



Ontwikkeling van toepassingen met plasmawater in de glastuinbouw

William Quaadvlieg, Jantineke Hofland-Zijlstra (red.), Trees Hollinger, Marianne Noordam, Casper Sloopweg, Rob van den Broek, Jan-Paul van der Kolk, Jim van Ruijven en Ineke Stijger

Rapport GTB-1391

Referaat

In samenwerking met Vitalfluid, TU Eindhoven, FloraHolland, Bactimm, Alewijnse en het UMC Radboud zijn door Wageningen UR Glastuinbouw toepassingen onderzocht voor plasma geactiveerd water in de glastuinbouw. Dit onderzoek is mogelijk geworden door een bijdrage vanuit het GO programma Oost Nederland, het Europees Fonds voor Regionale Ontwikkeling (EFRO) vanuit de Europese Unie en Topsector Tuinbouw & Uitgangsmaterialen. Plasmawater is te produceren door gebruik te maken van een gespecialiseerde plasmareactor. Met kraan- of demiwater is via een plasma een vloeistof op te wekken die rijk is aan stikstof- en zuurstofradicalen. Plasmawater is getest op zijn biocide, gewasbeschermings- en bemestende eigenschappen. Mild plasmawater met een korte productietijd (15 min) kan effectief bacteriën bestrijden die voldoet aan de biocide wetgeving. Sterk plasmawater met een langere productietijd (45 min) is nodig voor het bestrijden van schimmels als Fusarium, Botrytis en meeldauw. Het tomatenmozaïekvirus was eveneens met 80% te bestrijden met sterk plasmawater. Gewasbehandelingen leverden geen schade op voor jonge planten (sla, gerbera, tomaat) of snijbloemen. Toepassing van plasmawater via het irrigatiewater ter bevordering van de plantengroei lijkt weinig perspectiefvol omdat stikstof beschikbaarheid doorgaans niet beperkend is. Toepassing als zaadontsmetting is mogelijk met lage concentraties van plasmawater. Als toelating mogelijk wordt, heeft plasmawater zeker potentie als nieuw ontsmettingsmiddel binnen glastuinbouwtoepassingen.

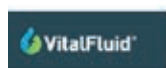
Abstract

In collaboration with Vitalfluid, TU Eindhoven, FloraHolland, Bactimm, Alewijnse and Medical faculty of UMC Radboud Wageningen UR Greenhouse Horticulture studied horticultural application for the use of plasma activated water. This research was funded by the GO programm Oost Nederland, the European Fund for Regional Development (EFRO) and Top sector Horticulture & Propagation materials. By using a specialized plasma reactor, an indirect air dielectric barrier discharge in close proximity to water can create an acidified, nitrogen-oxide containing solution called plasma-activated water (PAW). Plasma water is tested for properties as a biocidal product, plant protection treatment and as a fertilizer in horticultural applications. Mild plasma water with a short production time (15 min) can effectively control bacteria and meet the biocidal product legislation. Strong plasma water with a longer production time (45 min) is necessary for controlling molds as Fusarium, Botrytis and powdery mildew. The tomato mosaic virus can be reduced with strong plasma up to 80%. The crop treatments showed no damage on young gerbera plants, lettuce and tomato plants. Application of plasma water through the irrigation system to promote plant growth is not promising, because nitrogen supply is in general not limited. Application as seed disinfection is possible with low concentrations of plasma water.

Rapportgegevens

Rapport GTB-1391

Projectnummer: 3742173300 (PAW) / 3742195800 (KoF)



Disclaimer

© 2016 Wageningen UR Glastuinbouw (instituut binnen de rechtspersoon Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek), Postbus 20, 2665 MV Bleiswijk, Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk, T 0317 48 56 06, F 010 522 51 93, E glastuinbouw@wur.nl, www.wageningenUR.nl/glastuinbouw. Wageningen UR Glastuinbouw.

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

Adresgegevens

Wageningen UR 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

Inhoud

	Samenvatting	7
1	Inleiding	9
1.1	Wat is plasma geactiveerd water?	9
1.2	Doel onderzoek	10
1.3	Plan van Aanpak	10
1.4	Leeswijzer	10
1.5	Communicatie	11
2	Eerste screeningstesten met mild plasmawater	13
2.1	Erwinia carotovora	13
2.1.1	Doel	13
2.1.2	Materiaal en Methode	13
2.1.3	Resultaten	14
2.1.4	Conclusies	16
2.2	Botrytis cinerea	16
2.2.1	Bestrijding van Botrytis sporen op een kunstmatige voedingsbodem	16
2.2.1.1	Doel	16
2.2.1.2	Materiaal en methode	16
2.2.1.3	Resultaat	17
2.2.1.4	Conclusie	18
2.2.2	Bestrijding van Botrytis sporen op gerberabloemen	19
2.2.2.1	Doel	19
2.2.2.2	Materiaal en methode	19
2.2.2.3	Resultaat	19
2.2.2.4	Conclusie	20
2.3	Fusarium lactis	21
2.3.1	Doel	21
2.3.2	Materiaal en methode	21
2.3.3	Resultaten	22
2.3.4	Conclusies	23

3	Veiligheid voor gewas	25
3.1	Fytotoxtesten met zaden en kiemplanten	25
3.1.1	Doel	25
3.1.2	Materiaal en methode	25
3.1.3	Resultaten	26
3.1.4	Conclusie	28
3.2	Effect van PAW in een substraatteelt met een jong tomatengewas	28
3.2.1	Doel	28
3.2.2	Materiaal & methode	29
3.2.3	Resultaten	30
3.2.4	Conclusie	33
3.3	Effect van PAW als irrigatiebehandeling op de groei en weerbaarheid van jonge potplanten en sla	33
3.3.1	Doel	33
3.3.2	Materiaal en methode	33
3.3.3	Resultaten	34
3.3.4	Conclusie	36
3.4	Effect van PAW als nevelbehandeling op de groei en weerbaarheid van jonge potplanten en sla	36
3.4.1	Doel	36
3.4.2	Materiaal & methode	37
3.4.3	Resultaten	37
3.4.4	Conclusie	39
4	Veiligheid voor de kas	41
4.1	Doel	41
4.2	Materiaal en methode	41
4.3	Resultaten	41
4.4	Conclusie	42
5	Ontwikkeling van sterk plasmawater	43
5.1	Optimalisatie productietijd	43
5.1.1	Doel	43
5.1.2	Materiaal en methode	43
5.1.3	Resultaten	43
5.1.4	Conclusie	45
5.2	Biocide werking	45
5.2.1	Doel	45
5.2.2	Materiaal en methode	45
5.2.3	Resultaten	46
5.2.4	Conclusie	47
6	Curatieve werking van sterk PAW tegen meeldauw in potgerbera	49
6.1	Doel	49
6.2	Materiaal en methode	49
6.3	Resultaten	49
6.4	Conclusie	50

7	Curatieve werking van sterk PAW tegen Botrytis op snijbloemen	51
	7.1 Doel	51
	7.2 Materiaal en methode	51
	7.3 Resultaten	51
	7.4 Conclusie	54
8	Effectiviteit tegen virussen	55
	8.1 Inleiding	55
	8.2 Mild plasmawater tegen PIAMV bij gelijke virus-concentratie	55
	8.2.1 Doel	55
	8.2.2 Materiaal en methoden	55
	8.2.3 Resultaten	56
	8.2.4 Conclusie	57
	8.3 Mild plasmawater tegen PIAMV bij verschillende virusconcentraties	58
	8.3.1 Doel	58
	8.3.2 Materiaal en methoden	58
	8.3.3 Resultaten	58
	8.3.4 Conclusie	59
	8.4 Sterk plasmawater tegen tomatenmozaïekvirus	59
	8.4.1 Doel	59
	8.4.2 Materiaal en methoden	59
	8.4.3 Resultaten	59
	8.4.4 Conclusie	60
9	Perspectief op toepassingen in de glastuinbouw	61
	9.1 Toepassing als biocide	61
	9.2 Toepassing als gewasbeschermingsmiddel	61
	9.3 Toepassing als zaadontsmettingsmiddel	62
	9.4 Toepassing als irrigatiewater	62
10	Aanbevelingen	63
	Literatuur	65

Samenvatting

In samenwerking met Vitalfluid, TU Eindhoven, FloraHolland, Bactimm, Alewijnse en het UMC Radboud zijn door Wageningen UR Glastuinbouw toepassingen onderzocht voor plasma geactiveerd water in de glastuinbouw. Dit onderzoek is mogelijk geworden door een bijdrage vanuit het GO programma Oost Nederland, het Europees Fonds voor Regionale Ontwikkeling (EFRO) vanuit de Europese Unie en Topsector Tuinbouw & Uitgangsmaterialen. Plasmawater is te produceren door gebruik te maken van een gespecialiseerde plasmareactor. Met kraan- of demiwater is via een plasma een vloeistof op te wekken die rijk is aan stikstof- en zuurstofradicalen. Plasmawater is getest op zijn biocide, gewasbeschermings- en bemestende eigenschappen.

Door gebruik te maken van een gespecialiseerde plasmareactor kan er uit water een verzuurde, stikstof oxides en reactieve zuurstofverbindingen bevattende oplossing gemaakt worden die bekend staat onder de naam "plasmawater" (Plasma Activated Water (PAW)). Plasmawater wordt geproduceerd door een atmosferisch gasmengsel, zeer dicht bij een wateroppervlak, in een plasmareactor op te splitsen in reactief zuurstof (H_2O_2) en stikstofoxides (NO_3^- en NO_2^-) en deze verbindingen vervolgens op te lossen in het nabijgelegen wateroppervlak. Tijdens de productie wordt een gedeelte van het nabijgelegen water opgesplitst in H^+ en O_2^- ionen wat ervoor zorgt dat er een pH verlaging hierin optreedt.

Plasmawater geactiveerd water heeft het vermogen om een aantal veelvoorkomende ziekteverwekkers in de glastuinbouw te doden. Dit betreft zowel bacteriën, schimmels en virussen. De mate en snelheid van afdoding is afhankelijk gebleken van:

- Waterkwaliteit (demiwater vs. kraanwater).
- De productietijd van het plasmawater in de plasma-generator.
- De snelheid van toediening na productie.
- Blootstellingsduur.

Met toepassing van sterk plasmawater (45 minuten productietijd) is het mogelijk om aan de biocide richtlijn te voldoen voor het doden van Erwinia bacteriën als dit binnen 15 minuten na productie wordt toegepast. Voor schimmels zoals Fusarium en Botrytis en het tomatenmozaïekvirus is nog geen 99,9% doding te bereiken binnen vijf minuten te bewerkstelligen, deze dienen nu nog minimaal 15 minuten aan sterk plasmawater te worden blootgesteld. De sterkere biocide werking is maar van relatief korte duur is (over het algemeen wordt hiervoor 15 minuten aangehouden) waarna deze biocidewerking binnen een paar uur afneemt tot een milder niveau waarbij alleen nog een biocidewerking op bacteriën meetbaar is. Uit kleinschalige verkennende kasproeven blijkt dat sterk plasmawater gebruikt kan worden als gewasbehandeling om via ultrasone verneveling met plasmawater sporen van meeldauw op gerbera en Botrytis op snijbloemen van Cymbidium en gerbera te bestrijden.

Kasexperimenten met sla, gerbera en tomaten planten laten zien dat deze planten onder optimale groeiomstandigheden geen fytotoxische effecten ondervonden aan een vier weken durende blootstelling aan plasmawater als water- en voedingsbron. Verder onderzoek met planten onder meer suboptimale voedingsomstandigheden moet nog uitwijzen of plasmawater inderdaad onder deze omstandigheden als voedingsadditief of kunstmest vervanger kan dienen in de land- en tuinbouw. Verder fytotox onderzoek wees ook uit dat zaad gedurende drie dagen aan plasmawater blootgesteld kan worden zonder dat er significant negatieve effecten in de kiemkracht en groei optreden, maar ook dat bij een blootstelling van twee weken de zaadkieming en groei van kiemplanten voor het grootste gedeelte van de geteste zaden significant negatief wordt beïnvloed door plasmawater. Het corrosief effect van plasmawater bleek na een blootstelling van vijf weken vrijwel gelijk te zijn aan het corrosieve effect van demiwater. Als toelating mogelijk wordt, heeft plasmawater zeker potentie als nieuw ontsmettingsmiddel binnen glastuinbouwtoepassingen.

1 Inleiding

1.1 Wat is plasma geactiveerd water?

Wat is plasma geactiveerd water (PAW) en hoe ontstaat het? Plasma is een fase waarin de deeltjes van een gasvormige stof geïoniseerd zijn. Ioniseren betekent dat de moleculen een elektrische lading hebben gekregen. Voor deze elektrische lading is energie nodig. In de natuur kunnen gassen worden geïoniseerd door bijvoorbeeld de zon, bliksem of het Noorderlicht. De deeltjes (moleculen) in het gas veranderen van eigenschappen waardoor plasma ontstaat.

Plasma's ontstaan niet alleen op natuurlijke wijze maar kunnen ook kunstmatig worden geproduceerd. Enkele voorbeelden hiervan zijn: plasma televisieschermen en 'light emitting plasma' (LEP) verlichting. Plasma's hebben vele toepassingsmogelijkheden en tijdens dit project wordt onder invloed van een plasma, van water, zogenaamd plasma geactiveerd water (PAW) gemaakt door er via twee polen, een hoge spanning op te zetten. Door deze spanning raken atmosferische stikstof en zuurstof ionen geïoniseerd en lossen als reactieve zuurstof- en stikstofdeeltjes in het water op. Plasmawater wordt dus geproduceerd uit lucht, elektriciteit en water en er worden dus geen additieven of chemicaliën aan toegevoegd, er wordt uitsluitend gebruik gemaakt van de 20% zuurstof en 80% stikstof die in de lucht aanwezig is. Na gebruik van het plasmawater blijven er alleen water, zuurstof en stikstof over en het is dus een milieuvriendelijke en residu vrije zero-emissie methode en kan zodoende bijdragen aan een duurzame samenleving.

De reactieve zuurstof deeltjes in het plasmawater zorgen voor een krachtige kortdurende desinfecterende werking, deze wordt gevolgd door een langdurigere milde desinfecterende werking van de opgeloste reactieve stikstof deeltjes die ongeveer vijf dagen aanhoudt. Door deze desinfecterende eigenschappen kan plasmawater worden ingezet voor een groot aantal verschillende toepassingen in de agrarische, food en medische sectoren, maar dit project richt zich primair op toepassingen binnen de medische (Universiteit Nijmegen) en agrarische sector (Flora Holland en Wageningen UR glastuinbouw).

In 2012 hebben studenten aangetoond dat door PAW het vaasleven van snijbloemen wordt verlengd en dat de Botrytis aantasting op aardbei en rozen afneemt (bij rozenknoppen was deze Botrytis schade afname zelfs 60%). Uit een literatuurstudie blijkt dat PAW ook kan worden ingezet als alternatief voor bestaande biocides en gewasbeschermingsmiddelen in de land en tuinbouw. Wageningen UR glastuinbouw heeft met name de biocidewerking van PAW onderzocht.

In dit project wordt samengewerkt in een groot aantal partijen:

- VitalFluid (oude bedrijfsnaam: Filtex Air Filtration) is projectleider en zorgt ervoor dat voor het MKB kennis beschikbaar komt over PAW en kijken wat ze ermee kunnen. Daarnaast bekijken ze de marktspecificaties waaraan PAW moet voldoen.
- TU Eindhoven: Optimaliseert de productie van PAW. Ze zijn toonaangevend op het gebied van elementaire gasontladingen en plasma's.
- UMC St Radboud, Bactimm en Filtex werken samen in een project waarin plasma technologie wordt ontwikkeld voor het desinfecteren van handen. Binnen het UMC St Radboud zijn de afdelingen Medische Microbiologie, toxicologie, dermatologie en heelkunde bij het project betrokken.
- Wageningen UR Glastuinbouw onderzoekt de biocidewerking en de werking als gewasbeschermingsmiddel van plasma geactiveerd water in de glastuinbouw.
- Flora Holland bekijkt het effect van PAW op de houdbaarheid van snijbloemen in de naoogstfase.
- Bactimm bekijkt of PAW economische meerwaarde biedt boven andere middelen.
- Alewijnse zorgt voor het bouwen van de applicaties.

Dit onderzoek is mogelijk geworden door een bijdrage vanuit het GO programma Oost Nederland, het Europees Fonds voor Regionale Ontwikkeling (EFRO) en vanuit de Europese Unie. Tevens is er cofinanciering bijgedragen vanuit de Topsector Tuinbouw & Uitgangsmaterialen (extra reservering van DLO capaciteit) waardoor realisatie mogelijk was van alle gestelde projectdoelen.

1.2 Doel onderzoek

Er is dringend behoefte aan aanvulling van het huidige, krappe middelenpakket om plantenziekten te voorkomen en te bestrijden met milieuvriendelijke methoden. Ter vermindering van de milieubelasting en de druk op bestaande, beperkte toegelaten middelen. Wageningen UR Glastuinbouw heeft eerder aangetoond dat oxidatieve producten hieraan effectief kunnen bijdragen (Hofland-Zijlstra *et al.* 2010, 2011). Er is behoefte aan praktijkgerichte kennis over veilige toepassingen van PAW als nieuwe, niet-chloor houdende desinfectiemethode in de glastuinbouwsector. Doel binnen dit project is om de effectiviteit van plasma geactiveerd water (PAW) te testen ter beheersing van plantenziekten in de glastuinbouwsector.

1.3 Plan van Aanpak

Als eerste stap binnen het onderzoek is de biocidewerking van PAW tegen een aantal bekende ziekteverwekkers in de glastuinbouw getest onder laboratoriumcondities. Tijdens deze stap kwam de noodzaak naar boven om de biocidewerking van het PAW water goed te kunnen beschrijven, zodat testen reproduceerbaar zijn uit te voeren. Welke chemische producten zijn verantwoordelijk voor de biocidewerking en hoe lang blijven deze stoffen actief? Hiervoor is relatief veel tijd besteedt om verschillende typen PAW waters en concentraties door te meten op oa. pH, EC, oxidatie-redox potentiaal (ORP), waterstofperoxide, nitraat, nitriet. In 2015 werd het mogelijk om zelf op de eigen locatie in Bleiswijk PAW te produceren en kon er beter gestuurd worden op het oxiderend vermogen. Hiermee zijn vervolgens testen uitgevoerd om de interactie tussen PAW water en plantreacties te bepalen. In fytoxische testen met kiemplanten is er gekeken naar het effect op gewasgroei van zowel de bovengrondse plantendelen als op de wortelgroei. In de eindfase zijn ontwikkelde gebruiksaanwijzingen met PAW onderzocht op desinfecterende effectiviteit onder praktijkconforme teelt- en naogstcondities tegen zowel meeldauw als Botrytis. Tenslotte is er ook gekeken naar de veiligheid voor kasconstructies en het risico voor corrosie van kwetsbare onderdelen in kasopstanden.

1.4 Leeswijzer

In het eerste deel van het onderzoek is er gewerkt met plasma geactiveerd water dat aangeleverd werd door TU Eindhoven. De resultaten hiervan staan beschreven in Hoofdstuk 2. Aan de totstandkoming van dit hoofdstuk werkten mee: Rob van den Broek, Trees Hollinger en Marianne Noordam. Doordat er een aantal uren voor het transport nodig waren, was het minder sterk oxiderend. In 2015 werd er door de producent een apparaat beschikbaar gesteld aan Wageningen UR Bleiswijk, zodat op de eigen proeflocatie plasma geactiveerd water kon worden opgewekt. Hierdoor was het mogelijk proeven uit te voeren met sterker reactief plasmawater en verschillende typen PAW water en concentraties te testen. Deze resultaten staan beschreven in Hoofdstuk 3-8 en zijn uitgevoerd door een nieuw team van onderzoekers: W. Quaedvlieg, M. Lemmers, C. Slootweg, I. Stijger, J-P. Van der Kolk, J. Van Ruijven. In Hoofdstuk 9 wordt aangegeven welke toepassingen mogelijk zijn binnen de glastuinbouwsector en de randvoorwaarden die daarvoor nodig zijn en in het laatste hoofdstuk zijn enkele aanbevelingen gegeven voor de benodigde vervolgstappen in de ontwikkeling van plasmawater. Eindredactie was in handen van J. D. Hofland-Zijlstra.

1.5 Communicatie

Om de resultaten van het onderzoek onder de aandacht te brengen bij telers zijn verschillende communicatie activiteiten verricht. Hieronder volgt een overzicht.

- PlantgezondheidsEvents 2015 & 2016.
 - Poster & Demonstratie op: Toepassing van plasma geactiveerd water tegen plantenziekten (2015) Broek, R.C.F.M. van den; Hofland-Zijlstra, J.D.; Noordam, M.; Hollinger, T.C.; Leenders, P. PlantgezondheidsEvent 12 maart 2015.
 - Poster & Toelichting. Toepassing van plasma geactiveerd water tegen plantenziekten (2016). W. Quaedvlieg, J. D. Hofland-Zijlstra, M. Lemmers, C. Slootweg, I. Stijger, J-P. Van der Kolk, J. Van Ruijven. PlantgezondheidsEvent 10 maart 2016.
- Artikelen in vakbladen:
 - Plasma geactiveerd water: veelbelovend voor de glastuinbouw (2015). Vakblad Onder Glas 4: 54-55.
 - Plasma geactiveerd water: veelbelovend voor de glastuinbouw (2016). Vakblad Onder Glas 2: 32-33.
- Twitter berichten verstuurd naar aanleiding van de posters en de artikelen (@jantinekewur, 890 volgers, social authority: 30).
- Presentaties: informatie gegeven over de nieuwe ontwikkeling op het gebied van desinfectie tijdens projectbijeenkomsten van de Topsector Tuinbouw & Uitgangsmaterialen om de mogelijkheden ter beheersing van meeldauw en vruchtrot te bespreken. Hierbij waren koplopers uit de glastuinbouwsector vertegenwoordigd.

2 Eerste screeningstesten met mild plasmawater

Auteurs: Rob van den Broek, Jantineke Hofland-Zijlstra, Trees Hollinger & Marianne Noordam

2.1 Erwinia carotovora

2.1.1 Doel

Plant pathogene Erwinia bacteriën kunnen vele kwaliteitsproblemen veroorzaken in bloembollen, komkommer, tomaat, paprika, aardbei, aardappel, witlof, Yucca, geraniums, Kalanchoë, Ssansevieria, Dieffenbachia, orchideeën en andere gewassen. De geschatte schades in de Nederlandse bollen- en aardappelteelt bedragen respectievelijk € 5 - 8 en € 22 miljoen per jaar. Tegen deze pathogene bacteriën zijn nauwelijks toegelaten gewasbeschermingsmiddelen beschikbaar. Tijdens dit onderzoek is de bacterie Erwinia carotovora subsp. carotovora (ook wel Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum (Pcc) genoemd), gebruikt (afkomstig uit de schimmelcollectie van PPO Lisse). Het doel was om na te gaan of plasma geactiveerd water een biocide werking heeft tegen bacteriën. Er is sprake van een effectieve biocidewerking als er bij een inwerktijd van 5 minuten een logreductie van 10^{-5} (reductie van 99.9%) wordt gerealiseerd (www.ctgb.nl).

2.1.2 Materiaal en Methode

Om de biocidewerking tegen bacteriën te testen is als referentie bacterie Erwinia carotovora subsp. carotovorum (afkomstig uit de schimmelcollectie van PPO Lisse) gekozen. Uit eerder onderzoek met oxidatieve producten bleek deze bacterie relatief gemakkelijk af te doden.

Het plasmawater (1 liter) is op 4 april op de TUE in Eindhoven gemaakt en geanalyseerd en daar in een koelkast bij 7°C in het donker bewaard. Op 7 april is dit 's ochtend naar Bleiswijk vervoert en 's middags voor dit onderzoek gebruikt. Vlak voor het inzetten van deze test zijn ook enkele eigenschappen van het plasma geactiveerd water door Wageningen UR bepaald (Tabel 2.1).

Tabel 2.1

Eigenschappen van plasma geactiveerd water.

Plasma geactiveerd water	4-4 (TU)	7-4 (Wageningen UR)
pH	+ 3	2.8
Nitriet	+ 1 mg/l	
Nitraat		0.5 mg/l
Waterstofperoxide	+ 4 mg/l	0 mg/l*

*: met teststrookjes niet meer te detecteren

Een aantal dagen van tevoren is in een erlenmeyer een bacteriesuspensie van *Erwinia* gekweekt bij 29°C en verdund tot $1 \cdot 10^8$ kolonie vormende eenheden/ml (cfu's). Deze is verdeeld over 2 buisjes (voor iedere herhaling 1). De cfu's zijn bepaald met een spectrofotometer. Bij een optische dichtheid van 0.1 zijn er $1 \cdot 10^8$ cfu's aanwezig. Van te voren zijn in de petrischalen NA medium gegoten (20 ml/schaal) en gecodeerd.

In geautoclaveerde 2 ml epjes is de sporensuspensie en het middel gepipetteerd (Tabel 2.2 en Figuur 2.1). Indien noodzakelijk is na 5 minuten inwerktijd een neutralisatiebuffer toegediend in de verhouding 1:9 (sporensuspensie: neutralisatiebuffer) om de werking van het plasma geactiveerd water te stoppen. Indien gewenst is de sporensuspensie verder verdund om de gewenste cfu's te verkrijgen.

Tabel 2.2

Overzicht van de behandelingen en concentraties met *Erwinia carotovora*.

Code	Behandeling	Verdund	Buffer toegevoegd	Concentraties (cfu/ml)
A	Onbehandeld demiwater	Nee	Ja	$1 \cdot 10^4$, $1 \cdot 10^5$, $1 \cdot 10^6$
B	Onbehandeld demiwater	Nee	Nee	$1 \cdot 10^4$, $1 \cdot 10^5$, $1 \cdot 10^6$
C	Chloorbleekloog 1.25%	Nee	Nee	$1 \cdot 10^5$, $1 \cdot 10^6$
D	Plasma geactiveerd water	Nee	Ja	$1 \cdot 10^5$, $1 \cdot 10^6$
E	Plasma geactiveerd water	1:10	Ja	$1 \cdot 10^5$, $1 \cdot 10^6$



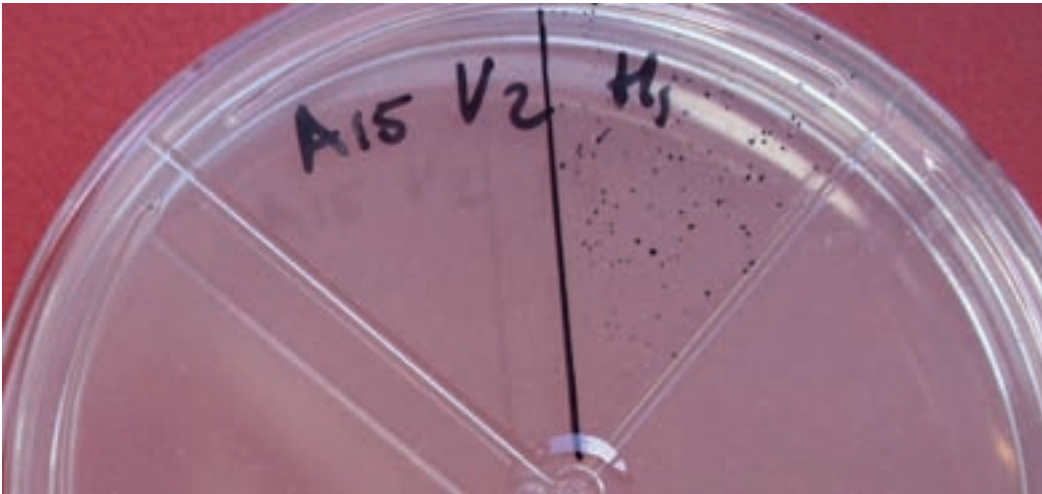
Figuur 2.1 Het pipeteren van de sporensuspensie en het middel in de epjes.

Iedere behandeling is in 2 herhalingen uitgevoerd. Elke behandeling bestond per uit 8 petrischalen. Totaal zijn er 2 herhalingen * 12 verdunningen * 8 schalen = 192 schalen ingezet. De schalen zijn geplaatst bij een temperatuur van 20°C en een RV van 90%. Na 1 en 2 dagen zijn het aantal bacteriën per petrischaal geteld.

2.1.3 Resultaten

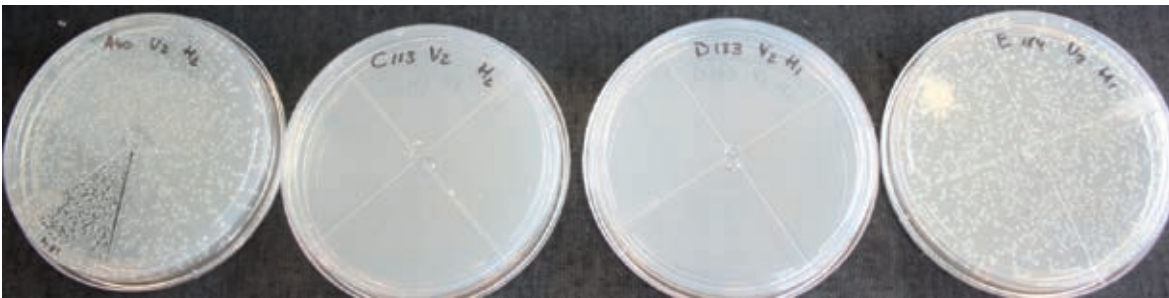
Uit Tabel 2.1 komt naar voren dat gedurende een bewaring van 3 dagen de pH in het plasmawater gelijk blijft en de concentratie waterstofperoxide daalt van 4 naar 0 mg/l. Helaas is het nitraat en nitriet gehalte niet door beide organisaties bepaald.

De *Erwinia* ontwikkelde zich snel. Na 1 dag zijn de nieuwe kolonies goed te tellen (Figuur 2.2 en 2.3). Er treedt een duidelijke 2 deling op. Bij de middelen onbehandeld met en zonder toevoegen van een buffer en bij plasma geactiveerd water (verdund 1:10) verschillen de aantallen kolonies in de petrischalen nauwelijks. Bij een *Erwinia* concentratie in het begin van $1 \cdot 10^3$, $1 \cdot 10^4$ of $1 \cdot 10^5$ cfu's/ml wordt na 1 dag op de petrischalen respectievelijk 170, 1200 en meer dan 10.000 kolonies geteld. Bij toevoeging van de middelen chloorbleekloog en plasma geactiveerd water (onverdund) aan *Erwinia* (concentratie = $1 \cdot 10^4$ of $1 \cdot 10^5$ cfu's/ml) ontwikkelden geen bacterie kolonies op de petrischalen.

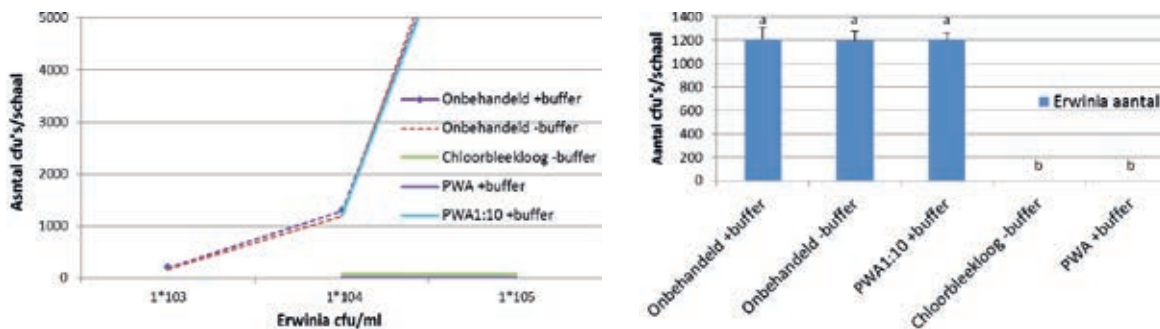


Figuur 2.2 Erwinia kolonies zijn met zwarte stippen aangegeven.

Bij een beginconcentratie van $1 \cdot 10^4$ cfu's/ml zijn alle 5 behandelingen uitgevoerd. Op de petrischalen met de behandelingen onbehandeld met en zonder buffer en verdund plasma geactiveerd water (1:10) worden 1205, 1196 en 1203 kolonies geteld. Bij toevoeging van de middelen chloorbleekloog en plasma geactiveerd water (onverdund) worden in de petrischalen 0 kolonies geteld (Figuur 2.4).



Figuur 2.3 Erwinia kolonies voor de behandelingen Onbehandeld (A), chloorbleekloog 1.25% (C), plasma geactiveerd water 1:1 (D) en plasma geactiveerd water 1:10 (E).



Figuur 2.4 Links de ontwikkeling van Erwinia op de petrischalen bij 3 verdunningen. Rechts de ontwikkeling van Erwinia bij een concentratie van $1 \cdot 10^4$ cfu's/ml.

2.1.4 Conclusies

De milde vorm van PAW heeft een effectieve biocidewerking tegen de bacterie, *Erwinia carotovora*. Binnen 5 minuten wordt een meer dan log 5 reductie bereikt. Verdund plasmawater (10%) verliest in deze test snel aan oxiderende werking en was niet meer effectief.

2.2 Botrytis cinerea

2.2.1 Bestrijding van Botrytis sporen op een kunstmatige voedingsbodem

2.2.1.1 Doel

Het doel was om na te gaan of plasma geactiveerd water een biocidewerking heeft tegen schimmels. Dit is getest op labschaal als directe behandeling op schimmelsporen als op levend materiaal met een naaogstbehandeling op gerberabloemen (zie paragraaf 2.2.2). Als referentie schimmel is gekozen voor *Botrytis cinerea*, afkomstig van de schimmelcollectie van Wageningen UR Glastuinbouw. Voor een goede biocidewerking geldt dat er bij een inwerktijd van 5 minuten een logreductie van 10^5 (reductie van 99.9%) wordt gerealiseerd. In de test met Botrytis op petrischalen was het doel om na te gaan wat de effectiviteit is van PAW op de sporenkieming van Botrytis en of de zuurgraad van PAW daarbij van invloed is.

2.2.1.2 Materiaal en methode

Voor de directe werking onder laboratoriumcondities zijn twee testen uitgevoerd. Voor de eerste test werd plasmawater (1 liter) op 4 april op de TUE in Eindhoven aangemaakt en geanalyseerd en daar in een koelkast bij 7°C in het donker bewaard. Op 7 april is dit plasmawater in de ochtend naar Bleiswijk meegenomen en daar in een koelkast bewaard bij 7°C. Op 15 april, het plasma geactiveerd water is dan 11 dagen oud, is het voor dit onderzoek gebruikt. Het plasma geactiveerd water werd niet van tevoren geanalyseerd. In de tweede test is gewerkt met plasmawater dat 6 dagen oud is en zijn de chemische samenstelling wel bepaald zowel bij de TU Eindhoven als bij Wageningen UR in Bleiswijk (Tabel 2.3). Het plasmawater (1 liter) is op 13 mei op de TUE in Eindhoven gemaakt, geanalyseerd en daarna naar Bleiswijk getransporteerd. 's Middags is de Botrytis proef ingezet. Tevens werd in deze tweede test een extra behandeling met salpeterzuur meegenomen om de invloed van de zuurgraad op de sporenkieming te testen.

Tabel 2.3

Analysegegevens plasmawater geanalyseerd op de TU Eindhoven en bij Wageningen UR glastuinbouw in Bleiswijk.

	TU Eindhoven	Bleiswijk
pH	3.0	2.8
NO ₂ ⁻	300 mg/l	110 mg/l
NO ₃ ⁻		140 mg/l
H ₂ O ₂	0.5-2.0 mg/l	0 mg/l
Cl ⁻		3 mg/l

Twee weken van tevoren is in petrischalen *Botrytis* gekweekt. Hiervan kon een oplossing van $2 \cdot 10^6$ sporen/ml gemaakt worden in de eerste test en 22 ml met $7 \cdot 10^5$ in de tweede test. De sporensuspensie werd verdeeld over twee buisjes (voor iedere herhaling 1). Van tevoren werden petrischalen met PDA medium gegoten (20 ml/schaal) en gecodeerd.

In geautoclaveerde 2 ml ejjes is de sporensuspensie en het middel gepipetteerd. Indien noodzakelijk is na 5 minuten inwerktijd een neutralisatiebuffer toegediend in de verhouding 1:9 (sporensuspensie: neutralisatiebuffer) om de werking van het plasma geactiveerd water te stoppen. De sporensuspensie werd per behandeling verder verdund om de gewenste cfu's te verkrijgen (Tabel 2.4 en 2.5). Iedere behandeling is in duplo uitgevoerd. Elke behandeling bestond per uit 8 petrischalen. In totaal zijn er 2 duplo's van de sporensuspensies * 9 behandelingen * 8 schalen = 144 schalen ingezet in de eerste test en in de tweede test: 2 herhalingen * 13 behandelingen * 9 schalen = 208 schalen. De schalen zijn geplaatst bij een temperatuur van 20°C en een RV van 90%. Na 2 dagen zijn het aantal kolonies per petrischaal geteld.

Tabel 2.4

Overzicht van PAW behandelingen met Botrytis met de gebruikte verdunningen in de eerste test. Inwerktijd 5 minuten, tenzij anders vermeld.

Code	Behandeling	Verdund	Toevoegen buffer	Verdunnen cfu/ml
A	Onbehandeld demiwater	Nee	Ja	1*10 ² , 1*10 ³
B	Chloorbleekloog 1.25%	Nee	Nee	1*10 ³ , 1*10 ⁴
C	Plasma geactiveerd water 100%	Nee	Ja	1*10 ³ , 1*10 ⁴
D	Plasma geactiveerd water 20%	1:5	Ja	1*10 ³
E	Plasma geactiveerd water 10%	1:10	Ja	1*10 ³
F	Plasma geactiveerd water 100% Inwerktijd slechts 30 sec	Nee	Ja	1*10 ³

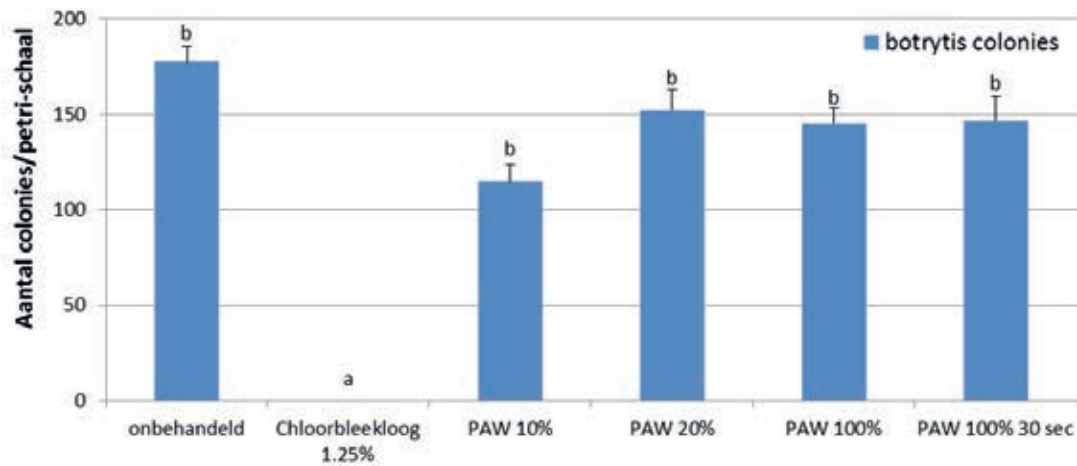
Tabel 2.5

Overzicht van PAW behandelingen met Botrytis met de gebruikte verdunningen in de tweede test. Inwerktijd 5 minuten.

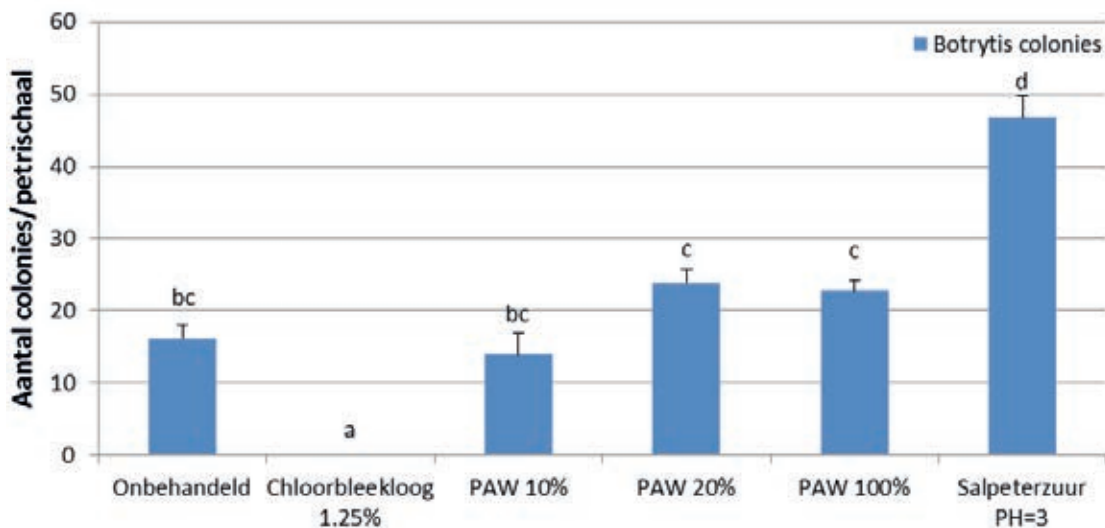
Code	Behandeling	Verdund	Toevoegen buffer	Verdunnen cfu/ml
A	Onbehandeld demiwater	Nee	Ja	1*10 ² , 1*10 ³ , 1*10 ⁴
B	Chloorbleekloog 1.25%	Nee	Nee	1*10 ³ , 1*10 ⁴
C	Plasma geactiveerd water 100%	Nee	Ja	1*10 ² , 1*10 ³
D	Plasma geactiveerd water 20%	1:5	Ja	1*10 ² , 1*10 ³
E	Plasma geactiveerd water 10%	1:10	Ja	1*10 ² , 1*10 ³
F	Salpeterzuur pH=3	Nee	Ja	1*10 ² , 1*10 ³

2.2.1.3 Resultaat

Bij toediening van plasma geactiveerd water is er in de eerste test geen vermindering van sporenkieming bij waarneming na 2 dagen ten opzichte van de onbehandeld controleplaten (Figuur 2.5). Gebruik van 1.25% chloorbleekloog is wel effectief tegen Botrytis kolonies. Bij herhaling van de test wordt er opnieuw geen werking van PAW gezien tegen sporenkieming van Botrytis (Figuur 2.6). De behandeling met salpeterzuur blijkt niet van invloed te zijn op de remming van sporen. De sporenkieming lijkt zelfs te worden bevorderd.



Figuur 2.5 De ontwikkeling van de Botrytis kolonies na twee dagen bij een begin concentratie van $1 \cdot 10^3$ cfu's/ml bij verschillende PAW behandelingen in de eerste test.



Figuur 2.6 De ontwikkeling van de Botrytis kolonies na 2 dagen bij een begin concentratie van $1 \cdot 10^3$ cfu's/ml bij verschillende PAW behandelingen in de tweede test.

2.2.1.4 Conclusie

Mild plasmawater dat 11 dagen na productie wordt toegepast, laat geen werking meer zien tegen Botrytis cinerea onder laboratoriumcondities. Voor een effectieve werking lijkt een snellere toediening na productie nodig. Een lagere zuurgraad lijkt niet van invloed op de sporenontwikkeling van Botrytis. Naïtali, Kamgang-Youbi *et al.* (2010) laten eveneens zien dat plasma geactiveerd water met de eigenschappen NO_2^- 110 mg/l, NO_3^- 140 mg/l en H_2O_2 0 mg/l niet effectief is tegen Botrytis ten opzichte van onbehandelde controles. Het is duidelijk geworden dat de kwaliteit van het plasmawater sterk kan variëren en dat het belangrijk is om op vaste kwaliteitsparameters te monitoren.

2.2.2 Bestrijding van Botrytis sporen op gerberabloemen

2.2.2.1 Doel

De plant pathogene schimmel *Botrytis cinerea* kan meer dan 200 verschillende plantensoorten (zoals aardappel, tomaat, gerbera, roos, cycloam en Saintpaulia) aantasten en daarnaast ook een saprofyt die algemeen voorkomend is op afstervende plantenweefsels. *Botrytis* sporuleert uitbundig en de sporen kunnen onder andere door de wind verspreid worden. In Nederland zijn de teeltproblemen onder glas het grootst in de herfst en winter bij wanneer de temperatuur laag is en de relatieve luchtvochtigheid hoog (>80%). Doel van deze test was om de effectiviteit van PAW tegen *Botrytis* op gerberabloemen te testen als naogstbehandeling.

2.2.2.2 Materiaal en methode

Op 13 maart 2014 is door de Wageningen UR Glastuinbouw in Bleiswijk 's middags 200 ml plasma geactiveerd water gemaakt met één van de eerste prototypes van de plasmagenerators. Dit is tot 18 maart in een koelkast bij 7°C bewaard. De eigenschappen staan in Tabel 2.6.

Tabel 2.6

Eigenschappen van het plasma geactiveerd water bepaald op 21 maart 2014 (Wageningen UR Glastuinbouw).

Plasma geactiveerd water	21-3
pH	2.8
Nitraat	0.5 mg/l

Op 17 maart 2014 zijn 48 gerberabloemen geoogst en bij kamertemperatuur bewaard. Op 18 maart is van een *Botrytis cinerea* kweek van Wageningen UR Glastuinbouw een sporensuspensie gemaakt ($2 \cdot 10^4$ cfu's/ml). 's Middags zijn alle bloemen kunstmatig met *Botrytis* besmet door met een klein spuitje (volume 100 ml) per plant 4 pufje te geven (0.4 ml/bloem). Na een half uur wachten zijn de gewasbehandelingen uitgevoerd (Tabel 2.7 met hetzelfde type spuit als waarmee de besmetting is uitgevoerd (2 pufjes = 0.2 ml/bloem). De bloemen zijn in plastic bakken in rekjes geplaatst bij een temperatuur van 20°C. Na 3 dagen, op 21 maart, zijn onder een binoculair het aantal pokken (*Botrytis* aantasting) per lintbloem per cm² geteld. Hierbij is een onderscheid gemaakt in grote pokken (> 1 mm) en kleine pokken (< 1 mm) per cm² geteld. De grote pokken zijn ook zonder binoculair zichtbaar.

Tabel 2.7

Gewasbehandelingen uitgevoerd op geoogste gerberabloemen.

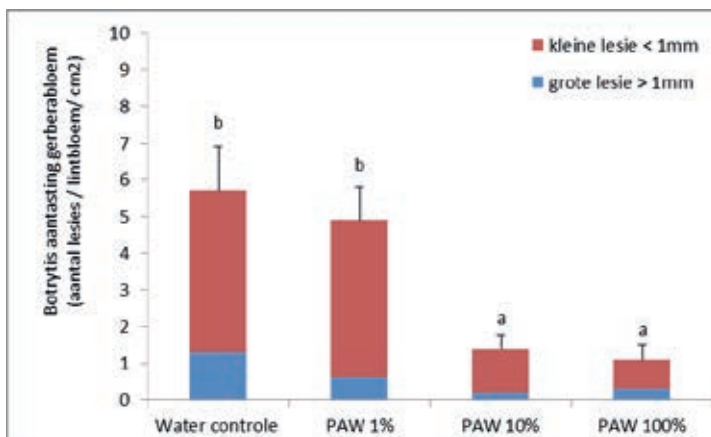
Code	Behandeling	Concentratie
A.	Onbehandeld demiwater	-
B.	Plasmawater geactiveerd water 100%	Puur
C.	Plasmawater geactiveerd water 10%	1:10
D.	Plasmawater geactiveerd water 1%	1:100

2.2.2.3 Resultaat

In Figuur 2.7 is te zien hoe de bloemen er drie dagen na uitvoeren van de behandelingen uitzien. De resultaten van het aantal pokken per lintbloem per cm² staan in Figuur 2.8. Bloemen die werden behandeld met water (controle) of 1% PAW veel meer *Botrytis* lesies hadden dan wanneer ze behandeld waren met 10 of 100% plasmawater. Het totale aantal en de grote van de lesies namen significant af als de bloemen 30 minuten na inoculatie met 10 en 100% plasmawater werden behandeld. Ten opzichte van controle is dit een afnemen van resp. 78 en 81%. Bij de plasmawater behandelende bloemen is geen fytotoxiciteit waargenomen.



Figuur 2.7 Overzicht van de gerberabloemen die kunstmatig zijn geïnfecteerd door *Botrytis*. Links de bloemen behandeld met plasma geactiveerd water (100%), rechts de met demiwater behandelde bloemen.



Figuur 2.8 Het aantal *Botrytis* lesies per lintbloem voor gerbera, opgesplitst in grote en kleine lesies.

2.2.2.4 Conclusie

Mild plasmawater (van 5 dagen oud) heeft voldoende desinfecterende werking om *Botrytis* aantasting op gerberabloemen met meer dan 80% te verminderen. De verdunde 10% PAW behandeling blijkt daarbij even effectief te zijn als de onverdunde PAW behandeling. De behandeling met PAW geven geen vermindering van kwaliteitsverlies van de bloemen (geen fytotoxiciteit). Voor een effectieve werking van plasmawater toepassingen tegen *Botrytis* is het moment van toepassing (tijdsduur na productie) een belangrijke factor. De productie van plasmawater op eigen locatie is een belangrijke stap om de tijdsduur tussen productie en toepassing terug te dringen.

2.3 Fusarium lactis

2.3.1 Doel

Vruchtrot in paprika kan veroorzaakt worden door verschillende Fusarium soorten, onder andere door *Fusarium lactis*. Deze schimmel komt algemeen voor in paprika kassen en kan hier overleven in een steenwol pot, natte plekken op de grond, in geaborteerde bloemen, vruchten, in de druppelleiding en stekers en in vuilcontainers met gewasresten. De verspreiding van deze Fusarium soort vindt plaats via lucht, water, grond/substraat, gewasresten, insecten en kleding. Zodra de paprika bloemen zich openen kunnen ze besmet raken doordat er *F. lactis* sporen op de stamper landen en in vijf dagen naar het vruchtbeginsel kunnen doorgroeien waardoor het paprika vruchtje geïnfecteerd wordt. De schimmel groeit vervolgens binnenin de paprika vrucht verder (Figuur 2.9). Bij een zware aantasting wordt het product onverkoopbaar en veroorzaakt daardoor grote economische schade.

Het doel van deze test is om na te gaan of PAW toegediend als gewasbehandeling de sporendruk van *F. lactis* kan verminderen en zodoende kan helpen tegen optreden van vruchtrot in paprika.



Figuur 2.9 Ziekteontwikkeling van *Fusarium* in paprika.

2.3.2 Materiaal en methode

Op 21 september zijn de 144 paprikaplanten (ras Maranello) in Bleiswijk in een kleine geconditioneerde kas (24 m²) geplaatst. De klimaatcondities waren: : 19 °C van 9.00 □ 18.00 uur (temperatuurverandering 1°C per uur), 17 °C van 18.00 - 9.00 uur, RV 80%. Op 6 oktober zijn de planten teruggesnoeid naar een lengte van + 40 cm om te voorkomen dat ze te groot worden. Op 28 oktober zijn gelabelde jonge bloemen kunstmatig geïnfecteerd met *Fusarium lactis* sporen in een concentratie van 1.5*10⁴ sporen/ml en na 5 uur zijn de gewasbeschermingsbehandelingen uitgevoerd door bloemen met een ultrasone nevel te behandelen (Tabel 2.8 & Figuur 2.10). Het fogapparaat was geleend van B&B Humidification in Huizen. De bedoeling was om een 100% PAW water te foggen, maar er was slechts 0,5 liter beschikbaar. Om het voorraadvat voldoende te kunnen vullen voor een toepassing, is daarom alleen een 10% PAW oplossing uitgevoerd.

Na een week zijn de vruchtjes van de plant gehaald en op petrischalen met een specifiek *Fusarium* medium gelegd. De petrischalen zijn in het donker bij een temperatuur van 20°C geplaatst. Na 3 en 5 dagen is gekeken of uit de vruchtjes *Fusarium* is gegroeid. De resultaten zijn geanalyseerd met SPSS met een One-way ANOVA en een Chi-kwadraattest (Tukey's test, P<0.05).

Tabel 2.8

Overzicht van de behandelingen tegen *F. lactis* in paprika.

Code	Behandeling	Methode	Frequentie	Dosering	Opm
A	Onbehandeld	--	niet	-	
B	INA	Spuiten	Wekelijks 3 x	1 mmol	Laatste: 5 dgn voor infectie
C	Vivando	Spuiten	1 x op 28-10	0.3 ml/l	5 uur na infectie
D	H ₂ O ₂ (Ciroclean)	Foggen	28-10: 1x 15 min, 15 min wachten	10 ml/l	5 uur na infectie
E	PAW 10%	Foggen	28-10: 1x 15 min, 15 min wachten	100 ml/l	5.30 uur na infectie



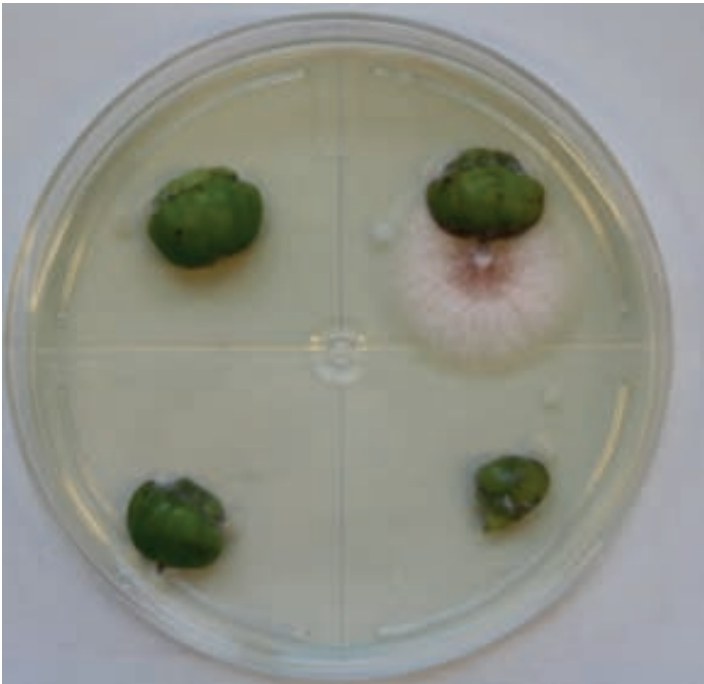
Figuur 2.10 Links de paprikaplanten in de geconditioneerde kas, rechts de opstelling met het fogapparaat (rechts onder) van B&B humidifications.

2.3.3 Resultaten

Per plant zijn 4 bloemen kunstmatig geïnfecteerd door *Fusarium lactis*. Binnen een week vallen een groot aantal vruchtjes van de plant, gemiddeld 45%. Na 3 en 5 dagen zijn het aantal vruchtjes waarop *Fusarium* aanwezig is geteld. Bij de telling op 11 november is duidelijk te zien welke vruchtjes geïnfecteerd zijn met *fusarium* (wit roze schimmelgroei; Figuur 2.11 & 2.12). Na 3 dagen was dit minder goed zichtbaar. Geteld zijn het totaal aantal:

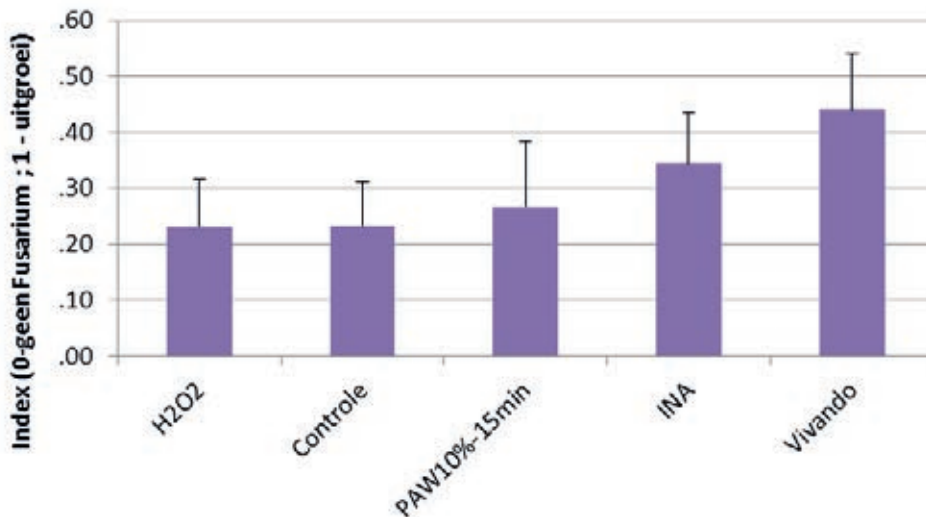
- Kunstmatig geïnfecteerde vruchtjes.
- Na 1 week het aantal te oogsten vruchtjes van de plant.
- Na 3 en 5 dag op een medium, het aantal vruchtjes aangetast door *fusarium*.

In het gewas is geen gewasschade waargenomen. Door de grote variatie binnen de behandelingen zijn er geen aantoonbare verschillen waargenomen tussen behandelingen en is er geen uitspraak te doen over de werking van PAW tegen *Fusarium*.



Figuur 2.11 *Fusarium* uitgroei uit de vruchten is goed zichtbaar (wit roze schimmelgroei).

De groei van *Fusarium* naar de vruchtbeginsels is in deze proef bij de controlebehandelingen geringer geweest in vergelijking met eerdere proeven. Kennelijk spelen de eigenschappen van de plant een rol in de mate waarin *Fusarium* sporen kunnen doorgroeien naar de vruchtbeginsels. De gewasbehandelingen veroorzaakten geen gewasschade aan de plant of de bloemen.



Figuur 2.12 Effect van de middelen op de *Fusarium* uitgroei uit jonge vruchtbeginsels op petrischalen, weergegeven met een index van 0-1 (wel of geen uitgroei).

2.3.4 Conclusies

Er zijn geen significante verschillen waargenomen tussen de 5 middelen. Het foggen van de middelen waterstofperoxide en plasmawater geven de beste resultaten maar verschillen niet significant van de blanco. Interessant is om te onderzoeken of hogere doseringen of een langere duurwerking met waterstofperoxide en plasma actief water een betere beheersing van vruchtrot in paprika geven.

3 Veiligheid voor gewas

Auteurs: W. Quaedvlieg, J.P. Van der Kolk & J. van Ruijven

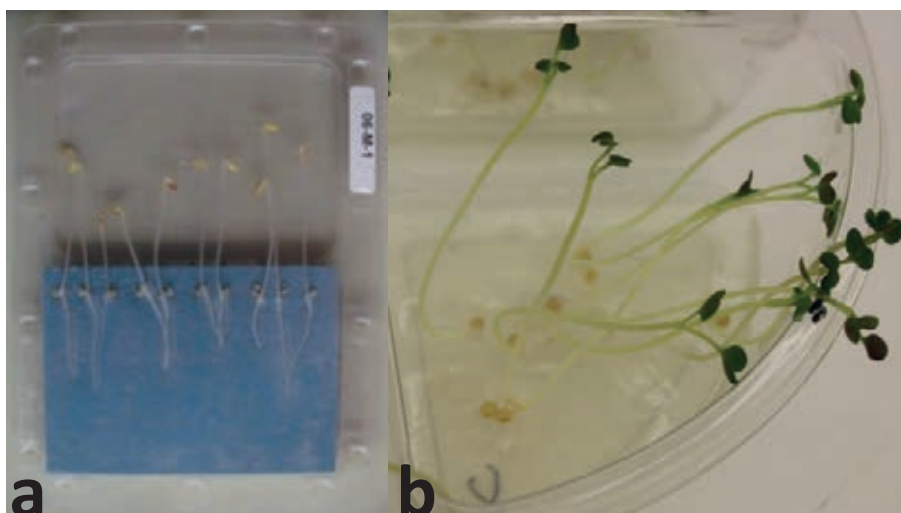
3.1 Fytotoxtesten met zaden en kiemplanten

3.1.1 Doel

Doordat plasmawater zowel een (bewezen) biocide - evenals een theoretische voedingswerking heeft zou het onder andere gebruikt kunnen worden om zaden te desinfecteren en/of in te laten kiemen en opgroeien. Maar door de samenstelling van plasmawater (o.a. vrij radicalen en een lage pH) zou ook mogelijk zijn dat zaden juist negatief beïnvloed worden door een blootstelling aan plasmawater (is het misschien toxisch voor zaden?). Doel van deze test was om te testen of een langere blootstelling van zaad aan plasmawater schadelijk is voor de zaadkieming en verdere ontwikkeling van de kiemplant.

3.1.2 Materiaal en methode

Omdat het nog niet bekend is welk effect plasmawater op de kiemsnelheid en biomassa productie van zaad en kiemplanten van verschillende soorten heeft word dit experimenteel op de korte (drie dagen) en langere termijn (twee weken) onderzocht. Voor de korte termijn meting wordt de zogenaamde "fytotox" methode gebruikt (Figuur 3.1a), hierbij worden de te testen zaden (tuinkers, mosterd en sorghum) in een gesloten systeem op een steenwol substraat gebracht en hierin krijgen ze als enige waterbron plasmawater (P=15) of de reguliere controle (water). Hiervoor zijn acht behandelingen met plasmawater en één behandeling met demi water met toegevoegd stikstof (Tabel 3.1) gekozen. Bij de aanvang van de fytotox test zijn de EC en pH waardes van het te gebruiken plasmawater (P=15) gemeten en zijn de controle waterbronnen, indien nodig, hiervoor gecorrigeerd (de EC werd met standaard komkommer voeding gecorrigeerd naar een waarde van twee en de pH met een paar druppels KOH naar een waarde van 5.6). De pH en EC waardes zoals gebruikt in de fytotox proef zijn te zien in Tabel 3.2. De fytotox test is gedurende drie dagen uitgevoerd bij 25°C, met vier herhalingen per zaadtype. Figuur 3.1b laat een voorbeeld van een standaard en extended fytotox test zien.



Figuur 3.1 Een voorbeeld van een standaard (a) (drie dagen durende) en een extended (b) (twee weken durende) fytotox test.

Tabel 3.1

De EC en pH waarden van de waterbronnen die zijn gebruikt tijdens de kortlopende (drie dagen durende) fytotoxtoets.

Behandeling	Omschrijving	pH correctie	EC correctie	EC	pH
1	0% PAW	Ja	Ja	2.1	5.5
2	1% PAW	Ja	Ja	2.1	5.6
3	10% PAW	Ja	Ja	2.00	5.6
4	50% PAW	Ja	Ja	1.90	5.6
5	100% PAW	Ja	Ja	2.00	5.6
6	0% + stikstof	Ja	Ja	2.00	5.6
7	100% PAW -EC - pH	Nee	Nee	0.99	2.8
8	100% PAW -pH	Nee	Ja	2.00	2.7
9	100% PAW -EC	Ja	Nee	0.80*	5.6

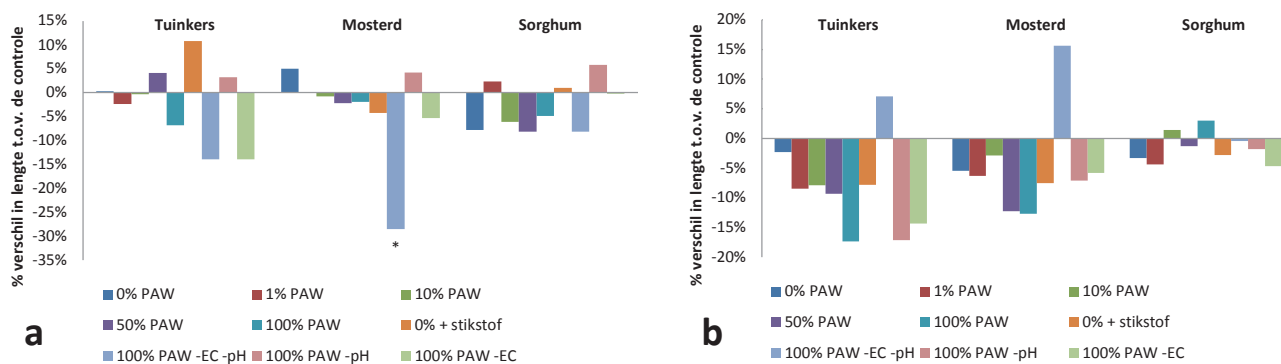
Tabel 3.2

De pH waarden van de twee verschillende plasmawater soorten die zijn gebruikt tijdens de extended (14 dagen durende) fytotoxtoets.

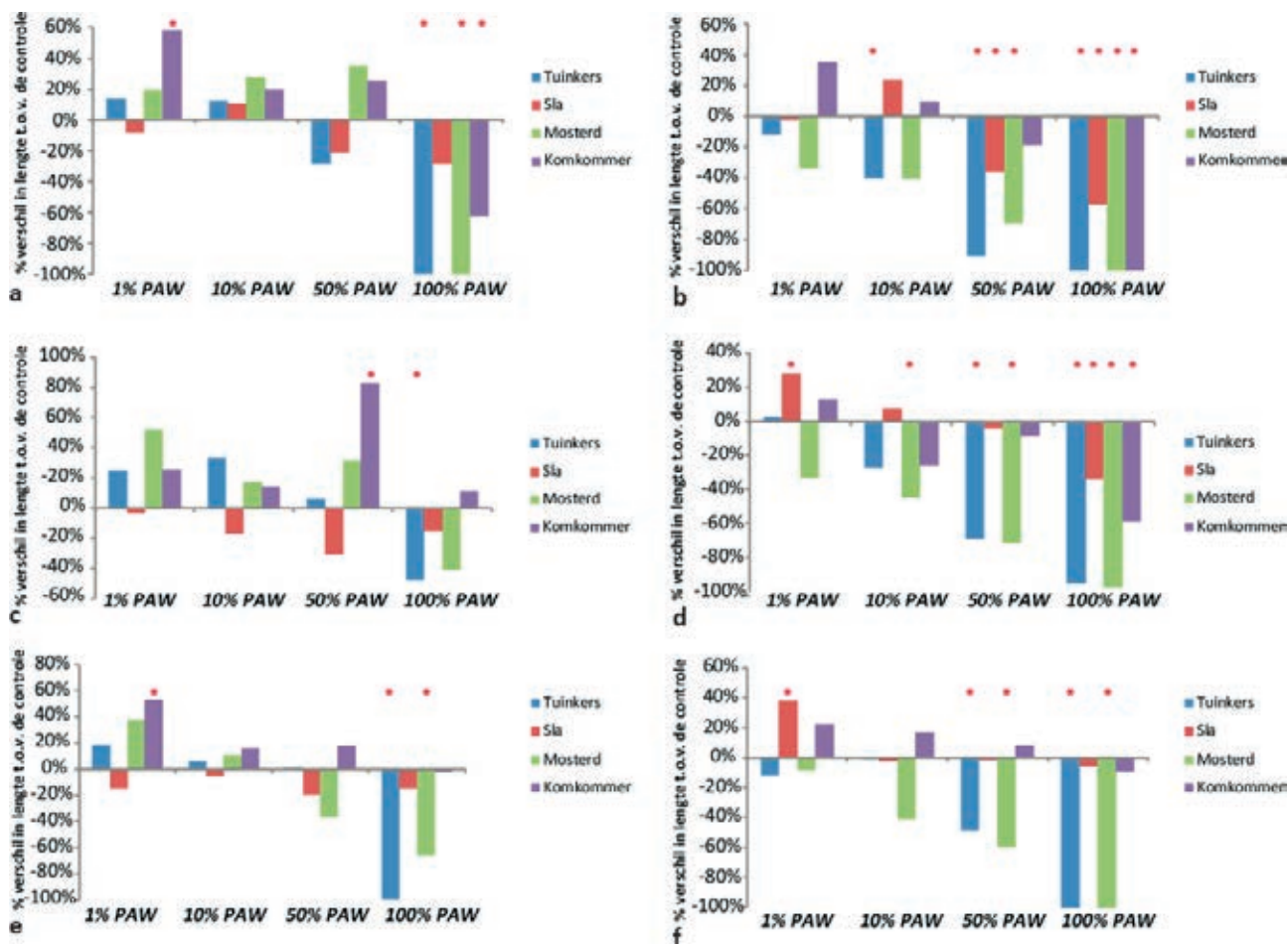
Waterbron:	Verdunning (%)	pH
PAW water met daarin gerbera voedingsmedium opgelost.	0	6.71
	1	6.17
	10	5.05
	50	2.91
	100	2.56
Demiwater met daarin gerbera voedingsmedium opgelost waaruit PAW water is gemaakt.	0	6.71
	1	6.41
	10	3.88
	50	2.72
	100	2.40
PAW uit demiwater.	0	6.71
	1	6.66
	10	5.01
	50	2.84
	100	2.47

3.1.3 Resultaten

Na drie dagen kieming, werden de spruit en wortel lengtes gemeten en de resultaten (Figuur 3.2) lijken erop te wijzen dat de wortel lengtes van alle kiemplanten negatief beïnvloed lijken te worden door de lage pH en hoge EC van het plasmawater, maar tijdens een Genstat paarsgewijze REML test bleken deze afwijkingen niet significant te zijn. De spruit lengtes lijken ook negatief beïnvloed te worden door de lage pH en hoge EC van plasmawater, echter uit een Genstat, paarsgewijze REML test bleek dat behandeling zeven (100% plasmawater) wel een significant negatief effect had op de spruitlengte.



Figuur 3.2 De gemiddelde spruit (a) en wortellengtes (b) van tuinkers, mosterd en sorghum zaden na drie dagen kieming en groei onder invloed van plasmawater uit demiwater (P=15) in de korte fytotox test.



Figuur 3.3 Bovenstaande grafieken (a t/m f) geven de gemiddelde positieve en negatieve afwijkingen (in procenten) weer die de bovengrondse (spruit) en ondergrondse (wortel) delen van de vier verschillende testgewassen hebben ontwikkeld t.o.v. de blanco waarden na veertien dagen blootstelling aan de vier individuele verdunningen van drie geteste(plasma)watersoorten in de extended fytotox test. Figuren a en b geven respectievelijk de gemiddelde spruit en wortellengtes weer van planten die op plasmawater uit voedingsmedium zijn gekiemd. Figuren c en d geven respectievelijk de gemiddelde spruit en wortellengtes weer van planten die op plasmawater plus voedingsmedium zijn gekiemd en figuren e en f geven respectievelijk de gemiddelde spruit en wortellengtes weer van planten die op plasmawater uit demiwater zijn gekiemd. De gemiddelde waarden van de individuele wortel en spruit lengte bepalingen werden door middel van een "One way ANOVA" analyse in het statistisch programma SPSS geanalyseerd en de gemiddelde waarden die significant (positief of negatief) afwijken van de blanco (demiwater) waarden zijn gemarkeerd met een rode asterisk (*).

Uit deze kortlopende fytotox test bleek (Figuur 3.2) dus dat de lage pH en hoge EC van plasmawater waarschijnlijk een negatief effect hadden op de kieming en groei van tuinkers, mosterd en sorghum, maar ook dat de effecten tijdens deze kortlopende proef niet sterk genoeg bleken om een echt duidelijk beeld hierover te krijgen. Daarom is deze fytotest ook uitgevoerd in een grotere (extended) setup waarbij er gedurende twee weken lang zaad direct op ongecorrigeerde, en meerdere, plasmawater soorten en verdunningen is ontkiemd en gegroeid. Hierbij werden per watersoort en verdunning 30 zaden van vier verschillende gewassen (tuinkers, mosterd, komkommer en sla) gebruikt (er is geen sorghum gebruikt, deze plantjes zouden namelijk binnen twee weken te groot kunnen worden en dan niet meer in de gebruikte schalen passen).

Deze zaden werden bij 20°C ontkiemd op water agar (1,5%) welke werd aangemaakt met drie verschillende (plasma)watersoorten (P=15), plasmawater uit demiwater (a), plasmawater uit demiwater waaraan na de plasmablootstelling extra gerbera voedingsmedium wordt toegevoegd (b) en plasmawater wat is geproduceerd uit demiwater waaraan gerbera voedingsmedium is toegevoegd (c), in vijf verdunningen (100%, 50%, 10%, 1% en 0%).

Na veertien dagen groei werden de planten geoogst en werden nogmaals de spruit en wortellengtes van de opgekomen kiemplanten gemeten om zodoende tegenover de blanco waardes statistisch te kunnen bepalen of het kiemen en groeien op deze verschillende soorten en verdunningen van plasmawater een negatief of positief effect heeft gehad op deze zaden. De waardes van de individuele wortel en spruit lengte bepalingen (Figuur 3.3) werden door middel van een "One way ANOVA" analyse in het statistisch programma SPSS geanalyseerd en de gemiddelde lengte waardes die significant (positief of negatief) afweken van de blanco (demiwater) waardes zijn gemarkeerd met een rode asterisk.

De resultaten van de korte en lange kiemprouven zijn erg interessant qua diversiteit. De individuele zaad soorten die getest zijn, reageren elk heel anders op de invloed van de plasmawaters op hun kieming en groei, maar zoals de eerste resultaten van de korte fytotox test al min of meer aangaven, reageren vrijwel alle zaden (met de uitzondering van komkommer) min of meer negatief op een zeer lang blootstellen aan plasmawater. Figuur 3.3 laat dan ook een algemeen negatieve trend zien in het verband tussen plasmawater sterkte en de spruit/wortel lengte en hoe sterker het plasmawater, hoe sterker deze negatieve trend wordt, cumulerend in het afsterven van een groot gedeelte van de kiemplanten (m.u.v. komkommer) bij een blootstelling aan 100% plasmawater. Komkommer daarentegen was de meest robuuste plant in dit onderzoek qua plasmawater toleranties, en bij alle drie de plasmawater soorten kiemde en groeide de zaden gewoon goed tot en met 50% plasmawater in het groeimedium (bij het plasmawater + voeding test deed komkommer het zelfs significant beter dan de demiwater controle (Figuur 3.3c).

3.1.4 Conclusie

Uit de testen met zaden en kiemplanten blijkt dat de zaden van individuele planten soorten anders op plasmawater kunnen reageren en dat er dus voorzichtig moet worden omgegaan met de combinatie van zaad/kiemplanten en een langere blootstelling aan plasmawater. Deze gevoeligheid van zaad en kiemplanten ten opzichte van plasmawater bij drie dagen blootstelling betekent niet automatisch dat plasmawater bij voorbaat al ongeschikt zou zijn als sterilisatie of desinfectiemiddel voor zaden, kiemplanten of fust, maar wel dat elk van deze mogelijke (zeer kort durende) plasmawater blootstellingen individueel goed op mogelijke negatieve effecten getest moeten worden. Bij toepassing van mild plasmawater ($P=15$) als zaadbehandeling is het bij de huidige samenstelling aan te raden om relatief lage concentraties toe te passen (max. 10%) toe te passen bij een blootstellingsduur langer dan 24 uur.

3.2 Effect van PAW in een substraatteelt met een jong tomatengewas

3.2.1 Doel

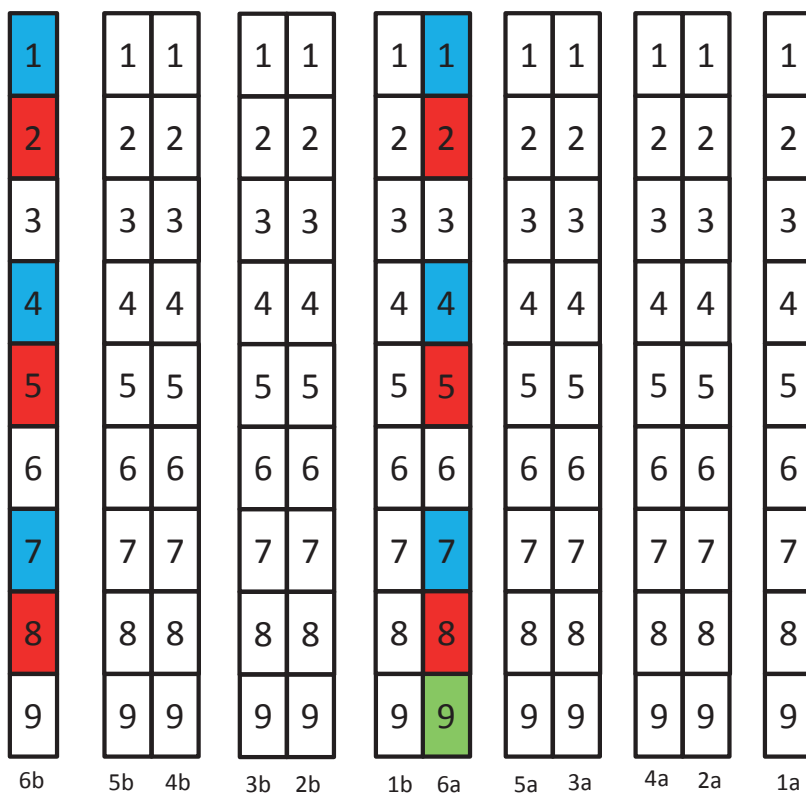
De testen met zaden en jonge kiemplanten laten bij een korte blootstellingstijd geen nadelige effecten zien van PAW. Daarom is er een vervolg gegeven aan de gewastesten met volgroeide planten onder standaard groeicondities op substraat met een recirculerend watergeefstelsel. In het leidingwerk van het irrigatiesysteem in een kas kan door anaerobe omstandigheden een slijmlaag ontstaan, gevormd door bacteriën om zich te beschermen tegen ontsmettingsmiddelen. In deze slijmlaag (biofilm) kunnen zich ook plant pathogene schimmels en virussen vestigen, die bij gunstige omstandigheden voor het pathogeen het gewas kunnen bereiken en kunnen besmetten. PAW kan mogelijk een oplossing zijn om deze slijmlaag en plantpathogenen af te breken, maar dan moet wel eerst worden aangetoond dat er geen nadelige gewasreacties optreden. Doel van deze test was om de geschiktheid van PAW als irrigatiebehandeling te bepalen en de effecten op gewasreactie te onderzoeken op een jong tomatengewas in een standaard substraatteelt.

3.2.2 Materiaal & methode

Er is deze test gekeken naar het effect van het toevoegen van PAW aan de voedingsoplossing in de kas, om vast te stellen:

1. Wat er gebeurt met de effectiviteit van PAW in het irrigatiesysteem.
2. Wat een effectieve en veilige dosering van PAW aan het druppelwater is, zonder risico voor het gewas (wortel en blad).
3. Wat het effect van PAW is op de gewasgroei (voedingsstoffen, vers gewicht en bladgroen).

In een kasproef (144m²) met een jong tomatengewas (Komeett, in week 33 op de mat gezet) zijn zes behandelingen in duplo (2 teeltgoten per behandeling) toegepast met verschillende hoeveelheden PAW toegevoegd aan de voedingsoplossing. Het drainwater wordt in deze proeven gerecirculeerd. In de referentiebehandeling (behandeling 1) is standaard voedingsoplossing tomaat gegeven. In behandeling 2 is één keer per week 1% PAW aan de voedingsbak toegediend. In behandeling 3 is één keer per week 10% PAW aan de voedingsbak toegediend. In behandeling 4 is twee keer per week 100cc per plant aangegoten bij de druppelaar (50% demiwater, 50% PAW). In behandeling 5 is twee keer per week 100cc 100% PAW per plant aangegoten bij de druppelaar. In behandeling 6 is voor aan drie matten (lichtblauw) twee keer per week 300cc 100% PAW bij de druppelaars toegevoegd en aan drie matten (rood) twee keer per week 100cc 100% PAWS (vers PAW) toegevoegd bij de druppelaars. In de groene mat is tweemaal 200cc 100% PAWS toegevoegd. Figuur 3.4 geeft een overzicht van de indeling van de kasproef. Behandelingen 1-3 zijn uitgevoerd tussen 4 en 21 september, behandelingen 4-6 zijn uitgevoerd op 7, 11, 15 en 18 september.

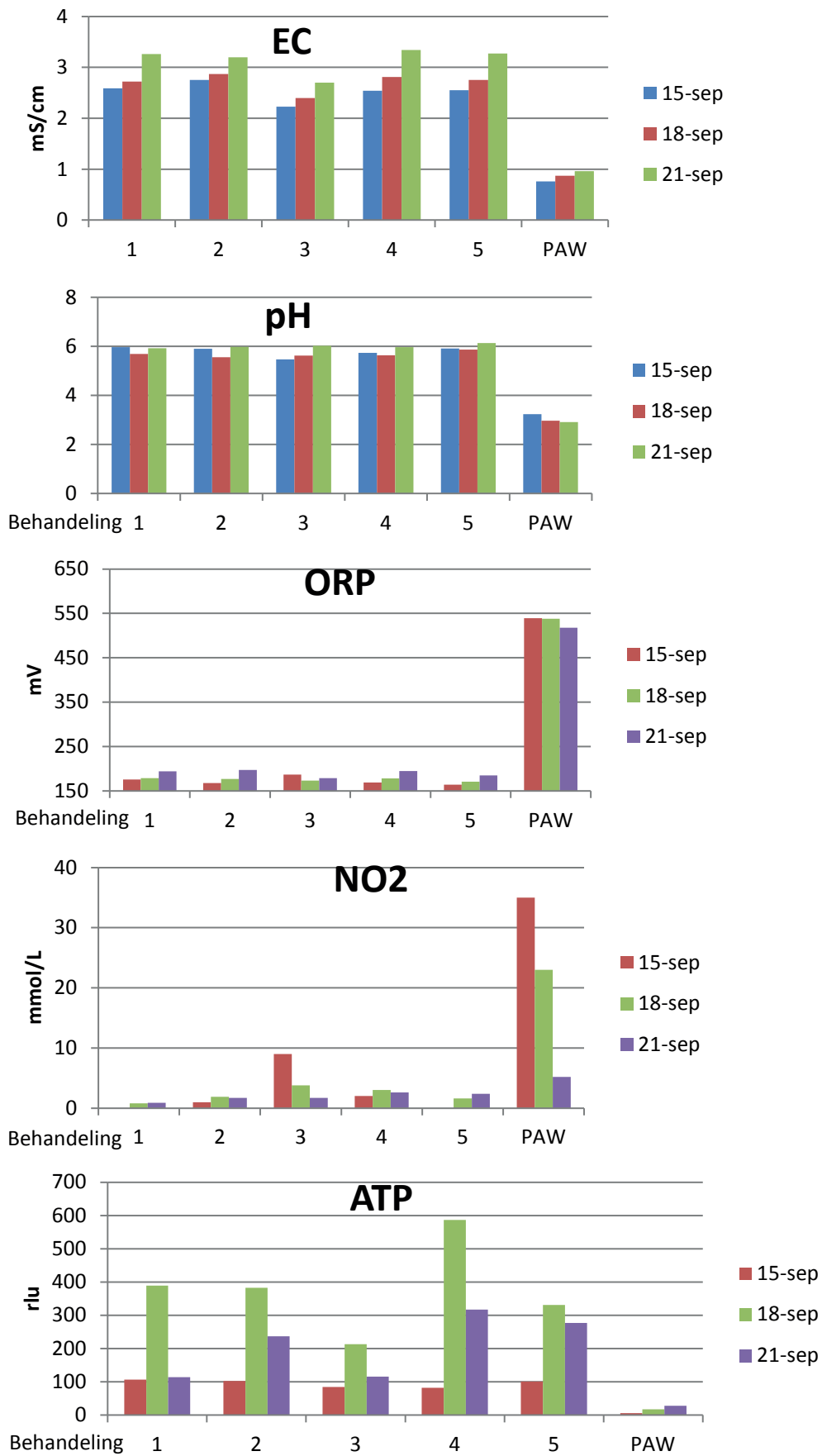


Figuur 3.4 Overzicht van de behandelingen in de kasproef met PAW.

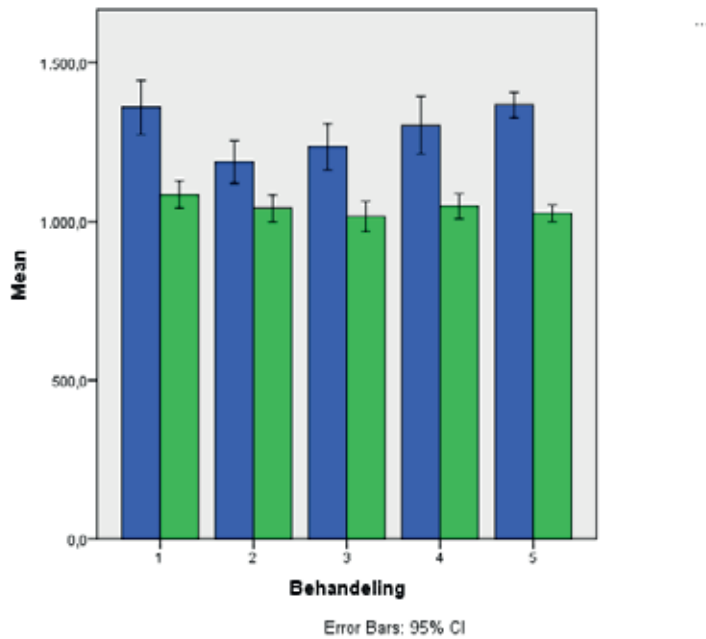
Het bijmengen van PAW heeft een effect op de samenstelling van de voeding voor het gewas. Om dit effect vast te stellen zijn op drie data voedingsanalyses gedaan van de voedingsoplossingen van alle behandelingen. Aan het einde van de teelt is het versgewicht van het gewas destructief bepaald, opgesplitst over de vruchten en stengel + blad. Daarnaast zijn SPAD metingen uitgevoerd. Deze SPAD meting werden uitgevoerd op het vijfde of zesde volgroeide blad (geteld vanaf vanaf de apex) van middelste plant per mat. In het midden van de goot was een mat met maar twee planten. Hierbij is de plant gemeten die het dichtstbij het middenpad stond. De resultaten van de SPAD meting werd via een One way ANOVA in het programma SPSS geanalyseerd.

3.2.3 Resultaten

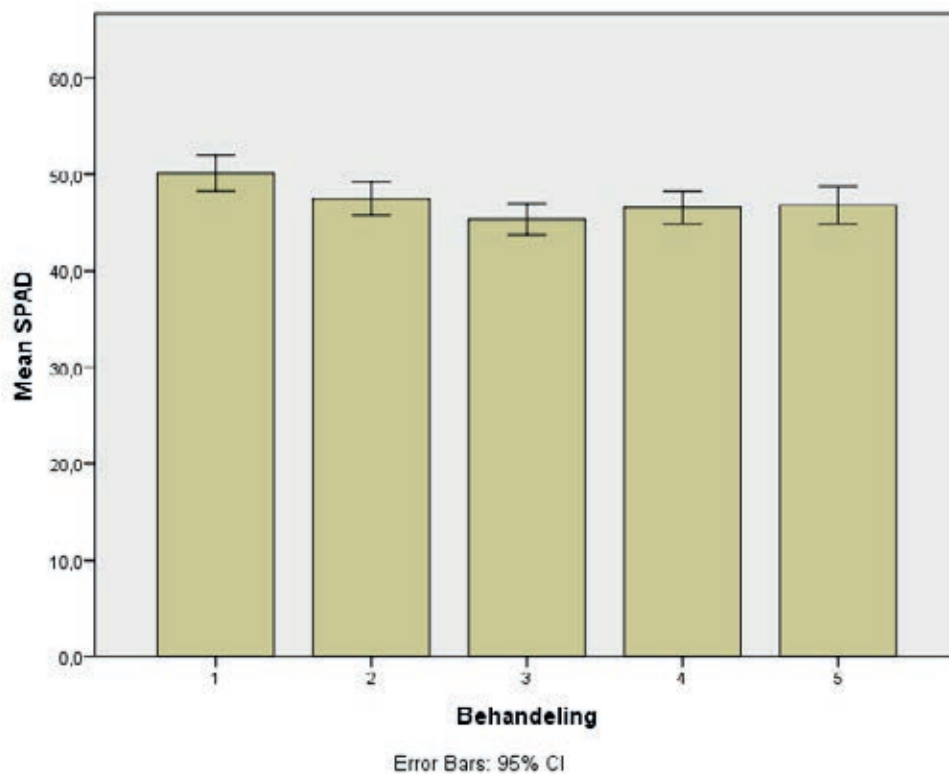
In de Figuren 3.5 is de samenstelling van het voedingswater op 15, 18 en 21 september weergegeven voor de verschillende behandelingen. Doordat de systemen het drainwater recirculeren, loopt de EC op de drie meetdagen langzaam op. Behandeling drie heeft een duidelijk lagere EC dan de overige behandelingen, doordat 10% PAW is bijgemengd met de voeding. De pH van de verschillende behandelingen is nauwelijks verschillend. Het ongemengde PAW heeft een hoge redoxpotentiaal (ORP), maar dit verdwijnt door de aanwezigheid van onder andere organisch materiaal in het voedingswater. In de behandelingen 1-5 is er geen effect zichtbaar op de ORP van het toevoegen van PAW. Nitriet verdwijnt snel uit het water, ook bij het ongemengde PAW. Hiermee verdwijnt ook een deel van de ontsmettende werking. De ATP-metingen met het voedingswater schieten alle kanten op. Het lijkt hierdoor niet direct een goede analysemethode voor het vaststellen van de effectiviteit van PAW in het kassysteem.



Figuur 3.5. Resultaten van verschillende metingen in het voedingswater (EC, pH, ORP, NO₂ en ATP).



Figuur 3.6. Resultaten van de metingen van het versgewicht. Blauwe balken zijn de metingen van het versgewicht van de vrucht, groene balken geven het versgewicht van het blad en de stengel weer. Opgeteld geeft dit het totale versgewicht van het gewas per behandeling.



Figuur 3.7 Overzicht van de resultaten van de SPAD-metingen aan het gewas voor de verschillende behandelingen.

Het totale versgewicht in behandeling 2 en behandeling 3 is lager dan in de referentie, behandeling 1 (Figuur 3.6). Dit komt vooral voort uit een lager versgewicht in de vrucht. Mogelijk is dit veroorzaakt door de lagere EC van de voedingsoplossing door het bijmengen van PAW. In vervolgonderzoek zal verder uitgezocht moeten worden of bij gelijke EC en pH het versgewicht bij toevoegen van PAW wel gelijk blijft.

De SPAD-metingen in Figuur 3.7 geven aan dat behandeling 3, 4 en 5 een negatief effect hebben op de hoeveelheid bladgroen in het gewas. Deze lagere waarden zijn mogelijk ook te relateren aan de lagere beschikbaarheid van nitraat, maar hiervan is de correlatie niet sterk ($R^2 = 0.059$).

3.2.4 Conclusie

In deze test met een jong tomatengewas op substraat werden geen nadelige gewasreacties vastgesteld na blootstelling aan plasmawater. Visueel was er geen verschil in het gewas bij de verschillende behandelingen, ook niet bij de hoge doseringen in behandeling 6. In vervolgstesten dient wel rekening te worden gehouden met standaardisering van EC gehalten.

3.3 Effect van PAW als irrigatiebehandeling op de groei en weerbaarheid van jonge potplanten en sla

3.3.1 Doel

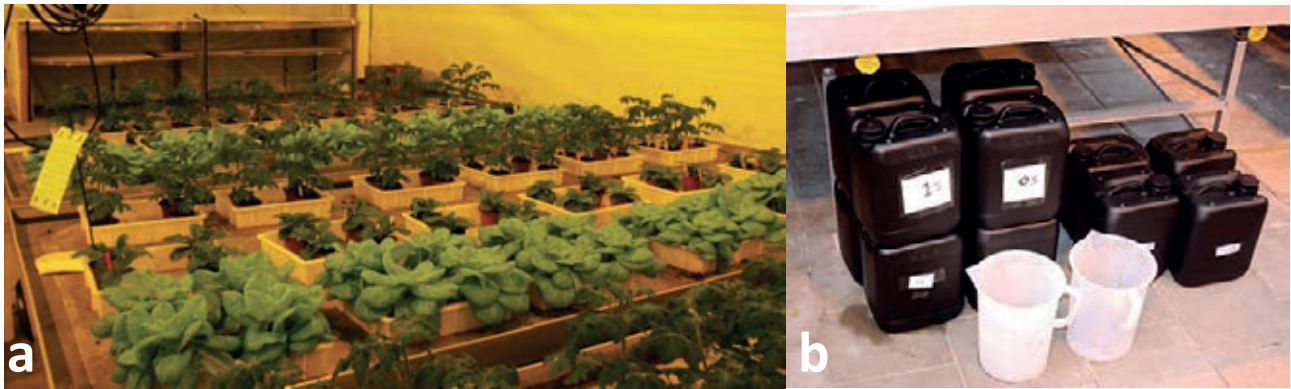
De aanwezigheid van organische stikstof verbindingen (NO_3^- en NO_2^-) in plasmawater zouden plasmawater theoretisch geschikt kunnen maken om te dienen als goedkope en gemakkelijk te produceren meststof in de land- en tuinbouw. Ook zou het mogelijk zijn dat een plant dankzij deze extra voedingsstoffen resistenter wordt tegen plant pathogenen als deze voor, tijdens en na de infectie plasmawater als waterbron hebben. Het is echter nog onbekend hoe jonge en volwassen planten reageren op een systematische blootstelling aan plasmawater en het zou ook zomaar mogelijk kunnen zijn dat planten juist negatief reageren op deze combinatie van vrije radicalen en lage pH. Het doel van dit onderzoek bestaat uit twee deelvragen:

Deelvraag 1: Wat is het effect van een langdurige systemisch blootstelling van plasmawater als waterbron op de biomassa productie van planten?

Deelvraag 2: Wat is het effect op de resistentie en het ziektebeeld van planten als deze voor, tijdens en na het initiële- en navolgende infectieproces continue systemisch worden blootgesteld aan plasmawater als waterbron (wat is het effect van preventief /curatief systemisch plasmawater op het ziektebeeld?).

3.3.2 Materiaal en methode

Om een antwoord op deze drie deelvragen te kunnen geven werden er gedurende vier weken drie batches met sla, gerbera en pottomaat planten, onder zes verschillende (plasma)water condities op Jiffy potgrond (Tref Flush fijn 15% perliet (TBF 17-10-14-4)) gemengd met $1,25 \text{ kg/m}^3$ PG MIX), opgekweekt. Er werden zes verschillende (plasma)water condities onderzocht: 0, 1, 10, 50 en 100% plasmawater en als stikstof controle werd er demiwater met $1400 \text{ mg/l Ca}(\text{NO}_3)_2$ als waterbron gebruikt. Het gehalte stikstof in deze stikstof controlelijn staat gelijk aan de gemiddelde hoeveelheid stikstof in de eerste batch VitalFluid plasmawater. Planten behorende tot deelvraag 1 (120 platen van elke soort) werden gedurende vier weken continue aan plasmawater in zes verdunningen als waterbron blootgesteld (Figuur 3.8).



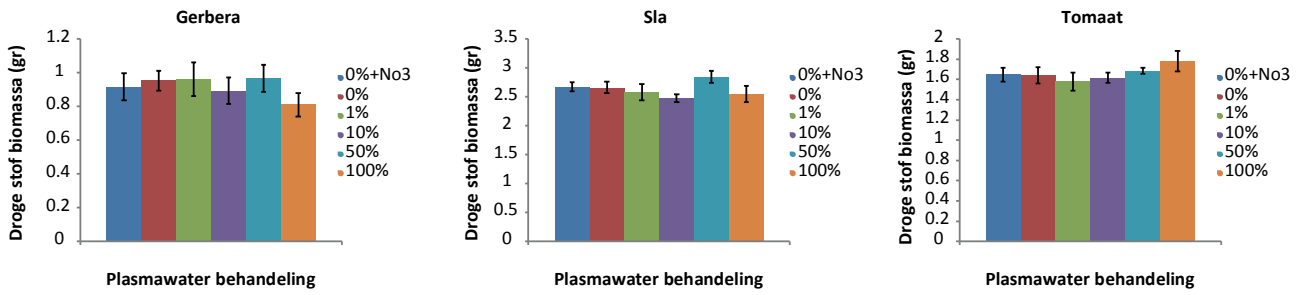
Figuur 3.8 Bovenstaande figuren (a t/m b) geven de proefopzet weer van het systemisch plasmawater onderzoek waarbij vier weken lang tomaten, sla en gerbera planten (a) werden opgekweekt onder systemisch plasmawater condities bij zes VitalFluid plasmawater verdunningen (b) (0, 1, 20, 50,100% en demiwater plus 1400mg/l $\text{Ca}(\text{No}_3)_2$ als stikstof controle).

Planten behorende bij deelvraag 2 (30 planten van elke soort) en deelvraag 3 (120 platen van elke soort) werden na twee weken groei onder plasmawater condities met meeldauw op de gerbera-, en tomaten planten en *Botrytis cinerea* op de sla planten geïnoculeerd, maar de deelvraag 2 planten gingen daarna over gerbera voedingsmedium als waterbron terwijl bij de deelvraag 3 planten de plasmawater behandeling werd voortgezet.

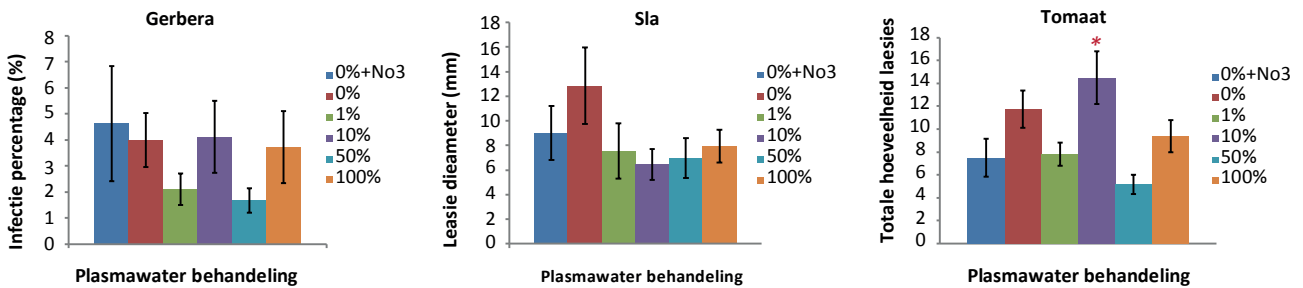
Na twee weken te zijn blootgesteld aan plasmawater werden er 10 planten van elke waterbron (60 planten) behorende tot deelvraag 1 geoogst en werd van elke waterbron planten de droge stof biomassa bepaald om een tussenmeting te verrichten. Na vier weken werden de resterende 60 planten behorende tot deelvraag 1 geoogst om de droge stof eind biomassa te bepalen. Twee weken post-inoculatie worden de planten behorende tot deelvraag 2 en 3 op hun ziekteverschijnselen gescoord (lesie diameters en/of lesie hoeveelheden) om zo statistisch te kunnen bepalen of het preventief en/of curatief toedienen van plasmawater een effect heeft op de inherente ziekteresistentie van deze plantensoorten. De tussen- en eindresultaten van de biomassa meting en de ziekteverschijnselen (lesie diameters en/of lesie hoeveelheden) werden doormiddel van een "One way ANOVA" in het statistisch programma SPSS geanalyseerd om te bepalen of er significant verschillen tussen de gemiddelde waarden van deze behandelingen aanwezig waren.

3.3.3 Resultaten

De resultaten van deelvraag 1 (Figuur 3.9) gaven aan dat de testplanten onder optimale teeltcondities geen nadelige effecten op gewasgroei ondervonden van de systemische blootstelling, gedurende een periode van vier weken, aan de plasmawater verdunningen.



Figuur 3.9 De gemiddelde droge stof biomassa gehalten van twintig gerbera, sla en tomaat planten na vier weken groei op zes verschillende (plasma)water bronnen.



Figuur 3.10 De gemiddelde laesie diameter/aantallen op twintig gerbera, sla en tomaat planten na vier weken groei op zes verschillende (plasma)water bronnen. Waardes die significant afwijken ten opzichte van de blancs zijn gemarkeerd met een rode asterisk (*).



Figuur 3.11 Enkele voorbeelden van meeldauw lesies op tomaat. Deze lesies zijn al circa vier weken oud en beginnen daarom al in elkaar over te lopen.

De resultaten van deelvraag 2 (Figuur 3.10 en 3.11) gaven aan dat zowel sla als gerbera planten geen significant effect ondervonden qua resistentie tegen meeldauw en Botrytis als deze planten voor het infectieproces aan systemisch plasmawater waren blootgesteld. De resultaten van de tomatenplanten daarentegen waren gemixt, hier werd wel een significant positief effect op de resistentie tegen meeldauw vastgesteld, maar alleen bij de 50% plasmawater behandeling en alhoewel de SPSS analyse een significant positief effect liet zien, was dit effect met het blote oog niet zichtbaar.

3.3.4 Conclusie

De resultaten van vraagstuk 1 gaven aan dat alhoewel het langdurig toedienen van plasmawater de jonge sla, gerbera en tomaten planten geen meetbare schade toebracht, het ook geen meetbare positieve effecten op de biomassa productie had. Dit betekent niet dat het extra nitraat of nitriet in het plasmawater niet door de planten kan worden opgenomen, maar enkel dat er onder deze ideale teelt condities geen effect kon worden gemeten. Het zou nog steeds kunnen zijn dat er onder suboptimale, of zeer arme teeltcondities wel een effect meetbaar is, maar daar zal nog nader onderzoek naar gedaan moeten worden.

De resultaten van vraagstuk 2 gaven ook aan dat het preventief/curatief toedienen van plasmawater aan sla en gerbera planten voor, en na hun inoculatie met meeldauw en Botrytis onder deze ideale teelt condities geen meetbaar effect had op de resistentie van deze planten tegen deze schimmels. Alhoewel er wel een significant positief effect bij de tomaten planten op hun meeldauw resistentie werd vastgesteld, was dit effect alleen bij de 50% plasmawater behandeling meetbaar. Omdat het tegen de verwachting in is dat 50% plasmawater wel een positief effect laat zien, maar 100% plasmawater niet, is het aan te raden om dit experiment nogmaals te herhalen (ook aangezien de standard error's in de lesie en infectiediameter metingen ook relatief groot waren) om zo te bepalen of dit positieve effect reproduceerbaar is om zo uit te sluiten dat het hier om een ongerelateerd of random effect gaat.

3.4 Effect van PAW als nevelbehandeling op de groei en weerbaarheid van jonge potplanten en sla

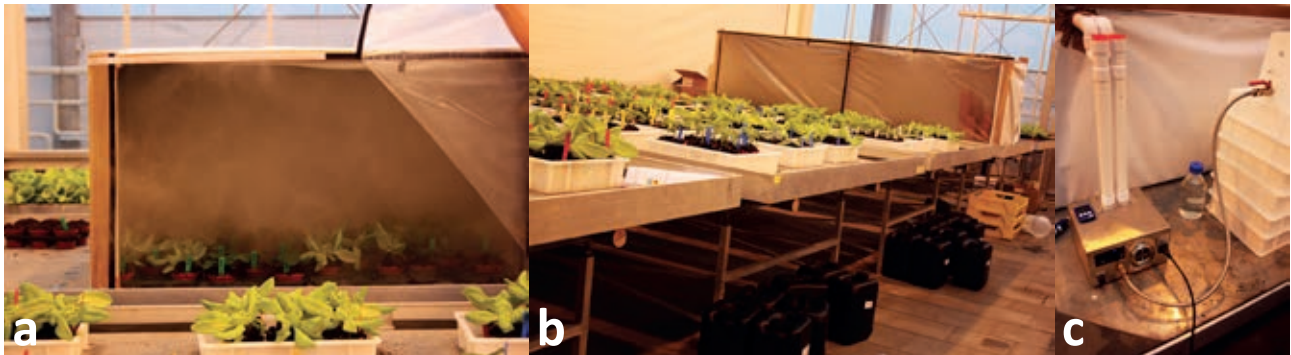
3.4.1 Doel

Door zijn antimicrobiële werking zou (verneveld) plasmawater ook theoretisch als preventief gewasbeschermingsmiddel tegen plant pathogene bacteriën en schimmels ingezet kunnen worden. Het is echter nog niet bekend of dit in de praktijk ook werkt. De centrale vraagstelling rond de effectiviteit van het vernevelen van plasmawater als gewasbeschermingsmiddel kan opgesplitst worden in drie deelvragen:

1. Wat is het effect op de biomassa productie van planten als deze, gedurende vier weken elke (werk) dag gedurende vijftien minuten worden blootgesteld, aan verneveld mild plasmawater?
2. Wat is het effect op de resistentie en het ziektebeeld van planten als deze voor en tijdens het initiële infectieproces gedurende twee weken elke (werk) dag gedurende twintig minuten worden blootgesteld aan verneveld mild plasmawater (wat is het effect van preventief verneveld mild plasmawater op de ziekteontwikkeling)?
3. Wat is het effect op de resistentie en het ziektebeeld van planten als deze voor, tijdens en na het initiële infectieproces gedurende vier weken elke (werk) dag gedurende twintig minuten worden blootgesteld aan verneveld mild plasmawater (wat is het effect van preventief /curatief verneveld mild plasmawater op de ziekteontwikkeling)?

3.4.2 Materiaal & methode

Deze drie deelvragen worden onderzocht door voor de deelvragen 1 en 3 honderd- en voor deelvraag 2 dertig planten van twee gewassen (sla en gerbera) op te groeien op Jiffy potgrond (Tref Flush fijn 15% perlite (TBF 17-10-14-4)) gemengd met 1,25 kg/m³ PG MIX) per plasmawater behandeling. In totaal worden er voor elke deelvraag vijf vernevelings behandelingen onderzocht: 0, 1, 10, 50 en 100% mild plasmawater waarbij de negatieve controle groepen (0%) dezelfde 20 minuten durende vernevelings behandelingen ondergaan, maar dan met demiwater als waterbron. Alle planten krijgen dagelijks gerbera voedingsmedium als systemische waterbron. Om deelvraag 1 te beantwoorden worden de bijbehorende planten gedurende vier weken elke (werk) dag gedurende 20 minuten behandeld met het vernevelt milde plasmawater (Figuur 3.12).

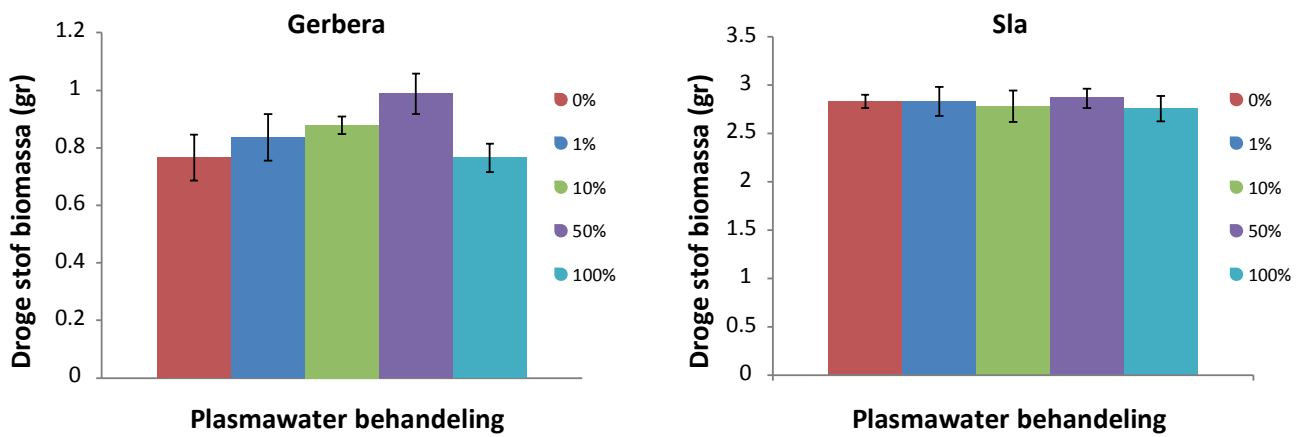


Figuur 3.12 Gedurende een periode van vier weken werden er verschillende batches met sla en gerbera planten gedurende 20 minuten per (werk)dag blootgesteld aan verneveld mild plasmawater (a) (in verschillende concentraties) in een vernevelingskamer (b) met behulp van een Contronics HU-25 humidifier (c) om te bepalen of deze behandeling een effect hadden op de biomassa productie van deze planten en/of deze behandeling gebruikt kon worden om de infectieschade door geïnoculeerde meeldauw op de gerbera- en *Botrytis cinerea* op de sla planten te beperken.

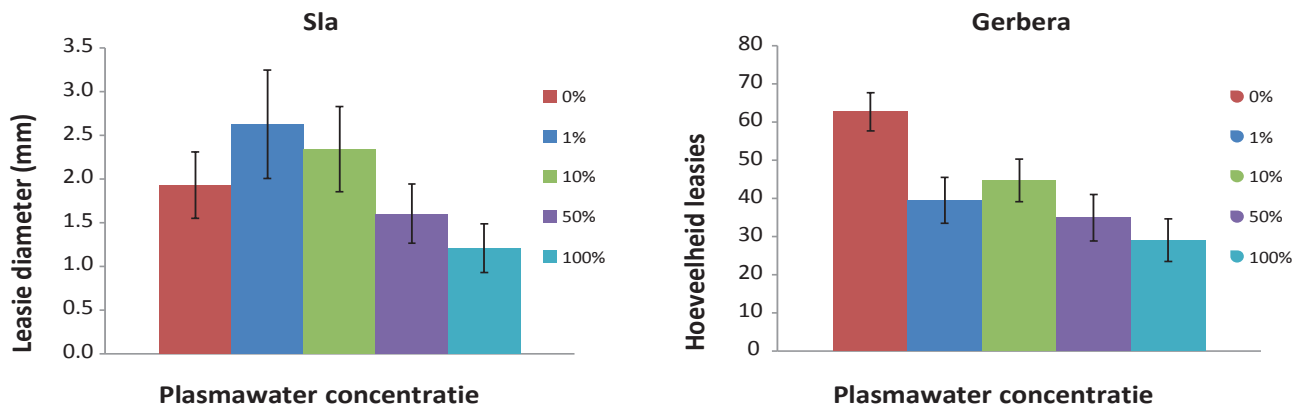
Na twee weken zal er voor deelvraag 1 een tussenmeting plaatsvinden doormiddel van een biomassa bepaling door van tien planten per behandeling het drooggewicht te bepalen om zo doormiddel van een "One way ANOVA" in het statistisch programma SPSS vast te kunnen stellen of het geteste milde plasmawater in vernevelde vorm effect heeft op de biomassa productie van deze planten. Na vier weken zal de eindmeting plaatsvinden. Om de deelvragen 2- en 3 te beantwoorden worden de bijbehorende planten gedurende twee weken elke (werk) dag gedurende 20 minuten behandeld met de vernevelde milde plasmawaters. Na twee weken behandeltijd worden de planten geïnoculeerd met meeldauw voor de gerbera- en *Botrytis cinerea* voor de sla planten. Terwijl de vernevelingsbehandelingen bij de deelvraag 3 planten hierna nog twee weken voortgezet worden de vernevelingsbehandelingen voor de deelvraag 2 planten hierna gestaakt. Twee weken post-inoculatie worden de planten behorende tot deelvragen 2- en 3 op hun ziekteverschijnselen gescoord (lesie diameters en/of lesie hoeveelheden) om zo statistisch te kunnen bepalen of het preventief en/of curatief toedienen van plasmawater enig effect heeft op de inherente ziekteresistentie van deze plantensoorten. De resultaten van deze ziekteverschijnselen werden doormiddel van een "One way ANOVA" in het statistisch programma SPSS geanalyseerd.

3.4.3 Resultaten

De resultaten van deelvraag 1 gaven aan dat zowel de gerbera als sla planten geen significante effecten ondervonden op hun biomassa productie door een (werk)dagelijkse blootstelling aan het vernevelde milde plasmawater gedurende een periode van vier weken (Figuur 3.13).



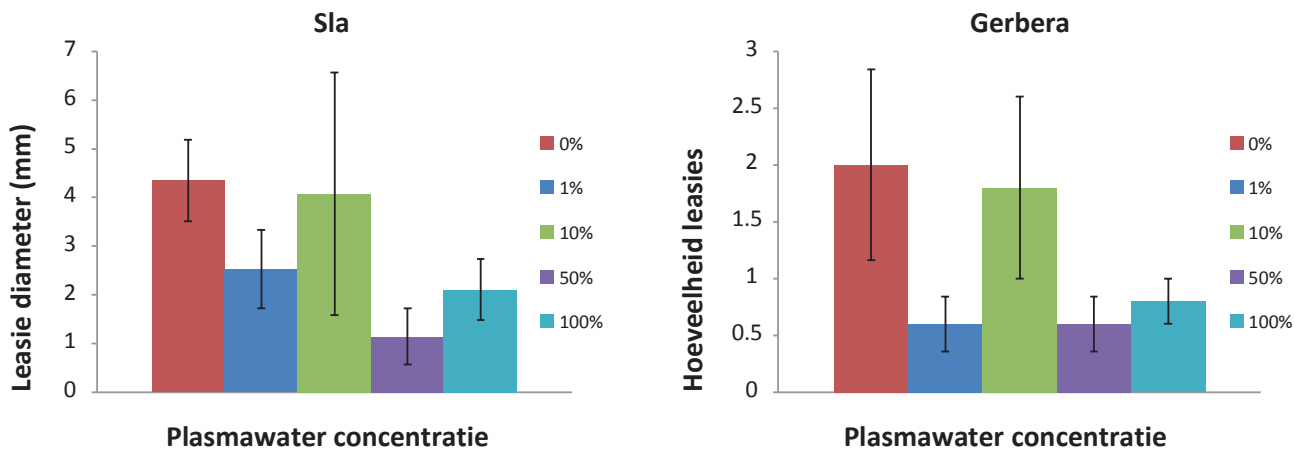
Figuur 3.13 De gemiddelde droge stof biomassa gehalten van gerbera en sla planten na vier weken lang gedurende 20 minuten per (werk)dag blootgesteld te zijn aan verneveld mild plasmawater in verschillende concentraties.



Figuur 3.14 De gemiddelde laesie diameter/aantallen op vijf gerbera en sla planten, twee weken na inoculatie. Deze planten werden voorafgaande de inoculatie met Botrytis en meeldauw twee weken gedurende 20 minuten per (werk)dag blootgesteld aan verneveld mild plasmawater in verschillende concentraties.

De resultaten van deelvraag 2 (Figuur 3.14) gaven aan dat de gerbera en sla planten die voor het initiële infectieproces met meeldauw en Botrytis gedurende twee weken elke (werk) dag gedurende twintig minuten werden blootgesteld aan verneveld mild plasmawater geen significante afname hadden in de infectieschade door meeldauw en Botrytis. De preventieve vernevelingsbehandelingen met mild plasmawater hadden dus geen meetbaar effect op deze pathogenen.

De resultaten van deelvraag 3 (Figuur 3.15) gaven aan dat de sla planten die voor, tijdens en na het initiële infectieproces met meeldauw en Botrytis gedurende vijf weken elke (werk) dag gedurende twintig minuten werden blootgesteld aan verneveld mild plasmawater geen significante afname hadden in de infectieschade door meeldauw en Botrytis. Maar sommige behandelingen (50 en 100%) bij de gerbera planten daaren tegen lieten wel een significante afname in de hoeveelheid meeldauw lesies zien ten opzichte van de blanco waarden. De preventieve/curatieve vernevelingsbehandelingen met mild plasmawater op de gerbera planten hadden dus een significant effect op de infectiegraad van deze pathogenen.



Figuur 3.15 De gemiddelde laesie diameters/aantallen op twintig gerbera en sla planten, vier weken na inoculatie. Deze planten werden voor en na de inoculatie met *Botrytis* en meeldauw gedurende twee weken 20 minuten per (werk)dag blootgesteld aan verneveld mild plasmawater in vijf verschillende concentraties. De gemiddelde waarden van laesie diameters/hoeveelheden werden door middel van een "One way ANOVA" in het programma SPSS geanalyseerd en de gemiddelde waarden die significant (positief of negatief) afweken van de blanco (demiwater) waarden zijn gemarkeerd met een rode asterisk (*).

3.4.4 Conclusie

De resultaten van deelvraag 1 wijzen erop dat een langdurige blootstelling van sla en gerbera planten onder de geteste teelt condities aan verneveld mild plasmawater met een leeftijd van vier tot tien dagen oud, geen significant negatieve of positieve effecten heeft op de biomassa productie van deze planten. Hier moet wel bij vermeld worden dat de geteste teeltcondities vrijwel optimaal waren en dat planten onder suboptimale condities anders op verneveld plasmawater zouden kunnen reageren.

De resultaten van deelvraag 2 wijzen erop dat het preventief vernevelen, gedurende twee weken voor het begin van een infectie, met mild plasmawater met een leeftijd van vier tot tien dagen oud geen significante reductie gaf in de infectie niveaus van zowel meeldauw als *Botrytis* op sla en gerbera planten onder deze teeltcondities.

De resultaten van deelvraag 3 wijzen erop dat een continue blootstelling aan een dagelijkse vernevelingsbehandeling met mild plasmawater met een leeftijd van vier tot tien dagen oud gedurende twee weken voor en na begin van een infectie, geen significant effect had op het *Botrytis* infectieniveau van sla planten. Daarentegen hadden deze vernevelingsbehandelingen wel een significant effect op het meeldauw infectieniveau van gerbera planten (t.o.v. de blanco) bij een verdunning van 50 en 100% plasmawater.

4 Veiligheid voor de kas

4.1 Doel

Doordat er tijdens de productie van plasmawater de pH daalt tot ongeveer pH 2 en er vrije radicalen vrijkomen zou plasmawater theoretisch zeer corrosief of etsend kunnen zijn en de metalen delen in de kas waarmee het in aanraking komt ernstig kunnen aantasten. Er moet dus gekeken worden naar de corrosieve werking van plasmawater. Het doel van deze test is om te toetsen of er een risico op corrosie is bij toepassing van plasmawater in vergelijking tot demiwater en Jet 5 (een veelgebruikt reinigingsmiddel met als werkzame stof gestabiliseerd waterstofperoxide).

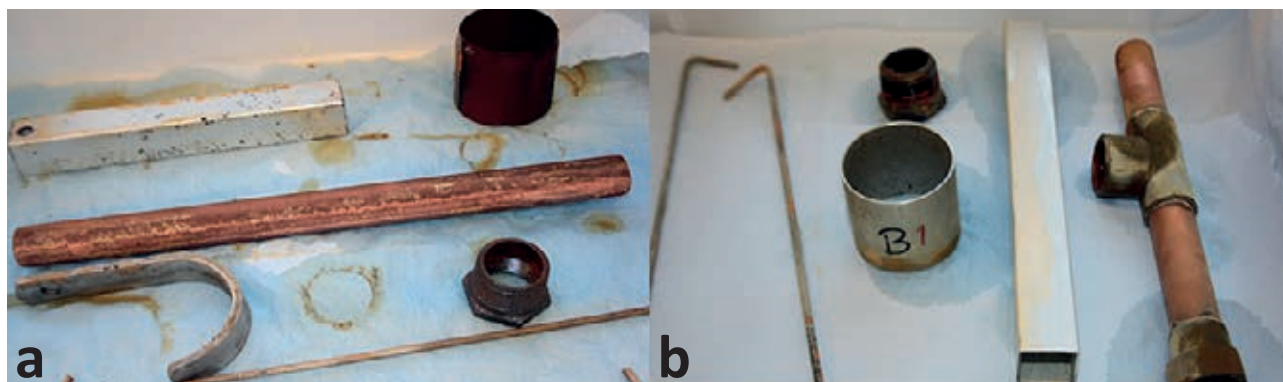
4.2 Materiaal en methode

Om de corrosieve werking van plasmawater te kunnen bepalen stellen we enkele representatieve metalen delen uit een kas gedurende vijf weken constant bloot aan onverdund plasmawater (P=15), demiwater en 10 delen te kunnen bepalen hoe corrosief plasmawater is t.o.v. demiwater en jet 5. % Jet 5 (waterstof peroxide gestabiliseerd op azijnzuur) om zo via de massa toe- en afname van de individuele metalen de corrosieve werking van deze drie vloeistoffen met elkaar te vergelijken.

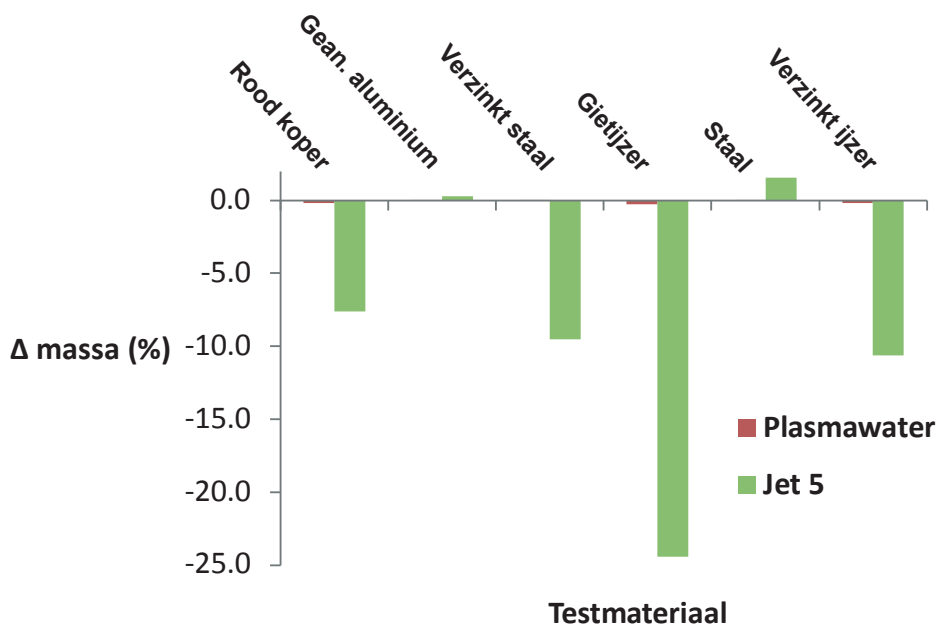
Gedurende vijf weken worden een stuk rood koperen buis, een stuk geanodiseerd aluminium buis, een stuk stalen buis, een verzinkt stalen ophanghaak een gietijzer verloopstuk van een gasbuis en twee verzinkt ijzeren haken, welke eerst worden gedroogd, schoongemaakt en gewogen, in een afgesloten container constant blootgesteld aan onverdund plasmawater (P=15), demiwater en 10% Jet 5. Na vijf weken worden deze objecten uit deze vloeistoffen gehaald, schoongemaakt en gedroogd om daarna weer de massa van deze objecten te kunnen bepalen. Het verschil in massa in de metalen delen van voor en na de behandeling geeft dan de mate van corrosieviteit van de testvloeistoffen weer.

4.3 Resultaten

De resultaten van dit corrosie experiment (Figuren 4.1 en 4.2) laten zien dat hoewel plasmawater, zoals verwacht, corrosiever is dan demiwater (1% extra massa toe/afname t.o.v. demiwater bij zowel, rood koper, gietijzer en verzinkt ijzer na vijf weken blootstelling), valt dit in het niets t.o.v. de corrosieve werking van Jet 5 (respectievelijk 7, 25 en 10% massa toe/afname t.o.v. demiwater).



Figuur 4.1 Het corrosief effect van plasmawater (b) (P=15) en Jet 5 (10%) (a) op verschillende metalen onderdelen na vijf weken directe blootstelling aan deze individuele vloeistoffen. Er is hier al goed te zien dat de metalen delen veel meer van de Jet 5 behandeling hebben geleden dan van de plasmawater behandeling.



Figuur 4.2 Het corrosief effect van plasmawater ($P=15$) en Jet 5 (10%) op verschillende metalen delen in Δ massa af- of toename (in procenten) ten opzichte van de demiwater controle na vijf weken directe blootstelling.

4.4 Conclusie

Hoewel het corrosief effect van onverdund plasmawater groter is dan dat van demiwater, valt dit corrosief effect in het niets ten opzichte van het corrosief effect van Jet 5, een veel gebruikt en vrij commercieel verkrijgbaar schoonmaakmiddel. Er moet wel op gelet worden dat het geteste plasmawater maar een productietijd van 15 minuten had (c.a. pH 3) en dat plasmawater met een langere productietijd een lagere pH zal hebben (ca. tussen pH 2.2 en 2.5).

5 Ontwikkeling van sterk plasmawater

Auteurs: W. Quaedvlieg & J-P. Van der Kolk

5.1 Optimalisatie productietijd

5.1.1 Doel

In dit hoofdstuk worden de testen beschreven waarbij op locatie van Wageningen UR Glastuinbouw plasma geactiveerd water kon worden geproduceerd. Voor een aantal testen in de praktijkproeven waren grotere volumes nodig en deze zijn door VitalFluid aangeleverd. Zoals in de inleiding is beschreven, is het bekend dat plasmawater een biocide werking heeft maar het is nog onbekend of verschillende plasmareactoren een verschillende activatietijd hebben en/of er een verschil in biocide werking per reactor zit. Doel van deze testen was om uit te zoeken:

- Of kraanwater naast demiwater ook geschikt is om mee het plasmawater mee te activeren.
- Wat de minimale productietijd is van kraan- en demiwater aan het plasma in de plasmagenerator voor een effectieve biocide werking waarbij meer dan 90% van de ziekteverwekkers worden gedood.

5.1.2 Materiaal en methode

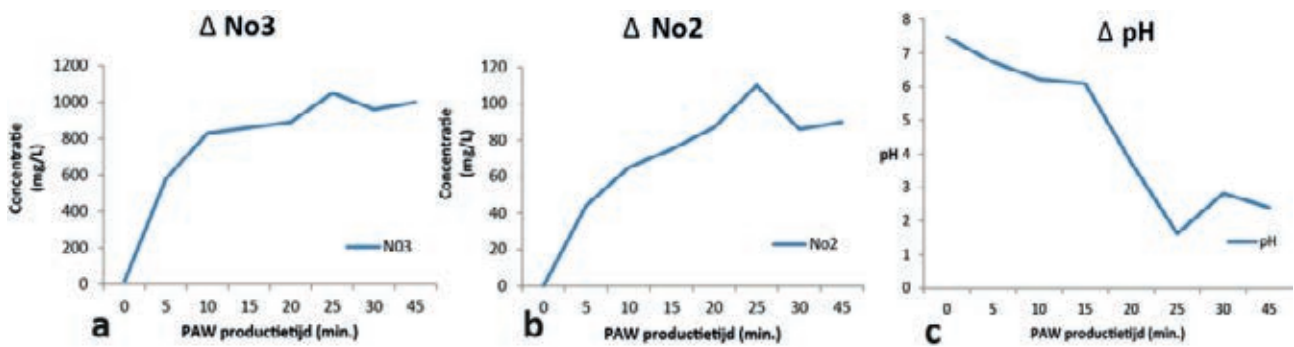
Om te bepalen hoe snel twee watertypes (demi- of kraanwater) in de plasmareactor een biocide werking verkrijgen worden de veranderingen in pH, NO_3^- en NO_2^- concentratie van deze water types, tijdens het plasmawater productieproces, door de tijd gevolgd en wordt er tijdens dit productieproces om de vijf minuten gedurende acht tijdsintervallen (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 en 45 minuten) de biocide werking van deze verschillende plasmawaters bepaald.

Als referentie pathogeen werd een *Erwinia carotovora* suspensie bij 29°C gekweekt in nutriënt broth medium tot een OD (optische dichtheid) van 0.1 bij 600 nm (deze OD staat gelijk aan een concentratie van c.a. 8×10^8 CFU/ml *Erwinia* bacteriën). Deze suspensie werd vervolgens gedurende vijf minuten blootgesteld aan de plasmawaters (100ul *Erwinia* suspensie wordt gemengd met 900ul plasmawater) om dan na vijf minuten blootstelling deze reactiemix te neutraliseren om zodoende de lage pH, chloor en het nitriet wat aanwezig is in deze reactiemix te neutraliseren.

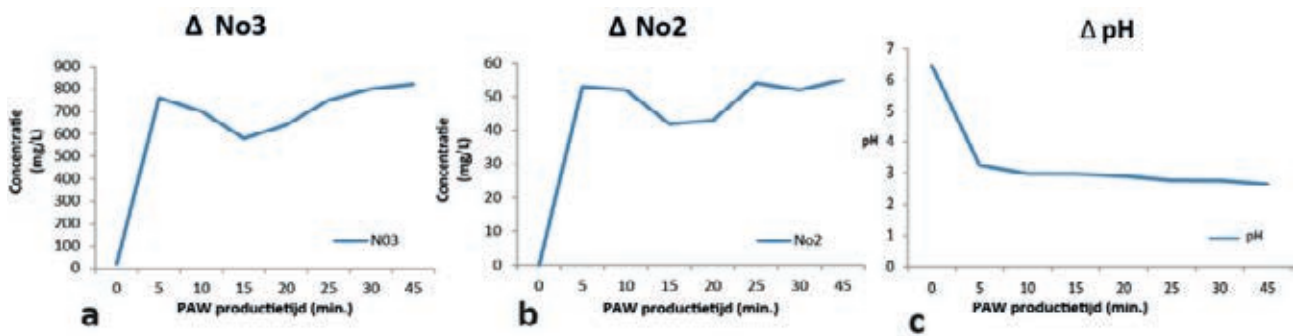
Uit deze reactiemix werden vervolgens stapsgewijs met steriel demiwater logaritmische verdunningen gemaakt en uit elke van deze mixen werd individueel 100ul geneutraliseerde reactiemix op een steriele nutriënt agar plaat gepipetteerd en deze werden vervolgens 48 uur bij 29°C. weggezet. Na 48 uur groei kan dan het aantal overlevende kolonie vormende units (CFU) bepaald worden, en hieruit kan dan worden berekend welk percentage *Erwinia* bacteriën per behandeling is afgedood. Als referenties werd de *E. carotovora* suspensie ook vijf minuten blootgesteld aan demiwater (negatieve controle) en 70% ethanol (positieve controle). Verder werden er ook de pH, nitraat en nitriet gehalten van elk van deze plasmawater batches gemeten.

5.1.3 Resultaten

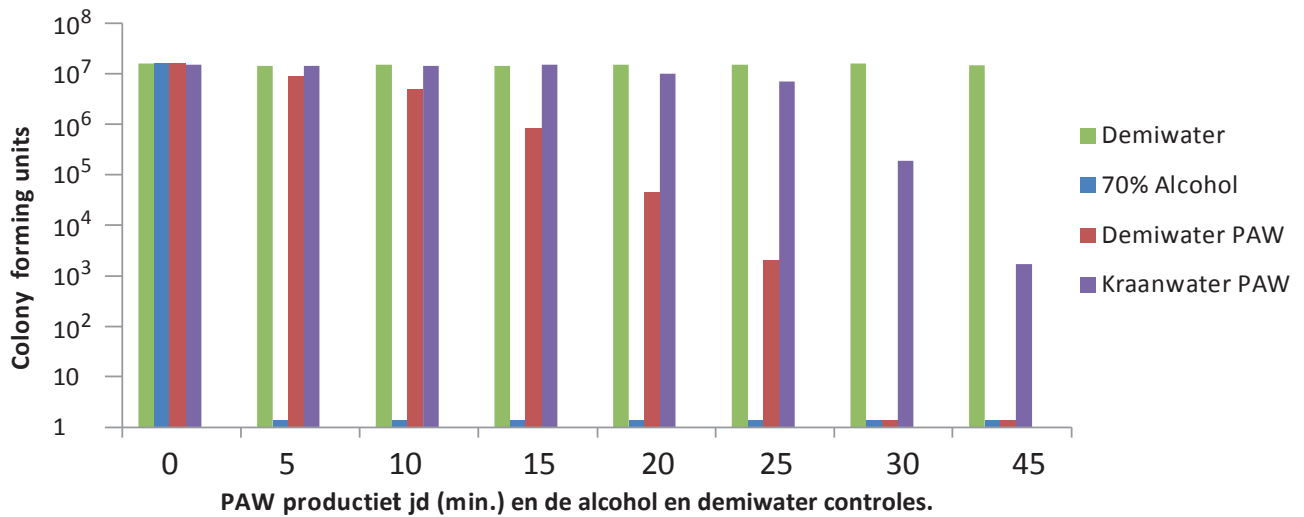
Uit de resultaten (Figuur 5.1 en 5.2) blijkt dat 500 ml kraanwater, qua pH niveau en nitraat/nitriet gehalten, pas tussen de 10 en 25 minuten plasmablootstelling ($P=10-25$) in de aanwezige plasmareactor zijn grootste chemische veranderingen ondergaat in tegenstelling tot demiwater wat na 10-15 minuten blootstelling ($P=10-15$) zijn grootste chemische verandering ondergaat. Ook blijkt uit de resultaten dat een langere plasmablootstelling correleert met een sterkere afdoding van *Erwinia* bacteriën (Figuur 5.3) en dat kraanwater een langere plasma blootstelling tijd nodig heeft om hetzelfde afdodend niveau te bereiken als demiwater.



Figuur 5.1 De veranderingen in het (a) nitraat, (b) nitriet en (c) pH niveau in demiwater gedurende 45 minuten plasma blootstelling.



Figuur 5.2 De veranderingen in het (a) nitraat, (b) nitriet en (b) pH niveau in kraanwater gedurende 45 minuten plasma blootstelling.



Figuur 5.3 De plasmawater productietijd (P) t.o.v. de biocide werking op *Erwinia carotovora*.

5.1.4 Conclusie

Omdat zowel PAW kraan- als demiwater uiteindelijk hetzelfde biocide niveau bereiken, zouden dus theoretisch beide waterbronnen als uitgangsmateriaal voor verdere experimenten gebruiken kunnen worden, maar omdat kraanwater er simpelweg bijna twee maal langer over doet om dit maximaal meetbare biocide niveau te bereiken (30 minuten productietijd) t.o.v. kraanwater (45+ minuten productietijd), wordt tijdens de vervolgonderzoeken om efficiency redenen en de gelimiteerde productiecapaciteit (500ml) van de aanwezige plasmareactor alleen maar PAW water gebruikt wat is geproduceerd uit demiwater.

Omdat het bepalen van de biocide werking van plasmawater door middel van bovengenoemde CFU telling vrij omslachtig en tijdrovend is, werden er ook twee alternatieve methodes doormiddel van kits getest. Deze beide alternatieve methodes ("Aquasnap free" en "Aquasnap total" ATP meting kits van Gullimex) zijn beide gebaseerd op het meten van het (vrije en totale) ATP gehalte in een vloeistof doormiddel van een enzymatische reactie tussen luciferase en ATP. Deze reactie resulteert in een licht emissie die doormiddel van een luminometer kan worden gekwantificeerd, met als veronderstelling dat een vloeistof met weinig micro organismen ook weinig ATP zal bevatten en visa versa. Alhoewel deze methodes in het begin veelbelovende resultaten gaven, bleek na uitvoerig testen (resultaten niet getoond) dat de samenstelling van het plasmawater (lage pH en de aanwezigheid van vrije radicalen) ervoor zorgde dat: A) het aanwezige ATP waarschijnlijk zeer snel werd gehydrolyseerd tot (onmeetbaar) ADP, en B) de enzymatische reactie tussen het aanwezige ATP en het luciferase waarschijnlijk werd verstoord. Deze factoren zorgde ervoor dat beide kits, in combinatie met plasmawater onderzoek, in de praktijk niet voldeden aan onze eisen qua betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid, en daarom zijn deze resultaten tijdens het verdere onderzoek dus ook niet gebruikt.

5.2 Biocide werking

Uit de eerdere testen is gebleken dat mild plasmawater (met een productietijd (P) van 15 minuten) een minimaal effect had op de afdoding van *Botrytis cinerea* en *Fusarium lactis* en nu is de vraag of schimmel soorten in zijn algemeen überhaupt niet gevoelig zijn voor plasmawater of dat misschien de plasmawater productiemethode aangepast moet worden (een langere plasmablootstelling) om zo een sterker en beter afdodend plasmawater te produceren.

5.2.1 Doel

Is het mogelijk om schimmels betrouwbaar of te doden met plasmawater, en zo ja, welke productie factoren dienen hiervoor aangepast te worden.

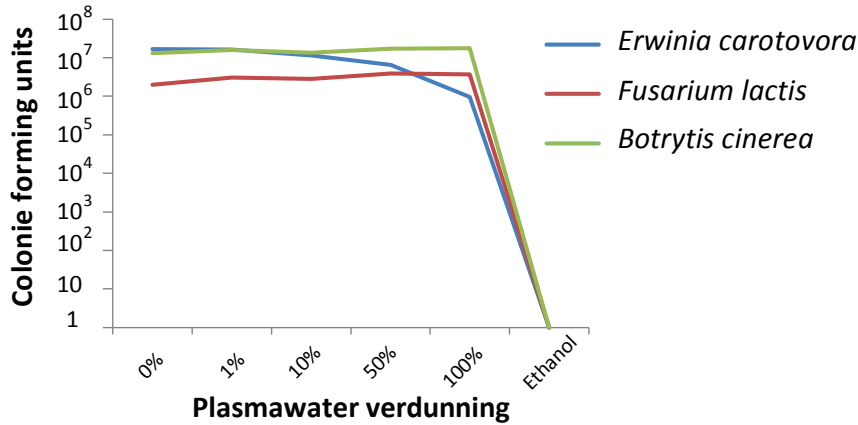
5.2.2 Materiaal en methode

Om dit te bepalen of schimmels inderdaad ongevoelig zijn voor plasmawater worden de experimenten van hoofdstuk 4 nogmaals herhaald op de schimmels *Fusarium lactis* en *Botrytis cinerea*. Uit deze resultaten kan dan bepaald worden hoe deze schimmel soorten reageren op plasmawater en als deze twee soorten inderdaad niet gevoelig blijken te zijn voor P=15 plasmawater, zal hetzelfde experiment nogmaals worden herhaald worden op sterker plasmawater en met een langere inwerktijd om zo te kunnen bepalen of zo wel voldoende biocide effect op schimmels verkregen kan worden.

Een concentratie van c.a. 1×10^6 *F. lactis* en *Botrytis conidia* (met als controle 1×10^8 *Erwinia carotovora*) worden gedurende vijf minuten blootgesteld aan plasmawater (P=15) in vier verdunningen (100%, 50% 10% en 1%) in de verhouding van 10ul pathogeen suspensie tegen 990ul plasmawater, om zo na vijf minuten blootstelling aan het plasmawater via een CFU telling (zie 5.4) de verschillende antimicrobiële eigenschappen van het plasmawater te kunnen vaststellen. Hierbij wordt *Erwinia carotovora* als positieve controle gebruikt.

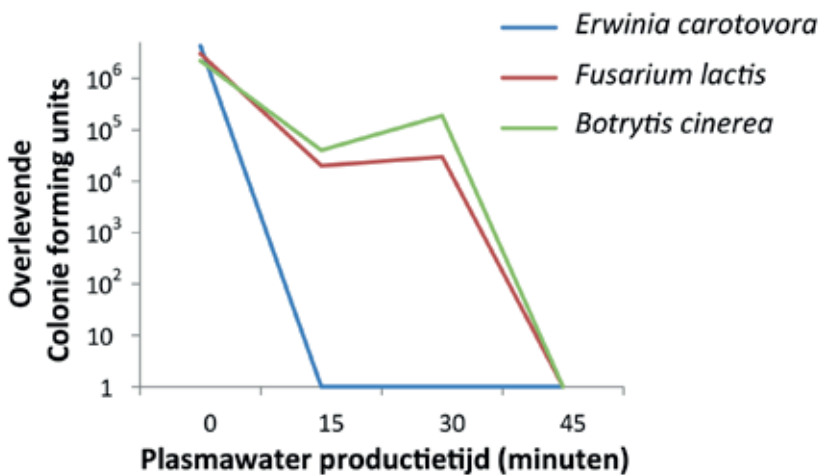
5.2.3 Resultaten

Uit de resultaten (Figuur 5.4) blijkt dat de drie geteste ziekteverwekkers geen of nauwelijks negatieve invloed ondervinden aan een vijf minuten durende blootstelling aan plasmawater met een productietijd van vijftien minuten. Er blijkt ook uit de resultaten dat een vijf minuten durende blootstelling aan 70% ethanol alle drie de geteste soorten wel volledig afdood.



Figuur 5.4 De biocide werking van sterk plasmawater (P=15) op *Erwinia carotovora*, *Fusarium lactis* en *Botrytis cinerea* bij vijf minuten blootstelling.

Omdat P=15 plasmawater niet voldoende biocide werking vertoont, zijn deze experimenten nogmaals herhaald met plasmawaters met een productietijd van 0, 15, 30, en 45 minuten en is de inwerking tijd van het plasmawater op deze schimmels verhoogd van vijf naar vijftien minuten.



Figuur 5.5 De biocide werking van vers plasmawater op *Fusarium lactis*, *Erwinia carotovora* en *Botrytis cinerea* gedurende een blootstelling van vijftien minuten aan plasmawater met een productietijd (P) van 0, 15, 30 en 45 minuten.

Uit de resultaten (Figuur 5.5) blijkt dat een combinatie van plasmawater met een langere productie- (P= >15) en langere inwerkingstijd (15 minuten) een veel sterke biocide werking op *Botrytis* en *Fusarium lactis* vertoonde dan het zwakker plasmawater (P=15) en dat de afdoding bij P=45 voor alle drie de geteste soorten 100% bedraagt.

5.2.4 Conclusie

Hieruit kan geconcludeerd worden dat schimmels wel degelijk gevoelig zijn voor plasmawater, maar dat ze een plasmawater met een sterkere biocide werking nodig hebben om hier enig negatief effect van te ondervinden. Helaas was het niet meer mogelijk om ook *F. oxysporum* f.sp. *tulipae* nogmaals met deze langer/sterker methode te testen. Er wordt daarom aangeraden deze experimenten nogmaals te herhalen met meer dan twee plant pathogene schimmels om zo te bepalen of inderdaad meerdere soorten plant pathogene schimmels gevoelig zijn voor sterk plasmawater (P=45).

6 Curatieve werking van sterk PAW tegen meeldauw in potgerbera

Auteurs: W. Quaedvlieg & J.D. Hofland-Zijlstra

6.1 Doel

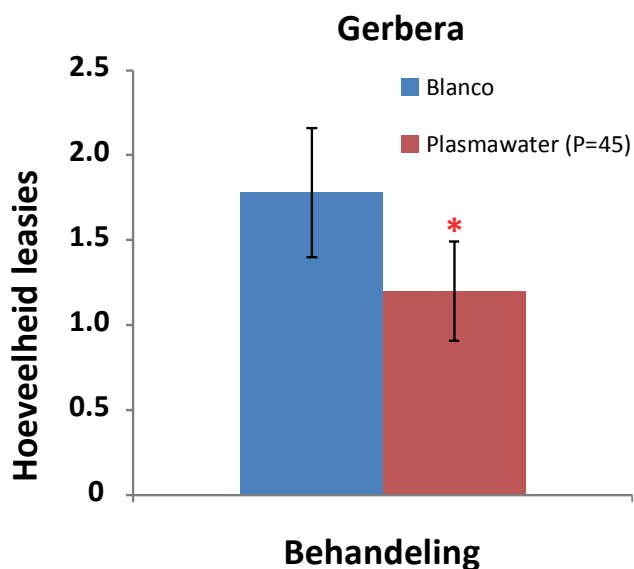
De productietijd en activiteit van het plasmawater blijkt van essentieel belang bij de afdoding van schimmels, daarom werd besloten om het vernevelingsonderzoek nogmaals op kleinere schaal te herhalen met sterk geactiveerd plasmawater met een productietijd van 45 minuten. Doel was om de curatieve werking van sterk plasmawater te testen tegen sporen van meeldauw als deze via een nevelbehandeling wordt toegediend?

6.2 Materiaal en methode

Om te bepalen of verneveld sterk geproduceerd plasmawater (P=45) wel een significant effect heeft op de meeldauwontwikkeling in planten werden tien gerbera plantjes met de biotrofe schimmel geïnoculeerd (1.10^5 sporen/ml) en na een uur werden deze planten, gedurende 20 minuten, met verneveld demi- of vers plasmawater (P=45) behandeld. Deze vernevelingsbehandelingen werden 24 uur later nogmaals herhaald.

6.3 Resultaten

De resultaten van de vernevelingsexperimenten met sterk geactiveerd plasmawater (Figuur 6.1) geven aan dat de gerbera planten die met vers plasmawater verneveld waren minder meeldauw infecties ondervonden dan de controle groep die alleen met demiwater was behandeld. Dit wijst erop dat verneveld vers plasmawater wel een significant effect heeft op infecties, terwijl het vier- tot acht dagen oude, milde plasmawater dit niet (meer?) heeft.



Figuur 6.1 Gemiddelde infectieniveau van meeldauw op potgerbera's nadat deze (1- en 24 uur post inoculatie) met demi- of plasmawater (P=45) nevel behandeld waren. Planten die met vers plasmawater werden behandeld hadden significant minder meeldauw schade dan de planten die met demiwater waren behandeld (bepaald via een "One way ANOVA" analyse in SPSS). De gemiddelde waarden die significant (positief of negatief) afweken van de blanco (demiwater) waarden zijn gemarkeerd met een rode asterisk (*).

6.4 Conclusie

Sterk geactiveerd plasmawater ($P=45$) kan meeldauw op plantmateriaal terugdringen, maar de afdoding in dit experiment is nog niet zodanig sterk dat de planten schade vrij blijven. Voor het vullen van de voorraadtank van de ultrasone vernevelaar is een minimale hoeveelheid van 1 liter plasmawater nodig terwijl de aanwezige plasmagenerator maar 500ml plasmawater per productierun kan produceren. Er zijn dus twee productieruns van 45 minuten nodig om genoeg plasmawater voor één enkele vernevelingsbehandeling te produceren voor deze experimenten. Dit betekent dat 50% van het gebruikte plasmawater dan al minimaal 45 minuten oud is voor deze experimenten uitgevoerd kunnen worden. Vermoedelijk geeft dit een vermindering van het afdodend vermogen van het plasmawater en is de werking verder te optimaliseren als de tijd tussen productie en toediening kan worden verkort.

7 Curatieve werking van sterk PAW tegen Botrytis op snijbloemen

Auteurs: W. Quaedvlieg & J. D. Hofland-Zijlstra

7.1 Doel

Bij het beschikbaar komen van twee productieunits voor plasmawater kon de tijd tussen activatie en toediening eveneens worden verkort. Deze naogst experimenten met Botrytis zijn vervolgens nogmaals in het klein herhaald. Nu kon er in één productierun een liter plasmawater worden geproduceerd, de minimale hoeveelheid die nodig is voor een vernevelingsbehandeling. Tijdens de voorgaande experimenten moest dit in twee productieruns gebeuren waardoor de helft van het gebruikte plasmawater waarschijnlijk zijn grootste antimicrobiële werking al verloren had. Het doel van deze test was om de effectiviteit te bepalen van sterk, onverdund, plasmawater (P=45 min) tegen Botrytis cinerea op gerbera- en Cymbidium bloemen in de naogstfase met een verkorte tijd tussen activatie en gewasbehandeling.

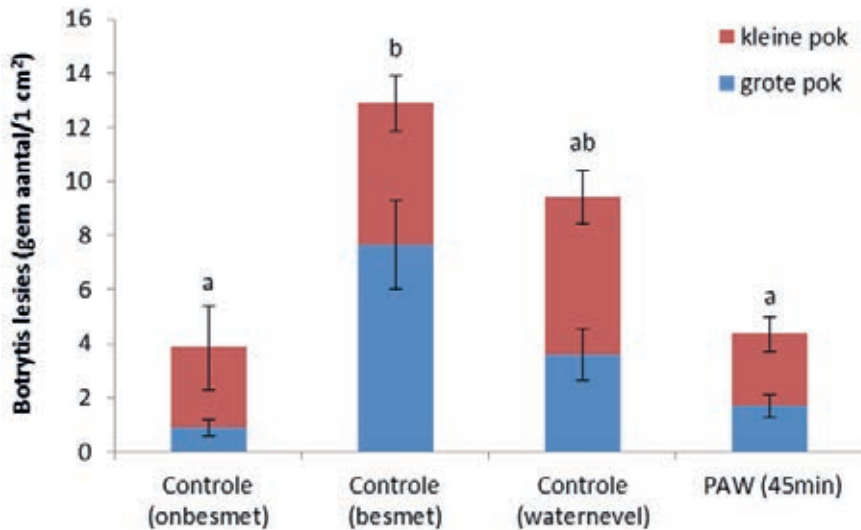
7.2 Materiaal en methode

Om te bepalen of sterk plasmawater (P=45 min) een effect heeft op het voorkomen van Botrytis schade in gerbera bloemen zijn zestig gerbera bloemen (cultivar Dino) op buizen met water gezet en geïnoculeerd met Botrytis sporensuspensie in een concentratie van 1×10^6 sporen per ml. Een uur na de inoculatie worden 20 van deze bloemen gedurende 20 minuten met demiwater, 20 planten met plasmawater (P=45) en de laatste 20 bloemen worden niet verneveld. Er zijn ook 20 bloemen weggezet zonder kunstmatige infectie om de natuurlijke infectiedruk van Botrytis te bepalen. De bloemen zijn na de behandeling gedurende 48 uur weggezet bij 90% relatieve luchtvochtigheid. Vierentwintig tot 48 uur post-inoculatie is de gemiddelde Botrytis infectiegraad per bloem in grote (>1mm Ø) en kleine (<1mm Ø) lesies per vierkante centimeter bepaald. Met behulp van een One-way ANOVA toets zijn de laesie aantallen van de plasmawater behandelde bloemen vergeleken met de laesie aantallen van de van demiwater behandelde planten (Tukey's test, $P < 0.05$).

Voor de test met de orchidee, Cymbidium zijn acht individuele bloemen besmet met Botrytis (1×10^6 sporen per ml). Na één uur werden de behandelingen met ultrasonische verneveling toegepast gedurende 20 minuten. Hierbij werd verneveld met demiwater of sterk plasmawater (P=45). De vernevelingsbehandelingen zijn 24 uur later nog een keer herhaald.

7.3 Resultaten

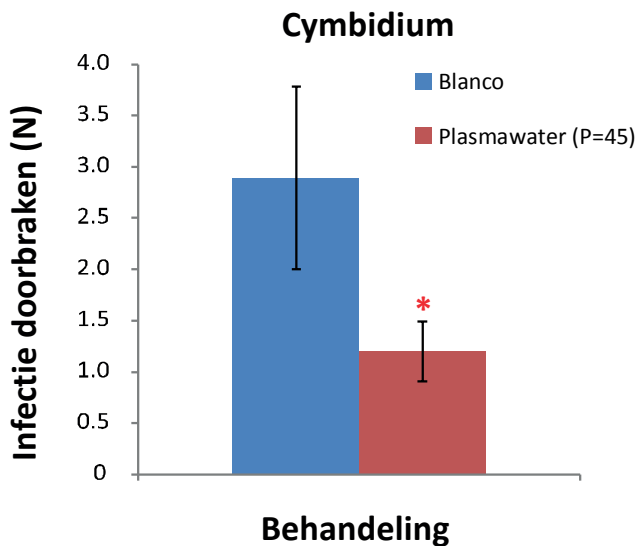
De gerbera bloemen die met sterk plasmawater zijn behandeld hebben significant minder grote en kleine lesies (pokken) dan de onbehandelde en demiwater behandelde behandelingen (Figuur 7.1, 7.2). Het Botrytis infectie niveau van de plasmawater behandelde bloemen is vrijwel precies hetzelfde als de onbesmette controle planten. Dit wijst erop dat een zeer groot deel van de geïnoculeerde Botrytis is afgedood en eigenlijk alleen de al aanwezige natuurlijke Botrytis infecties over zijn. Tegelijkertijd is het opvallend dat alleen het behandelen van bloemen met een ultrasonische verneveling met demiwater ook al een vermindering van lesie geeft. Ook bij de Cymbidium bloemen die met sterk plasmawater waren behandeld, treedt er minder schade op na een Botrytis besmetting in vergelijking met de demiwater behandelde bloemen (Figuur 7.3, 7.4).



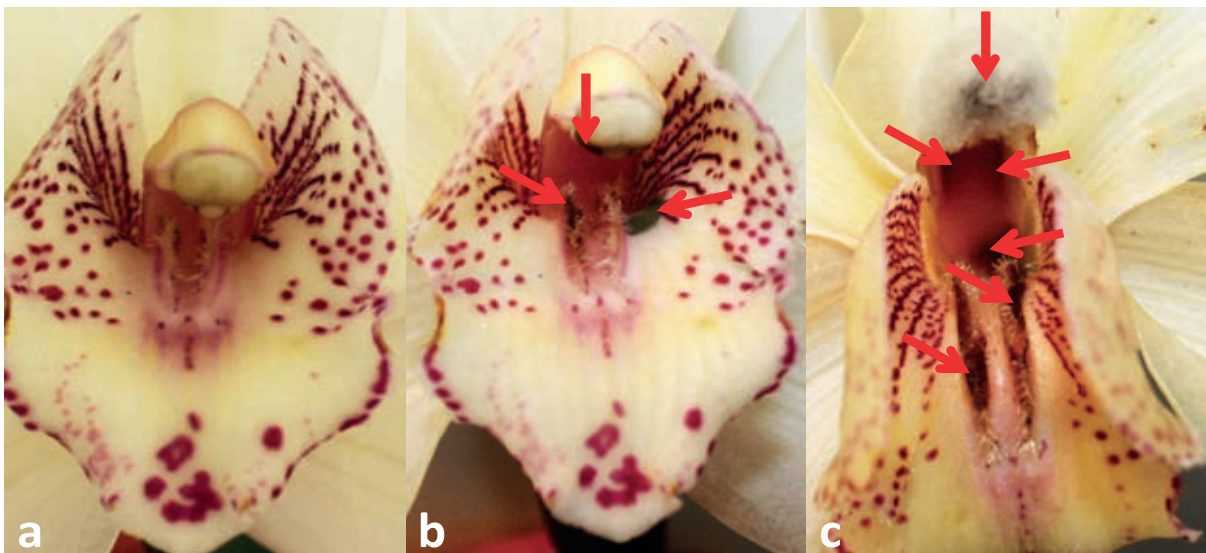
Figuur 7.1 De gemiddelde Botrytis lesies per behandeling op lintbloemen van gerbera, 48 uur na inoculatie. Op de kolom staat de standaardfout weergegeven. De verschillende letters (a-b) geven significante verschillen aan tussen behandelingen (Tukey's test, $P < 0.05$).



Figuur 7.2 Eén uur na inoculatie met *Botrytis cinerea* werden 20 gerbera bloemen via een industriële humidifier gedurende 20 minuten in een vernevelingskamer behandeld met een plasmawater nevel. Na twee dagen vertoonden de plasmawater behandelde bloemen alleen maar de natuurlijk aanwezige Botrytus achtergrond terwijl de met demiwater vernevelde controle planten significant meer Botrytus schade opliepen (A en B). De witte pijltjes geven enkele voorbeelden van Botrytus schade aan de bloemen weer.



Figuur 7.3 Gemiddelde infectie van *Botrytis* op *Cymbidium* bloemen drie weken nadat deze (1- en 24 uur post inoculatie) met demi- of plasmawater ($P=45$) nevel behandeld waren. Significante verschillen zijn gemarkeerd met een rode asterisk (*) ($P < 0.05$).



Figuur 7.4 Figuren (a t/m c) geven een weergave van de gemiddelde *Botrytis* infectie schade (drie weken na inoculatie met *Botrytis*) op de *Cymbidium* bloem groepen die gebruikt zijn tijdens dit vernevelings experiment. Bloemen behorende tot groep (a) waren niet geïnoculeerd en niet verneveld, bloemen behorende tot groep (b) waren met *Botrytis* geïnoculeerd en vervolgens 20 minuten lang met plasmawater ($p=45$) verneveld en bloemen behorende tot groep c zijn met *Botrytis* geïnoculeerd en vervolgens 20 minuten lang met demiwater verneveld. De rode pijlen geven de voortgang van de *Botrytis* infecties weer. Alhoewel de plasmawater behandelde bloemen niet onbeschadigd bleven hebben ze gemiddeld significant minder infectieschade dan de bloemen die met demiwater verneveld werden (bepaald via een "One way ANOVA" analyse in SPSS), zoals duidelijk te zien is in deze foto's.

7.4 Conclusie

Na behandeling van gerbera- en Cymbidium bloemen met sterk plasmawater (P=45 min.) in de naoogstfase is bij de gerbera bloemen het Botrytis niveau afgenomen tot het niveau van de natuurlijke achtergrond en bij de Cymbidium bloemen sterk verminderd. Dit wijst erop dat alle verse sporen die kunstmatig zijn aangebracht, effectief in hun kiemkracht zijn geremd. De behandeling met ultrasone verneveling geeft geen kwaliteitsverlies bij een enkele- of tweevoudige toepassing.

8 Effectiviteit tegen virussen

Auteurs: I. Stijger, M. Lemmers & C. Slootweg

8.1 Inleiding

De leliebranche wordt sinds enkele jaren geconfronteerd met een zeer infectieus virus dat een grote bedreiging is voor de gehele leliesector, het Plantago asiatica mosaic virus (PIAMV). Bij lelie kan infectie met PIAMV schadelijke symptomen veroorzaken. PIAMV kan daarentegen ook symptomeloos voorkomen. Uit onderzoek is bekend dat de verspreidingsroutes van dit virus complex zijn. In de meeste gevallen treedt de eerste infectie vanuit de bodem op. Tijdens diverse teeltprocessen tot aan de broei kunnen de, in eerste instantie beperkte, besmettingen via diverse risicovolle handelingen in een partij uitgroeien tot veel hogere percentages. PIAMV is een vrij hardnekkig virus dat buiten de plant lange tijd infectieus kan blijven. Bedrijfshygiëne is dan extra belangrijk om verspreiding binnen en tussen partijen te voorkomen. Waar mogelijk zou dan een middel met voldoende virucide activiteit kunnen worden ingezet.

8.2 Mild plasmawater tegen PIAMV bij gelijke virus-concentratie

8.2.1 Doel

Het doel was om na te gaan of mild plasmawater (P= 15 min) een virucide werking heeft tegen PIAMV. Voor een effectieve werking geldt dat bij een inwerktijd van 5 minuten een logreductie van 10^{-5} (reductie van 99.99%) wordt gerealiseerd. In totaal zijn er twee proeven uitgevoerd: op 30 september en op 12 november 2015.

8.2.2 Materiaal en methoden

Voor deze proeven is gebruik gemaakt van geïnfecteerd plantmateriaal (lelie) dat afkomstig was van een teler (vers materiaal). De aanwezigheid van het virus is vastgesteld middels een ELISA. De effectiviteit van de behandelingen zijn vastgesteld op toetsplanten (tabaksplanten). Op 30 september is door VitalFluid plasma geactiveerd water gebracht met twee verschillende pH's namelijk 2 en 4. Met dit water is nog dezelfde middag een proef ingezet. De geïnfecteerde planten zijn vermalen en het plantensap is met een gelijk deel PAW water gemengd. Bij verschillende behandelingen is het PAW water verdund met kraanwater. De behandelingen staan in Tabel 8.1. De inwerktijd voor alle behandelingen was 5 minuten.

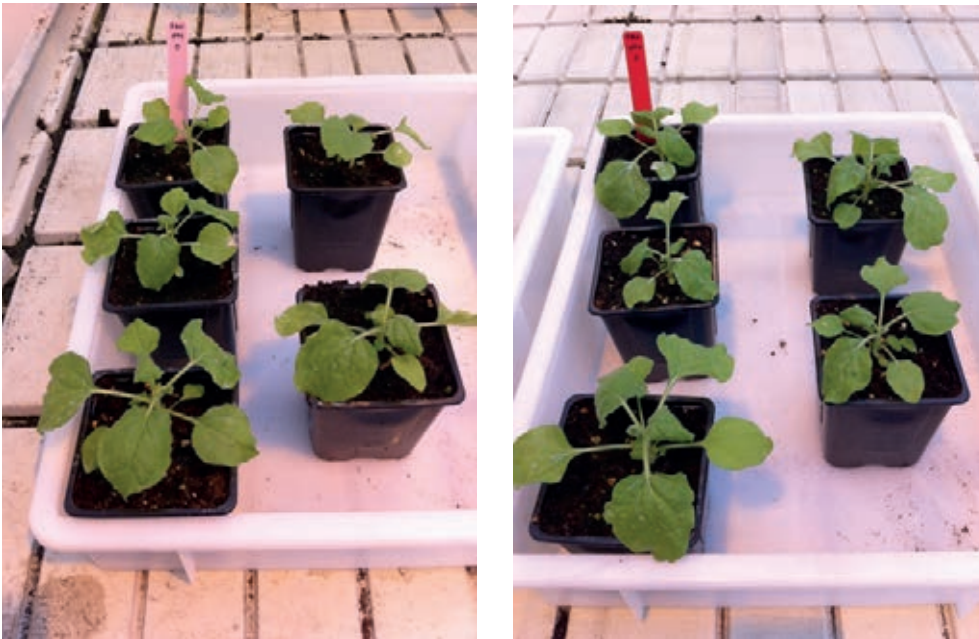
Tabel 8.1*Behandelingen met PIAMV (gelijke concentraties) en PAW concentraties.*

Codes	Behandelingen
1	PIAMV + PAW water onverdund (pH2)
2	PIAMV + PAW water 10x verdund (pH 2)
3	PIAMV + PAW water 100x verdund (pH 2)
4	PIAMV + PAW water 1000x verdund (pH 2)
5	PIAMV + PAW water onverdund (pH 4)
6	PIAMV + PAW water 10x verdund (pH 4)
7	PIAMV + PAW water 100x verdund (pH 4)
8	PIAMV + PAW water 1000x verdund (pH 4)
9	Positieve controle: alleen PIAMV
10	Controle: alleen PAW pH2 (onverdund)
11	Controle: alleen PAW pH4 (onverdund)

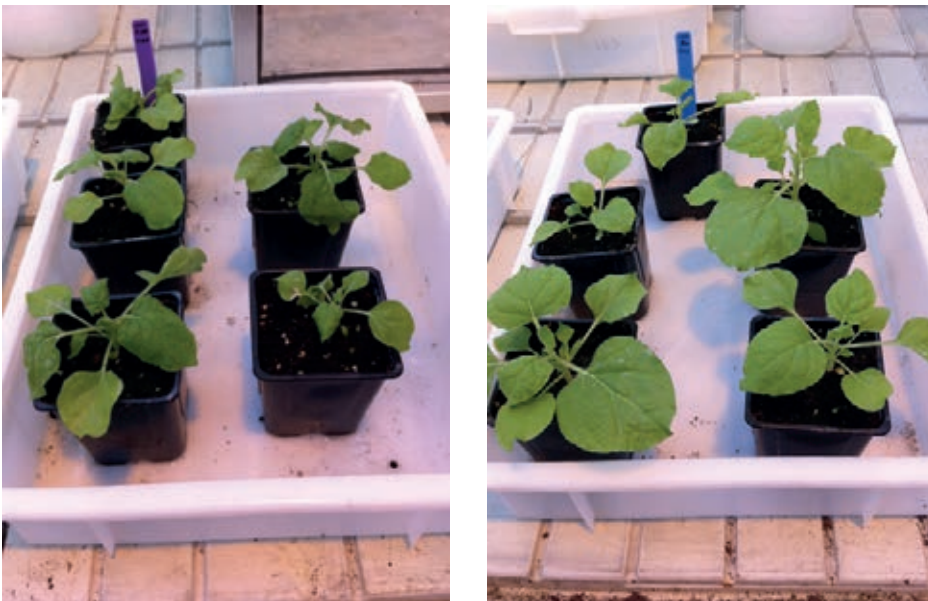
Alle behandelingen zijn geïnculeerd op toetsplanten en per behandeling zijn steeds vijf planten gebruikt. Nadat de proeven waren ingezet bleek helaas achteraf het PAW water niet de juiste pH te hebben. De fles met pH 2 bleek pH 2.3 te zijn en de fles met pH 4 bleek pH 2.7 te zijn. Het PAW water was bij VitalFluid de dag voordat de proef werd ingezet al bereid. Daarnaast was er geen pH meter aanwezig. Een week nadat de behandelingen op de planten waren gezet zijn de symptomen afgelezen.

8.2.3 Resultaten

Bij het beoordelen van de planten bleken alle behandelingen symptomen te geven op de planten behalve de controles met alleen PAW water. In Figuur 8.1 zijn de planten met symptomen te zien van de behandelingen met het geïnfecteerde PIAMV plantensap en PAW water met een pH 2 en pH 4. In Figuur 8.2 staan de controles met PIAMV geïnfecteerd plantensap en alleen PAW water (dus zonder virus). Beide figuren laten zien dat de planten met zowel alleen PIAMV geïnfecteerd plantensap als behandeld met PAW systemische symptomen laten zien. De planten behandeld met alleen PAW water geven geen symptomen.



Figuur 8.1 Overzicht van de geïnoculeerde planten. Rechts het geïnfecteerde PIAMV plantensap met onverdund PAW water pH2 (2.3) en rechts met pH 4 (2.7).



Figuur 8.2 Overzicht van de geïnoculeerde planten. Links de planten met PIAMV geïnfecteerd plantensap, rechts alleen plasma geactiveerd water (100%).

8.2.4 Conclusie

Het milde PAW water (P=15 min) dat in deze proef is gebruikt, is niet in staat om een infectie met PIAMV te voorkomen.

8.3 Mild plasmawater tegen PIAMV bij verschillende virusconcentraties

8.3.1 Doel

In deze proef zijn de testen met mild plasmawater tegen PIAMV herhaald, maar dit keer zijn er verschillende concentraties van het virus extra meegenomen. Doel was om de invloed van virusconcentraties op de effectiviteit van mild plasmawater te bepalen.

8.3.2 Materiaal en methoden

Ook voor deze proeven is gebruik gemaakt van geïnfecteerd plantmateriaal (lelie) dat afkomstig was van een teler (vers materiaal). De aanwezigheid van het virus is vastgesteld middels een ELISA test. De effectiviteit van de behandelingen zijn vastgesteld op toets planten (tabaksplanten). Proef is uitgevoerd op 12 november 2015. Het gebruikte PAW water had een pH van 2.5. De behandelingen staan in Tabel 8.2 De inwerktijd voor alle behandelingen was 0, 5, 30 en 240 minuten. Alle behandelingen zijn uitgezet op toetsplanten en per behandeling zijn steeds vijf planten geïnoculeerd. Eén week nadat de behandelingen op de planten waren gezet zijn de symptomen afgelezen.

Tabel 8.2

Behandelingen PIAMV en PAW water.

Codes	Virusconcentratie	Behandeling
1	Onverdund	20 ml virus en 20 ml PAW
2	Onverdund	5 ml virus en 45 ml PAW
3	1:1000	20 ml virus en 20 ml PAW
4	1:1000	5 ml virus en 45 ml PAW
5	Onverdund	Positieve controle
6	1:1000	Positieve controle
7	Geen virus	20 ml water en 20 ml PAW
8	Geen virus	5 ml water en 45 ml PAW

8.3.3 Resultaten

Bij het beoordelen van de planten bleken alle behandelingen symptomen te geven op de planten behalve de controle met alleen PAW water. Daarbij was zelfs geen verschil te zien tussen het onverdunde en 1:1000 verdunde PIAMV plantensap. Ook kon er geen verschil worden waargenomen bij de verschillende inwerktijden. Ook een inwerktijd van 240 minuten was niet effectief. In Figuur 8.3 zijn de planten met symptomen te zien van de behandelingen met het geïnfecteerde PIAMV plantensap en PAW water en de controle plant die alleen met PAW water is geïnoculeerd.



Figuur 8.3 Overzicht van de geïnoculeerde planten. Linksvoor het geïnfecteerde onverdunde PIAMV plantensap met 9 delen PAW water, rechtsvoor het geïnfecteerde 1:1000 verdunde PIAMV plantensap met 9 delen PAW water en rechtsachter de controle met alleen PAW (zonder virus).

8.3.4 Conclusie

Ook in deze proef blijkt mild PAW water (P=15 min) niet in staat is om een infectie met PIAMV te voorkomen.

8.4 Sterk plasmawater tegen tomatenmozaïekvirus

8.4.1 Doel

Het onderzoek was opgezet om na te gaan of plasma geactiveerd water een virucide werking heeft tegen PIAMV. Dit onderzoek is hierboven beschreven. In de tweede helft van december 2015 kwam alsnog sterker PAW water beschikbaar (45 minuten productietijd in de plasmagenerator). Op dat moment waren er helaas geen geschikte toetsplanten meer voor een extra proef met PIAMV. Wel waren er een paar andere toetsplanten (geschikt voor onderzoek met tomatenmozaïekvirus, TMV) aanwezig om een oriënterende proef te doen. Doel was om de werking van sterk plasmawater (P=45 min) te testen op virucide werking tegen tomatenmozaïekvirus.

8.4.2 Materiaal en methoden

In deze proef is van het tomatenmozaïekvirus inoculum een verdunningsreeks gemaakt en vervolgens is aan 1 deel virusinoculum 9 delen PAW water toegevoegd. De inwerktijd van alle behandelingen was 15 minuten. Na deze tijd zijn de behandelingen uitgesmeerd op meerdere toetsplanten. Hierbij zijn zowel positieve als negatieve controles meegenomen. Na ongeveer één week zijn de planten beoordeeld.

8.4.3 Resultaten

Bij de behandeling met sterk plasmawater werden 80% van de kleine ronde bladvlekken onderdrukt ten opzichte van de onbehandeld controles.

8.4.4 Conclusie

Uit deze proef blijkt dat virusdeeltjes van het tomatenmozaïekvirus (TMV) gevoelig zijn voor een behandeling met sterk plasmawater (P=45 min). Hierbij is een reductie mogelijk van ongeveer 80% ten opzichte van onbehandeld. Een volledige afdoding werd echter nog niet bereikt waardoor er nog steeds veel virusdeeltjes in staat blijven de plant te infecteren. Voor een effectieve bestrijding is meer doding gewenst (LD=99,9%) en dient de behandeling verder te worden geoptimaliseerd.

9 Perspectief op toepassingen in de glastuinbouw

Auteurs: J.D. Hofland-Zijlstra & W. Quaedvlieg

9.1 Toepassing als biocide

Plasmawater geactiveerd water heeft het vermogen om een aantal veelvoorkomende ziekteverwekkers in de glastuinbouw te doden. Dit betreft zowel bacteriën, schimmels en virussen. De mate en snelheid van afdoding is afhankelijk gebleken van:

- Waterkwaliteit (demiwater vs. Kraanwater).
- De productietijd van het plasmawater in de plasma-generator.
- De snelheid van toediening na productie.
- Blootstellingsduur.

Met toepassing van sterk plasmawater (45 minuten productietijd) is het mogelijk om aan de biocide richtlijn te voldoen voor het doden van *Erwinia* bacteriën als dit binnen 15 minuten na productie wordt toegepast. Volgens deze richtlijn (www.ctgb.nl) dient een effectief werkend ontsmettingsmiddel binnen 5 minuten meer dan 99,9% doding te bewerkstelligen. Veelal omdat toepassingen éénmalig plaatsvinden. In de glastuinbouw worden biocide behandelingen toegepast voor het bestrijden van ziekteverwekkers in irrigatiewater of op verpakkingsmaterialen (fust), teeltvloeren, kasopstanden, etc. Voor schimmels zoals *Fusarium* en *Botrytis* is nog geen 99,9% afdoding binnen vijf minuten te bewerkstelligen, deze dienen nu nog minimaal 15 minuten aan sterk plasmawater blootgesteld te worden om deze afdoding te bewerkstelligen. We hopen echter dat deze blootstellingstijd met verdere productie optimalisatie verder terug te dringen is.

Toepassen van het minder reactieve, milde plasmawater is geschikt voor toepassingen waar langere inwerk tijden mogelijk zijn. Zoals bijvoorbeeld de waterbaden waar gerberabloemen in worden gehangen voordat ze worden getransporteerd of de behandeling van fusten die langere tijd vochtig kunnen blijven. Uit de testen kwam naar voren dat bacteriën ook al goed te bestrijden zijn met mild plasmawater.

De stabiliteit van plasmawater is een belangrijke factor waar bij de toepassing rekening mee moet worden gehouden. Door het activatie proces worden nitraat- en zuurstofradicalen gevormd die in contact met organische delen ook snel hun werking weer verliezen. Voor toepassingen met het sterke plasmawater ligt het voor de hand om op de bedrijven zelf (in situ) een plasma generator te plaatsen.

Bij het sterke plasmawater blijft na verlies van de sterkste radicalen een stabielere vloeistof over die nog gedurende enkele weken werkzaam blijft.

Voor het opwekken van plasmawater is eveneens de waterkwaliteit van belang. Hoewel het plasmawater op te wekken is met kraanwater, verloopt het activeringsproces veel sneller bij gebruik van demiwater. Tegelijkertijd is het bij toepassing van demiwater belangrijk gebleken dat het water nog voldoende mineralen bevat en hierdoor een geleiding van minimaal 30 $\mu\text{S}/\text{M}$ heeft om voldoende elektronische lading, voor het ontstaan van de vlamboog, te geleiden.

9.2 Toepassing als gewasbeschermingsmiddel

Sterk plasmawater is naast een biocide toepassing ook in te zetten als gewasbeschermingsmiddel. In de testen met meeldauw en *Botrytis* was de contactwerking voldoende om de infectie op plantmateriaal met meer dan 50% te verminderen. Met sterk plasmawater gaven enkelvoudige gewasbehandelingen via ultrasone verneveling geen kwaliteitsverlies van gerbera- of *Cymbidium* bloemen. Deze behandeling blijkt veilig toe te passen als naooogstbehandeling waarmee bloemen beter beschermd zijn tegen kiemende sporen van *Botrytis*. Deze resultaten komen overeen met de praktijkervaring van tuinders met de inzet van oxidatieve producten in de naooogstfase (Slegers, 2010).

De meeste gewastesten zijn met mild plasmawater uitgevoerd. In verschillende testen met sla, tomaat en gerberaplanten was goed te zien dat toepassingen veilig zijn toe te passen tijdens de teeltfase zonder risico is op gewasschade. Dit geldt zowel de aangiet- als de vernevelbehandelingen. Dat aangietbehandelingen bij planten op potgrond geen schade geven was te verwachten vanwege het hoge gehalte aan organisch materiaal, maar ook de tomatenplanten op steenwol vertoonden geen groeiremming of andere symptomen van schade.

De werking van plasmawater berust op oxidatieprocessen waardoor snelle reacties plaatsvinden met organische materialen. Hierdoor is het belangrijk dat er voldoende contactwerking is tussen het plasmawater en de ziekteverwekkers. Ook de timing is daarbij van belang. De sporen moeten worden gedood, voordat ze de plant hebben geïnfecteerd. Dit vergt doorgaans herhaalde toepassingen, omdat de generatiecyclus onder gunstige omstandigheden zeer kort kan zijn (soms enkele dagen).

Bij toepassingen van mogelijk nevelbehandelingen in de kas is het risico op corrosie belangrijk om uit te sluiten. De corrosietesten zijn in dit onderzoek alleen met het milde plasmawater uitgevoerd. Waar producten op basis van chloor zeer snel onverzinkt ijzer doen corroderen, blijkt plasmawater nagenoeg geen gewichtsverlies te geven van metalen na 30 dagen blootstelling. Omdat het sterke plasmawater een hogere biocidewerking heeft, is het aan te raden om deze testen hiervoor te herhalen.

Op basis van de literatuur en voorgaande ervaring met oxidatieve producten zijn er geen testen uitgevoerd om het risico op natuurlijke vijanden te bepalen. Doorgaans is namelijk het risico voor natuurlijke vijanden met oxidatieve producten is gering (Hofland-Zijlstra, 2012). Een bijwerking van het vernevelen van gewassen kan hooguit als gunstige bijwerking vermindering van spint geven, omdat deze plaaginsecten gevoelig zijn voor vocht.

9.3 Toepassing als zaadontsmettingsmiddel

Bij de fytoxttesten zijn zaden rechtstreeks met mild plasmawater (P=15) behandeld en dit levert bruikbare informatie op voor toepassingen als zaadontsmettingsmiddel. Bij een korte blootstellingsduur van drie dagen zijn er geen significante verschillen aanwezig tussen behandelingen. Wel lijkt er vaker een negatieve trend aanwezig op de groei van spruiten en wortels zodra hogere concentraties van plasmawater worden toegepast. Bij langere blootstelling van kiemplanten zet dit zich door en raakt de groei achterop. Bij toepassing van mild plasmawater is het bij de huidige samenstelling aan te raden om relatief lage concentraties toe te passen (max. 10%) toe te passen bij een blootstellingsduur langer dan 24 uur. Indien hogere concentraties nodig zijn voor desinfectie dan dient de blootstellingsduur te worden verkort.

9.4 Toepassing als irrigatiewater

Alle toepassingen die gedaan zijn met het milde plasmawater geven aan dat plasmawater geen additionele voedingswaarde geeft als planten niet ondervoed zijn. Alleen bij planten die opgekweekt zijn onder suboptimale omstandigheden zal het nitraat uit het plasmawater een bijdrage kunnen leveren aan een betere plantengroei. Bijvoorbeeld in landen waar meststoffen beperkt voorhanden zijn. In de glastuinbouw is de minerale voeding echter doorgaans niet beperkt en daarmee lijkt de toepassing van plasmawater in het irrigatiewater ter bevordering van de groei weinig perspectiefvol. In het bemestingsonderzoek ligt de nadruk tegenwoordig meer op gericht sturen met voedingselementen en het verminderen van nitraatvoeding om de generatieve groei te bevorderen.

10 Aanbevelingen

Bij het onderzoek zijn er diverse aanbevelingen om de toepassing van plasmawater verder te optimaliseren voor glastuinbouwtoepassingen:

- Virustesten dienen herhaald te worden met sterk plasmawater, omdat dit een sterkere desinfecterende werking vertoonde dan de milde variant. Bij deze toepassing lijkt er zeker potentie te zijn om de effectiviteit verder te optimaliseren.
- De gewasbehandelingen tegen bovengrondse schimmels kunnen worden uitgebreid met uitgebreidere dosis-respons testen om na te gaan welke concentraties, frequenties en blootstellingstijden van behandelingen nodig zijn.
- Corrosietesten dienen herhaald te worden met sterk plasmawater.
- Ondanks dat de veiligheid gering wordt geacht, is het goed om de effecten van plasmawater op plaagbestrijders te testen als de biocide werking onder kascondities is geoptimaliseerd.
- Voor praktische toepassing van sterk plasmawater zal het nodig zijn om de capaciteit van de apparatuur op te schalen, zodat deze geschikt wordt voor productie van PAW on-site.
- In dit onderzoek lag de grootste nadruk op een korte inwerktijd, maar er zijn zeker mogelijkheden voor een langere duurwerking van het milde PAW, bijv. gerberabloemen in waterbad.
- Bij de productie van PAW is het nog steeds nodig om de chemische component te ontrafelen die de biocide werking verklaart, zodat deze parameter direct is te meten tijdens of na productie.

Literatuur

Hofland-Zijlstra, J.D. (2010).

Alternatieven voor de beheersing van echte meeldauw zonder pijpzwavel. PT rapport. GTB -1073.

Hofland-Zijlstra, J.D. (2011).

Toepassingen van Aquanox in de glastuinbouwsector.

Hofland-Zijlstra, J.D., R.S.M. de Vries, H. Bruning (2011).

Kennisinventarisatie naar de achtergronden en toepassingen van electrochemisch geactiveerd water in de agrarische sector

Hofland-Zijlstra, J.D. (2013).

Beheersing van meeldauw in roos met een oxidatief product.

Sleegers, J. 2010.

Goed resultaat met Aquanox tegen meeldauw en Botrytis. Vakblad voor de Bloemisterij 51/52.

Van der Helm, F., Ludeking D. & Hofland-Zijlstra J. (2013).

Verbeteren inwendige vruchtkwaliteit paprika. Poster Plantgezondheidsdag 2014.

Naïtali, M., G. Kamgang-Youbi, *et al.* (2010).

"Combined Effects of Long-Living Chemical Species during Microbial Inactivation Using Atmospheric Plasma-Treated Water." *Applied and Environmental Microbiology* 76 (22): 7662-7664.

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



Wageningen UR 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
www.wageningenur.nl/glastuinbouw

Glastuinbouw Rapport GTB-1391

Wageningen UR Glastuinbouw initieert en stimuleert de ontwikkeling van innovaties gericht op een duurzame glastuinbouw en de kwaliteit van leven. Dat doen wij door toepassingsgericht onderzoek, samen met partners uit de glastuinbouw, toeleverende industrie, veredeling, wetenschap en de overheid.

De missie van Wageningen UR (University & Research centre) is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van stichting DLO en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.000 medewerkers en 9.000 studenten behoort Wageningen UR 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.