogelijk om te zeggen welke samenstelling van microbiom beter is voor de plant. Uit onderzoek op andere planten, zoals tomaat, blijkt dat de verschuivingen in microbiom samenstelling tijdens de teelt normaal zijn en te maken hebben met beschikbaarheid van wortellexudaten. Bovendien er kunnen verschillende microbiom samenstellingen ontstaan, die taxonomisch gezien (op basis van geslachten) anders zijn, maar dezelfde functies hebben, zoals bescherming van de planten tegen pathogenen of vergroten van beschikbaarheid van nutriënten. Meestal kunnen bepaalde functies uitgevoerd worden door grote groepen bacteriën, daarom betekent een verandering in verhouding van bacteriële geslachten niet altijd een hele grote verandering in functie van het microbiom.



Figuur 3-14 Relatieve aanwezigheid bacteriële geslachten in rhizosfeer (%) (A = $-H_2O_2$; B = $+H_2O_2$).



Figuur 3-15 Een analyse op geslachteniveau van het bacteriële microbiom op de rhizosfeer van de plant (A = $-H_2O_2$; B = $+H_2O_2$).

3.4 Ziekten & plagen

Tijdens de teelt worden zieke planten zo snel mogelijk uit de kas afgevoerd. Tijdens de pilot zijn een aantal planten afgevoerd, zie Tabel 3, met name voor aantasting door *fusarium* (soort niet vastgesteld). Een enkele plant is afgevoerd vanwege aantasting door *erwinia*. Het aantal verwijderde planten is voor beide behandelingen gelijk, de momenten van afvoer zijn verschillend. Behandeling met waterstofperoxide lijkt hiermee in deze korte pilot geen positief en geen negatief effect te hebben op het optreden van ziektes in het gewas.

Tabel 3 *Overzicht van door ziekte verwijderde planten (A = -H₂O₂; B = +H₂O₂).*

Datum	Behandeling A	Behandeling B
24-4-2023	1 plant, <i>fusarium</i>	
1-5-2023	1 plant, <i>erwinia</i>	
8-5-2023		1 plant, <i>fusarium</i>
15-5-2023		1 plant, <i>fusarium</i>
22-6-2023		1 plant, <i>fusarium</i>
3-7-2023	2 planten, <i>fusarium</i>	1 plant, <i>fusarium</i>

Er is geen verschil tussen de behandelingen waargenomen voor de aanwezigheid van potworm. In behandeling B is wel een nestje met eitjes van oorwormen gevonden, zie Figuur 3-16.



Figuur 3-16 *Nest met eitjes van oorworm in behandeling B (A = -H₂O₂; B = +H₂O₂).*

3.5 Visuele beoordeling

Het gewas is tijdens de teelt door Optiflor ook visueel beoordeeld. Een paar weken na de start van de teelt leek de behandeling zonder waterstofperoxide wat minder glanzend blad te hebben. Dit is later weer bijgetrokken. Bij de eindbeoordeling op 14 juli zijn op het oog geen verschillen waargenomen die kunnen duiden op een achterblijvende kwaliteit, zie Figuur 3-17, Figuur 3-18 en Figuur 3-19. De planten zijn tot het einde van de teelt door Optiflor gevolgd op kwaliteit, maar er zijn geen verschillen waargenomen.



Figuur 3-17 Visuele eindbeoordeling van gewas op 14 juli 2023.



Figuur 3-18 Gewas in behandeling A op 14 juli 2023 (A = $-H_2O_2$; B = $+H_2O_2$).



Figuur 3-19 Gewas in behandeling B op 14 juli 2023 (A = $-H_2O_2$; B = $+H_2O_2$).

4 Discussie

Preventief doseren van waterstofperoxide voor het schoonhouden van leidingwerk tijdens de teelt wordt in veel teelten toegepast. Door het tegengaan van de vorming van biofilm (slijm laag aan binnenzijde van leidingen) wordt ongelijkheid van afgifte van druppelaars en sproeiers voorkomen en wordt een mogelijke broedplaats van pathogenen verwijderd. Waterstofperoxide is als chemische stof redelijk instabiel en reageert snel weg met organisch materiaal in het water. Om de stabiliteit te verbeteren en daarmee ook het einde van leidingen in grote kraanvakken schoon te krijgen, worden stabilisatoren toegevoegd aan het geformuleerde product. Het kan hierbij gaan om kortcyclische organische zuren (perazijnzuur, permierenzuur), maar ook om allerlei vormen van stabilisatie met zilver (bijvoorbeeld nanodeeltjes, chelaten). Deze eerste groep blijft na het uitreageren van waterstofperoxide in het teeltsysteem achter en vormt daar een voedingsbron voor heterotrofe microbiologie. De tweede groep brengt zilverdeeltjes in het teeltsysteem in, die niet in het teken staan van de plantengroei. Planten kunnen zilver in de vorm van nanodeeltjes of ionisch zilver wel opnemen (Yan & Chen, 2019), maar de stof draagt niet bij aan groei van de plant. Voor veel plantensoorten is bekend dat zilver fytoxisch (groeiremmend) kan werken, afhankelijk van de concentratie. Daarnaast heeft zilver een toxisch effect op waterorganismen in oppervlaktewater en is het humaan toxisch. Het is daarom de vraag of het gebruik van deze producten in de glastuinbouw houdbaar is, ondanks hun toelating. Schadegrenzen voor zilver zijn niet bekend.

Een ander aandachtspunt is resistentieopbouw van micro-organismen tegen waterstofperoxide. Onderzoek naar afdoding van crazy-roots (*Agrobacterium rhizogenes*) waarbij waterstofperoxide werd toegepast als biocide, heeft aangetoond dat resistentievorming sterk op de loer ligt (Bosmans et al., 2016). De ontwikkeling van resistentie hangt sterk af van de potentie van bepaalde micro-organismen om zelf H₂O₂ af te breken, door aanwezigheid van peroxidases of catalases (enzymen). Een continue dosering van lage concentraties waterstofperoxide werkt resistentievorming in de hand. Afwisseling van verschillende producten om resistentievorming tegen te gaan zou een beter alternatief zijn.

In dit onderzoek is tot op soortniveau gekeken welke soorten van plantpathogene *Fusarium* aanwezig zijn in het water (*F. oxysporum*, *F. solani*, *F. proliferatum*). In Phalaenopsis zorgen *F. solani* en *F. oxysporum* voor de meeste problemen. *Fusarium proliferatum* is vaak aanwezig in teelt kassen, maar is meestal geen primaire oorzaak van uitval. In de praktijk wordt vaak slechts tot op geslachtsniveau gekeken (*Fusarium* spp.), waardoor soms sterk wordt ingegrepen met gewasbeschermingsmiddelen, biociden of waterbehandeling, terwijl de aanwezige soort niet pathogeen is voor het gewas.

5 Conclusies

In de teelt van phalaenopsis werd op praktijkbedrijven waargenomen dat het gewas beter ging groeien bij het stoppen met de dosering van gestabiliseerde waterstofperoxide aan de voedingsoplossing. Doel van het project was daarom het vaststellen in een praktijkpilot wat het effect is van een geformuleerd waterstofperoxideproduct (Huwasan) op de groei van een gewas (phalaenopsis) en het microbioom in het substraat en rond de wortels. Om dit uit te zoeken is d.m.v. een pilot op een praktijkbedrijf een behandeling met 30 ppm H₂O₂ vergeleken met een onbehandelde controle, intensief tijdens de eerste 14 weken van de teelt, met nog wat extra metingen in latere fases van de teelt.

Er zijn metingen uitgevoerd aan gewasgroei, waterkwaliteit en microbioom op wortels en blad en er is bijgehouden hoeveel planten tijdens deze eerste fase van de teelt door ziekten zijn uitgevallen:

- De controle had meer wortelpunten en uiteindelijk een iets grotere plantmassa, verschil vooral in wortelmasse.
- De waslaag op het blad was in de controle iets dikker, wat een betere bescherming zou moeten geven tegen ziekten. Met een dunnere waslaag kan het risico op optreden van ziektes groter worden, al is dat voor phalaenopsis niet onderzocht.
- De behandeling met waterstofperoxide leidde tot een iets groter bladoppervlak.
- Uitval door ziekten (fusarium, erwinia) was in beide behandelingen gelijk; rhizoctonia is in beide behandelingen niet waargenomen.
- Potworm is in de teelt niet waargenomen.
- In het water werden in beide behandelingen twee soorten *Fusarium* teruggevonden (*F. solani* en *F. proliferatum*), met hogere concentraties op één meetmoment in de behandeling met waterstofperoxide. Het is mogelijk dat de gebruikte dosering niet voldoende is om deze *Fusarium* af te doden (Mahesha et al., 2021).
- In de loop van de teelt worden verschillen waargenomen in de samenstelling van het microbioom, grotere verschillen dan tussen de behandelingen. Deze wisselende samenstelling zegt niets over de aanwezigheid van microbiële functionaliteiten en er kan niet geconcludeerd worden of de veranderingen positief of negatief zijn.
- Er zijn kleine verschillen gevonden in opgenomen elementen, met name ijzer en molybdeen.
- Zilver wordt in alle watermonsters teruggevonden. Dit zware metaal is een aandachtspunt vanuit het perspectief van humane gezondheid en milieueffect.

In de visuele eindbeoordeling na 14 weken teelt zijn er geen verschillen waargenomen in bladkleur, glans en afmeting van de planten. Ook de beoordeling bij aflevering van de planten gaf geen verschillen tussen de behandelingen. De kwaliteit van het gewas lijkt daardoor niet verminderd door toepassing van zilver-gestabiliseerde waterstofperoxide, maar er zijn ook geen voordelen van de toepassing aangetoond.

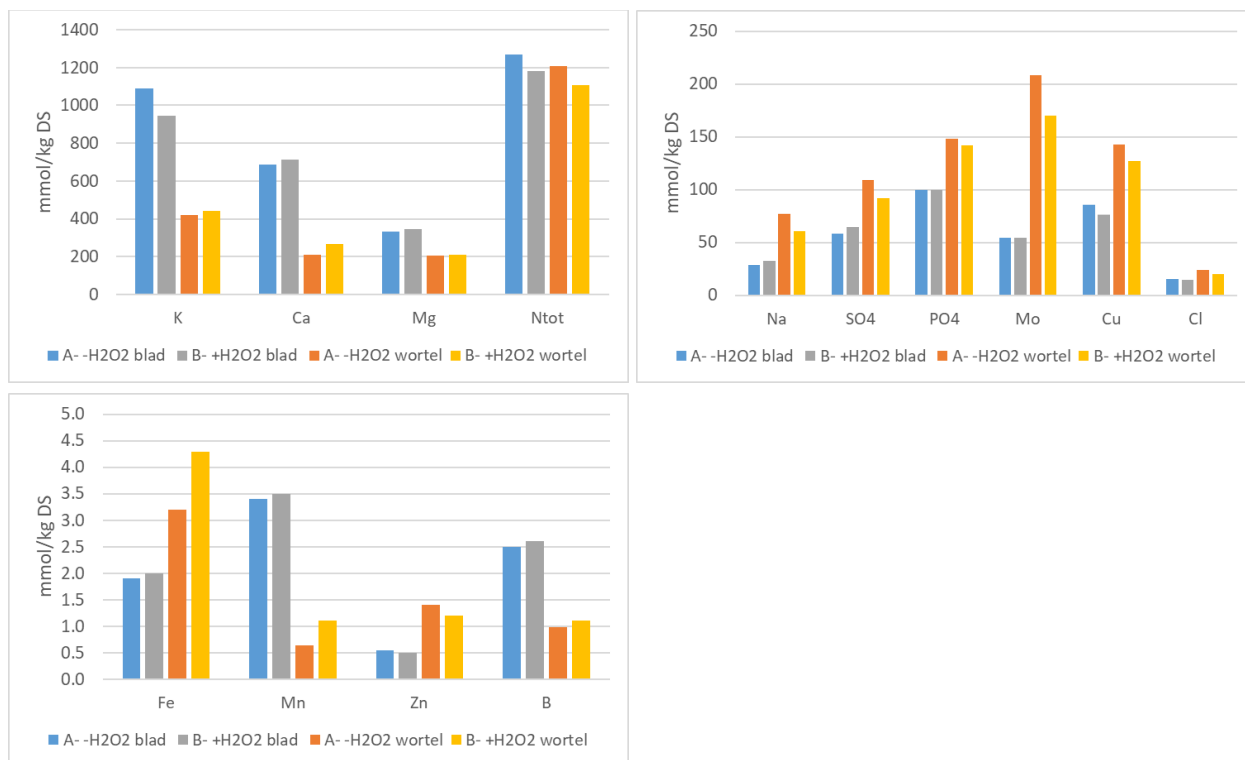
Literatuur

- A. Yan and Z. Chen, 2019.
Impacts of silver nanoparticles on plants: a focus on the phytotoxicity and underlying mechanism. *International Journal of Molecular Sciences* 2019, 20: 1003.
- I. Moreno-Garrido, S. Pérez, J. Blasco, 2015.
Toxicity of silver and gold nanoparticles on marine microalgae. *Marine environmental research*, 111: 60-73.
- L. Bosmans, B. van Calenberge, A. Paeleman, R. Moerkens, L. Wittemans, S. van Kerckhove, R. de Mot, B. Lievens & H. Rediers, 2016.
Efficacy of hydrogen peroxide treatment for control of hairy root disease caused by rhizogenic agrobacteria. *Journal of applied microbiology* 2016, 121: 519-21.
- H. S. Mahesha, J. U. Vinay, M. R. Ravikumar, S. Visweswarahastry, M. C. Keerthi, H. M. Halli, S. Shokralla, T. K. Z. El-Abedin, E. A. Mahmoud and H. O. Elansary, 2021.
Colloidal silver hydrogen peroxide: new generation molecule for management of phytopathogens. *Horticulturae*, 7 (12): 573.
- K. Leiss, J. Bac-Molenaar, E. Hernandez Olesinski en M. Noordam, 2022.
Natuurlijke weerbaarheid tegen meeldauw. Rapport WPR-1185.

Bijlage 1 Nutriënten voeding en drain

Datum	Monster	EC	pH	NH ₄	K	Na	Ca	Mg	NO ₃	Cl	SO ₄	HCO ₃	P	Si	Fe	Mn	Zn	B	Cu	Mo
		mS/cm		mmol/L										µmol/L						
21-4-2023	gift a	0.98	6	0.2	2.3	0.3	1.7	1.2	6.2	0.3	0.6	0.3	1	0.1	28.2	17	5.5	11.6	2.1	3
21-4-2023	gift b	1.1	5.9	0.3	2.7	0.3	2.1	1.4	7	0.3	0.7	0.3	1.2	0.1	35.2	20.3	6.3	13.4	2.6	4.8
21-4-2023	drain a	1.1	6	0.2	2.9	0.7	1.9	1.3	5.7	0.6	1.3	0.4	1.2	0.1	27.9	15	6.7	11.5	1.9	0.9
21-4-2023	drain b	1.3	6.1	0.3	3.3	0.7	2.1	1.5	6.7	0.5	1.2	0.3	1.4	0.1	33.5	16	6.9	12.8	2.2	0.8
2-6-2023	gift a	1.1	6.2	0.1	2.7	0.3	1.8	1.3	6.3	0.2	0.7	0.1	1.09	0.06	27	17	6.1	12	2.3	3.8
2-6-2023	gift b	1.2	6	0.2	3.2	0.3	2	1.5	7.5	0.3	0.8	0.1	1.24	0.07	29	20	7.8	14	2.9	4.3
2-6-2023	drain a	1.1	6	0.2	2.9	0.5	1.9	1.4	6.7	0.4	1	0.1	1.17	0.07	29	13	6.9	13	2.3	0.8
2-6-2023	drain b	1.3	5.7	0.1	3.2	0.5	2.3	1.6	7.8	0.4	0.9	0.1	1.35	0.09	30	17	7.5	13	2.7	1.7
17-7-2023	gift a	1.3	6.1	0.3	3.1	0.4	2.1	1.5	7.9	0.4	0.8	0.1	1.15	0.07	50	19	10	15	2.9	3.9
17-7-2023	gift b	1.3	6.2	0.3	3	0.4	2.2	1.5	7.8	0.4	0.7	0.1	1.04	0.08	47	19	9.7	15	2.8	3.8
17-7-2023	drain a	1.4	5.4	0.3	3	0.6	2.2	1.6	8.3	0.7	0.8	0.1	1.17	0.08	50	14	9.8	13	3	0.5
17-7-2023	drain b	1.4	5.7	0.3	3.3	0.6	2.4	1.7	8.8	0.4	0.9	0.1	1.33	0.09	55	15	11	14	3	1.1

Bijlage 2 Opgenomen nutriënten

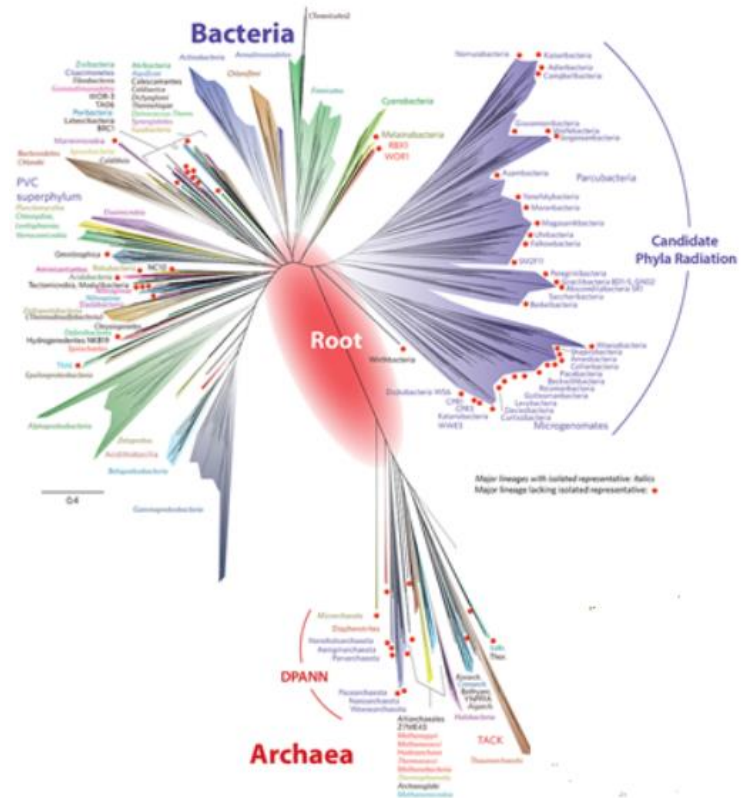


Figuur B2.1 Opgenomen elementen, verdeeld over wortel- en bladmassa.

Bijlage 3 Microbiële taxonomie

Voor de microbiële analyse is het van belang te weten naar welke rang je moet kijken. In onderstaande tabel en figuur zijn de verschillende rangen in taxonomie van micro-organismen weergegeven.

Rang	Voorbeeld
Fylum	Proteobacteria
Klasse	Gammaproteobacteria
Orde	Pseudomonadales
Familie	Pseudomonadaceae
Geslacht	<i>Pseudomonas</i>
Soort	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>



To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life



Wageningen University & Research,
BU Glastuinbouw
Postbus 20
2665 ZG Bleiswijk
Violierenweg 1
2665 MV Bleiswijk
T +31 (0)317 48 56 06
www.wur.nl/glastuinbouw

Rapport WPR-1299

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 7.600 medewerkers (6.700 fte) en 13.100 studenten en ruim 150.000 Leven Lang Leren-deelnemers behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.