



# Voorwoord

Wanneer je aan een thesis begint, zit je vol ideeën, plannen en verwachtingen. Je stort je vol enthousiasme op de beschikbare literatuur en je denkt al aan volmaakte experimenten met resultaten die exact aan de vooropgestelde hypothese voldoen.

Maar helaas, in de praktijk kan het anders verlopen: proeven verlopen niet altijd zoals gepland, apparatuur laat het afweten en bepaalde resultaten zijn niet reproduceerbaar. Ondanks het feit dat de proeven ook bij mij niet altijd van een leien dakje liepen, heb ik met plezier aan dit eindwerk gewerkt. Dit eindwerk zou ook nooit tot stand gekomen zijn zonder de hulp van een groot aantal mensen. Hen wil ik dan ook graag bedanken.

In de eerste plaats wens ik mijn promotor ing. F. Debersaques te bedanken voor de deskundige feedback en de motiverende begeleiding tijdens mijn thesis. Mijn copromotor dr. ir. O. Mekers dank ik voor de hulp en nuttige tips, zowel bij de literatuurstudie als bij de praktische proeven.

Ook wil ik S. Verpaele bedanken voor zijn tijd en uitleg rond de ammoniakmeter, evenals het personeel van het CTO voor de hulp bij de analyses en het gebruik van de toestellen.

Verder nog een woordje van dank aan ir. L. Leus voor de hulp bij de microscopie en aan D. van Giel voor het printwerk.

Voor het nalezen en corrigeren van dit werk dank ik ing. F. Debersaques en dr. ir. O. Mekers. Tenslotte dank ik hiervoor –naast de morele steun- eveneens mijn vriendin Isabelle.

Gent, mei 2005

Sven Spruytte

# Inhoudsopgave

Voorwoord

Inhoudsopgave

Referenties

# Inleiding

Het is reeds langer bekend dat te hoge concentraties aan ammoniak in de lucht zowel directe als indirecte schade veroorzaken bij de planten. Recent werd hier melding van gemaakt in de biologische tomatenteelt onder glas. Zo bleken bij teler Krist Hamerlinck in Assenede enkele dagen na de uitplant van biologisch geteelde tomaten en komkommers in de serre de volgende schadebeelden waarneembaar: een aanzienlijke verbranding van de oudere komkommerbladeren na één nacht, gekenmerkt door verdroging van het blad van buiten naar binnen toe. Bij tomaten ontstonden lichte, doorzichtige vlekjes op de onderste bladeren wat later evolueerde naar volledige bladverdroging.

(Biologische teelt: ammoniak is waarschijnlijk de oorzaak van bladverdroging, 2004).

Ongeveer een maand later werden de komkommer- en tomatenplanten in de serre gezet. Om de generatieve groei te stimuleren, werden de planten naast het plantgat en op de folie geplaatst. Slechts een deel van de grond was met folie bedekt en het was de bedoeling de planten pas na enkele weken (na voldoende vruchtvorming) via de plantgaten in de grond te zetten.

Bij het optreden van de eerste schadebeelden, werd gedacht aan verfschade als gevolg van het verven van de hijsverwarming. De toegepaste verf was speciaal voor tuinbouwdoeleinden maar kan aanleiding gegeven hebben tot een VOS-toxiciteit (vluchtige organische stoffen), die normaal na twee dagen verdwenen moet zijn.

Het lijkt echter aannemelijker om de oorzaak te zoeken bij ammoniak. Hiervoor zijn een aantal gegronde redenen. Allereerst dient vermeld te worden dat de teler in kwestie een substraat gebruikte dat wormenmest en compost bevatte. Daarnaast werd de kasgrond een jaar eerder gestoomd wegens een nematodenplaag. Daardoor kan er een gebrek ontstaan zijn aan bodemmicrobiologie, noodzakelijk voor de omzetting van ammoniak (afkomstig van organische stikstof) tot nitraat. Beide mogelijkheden kunnen een reden zijn waardoor het substraat zich tijdens de teelt zelf (opnieuw) in een actieve composteringsfase bevond. Deze fase kan gepaard gaan met ammoniakvervluchtiging. Dit vermoeden wordt versterkt door het feit dat de planten op folie stonden en de nerven geen schade vertoonden; de oorzaak van de schade is hoogstwaarschijnlijk in de lucht te zoeken. Tenslotte zal een dergelijke ammoniakproductie vooral tot uiting komen en tot schade leiden in een gesloten omgeving van de serre. De luchtverversing is er geringer en daar ammoniakgas zwaarder is dan lucht zal dit effect des te sterker zijn dicht bij de bodem.

Om deze problematiek te benaderen is het dan ook belangrijk inzicht te verwerven in de eigenschappen van ammoniak en hoe ammoniak reageert in wormenmest, compost en de plant zelf. Daarnaast is het ook interessant om de proefplant en zijn reacties op abiotische en biotische stress te kennen. Daarom werd dieper in gegaan op deze topics in de literatuurstudie. In het experimentele gedeelte werden onderdelen van de hoger beschreven situatie nagebootst om de precieze oorzaak te bepalen.

# Deel 1: Literatuurstudie

# 1. Ammoniak: chemische en ecologische aspecten

## 1.1. Algemeen

Ammoniak is een belangrijke stikstofvorm gekenmerkt door de chemische formule  $\text{NH}_3$ . Het is namelijk de eenvoudigste verbinding waaronder stikstof in gasvormige vorm voorkomt. Aangezien ammoniak reeds in vrij geringe concentraties een invloed heeft op tot zelfs giftig is voor mens, dier en plant, is deze N-vorm, juist door dat vluchtig karakter, van groot belang.

Ammoniak is een kleurloos gas, echter met een typische doordringende geur en als moleculaire formule  $\text{NH}_3$ . Verder heeft de verbinding een basisch karakter en is het oplosbaar in water en alcohol. Het kan dus opgelost worden in een vloeistof door gebruik te maken van zowel polaire als apolaire oplosmiddelen.

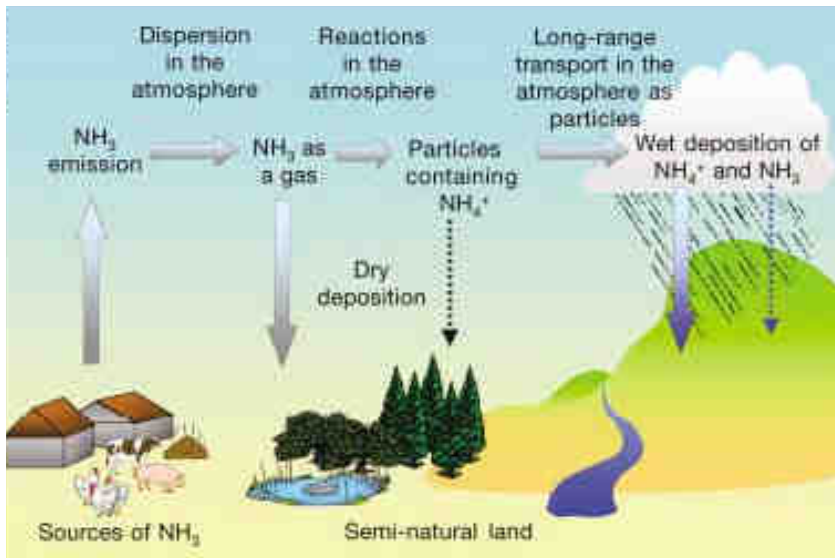
Tabel 1 : Eigenschappen van ammoniak.

Moleculaire massa	17,03 g/mol
Dichtheid	0,7710 g/L (0°C, $1,013 \cdot 10^5$ Pa)
Kookpunt	-33,35°C

## 1.2. Oorsprong en bronnen van ammoniak

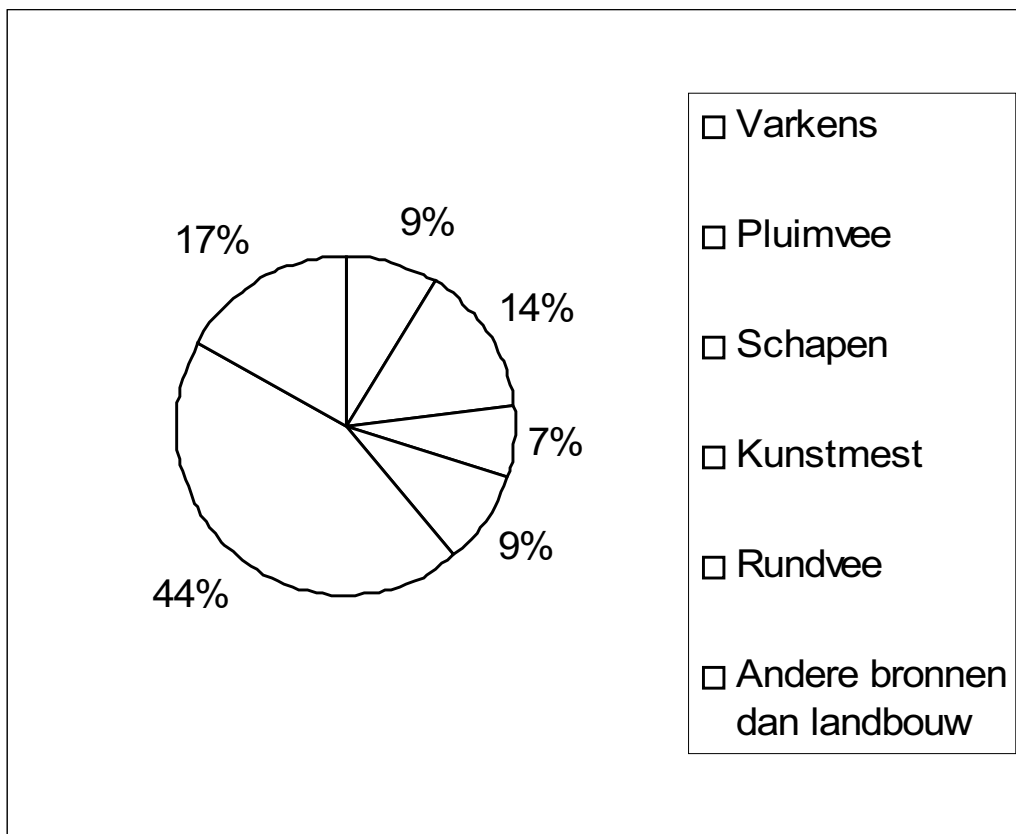
Ammoniak komt natuurlijk voor in de atmosfeer maar daarnaast is er ook een aanzienlijke antropogene hoeveelheid aanwezig. In te hoge concentraties heeft ammoniak een ingrijpende invloed op het milieu en dient ammoniak dan ook als luchtvervuiling gezien te worden. De toxiciteit van atmosferische ammoniak voor de plant en -meer algemeen- voor het milieu is een probleem dat slechts eind de jaren '80 werd erkend.

Luchtvervuiling is een verstoring van de atmosfeer zelf enerzijds, via beïnvloeding van de dampkringfuncties of van de kwaliteit van de ingeademde lucht. Anderzijds is dit ook een verstoring van het milieu algemeen via atmosferisch transport. Ammoniak zal vooral zorgen voor een daling van de kwaliteit van de lucht op neushoogte en voor –al dan niet na atmosferisch transport- verzuring via natte depositie (figuur 1). Ammoniak kan immers omgezet worden in het zwakke zuur  $\text{H}_2\text{NO}_3$ . Dit veroorzaakt op zijn beurt een aantasting van de gewas- en bosvitaliteit (Vlerick, 2003).



Figuur 1: Transport van ammoniak in de atmosfeer (Ammonia in the UK, 2004).

Ammoniak is voor 83% afkomstig van de landbouw (zie figuur 2) en komt vrij bij de productie van mest in de veehouderij en de kunstmestindustrie maar vooral bij het uitrijden van de mest op het land. Onder invloed van het enzym urease, dat algemeen voorkomt in bodems en mest, wordt ureum aanwezig in dierlijke excreties, omgezet in ammoniumstikstof.



Figuur 2: Bronnen van ammoniakemissie.

Algemeen genomen verplaatst ammoniak zich van een plaats met hoge concentratie naar een plaats met lagere concentratie (volatilisatie) maar in gebieden waar intensief aan veehouderij wordt gedaan, kan de concentratie aan ammoniak tot 15 maal hoger liggen dan elders (Clement, 1996). Immers, daar het een zeer reactief gas is, zal er vooral depositie optreden in de onmiddellijke omgeving van de bron. In die zin onderscheidt ammoniak zich van andere poluënten in de atmosfeer: de effecten ervan zijn te zien in laaglanden en in de onmiddellijke omgeving (meters tot kilometers) van de bron (veeteelt). Toch kan het, na reactie met stikstofoxiden of zwavel, als aërosols zich over een afstand van vele honderden kilometers verplaatsen.

Via een citaat van Arthur Young, een landbouwkundig pionier uit de 18e eeuw: “ *He who is within the sphere of the scent of a dunghill, smells that which his crop would have eaten, if he had permitted it. Instead of manuring his land, he manures the atmosphere; and before his dunghill has finished turning, he has manured another parish, perhaps another county.*” werd – zonder het te beseffen – een eerste maal gewag gemaakt van het probleem van ammoniak-emissie (Ammonia in the UK, 2004).

Nochtans kan bij oordeelkundig bemesten, de emissie van stikstof in de lucht onder vorm van ammoniak sterk gereduceerd worden. Daartoe dient men rekening te houden met:

- de eigenschappen van het perceel
  - o de zuurtegraad van de bodem  
Hoe hoger de pH, hoe meer kans op ammoniakvervluchtiging. Op kalkbodems heeft men in hoge mate de volgende reactie:  
$$2\text{NH}_4^+ + \text{CaCO}_3 \rightarrow \text{Ca}^{2+} + 2\text{NH}_3 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$$
  - o de CEC-waarde (Cation Exchange Capacity)  
Dit is een waarde die het vermogen uitdrukt van de bodem(deeltjes) om kationen aan zich te absorberen en hoe hoger dit bindend vermogen, hoe lager de  $\text{NH}_3$ -verliezen.
- de weersomstandigheden
  - o de droogte
  - o de hoeveelheid neerslag
  - o de temperatuur  
Bij hogere temperaturen en droogte heeft men te maken met een sterkere gasuitwisseling en een hiermee gepaard gaande  $\text{NH}_3$ -emissie.
- de diepte van inwerken  
Gebruik van mestinjectiesystemen kan de emissie van ammoniak tot zo goed als nihil herleiden.

(Baert, 2003).

Ook door gebruik te maken van emissiearme stallen of door de voeding van het vee aan te passen, kan men de ammoniak emissie verminderen. Als men het vee voedt met meer proteïnen dan ze nodig hebben, stijgt de excretie van ammoniak eveneens. Slechts 20-40% van de stikstof in voedingsproteïnen is terug te vinden in het dier of in dierlijke producten.

Belangrijke factoren die de emissie van vee in stallen beïnvloeden zijn:



- temperatuur.
- ventilatiegraad.
- vloerconstructie.

Bij mestopslag stijgt de emissie bij stijgende:

- roering.
- temperatuur.
- windsnelheid.
- pH in de mest.

(Ammonia in the UK, 2004).

Andere maar minder belangrijke bronnen van ammoniak in de atmosfeer, zijn het gebruik ervan in kunststoffen, schoonmaakproducten, autokatalysatoren en als koelstof. De koelstof is het werkende fluïdum van de gesloten kringloop in een koelmachine, die afwisselend verdampt en condenseert en dus warmte opneemt en afgeeft. De fysische en chemische eigenschappen van  $\text{NH}_3$  zijn minder gunstig voor koeling dan gehalogeneerde koolwaterstoffen maar het is wel veel minder schadelijk voor de ozonlaag. Elke koelstof wordt aangeduid met een R (refrigerant), gevolgd door een nummer en bij  $\text{NH}_3$  is dit R717 (Eeckhout, 2003).

## 1.3. Invloed van ammoniak op ecologische systemen

Van de menselijke activiteiten vormt de toenemende atmosferische stikstofpollutie één van de belangrijke bedreigingen voor natuurlijke ecosystemen. De nutriëntenbeschikbaarheid is immers een bepalende factor voor de samenstelling van vegetatie in vele broze ecosystemen. Stikstof vormt er meestal een limiterend nutriënt voor de aanwezige vegetatie. De meeste van de plantensoorten in een dergelijk habitat kunnen alleen succesvol met elkaar concurreren op bodems met lage stikstofgehalten. Ze zijn immers via evolutie aangepast aan nutriënt-arme omstandigheden en op deze manier heeft atmosferische stikstofpollutie na depositie een impact op de plantendiversiteit (Bobbink et al., 1998).

De vier belangrijkste invloeden van N-depositie op biologische systemen zijn:

- DIRECTE TOXICITEIT VAN STIKSTOFGASSEN EN AEROSOLS.

De omgevingsconcentraties van zowel  $\text{NO}_x$  als  $\text{NH}_x$  vormen op lokaal niveau normaal gezien geen risico voor de vegetatie, uitgezonderd in de onmiddellijke omgeving van de N-bron (bvb. een varkensstal). Toch draagt deze stikstof uiteindelijk bij tot de totale wereldwijde N-depositie.

- EFFECTEN VAN BODEMVERZURING.

Een hoge input van verzurende bestanddelen kan op lange termijn leiden tot

- een verlies aan buffercapaciteit,
- een pH-daling,
- uitloging van basische kationen
- en toenemende concentraties aan toxische metalen (aluminium).

In zo een situatie zullen zuurminnende planten dominant worden in het ecosysteem ten koste van soorten die een meer neutrale pH verkiezen voor optimale groei.

- ACCUMULATIE VAN STIKSTOFBESTANDELEN, MET EEN VERANDERING IN CONCURRENTIE-RELATIES TUSSEN SOORTEN ALS GEVOLG.

Een verhoogde N-input leidt uiteindelijk tot een toename in N-beschikbaarheid waardoor op zijn beurt de nitrofiële plantensoorten van een positieve selectiedruk zullen genieten. De meeste plantensoorten hebben zich in de loop van de evolutie aangepast aan bodems met een laag N-gehalte. N-depositie zorgt aldus voor een enorm verlies aan biodiversiteit.

- TOENAME IN GEVOELIGHEID VOOR SECUNDAIRE STRESS EN VERSTORENDE FACTOREN ZOALS PATHOGENEN, VORST EN DROOGTE.

Atmosferische N-polluenten kunnen via een verminderde vitaliteit van de plant, zorgen voor een verminderde weerstand tegen bepaalde pathogenen. De verhoogde N-input kan ook de planten aantrekkelijker maken voor plagen en de planten gevoeliger maken voor insectenvraat. Tenslotte kan een overmatige N-beschikbaarheid aanleiding geven tot fysiologische veranderingen in de plant die op hun beurt een invloed hebben op vorst- en droogtegevoeligheid van species.

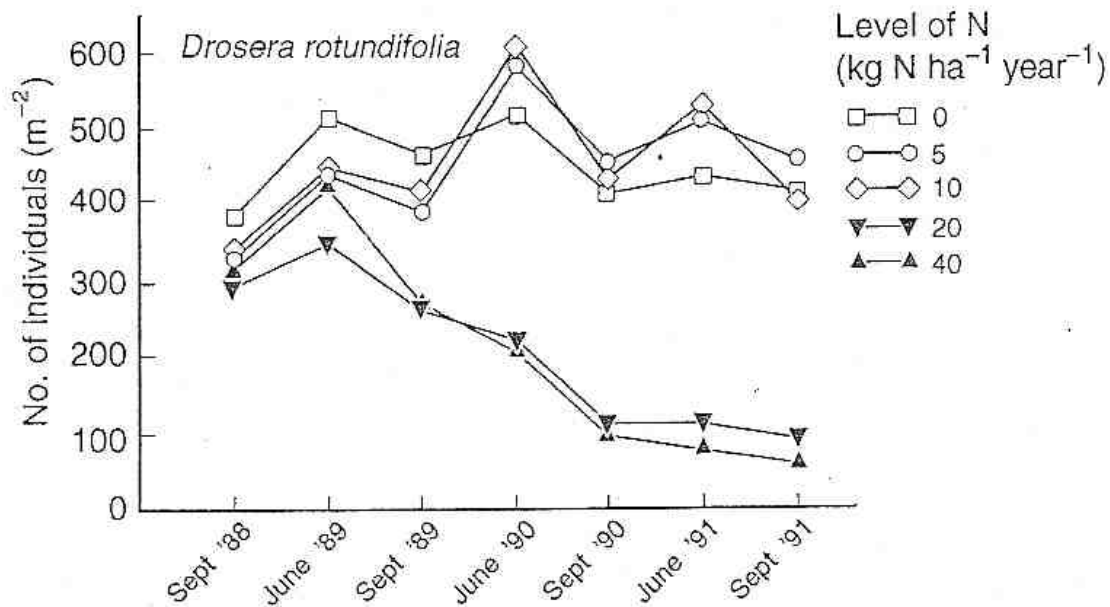
De ernst van deze invloeden hangt in eerste instantie rechtstreeks af van de mate en de duur van de N-depositie. Daarnaast spelen ook een aantal abiotische factoren van het ecosysteem zoals de buffercapaciteit, de nutriëntentoestand van de bodem en bepalende factoren voor nitrificatie en stikstofmobilisatie, een belangrijke indirecte rol. Deze abiotische factoren worden op hun beurt bepaald door de manier van exploitatie in het verleden en het heden van dat gebied. Dit alles leidt tot grote variaties in gevoeligheid van een ecosysteem ten aanzien van de aanwezige atmosferische N (Bobbink et al., 1998).

Bobbink et al. (1998) voerden een uitgebreide studie uit van de invloed van N-depositie op verschillende Europese ecosystemen. Dit leverde volgende resultaten op:

a. Moerassen:

Dit zijn gebieden die gekenmerkt worden door anaërobe, waterverzadigde bodems met een lage redoxpotentiaal, hoge gehalten aan gereduceerde toxische substanties en een hoge denitrificatiegraad. Ombrogene moerassen danken hun input aan nutriënten hoofdzakelijk aan atmosferische depositie waardoor deze gebieden extreem gevoelig zijn voor atmosferische stikstof. Typisch voor deze ecosystemen zijn turfvorming en –door de aanwezige lage pH-bepaalde plantensoorten: spagnummossen, heideplanten (*Erica*) en carnivore planten

(*Drosera*). Deze planten kunnen overleven bij lage N-gehalten door insecten te vangen of door  $N_2$ -fixatie via symbiose met micro-organismen (*Spaghnum*). Uit onderzoek van Bobbink et al. (1998) is gebleken dat bij stikstoftoename (door de stijgende natuurlijke N-depositie) deze typische ombrotrofe vegetatie afnam ten voordele van meer N-afhankelijke plantensoorten (*Molinia caerulea* en *Betula pubescens*). Uit figuur 3 is duidelijk af te leiden hoe het *Drosera*-bestand gestaag afneemt bij toenemende N-gehalten.

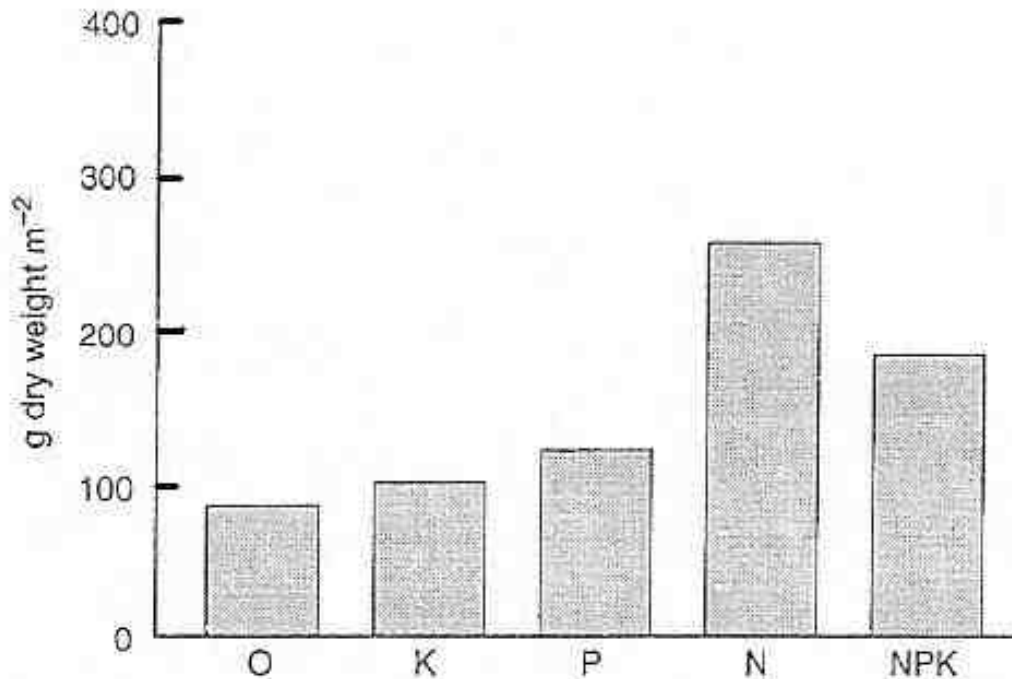


Figuur 3: Aantal *Drosera rotundifolia*-planten in een ombrogeen moeras bij vier jaar durende N-toevoeging (ammoniumnitraat) (Bobbink et al., 1998).

#### b. Grasland:

Graslanden maken reeds lang deel uit van het agrarisch landschap. Het lange landbouwkundige gebruik van deze gebieden, met een lage mestinput gecombineerd met een continue output van nutriënten via begrazing, zorgde ervoor dat dit nutriëntarme gronden werden, gekenmerkt door een typische vegetatie. Het bemestende effect van atmosferische stikstof zal hier dus des te groter zijn.

Men hanteert voor deze ecosystemen volgende indeling: neutrale vochtige, droge kalkrijke en zure arme graslanden. Elk soort grasland gaat anders reageren op N-deposities maar alleen de kalkrijke graslanden worden hier behandeld. Dit zijn ondiepe goed gebufferde bodems (pH= 7-8), arm aan stikstof en fosfor met een ondergrond van verschillende leemsoorten. Ze zijn hoofdzakelijk begroeid met de zeer soortenrijke *Brometalia erecti*-orde. Dit plantenbestand is sterk achteruitgegaan sedert de jaren '50 terwijl men een gestage vooruitgang waarnam van één specifieke grassoort: *Brachypodium pinnatum*. Aangezien het beheer van kalkgraslanden niet gewijzigd is sedert toen, kan de oorzaak te wijten zijn aan N-depositie. Dit werd bevestigd door de studie van Bobbink et al. (1998) waarvan de resultaten te zien zijn in onderstaande figuur 4.



Figuur 4: Bovengrondse biomassa van *B. pinnatum* na drie jaar durende N-gift van 100 kg  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ /ha.jaar (Bobbink et al., 1998).

Een drie jaar durende N-gift van 50-100 kg  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ /ha.jaar + 30-35 kg omgevings-N/ha.jaar, leidde slechts tot een kleine toename in totale biomassa maar een grote biomassatoename van *B. pinnatum*. Hiermee gepaard gaande, stelde hij ook een afname in biodiversiteit vast (Bobbink et al., 1998).

### c. Heidegebieden:

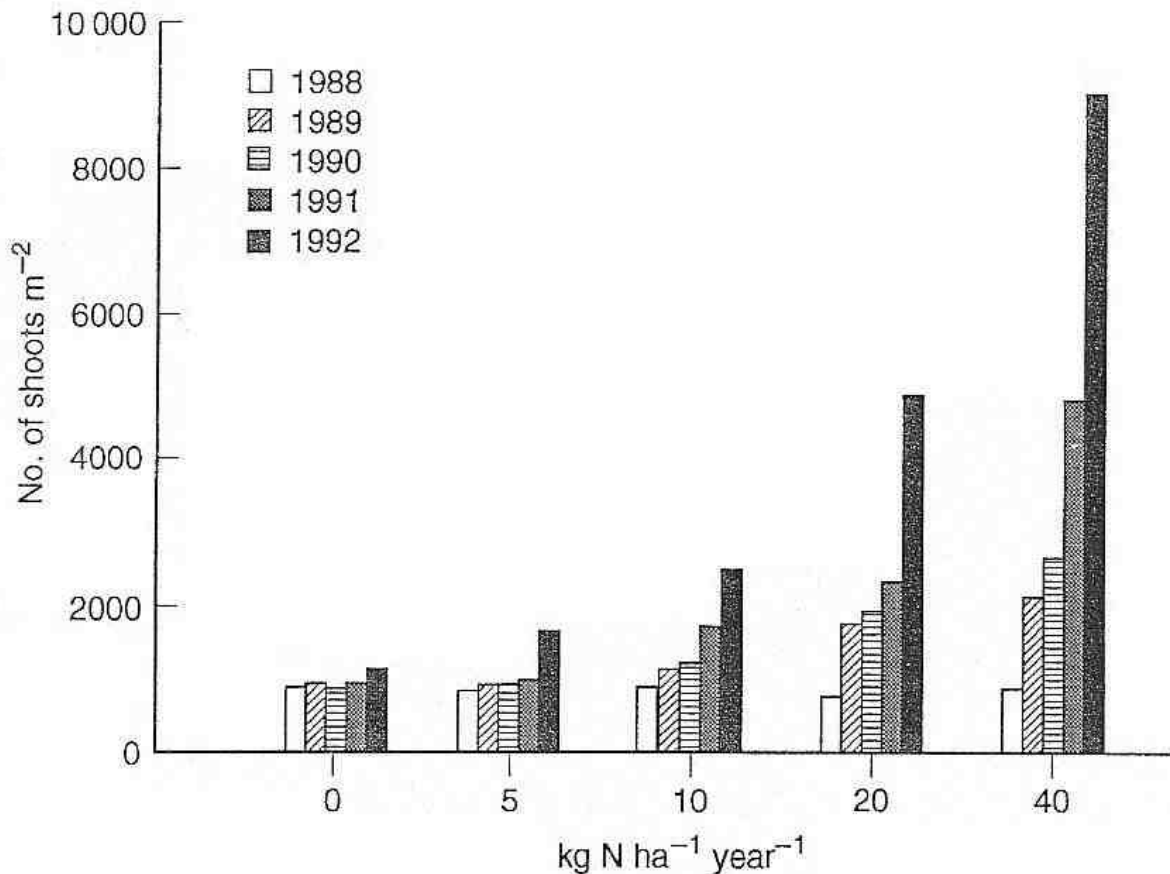
Vele planten worden als heideplant beschreven maar in dit geval slaat de term heide alleen op gebieden begroeid door kleine struiken van maximaal één meter hoog met kleine bladeren. De ondergrond is bedekt met grassen, mossen en korstmossen. Dit ecosysteem wordt vooral gedomineerd door de Ericaceae. Zolang deze gebieden niet intensief worden geëxploiteerd door de mens, blijft de nutriëntenbalans in evenwicht, o.a. via heidebranden en ontginning van zoden en plaggen. Men onderscheidt vier heidesoorten: natte laagland heide, droge laagland heide en *Calluna vulgaris* 'moorland' heide en arctische heide.

In heel Europa stelt men sinds de jaren '70 een tendens vast van een toenemende dominantie van grassen in heidegebieden, gestimuleerd door de toegenomen atmosferische N-depositie. Meer dan 35% van de Nederlandse heide is hierdoor aangetast. Deze veranderingen in de heidevegetatie zijn niet alleen te wijten aan gewijzigde competitieve interacties, maar eveneens aan processen gelinkt met het openen van de gesloten kruin bij de oorspronkelijke heideflora; namelijk zowel vraat door de heidekever bij *Calluna vulgaris* (waardoor de lichtpenetratie naar de bodem toe stijgt) als stikstof-geïnduceerde vorst- en droogtestress (zie ook toxiciteit bij de plant). De verschillende oorzaken en hun onderlinge interacties op lange termijn maken de verklaring voor dit fenomeen er niet gemakkelijker op (Bobbink et al., 1998).

d. Bossen:

Een belangrijke –zo niet de belangrijkste- indicator voor atmosferische N-depositie in vochtige bos-ecosystemen, is het al of niet aanwezig zijn van korstmossen. De Europese korstmossen komen voor op de bosbodem of zijn epifyten op bomen. Ze hebben groene algen als fotobiont, die geïnhibeerd worden door verzuring maar positief reageren op stikstof. 10% van alle korstmossen hebben een cyanobacterie als fotobiont, die echter zowel op verzuring als op stikstof negatief reageert. Deze korstmossen zijn uiteraard het meest gevoelig voor pollutie en zijn zo goed als allemaal met uitsterven bedreigd. Maar ook tussen de afname van korstmossen met groene algen als fotobiont en N-deposities boven de 5-10 kg/ha . jaar, is er significante correlatie (Göransson, 1990 geciteerd in: Bobbink et al., 1998).

Heel wat veldonderzoek heeft al een verandering in bosgrondvegetatie bij stikstofinput aangetoond maar –op enkele uitzonderingen na- hierbij werden die effecten niet gekwantificeerd. Vele N-indicatorplanten (*Lactuca muralis*, *Dryopteris filix-mas*, *Poa nemoralis*, *Melica uniflora*, *Aegopodium podagraria*, *Stelaria species* ...), vertoonden een duidelijke toename in aantallen bij een gestegen atmosferische depositie maar dat was niet het geval bij zuurminnende planten (*Deschampsia flexuosa*, *Maianthemum bifolium* en *Luzula pilosa*). Bij *Deschampsia flexuosa* was er wel een toename van het bladerdek: Zo vonden Kellner & Redbo-Torstensson (in: Bobbink et al., 1998) een significante toename tussen de scheutdensiteit van *D. flexuosa* een  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ -input van 10 kg N/ha . jaar tijdens een 5 jaar durende proef (zie figuur 5).



Figuur 5: Het aantal scheuten bij *Deschampsia flexuosa* in functie van de N-gift van 1988 tot 1992 (Kellner & Redbo-Torstensson, 1995 geciteerd in: Bobbink et al., 1998).

De geringe data, beschikbaar over dit onderzoeksdomein, suggereren dat de soortensamenstelling van bosgrond vegetatie beïnvloed wordt door eerder lage N-depositiehoeveelheden (Bobbink et al., 1998).

Tenslotte valt nog op te merken dat de gevoeligheid van specifieke ecosystemen voor de impact van N-depositie, afhankelijk is van de abiotische factoren (tabel 2).

Tabel 2: De gevoeligheid van specifieke ecosystemen voor de impact van N-depositie, in functie van abiotische factoren (Bobbink et al., 1998).

Gevoeligheid:	Abiotische factoren:			
	Temperatuur	Bodemvochtigheid	Vorstperiode	beschikbaarheid basische kationen
<b>HOOG</b>	koud	droog	lang	laag
<b>MEDIUM</b>	gematigd	normaal	kort	matig
<b>LAAG</b>	warm	nat	geen	hoog

## 1.4. Ammoniaktoxiciteit

### 1.4.1. Toxische aspecten van ammoniak bij mens en dier

Het is reeds lang bekend dat blootstelling aan hoge concentraties ammoniak bij de mens leidt tot irritaties en oog-, huid- en ademhalings symptomen. Langdurige blootstelling zal uiteindelijk aanleiding geven tot bronchitis. Er is echter nog geen bewijs voor eventuele carcinogene eigenschappen van ammoniak. Ook is er nog geen onderzoek verricht op de invloed van  $\text{NH}_3$  op de menselijke reproductie.

Bij een proef van Holness, geciteerd in : Denton (2004) met 52 testpersonen en 31 controle-individen werden longfuncties en oog-, huid- en ademhalings symptomen met elkaar vergeleken. Hierbij werden leeftijd, hoogte... als co-variabelen gebruikt. De testpersonen werden gemiddeld gedurende 12.2 jaar (tijdgewogen gemiddelde) blootgesteld aan ammoniakconcentraties van 9.2 ppm terwijl dit bij de controle-individen 0.3 ppm bedroeg. Er werden geen verschillen vastgesteld tussen beide groepen. Daarnaast werd er ook een groep vrijwilligers blootgesteld aan 25, 50 of 100 ppm gedurende 5 dagen van de week en dit voor 2, 4 of 6 weken. Ook hier werden de personen nadien onderworpen aan testen van de longfuncties (ademhalingsgraad, FEV of Forced Expiratory Flow rate en FEV<sub>1</sub> of Forced Expiratory volume in one second) en gevraagd naar klachten in verband met irritaties. Bij 50 en 100 ppm werd melding gemaakt van tijdelijke neus- en keelirritatie. Een stijging in oog-, neus- en keelirritatie werd vooral genoteerd vanaf de tweede en de derde week. Wel was er geen verschil in algemene gezondheidstoestand in vergelijking met de controlegroep.

Uit proeven bij dieren bleek, wanneer ratten continu werden blootgesteld aan  $\text{NH}_3$ -concentraties van 0, 25, 50, 150 en 250 ppm na voorafgaande inoculatie met *Mycoplasma pulmonis*, dat er een verhoging was van neusontstekingen, tracheïtis en longsymptomen typisch voor *M. pulmonis* in vergelijking met de controle (Schoeb geciteerd in : Denton, 2004).

Ook bij cavia's en muizen, die continu werden blootgesteld aan  $\text{NH}_3$ -concentraties van 20 ppm gedurende 6 weken en kippen (20 en 50 ppm gedurende 6 tot 12 weken) bleek de proef in alle gevallen te leiden tot longoedeem en andere ademhalings- en leverstoornissen. Bovendien bleek er uit de test bij kippen ook een verhoogde gevoeligheid voor bepaalde virussen te bestaan (Anderson geciteerd in : Denton, 2004).

Uit deze proeven op mensen en dieren werden de volgende waarden afgeleid:

- NAOEL (No Adverse Observable Effect Level): 9.2 ppm
- LAOEL (Low Adverse Observable Effect Level): 25 ppm (bij ratten)
- kritische effecten: irritatie van de longfuncties, huid en ogen.

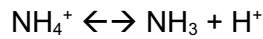
Verder blijkt ammoniakirritatie vooral gelinkt te zijn aan de heersende concentratie en niet zozeer aan de blootstellingsduur. De mens beschikt over een hoog vermogen tot ontwikkeling van tolerantie voor het gas. Voor het vastleggen van normen wordt onderscheid gemaakt tussen drempelwaarden voor korte duur (35 ppm voor 15 minuten) en maximale concentraties voor een tijdgewogen gemiddelde (25 ppm voor 8 uur of een werkdag).

(Vanoverbeke, 2004)

## 1.4.2. Ammoniaktoxiciteit in aquatische ecosystemen

### 1.4.2.1. Algemeen

In een waterige oplossing, komt ammoniak voor in 2 vormen; niet geïoniseerde ammoniak  $\text{NH}_3$  en het ammonium ion  $\text{NH}_4^+$ , in evenwicht met elkaar volgens de vergelijking:

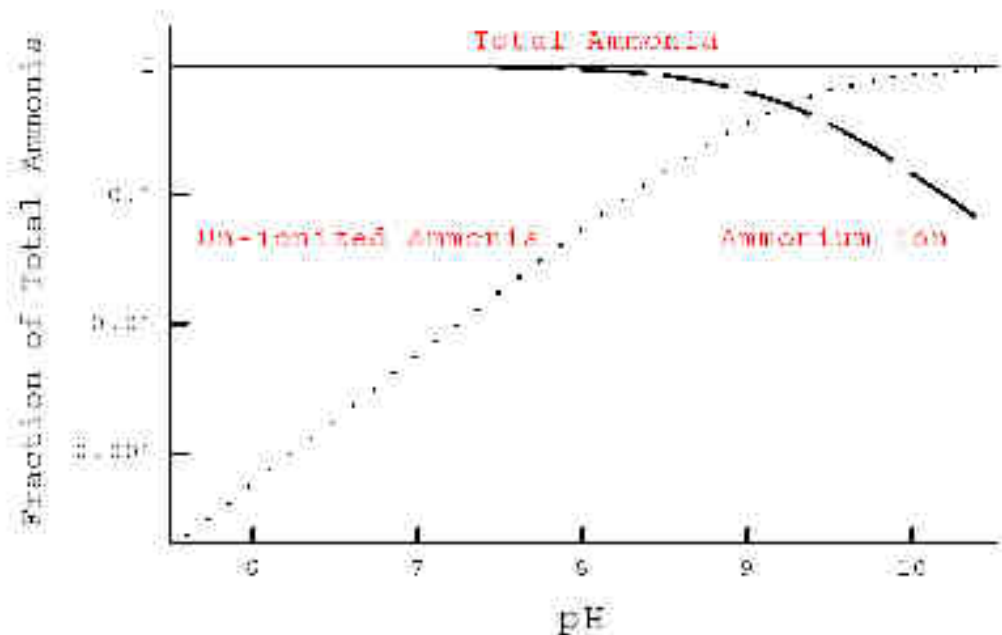


$$K = \frac{[\text{NH}_3][\text{H}^+]}{[\text{NH}_4^+]}$$

Factoren van belang voor de toxiciteit van ammoniak t.a.v. waterorganismen zijn een aantal fysicochemische eigenschappen van het water, zoals:

- temperatuur
- pH
- ionensamenstelling.

De evenwichtsconstante  $K$  hangt in belangrijke mate af van de temperatuur. Daarnaast is de richting van deze evenwichtsreactie bepaald door de concentratie aan  $\text{H}^+$ -ionen, de pH. De pH-afhankelijkheid van de onderlinge hoeveelheden niet geïoniseerde ammoniak en ammonium ionen bij 25 °C (dus:  $\text{p}K = 9.24$ ), is geïllustreerd in figuur 6.



Figuur 6: aanwezige fractie niet geïoniseerde ammoniak en ammonium ionen in functie van de pH (Heber et al., 1999).

Tenslotte speelt ook de ionensterkte een rol, maar het effect is minder van belang en uitgesproken in zoet water-milieus.



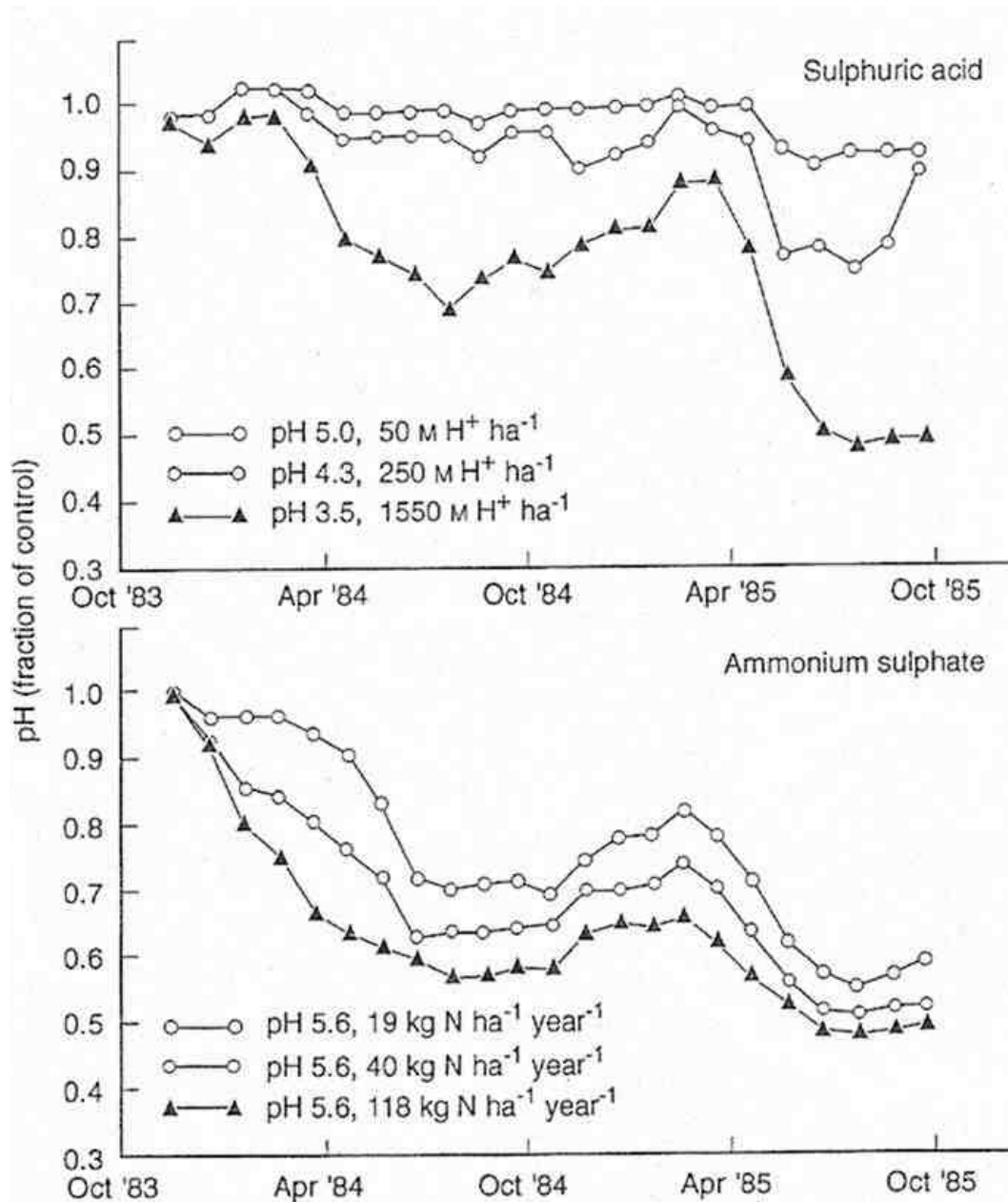
### 1.4.2.2. Waterfauna

Aangezien niet-geïoniseerde ammoniak  $\text{NH}_3$  veel toxischer is dan het ammonium ion  $\text{NH}_4^+$ , hebben deze 3 factoren allen via hun invloed op de evenwichtsreactie, ook een invloed op de ammoniaktoxiciteit in water. Het verschil in toxiciteit is makkelijk te begrijpen daar  $\text{NH}_3$  een neutrale molecule is en op die manier gemakkelijker kan diffunderen doorheen de epithele membranen van waterorganismen. Endogeen geproduceerde ammoniak wordt hoofdzakelijk via passief transport uit het organisme geëxcreteerd, voornamelijk via diffusie langs de kieuwen. In aanwezigheid van grote hoeveelheden exogeen  $\text{NH}_3$ , valt dit excretiemechanisme stil en treedt er ophoping op van  $\text{NH}_3$  in de kieuwen en het bloed, tot toxische niveaus (Heber et al., 1999).

### 1.4.2.3. Waterflora

Zoet water-gebieden zijn één van de meest gevoelige ecosystemen voor atmosferische verzuring. Een pH-daling en een verminderde buffercapaciteit staan in relatie met een concentratietoename van sulfaat, aluminium en soms nitraat en ammonium, door de toename van verzurende componenten ( $\text{SO}_x$ ,  $\text{NO}_x$  en  $\text{NH}_x$ ) in de atmosferische neerslag. Uit onderzoek door Bobbink et al. (1998) is gebleken dat dit drastische gevolgen heeft –via veranderingen in plantendiversiteit- voor zowel de aanwezige fauna (van vissen tot microfauna) als het normaal functioneren van aquatische ecosystemen. Naar de invloed van stikstofdepositie op eutrofiëring van oppervlaktewaters is totnogtoe weinig onderzoek verricht. Dit komt enerzijds doordat de verzurende effecten die hierbij optreden qua impact veel meer doorwegen dan eutrofiëring. Anderzijds beschouwt men dit gegeven als minder belangrijk daar fosfor normaliter de limiterend factor is bij algengroei (uitgezonderd in bergmeren en andere aquatische systemen met lage achtergrond N-concentraties (Bobbink et al., 1998)

In figuur 7 is de verandering in pH van water met lage hardheid uitgezet in functie van een twee jaar durende blootstelling aan kunstmatig regenwater met zwavelzuur (pH = 5.6-3.5) en ammoniumsulfaat (pH = 5.6).



Figuur 7: De verandering in pH van het moeraswater uitgezet in functie van een twee jaar durende blootstelling aan regenwater met zwavelzuur en ammoniumsulfaat (Bobbink et al., 1998).

De vegetatie typisch voor waters gekenmerkt door een lage hardheidsgraad, bleek bij deze proef door blootstelling aan regenwater met ammoniumsulfaat geleidelijk aan te verdwijnen om geleidelijk aan te worden vervangen door *Sphagnum* species en *Juncus bulbosa*. De oorspronkelijke vegetatie wordt gekenmerkt door een lage groeisnelheid terwijl de groei van *Sphagnum* species en *Juncus bulbosa* juist gestimuleerd wordt door verzuring en een stijging in ammoniumgehalte. Dit effect werd niet waargenomen bij regenwater met zwavelzuur, waaruit men kan afleiden dat deze veranderingen het gevolg moeten zijn van het gecombineerd effect van verzuring en eutrofiëring.

### 1.4.3. Toxiciteit van ammoniak bij planten

Aanwezigheid van ammoniak in de omgeving van de plant kan zowel positieve als negatieve effecten hebben. Hoge concentraties zijn giftig voor de plant en dit uit zich onder andere in directe schade via groeireductie. Dusdanige concentraties zijn zeldzaam en bijvoorbeeld het gevolg van ongelukken tijdens transport. Bij lage concentraties is  $\text{NH}_3$  niet toxisch en fungeert het als meststof voor de plant.. Daardoor stimuleert het de fotosynthese en de vegetatieve groei. Dit werd aangetoond via proeven met coniferen. De hoogst stikstof assimilatie werd voor deze planten genoteerd bij de jongste naalden. De aanwezige hoeveelheid aminozuren met een lage C/N-verhouding (vooral arginine) was hier zeer groot. Dit is enerzijds te verklaren door hun hoge metabolische activiteit, anderzijds ook door hun grote stomatale geleidbaarheid voor ammoniak. (Khan & Khan, 1995 geciteerd in: Dandrieux et al., 2001).

Toch gaat dit gepaard met ernstige fysiologisch veranderingen en een verminderde vitaliteit van de plant: vervroegde bladval, slecht uitlopen van de knoppen, verhoogde scheutwortelverhouding (verhoogde transpiratie) ... . Daarnaast heeft ammoniak ook een ingrijpende invloed op het bladepidermis via een reductie van het aantal en de afmetingen van de stomata. Dit impliceert een morfologische aanpassing van de plant, in een poging om de ammoniakdiffusie onder controle te houden. Die invloed is echter ook te zien via een mogelijke erosie van het cuticula wat op zijn beurt een verminderde mesofiele werking teweeg brengt. Wat het effect van ammoniak op de donkerademhaling betreft zijn nog geen sluitende resultaten gevonden: sommige auteurs (Perez-Soba et al, 1995 geciteerd in: Dandrieux et al., 2001)vermelden een verhoging, anderen (Fangmeier et al., 1994 geciteerd in: Dandrieux et al., 2001) noteren geen verandering. Een verhoging in donkerademhaling als gevolg van ammoniak zou kunnen verklaard worden door de gestegen noodzaak om weefsels te onderhouden en te herstellen na beschadiging door ammoniakopname. Door deze verstoringen wordt de plant gevoeliger voor stressfactoren (droogte, koude ...) en bijgevolg ook gevoeliger voor bepaalde ziekten en plagen.

Deze effecten vormen de indirecte schadebeelden en men kan aannemen dat het afsterven van planten door ammoniak –aangezien concentraties nodig voor directe schade praktisch nooit voorkomen- altijd een gevolg is van indirecte schade.

Uit proeven, uitgevoerd door Dandrieux et al. (2001), met ammoniak op planten is gebleken dat naast de concentratie ook vooral de blootstellingduur een uitermate belangrijke rol speelt, wat niet zozeer het geval was bij mens en dier. Daarnaast bleek ook dat de resultaten van experimenten in labo-omstandigheden sterk konden verschillen en soms weinig representatief waren, zeker bij proeven met een zeer lange blootstellingduur en met lage concentraties ammoniak. Maar omdat planten als bio-indicator kunnen dienen voor luchtvervuiling met bepaalde pollutanten, blijft laboratoriumonderzoek op dit vlak zinvol.

Een dergelijk experiment (meten van de groei en mortaliteit bij verhoogde ammoniakconcentraties) werd reeds door Dandrieux et al. (2001) uitgevoerd bij linzen (*Lens culinaris* (Medikus)) op een cultuurmedium. De keuze viel op deze plant wegens zijn hoge kiemkracht en groeikarakteristieken. Het medium bestond voor 70% uit zand en 30% uit compost waarvan de samenstelling terug te vinden is in tabel 3.

Tabel 3: Karakteristieken van het medium NFU44551.

Samenstelling: bruine turf (Carex), gemalen dennenschors, paardenmest.
Droge stof: 55%
Organische stof: 30%
pH: 6.5
Waterretentie: 100%

De zaden werden gedurende 4 dagen onder donkere omstandigheden in vochtige watten bewaard (prekieming). Daarna werden de reeds gekiemde zaadjes geselecteerd voor verder onderzoek. Daarna liet men de kiemlingen groeien bij temperaturen tussen 20 en 26° C in containers met 60 g van het medium. Na 2 dagen werden ze aan ammoniak blootgesteld. Hiervoor werd 0-15 l/min lucht met 2-20 ml/min ammoniak in een hermetisch afgesloten plastic omhulling geïnjecteerd via gasregulatoren (Model 5878 van Rosemount). Tegelijkertijd werden drie blootstellingperiodes gehanteerd: 2, 30 en 60 min. Na blootstelling werden de zaailingen terug in hun groeikamer geplaatst. De referentieplanten liet men onder dezelfde omstandigheden kiemen en groeien. Aangezien de duur van de blootstelling te kort was voor directe schade en onmiddellijk waarneembare symptomen, werd de invloed van ammoniak beoordeeld aan de hand van 3 criteria: visuele criteria, mortaliteit en groei. De groei werd bepaald via het meten van de plant en het wegen van de plant na verassen terwijl de visuele criteria werden beoordeeld door een indeling te maken in vier klassen:

- Klasse I: Geen verschil met de referentieplanten
- Klasse II: Verdroging en vergeling van de bladtopen tijdens de eerste dag na blootstelling en het ontstaan van noodvertakkingen vanaf de derde dag die sneller groeien dan de hoofdas.
- Klasse III: Analoge fenomenen als in de vorige klasse maar de vergeling en verdroging komt nu voor op gans het blad en de groei van de hofdas wordt volledig gestopt.
- Klasse IV: Dood als gevolg van de vergeling en verdroging en overdreven vorming van generatieve zij scheuten.

Resultaten hiervoor zijn terug te vinden in tabel 4. Hieruit blijkt voldoende dat de mortaliteit een stijgende functie is van de duur en de concentratie. Er is slechts sprake van een lethaal effect vanaf concentraties van 3000 ppm en dan nog is de respons van de plant nihil tot zeer gering bij blootstellingen korter dan 60 minuten. Tenslotte is het lethaal effect niet onmiddellijk zichtbaar, het vereist een bepaalde 'latente' periode.

Tabel 4: gedrag van planten na blootstelling.

Duur van blootstelling (min)	Relatieve concentratie (ppm)	Gedrag
------------------------------	------------------------------	--------

60	500	I
	1000	II
	2000	III en IV
	4000	III en IV
30	1000	II
	2000	III
	5000	IV
2	0	I
	4000	I

Wat betreft de evaluatie-criteria voor groei bleek de droge stof-bepaling bij deze proef niet geschikt te zijn: er werden geen verschillen genoteerd bij verschillende concentraties. De lengte (afmetingen) van de plant kan dan weer wel als indicator dienen maar extra experimenten met meer concentraties en blootstellingperiodes zijn nodig om te kunnen veralgemenen. (Dandrieux et al., 2001).

Daarnaast is het reeds langer bekend dat blootstelling van planten aan verhoogde concentraties ammoniak, leidt tot een verhoogde vorstgevoeligheid. Dit werd voor het eerst opgemerkt bij bomen in de omgeving van varkensstallen. Onder normale omstandigheden gaan planten uit gematigde en koude klimaten een aantal veranderingen ondergaan om de lage temperaturen gedurende de winter te overleven. Zo gaat de plant over tot bepaalde veranderingen in de samenstelling van celmembranen en tot het accumuleren van suikers, aminozuren en eiwitten. Ammoniak in de lucht zou dit afhardingsproces op het einde van het groeiseizoen op verschillende manieren remmen. De invloed van  $\text{NH}_3$  op het afhardingsproces werd door Clement (1996) bij twee plantensoorten onderzocht:

#### a. Studie van wintertarwe:

Het gebruik van wintertarwe als proefplant is te verklaren door de uitgebreide kennis die reeds verzameld is rond afharding bij dit gewas en door de gemakkelijke opkweek en vermenigvuldiging. Algemeen bestond de proef erin om de planten, na opkweek, over te brengen in speciale begassingstonnen waaraan ammoniak kon worden toegevoegd en ze af te harden door de temperatuur in de tonnen te verlagen tot 4 °C en de daglengte te verkorten tot 8-10 uur. Daarna werd de groei en N-huishouding bestudeerd.

Vooraf werden gedurende twee weken de groeiomstandigheden van het einde van het groeiseizoen voor het gewas nagebootst: een dagtemperatuur van 18.5 °C, gecombineerd met een nachttemperatuur van 15 °C, maar wel opnieuw met blootstelling aan ammoniak. Tijdens deze omstandigheden bleek de plant een deel van de ammoniak uit de lucht op te nemen en in droge stof om te zetten onder vorm van eiwitten. Deze extra stikstofopname (via de huidmondjes) ging echter gepaard met een even grote afname in stikstofopname via de wortels. Op die manier bleef het totale N-gehalte in de plant min of meer constant. Bij nog hogere dosissen ammoniak was de afname in nitraatopname via de wortels ontoereikend en steeg het totale N-gehalte in de plant. In beide gevallen ging dit niet gepaard met een afname in het

suikergehalte in de plant en dat terwijl verhoogde inbouw van ammoniak een verhoogd suiker- en energieverbruik veronderstelt. Dit is te verklaren door de verhoogde fotosynthese (en CO<sub>2</sub>-inbouw) bij aan ammoniak blootgestelde planten.

In de afhardingsfase zelf, bleek de NH<sub>3</sub>-inbouw zelf voor een stuk te worden geremd door de heersende lagere temperaturen. Dit resulteerde in accumulatie van ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) en aminozuren in het blad van de plant. Simultaan daalde het suikergehalte in de plant als gevolg van energieverbruik voor omzetting van stikstof naar eiwitten terwijl de suikerproductie al stil lag. Bij dergelijke lage temperaturen stopt het fotosyntheseprocess immers nagenoeg volledig.

De vorstgevoeligheid werd dan weer onderzocht op verschillende tijdstippen tijdens de afhardingsfase en op bladmonsters, onderworpen aan temperaturen van 4 °C tot -20 °C of lager. Voor de meting zelf werd de gemakkelijk te standaardiseren meetmethode van chlorofyl fluorescentie meting gehanteerd.

Clement (1996) kwam tot het besluit dat ondanks de grove fysiologische veranderingen in de plant als gevolg van ammoniak, wintertarwe geen nadelige invloeden bleek te ondervinden van blootstelling, weliswaar gedurende en relatief korte tijd.

**b. Studie van de grove den:**

Bij het tweede onderzoek werd voor de grove den gekozen, daar uit vorige studies de vorstgevoeligheidsverhoging door ammoniak bij deze soort reeds was bewezen. Nadelen van deze proefplant voor onderzoek, zijn de moeilijke opkweek en trage groei.

In eerste instantie werd gewerkt met 6 weken oude zaailingen, die een zelfde behandeling kregen als beschreven bij wintertarwe. Dit leidde tot analoge resultaten: ammonium- en stikstofgehalte stegen sterk terwijl het suikergehalte in de plant nagenoeg constant bleef door de stijgend fotosynthese en een toename in de chlorofyl a-hoeveelheid. Toch was opnieuw geen verhoging in vorstgevoeligheid bij deze zaailingen waarneembaar.

Dit was even min het geval bij proeven op 3 jaar jonge planten.

Zelfs bij dennenboompjes van 5 jaar oud bleek uit experimenten met begassing (van september tot april) in open begassingstonnen ('open top kamers' in het vrije veld) er geen verband te bestaan tussen de ammoniakconcentratie en de vorstgevoeligheid.

In dit onderzoek (Clement, 1996) kwam men tot de conclusie dat een verhoogd NH<sub>4</sub><sup>+</sup>- of stikstofgehalte in de plant niet direct leidt tot een verhoging van vorstgevoeligheid. Dit besluit werd trouwens bevestigd door de resultaten van veldexperimenten met 20 tot 30 jaar oude bomen in streken gekenmerkt door een sterke ammoniak luchtvervuiling. Daaruit bleek immers dat alleen naalden ouder dan een jaar een verhoogde vorstgevoeligheid vertoonden. Bij de jonge naalden, gevormd tijdens het voorbije groeiseizoen, was er geen verschil in gevoeligheid

en dit terwijl men in zowel oude als jonge naalden verhoogde stikstofconcentraties constateerde. Wel noteerde men –als enige verschil tussen jonge en oude naalden- een ernstig verstoorde nutriëntenbalans bij de laatste. Vooral lage kaliumconcentraties vielen hier op. Dit kan op zijn beurt voor een remming of inhibitie zorgen van de biosynthese van bepaalde essentiële eiwitten of enzymen, nodig voor bescherming tegen vorst. Hierin ligt mogelijk een verklaring voor verhoogde kans op vorstschade, maar dan alleen bij de oudere naalden. Afwezigheid van het negatief effect bij de jonge planten is dus hoogstwaarschijnlijk het gevolg van de aanwezigheid van voldoende nutriënten en een te korte behandelingsduur.

Van der Eerden et al. geciteerd in: Bobbink et al. (1998) kwamen tot analoge conclusies bij heideplanten (*Calluna vulgaris* en *Erica tetralix*) en zagen dit als mogelijke oorzaak voor de achteruitgang van het heidebestand in Europa. Het onderzoek werd gestart als respons op de zware vorstschade bij heideplanten na een aantal strenge winters in Nederland medio de jaren '80. De studie correleerde deze schade aan atmosferische stikstof aangezien al bekend was dat deze vooral bladweefsel aantast en heideplanten jaarrond hun bladerdek behouden. Bovendien noteerden ze verhoogde N-concentraties in het blad. Fumigatie van *C.vulgaris* met ammoniak ( $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) in een gesloten ruimte gedurende 4-7 maanden bleek geen invloed te hebben op de gevoeligheid voor herfstvorst. De schade in februari ( $-12 \text{ }^\circ\text{C}$ ), dus net voor de plantengroei terug start, was aanzienlijk.

Tenslotte heeft men ook uit experimenten kunnen afleiden wat de kritische gehalten aan ammoniak waren voor schade aan gevoelige vegetatie. Bij blootstelling van één maand legt men het kritisch gehalte vast op  $23 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (0.03 ppm), terwijl dit voor continue blootstelling slechts  $8 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (0.01 ppm) bedraagt. Toch meet men vaak waarden in de onmiddellijke omgeving van stallen die kunnen oplopen tot  $30\text{-}60 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (0.04-0.08 ppm) (Ammonia in the UK, 2004).

#### 1.4.4. Besluit

Ammoniak is een corrosief gas dat –zeker in hoge concentraties- toxisch is voor mens en dier. Ook bij de plant is dit in hoge concentraties een giftige stof (directe schade door bladverkleuring en groeiremming) maar bij natuurlijke hoeveelheden speelt het ook een rol als stikstofmest. Toch kunnen er reeds bij deze lage concentraties indirecte schadebeelden optreden door verhoogde vorstgevoeligheid. Dit leidt tot vroegtijdige bladval. Hierbij dient men wel rekening te houden met de duur van de blootstelling, de nutriëntbeschikbaarheid en de algemene gezondheidstoestand van het gewas. In het hieronder beschreven onderzoek zal met deze drie factoren dan ook rekening gehouden worden.

## 2. Ammoniakopname door planten

### 2.1. Algemeen

Alle elementen voeren altijd -op een zeker niveau- een kringloop uit en komen zo op de één of andere manier terug bij hun oorsprong terecht. Op macroniveau (= natuurlijk ecosysteem) -dat nauw samenhangt met de voedselketen- klopt dit volledig en zijn de kringlopen gesloten: autotrofe organismen halen elementen uit de bodemoplossing en zijn in staat daarmee te leven. Op hun beurt dienen ze als voedsel voor het heterotrofe leven en zowel het autotrofe als het heterotrofe leven vormen de bron van leven voor de reducenten die zorgen voor de afbraak van organismen tot -uiteindelijk- elementen die hun weg terug vinden naar de bodem. De kringloop is gesloten en het systeem is in evenwicht.

Als men dan op het niveau van de tuinbouw kijkt, ziet men dat de kringloop onmogelijk gesloten kan zijn. Het gaat om een micro-omgeving die deel uitmaakt van een geheel. Er is afvoer van elementen via de oogst waardoor er, om het leven in stand te houden, ook een import (water, energie, meststoffen...) vereist is.

De plant bezit minstens twee organen waarmee voeding kan opgenomen worden: het wortelstelsel en de bladeren.

#### a. De wortel:

Bij de opname van voeding via de wortels speelt de 'apparent free space' (A.F.S.) of schijnbare vrije ruimte (ook outer space genoemd) een zeer belangrijke rol. Deze ruimte bestaat uit het geheel van wortelharen, wortelepidermiscellen en schorsparenchymcellen (gebied van de worteldoorsnede tussen endodermis en buitenwereld). Hierin gebeurt de passieve opname van water en elementen met de atmosferische vraag naar water als drijvende kracht van dit opnamemechanisme.

De bandjes van Caspary in de endodermis vormen echter een hindernis waardoor voor verdere verplaatsing een ander mechanisme vereist is: actieve (=vraagt energie) absorptie. De 'Carriers-theorie' verklaart hoe de elementen uiteindelijk de endodermis passeren en de 'inner space' (I.S.), of dus de endodermis, hofstippels, stèle en de centrale cilinder, bereiken.

Het carriertransport wordt gekarakteriseerd door:

- beperkte uitwisselbaarheid van de opgenomen ionen: eens de ionen zich in de inner space bevinden, kunnen ze niet meer uit de plant weglekken
- verzadigbaarheid van de ionenopname: vanaf een bepaalde buitenconcentratie stijgt de opnamesnelheid niet meer bij een stijgende ionenconcentratie daar alle carriermoleculen reeds actief zijn
- specificiteit van de ionenopname: zie ionenantagonisme (mineraleninteracties)

(Kiekens, 1999)



b. Het blad:

Niet alle elementen zijn in om het even welke vorm opneembaar door een plantenwortel. Sommige mineralen (bvb. Fe, Mn) kan de plant alleen in gereduceerde vorm opnemen, andere (bvb. Cu) dienen juist geoxideerd te zijn. Dit houdt een voedselbeperking in voor de plant. Daarom kan bladvoeding in bepaalde gevallen een nuttige aanvulling zijn.

Zonder hierop dieper in te gaan, steunt dit voedingsmechanisme van diffusie op het optreden van transpiratie en excretie ter hoogte van het blad.

## 2.2. Ammoniak in de N-cyclus

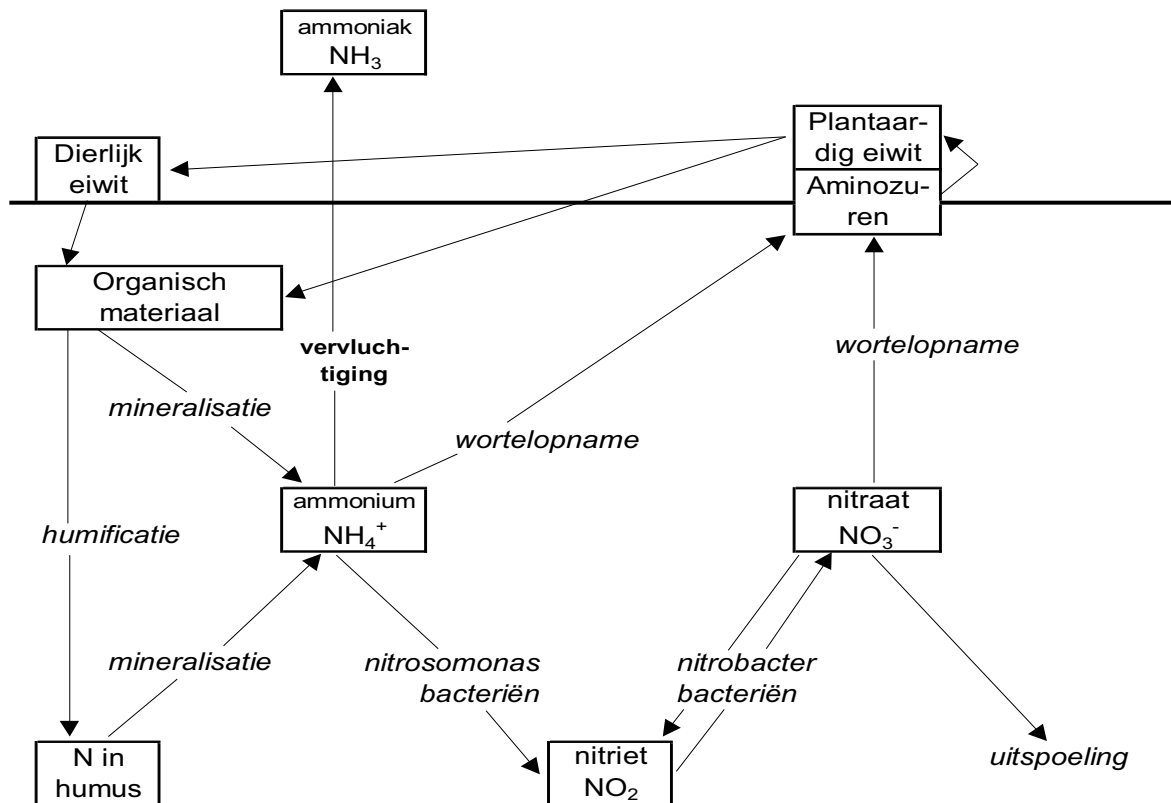
### 2.2.1. Functie van N in de plant

Stikstof vormt een zeer belangrijke component van eiwitten en dus ook enzymen in de plant, via hun bouwsteen aminozuren. Daarnaast is er ook een groot deel van de aanwezige stikstof in de plant terug te vinden in chlorofylmoleculen. Ook heeft het een invloed op de biosynthese van plantengroeieregulatoren (vooral cytokinines). Via deze drie functies is stikstof het belangrijkste voedingselement voor de plant tijdens de vegetatieve groei. Daarnaast is er ook een hoeveelheid stikstof terug te vinden via nucleïnezuren in het DNA en RNA is het nodig voor energielevering (via ATP) en opbouw van voldoende reducerend vermogen (via NADP<sup>+</sup> en NAD<sup>+</sup>). Daardoor krijgt men volgende symptomen bij een gebrek of overmaat aan stikstof:

- Gebrek:
  - o Algemene remming van de eiwitstofwisseling, wat vooral te zien is ter hoogte van de bladeren.
  - o De bloei wordt vervroegd (noodrijping)
  - o Minder chloroplasten aanwezig wat op zijn beurt aanleiding geeft tot chlorose. Aangezien N een zeer mobiel element is in de plant zal een gebrek (vergelijking) eerst op de oudste bladeren en ter hoogte van de nerven te zien zijn.
  - o Verminderde vegetatieve groei
  
- Overmaat:
  - o Explosieve vegetatieve groei met grotere cellen. Dit veroorzaakt ook een grotere gevoeligheid voor ziekten en plagen
  - o Lager suikergehalte wegens de grotere energiekost voor een grotere stikstofinbouw.

## 2.2.2.N-cyclus

Ammoniak is een vorm van stikstof en maakt dus deel uit van de N-cyclus voor de plant:



Figuur 8: N-cyclus.

De stikstofkringloop bevat verschillende posten waarbij enerzijds stikstof verloren gaat (OUTPUT) en anderzijds stikstof aanvoer (INPUT) geschiedt (tabel 5).

Tabel 5: In- en output van de N-kringloop.

INPUT	OUTPUT
a) Mineralisatie	e) N-vastlegging
b) Biologisch $\text{N}_2$ -binding	f) Denitrificatie
c) Atmosferische neerslag/depositie	g) Ammoniak vervluchtiging
d) Bemesting	h) Nitraatuitspoeling
	i) Export door oogst

### a. Mineralisatie

Dit is de omzetting van organische stikstof tot minerale stikstof en deze bestaat uit drie stappen:

- In eerste instantie worden organische N-verbindingen via proteolyse en aminisatie afgebroken tot aminozuren ( $\text{R-NH}_2$ ).

- Ammonificatie: aminozuren worden onder invloed van micro-organismen omgezet tot ammonium:  $R-NH_2 + H_2O \rightarrow NH_3 + R-OH + \text{energie}$
- Nitrificatie: de biologische oxidatie van ammonium tot nitraat door chemo-autotrofe bacteriën verloopt in twee deelstappen:
  - o  $NH_4^+ + \frac{3}{2}O_2 \xrightarrow{\text{Nitrosomonas}} NO_2^- + 2H^+ + H_2O$
  - o  $NO_2^- + \frac{1}{2}O_2 \xrightarrow{\text{Nitrobacter}} NO_3^-$

Nitrificatie wordt geremd door een lage pH, zuurstoftekort en bepaalde pesticiden en zware metalen.

#### b. Biologisch N<sub>2</sub>-binding

Er bestaan twee soorten van fixatie:

- Asymbiotische N<sub>2</sub>-binding: vrijlevende micro-organismen zetten N<sub>2</sub>-om in ammonium maar voor deze reductie vereisen ze energie. Bij de Cyanobacteriën wordt licht als energiebron gebruikt, bij andere (*Azotobacter* spp., *Clostridium* spp. ...) wordt de noodzakelijke energie gehaald uit afbraak van koolstofverbindingen. Op die manier kan er jaarlijks tot 10 kg N/ha gefixeerd worden.
- Symbiotische N<sub>2</sub>-binding: deze reactie treedt alleen bij Leguminosen op in symbiose met *Rhizobium*. Dit kan jaarlijks tot 200 kg N/ha opleveren.

#### c. Atmosferische neerslag/depositie

Ook deze vorm van input is niet te verwaarlozen. Zo valt er in Vlaanderen –zowel onder natte als droge vorm- ongeveer 40 kg N/ha uit de lucht.

#### d. Bemesting

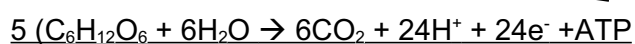
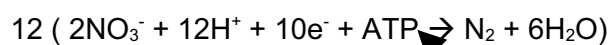
Dit is de belangrijkste post van stikstof-input en het bemesten kan onder minerale of organische vorm gebeuren.

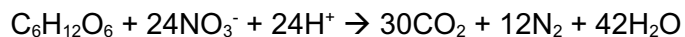
#### e. N-vastlegging

De grootte van deze immobilisatie van stikstof is een functie van de C/N verhouding van het aanwezige of toegediende organische materiaal in de bodem. Deze vastlegging is van tijdelijke aard door inbouw in de microbiologische biomassa.

#### f. Denitrificatie

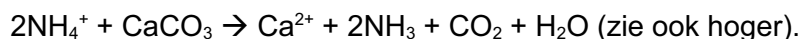
Dit is de omzetting in anaërobe omstandigheden van nitraat tot vluchtige N-verbindingen door aërobe C-heterotrofe micro-organismen. Bij afwezigheid van zuurstof fungeert NO<sub>3</sub><sup>-</sup> als e<sup>-</sup>-acceptor in plaats van O<sub>2</sub>. deze reactie gaat gepaard met verbruik van protonen en dus een stijging van de bodempH:





g. Ammoniak verfluchtiging

Hoe hoger de pH, hoe meer kans op ammoniakverfluchtiging. Op kalkbodems heeft men in hoge mate de volgende reactie:



h. Nitraatuitspoeling

Nitraatuitspoeling treedt op wanneer de input van water via neerslag groter is dan de output via verdamping en kan gedefinieerd worden als de afvoer van nitraat tot beneden de diepte waar afname door het gewas gebeurt. Uitspoeling zal dus vooral in het najaar en de winter optreden en afhankelijk zijn van de bewortelingsdiepte van het gewas.

i. Export door oogst

Een deel stikstof en andere nutriënten gaat verloren uit het perceel via afvoer van de oogst. (Baert, 2003).

Samengevat zijn er dus 3 mechanismen waardoor ammonium de bodempH doen zakken:

- Nitrificatie
- De vrijstelling van protonen na opname en assimilatie van ammonium door het gewas
- De neerslag van ammonium onder vorm van het sulfaat-zout.

## 2.2.3.N-opname

### 2.2.3.1.Algemeen

De plant kan stikstof als voedingselement uit de bodem of uit de omringende atmosfeer halen. Wanneer het om stikstof in lucht gaat, kan die alleen in gasvormige toestand voorkomen, dus als  $\text{NH}_4^+$  en  $\text{N}_2$ .  $\text{N}_2$  is alleen van belang als nutriënt bij Leguminosen (zie 2.2.2 N-cyclus). In de bodem zijn de belangrijkste vormen van stikstof nitraat en ammonium. Daarbij wordt ammonium door de bacterie Nitrosomonas omgezet naar nitriet wat op zijn beurt door Nitrobacter wordt omgezet in nitraat. Daarnaast komen ook grote hoeveelheden stikstof voor onder organische vorm (plantenresten, microbiële biomassa, toegediende mest ...).

Belangrijk is ook om aan te halen dat het gedrag van ammonium en nitraatstikstof in de bodem sterk verschilt wegens hun verschil in lading. De bodemdeeltjes zijn algemeen genomen

negatief geladen waardoor het positieve ammonium veel minder gevoelig is voor uitspoeling dan nitraat.

Het voorkomen van vrije ammoniak in de bodem is het resultaat van dissociatie uit ammonium volgens de reactie:  $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$

Deze reactie kan alleen doorgaan bij voldoende hoge pH.

Vrij  $\text{NH}_3$  dringt zeer makkelijk de wortel binnen maar is voor de stofwisseling van de plant giftig. Het is dan voor de plant belangrijk zo snel mogelijk  $\text{NH}_3$  te binden op aminozuren om aldus voor een detoxificatie te zorgen.

### 2.2.3.2. Stikstof- en ammoniakopname door de wortels

De plant is normaal gezien in staat om 2 hoofdvormen van stikstof via zijn wortelstelsel op te nemen, namelijk nitraat  $\text{NO}_3^-$  en ammonium  $\text{NH}_4^+$  (en  $\text{NH}_3$ ). Bepaalde plantensoorten (Leguminosen of vlinderbloemigen) kunnen ook stikstof opnemen onder vorm van  $\text{N}_2$  maar dit veronderstelt de aanwezigheid van de symbiotische *Rhizobium*-bacteriën.

De N-opname door de wortel wordt bepaald door (1) de concentratie aan nitraat en ammonium in de bodemoplossing, maar ook door (2) de wortelmassa en (3) de wortelactiviteit.

#### a. Wortelmassa

De wortelmassa hangt af van de leeftijd van de plant, zijn genotype en milieufactoren.

De stikstofopname is slechts moeilijk te achterhalen wanneer men louter op de wortelmassa afgaat. Verschillende auteurs (Drew & Saker 1975, Burns 1990) konden bewijzen dat vermindering van de wortelmassa met één derde tot zelfs één tiende geen effect had op de totale N-opname door de plant. Vandaar dat voor de bepaling van opname een tweede factor wordt gebruikt. (Buysse, 1996)

#### b. Wortelactiviteit

Het begrip wortelactiviteit kan gedefinieerd worden als “[...] de opnamesnelheid voor nutriënten per eenheid worteloppervlakte [...]” (Buysse, 1996).

Ammonium en nitraat worden door de plant opgenomen via twee verschillende opnamesystemen maar er zijn wel aanwijzingen dat beide systemen door een gemeenschappelijk feedback-mechanisme worden geregeld.

Nitraattransport in de wortel is door het elektrisch potentiaalverschil een actief proces (via carriers) waardoor het ook afhankelijk is van protonenpompen. Deze pompen worden op hun beurt geregeld door verschillende kinase-enzymen die zelf afhankelijk zijn van calcium- en calmodulinconcentraties in de cel. De meeste carriers zijn tot op heden nog niet geïsoleerd maar dankzij vooruitgang in de moleculaire biologie werd in '93-'94 door Tsay & al. en daarna door Clarkson & Hawkesford, een nitraatcarrier gekarakteriseerd. Toch blijft de meeste kennis rond nitraatcarriers een resultaat van onrechtstreeks onderzoek en is bijgevolg heel vatbaar voor verkeerde interpretaties (Buysse, 1996).

Verder is er een duidelijke voorkeur waargenomen van de plant voor opname van nitraatstikstof boven ammoniumstikstof. De reden hiervoor is tweevoudig:

- Allereerst valt de fysiologisch zure werking van  $\text{NH}_4^+$ -stikstof aan te halen, waardoor de pH in de rhizosfeer sterk kan dalen. Dit geeft op zijn beurt weer aanleiding tot wortelbeschadiging (gepaard gaande met inhibitie van de mycorrhiza-groei) enerzijds en een te hoge oplosbaarheid en opneembaarheid van de nutriënten Al en Fe anderzijds. Dit laatste fenomeen is fytotoxisch.
- Daarnaast zorgt de verhoogde concentratie aan  $\text{H}^+$ -ionen ook voor een verminderde opname van  $\text{K}^+$ -,  $\text{Ca}^{2+}$ - en  $\text{Mg}^{2+}$ -ionen. Vooral een tekort aan het laatste ion zou verantwoordelijk zijn voor bladschade op termijn.

Over het algemeen zijn zuurminnende planten beter bestand tegen ammonium dan kalkminnende. Ook worden de grootste groeisnelheden bij planten alleen bereikt bij een combinatie van beide N-vormen. Doordat ammonium snel en uitsluitend in het wortelstelsel geassimileerd moet worden (nitraat wordt meestal in de bladeren omgezet), wordt een grote aanslag gepleegd op de daar aanwezige suikers. Onder bepaalde omstandigheden kan dit leiden tot een beperkende voorziening met koolhydraten van het wortelstelsel en hieruit volgende wortelsterfte. Omstandigheden die het negatief effect van ammoniumvoeding versterken zijn:

- Hoge bodemtemperatuur
- Extreme uitspoeling (relatief aandeel ammonium-N stijgt)
- Hoge opname
- Lage fotosynthese (=> minder suikers naar de wortels).

(Kafkafi, 1990).

### 2.2.3.3. Ammoniakopname via het blad

Planten kunnen ook rechtstreeks stikstof opnemen uit de atmosfeer via hun bovengrondse plantendelen, maar dan gaat het alleen om het gasvormige  $\text{NH}_3$ . Deze opname verloopt proportioneel met de aanwezige concentratie in de omgevingslucht tot een bepaalde maximumwaarde bereikt wordt (ammoniak-compensatiepunt). De reden hiervoor is dat de drijvende kracht voor ammoniakopname gevormd wordt door de concentratiegradient aan ammoniak tussen de atmosfeer en de mesofyle ruimte. Verder is er een relatie vastgesteld tussen de ammoniakopname enerzijds en de algemene voedingstoestand van de plant, de omgevingsvoorwaarden en de fysico-chemische eigenschappen van ammoniak anderzijds. Hoewel de cuticula wel permeabel is voor water en bepaalde gassen, is ze zeer weinig permeabel voor ammoniak; slechts 3% van de ammoniakdepositie op het blad wordt effectief geabsorbeerd door de plant. De opname zelf geschiedt via de stomata waarna het snel wordt omgezet in het fysiologisch actieve ammonium. Dit is het gevolg van de goede oplosbaarheid van ammoniak in de waterfilm op het oppervlak van de mesofylcellen. De stikstof wordt aldus

onder vorm van ammonium verplaatst naar de chloroplast waar het geassimileerd wordt in het GS/GOGAT enzymatisch systeem (glutamine synthetase/glutamaat). Hierna kan dit als nutriënt dienen door inbouw in aminozuren. Atmosferische N kan dus de biomassa van planten verhogen. Dit proces dient toch in eerste instantie als detoxificatieproces gezien te worden dat optimaal werkt bij voldoende fotosynthetische activiteit en tijdens de groei. (Dandrieux et al., 2001).

Te hoge  $\text{NH}_3$ -concentraties verstoren duidelijk het normale metabolisme. Opname van  $\text{NH}_3$  moet immers gecompenseerd worden met een verminderde opname van andere voedingsstoffen. Dit is minder uitgesproken bij opname van gasvormige  $\text{NH}_3$  via de wortels. Aldus zal er vooral een tekort ontstaan aan bijvoorbeeld kalium, magnesium en calcium met fysiologische verstoringen als gevolg bij bladopname (Dandrieux et al., 2001).

Een verhoogde concentratie van ammoniak in de atmosfeer leidt ook tot veranderingen in de epidermis van de planten. Zo blijkt dit enerzijds ervoor te zorgen dat het aantal stomata en hun grootte afneemt als morfologische reactie van de plant om de ammoniakale diffusie binnen de perken te houden. Anderzijds neemt -relatief gezien- de diameter van de stomatale opening toe, wat leidt tot een verhoogde transpiratie van de plant. Verwelking van de plant is meestal het eerste symptoom van ammoniakblootstelling (Khan & Khan, 1995 geciteerd in: Dandrieux et al., 2001).

De opname van atmosferische ammoniak, of toch een deel ervan, door de plant werd ondubbelzinnig bewezen door Ping et al. (2000). Eerder had Sommer et al. (1993), geciteerd in: Ping et al. (2000) aangegeven dat 2.2% van de ammoniak die uit mest vervluchtigt naar de atmosfeer, in de bladeren van wintertarwe terecht kwam. Toch was de aanwezigheid van vluchtige stikstof uit ureum in het gewas nog niet proefondervindelijk vastgesteld. Het doel van het onderzoek van Ping et al. (2000) was de hoeveelheid geabsorbeerde  $\text{NH}_3$  bepalen in wintertarwe (*Aestivum sativum* L. var. 'Katepwa'), die vrijkomt uit oppervlakkig toegediend ureum. Deze proef werd uitgevoerd door  $^{15}\text{N}$ -verrijkt ureum toe te passen onder veldomstandigheden en (1) het aandeel van de ureum-N te meten dat in grond bleef en (2) het deel bepalen dat geabsorbeerd werd door het tarwegewas.

$^{15}\text{N}$ -verrijkt ureum werd op twee verschillende tijdstippen in de gewasontwikkeling oppervlakkig toegediend op de bodem in een dosis van 100 kg N/ha tussen de potten tarwe in. Zeven dagen na toepassing werden er bodemstalen genomen, die geanalyseerd werden op de aanwezigheid van  $^{15}\text{N}$ . Hierbij was toevoeging van HCl vereist tijdens het ovdroog maken van de stalen om  $^{15}\text{N}$ -vervluchtiging te voorkomen. Hieruit kon men de  $^{15}\text{N}$ -fractie bepalen die vervluchtigde. Zoals verwacht bleek de ammoniakvervluchtiging het sterkst te zijn in de eerste drie à vier dagen na toediening.

Plantenmonsters werden zeven dagen na de bodemmonsternamen (of dus na het wegnemen van de N-bron) genomen. Ze bestonden uit de bovengrondse plantendelen en werden gedroogd bij 70 °C. Uiteindelijk werd ook hier de totale N-concentratie en de  $^{15}\text{N}$ -overmaat bepaald via een massaspectrometer (VG Optima) verbonden met een C/N analyser (Carlo

Erba™, Milan, Italy). Het verlies aan  $^{15}\text{NH}_3$  tijdens het drogen is niet geheel verwaarloosbaar maar men mag aannemen dat het om zeer kleine hoeveelheden gaat, daar bekend is dat planten nutriënten zoals  $\text{NH}_3$  en  $\text{NO}_2$  via het blad zeer snel metaboliseren.

Van de hoeveelheid ureum-N die vervluchtigde, werd 15% geabsorbeerd door het blad van wintertarwe bij de eerste toediening en 7% bij de tweede (tabel 6). Bovendien bleek de plantenopname van ureum af te nemen met de afstand tot de N-bron: ongeveer 90% van de geabsorbeerde ammoniak werd opgenomen door de eerste drie rijen.

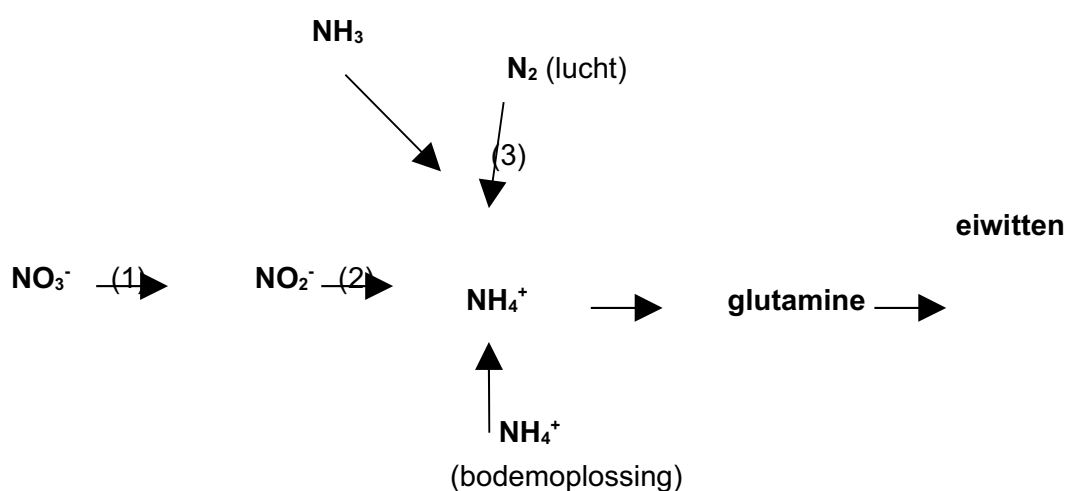
Tabel 6: Vervluchtiging en bladopname van ureum ( $^{15}\text{N}$ -verrijkt)

Toedienings- periode	Toegediend ureum	Residueel ureum	Vervluchtigd ureum		Teruggewonden ureum in gewas	
			mg N/plot	% van toegediend	mg N/plot	% van vervluchtigd
30/jun	1508	1319	189	12.5	29.1	15.4
29/jul	1554	1349	205	13.2	14.8	7.2
Gemiddelde	1531	1334	197	12.9	22.0	11.3

Windkracht en -richting beïnvloeden zeker het ammoniak absorptiepatroon maar werden in deze proef niet onderzocht. Men kan hier dus tot het besluit komen dat bladabsorptie van ammoniak zeker in rekening dient te worden gebracht om overschattingen te voorkomen van N-vervluchtiging in bodem-plant systemen.

## 2.2.4. Verwerking van ammoniak

Na opname van stikstof onder één van de verschillende vormen, ondergaat het een aantal verdere reacties in de plant volgens figuur 8:



Figuur 9: N-omzettingen in de plant.

Met als enzymen:

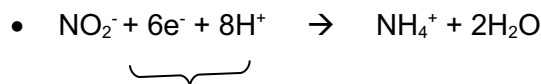
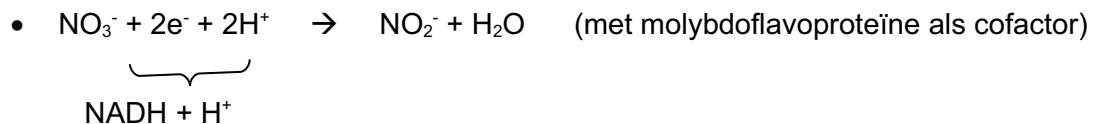


- (1) Nitraatreductase
- (2) Nitrietreductase
- (3) Nitrogenase bij Leguminosen

Omzetting (1) is limiterend ten opzichte van omzetting (2). Op die manier voorkomt de plant de aanwezigheid van het toxische nitriet.

Via dit schema kan men afleiden dat alleen ammonium fysiologisch actief is voor de plant en nitraat alleen voorkomt in de plant als een vorm van stikstofopslag.

Omzetting (reductie) van opgenomen stikstof naar fysiologisch actieve stikstof gebeurt via twee deelprocessen:



Ferredoxine Fd( $\text{Fe}^{2+}$ ): - primaire acceptor van fotosysteem I  
 - ijzer-, zwavelhoudend eiwit

De hoeveelheid ferredoxine in gereduceerde toestand is afhankelijk van de fotosynthese en zo is ook de nitraatreductie in de plant lichtgevoelig.

Beïnvloedende factoren op de nitraat assimilatie zijn:

- Fysische voorwaarden:
  - Licht: minder licht doet het gehalte aan nitraat stijgen wegens onvoldoende beschikbaar reducerend vermogen (afkomstig van de fotosynthese).
  - $\text{CO}_2$ -concentratie: minder  $\text{CO}_2$  doet het gehalte aan nitraat stijgen om dezelfde reden.
  - Droogtestress: hoe meer droogtestress, hoe hoger de  $\text{NO}_3^-$ -gehalte wegens de gevoeligheid van bepaalde enzymen.
  - Temperatuur: hogere temperaturen doet het gehalte aan nitraat dalen door stimulatie van de fotosynthese.
  - Seizoenen: in de winter is er meer nitraataccumulatie om zelfde voorgaande redenen. Ook bezit de plant in deze periode minder suikers (door de lagere fotosynthetische activiteit) en treedt  $\text{NO}_3^-$  meer op de voorgrond als osmoticum in plaats van suikers (onderling verwisselbaar).
- Bemesting:
  - Dosis: hoe hoger de dosis, hoe hoger de nitraataccumulatie maar dit effect is vooral in de zomer waar te nemen. In de winter treedt licht op als limiterende factor.
  - Chemische vorm:
    - Snelwerkende nitrische bemesting doet  $\text{NO}_3^-$ -gehalte stijgen.
    - Slow-release ammoniakale bemesting doet  $\text{NO}_3^-$ -gehalte dalen.

- Molybdeen en zwavel tekort: leidt tot een gebrek aan nitraat- en nitrietreductase en doet bijgevolg de nitraataccumulatie toenemen
  - $K^+$ -overmaat: doet eveneens het  $NO_3^-$ -gehalte stijgen. Dit heeft te maken met de ionenbalans en de neiging van de plant om elektronenneutraliteit te bewaren.
  - Mangaangebrek: doet het  $NO_3^-$ -gehalte stijgen. De reden dient gezocht worden in de aanwezigheid van Mn in de primaire donor van Fotosysteem II. Gebrek aan deze donor veroorzaakt remming van de fotosynthese en minder reducerend vermogen.
  - Kopergebrek: leidt ook tot meer nitraat in de plant daar koper nodig is voor het plastocyanine, de primaire donor van Fotosysteem I.
  - Chloorovermaat: doet het  $NO_3^-$ -gehalte dalen wegens het antagonisme van  $Cl^-$  en  $NO_3^-$ : Chloor neemt de rol over van nitraat als osmoticum.
- Teelttechnisch:
- Plant- en rijenafstand: hoe groter, hoe meer licht de plant bereikt met bovengenoemde gevolgen als resultaat (nitraat daalt).
  - Herbicidegebruik: sommige herbiciden werken in op de vorming van reducerend vermogen (nitraatgehalte stijgt).
  - Soort en variëteit: genetische verschillen bekomen via veredeling.
  - Oogsttijdstip:
    - Afname van de nitraathoeveelheid aanwezig in de plant in functie van de tijd.
    - 's Morgens is er een hogere concentratie aanwezig dan 's avonds (onder invloed van het licht).
    - In de buitenste bladeren bevindt zich altijd het meeste nitraat.

(Baert, 2003)

# 3. Ammoniakmetingen

## 3.1. Inleiding

Het waarnemen van een geur of de sterkte ervan kan in bepaalde gevallen interessant zijn. Zo kan de geur bij afvalwater of compost een maat zijn voor de biologische activiteit of de rijpheidsgraad. Via olfactometrie kan men nu concentratie van een gas in de lucht linken aan een geuremissie en –sterkte (uitgedrukt in geureenheden per m<sup>2</sup> per uur). Pain et al. (1987) vonden via een onderzoek, met als doel de geurhinder in te perken, een sterke correlatie tussen ammoniakemissie en geur. Voorgaande experimenten bleven beperkt tot indirecte metingen en laboratoriumonderzoek. In dit onderzoek werd echter een methode gebruikt om ammoniakale verliezen te meten in veldomstandigheden en dit via vervluchtiging gebaseerd op een systeem van windtunnels. Het systeem bestond uit vier luifelvormige tunnels, gemaakt van plasticfolie met een grondvlak van 2.0 x 0.5 m en een hoogte van 0.45 m. Dit werd verbonden met een buis die een ventilator met instelbare snelheid en een anemometer bevatte. Via deze constructie was het mogelijk de luchtsnelheid onder de luifel te regelen binnen een range die normaal voorkomt in veldomstandigheden. Daarnaast kon men ook het passerende luchtvolume, de bodem- en luchttemperatuur registreren. De drie belangrijkste onderdelen van het experiment waren:

a. De ammoniakmeting:

Een membraanpomp stuwde lucht (5 l/min) doorheen absorptiebuisjes, waarbij de ammoniak reageerde met het erin aanwezige orthofosforzuur in een concentratie van 0.005 M. Deze reactie gebeurde in aanwezigheid van indofenol blauw als indicator en de mate van verkleuring vormde een maat voor de ammoniakconcentratie. Het verschil in verkleuring veroorzaakt door enerzijds de inkomende en anderzijds de uitgaande luchtstroom, gold als blancobepaling (meting van de achtergrond interferenties).

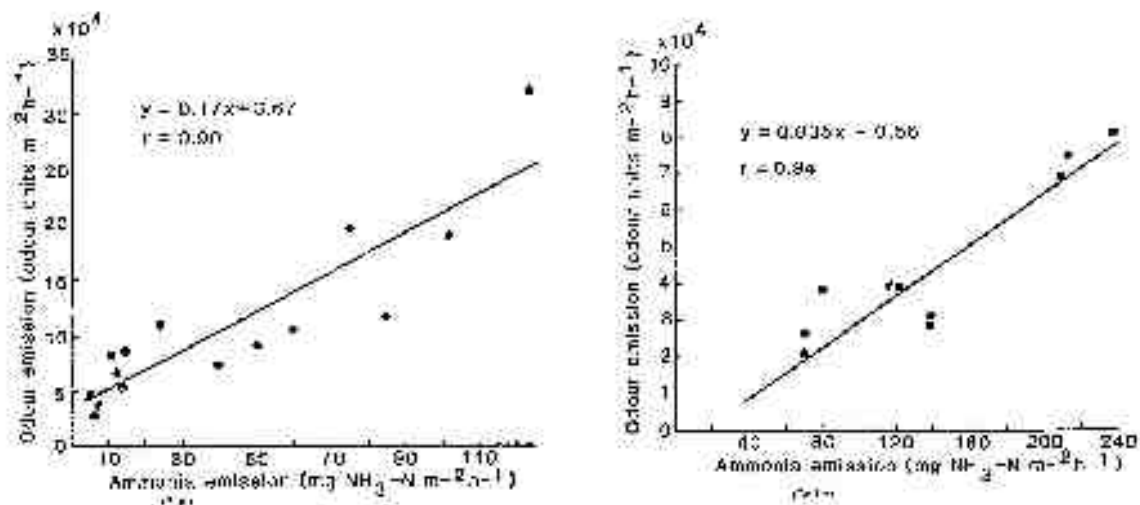
b. Het verzamelen van geurstalen:

De geurmonsters werden verzameld in 50 L Tedlar-zakken (polyvinyl fluoride) via een mondstuk bevestigd in de ventilatorbuis. Op deze manier werden de zakken in 4 tot 5 minuten gevuld.

c. De geurmeting:

Kort na het verzamelen, werden de monsters beoordeeld via de methode van Bedbrough (1980). Hierbij verdunde men dus de monsters met zuivere lucht en ging men na tot welke verdunning men nog juist kon gaan zodat nog steeds 50% van de proefpersonen een geur waarnemen. Tenslotte werden de geureenheden berekend als product van de drempelwaarde en het volume lucht dat door de tunnels gestuurd werd.

In experimenten met varkens- en rundermest bleek er een positief lineair verband te bestaan tussen de geurmeting en de ammoniakemissie. Vooral bij rundermest was ammoniak een significante component van de geur (figuur 10).



Figuur 10: relatie tussen geur en ammoniak emissie bij rundermest en varkensmest.

Hoewel ammoniak zeker een belangrijke determinerende component is voor de geur, maakt het er slechts een onderdeel van uit. Dit bleek ook uit de variabele resultaten bij voorgaande experimenten (Pain et al., 1987).

Daarnaast moet men er ook rekening mee houden dat de geur drempelconcentratie voor ammoniakwaarneming met de neus kan oplopen tot ongeveer 17 ppm ( $11900 \mu\text{g}/\text{m}^3 = 0.0119 \text{ mg}/\text{l}$ ) bedraagt. De neus is uiteindelijk ook geen nauwkeurig instrument daar er voor ammoniak een vrij brede subjectieve range bestaat. Voorzichtigheid is dus geboden als men louter op geurdetectie via de neus afgaat. Ter illustratie van de variatie in geurdrempelwaarden voor ammoniak via geurdetectie, werd ook nog de geurdrempelwaarden volgens verschillende auteurs in tabel 7 opgenomen:

Tabel 7: geurdrempelwaarden voor NH<sub>3</sub>.

Auteur	Geurdrempelwaarde ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
Devos et al. (1990)	4074
Weckhuysen et al. (1994)	2700

Vandaar dat er verder ook een korte beschrijving van toestellen voor NH<sub>3</sub>-concentratie bepalingen werd opgenomen.

## 3.2.Meetapparatuur

### 3.2.1.Ammoniakmeter type MSA AUER Gastester® II H

Meting van ammoniakconcentraties via dit type (proefbuisjespomp) is gebaseerd op een karakteristieke verkleuring van het gastestbuisje nadat een aantal vereiste pompslagen zijn uitgevoerd. De lengte van de verkleuring is een indicatie voor de concentratie van ammoniak of een andere gevaarlijke stof.

In het geval van de gastester II H wordt er bij elke pompslag 100 ml gas of lucht door het testbuisje geperst. De balgpomp is voorzien van een teller die het aantal slagen bijhoudt. De duur van een slag van de pomp bedraagt 15 tot 30 seconden. Door de constructie



Figuur 11: Ammoniakmeter type MSA AUER Gastester® II H.

en het ergonomische ontwerp ervan zijn zeer reproduceerbare resultaten en grote aantallen opeenvolgende metingen mogelijk. Elk gas vereist specifieke proefbuisjes en in het geval van ammoniak zijn er twee buisjes voorhanden met elk een ander meetbereik:

- 100 tot 600 ppm bij twee slagen van de pomp.
- 2 tot 80 ppm bij tien slagen van de pomp.

Het indicatiesysteem (verkleuring) bij ammoniak bestaat uit een kleuromslag in het buisje van geel naar blauw als gevolg van een verandering in de pH.

(Vanoverbeke, 2004)

### 3.2.2.Ammoniakmeter type iTX Multi-gas Monitor type 304

In feite gaat het hier niet om een ammoniakmeter maar om een multi-gasmeter. Het toestel is vooral geschikt voor het meten van gevaarlijke stoffen in fabriekslucht. Hierbij kunnen tot zes gassoorten tegelijkertijd gemeten worden. Op die manier kan de veiligheid voor werknemers gegarandeerd worden. Mits aanpassing van de sensor van het toestel is één van die gassen ammoniak. Voor nauwkeurige metingen zijn hier echter wel beperkingen (zie tabel 8). Zo blijkt het het best om de meetcel constant onder stroom te houden (en dus het toestel zoveel mogelijk in de lader te laten zitten). Dit zal de leefbaarheid en de meetnauwkeurigheid van de ammoniaksensor positief beïnvloeden aangezien de cel weg reageert bij hoge concentraties

ammoniak in afwezigheid van spanning over de cel. De case van dit toestel is gemaakt van roestvrij staal en meet 121x81x43 mm met een gewicht (inclusief de lithium ion batterij) van 525 g. Er is een herlaadbare batterij voorzien voor de mobiliteit van het toestel. De werking van de sensor (type) is afhankelijk van het te meten gas en is gebaseerd op katalytische diffusie of op elektrochemische reacties.



Figuur 12: De iTX Multi-gas Monitor.

Tabel 8: Meetbereik van de iTX Multi-gas Monitor.

Soort gas	Meetbereik
LEL	50 ppm-100% LEL (Lowest Exposure Level voor een mix van mogelijk explosieve gassen).
CH <sub>4</sub>	0-5.0% CH <sub>4</sub> met 0.1% schaalverdeling
O <sub>2</sub>	0-30.0% O <sub>2</sub> met 0.1% schaalverdeling
CO, H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S, NO, CO/H <sub>2</sub>	0-999 ppm met 1 ppm schaalverdeling
SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub>	0.2-99.9 ppm met 0.1 ppm schaalverdeling
Cl <sub>2</sub>	0.2-50.0 ppm met 0.1 ppm schaalverdeling
HCl, HCN	0.2-30.0 ppm met 0.1 ppm schaalverdeling
NH <sub>3</sub>	0-200 ppm met 1 ppm schaalverdeling (weergegeven concentraties 999 ppm)
ClO <sub>2</sub> , PH <sub>3</sub>	0-1 ppm met 0.01 ppm schaalverdeling

Verder is het toestel ook beveiligd voor radio frequentie interferentie, gecertificeerd volgens de Europese norm EN50081-2. Interessante andere voorzieningen op het toestel zijn:

- Zoals reeds aangehaald zijn er tot zes in de praktijk en onderling uitwisselbare sensoren beschikbaar.
- Hoewel ammoniak een vrij moeilijk detecteerbaar gas is is er een vier-electrode ammoniaksensor voor handen.
- Snel kalibreren kan gebeuren met één knop. De kalibreringsinstellingen zijn net als de alarminstellingen beveiligd met een toegangscade.
- Er zijn tot 4 verschillende alarm-concentraties (ppm) voor een gas, afzonderlijk instelbaar door de gebruiker.
- Er is mogelijkheid tot 300 uur opslagcapaciteit in intervallen van 1 minuut.

(Industrial Scientific Corporation, 2004).

### 3.2.3. Ammoniakmeter MECCOS® EV MONITOR

Dit toestel is goed te vergelijken met het vorige en dient eveneens voor de controle van de atmosfeer op toxische stoffen, zuurstofconcentraties en explosieve gassen. Het is vooral geschikt voor monitoring van de luchtkwaliteit binnenskamers. Volgende gassen kunnen gedetecteerd worden: O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, Cl<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CO, CH<sub>4</sub>, aardgas, biogas, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S, NO, NO<sub>2</sub> en SO<sub>2</sub>. De detectie gebeurt via één of meerdere IR/EC transmitters, opgesteld op de gewenste plaats van controle. Dit zijn infrarood (voor CH<sub>4</sub> en CO<sub>2</sub>) of elektrochemische sensoren (voor O<sub>2</sub> en toxische gassen). De alarmindicatie geschiedt via twee LED's op een stand-alone transmitter in de te controleren ruimte zelf of op een afstand (via remote transmitters) op een monitor. Er kunnen ook twee lange afstands-transmitters aangesloten worden op eenzelfde monitor. Op de monitor is een vrij contact voorzien om eventueel controlemechanismen op aan te sluiten en te sturen zoals een alarmsignaal of ventilatie.



Figuur 13 : De Meccos® EV Monitor.

Extra technische gegevens:

- MECCOS® EV MONITOR: Monitor voor 1 of 2 IR/EC gas transmitters.
  - Kanalen: 2
  - Input: 0/4-20 mA
  - Display: 4 LED's en 1 buzzer
    - LED groen: 'in werking'
    - LED geel: 'Storing'
    - LED rood: 'Alarm' (kleur houdt aan)
    - LED rood: 'Waarschuwing' (kleur stopt)
  - Temperatuur- en RV-grenzen: 0-50° C en 0-100%
  - Afmetingen en gewicht: 165x160x103 mm en 910 g
- MECCOS® IR/EC Remote Transmitter
  - Temperatuur- en RV-grenzen: 15-40° C en 0-100% (bij afwezigheid van mist en zure of alkalische dampen)
  - Afmetingen en gewicht: 165x82x90 mm en 620 g
- MECCOS® IR/EC Stand-Alone Transmitter
  - Temperatuur- en RV-grenzen: 15-40° C en 0-100% (bij afwezigheid van mist en zure of alkalische dampen)
  - Afmetingen en gewicht: 165x82x90 mm en 620 g

Tabel 9: Het meetbereik.

<b>Soort gas</b>	<b>Meetbereik</b>
CO <sub>2</sub>	0-5 vol%
CH <sub>4</sub>	0-100% UEG
Cl <sub>2</sub>	0-5 ppm
O <sub>3</sub>	0-1 ppm
O <sub>2</sub>	0-25 vol%

(Leopold Siegrist GmbH, 2004).



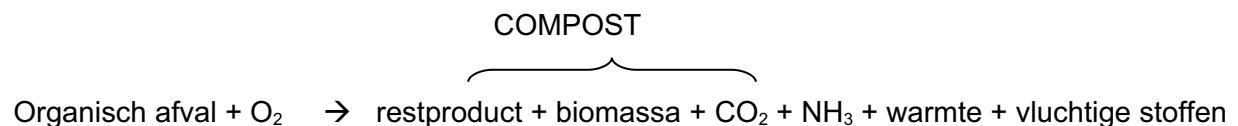
# 4. Vrijstelling van ammoniak bij compostering

## 4.1. Inleiding

Compost is het resultaat van een van de oudst bekende recyclingprocessen en dit composteren kan gedefinieerd worden als: een proces waarbij bio-degradeerbaar materiaal door micro-organismen aëroob en onder gecontroleerde omstandigheden wordt afgebroken tot een stabiel eindproduct, dat slechts zeer langzaam afbreekt wanneer de omstandigheden weer gunstig worden voor microbiologische activiteit. Dit proces verloopt van nature vrij traag en in 2 fasen maar kan versneld worden door bepaalde factoren van invloed op de microbiële activiteit te optimaliseren. Belangrijkste van die parameters zijn:

- vochtgehalte
- temperatuur
- pH
- zuurstofaanvoer
- vorm en grootte van deeltjes
- aard van het te composteren materiaal

Algemene reactie:



Naargelang er hogere eisen worden gesteld aan het eindproduct (=compost), zal dit ook een nauwkeuriger en gecontroleerd composteringsproces vragen. Dit composteringsproces kan men opsplitsen in vier fasen:

- voorbereiding
- (intensieve) compostering
- narijping (curing)
- affinage

Anaërobe afbraak van organisch materiaal is geen compostering. In dit geval spreekt men van vergisting met methaangas als bijproduct. Dit gebeurt in drie fasen: de hydrolyse, de verzuring en de methanisatie. Men onderscheidt hier twee systemen:

- Natte systeem: Het uitgangsmateriaal bevat <20 % D.S. en men past twee reactoren toe met continue voeding. In de eerste reactor grijpt de hydrolyse en de verzuring plaats, in de tweede de methaangisting.
- Droge systeem: Hierbij wordt gebruik gemaakt van slechts één reactor, zoals bijvoorbeeld in het DRANCO-proces (droge anaërobe compostering).

Na maximaal een twintigtal dagen wordt het product aëroob nagerijpt en bekomt men zodoende humotex. Een restproduct mag slechts compost genoemd worden na een aërobe nabehandeling. Om het aërobe proces goed te laten verlopen perst men een deel vocht uit het GFT-afval om een voldoende hoog DS-gehalte te bekomen. Via dit perswater verdwijnen er heel wat wateroplosbare zouten. Dit levert een zeer laag zoutgehalte op in humotex.

## 4.2. Doel van compostering

Afvalstoffen zijn mondiaal pas de laatste decennia een belangrijk probleem geworden. Een eerste reactie hierop in België was het decreet van 2 juli 1981. Dit vormde de juridische basis voor het afvalstoffenbeleid in het Vlaams Gewest en had 4 hoofddoelstellingen:

- ✓ preventie van afvalstoffen
- ✓ bevordering van hergebruik
- ✓ terugwinning en recyclage van afvalstoffen
- ✓ verwijderen van ontstane afvalstoffen die niet vermeden en hergebruikt kunnen worden.

(decreet, 2 juli 1981, art. 5)

OVAM concretiseerde dit verder door ontwikkeling van een driesporenbeleid voor gemeenten en intercommunales wat organisch composteerbaar afval betrof:

1. Promotie hergebruik en thuiscomposteren
2. Maximale uitbouw groenafval-verwijderingsketen
3. Maximale uitbouw GFT-verwijderingsketen

Hierbij bleken vooral de selectieve inzameling van groenafval en GFT maar ook de continue en maximale afzet van de compost het belangrijkste; De gescheiden ophaling is een noodzaak voor de kwaliteit van het eindproduct.

Compost bevat een aantal belangrijke eigenschappen die het gebruik ervan zouden moeten aanmoedigen en verantwoorden:

### a. Ecologische eigenschappen

° Composteren is een natuurlijk recyclingproces: de mineralen en stoffen die door de planten uit de grond is gehaald, komt weer in de bodem terecht.

- ° Stikstof wordt tijdens de compostering vastgelegd in organisch materiaal en de biomassa. Gebruik van compost vermindert aanzienlijk het risico op uitspoeling waaraan nitraten erg gevoelig zijn.
- ° Compost is een milieuvriendelijke bodemverbeteraar, die voedingsstoffen voor planten vrijstelt.
- ° Door gebruik van compost in substraten kan de winning van turf verminderen en kunnen ecologisch waardevolle moerasgebieden behouden worden en voor erosie behoed worden.

### b. Economische eigenschappen

- ° De uiteindelijke afvalberg, die normaal uiteindelijk dient verbrand te worden, verkleint op die manier. Daardoor dalen de kosten voor en de emissie door die afvalverbranding.
- ° Compost is een goedkope bodemverbeteraar. Bij gebruik als turfvervanger liggen de transportkosten ook veel lager daar turf in de baltische staten en Scandinavië wordt gewonnen.
- ° Er dient op afvalstoffen die gecomposteerd worden geen milieuheffing betaald te worden.

### c. Bodemverbeterende eigenschappen

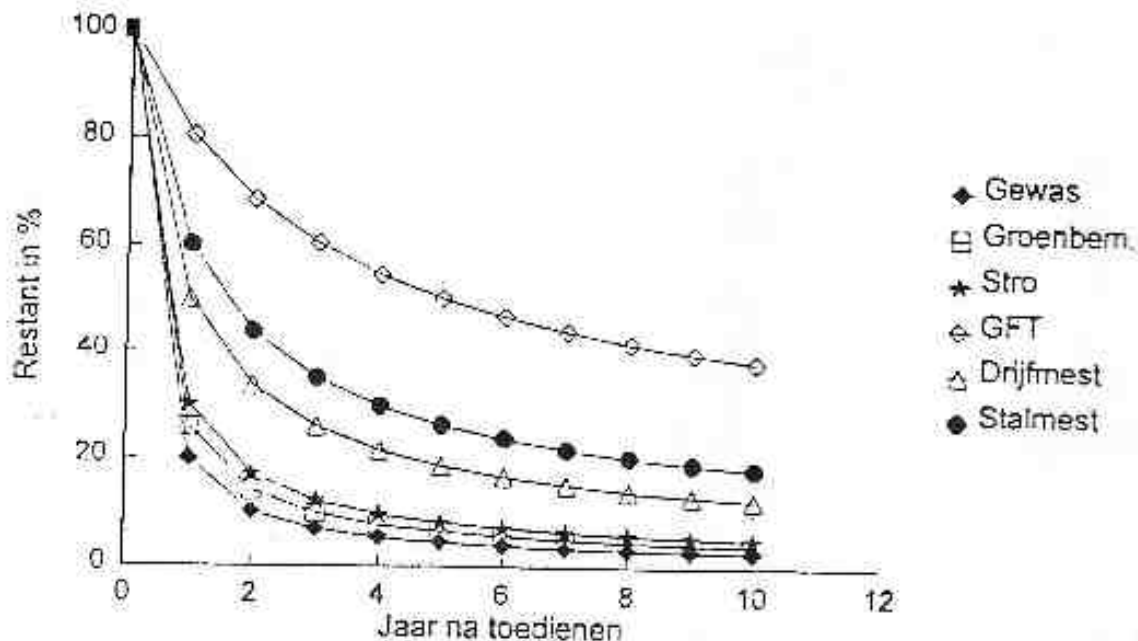
Doordat compost een hoog organische stofgehalte heeft, kan het als bodemverbeterend middel worden gebruikt. Door het aanbrengen van compost verbetert de waterhuishouding en de bodemstructuur. De bodemverbeterende werking van compost steunt op 4 peilers:

- verhoging van het organische materiaal en structuurverbetering
- basisbemesting
- pH-correctie
- activering van het microbiële bodemleven

Door deze bodemverbeterende eigenschappen (zowel chemisch, fysisch als biologisch) worden tal van positieve effecten bekomen (Haesaert, 2003):

- ° Verbeterde structuur, waardoor de bodem onder minder ideale omstandigheden ook nog bewerkbaar is.
- ° Preventie van erosie en verslemping.
- ° De aanwezige humus in de grond (voedselbuffer) wordt aangevuld door compost toe te voegen.
- ° Versnelde opwarming van de bodem in het voorjaar door de donkere kleur; vermindering van de temperatuursverschillen tussen dag en nacht door het isolerende effect van de bovenste strooisellaag.
- ° Verbetering van de lucht/waterhuishouding in de bodem; de waterreserve van zandgronden wordt verhoogd. Door toevoeging van compost aan de bodem droogt die minder snel uit; De drainage en bewerkbaarheid van zware gronden wordt verbeterd daar het poriënvolume stijgt.
- ° De voedingsstoffen voor de planten komen geleidelijk vrij, waardoor er minder

bemest moet worden. In figuur 14 wordt de afbraaksnelheid van compost en andere organische materialen weergegeven. Compost is reeds gehumificeerd, waardoor de afbraaksnelheid een stuk lager ligt.



Figuur 14: Afbraak van diverse soorten organisch materiaal in de tijd (Vandervreken, 1996).

- ° Tegengaan van bodemverzuring.
- ° Belemmering van onkruidgroei.
- ° Ziekteonderdrukking: door de aanwezigheid van bepaalde antagonisten van bodemziekten, heeft compost onrechtstreeks een ziekteonderdrukkend effect. Ook worden bepaalde bodemziekten geparasiteerd door de microflora van de compost (Bogaert, 2004).

## 4.3.Compostering

### 4.3.1.Compostsoorten

Groencompost is het resultaat van compostering in open lucht van groenafval, organisch afval afkomstig uit tuinen, plantsoenen, bermen en parken. Het bestaat uit snoeihout (diameter < 1 dm), bladeren, wegbermmaaisel en haagscheersel. Tuinafval, dat normaal onder de T-fractie van GFT valt, kan hier echter ook toegelaten worden. Dit proces duurt minimum 5 maanden.

GFT-compost is het resultaat van compostering in open lucht van selectief ingezameld GFT-afval. Het bestaat vooral uit keukenafval en niet-houtig fijn tuinafval. Dit proces duurt slechts 10 tot 12 weken. Aan de kwaliteit van het uitgangsmateriaal wordt natuurlijk veel aandacht

besteed. Uit onderzoek is gebleken dat de selectief ingezamelde GFT voor 68 % uit tuinafval bestaat en slechts uit 31 % uit keukenafval, met een verontreinigingsgraad van 1 % (voornamelijk plastic). (Vandervreken, 1996)

## 4.3.2. Parameters en invloedsfactoren

### 4.2.3.1 DS-gehalte (gewichtspcenten)

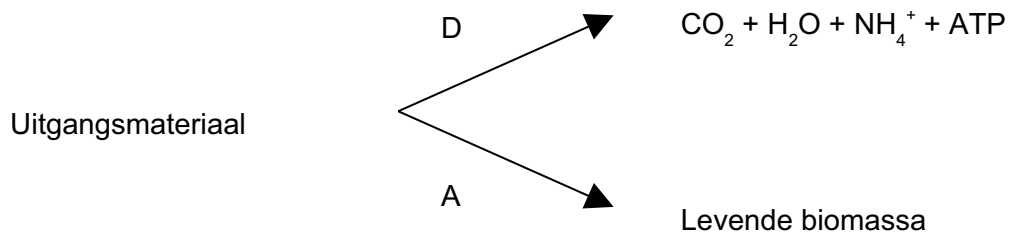
De hoeveelheid droge stof wordt bepaald nadat men het materiaal bij 105 °C heeft gedroogd. Het bekomen resultaat is afhankelijk van de aard en het vochtgehalte van het uitgangsmateriaal en is ook afhankelijk van de gebruikte techniek. Volgens de normen van het ministerie van landbouw moet compost ten minste 55% droge stof bevatten.

### 4.2.3.2 Temperatuur

Door de microbiologische activiteit zal de temperatuur in compost stijgen. Er wordt een maximum bereikt van ongeveer 70° C. De temperatuur is bepalend voor de soorten microfauna die aanwezig zijn en eveneens voor de afbraaksnelheid. Het afbraakproces verloopt het snelst bij 50° C maar toch streeft men ernaar de maximumtemperatuur van 70° C gedurende enkele dagen aan te houden voor de eliminatie van onkruidzaden en ziektekiemen (Vandervreken, 1996).

### 4.2.3.3 C/N-verhouding van het uitgangsmateriaal

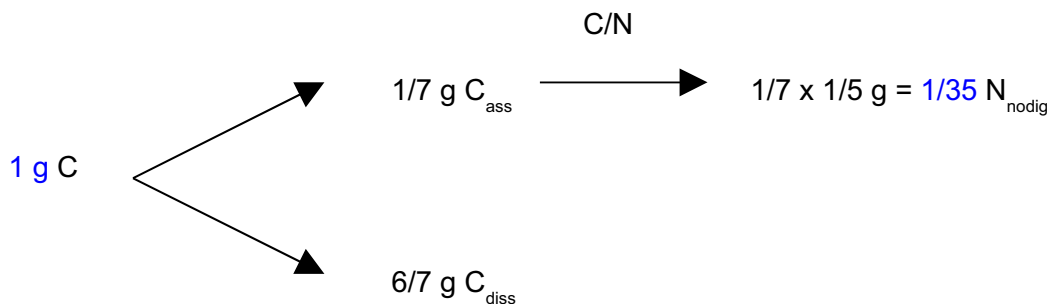
Micro-organismen verantwoordelijk voor de compostering moeten over voldoende voedsel (koolstof en stikstof) beschikken. Vandaar dat de C/N-verhouding van het organisch materiaal van belang zal zijn. Hij bepaalt of de humificatie van organisch materiaal ook gepaard gaat met mineralisatie. Humus op zich is geen voeding voor planten, de gevormde mineralen en chelaten wel. Het uitgangsmateriaal fungeert als voedingsbodem voor C-heterotrofe micro-organismen, waarbij simultaan assimilatie (A) en dissimilatie (D) optreden.



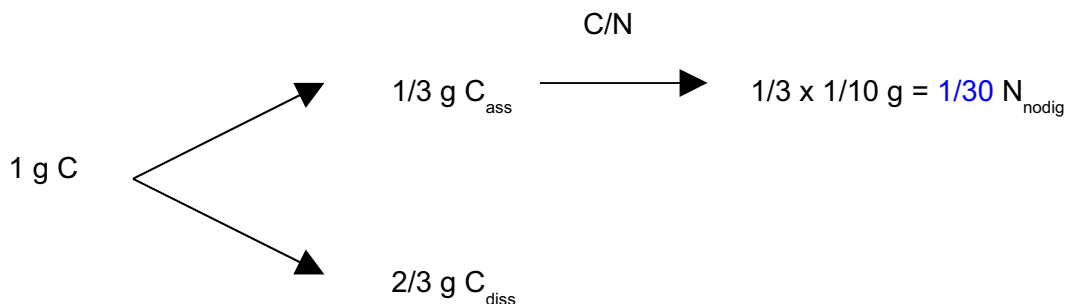
Een te lage C/N-verhouding resulteert in N-vervluchting. Bij een te hoge C/N zullen de micro-organismen genoodzaakt zijn de gevormde  $\text{NH}_4^+$  te benutten voor eigen celopbouw. Er treedt N-fixatie op en deze stikstofvorm is niet langer beschikbaar voor een plant. Micro-organismen en de wortels van planten zullen dus met elkaar concurreren om voedsel.

Voor het composteringproces blijkt een verhouding van 30:1 ideaal te zijn. Dit heeft te maken met de dissimilatie/assimilatie- en de C/N-verhouding van het soort micro-organismen zelf:

Bacteriën: C/N = 5  
D/A = 6



Schimmels: C/N = 10  
D/A = 2



De kritische C/N verhouding voor bacteriën en schimmels wordt dus respectievelijk:

$$\text{C/N} = 1 \text{ g} / (\frac{1}{35}) \text{ g} = 35$$

$$\text{C/N} = 1 \text{ g} / (\frac{1}{30}) \text{ g} = 30$$

#### 4.2.3.4 Lucht- en vochtgehalte, structuur

De structuur van het organisch materiaal is bepalend voor de activiteit van de micro-organismen en wordt bepaald door het soort materiaal en de verhouding vast materiaal en TPV (totaal poriën volume). Het TPV kan constant zijn voor een gegeven uitgangsmateriaal maar bestaat uit water en lucht (met zuurstof) en de onderlinge verhouding ertussen kan gaan variëren ten gevolge van uitwendige omstandigheden.

Bij droogte wordt er teveel water vervangen door lucht. Water is nodig voor de biochemische afbraakreacties en deze zullen in dit geval stilvallen. Bij overvloedige neerslag wordt lucht vervangen door water en zet de afbraak zich anaëroob en op een andere manier verder. In dit geval gaat het dan om vergisting.

Optimale composteringsvoorwaarden zijn er bij een vochtgehalte van  $\pm 60\%$ . In de praktijk zal het materiaal hierbij na het samenknijpen in de hand ( zonder waterverlies) praktisch onmiddellijk zijn oorspronkelijke vorm terug aannemen.

Wat de gasfase betreft van het TPV, is er minimum 10 vol% zuurstof nodig. Maar naast de aanvoer van zuurstof is er ook een continu afvoer nodig van het gevormde  $\text{CO}_2$ . Zo zullen waarden vanaf 1 %  $\text{CO}_2$  reeds remmend werken.

Deze fysische composteigenschappen spelen een belangrijke rol bij de productie, hanteerbaarheid en het gebruik van compost. Het goed kunnen meten van de bulkdensiteit en poriënvolume (lucht- en vochtgehalte) is belangrijk om deze parameters te optimaliseren.

- vochtgehalte:

Er is niet alleen geen algemene standaard die het compostvochtgehalte beschrijft, ook een standaardmethode voor vochtbepaling in compost ontbreekt. Meestal gaat men over tot het drogen van een staal in een oven en bepaalt men het gewichtsverlies van het monster na waterverdamping. Toch wordt men bij deze gravimetrische methode geconfronteerd met aanzienlijke variaties in resultaten als gevolg van verschillen in droogtijden, eigenschappen van de microgolven en temperaturen. Een tweede methode is via een tensiometer, wat het grote voordeel biedt dat men een indicatie krijgt van het vochtgehalte via een real time, in situ meting. Men kan continu een druk (adhesiekracht tussen water en de compostmatrix) meten in compostfaciliteiten. Daarnaast bestaat ook de plaatcapacitieve methode waarbij de capaciteit van een compostmonster, bepaald door het vochtgehalte van het staal, gemeten wordt. De laatste twee methoden, 'time domain' reflectometrie en de radarmethode, bevinden zich nog in een experimenteel stadium. Ze zijn respectievelijk gebaseerd op de snelheid waarmee een elektromagnetische puls of een radarsignaal zich verplaatst. Deze methoden hebben als voordeel dat ze niet destructief zijn maar ijking en goede plaatsing van de sensor vormen nog knelpunten.

- Bulk densiteit: Deze parameter beïnvloedt de porositeit en de samendrukbaarheid van compost. De vochtige en droge bulkdichtheid worden gegeven door:

$$BD_{\text{droog}} = M_{\text{droog}} / V_{\text{nat}}$$

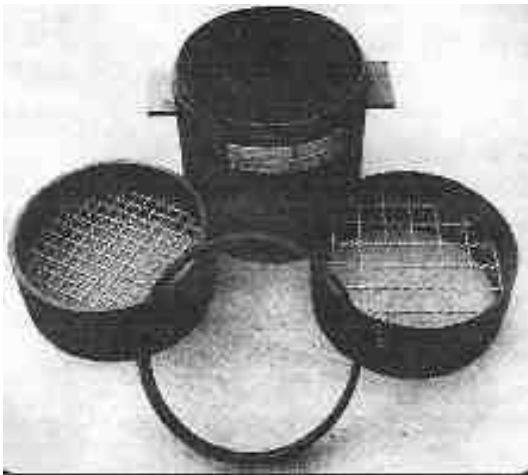
$$BD_{nat} = M_{nat} / V_{nat}$$

Met:  $M_{droog}$  = massa van droog monster (kg)

$M_{nat}$  = massa van vochtig monster (kg)

$V_{nat}$  = volume van vochtig monster (m<sup>3</sup>)

Ook hier ontbreekt weer een standaard meetmethode. De meeste onderzoekers gebruiken de dichtheidsbepaling beschreven in de ASTM 1994b-standaard. Het probleem is hier dat bij het vullen van het recipiënt (CEN-ton, figuur 15), het materiaal reeds licht aangedrukt wordt om ervoor te zorgen dat er geen grote lege ruimten voorkomen. Op die manier wordt de compostmatrix verstoord.



Figuur 15: De CEN-ton.

- Luchtgehalte: Kennis van deze parameter is o.a. belangrijk bij de bepaling van de vereiste aëratie tijdens de compostering. De meting kan gebeuren via een lucht pycnometer of via de waterverdringingsmethode. Het probleem bij deze bepalingen van het totaal poriën volume, is dat het indirecte meetmethoden zijn. Een directere methode is het meten van de weerstand die een luchtstroom ondervindt. De luchtpermeabiliteit kan rechtstreeks berekend worden uit de weerstand die een luchtstroom ondervindt via volgende formule:

$$K = \frac{V \cdot \mu}{\Delta P / L}$$

Met:  $K$  = permeabiliteit (m<sup>2</sup>)

$V$  = gemiddeld luchtsnelheid (m/s)

$\mu$  = luchtviscositeit bij 1 atm en 50 °C

$\Delta P$  = de drukval over het medium (kPa)

$L$  = de afgelegde weg van lucht doorheen het medium (m)

(Agnew & Leonard, 2003)



#### 4.2.3.5 Insolatie

Rechtstreekse instraling dient vermeden te worden aangezien UV-licht kiemdodend werkt. Diffuse instraling kan echter een positief effect hebben: het doet de temperatuur toenemen wat activerend werkt voor de micro-organismen en de biochemische reacties. Sterke temperatuurschommelingen zijn dan weer nefast voor de micro-fauna.

#### 4.2.3.6 Zuurtegraad

De zuurtegraad van compost zelf evolueert in de loop van het proces naar het neutrale tot licht alkalische gebied (pH(H<sub>2</sub>O) tussen 6.5 en 9). Deze pH is belangrijk voor de werking van de microbiële enzymen. Eens de grenzen voor de zuurtegraad overschreden worden, verliezen deze enzymen hun activiteit en valt het proces stil (Vandervreken, 1996). De optimale pH voor bacteriën ligt tussen de 6.5 en 7.5, voor de fungi tussen de 5.5 en 8.0.

Als er te weinig basen aanwezig zijn die kunnen optreden als buffer voor de organische zuren, zal de pH afnemen. Hierdoor treedt er een verschuiving op in het spectrum van de micro-organismen: meer fungi en minder bacteriën. Dit resulteert in een veel ruwere vorm van compost en tragere afbraak (Baert, 2003).

#### 4.2.3.7 Zoutgehalte en geleidbaarheid

Het zoutgehalte van de compost bepaalt uiteindelijk de gebruiksmogelijkheden. Een te hoog zoutgehalte is ongunstig voor planten. Daarom wordt compost best gemengd met een ander substraat, en niet in zijn zuivere vorm gebruikt. Groencompost heeft een lagere specifieke geleidbaarheid dan gecomposteerd GFT-materiaal. Bij humotex ligt de EC-waarde doorgaans zeer laag door het uitpersen van het overtollige vocht. Hierdoor verdwijnen een groot deel van de oplosbare stoffen (K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>, wateroplosbare organische verbindingen,...). De waarde van de geleidbaarheid van groencompost moet kleiner zijn dan 2,0 mS/cm en van GFT-compost kleiner dan 3,5 mS/cm (Bogaert, 2004).

Wegens het lage gehalte aan voedingsstoffen, beschouwt men compost best als een bodemverbeterend middel en niet als een meststof.

#### 4.2.3.8 Zware metalen en onzuiverheden

De hoeveelheid onzuiverheden aanwezig in compost is, juist door de selectieve inzameling van het uitgangsmateriaal, zeer gering. Als er toch onzuiverheden aanwezig zijn, worden die verwijderd tijdens de voorbereiding en bij de affinage via zeven en een magneet. In compost met het VLACO-label mogen geen zichtbare verontreinigingen aanwezig zijn. Steentjes moeten

kleiner zijn dan 5 mm en mogen niet meer dan 2 % van het gewicht uitmaken (Buysse et al. geciteerd in : Bogaert, 2004).

Omwille van de hoge temperaturen (60-70 °C) en de hoge vochtigheid (40-50 %) die in de composthoop ontstaan, worden de onkruidzaden na 2-3 weken afgedood. Hoe hoger de temperaturen, hoe sneller de afdoding gebeurt. Bij opslag van compost dient er wel op gelet te worden dat er geen nieuwe besmettingen kunnen optreden door bvb. inwaaiende onkruidzaden (Bogaert, 2004).

Voor zware metalen zijn de normen (maximum toegelaten concentraties) weergegeven in tabel 10, in het volgende onderdeel. Het aanwezig gehalte wordt bepaald door het gebruikte uitgangsmateriaal.

### 4.3.3. Wetten en normen

In het Koninklijk Besluit op de handel in meststoffen en bodemverbeterende middelen wordt nog geen melding gemaakt van groencompost of GFT-compost aangezien dit vrij recente producten zijn. Sinds 1990 worden daarom derogaties of ontheffingen verleent aan individuele compostproducenten. De normen (vastgelegd door het Ministerie van Landbouw) omvatten volgende bepalingen:

- Droge stof gehalte > 55%
- Organische stof<sub>vers product</sub> > 16%
- pH(H<sub>2</sub>O): 6,5-8,5
- Minimaal 99 % doorgang door een 40 mm-zeef
- Verontreinigingen ( < 2 mm ) : maximaal 0,5 %  
( < 5 mm ) : maximaal 2 %
- Maximaal toegelaten gehalten aan zware metalen (in mg/kg droge stof)
  - Cadmium: 1,5
  - Chroom: 70
  - Koper: 90
  - Kwik: 1
  - Lood: 120
  - Nikkel: 20
  - Zink: 300
- Vrij van kiemkrachtige zaden
- NO<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub> > 4 (als maat voor de uitgerijptheid)
- Geen fytotoxiciteit (< 10 %)

(Vlerick, 2003)

De gemiddelde inhoud van groencompost voor 2002 - 2003 wordt in tabel 10 weergegeven (VLACO, 2004).

Tabel 10: gemiddelde samenstelling van groencompost, GFT-compost en humotex 2002-2003.

Parameter	Groencompost	GFT-compost	Humotex
<b>Varia</b>			
Droge stof (kg/m <sup>3</sup> )	440	523	437
Organische stof (kg/m <sup>3</sup> )	147	198	155
E. C. (1/5) µS/cm	1138	2611	1741
PH (water)	8,32	8,65	8,40
Chloriden (kg/m <sup>3</sup> )	1,01	2,41	1,11
C/N	16,3	12,1	15,1
<b>Totale gehalten aan stikstof en voedingselementen</b>			
Stikstof totaal (kg/m <sup>3</sup> )	5,06	9,31	6,00
Totaal P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (kg/m <sup>3</sup> )	2,46	5,02	3,83
Totaal K <sub>2</sub> O (kg/m <sup>3</sup> )	4,28	7,42	2,93
Totaal CaO (kg/m <sup>3</sup> )	12,50	18,30	14,00
Totaal MgO (kg/m <sup>3</sup> )	2,27	3,68	2,70
<b>Minerale stikstof en extraheerbare gehalten aan voedingselementen</b>			
NH <sub>4</sub> -N (kg/m <sup>3</sup> )	0,106	0,467	0,524
NO <sub>3</sub> -N (kg/m <sup>3</sup> )	0,057	0,059	0,032
Minerale stikstof (kg/m <sup>3</sup> )	0,163	0,526	0,556
Extraheerbaar P (kg/m <sup>3</sup> )	0,430	0,830	0,490
Extraheerbaar K (kg/m <sup>3</sup> )	3,310	5,030	2,580
Extraheerbaar Ca (kg/m <sup>3</sup> )	4,310	4,840	5,210
Extraheerbaar Mg (kg/m <sup>3</sup> )	0,510	0,710	0,500

(VLACO, 2004)

#### 4.3.4. Ammoniakproductie in compost

De degradatie van proteïnen en aminogroepen, aanwezig in compost gebeurt gradueel. In eerste instantie worden de proteïnen gesplitst via een proteolyse, gekatalyseerd door het enzyme protease. Daarna volgt de deaminatie. Dit is de afsplitsing van de amino-groep van de aminozuren en in deze fase worden ammonium en ammoniak gevormd. Dit gebeurt onder invloed van exo-enzymen en heterotrofe organismen die hierbij ook biomassa en warmte produceren. In een derde fase gaat er een chemisch evenwicht ontstaan tussen ammonium en ammoniak (Cools, 2003). In een waterige fase gebeurt dit door vorming van NH<sub>4</sub>OH, in een gasfase door NH<sub>3</sub>-vervluchtiging.



Dit chemisch evenwicht wordt bepaald door de pH en de temperatuur. Bij een hogere temperatuur en pH wordt er meer ammoniak gevormd en zal de vervluchtiging in de atmosfeer stijgen (Vyvey, 1999).

Vooraf de tweede stap gaat gepaard met productie van warmte. Bij de thermofiele fase gedurende de compostering kan de temperatuur oplopen tot 45°C-70°C. Door die warmte kunnen de nitrobacteriën, verantwoordelijk voor de nitrificatie, niet overleven. De temperatuur

voor nitrificerende bacteriën mag niet hoger zijn dan 30 ° C. Daarom gebeurt de nitrificatie enkel in de rijpingsfase. Onrijpe compost is nog volop bezig met de nitrificatie, dus wordt er nog volop O<sub>2</sub> verbruikt voor de vorming van nitriet en nitraat. Indien compost op dat ogenblik voor de teelt wordt gebruikt, zal er enerzijds een O<sub>2</sub>-tekort optreden voor de plantenwortels en anderzijds zal het geproduceerde ammonium (en ammoniak) een toxische factor in het substraat vormen (Cools, 2003).

### 4.3.5.Compoststabiliteit en -maturiteit

#### 4.3.5.1.Algemeen

Compost kan fytotoxisch zijn maar de basis en de aard van deze toxiciteit kan sterk verschillen en bovendien is die in compost dynamisch.

Zo zullen een enorm aantal ongedefinieerde toxische elementen maar ook hun onderlinge interacties een beïnvloedende rol spelen. Een element is echter pas toxisch voor een plant wanneer het element effectief door de planten opgenomen wordt en als de biologische processen hierdoor negatief beïnvloed worden. Een element kan maar opgenomen worden wanneer het in het substraat beschikbaar en mobiel is. De meeste zware metalen die in grote concentraties beschikbaar zijn voor de plant worden als fytotoxische elementen beschouwd. Ook wanneer elementen, die normaal niet fytotoxisch zijn, in een hogere concentratie voorkomen, kan dit voor problemen zorgen; de EC-waarde wordt te hoog en ze stimuleren de kieming van nog mogelijk aanwezige pathogenen.

Ook de productie van ammoniak in compost door een te lage C/N-verhouding kan fytotoxisch werken (zie hoger).

Daarnaast kan men ook een toxiciteit vaststellen in compost vanwege een te lage zuurtegraad, een te hoge C/N-verhouding (N-immobilisatie) of een te hoge NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> verhouding. Deze laatste factoren zijn vaak te wijten aan een te korte composteringstijd waardoor men een onrijp en minder stabiel eindproduct krijgt. Daardoor oefent dergelijke compost minstens een groeiremming uit op de plant (Cools, 2003) en zal de maturiteit van compost een zeer belangrijke kwaliteitsbepalende parameter vormen. Voldoende stabiliteit voorkomt dan weer problemen met zuurstofverbruik, opwarming, onvoldoende ziekteonderdrukking, onaangename geurproductie door anaërobie en kwaliteitsveranderingen door nutriëntenwijzigingen tijdens de stockage (De Schoesitter, 2003).

#### 4.3.5.2.Compoststabiliteit

De term stabiliteit verwijst naar de oxidatieve afbraak van organisch materiaal en een specifiek stadium van de afbraak van organisch materiaal gedurende de compostering. Als een onstabiel organisch substraat geoxideerd wordt door micro-organismen zal een deel van de

geproduceerde energie gebruikt worden voor de opbouw van microbiële biomassa. Bij het afsterven van micro-organismen wordt hun celmateriaal opnieuw afgebroken en kan het als voedsel dienen voor andere micro-organismen. Telkens dit proces zich herhaalt, gaat dit gepaard met een omzetting van een deel van het organisch materiaal tot CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O en celmateriaal. Het overblijvend organisch materiaal wordt op die manier gekenmerkt door een steeds hogere graad van resistentie tegen microbiologische afbraak. Dit resistentere product wordt humus genoemd. Tijdens het composteringsproces worden makkelijk oxideerbare substraten geleidelijk vervangen door een moeilijker afbreekbaar maar stabiel product, humus. Volledige stabilisatie bestaat dus niet, daar al het organisch materiaal zou moeten geoxideerd worden tot CO<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O (De Schoesitter, 2003).

#### 4.3.5.3.Compostmaturiteit

Maturiteit en stabiliteit worden vaak door elkaar gebruikt maar dekken in principe niet dezelfde inhoud. Maturiteit is de algemene uitdrukking voor de graad van stabiliteit van afgewerkte compost terwijl stabiliteit de meer actuele waarde van het substraat tijdens compostering zelf is. De term maturiteit wordt ook meer geassocieerd met fytotoxiciteit. Een onrijpe compost kan een hoog gehalte aan vrije ammoniak (NH<sub>3</sub>) bevatten alsook bepaalde organische zuren, zoals azijnzuur. Onvoldoende uitgerijpte compost trekt voedingsstoffen juist naar zich toe in plaats van ze aan de planten af te geven.

De gewenste graad van maturiteit hangt ook af van de geplande toepassingen met compost achteraf. Zo moet een compost in de tuinbouwsector een hogere maturiteit bezitten dan compost gebruikt als bodemverbeteraar in open lucht. Bij substraatgebruik in de tuinbouw moet de compost immers voldoende stabiel zijn opdat er geen groeiremming zou plaatsvinden gedurende de eerste dagen na het planten. In open lucht mag compost een lagere maturiteit hebben daar compost in de bodem nog verder kan stabiliseren alvorens aangeplant wordt (De Schoesitter, 2003).

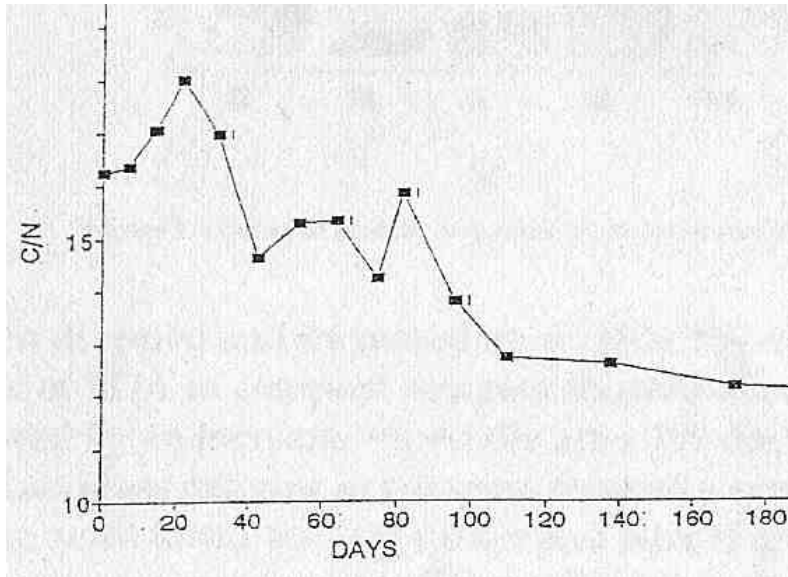
#### 4.3.5.4.Meetmethoden

Het grote probleem bij deze kwaliteitsparameters voor compost is hun meting. Totnogtoe is het onmogelijk om deze te gaan bepalen met één standaard meetmethode. Men kan sommige meetmethoden naast elkaar gebruiken maar de uiteindelijke bepaling van een numerieke maturiteitsindex gebeurt via minstens drie testen (Bogaert, 2004):

➤ Bepaling van de C/N verhouding:

→ De C/N-verhouding van compost heeft vooral een invloed bij toepassing in de bodem. Bij toevoeging van compost met een hoge C/N-verhouding aan een bodem, zal er stikstof onttrokken worden uit de bodem voor microbiële groei. Zo kunnen er N-tekorten ontstaan voor de plant (zie hoger). Bij een te lage C/N-verhouding zal er ammonium vrijkomen in een concentratie die fytotoxisch kan worden. Onstabiele compost kan dus een slechte C/N-

verhouding hebben. De C/N-verhouding wordt veelal als een stabiliteitparameter gebruikt en men stelt een C/N-verhouding die kleiner of gelijk aan 25 als maatstaf voor een stabiele compost (zie figuur 16). Toch kan men besluiten dat de C/N-verhouding alleen onvoldoende is als stabiliteitparameter. Zo beïnvloedt het type compost meer de C/N-verhouding dan de stabiliteit dit doet en in bepaalde gevallen blijft de C/N-verhouding bij toenemende stabiliteit zelfs ongewijzigd (De Schoesitter, 2003).



Figuur 16: Verloop van de C/N-verhouding (Levanon & Pluda, 2002).

➤ Minstens één standaardtest uit groep A én groep B:

❖ Groep A: een indirecte meting van de graad van afbraak van het aanwezige organische materiaal.

- CO<sub>2</sub>-productie: hoe hoger de CO<sub>2</sub>-productie, hoe minder stabiel de compost.

→ De CO<sub>2</sub>-productie is, samen met de zuurstofconsumptie, de meest gebruikte parameter bij het bepalen van de compoststabiliteit. Beide parameters worden bepaald door de biologische activiteit, die op zijn beurt een maat is voor de stabiliteit. Men kan van een stabiele compost spreken als de CO<sub>2</sub>-productie bijna stilgevallen is, m.a.w. als er nog weinig biologische activiteit in de compost aanwezig is.

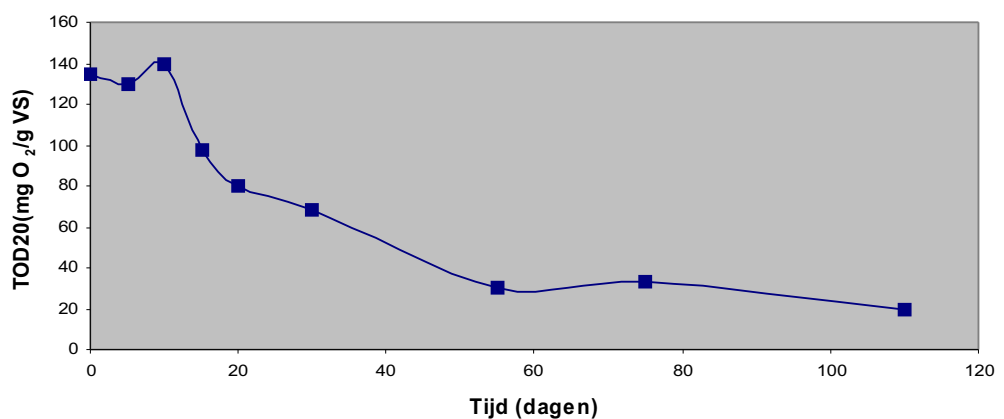
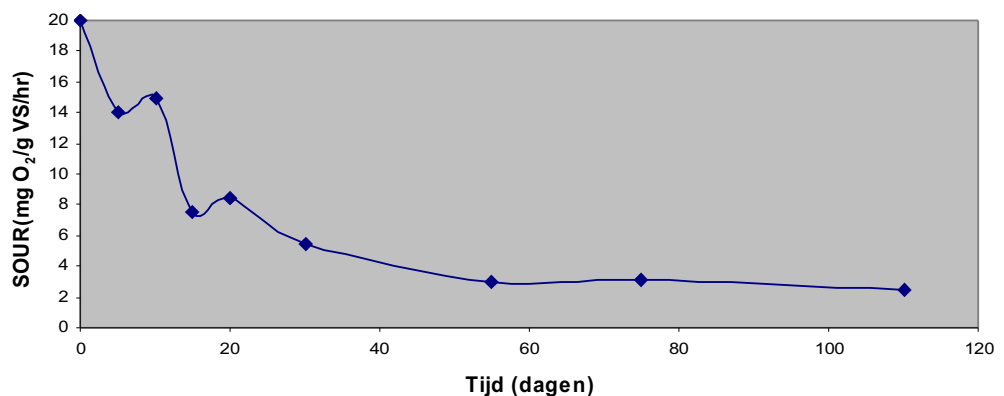
- Zuurstofconsumptie of respiratie van de micro-organismen: hoe hoger de zuurstofopname, hoe minder stabiel de compost.

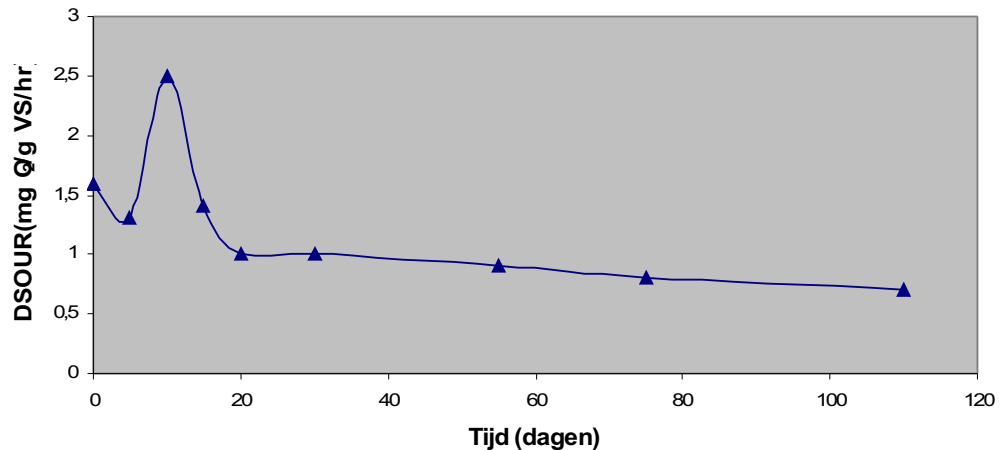
→ Respiratie is een goede meetmethode voor stabiliteit, maar toch dient er onderscheid gemaakt te worden tussen statische en dynamische respiratie. Dynamische respiratie is een meting bij continue voorziening van lucht. Statische respiratie is het meten zonder continue aëratie. Bij de

conventionele statische methode bestaat wel het gevaar dat het vochtgehalte (als essentieel biochemisch reagens) sneller een limiterende factor voor biologische activiteit wordt dan de stabiliteit. Op die manier meet men hogere respiratiewaarden bij analoge dynamische metingen. Bij de respiratiemeting maakt men onderscheid tussen drie stabiliteitsindices:

- DSOUR-test (Oxygen Uptake Rate): men meet de graad van zuurstofverbruik in een vaste compostmatrix.
- SOUR-test (Specific Oxygen Uptake Rate): men meet de opgeloste zuurstof in een waterig compostextract om veranderingen in zuurstofconcentratie te bepalen.
- TOD<sub>20</sub>: Total Oxygen Demand: het totale O<sub>2</sub>-verbruik in hetzelfde extract gedurende 20 uur.

Deze drie stabiliteitsindices vertonen een gelijkaardig verloop in de tijd (figuur 17) en kunnen dus voor stabiliteitbepaling gebruikt worden.





Figuur 17: Variatie van de drie stabiliteitsindices (SOUR, TOD<sub>20</sub>, DSOOR) met de composteringstijd (Lasaridi en Stentiford, 1998 geciteerd in: De Schoesitter, 2003).

- Dewar zelfverhittingstest.

→ Ook de temperatuurstijging in een monster kan als parameter gebruikt worden voor stabiliteit. De zelfverhittingstest is de meest eenvoudige en goedkoopste stabiliteitstest: een voldoende bevochtigd monster wordt in een Dewarvat geïncubeerd waarbij men gedurende enkele dagen de maximumtemperatuur noteert. De maximale temperatuur is uiteindelijk een maat voor de rijpheidsklasse of Rottegrad van de compost (Tabel 11). Klasse IV en V worden als stabiel en bruikbaar voor de praktijk aanzien. Immers, hoe hoger de temperatuur, hoe meer microbiologische activiteit, hoe minder uitgerijpt de compost is. Toch is deze methode niet altijd bruikbaar in de praktijk daar de Dewarmethode vaak verkeerde stabiliteitsresultaten weergeeft.

Tabel 11 : Rijpheidsklassen in functie van de maximale temperatuur in de zelfverhittingstest (Vlerick, 2003).

Rijpheid	Tmax (°C)
I	> 60
II	50,1-60,0
III	40,1-50,0
IV	30,1-40,0
V	< 30

- Solvita® test:



→ De solvita test is een handige testkit die de maturiteit van compost weergeeft. Deze kit is gebaseerd op een simultane meting van de CO<sub>2</sub>-respiratie en de vluchtige ammoniumconcentratie. Deze test onderscheidt acht compostklassen met toenemende maturiteit. Toch is deze eenvoudige test niet 100% betrouwbaar.



Figuur 18: De Solvita® testkit.

Bij de monstername dient men, naast de representativiteit, ook goed te letten op de bevochtiging. Dit kan men controleren door de compost in de hand samen te persen. Na het vullen van de testbokaal, is het mogelijk dat men het monster één tot drie dagen moet laten rusten, zeker bij te warme of watergecorrigeerde stalen.

Tijdens de proef zelf plaatst men twee met gel bedekte plaatjes (een paars 'C'-plaatje voor CO<sub>2</sub> en een geel 'A'-plaatje voor NH<sub>3</sub>) gedurende vier uur in de bokaal bij kamertemperatuur.

Na de test kan men een kleurcode vergelijken met een controle om de concentratie NH<sub>3</sub> en de respiratie te bepalen (figuur 19).

Solvita Rating	1	2	3	4	5	6	7	8
5 Very Low NH <sub>3</sub>	1	2	3	4	5	6	7	8
4 Low NH <sub>3</sub>	1	2	3	4	5	6	7	8
3 Medium NH <sub>3</sub>	1	1	2	3	4	5	6	7
2 High NH <sub>3</sub>	1	1	1	2	3	4	5	6
1 Very High NH <sub>3</sub>	1	1	1	1	1	2	3	4

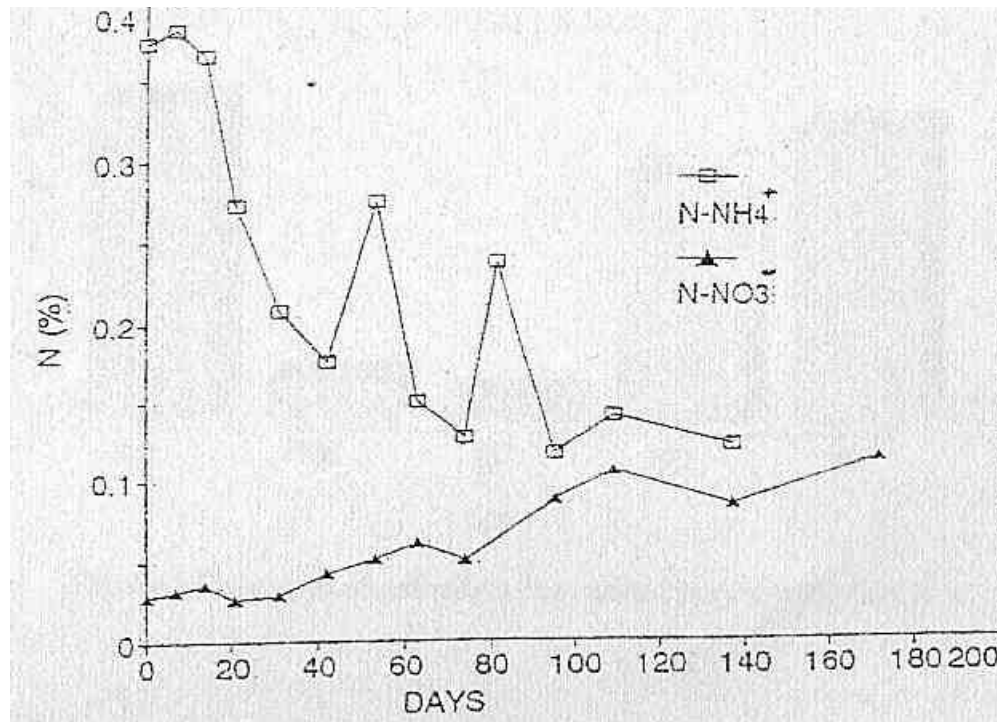
Figuur 19: Compost rijpheidsindex berekeningstabel.

Uiteindelijk kan men via deze tabel en de bijgeleverde interpretatietabellen een benaderende schatting doen wat betreft de compostrijpheid (Woods End Research Laboratory, 1999).

- ❖ Groep B: een directe of indirecte meting van de chemische kenmerken van compost.

- De ammonium/nitraat-verhouding ( $\text{NH}_4/\text{NO}_3$ ).

→ De daling van ammoniumstikstof tijdens compostering en het simultaan toenemen van de nitraatstikstofhoeveelheid is een aanwijzing voor stijgende stabiliteit.



Figuur 20: Verloop van  $\text{NH}_4$ - en  $\text{NO}_3$ -gehalten in de tijd (Levanon & Pluda, 2002).

- De ammoniumconcentratie.

→ Vergelijkbaar met de vorige test maar iets minder nauwkeurig.

- De concentratie aan vluchtige organische zuren.

→ De totale humushoeveelheid stijgt tijdens compostering (zie hoger). De moeilijk afbreekbare humusfractie kan ingedeeld worden in humuszuren (HZ) en een fulvische fractie (FF). De HZ-fractie stijgt tijdens compostering. Deze FF kan verder ingedeeld worden in de fulvazuren (FZ), die ongeveer constant blijven tijdens de compostering, en een niet-humische fractie (NHF), die stijgt tijdens het proces. De verhoudingen tussen de concentraties van deze fracties kunnen omgezet worden in humificatie-indices waarbij de humificatie-index (HI) gegeven wordt door:

$$\text{HI} = \frac{\text{organische koolstof van NHF}}{\text{organische koolstof van FF}}$$

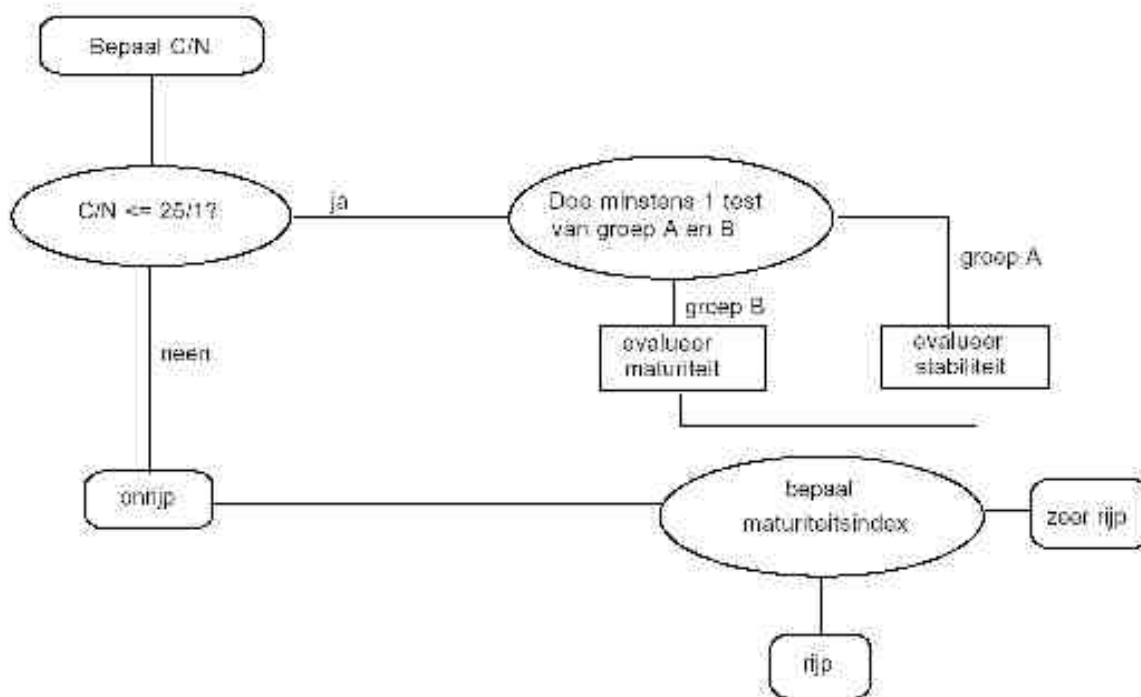
[HZ + FZ]

Deze HI daalt voortdurend tijdens de compostering. Later werd deze humificatie-index als niet voldoende accuraat gezien. Zo bleek dat gedurende compostering het moleculaire gewicht van humuszuren steeg. Vervanging van de concentratie door het moleculair gewicht van humuszuren (HAEI : humic acid evolution index) bleek een meer correcte stabiliteitparameter te zijn (De Schoesitter, 2003).

- Plantentesten.

→ Hierbij worden potproeven uitgevoerd met verschillende compostsoorten gekenmerkt door een verschillende maturiteit. Uiteindelijk kan de zaadkieming en de verhouding wortel/scheut-groei met een standaard controle vergeleken worden. Dit is een zeer goede methode om de rijpheid te bepalen maar ze is tijdrovend en arbeidsintensief.

Figuur 21 geeft schematisch de te volgen weg weer om de stabiliteit en de maturiteit van de compost te bepalen.



Figuur 21: Samenvatting van de bepaling van de rijpheidsgraad (CCQC, 2001 geciteerd in: Bogaert, 2004).

In tabel 12 zijn de waarden weergegeven waaraan rijpe compost uiteindelijk moet voldoen:

Tabel 12: De waarden waaraan rijpe compost moet voldoen (CCQC, 2001 geciteerd in: Bogaert, 2004):

Methode	Eenheid	Waarde		
		Zeer rijp	Rijp	Niet rijp
CO <sub>2</sub> -test	C/eenheid VS/dag	< 2	2 - 8	> 8
NH <sub>4</sub> /NO <sub>3</sub>	-	< 0,5	0,5 - 3	> 3
Totaal NH <sub>4</sub>	ppm, droge basis	< 100	100 - 500	> 500
Zaadkieming	% van controle	> 90	80 - 90	< 80
Plantgroei	% van controle	> 90	80 - 90	< 80

#### 4.3.6. Belangrijke micro-organismen

Onderzoek bij compost situeert zich vooral in het bepalen van de fysico-chemische parameters als betrouwbare indicator voor compostmaturiteit. Totnogtoe is er slechts bitter weinig informatie beschikbaar over de microbiota die eveneens de composteringsgraad beïnvloeden. De rol van deze micro-organismen, hun samenstelling en aantallen zijn nochtans zeer belangrijk voor processen zoals de afbraak van organisch materiaal en de N-omzettingen via oxidatie, nitrificatie en denitrificatie. Het composteringsproces wordt gekenmerkt door opeenvolgende toename en afname van subpopulaties die nuttig zijn voor bodemvruchtbaarheid en plantengroei maar die eveneens menspathogeen kunnen zijn of bepaalde nutriënten kunnen immobiliseren.

Afbraak processen tijdens compostering geschieden in feite onder invloed van de enzymen die geproduceerd worden door de aanwezige micro-organismen. Daarbij maakt men onderscheid tussen de intra- (in levende cellen) en extracellulaire (afgescheiden buiten de cel) enzymen. De eerste soort katalyseren biochemische reacties in de cel zelf, terwijl extracellulaire enzymen zorgen voor de afbraak van polymeren (cellulose, lignine ...) die te groot zijn om het celmembraan te passeren.

(Tiquia et al., 2002).

De samenstelling van de populatie aan micro-organismen in compost hangt nauw samen met de heersende omstandigheden (zuurstof, vocht, temperatuur, pH...) in de composthoop. Op basis hiervan kan men het composteringsproces onderverdelen in vier fasen:

➤ Mesofiele fase:

Bij aanvang van het proces neemt het materiaal de omgevingstemperatuur aan en heeft het gewoonlijk een licht zure pH. Als gevolg van groei van de reeds aanwezige mesofiele micro-

organismen, gaat de temperatuur stijgen en worden er organische zuren gevormd (met een kleine pH-daling als gevolg).

➤ Thermofiele fase:

Eens de temperatuur boven de 40 °C stijgt, verdwijnt geleidelijk de activiteit van de mesofielen en nemen de thermofiel micro-organismen (*Bacillus* spp.) meer en meer het voortouw. De initieel gevormde organische zuren worden geoxideerd en de pH stijgt tot licht alkalisch.

➤ Afkoeling:

Naarmate het proces vordert, vermindert het exotherme metabolisme en treedt er geleidelijk afkoeling op. Bacteriën maken hierbij plaats voor actinomyceten, herkenbaar aan hun typische bosgrondgeur. De herkolonisatie met fungi gebeurt eerst met thermofielen.

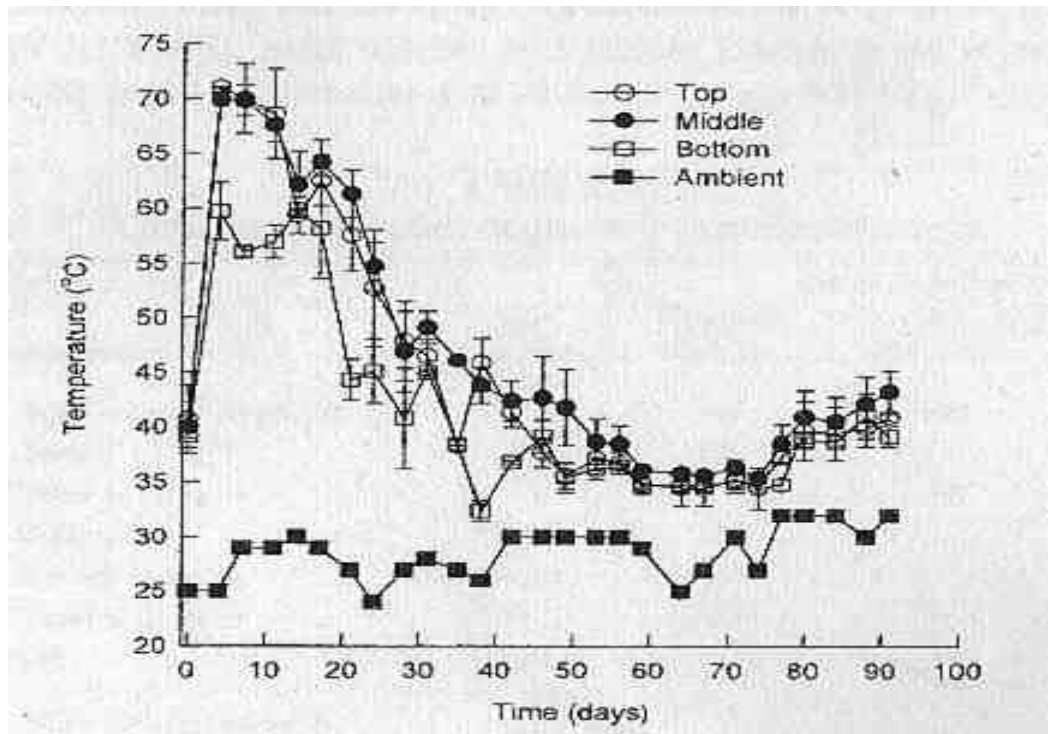
➤ Rijpsfase:

Wanneer de temperatuur uiteindelijk opnieuw onder de 40 °C is gezakt, treedt er opnieuw een herkolonisatie op van mesofiele biota. Ook protozoa en hogere organismen zoals mijten en pissebedden doen hun intrede (Van den Meerschaut & Vandekerckhove, 1997).

#### 4.3.6.1. Dynamica van de microbiologische populatie en de enzymenactiviteit

Tiquia et al. onderzochten de dynamica van de microbiologische populatie en de enzymenactiviteit. Daartoe werden de drie composthopen aangelegd, bestaande uit 2 delen kippenmest, -veren en houtsnippers per deel tuinafval. Tijdens de 91 dagen durende proef werd wekelijks op drie plaatsen (beneden-midden-top) in de composthopen de temperatuur opgemeten en monsters genomen. De monsters werden geanalyseerd wat betreft de pH, het vochtgehalte, de totale gehalte organisch materiaal, koolstof, stikstof, kalium en fosfor. Kwantitatieve schatting van het aantal aërobe heterotrofen, fungi, actinomyceten, feacale coliformen en ammonium- en nitrietoxiderende bacteriën gebeurde via directe uitplating op selectieve media. De enzymenactiviteit werd geëvalueerd via API ZYM™ strips van BioMerieux. Dit leverde volgende resultaten op:

- a. Piektemperaturen situeerden zich in de top en het midden van de hoop (figuur 22) maar de tijd nodig om terug te zakken tot de omgevingstemperatuur was overal hetzelfde. Ook bleken de temperatuurverschillen geen invloed te hebben op het totale aantal aanwezige micro-organismen.

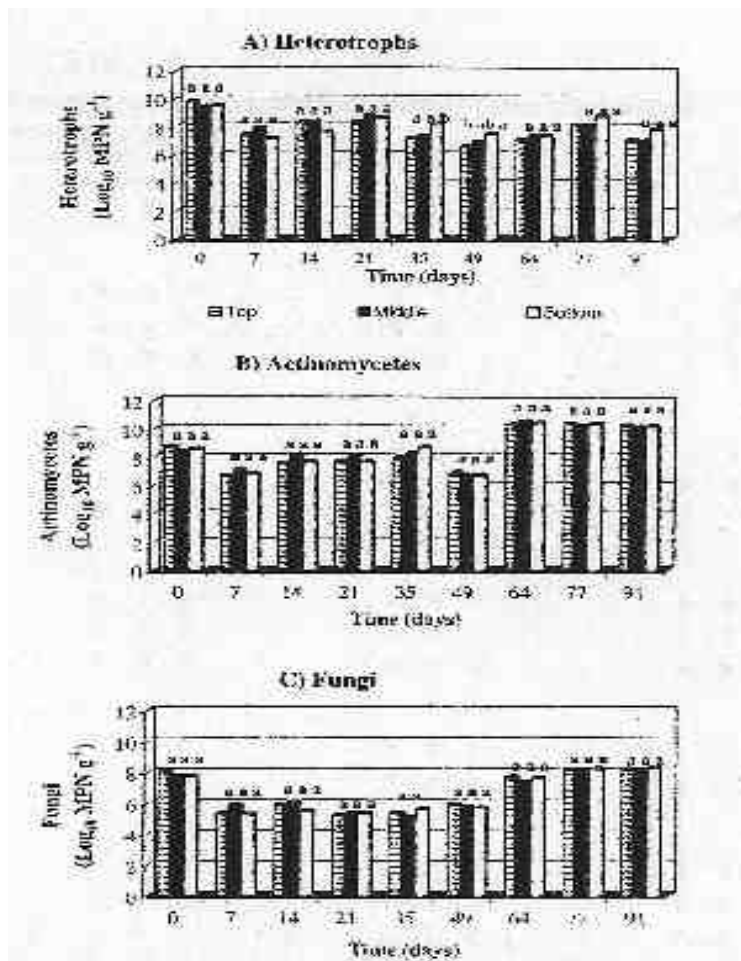


Figuur 22: Temperatuur (beneden-midden-top) in de composthoop (Tiquia et al., 2002).

- b. Het totaal aantal aërobe heterotrofen was het hoogst (9.4-9.8  $\log_{10}$  MPN/g) in het begin van het composteringsproces, om tegen de zevende dag (einde mesofiele fase) terug te vallen en vervolgens weer geleidelijk toe te nemen in functie van de gestage temperatuursdaling in de hoop (figuur 23).

De meeste fungi werden geëlimineerd bij temperaturen boven de 50 °C en herstelden zich later wanneer de temperatuur terug onder de 45 °C viel (afkoeling).

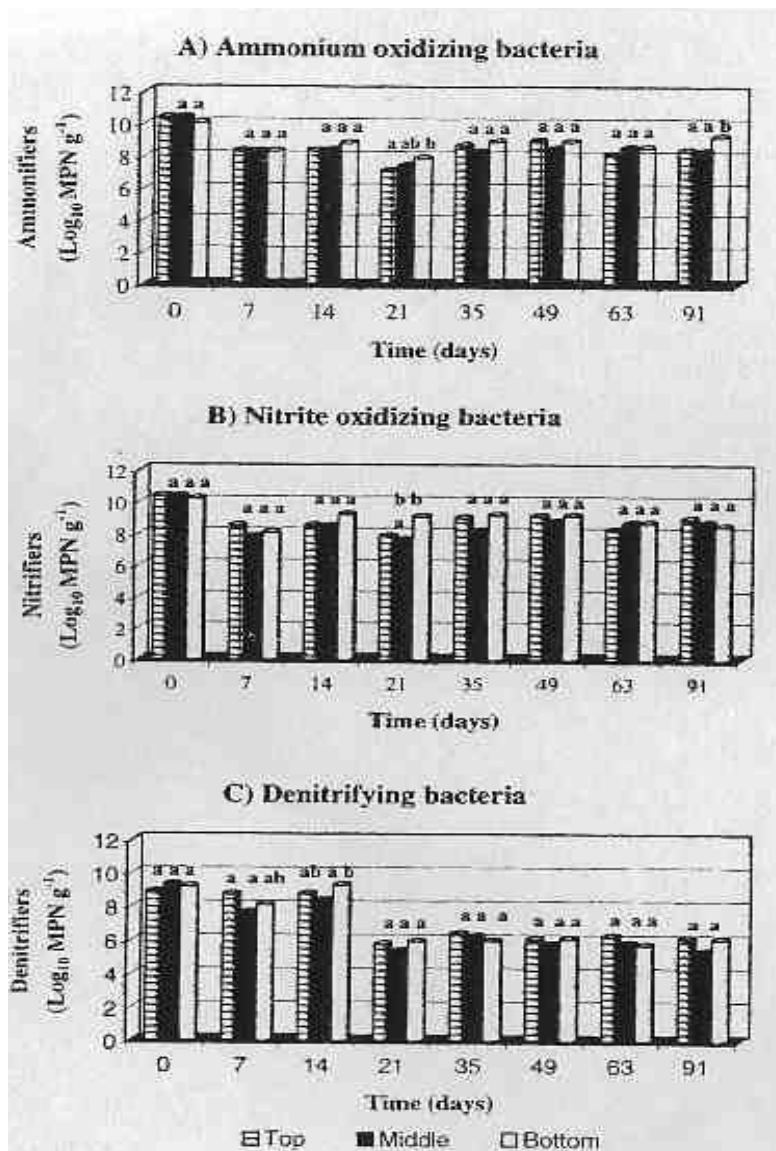
Bij de rijpingsfase overtroffen de actinomyceten en fungi in aantallen hun beginwaarden. De exacte rol van deze organismen tijdens compostering is nog niet volledig opgehelderd maar hun hoge aantallen tijdens de rijpingsfase hebben te maken met de hoge concentratie aan cellulose en lignine en de lagere temperaturen op dat moment.



Figuur 23: log<sub>10</sub> MPN telling van het aantal aërobe heterotrofen, fungi en actinomyceten in functie van de tijd en de plaats (beneden-midden-top) (Tiquia et al., 2002).

- c. Ammonium- (*Nitrosomonas* spp.) en nitrietoxiderende (*Nitrobacter* spp.) bacteriën bleven in grote aantallen ( $\pm 8 \log_{10}$  MPN/g) aanwezig gedurende het hele composteringsproces (figuur 24).

De populatiegrootte van denitrificerende bacteriën (facultatief anaëroben zoals *Bacillus* spp. en *Pseudomonas* spp.) was het hoogst in het begin. Dit suggereert lokale anaërobe omstandigheden deels veroorzaakt door het hoge watergehalte, deels door de hoge gehalten aan organisch materiaal (O<sub>2</sub>-gebrek door de grote microbiologische afbraaksnelheid) in de mesofiele fase.



Figuur 24: log<sub>10</sub> MPN telling van het aantal ammonium-, nitrietoxiderende en denitrificerende bacteriën in functie van de tijd en de plaats (beneden-midden-top) (Tiquia et al., 2002).

#### 4.3.6.2. Indicatororganismen

Aangezien het praktisch onmogelijk is om een staal te controleren op alle bekende pathogenen, beperkt men zich tot het bepalen van enkele indicatororganismen. Deze moeten aan volgende voorwaarden voldoen:

- Altijd aanwezig zijn als pathogenen aanwezig zijn maar dan wel in grotere aantallen.
- Tenminste even resistent zijn aan suboptimale groeiomstandigheden als de pathogenen.
- Geschikt zijn voor routine-analyse, m.a.w. gekenmerkt worden door vlotte groei op een medium en goed te onderscheiden kolonievormen.



Voorbeelden van deze indicator organismen zijn:

A. COLIFORMEN EN *E. COLI*:

Deze bacteriën maken deel uit van de familie van de *Enterobacteriaceae* en worden gekenmerkt door volgende biochemische en morfologische eigenschappen:

- Gramnegatieve staafjes, al dan niet ingekapseld.
- Onbeweeglijk of beweeglijk via peritriche flagellen.
- Facultatief anaeroob.
- Niet gepigmenteerd, uitgezonderd rood bij *Serratia* spp en geel bij *Enterobacter agglomerans*.
- Nitraatreductie tot nitriet.
- Oxydase negatief; katalase positief.
- Snelle vergisting van glucose met of zonder gasvorming.
- Onderverdeling in 14 genera op basis van biochemische en antigenische verschillen.

Onder de naam coliformen verstaat men alle lactosevergistende enterobacteriën. Men gaat over tot het bepalen van het totaal aantal coliformen als indicator voor de milieuhygiënische kwaliteit.

B. ENTEROCOCCEN (FAECALE STREPTOCOCCEN):

Deze bacteriën worden gekenmerkt door volgende biochemische en morfologische eigenschappen:

- Grampositieve ronde coccen, groeiend in kettingen.
- Onbeweeglijk.
- Zowel aëroob, anaëroob als facultatief anaëroob.
- Katalase negatief.
- Enterococcen onderscheiden zich van streptococcen door een grotere resistentie ten aanzien van:
  - Temperatuur.
  - Saliniteit.
  - Antibiotica (bvb. Penicilline G)

C. CLOSTRIDIUM:

Dit bacteriegeslacht behoort tot de *Bacillaceae*-familie en heeft volgende kenmerken:

- Grampositieve staafjes.
- Vormen ovale/ronde endosporen.
- Onbeweeglijk of beweeglijk.
- Meestal obligaat anaëroob.
- Chemo-organotroof (soms chemo-autotroof): productie van organische zuren en alcoholen.
- Reductie van sulfiet.

Als indicatororganisme gebruikt men *Clostridium perfringens*. Ze produceren toxische producten (exotoxinen) die bij de mens een voedselvergiftiging kan veroorzaken. Dit risico wordt vergroot door hun productie van hiteresistente endosporen die het kookproces kunnen overleven (Van den Meerschaut & Vandekerckhove, 1997).

# 5. Wormenmest

## 5.1. Algemeen

Het is reeds lang bekend dat wormen, samen met andere macro- en microbodemia, essentieel zijn voor de fysieke vruchtbaarheid van de bodem. Darwin zei al dat alle vruchtbare grond minstens éénmaal door de maag van een worm is gegaan. Deze organismen zorgen er immers voor dat alle organische stoffen, zoals afgevallen bladeren, takken, bomen, oogstresten, afgestorven organismen, stof, mest ..., die op de grond terechtkomen, eronder eronder worden ingewerkt. Hiertoe eet de worm zich een weg doorheen de bodem terwijl hij de organische resten uit de gronddeeltjes filtert. De worm zelf voedt zich met een deel van de organische resten en scheidt de vermalen en met slijmstoffen vermengde gronddeeltjes, samen met een aantal nuttige stoffen terug af (zie later). Dit product bevat geconcentreerde, voor planten gemakkelijk opneembare stoffen en wordt wormenmest of vermicompost genoemd (Biologische appels en peren, 2003).

Oorspronkelijk was wormenmest slechts een bijproduct van de wormenkwekerij. Het hoofdproduct waren de wormen zelf voor de visserij. Later bleek dat het restproduct, na afzeving van wormen en wormeneitjes, omwille van het hoog organisch stofgehalte, het grote water vasthoudende vermogen en de neutrale pH, heel erg geschikt te zijn als bodemverbeteraar.

## 5.2. Soorten wormenmest

Naast de gewone regenwormen, waarbinnen er ook al een aantal soorten bestaan, zijn er nog heel wat andere 'wormensoorten' die kunnen worden aangewend voor productie van wormenmest (tabel 13). Zo wordt het substraat waarin *Tenebrio molitor* (de meelworm, een keverlarve) en *Alphitobius laevigatus* (de buffaloworm, de larve van de buffalokever) gekweekt werden voor respectievelijk de sportvisserij en als vogelvoer, ook als een vorm van wormenmest bestempeld. Het spreekt voor zich dat de verschillende soorten 'wormen' verschillende substraten nodig hebben en uiteindelijk soorten van wormenmest oplevert met verschillende eigenschappen.

Tabel 13: belangrijke organismen voor de wormenmestproductie (Jansen, 2004).

<i>Lumbricus rubellus</i>	rode worm
<i>Lumbricus terrestris</i>	dauwpier, regenworm
<i>Eisenia foetida</i>	mestpier, gestreepte tijgerworm, compostworm
<i>Arenicola marina</i>	zeepier
<i>Dendrobeana veneta</i>	canadese bosworm
<i>Polychaetae</i>	borstelworm
<i>Brachionus arenicolides ecaudata</i>	raderdier
<i>Alphitobius laevigatus</i>	buffaloworm
<i>Tenebrio molitor</i>	meelworm

(Jansen, 2004)

Verder valt ook nog op te merken dat in vulgariserende lectuur de termen wormenmest, wormencompost of vermicompost door elkaar gebruikt worden. Bij regen- en compostwormen kan men niet spreken van mest daar de gehalten aan nutriënten voor de plant te laag zijn. Het gaat echter ook niet om een vorm van compost daar er geen verteringsproces plaatsvindt. In dit hoofdstuk worden deze termen dus gebruikt, in het besef dat ze niet dekkend zijn voor de exacte definitie van de termen.

## 5.2.1. Regenwormen

Genus: *Lumbricus* / *Allolobophora*

Species: *terrestris*, *rubellus*, ... / *caliginosa*, ...

(Taxonomy Omne vivum, 2005).

Regenwormen vindt men overal in de wereld in de bodem. In België en Nederland alleen al leven er ongeveer een twintig regenwormsoorten. Morfologisch zijn ze niet altijd met één oogopslag te onderscheiden. Algemeen kan men stellen dat het om een –tot soms 25 cm lang-wormvormig dier gaat met een spitse kop en een dikker, afgeplat achtereind. Het lichaam is samengesteld uit segmenten met borstels op elk lijfsegment. Rond het lichaam bevindt zich een ringvormige verdikking, het zadel. Dit is een speciale klier, het clitellum, dat de cocon afscheidt. Het beweegt zich voort door middel van samentrekkende bewegingen. De kleur varieert van bruin naar rood en zelfs geel. De roodachtige tint van veel regenwormen wordt veroorzaakt door de kleurstof hemoglobine in het bloed, die zorgt voor het vervoer van de zuurstof. Ademhaling vindt immers plaats via de huid.

De regenwormen maken diepe, verticale gangen en trekken hun voedsel vanaf de oppervlakte naar beneden. Zij spelen een grote rol in de drainage van bodems en voor het in de grond werken van afgevallen bladeren en snoeihoutsnippers. Het opruimen van blad met overwinterende schurftinfectie of snoeihout met kankerinfectie kan het volgende seizoen de ziektedruk aanzienlijk reduceren. Voor de regenworm moet regelmatig in het jaar vers organisch materiaal aanwezig zijn: rijstrookmaaisel en onkruid in de zomer; gevallen blad in herfst en winter en versnipperd snoeihout in de lente.

De kleinere, bleek gekleurde regenwormsoorten (*Allolobophora*-soorten) hebben een oppervlakkig en overwegend horizontaal gangenstelsel. Hun betekenis is vooral het verwerken van organisch materiaal tot stabiele humus. Voor de kleine regenwormen is het van belang dat de bodem beschermd is tegen uitdrogen en temperatuurswisselingen (via mulch, ondergroei ...) (Biologische appels en peren, 2003).

### 5.2.1.1.Productie

De regenworm wordt op de eerste plaats gekweekt voor vissers. De kweek van regenwormen gebeurt in bakken in plasticfolie tunnels (figuur 25). Bij vorst of bij te hoge zomertemperaturen overleven de wormen zonder problemen. Alleen de groei en vermenigvuldiging ervan stagneert en valt stil.



Figuur 25: de kweek van regenwormen.

Voor hun groei vereisen de wormen in eerste instantie een cellulosebron. Vandaar dat hun substraat dan ook uit de volgende componenten bestaat:

- Turf
- Aardappelvezel/Maïskuilvoer (seizoensafhankelijk)
- Afval uit de papierindustrie (dit bevat papiervezels en klei, van de zuivering: Dit materiaal is vermalen en gekookt geweest en bevat dus een zeer toegankelijke cellulosevezel.
- Appel- en/of rode bietenpulp
- Krachtvoer (op basis van granen)

Dit krachtvoer wordt telkens, bij uitputting, als extra laag bovenaan in de bak toegevoegd. Op deze manier geschiedt onderaan de teeltbakken de aangroei van de mestlaag.

Afgelegde eitjes zijn eerst groen en verkleuren uiteindelijk binnen ongeveer een maand tot bruin. Op dat ogenblik zijn de eitjes rijp en verschijnt de volgende generatie wormen. Op die manier neemt de wormenpopulatie gestadig toe.

Men start met de oogst (figuur 26a) van de wormen eens er voldoende kleine (enkele cm's-grote) wormen in de teeltbakken aanwezig zijn.

Daarna gebeurt de scheiding op een trommelzeef (figuur 26b) tussen wormen enerzijds en te kleine wormen, eitjes en wormenmest anderzijds (Mondelinge mededeling: Geeraert, 2005).



Figuur 26: Oogst en scheiding op de trommelzeef (Mondelinge mededeling: Geeraert, 2005).

### 5.2.1.2. Producteigenschappen

Na te zijn afgezeefd, wordt de mest gedurende minstens een maand opgeslagen (figuur 29). Soms treedt er in deze periode broei op in de hoop. Dit is het gevolg van exotherme afbraakreacties van de eventueel nog aanwezige niet opgenomen voedingsstoffen. Een voorbeeld hiervan is 'witte' broei: de ammoniakafbraak gepaard gaande met een witverkleuring van de wormenmest. Deze broei treedt echter niet op indien kort voor de oogst geen voeding (granen) meer worden toegediend.



Figuur 27: stockage van de wormenmest.

Na 1-2 maanden stockage zijn alle voedingsstoffen zijn weggereageerd. Men bekommt dus een stabiel eindproduct op basis van turf dat als bodemverbeterend middel gebruikt kan worden. Men spreekt wel van wormenmest maar omwille van de officiële normen, gaat het hier in feite om een bodemverbeterend middel: gehalten aan NPK liggen te laag om van mest te spreken. Zo bedraagt het gemiddelde gehalte aan stikstof ongeveer  $1.5 \text{ kg/m}^3$ .

Regenwormenmest kan op die manier rechtstreeks als groeisubstraat dienen voor tomaten, andijvie, aardappel (figuur 28) ... , zonder gevaar voor verbrandingsschade aan het gewas. Het substraat waarop de regenwormen worden gekweekt bestaat immers voor een groot percentage uit turf en een cellulosebron. Het wordt vooral in de biologische landbouw aangewend. Wormenmest wordt ook steeds meer als mosverdelger aangewend (Mondelinge mededeling: Geeraert, 2005).





Figuur 28: Groei van de aardappel in regenwormenmest.

Wormenmest wordt vaak op de markt gebracht als een mengsel van 30% wormenmest, 25% turf en 45 % cocospaats met een korrelgrootte die meestal tussen de 0 en 8 mm ligt. Groter is ook mogelijk afhankelijk van de graad van zieving (Jansen,2004).

### 5.2.2.Compostwormen (*Eisenia foetida*)

De officiële naam van de compostworm is *Eisenia foetida*. Het cilindrisch lichaam (35-130 mm lang met een diameter van 3-5 mm) is donkerrood tot paars gekleurd. Door de mogelijke aanwezigheid van oranje dwarsbanden spreekt men ook van de tijgerworm. In tegenstelling tot de regenworm (1) voedt deze soort zich hoofdzakelijk met organisch afval, waarbij ze praktisch geen bodemdeeltjes opnemen en (2) blijven ze in de oppervlakkig gelegen strooisellagen van de bodem; ze maken weinig of geen verticale gangen. Op die manier is deze worm ideaal voor de opstart van compostering en de compostering zelf. Ze zijn sterk, tolerant en praktisch niet vatbaar voor ziekten. Een volwassen worm eet zijn eigen gewicht per 24-48 uur afhankelijk van de temperatuur. De worm maakt eens per week een eicapsule (de band rond een wormenlichaam) met een gemiddelde van 3 jongen. Na 3 tot 4 maanden zijn deze jonge wormen zelf geslachtsrijp (Loof, 2004). Voortplanting (hermafrodit) en andere lichaamsfuncties zijn goed vergelijkbaar met de regenworm.





Figuur 29: De compostworm.

### 5.2.2.1.Productie

Om te composteren met behulp van compostwormen, kiest men best een tegen zon en wind beschutte plaats. Als uitgangsmateriaal mengt men een hoeveelheid mest met organisch afval. Na de thermofiele fase (als het hart van de hoop is afgekoeld tot ongeveer vijftwintig graden) is het tijd om de wormen hun werk te laten doen. Hierbij is het belangrijk dat men geen regenwormen neemt, maar compostwormen. Het is ook interessant om naast de wormen ook wormeneieren mee te inoculeren; op die manier heeft men al gauw wormen van verschillende leeftijden.

Na een aanpassingsperiode voor de wormen van 2 weken, kan men de hoop ophogen met afwisselend afval en mest. De onderste laag van de hoop heeft nu de functie van vluchtlaag. Alles wat men op de hoop gooit, wordt namelijk in eerste instantie aangevallen door warmteproducerende bacteriën en zal dus opwarmen. Veel meer dan 28 graden kan een worm niet verdragen. Door eerst een bufferlaag aangelegd te hebben, kan de worm hierin de temperatuurdaling van zijn bovenliggend voedsel afwachten. In droge periodes is het bovendien aangeraden om de hoop af en toe wat te wateren.

De compostworm kan bevriezen, zorg daarom dat uw hoop zo groot is dat hij niet geheel door kan vriezen (Loof, 2004).

### 5.2.2.2.Producteigenschappen

Het voordeel van het gebruik van wormen boven een gewone composthoop, is dat het eindresultaat een stap verder is verteerd; de plantenvoeding komt gemakkelijker vrij voor de plantenwortels. Daarnaast is het ook arbeidsbesparend; de hoop hoeft men nooit te keren. Daar zorgen de wormen voor.

Uiteindelijk bekomt men een zeer humusrijke compostvorm waarvan de eigenschappen reeds besproken werden in het onderdeel compost (zie hoger).

### 5.2.3.Meelwormen (*Tenebrio molitor*)

Meelwormen (*Tenebrio molitor*) komen over de hele wereld voor maar ze vertonen een duidelijk voorkeur voor donkere plaatsen en voedselvoorraden (graanopslag).



Figuur 30: De larve en de meeltor.

De vrouwelijke kever legt ongeveer 400 eitjes die na 10 tot 20 dagen uitkomen. Het larvestadium duurt, afhankelijk van temperatuur, 1 tot 1,5 jaar waarna ze zich in ongeveer 14 dagen tot volwassen kevers verpoppen. Door deze lange levenscyclus vormen meeltorren slechts zelden een plaag. Alleen in slecht gecontroleerde, langdurig opgeslagen voorraden kunnen zij door verontreiniging en vraat schade veroorzaken.

#### 5.2.3.1.Productie

Meelwormen worden hoofdzakelijk gekweekt als voedsel voor terrariumdieren en vogels en eveneens voor de visvangst. Een nadeel van deze prooien is dat ze zich erg snel verpoppen waardoor ze in bepaalde gevallen minder geschikt zijn als voedseldier. Vooral de larven worden gegeten, poppen en volwassen torren laten sommige terrariumbewoners links liggen. Anderzijds heeft dit wel als voordeel dat er altijd larven van verschillende leeftijd aanwezig zijn. De kweek zelf is eenvoudig en bovendien reukloos. Er wordt gestart met een hoeveelheid meelwormen die in een kist worden gezet. Zeer handig is een houten bak van 60 cm x 50 cm x 10 cm hoog, met als afsluiting een opklapbaar deksel bestaande uit latten, overspannen met muggengaas. Om de larven te beletten uit de kweekbak te kruipen brengt men op de bovenrand van de bak een 4 à 5 cm brede dunne metalen band aan. Een voordeel van zulke kweekbakken is dat men ze kan stapelen, waarbij men wel op een tussenruimte van ongeveer 12 cm moet letten, zodat er steeds voldoende verluchting mogelijk blijft. In de doos wordt een 3 cm dikke laag droog graanmeel of zuivere zemelen aangebracht, aangevuld met een schijfje appel of wortel. In feite heeft de larve weinig behoefte aan vocht, maar de kever, nodig voor de voortplanting, zal zonder vocht niet lang leven. Te veel vocht zou er onvermijdelijk toe leiden dat de temperatuur te hoog oploopt voor goede groei. Daarom wordt in de vochtbehoefte van de wormen voldaan door in beperkte mate wortels of appelschijfjes te verstrekken. Dit substraat

wordt afgedekt met een stuk stof, waaronder jonge wormen beschutting kunnen vinden. De doos wordt op een warme plaats (20 °C) geplaatst om de ontwikkeling te bespoedigen. Nadat de larven uit het ei zijn gekomen duurt het bij deze temperatuur enige weken voor zich gaan verpoppen. Als adult leeft de meeltor nog zo'n twintig dagen. In deze periode leggen de vrouwtjes vele eieren. Na een half jaar moet de helft van de voedingsbodem ververs worden. De jonge meelwormen worden eruit gezeefd en op het verse substraat geplaatst (Mondelinge mededeling: Geeraert, 2005).

### 5.2.3.2.Producteigenschappen

De kweek van deze wormen gebeurt in zeer droge omstandigheden en praktisch voor 100% op zuivere zemelen. Dit heeft bijgevolg zijn invloed op fysische en chemische eigenschappen van de geproduceerde wormenmest. Zo zal het hier gaan om een harde, droge mest die vaak in de handel te krijgen is in pellet-vorm. Ook de gehalten aan voedingsstoffen voor de plant zullen een stuk hoger liggen dan die van regenwormenmest. Gemiddeld bedraagt de NPK van deze mest 3-3-3 kg/m<sup>3</sup> (Mondelinge mededeling: Geeraert, 2005).

### 5.2.4.Buffalowormen (*Alphitobius laevigatus*)



Figuur 31: De buffalokever en larve.

Dit is de 1.5 cm-lange goudbruine larve van de bruinzwart buffalokever.

#### 5.2.4.1.Productie

Deze wormen worden gekweekt om dienst te doen als vogelvoer, hoewel ze –net als meelwormen trouwens- een lage voedingswaarde hebben. De kweekomstandigheden zijn, op een iets hogere temperatuur na, zo goed als analoog met die van de meelworm. Zorg voor een temperatuur van 28-30 °C. Plaats kevers in een afgesloten bak met een laag fijngemalen kuikenmeel, bloem en maïsmeel (verhouding 15:4:1), aangevuld met een wortel of appel. Zeef elke week de kevers eruit en drie weken na uit het ei te komen, bereiken de larven hun maximale grootte (Mondelinge mededeling: Geeraert, 2005).

#### 5.2.4.2.Producteigenschappen

De eigenschappen zijn goed te vergelijken met die meelwormenmest. Hun voedingssubstraat wordt echter gekenmerkt door een uitzonderlijk hoog eiwitgehalte (maïskrachtvoer). Dit geeft uiteindelijk aanleiding tot een enerzijds compacte, en anderzijds agressieve (bevat veel elementen in hoge concentratie) mestsoort. Vooral stikstof bereikt in deze mestsoort -via de eiwitfractie- hoge gehalten (Mondelinge mededeling: Geeraert, 2005). Net als de meelwormenmest kan deze mestsoort alleen in bijmengtoepassing gebruikt worden.

# 6. Proefplant: de tomaat

## 6.1. Inleiding

Voor het experimentele gedeelte viel de keuze op de tomatenplant. Het is niet alleen een gemakkelijk verkrijgbare plant die snel groeit maar bovendien is deze plant gevoelig genoeg om snel visueel waarneembare gebreks- of ziekte symptomen te vertonen.

Om de juiste conclusies te kunnen trekken uit dit experiment, is er een grondige voorkennis van zowel biotische en abiotische ziekten als eventuele schade door plaagorganismen vereist. Daarom wordt er dan ook wat dieper ingegaan op de teelt van de plant.

## 6.2. Classificatie en oorsprong

Rijk: Plantae

Onderrijk: Embryophyta

Fylum: Tracheophyta (vaatplanten)

Subfylum: Pterophytina

Superdivisie: Spermatophyta (zaadplanten)

Divisie Magnoliophyta

Klasse: Angiospermae

Onderklasse: Dicotyledoneae

Orde: Solanales

Familie: Solanaceae (nachtschade-familie)

Genus: *Lycopersicum*

Species: *Lycopersicum esculentum*

(Anderson, 2004)

Het gebied van oorsprong van de tomatenplant situeert zich in Amerika, waar men nu nog steeds in Midden- en Zuid-Amerika een achttal wilde soorten aantreft zoals , *L. pimpinellifolium* (Peru), *L. hirsutum* (Andes) en *L. cheesmanii* (Galapagos Eilanden). Het ging hoofdzakelijk om het droge kustgebied van het huidige Peru. Spaanse veroveraars troffen reeds gecultiveerde planten aan bij de Azteken ('tomatl') en introduceerden de tomaat tenslotte in Europa. De eerste historische melding van de tomaat in Europa situeerde zich in Italië (1544) en Duitsland (1553) waar het ging om een gele vrucht (Pomi d'oro genoemd). Vermoedelijk kwam die in Italië terecht via de Turken. De kweek van tomaten zelf gebeurde voor het eerst in Spanje. Tot de 18<sup>e</sup> eeuw was deze groente niet erg populair in Europa wegens het gerucht giftig te zijn. Later werd de tomaat meer en meer geconsumeerd mede door een aantal periodes van hongersnood. De plant werd omstreeks 1710 via Europa ook in Noord-Amerika geïntroduceerd.

(Mills, 2000)

## 6.3. Algemeen

De tomaat is een subtropische meerjarige C3-plant die in ons gematigd klimaat gekenmerkt wordt door een lange rijping van de vrucht en een eenjarige teelt. Vandaar ook dat men de plant volledig of voor een deel van zijn groei en ontwikkeling onder glas kweekt. Hoewel deze soort net als bepaalde alkaloïde-producerende planten tot de nachtschadigen behoort, is deze plant niet giftig.

- Wortelstelsel: Wortels kunnen zich tot anderhalve meter uitstrekken maar de wortelgroei en -lengte wordt in sterke mate bepaald door bodemeigenschappen en teelttechnische maatregelen. Beschouwt men een dwarsdoorsnede dan is duidelijk een tetrarch xyleem te onderscheiden dat de centrale cilinder vormt van de wortel. Tussen de xyleemuitstulpingen treft men floeem aan dat de cilinder vervolledigt. Deze is op zijn beurt omgeven door één laag pericyclische cellen (de protosteel) en de endodermislaag (bestaande uit enkele lagen cellen en een epidermis).
- Stengel: Kenmerkend bij de tomaat is een vrij dikke stengel die behaard is. Beschadiging van deze haren geeft een typische geur. Hier ontwikkelt zich ook secundair floeem en xyleem. Het vaatweefsel is omgeven door een cortex die naast de endodermis, ook collenchym en fotosynthetische cellen bevat. Het apikale groeiemisteem wordt beschermd door nog niet ontloken bladeren die paarsgewijs worden aangelegd. Er worden 7 tot 11 bladeren aangelegd alvorens de hoofdas een bloeistengel wordt en de groei axiaal wordt voortgezet.
- Blad: De afmetingen kunnen sterk verschillen maar het oppervlak is net als de stengel behaard. Sommige bladeren kunnen tot een halve meter lang met acht zijbladeren worden.
- Vrucht: Plantkundig gezien is dit een bes die zaden bevat in het vlezig pericarp. Ook hier kunnen de vruchten afhankelijk van de soort qua vorm, afmetingen, kleur sterk variëren.
- Zaad: Het zaad is afgeplat en ovaalvormig met als richtafmetingen 5 op 4 op 2 mm. Het bevat het embryo en endosperm en is omgeven door een testa met een lange, zachte beharing.

(Mills, 2000).



Figuur 32: Zaad en blad van de tomaat.

## 6.4. Teelt

Tomatenzaad is erg gevoelig en de ideale kiemtemperatuur bedraagt 15° C. Dit leidt soms tot een slecht opkomstpercentage. Vandaar dat men beter na het zaaien de gezonde zaailingen selecteert en deze 5 tot 7 weken na kieming gaat verspenen om er mee verder te werken. Stekken biedt ook een alternatief.

Zaailingen kunnen best voldoende diep geplant worden; de helft van de stengel mag zich onder het aardoppervlak bevinden. Bij vele soorten is het gebruik van steunstokjes nodig en kan dit plaatsbesparend werken.

Een onregelmatige watergift veroorzaakt ernstige stress. Dit leidt later ook tot radiale en concentrische scheuren in de vrucht. Vandaar dat de plant een humusrijke, goed drainerende maar toch continu vochtige bodem vereist. Hierbij speelt de pH ook een belangrijke rol.



Figuur 33: De vrucht bij waterstress.

Tomaten groeien goed binnen een pH-interval van 5,8-7 (wegens de pH gerelateerde nutriëntbeschikbaarheid) maar vertonen toch een pH-optimum bij 6,5. De compost, gebruikt in de proefopstelling, zou reeds een goede buffer moeten betekenen voor de bodem. Daarnaast verhoogt die de drainage door de bodemstructuur te verbeteren, wat een positief effect heeft op de groei. Het meest voorkomende nutriëntenprobleem wordt gevormd door een calciumgebrek. Dit manifesteert zich als neusrot en is ook gerelateerd aan een watergebrek. Water is immers noodzakelijk voor transport van calcium naar de vrucht.



Figuur 34: Calciumgebrek bij de tomaat.

Daarnaast vraagt de plant veel zon, met een minimum van acht uur per dag, en dit omwille van de productiviteit en niet omwille van de fotoperiodiciteit (daar het een dagneutrale plant is). Ook de temperatuur speelt een rol. De optimale groeitemperatuur ligt tussen de 21 en 24° C. De nachttemperatuur dient boven de 7° C te blijven (Toogood, 2003).

Voor de proef worden de planten in containers gekweekt. Dit biedt een aantal voordelen: De planten nemen minder plaats in, worden niet gehinderd door grond gebonden ziektes en zijn verplaatsbaar, waardoor de omgevingsvoorwaarden beter beheersbaar en eventueel optimaliseerbaar worden.

## 6.5.Ziekten en plagen

Het belangrijkste insect dat schade kan veroorzaken aan de tomatenplant is de witte vlieg (*Trialeurodes vaporariorum*). Zowel de larven als de adulten zuigen plantensap om zich te voeden. Door het afscheiden van "honingdauw" bevuilden zij niet alleen de bladeren maar ook de vruchten, die zo onverkoopbaar worden. Vaak werkt deze honingdauw de groei van roetdauwschimmels in de hand, waardoor de fotosynthese en de ademhaling van de plant belemmerd worden. Naast chemische bestrijding, heeft men ook resultaten kunnen vaststellen met biologische bestrijding via *Nicandra physalodes* (zegelkruid). Enkele van deze planten in de serre blijken te volstaan. (Tomato Gardening Tips, 2003). Nog betere resultaten bekomt door het inzetten van sluipwespen (*Encarsia formosa*).

Daarnaast kunnen ook bladluizen, bladmineerders en spint, afhankelijk van de omgevingsvoorwaarden, bij de tomaat als plaag bestempeld worden.

In de loop van de proeven werd er tijdens de opkweek af en toe schade veroorzaakt door een tripsen-plaag in de fytotron. In figuur 35 is een detail te zien van deze aantasting. Voor evaluatie van de schade werd hier rekening mee gehouden.



Figuur 35: Schade door tripsen.



De tomatenplant is ook een heel gevoelige plant voor een groot aantal ziekten, veroorzaakt door zowel schimmels, bacteriën als virussen:

- Bacteriën:
  - *Corynebacterium michiganense*: besmetting gebeurt via het zaad en veroorzaakt uiteindelijk kankergezwellen. Soms treft men ook verkleuringen aan van de vrucht. Beste oplossing voor deze ziekte is werken met bacterievrij zaad.
  - *Pseudomonas syringae*: Deze ziekte is vooral een probleem bij vochtige weersomstandigheden en deze lipotriche bacterie veroorzaakt donkergroene, vlekvormige verkleuringen bij de tomaat maar daarnaast ook necrose van de vrucht bij vele fruitsoorten.
  - *Pseudomonas solanacearum*: Dit is een grondgebonden bacterie die de plant via de wortels infecteert, met een snelle verwelking als kenmerkend ziektebeeld. Beheersing van deze ziekte kan men het best realiseren via bodemontsmetting of beredeneerde vruchtwisseling.



Figuur 36: Bacteriële kanker en verwelking bij de tomaat.

- Fungi:
  - *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: dit organisme is verantwoordelijk voor verwelking door aantasting van het vasculair systeem van de plant. Het behoort tot een mycotoxine-producerend schimmelgeslacht en de klimatologische omstandigheden van West-Europa zijn uiterst geschikt voor deze schimmel. De beste bestrijding vormt het gebruik van resistente cultivars.
  - *Verticillium dahliae*: deze ziekte is analoog met de vorige maar ideale klimatologische omstandigheden voor groei en ontwikkeling liggen iets noordelijker. De verwelking is het eerst te zien op de oudste bladeren en verplaatst zich later naar hoger gelegen plantendelen.
  - *Phytophthora infestans* en *P. cryptogea*: Dit is de aardappelziekte en valse meeldauw bij tomaat, getypeerd door necrotische vlekken op het blad, omringd door een lichtgroen hof. Aan de bladonderzijde ziet men bij voldoende hoge luchtvochtigheid de sporangioforen onder vorm van witgrijs schimmelpluis. De ziekte breidt zich zeer snel uit en vereist een fungicidenbehandeling.
  - *Didymella lycopersici*: veroorzaakt een fungale kanker met ingezonken bruine vlekken ter hoogte van de stengelbasis. Typisch is ook het voorkomen van zwart gekleurde schimmelvruchtlichamen in de cortex van de plant.

- *Colletotrichum phomoides* : dit is de veroorzaker van anthracnose bij de tomaat, namelijk diepingezonken vlekken op de vrucht. Vruchtwisseling is hier de belangrijkste vorm van ziektebeheersing.



Figuur 37: Verwelking door *Fusarium* en anthracnose.

- Virussen: Tal van virussen zoals PVy (aardappelvirus), TMV (tabak mozaïek virus), CMV (komkommer mozaïek Virus), Tomato Spotted Wilt Virus (bronsvlekkenziekte), Curly Top Virus ... kunnen ziektes veroorzaken bij de tomaat met uiteenlopende symptomen (cf. virusnaam). Ontsmetting en insectenbestrijding zijn twee mogelijke vormen van beheersing. (Mills, 2000)



Figuur 38 : symptomen van respectievelijk TMV, CMV, PVy en TSWV bij tomaat.

## Deel 2: Experimentele gedeelte

# 7. Experimenteel gedeelte

## 7.1. Materiaal en methoden

### 7.1.1. Proefplant: tomatenplant

Als proefplant werd de tomatenplant (SOMERS Hoogronde tomaat *ROMA*) gebruikt, gekenmerkt door:

- Vroege teelt : zaai in februari-maart
- Zaai- en opkweektemperatuur: 18-20 °C
- Standaard zaden E.E.G. systeem Reg N° 13322

### 7.1.2. Substraten

#### 7.1.2.1. Potgrond

In de loop van het experimentele gedeelte werden verschillende soorten potgrond aangewend. Hieronder wordt dan ook een overzicht van de vier verschillende soorten met hun respectievelijke eigenschappen weergegeven:

- Zaai- en stekgrond AGROFINO
  - Samenstelling: TTA; TSA; perliet; wit zand 0/1; Ca en Mg
  - Droge Stof: 35 %
  - Organische Stof: 23 %
  - pH(H<sub>2</sub>O): 5-6.5
  - EC: 200 µS/cm
  - Mest: N-P-K 14-16-18: 0.5 kg/m<sup>3</sup>
  
- Potgrond voor kamerplanten BRICO
  - Samenstelling: bonkveen, gecomposteerde naaldhoutschors, perliet en Ca- en Mg-meststoffen
  - Droge Stof: 25 %
  - Organische Stof: 20 %
  - pH(H<sub>2</sub>O): 5-6.5
  - EC: 350 µS/cm
  - Samengestelde meststof met isobutylideendiureum: N-P-K(+Mg) 16-7-15(+2): 1.0 kg/m<sup>3</sup>

- Universele Potgrond AVEVE
  - Droge Stof: 30 %
  - Organische Stof: 25 %
  - pH(H<sub>2</sub>O): 5-6.5
  - EC: 450-500 μS/cm
  - Samengestelde meststof N-P-K(+sporenelementen) 15-10-20: 1.4 kg/m<sup>3</sup>
  
- Universele Potgrond VIANO
  - Droge Stof: 25 %
  - Organische Stof: 20 %
  - pH(H<sub>2</sub>O): 5-6.5
  - EC: 500 μS/cm
  - N-P-K(+sporenelementen) 14-16-18: 1.0 kg/m<sup>3</sup>
  - Samengestelde meststof: N-P-K 7-3-8: 1.0 kg/m<sup>3</sup>

### 7.1.2.2.Compost

De compost werd ter beschikking gesteld door ESSENT Milieu België (De Regenboog 11, 2800 MECHELEN).

Voor de eigenschappen van compost werd in het Centrum voor Toegepast Onderzoek en dienstverlening (CTO, Hogeschool Gent; Voskenslaan 270, 9000 GENT) volgende grootheden bepaald:

➤ Volumedichtheid:

Voor de volumedichtheid werd de massa van 2 l compost bepaald: 1263 g

=> Volumedichtheid = 631.5 g/l

➤ pH in suspensie 1/5 (vol/vol)

Hiervoor werd 12.6 g compost in 100 ml zeer zuiver water gesuspenseerd wat uiteindelijk een pH gaf van 8.71.

➤ Bepaling op waterextract 1/5 (vol/vol)

Hiervoor werd 31.6 g compost in 250 ml zeer zuiver water gesuspenseerd.

Vervolgens werd enerzijds de geleidbaarheid gemeten met een EC-meter:

- EC = 1040 μS/cm

Anderzijds werd van dit extract ook de hoeveelheid ammoniakale en nitraat/nitriet-stikstof (de oplosbare stikstof) bepaald.

- (NO<sub>3</sub> + NO<sub>2</sub>)-N = 41.1 mg (NO<sub>3</sub> + NO<sub>2</sub>) / kg<sub>compost</sub> (= 0.004 %N)

⇒ (NH<sub>4</sub>)-N = 178 mg (NH<sub>4</sub>) / kg<sub>compost</sub> (= 0.018 %N)

Op deze manier kan men ook de ammonium/nitraat-verhouding bepalen, een maat voor de maturiteit van compost (zie 4.2.6.4 Meetmethoden):

$$\text{NH}_4/\text{NO}_3 = 4.33$$

### 7.1.2.3. Wormenmest

#### → **Wormenmest 1:**

Deze wormenmest werd ter beschikking gesteld door ORGAME Ranschaert (Kanegemstraat 4, 8700 TIELT).

In de inleiding werd reeds aangehaald dat een reden van de keuze van dit thesisonderwerp, het schadegeval was bij Krist Haemerlinck. Daarom werd in de proeven dezelfde wormenmest (figuur 40) gebruikt, namelijk van ORGAME Ranschaert. De teler in kwestie ging met een bodem te werk, waarin 100 ton groencompost per ha werd gemengd in december. Daarnaast werd er ook 10 ton wormenmest per hectare ingewerkt. Dit kwam neer op een N-bemesting van ongeveer 500 kg N per ha via wormenmest en 700 kg per ha via compost. De groencompost was goed gestabiliseerd en meer dan één jaar oud.

Aangezien de zuurtegraad en de EC-waarde twee belangrijke plantengroei-beïnvloedende parameters zijn, werden deze grootheden ook bij de wormenmest bepaald. Hiervoor werd een 1/5 volume water extract uitgevoerd: 1 volumedeel mestkorrels in 5 volumedelen leidingwater: 125 ml korrels in 625 ml water.

Meting op het extractiewater van de wormenmest korrels gaf volgend resultaat voor het extractiewater na het affiltreren van de vaste fase:

$$\Rightarrow EC = 5.75 \text{ mS/cm}$$

Na meting met een pH-meter (verzadigde kalomel referentie-elektrode en een glasmaatelektrode) bleek de zuurtegraad van het extractiewater 6.25 te bedragen.



Figuur 40: Wormenmest 1.

Daarnaast werd in het laboratorium van het CTO via de methode van Dumas het totaal stikstofgehalte en koolstofgehalte bepaald. Dit werd uitgevoerd op het VarioMax-toestel (Elementar Analysensysteme GmbH) dat een simultane koolstof- en stikstofbepaling van een monster mogelijk maakt:

- %C = 36.98 %
- %N = 7.502 %

Op die manier kan men ook het organische stof gehalte berekenen, namelijk door %C te vermenigvuldigen met een factor 1.8:

- %O.S. = 66.564 %

→ **Wormenmest 2:**

Deze wormenmest werd ter beschikking gesteld door ECOCULT Geeraert (Oostnieuwkerksesteenweg 176, 8800 ROESELARE).

Ter illustratie van de grote fysico-chemische verschillen tussen verschillende soorten wormenmest, werd van een staal van een andere producent (figuur 41) een aantal grootheden bepaald.

Ook van dit staal werd dus de EC-waarde bepaald. Hiervoor werd een 1/5 volume water extract uitgevoerd: 1 volumedeel mestkorrels in 5 volumedelen leidingwater: 50 ml korrels in 250 ml water.

Meting op het extractiewater van de wormenmest korrels gaf volgend resultaat voor het extractiewater na het affiltreren van de vaste fase:

- ⇒ EC = 0.387 mS/cm



Figuur 41: Wormenmest 2.

Ook van dit staal werd opnieuw via de methode van Dumas het totaal N-gehalte van het monster bepaald en het totaal C-gehalte:

- %C = 14.90 %
- %N = 0.385 %

Hieruit kon dan weer het organische stof-gehalte berekend worden:

- %O.S. = 26.82 %

Uit deze eigenschappen kan men concluderen dat alleen 'wormenmest 2' geschikt is om rechtstreeks toe te passen als substraat voor planten (zie 5.2.3.3 en 5.2.4.2 producteigenschappen). De EC-waarde (5.75 mS/cm) van 'wormenmest 1' ligt immers veel te hoog. Bovendien blijkt uit het hoge N-gehalte (7.5 %) en het C-gehalte dat meer dan twee maal zo hoog ligt als dat van 'wormenmest 2', dat 'wormenmest 1' alleen geschikt is voor

bijmengtoepassingen in het plantensubstraat. Men kan 'wormenmest 2' dus als wormencompost beschouwen, een bodemverbeterend middel, aangezien voor een meststof meer N aanwezig dient te zijn (>3 %).

### 7.1.3. Bemesting

Drie weken na het uitzaaien van de zaaadjes in het zaaibed, werd er vanuit gegaan dat de meststoffenvoorraad van de zaai- en stekgrond uitgeput was. Van dan af werd het zaaibed één maal in de week begoten met vloeibare meststof. Hiervoor werd Peters® Excel™ wateroplosbare meststof voor hard water van de firma Grace-Sierra gebruikt. In hard water (met veel bicarbonaten en een hoge pH), wat hier het geval was aangezien leidingwater werd gebruikt, is de opgeloste voeding slecht beschikbaar voor de plant. Peters® Excel™ voor hard water heeft een verzurend effect in het gietwater, waardoor de plantennutriënten (vooral elementen zoals ijzer, mangaan, calcium en fosfaat) goed beschikbaar blijven. Bijkomend voordelen zijn:

- Er ontstaat geen neerslag van  $\text{CaSO}_4$  waardoor de bladeren schoon blijven.
- Er treedt geen uitvloeking op.
- Er dient geen extra zuur (salpeter- of zwavelzuur) toegediend te worden waardoor er ook geen gevaar bestaat dat de NPK verhouding gewijzigd wordt.

De keuze viel op Peters® Excel™ 21-5-20 + sporenelementen in een concentratie van 1g/l. De precieze samenstelling ervan is weergegeven in tabel 14. De bereide oplossing werd in een afgesloten recipiënt in het donker bewaard. Op deze manier werd algengroei en concentratieveranderingen (met hiermee gepaard gaand wijzigingen in de EC) verhinderd.

Tabel 14: Samenstelling van Peters® Excel™ 21-5-20 + sporenelementen voor hard water.

Nutriënten	Gegarandeerde samenstelling in %
Totaal stikstof N	21.00
° Ammonium	6.51
° Nitraat	12.60
° Ureum	1.89
Fosforzuuranhydride $\text{P}_2\text{O}_5$	5.00
Kaliumoxide $\text{K}_2\text{O}$	20.00
IJzer EDTA Fe	0.10
Borium B	0.02
Koper Cu	0.01
Mangaan Mn	0.05
Molybdeen Mo	0.01
Zink Zn	0.07

### 7.1.4. Proefopzet

Het proefopzet bestond uit volgende onderdelen:



- Zaaïen van de proefplanten.
- Opkweek van de proefplanten.
- Snoei van de proefplanten.
- NH<sub>3</sub>-proeven.

#### 7.1.4.1.Zaaïen van de proefplanten

Het zaaïbed (zaai- en stekgrond AGROFINO) werd in groeikamers gezet en in de loop van de proeven werd drie maal opnieuw gestart met nieuw plantenmateriaal. Er werd dus drie maal gezaaid: een eerste maal op 06 okt. '04, een tweede maal op 03 nov. '04 en tenslotte nog eens op 12 febr. '05. Gemiddeld genomen werd er na anderhalve week kieming waargenomen. Zo kiemden de zaaïingen van de eerste zaaï op 11 okt. '04.

De groeiomstandigheden in de fytotron waren de volgende:

- Fytotron:
  - Dagtemperatuur: 20 °C
  - Nachttemperatuur: 20 °C
  - RLV: 61 %
  - Belichtingsduur: 06.00h – 21.00h
  - Ook de lichtintensiteit werd gemeten met een PAR(Photosynthetic Active Radiation)-meter. Dit leverde op de verschillende plaatsen in de fytotron volgende waarden op: 150, 130, 223, 205, 268 µE/m<sup>2</sup>.s. Er was dus een vrij grote variatie in lichtsterkte aanwezig in de fytotron met een gemiddelde waarde van 195.2 µE/m<sup>2</sup>.s.

Na een tweetal weken (voor de eerste zaaïingen was dit op 18 oktober) werd de RV iets verlaagd en de nachttemperatuur verminderd tot 15° C. Op deze wijze werden de kiemplantjes in het zaaïbed min of meer afgehard. Anderzijds werd de groei door de lagere nachttemperatuur iets geremd om over een langere periode blijvend over zaaïingen te beschikken. Op dat ogenblik werd ook gestart met bemesting via Peters® Excel™ 21-5-20 + sporenelementen.

#### 7.1.4.2.Opkweek van de proefplanten

Ook hier werd drie maal opnieuw verspeend. Daarbij werden de zaaïingen overgepot in containers van 7x7 cm (figuur 42):

- Eerste maal: 25 okt. 04
- Tweede maal: 18 nov. 04: Hierbij werd een deel verspeend van de nog overblijvende zaaïingen van de eerste uitzaai en eveneens van de tweede uitzaai.
  - eerste uitzaai (leeftijd: 1 maand en 12 dagen)
  - 4 planten van de tweede uitzaai (leeftijd: 15 dagen)

- Derde maal: 23 feb. 05 (van de derde uitzaai).



Figuur 42: Verspeend in containers van 7x7 cm.

Als substraat voor de verspeende planten werd de eerste twee maal 'potgrond voor kamerplanten BRICO' en de derde maal 'Universele Potgrond AVEVE' gebruikt.

Wekelijks werden opnieuw extra nutriënten toegevoegd via het gietwater onder vorm van Peters® Excel™ 21-5-20 + sporenelementen in een concentratie van 1g/l.

Vanaf 23 nov. 04 bleek duidelijk dat de planten met een dosis van 1 g/l over onvoldoende nutriënten beschikten. Vandaar dat vanaf dat moment aan de verspeende planten Peters® Excel™ 21-5-20 + sporenelementen in een concentratie van 3 g/l werd toegediend. Later werd, voor de planten van de tweede en derde verspeenbeurt, onmiddellijk deze dosis toegediend.

Na het verspenen werden de containers in een andere groeikamer geplaatst onder volgende omstandigheden:

- Fytotron: groei-instellingen voor de verspeende planten:
  - Dagtemperatuur: 20 °C
  - Nachttemperatuur: 20 °C
  - RLV: 56 %
  - Belichtingsduur: 19.00h – 08.00h
  - Extra belichting met hoge intensiteit: 09.30h – 02.30h
  - Lichtintensiteit werd gemeten met een PAR-meter: 195.2  $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ .

#### 7.1.4.3. Snoei van de proefplanten

Op 17 nov. 04 werd overgegaan tot snoei van de proefplanten van de eerste uitzaai, waarop nog geen proeven waren uitgevoerd. Deze planten werden immers te groot voor de recipiënten waarin de experimenten werden uitgevoerd. Daarom werden ze gesnoeid tot net boven het 2<sup>e</sup>

echte blad (figuur 43). Daarna werden ze opnieuw onder dezelfde omstandigheden in de fytotron bewaard waardoor ze konden uitgroeien tot kortere, compactere planten die eveneens niet meer geëtioleerd waren. Tenslotte werden op deze planten ook proeven gedaan om na te gaan of er een verschil in effect waar te nemen was vanwege ammoniak bij enerzijds geëtioleerde en oudere niet-geëtioleerde planten anderzijds.



Figuur 43: De hoogte en het resultaat van de snoei.

#### 7.1.4.4.NH<sub>3</sub>-proeven

De proefopstelling bestond in eerste instantie uit een glazen kolf van 4000 ml (figuur 44) met een kleine afsluitbare opening langs de bovenzijde. Op deze wijze kan er nog voldoende zuurstof de plant bereiken zonder overmatig ammoniakverlies (zwaarder dan lucht). In de kolf werden 4 containers geplaatst en het meettoestel (iTX; zie 3.2.2). Daarnaast was er ook steeds een beker met 50 ml water aanwezig, waaraan er al dan niet een hoeveelheid NH<sub>4</sub>OH werd toegevoegd. Op deze manier was er een steeds voldoende vochtigheid in de omgeving van de proefplanten

en kon er ammoniak verspreid worden in de stolp. Om praktische redenen werden de proeven in kolven uitgevoerd op een andere plaats dan de fytotron. Die plaats werd gekenmerkt door een temperatuur van 16 °C en de lichtintensiteit en belichtingsduur waren dezelfde als in buitenomstandigheden.



Figuur 44: Glazen 4000 ml-kolf.

Om ammoniak vanuit een vloeistof fase in de lucht te krijgen, bleken er twee manieren praktisch haalbaar:

1. Het toevoegen van het zout ammoniumcitraat aan water. Ammoniak wordt vrijgesteld door de bekomen verdunde oplossing geleidelijk aan te zuren.
2. Het toevoegen van de base  $\text{NH}_4\text{OH}$  aan gedemineraliseerd water. Ammoniak wordt vrijgesteld zodra enkele druppels van die base aan water worden toegevoegd als gevolg van de autoprotolyse van water ( $\text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{OH}^-$ )

Uiteindelijk werd voor de laatste manier van ammoniakvrijstelling geopteerd.



Figuur 45: Stadium waarin de plant werd gebruikt voor de proef.

Tijdens de duur van de proeven werden bepaalde planten te groot om nog in de kolven te gebruiken. Aangezien het wenselijk was ook het effect bij oudere planten na te gaan, werd verder gewerkt met een andere proefopstelling. In plaats van kolven werden grotere plasticen tonnetjes gebruikt (figuur 46). Deze tonnen hadden een inhoud van 18820 ml. Hierin werden opnieuw 3 containers geplaatst en een beker met 50 ml water en een afgemeten dosis  $\text{NH}_4\text{OH}$ .



Figuur 46: Beeld van de proefopstelling.

Op deze wijze werd ook het effect onderzocht van ammoniak in grotere volumes (realistischer) en bij oudere, grotere planten. Het stadium waarin de plant zich bevond op het ogenblik van deze proef, is te zien op figuur 47. Op de foto is duidelijk chlorose van de kiemblaadjes merkbaar, allicht te wijten aan voedingstekorten (zie 2.2.1 Functies van N in de plant). Daarom werd geen rekening gehouden in deze proef met eventuele schade aan de kiemblaadjes.



Figuur 47: Stadium van de proefplant voor proef.

### 7.1.5.Meetapparatuur

In de loop van de proeven werd uitsluitend gebruik gemaakt van de ammoniakmeter type iTX Multi-gas Monitor type 304 voor  $\text{NH}_3$ -meting. In feite gaat het hier niet om een ammoniakmeter maar om een multi-gasmeter. Het toestel is vooral geschikt voor het meten van gevaarlijke stoffen in fabriekslucht. Hierbij kunnen tot zes gassoorten tegelijkertijd gemeten worden. Op die manier kan de veiligheid voor werknemers gegarandeerd worden. Mits aanpassing van de sensor van het toestel is één van die gassen ammoniak. Voor nauwkeurige metingen zijn hier echter wel beperkingen (zie tabel 15). Zo blijkt het het best om de meetcel constant onder stroom te houden (en dus het toestel zoveel mogelijk in de lader te laten zitten). Dit zal de leefbaarheid en de meetnauwkeurigheid van de ammoniaksensor positief beïnvloeden aangezien de cel weg reageert bij hoge concentraties ammoniak in afwezigheid van spanning over de cel. De case van dit toestel is gemaakt van roestvrij staal en meet 121x81x43 mm met een gewicht (inclusief de lithium ion batterij) van 525 g. Er is een herlaadbare batterij voorzien voor de mobiliteit van het toestel. De werking van de sensor (type) is afhankelijk van het te meten gas en is gebaseerd op katalytische diffusie of op elektrochemische reacties.



Figuur 48: De iTX Multi-gas Monitor.

Tabel 15: Meetbereik van de iTX Multi-gas Monitor (Industrial Scientific Corporation, 2004).

Soort gas	Meetbereik
LEL	50 ppm-100 % LEL (Lowest Exposure Level voor een mix van mogelijk explosieve gassen).
CH <sub>4</sub>	0-5.0 % CH <sub>4</sub> met 0.1 % schaalverdeling
O <sub>2</sub>	0-30.0 % O <sub>2</sub> met 0.1 % schaalverdeling
CO, H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S, NO, CO/H <sub>2</sub>	0-999 ppm met 1 ppm schaalverdeling
SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub>	0.2-99.9 ppm met 0.1 ppm schaalverdeling
Cl <sub>2</sub>	0.2-50.0 ppm met 0.1 ppm schaalverdeling
HCl, HCN	0.2-30.0 ppm met 0.1 ppm schaalverdeling
NH <sub>3</sub>	0-200 ppm met 1 ppm schaalverdeling (weergegeven concentraties 999 ppm)
ClO <sub>2</sub> , PH <sub>3</sub>	0-1 ppm met 0.01 ppm schaalverdeling

Verder is het toestel ook beveiligd voor radio frequentie interferentie, gecertificeerd volgens de Europese norm EN50081-2. Interessante andere voorzieningen op het toestel zijn:

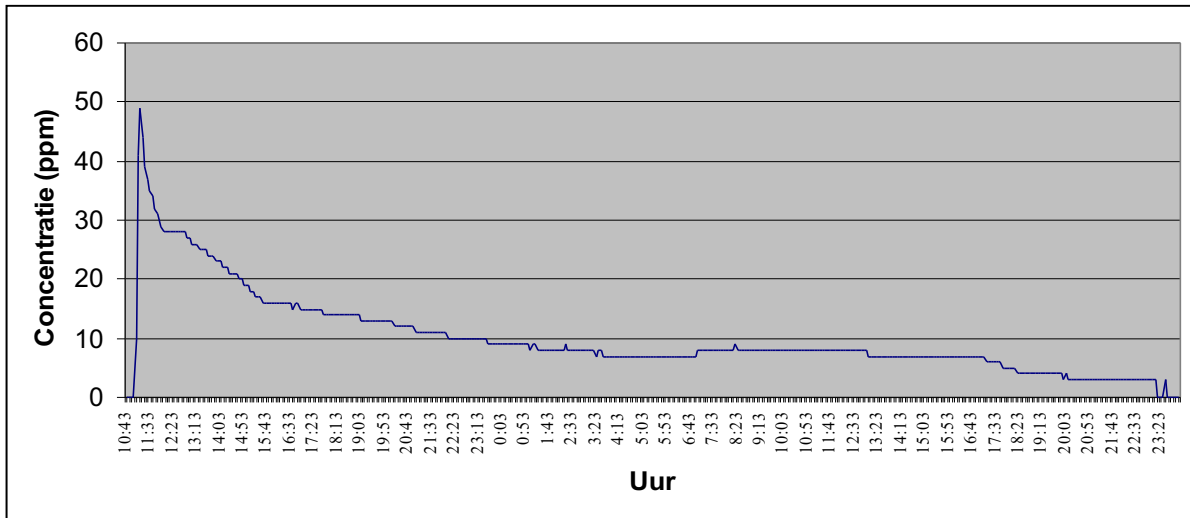
- Zoals reeds aangehaald zijn er tot zes in de praktijk en onderling uitwisselbare sensoren beschikbaar.
- Hoewel ammoniak een vrij moeilijk detecteerbaar gas is is er een vier-electrode ammoniaksensor voor handen.
- Snel kalibreren kan gebeuren met één knop. De kalibreringsinstellingen zijn net als de alarminstellingen beveiligd met een toegangscode.
- Er zijn tot 4 verschillende alarm-concentraties (ppm) voor een gas, afzonderlijk instelbaar door de gebruiker.
- Er is mogelijkheid tot 300 uur opslagcapaciteit in intervallen van 1 minuut.

## 7.2.Resultaten

### 7.2.1.Blancometing 1

#### 7.2.1.1.Proefopstelling

Bij deze proef werd een glazen kolf van 4000 ml aangewend waarin 200 µl 25 % ammoniak in 50 ml H<sub>2</sub>O werd gedoseerd. Voor deze blanco proef werd er op gelet dat de omstandigheden identiek waren als de daaropvolgende effectieve metingen. Daarom stonden er ook al vier met potgrond voor kamerplanten BRICO, gevulde containers in de kolf voor een blanco meting zonder planten. Daarop werd het meettoestel gelegd. Aldus kon er geen discussie bestaan over verschillen in volume van de kolf en hoogte van de sensor. Ook de openingsgraad van de uitstroomopening bovenaan werd identiek genomen (volledig geopend).



Figuur 49: Resultaten van blancometing 1.

### 7.2.1.2. Bespreking

Deze proef bleek toch sterk af te wijken van een voorgaande verkennende proef. Bij die verkennende proef werd hetzelfde uitgevoerd als de 'blancometing 1' met dat verschil dat de kolf volledig leeg was, dus zonder potgrond en een gesloten uitstroomopening. Bij die verkennende proef werden volgende meetwaarden genoteerd: een maximale ammoniakconcentratie van 170 ppm binnen enkele uren, waarna de concentratie langzaam afnam om circa 0 te worden op de vijfde dag. Dit wijkt sterk af van de piek van 50 ppm en het 0 worden na anderhalve dag bij 'blancometing 1'.

Men kan uit deze proef besluiten dat het verschil in gemeten waarden tussen beide proeven (verkennde proef en blancometing 1) niet zozeer te wijten is aan de openingsgraad van de uitstroomopening maar vooral aan de aanwezigheid van potgrond in de kolf. Ammoniak bezit immers een hoger soortelijk gewicht dan lucht waardoor het niet snel de neiging vertoont om via de hoger gelegen uitstroomopening te ontsnappen. Enerzijds veroorzaakt de waterhoudende potgrond veel condens, anderzijds kan dit substraat heel wat ammoniak vastleggen doordat het nitrificerende micro-organismen bevat. De condens is er op zijn beurt dan weer voor verantwoordelijk dat een deel van de ammoniak terug wordt omgezet in  $\text{NH}_4\text{OH}$  ( $\text{NH}_4\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{NH}_3 + 2\text{H}_2\text{O}$ ), een stof die de meetcel niet kan detecteren.

### 7.2.2. Plantenproef 1



### 7.2.2.1. Proefopstelling

In deze proef werd opnieuw met 4000 ml glazen kolven gewerkt waarbij er 3 planten (in een container) per kolf werden geplaatst. In de kolven werd 200 µl 25 % ammoniak in 50 ml H<sub>2</sub>O gedoseerd, met uitzondering van één kolf die als referentie diende. De uitstroomopening werd open gelaten en de proef werd aangevat op 03 nov. 04. Als variërende parameter werd de tijd genomen. Via de ammoniakmeter werd getracht na te gaan wat de concentraties waren waaraan de plant gedurende 1 tot 5 dagen onderhevig was en werd de schade, via controle met referentieplanten ( en gezondheidsklassen), opgevolgd.

➤ Proefopstelling en einde proef:

- kolf 1: met ammoniak: 04 nov. 04; 15.45h (1 dag)
- kolf 2: met ammoniak: 05 nov. 04; 08.15h (1.5 dagen)
- kolf 3: met ammoniak: 05 nov. 04; 15.45h (2 dagen)
- kolf 4: met ammoniak: 08 nov. 04 + iTX-meter; 12.00h (5 dagen)
- kolf 5: geen ammoniak (alleen 50 ml water), referentie planten: 08 nov 04; 12.00h (5dagen)



Figuur 50 : Proefplanten kolf 1, 1 dag na de proef.



Figuur 51: Referentieplanten in de proefopstelling.

Voorafgaand werden vijf gezondheidsklassen opgesteld voor de proefplanten om op objectieve wijze de schade te kunnen evalueren als gevolg van ammoniak. Dit gebeurde naar analogie van het onderzoek van Dandrieux et al. (2001) (zie 1.4.3). Daarna werd nauwkeurig de schade van elke proefplant genoteerd, een eerste maal onmiddellijk na het beëindigen van de proef, een tweede maal twee weken na de proef.

➤ Gezondheidsklassen:

- Klasse I: Geen verschil met de referentieplanten
- Klasse II: Verdroging en vergeling van de bladtoppen in de eerste dag na blootstelling.
- Klasse III: Analoge fenomenen als in de vorige klasse maar de vergeling en verdroging komt nu voor op gans het blad en de groei van de hoofdas wordt tijdelijk volledig gestopt. Aanleg van zijscheuten.
- Klasse IV: Dood van alle bladeren als gevolg van de vergeling en verdroging en vorming en uitgroei van zijscheuten. De groei van de hoofdas wordt permanent gestopt.
- Klasse V: Dood van de proefplant

De visuele schade zichtbaar onmiddellijk na het uit de kolf nemen van de plant:

kolf 1 (1 dag):

- omknikken van alle bladeren
- verwelking
- paarsverkleuring van de onderkant van de bladeren en de blad toppen
- ter hoogte van de verkleuring was het weefsel eveneens erg transparant, wat duidelijk wijst op weefselbeschadiging.

kolf 2 (1.5 dagen): idem

kolf 3 (2 dagen): idem

kolf 4 (5 dagen): idem maar ook reeds weefselschade aan de topscheut

kolf 5, referentie:

- geen omknikken en alle bladeren zagen er gezond uit
- geen verwelking maar wel etiolatie
- paarsverkleuring van de onderkant van de bladeren en de blad toppen
- ter hoogte van de verkleuring was het weefsel echter niet transparant, dus niet beschadigd.



Figuur 52: Resultaat van de 2<sup>e</sup> proef op 08 nov. 04.



Figuur 53: Paarsverkleuring bij de referentieplant.

De visuele schade na 1-2 weken (17 nov. 04):

kolf 1 (1 dag):

- de kiemblaadjes volledig afgestorven en verdwenen
- eerste echte blad afgestorven en volledig verdwenen
- tweede en derde echte blad: bladtop afgestorven en volledig verdwenen, de rest van het blad vergeeld

kolf 2 (1.5 dagen):

- de kiemblaadjes volledig afgestorven en verdwenen
- eerste, tweede en derde echte blad afgestorven en volledig verdwenen
- de rest van de echte bladeren: hier en daar vergeeld

kolf 3 (2 dagen):

- idem als kolf 2

kolf 4 (5 dagen):

- de kiemblaadjes volledig afgestorven en verdwenen
- eerste 4 echte bladeren afgestorven en volledig verdwenen
- de rest van de echte bladeren: hier en daar vergeeld
- alleen de topscheut en stengel vertoonden nog steeds geen visuele schade
- een opvallende groeiachterstand t.a.v. de andere behandelde planten, en zeker t.a.v. de referentie

kolf 5, referentie:

- opvallend groter maar niet alleen door etiolatie aangezien de bladoppervlakte een stuk groter was dan de behandelde specimen.
- alleen chlorose van de kiemblaadjes, te wijten aan voedselgebrek en een te dicht bovenliggend bladerdek



Figuur 54: Visuele schade op 11 november 2004.



Tabel 16: Gezondheidsklassen bij plantenproef 1: I = gezond, IV = dood.

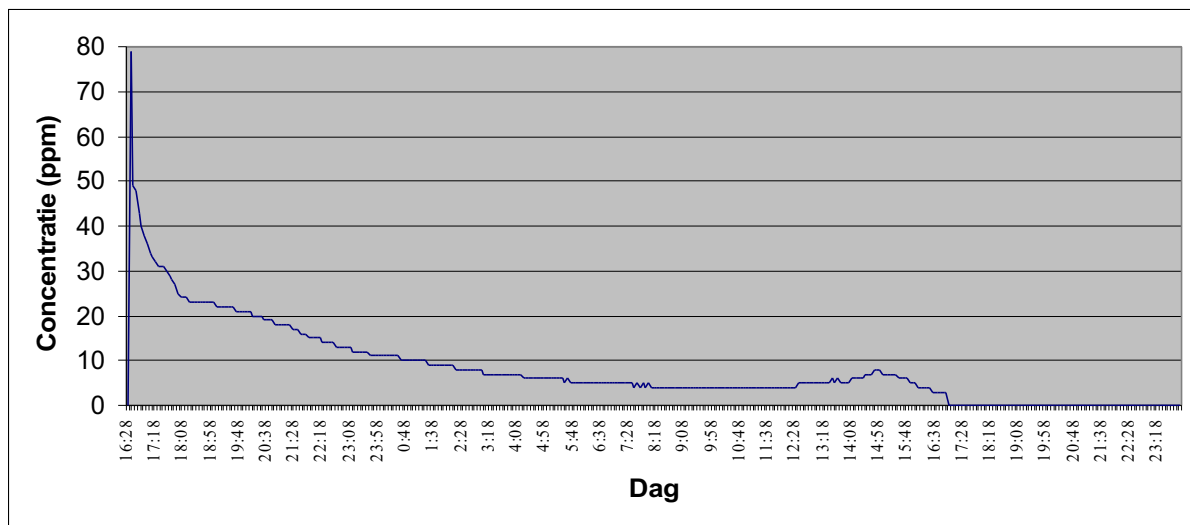
Visuele schade:	Direct na de proef	Twee weken na de proef
Referentie  => Klasse I	<ul style="list-style-type: none"> <li>• geen omknikken.</li> <li>• geen verwelking.</li> <li>• paarsverkleuring</li> <li>• verkleuring: geen weefselschade.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• opvallend groter: etiolatie + groter bladoppervlakte.</li> <li>• chlorose kiemblaadjes: voedselgebrek + te dicht bladerdek.</li> </ul>
Kolf 1 (1 d)  => Klasse II	<ul style="list-style-type: none"> <li>• omknikken.</li> <li>• verwelking.</li> <li>• paarsverkleuring bladonderkant/blad toppen.</li> <li>• verkleuring: weefselschade.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kiemblaadjes dood.</li> <li>• eerste echte blad dood.</li> <li>• tweede en derde echte blad: bladtop dood + rest vergeeld.</li> </ul>
Kolf 2 (1.5 d)  => Klasse II	<ul style="list-style-type: none"> <li>• omknikken.</li> <li>• verwelking.</li> <li>• paarsverkleuring bladonderkant/blad toppen.</li> <li>• verkleuring: weefselschade.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kiemblaadjes dood.</li> <li>• eerste 3 echte blad dood.</li> <li>• rest: hier en daar vergeeld.</li> </ul>
Kolf 3 (2 d)  => Klasse II	<ul style="list-style-type: none"> <li>• omknikken.</li> <li>• verwelking.</li> <li>• paarsverkleuring bladonderkant/blad toppen.</li> <li>• verkleuring: weefselschade.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kiemblaadjes dood.</li> <li>• eerste 3 echte bladeren dood.</li> <li>• rest: hier en daar vergeeld.</li> </ul>
Kolf 4 (5 d)  => Klasse III	<ul style="list-style-type: none"> <li>• omknikken.</li> <li>• verwelking.</li> <li>• paarsverkleuring bladonderkant/blad toppen.</li> <li>• verkleuring: weefselschade.</li> <li>• Topscheut: weefselschade.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kiemblaadjes dood.</li> <li>• eerste 4 echte bladeren dood.</li> <li>• rest: vergeeld.</li> <li>• Alleen topscheut + stengel: geen visuele schade.</li> <li>• Zware groeiachterstand t.a.v. andere kolven.</li> </ul>

Na de proef werden de planten onmiddellijk terug in de fytotron geplaatst en eventueel voorzien van nutriënten via het gietwater onder vorm van Peters® Excel™ 21-5-20 + sporenelementen in een concentratie van 1g/l. :

- Fytotron: groei-instellingen voor de planten na de blootstelling:
  - Dagtemperatuur: 20 °C
  - Nachttemperatuur: 20 °C
  - RLV: 56 %
  - Belichtingsduur: 19.00h – 08.00h
  - Extra belichting met hoge intensiteit: 09.30h – 02.30h

Opmerking: De eerste maal dat deze proef werd uitgevoerd, strookten de resultaten totaal niet met de verwachtingen wat betreft ammoniakconcentraties. Er werd namelijk kort na de start van de proef een piekconcentratie gemeten van 250 ppm. Naast een instrumentele fout door een afwijking van de ammoniakmeetcel, kan de oorzaak ook liggen bij het feit dat de potgrond zodanig waterverzadigd was dat alle bodemporiën gevuld waren met vocht. Op die manier kon er minder ammoniak in de bodem doordringen waardoor de afbraak van ammoniak vertraagd werd. Zo bleef er langer meer ammoniak in de stolp.

Daarom werd de proef herhaald onder dezelfde omstandigheden (waarbij de ouderdom van de planten eveneens één maand bedroeg).



Figuur 55: Resultaten van de ammoniak meting van plantenproef 1.

Van alle planten werd zowel de stengellengte als de stengel- en bladlengte samen opgemeten.

Tabel 17: Resultaten van de meting van de stengellengte op 17 nov. 04.

proefplant	lengte (cm)	lengte (cm)	lengte (cm)	Gemiddelde	% referentie
ref	20,0	23,0	22,5	21,8	100,0
1e	13,0	13,0	13,5	13,2	60,3
2e	14,0	16,5	11,5	14,0	64,1
3e	12,0	12,0	14,0	12,7	58,0
4e	10,0	11,0	10,5	10,5	48,1

Tabel 18: Resultaten van de meting stengel- + bladlengte op 17 nov. 04.

proefplant	lengte (cm)	lengte (cm)	lengte (cm)	Gemiddelde	% referentie
ref	24,0	27,0	25,5	25,5	100,0
1e	16,5	17,5	18,0	17,3	68,0
2e	17,5	18,5	14,0	16,7	65,4
3e	14,0	14,5	15,5	14,7	57,5
4e	12,0	14,0	12,5	12,8	50,3

### 7.2.2.2. Bespreking

De etiologie bij de referentieplant was te verwachten daar de lichtduur en –intensiteit op de proefplaats lager waren dan in de fytofoon. Deze strekking was niet te zien bij de proefplanten doordat dit proces verstoord werd door de ongunstige groeiomstandigheden (ammoniakschade). De paarsverkleuring bij de referentie plant was dan weer te wijten aan de te hoge relatieve vochtigheid in de respiratiestolpen (figuur 53).

Er werd nagegaan of de morfologische verschillen van de proefplanten significant waren:

- meting van de stengellengte op 17 nov. 04.

Eerst werd de homogeniteit van de residuele variantie gecontroleerd via Levene's test, om na te gaan of de ANOVA-analyse toegepast mocht worden. Hieruit bleek dat er geen significant ( $P = 0.161$ ) verschil was tussen de residuen in de verschillende behandelingsgroepen.

Uit de variantie-analyse bleek dat de behandelingsduur een significant ( $P = 0.000$ ) effect had op de lengte.

Uit de DUNCAN-test (tabel 19) bleek dat de groeiremming al significant verschillend was van de 0  $\mu\text{l}$ -behandeling (referentie) bij de behandelingsduur vanaf 1 dag.

Tabel 19: De DUNCAN-test bij meting van de stengellengte op 17 nov. 04.

proefplant	% referentie	DUNCAN
ref	100,0	a
1e	104,5	b
2e	103,2	b,c
3e	98,3	b,c
4e	77,1	c

- meting van de stengel- + bladlengte op 17 nov. 04.

Eerst werd de homogeniteit van de residuele variantie gecontroleerd via Levene's test, om na te gaan of de ANOVA-analyse toegepast mocht worden. Hieruit bleek dat er geen significant ( $P = 0.184$ ) verschil was tussen de residuen in de verschillende behandelingsgroepen.

Uit de variantie-analyse bleek dat de behandelingsduur een significant ( $P = 0.000$ ) effect had op de lengte.

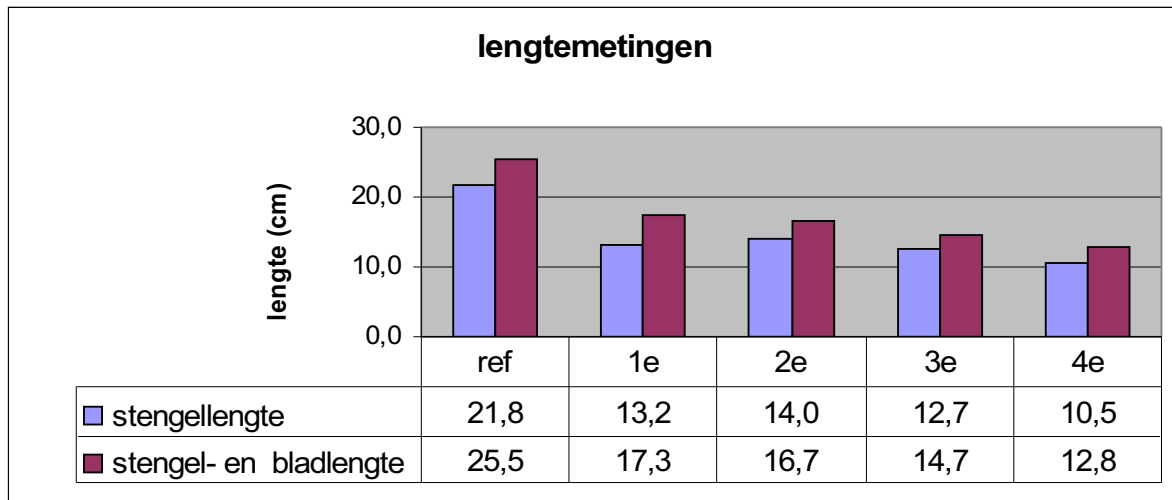
Uit de DUNCAN-test (tabel 20) bleek dat de groeiremming al significant verschillend was van de 0  $\mu\text{l}$ -behandeling (referentie) bij de behandelingsduur vanaf 1 dag.

Tabel 20: De DUNCAN-test bij meting van de stengel- + bladlengte op 17 nov. 04.

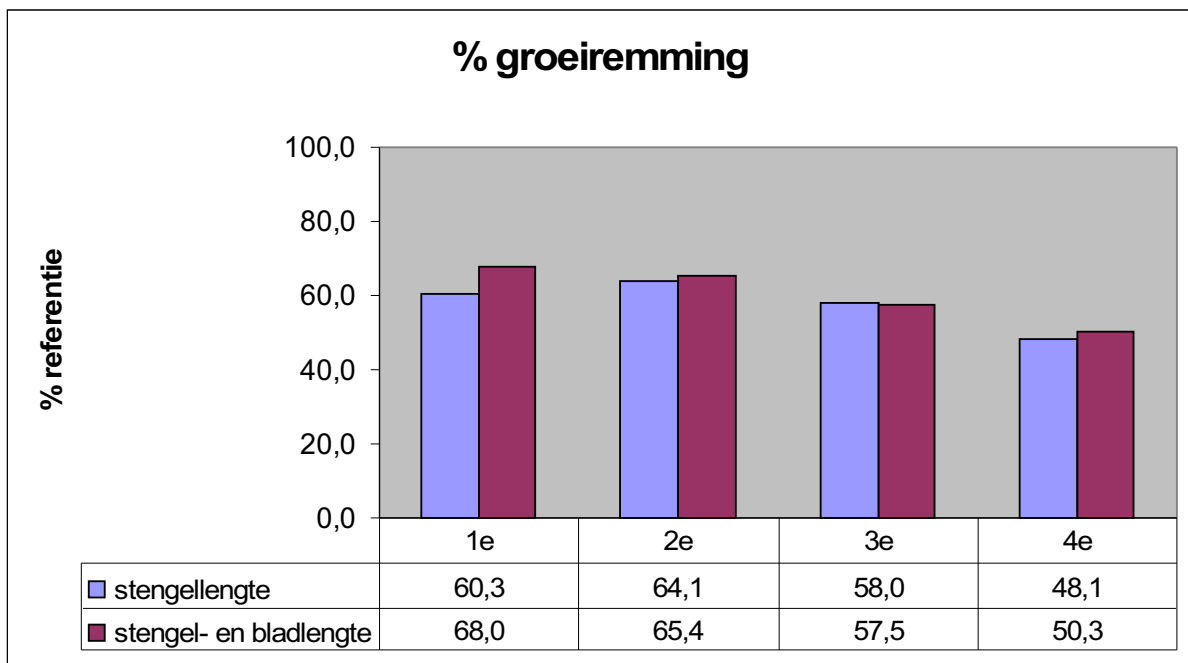
proefplant	% referentie	DUNCAN
ref	100,0	a
1e	68,0	b
2e	65,4	b
3e	57,5	b,c
4e	50,3	c

De lengtemetingen worden grafisch voorgesteld in figuren 56 en 57:





Figuur 56: Lengtemetingen plantenproef 1.



Figuur 57: Groeiremming t.o.v. de referentie.

Nergens werd er vorming van needscheuten op de stengel waargenomen, ook later niet. Dit is te verklaren door het feit dat de topscheut en bovenste bladeren gespaard bleven van schade. Daardoor bleef er voldoende fotosynthesecapaciteit over voor de plant om verder te groeien via de apikale scheut. Er was nog geen vorming van axillaire scheuten.

De groeiremming bij de behandelde planten is in feite een groeiachterstand als gevolg van bladval. De plant herpakt zich wel maar verliest veel reserves en de teeltduur neemt toe. Aangezien dit een belangrijk economisch gegeven is, werd er dan ook dieper op deze groeiachterstand ingegaan. Als maat voor de groeiremming werd de lengte van de bovengrondse plantendelen gemeten, respectievelijk van stengelbasis tot de topscheut en van stengelbasis tot het laatste volledig gestrekte blad. De eerste meting is vooral een maat voor

een verschil in stengellengte, de tweede dan weer voor het gezamenlijk verschil van stengel- en bladlengte.

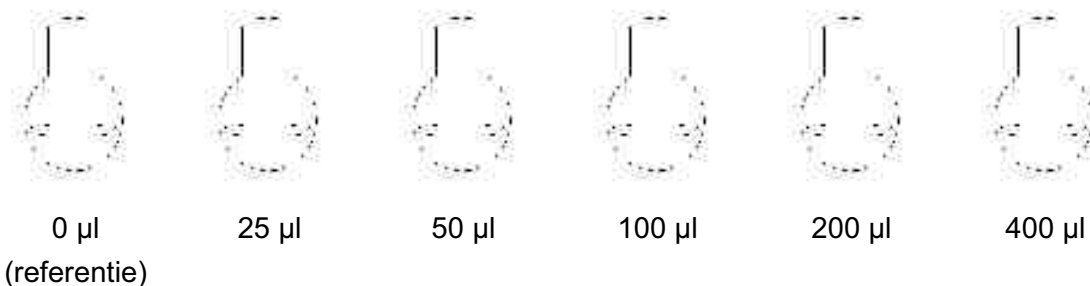
Men ziet in tabel 19 en tabel 20 dat de behandeling reeds na 1 dag een significant effect heeft op de lengte van de planten en hun groeiremming. Bovendien blijkt uit tabel 16 dat die behandeling (in een dosis van 200  $\mu\text{l}$  reeds voldoende is om na 1 dag de planten qua schade onder te brengen in klasse II. Na 5 dagen stemt het schadebeeld op de proefplanten al overeen met klasse III.

## 7.2.3. Concentratierreeks

### 7.2.3.1. Proefopstelling

Het doel van deze proef was het opstellen van een concentratierreeks: Vijf kolven met telkens een concentratie gelijk aan de helft van de vorige kolf plus een referentie kolf zonder ammoniak. Hierbij was de parameter tijd een constante (2 dagen) terwijl de ammoniakconcentratie varieerde. In de 4000 ml-kolven werden opnieuw 3 planten in containers en 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$  geplaatst (waarin een aantal  $\mu\text{l}$  25 % ammoniak gedoseerd werd). De uitstroomopening werd open gelaten.

- Proefopstelling (Start: 08 nov. 04; 16.30h – Einde: 10 nov. 04; 15.00h)

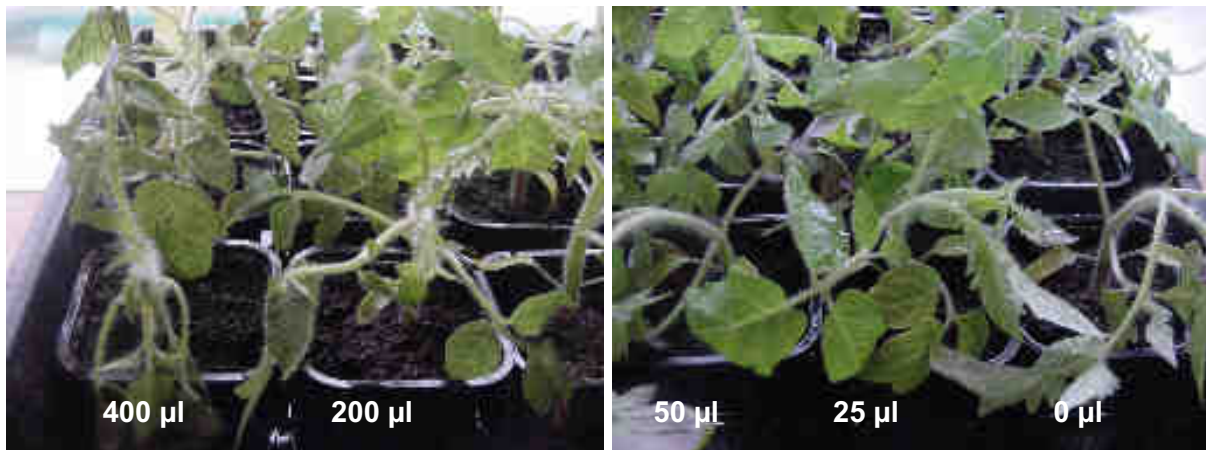


De visuele schade zichtbaar onmiddellijk na het uit de kolf nemen van de plant:

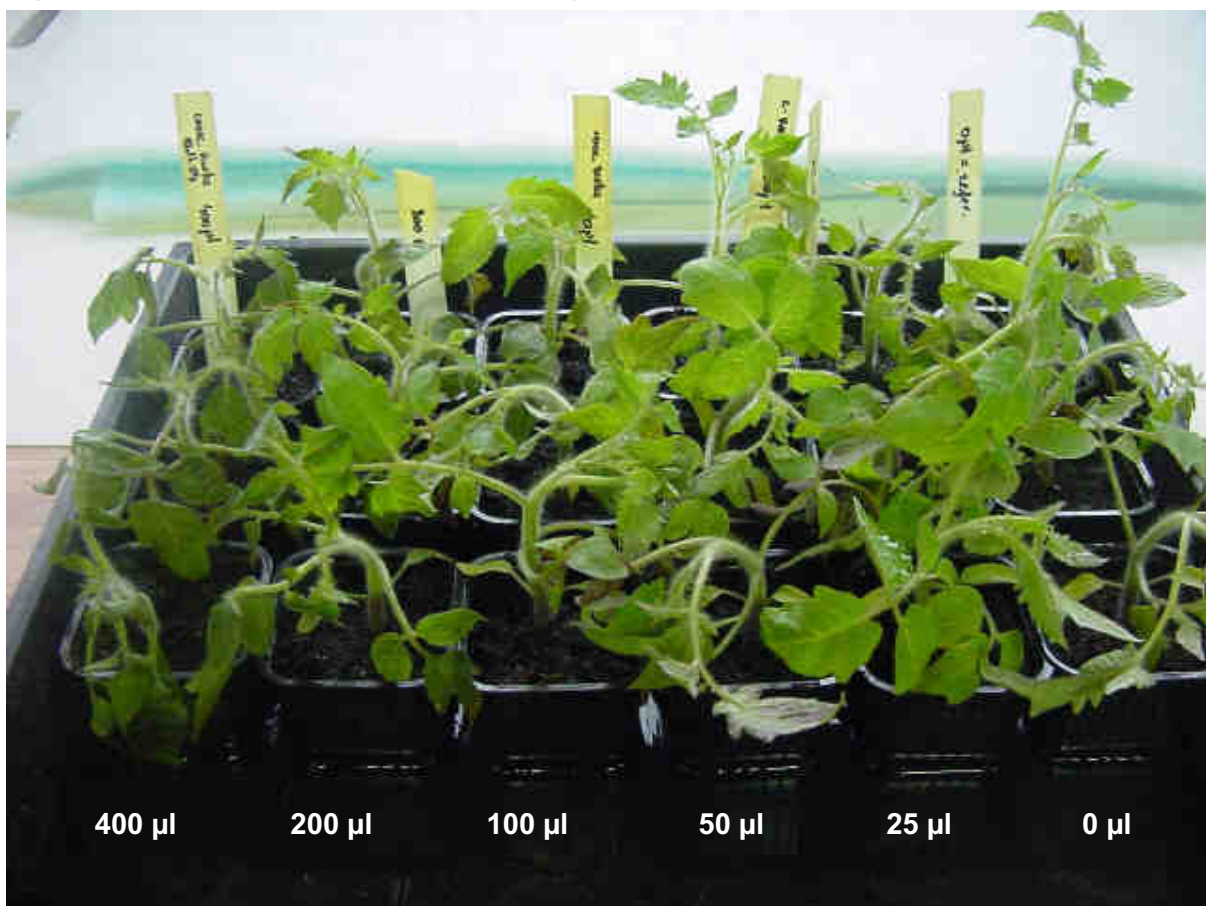
In deze reeks is een duidelijke overgang waarneembaar in verkleuring en graad van verwelking; (1) de kleur evolueert bij steeds hogere concentraties van lichter (geel)groen naar donker olijfgroen. De donkere kleur is gerelateerd aan weefselschade tengevolge van ammoniak. (2) Hoe lager de ammoniakdosis was, hoe minder verwelking er werd waargenomen.

- 400  $\mu\text{l}$  : schade aan het volledige bladweefsel van de kiemblaadjes en de eerste 4 echte bladeren. De stengel bleef gespaard.
- 200  $\mu\text{l}$  : schade aan het volledige bladweefsel van de kiemblaadjes en de eerste 2 echte bladeren. Het derde en vierde echte blad waren slechts deels beschadigd.
- 100  $\mu\text{l}$  : vooral schade aan het oudste bladweefsel: aan het volledige bladweefsel van de kiemblaadjes en de eerste 2 echte bladeren waren slechts deels beschadigd.
- 50 en 25  $\mu\text{l}$  : alleen weefselschade bij de kiemblaadjes, vermoedelijk als gevolg van een te hoge RV.

- Referentie: geen schade, wel vergeling van de kiemblaadjes wegens voedselgebrek en lichttekort.



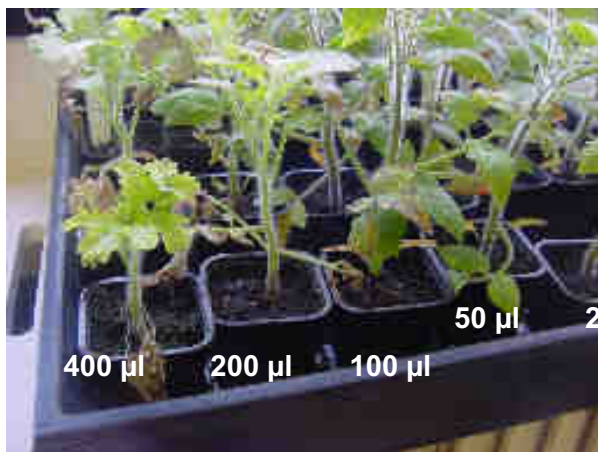
Figuur 58: Details van de schade onmiddellijk na de proef.



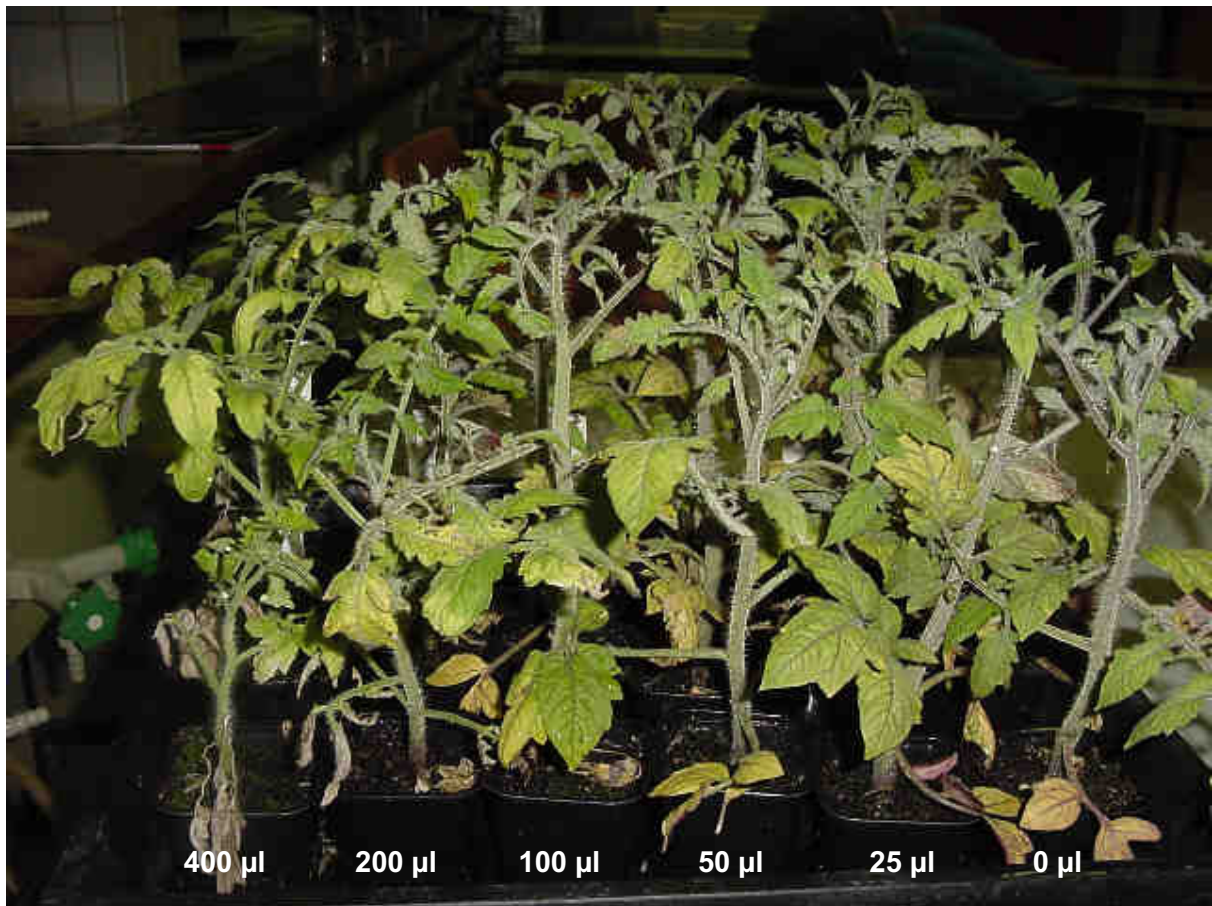
Figuur 59: Overzicht visuele schade bij de concentratiereeks.

De visuele schade na twee weken (23 nov. 04):

- 400  $\mu\text{l}$  : De kiemblaadjes en de eerste 3-4 echte bladeren waren volledig verdwenen. De overige bladeren vertoonden hergroei na weefselschade met bladmisvormingen als gevolg. De stengel bleef nog gespaard met hier en daar reeds vorming van noodscheuten.
- 200  $\mu\text{l}$  : De kiemblaadjes en de eerste 2-3 echte bladeren waren volledig verdwenen. De overige bladeren vertoonden hergroei na weefselschade, echter zonder bladmisvormingen .
- 100  $\mu\text{l}$  : De kiemblaadjes waren volledig verdwenen. De eerste 2 (soms 3) echte bladeren vertoonden hergroei na weefselschade maar opnieuw zonder bladmisvormingen.
- 50 en 25  $\mu\text{l}$  : De kiemblaadjes waren volledig verdwenen. Het eerste echte blad vertoonde hergroei na weefselschade maar opnieuw zonder bladmisvormingen..
- Referentie: geen schade, wel vergeling van de kiemblaadjes wegens voedselgebrek.



Figuur 60: Detail van het begin van de concentratiereeks op 16 nov. 04.



Figuur 61: Toestand van de proefplanten op 23 nov. 04.



Tabel 21: Gezondheidsklassen bij concentratiereeks.

Visuele schade:	Direct na de proef	Twee weken na de proef
Referentie	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Geen schade.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Geen schade.</li> </ul>
=> Klasse I	<ul style="list-style-type: none"> <li>• chlorose kiemblaadjes: voedsel- en lichtgebrek.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• chlorose kiemblaadjes: voedsel- en lichtgebrek.</li> </ul>
25 µl en 50 µl	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alleen schade aan kiemblaadjes.</li> <li>• door hoge RV.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kiemblaadjes dood.</li> <li>• eerste echte blad: herstel zonder bladmisvormingen.</li> </ul>
100 µl	<ul style="list-style-type: none"> <li>• schade aan oudste bladweefsel.</li> <li>• kiemblaadjes volledig beschadigd.</li> <li>• Eerste 2 echte bladeren: deels beschadigd.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kiemblaadjes dood.</li> <li>• eerste 2 echte bladeren: herstel zonder bladmisvormingen.</li> </ul>
200 µl	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kiemblaadjes en eerste 2 echte bladeren: volledig beschadigd.</li> <li>• derde en vierde blad: deels beschadigd.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kiemblaadjes en eerste 3 echte bladeren: dood.</li> <li>• overige: herstel zonder bladmisvormingen.</li> </ul>
400 µl	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kiemblaadjes en eerste 4 echte bladeren: volledig beschadigd.</li> <li>• rest: deels beschadigd.</li> <li>• stengel bleef gespaard.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kiemblaadjes en eerste 4 echte bladeren: dood.</li> <li>• overige: herstel maar met bladmisvormingen.</li> <li>• vorming needscheuten.</li> </ul>

Van alle planten werd zowel de stengellengte als de stengel- en bladlengte samen opgemeten. Ook het aantal bladeren per plant werd genoteerd.

Tabel 22: Resultaten van de meting van de stengellengte op 23 nov. 04.

proefplant	lengte (cm)	lengte (cm)	lengte (cm)	Gemiddelde	% referentie
0 µl	23,0	24,0	23,5	23,5	100,0
25 µl	22,5	24,0	23,5	23,3	99,3
50 µl	22,0	24,5	26,5	24,3	103,5
100 µl	27,0	25,0	25,0	25,7	109,2
200 µl	16,0	17,0	15,0	16,0	68,1
400 µl	11,0	16,0	15,0	14,0	59,6

Tabel 23: Resultaten van de meting stengel- + bladlengte op 23 nov. 04.

proefplant	lengte (cm)	lengte (cm)	lengte (cm)	Gemiddelde	% referentie
0 µl	26,5	27,5	26,5	26,8	100,0
25 µl	26,0	28,0	30,0	28,0	104,5
50 µl	25,0	29,0	29,0	27,7	103,2
100 µl	19,5	29,5	30,0	26,3	98,3
200 µl	21,5	21,5	19,0	20,7	77,1
400 µl	17,5	21,0	17,5	18,7	69,7

Tabel 24: Resultaten van de bladtelling op 23 nov. 04.

proefplant	aantal bladeren	aantal bladeren	aantal bladeren	Gemiddelde
ref	6,0	7,0	8,0	7,0
25 µl	10,0	7,0	9,0	8,7
50 µl	9,0	9,0	11,0	9,7
100 µl	5,0	9,0	6,0	6,7

### 7.2.3.2. Bespreking

Er werd nagegaan of de morfologische verschillen van de proefplanten significant waren:

- meting van de stengellengte op 23 nov. 04.

Eerst werd de homogeniteit van de residuele variantie gecontroleerd via Levene's test, om na te gaan of de ANOVA-analyse toegepast mocht worden. Hieruit bleek dat er geen significant ( $Pr = 0.102$ ) verschil was tussen de residuen in de verschillende behandelingsgroepen.

Uit de variantie-analyse bleek dat de behandeling een significant ( $Pr: 0.000$ ) effect had op de lengte.

Uit de DUNCAN-test (tabel 25) bleek dat de groeiremming alleen significant verschillend was van de 0 µl-behandeling (referentie) bij de behandelingen van 200 en 400 µl.

Tabel 25: De DUNCAN-test bij meting van de stengellengte op 23 nov. 04.

proefplant	% referentie	DUNCAN
0 µl	100,0	a
25 µl	99,3	a
50 µl	103,5	a
100 µl	109,2	a
200 µl	68,1	b
400 µl	59,6	b

- meting van de stengel- + bladlengte op 23 nov. 04.

Eerst werd de homogeniteit van de residuele variantie gecontroleerd via Levene's test, om na te gaan of de ANOVA-analyse toegepast mocht worden. Hieruit bleek dat er geen significant ( $Pr = 0.070$ ) verschil was tussen de residuen in de verschillende behandelingsgroepen.

Uit de variantie-analyse bleek dat de behandeling een significant (Pr: 0.007) effect had op de lengte.

Uit de DUNCAN-test (tabel 26) bleek dat de lengte alleen significant verschillend was van de 0 µl-behandeling (referentie) bij de behandelingen van 200 en 400 µl.

Tabel 26: De DUNCAN-test bij meting van de stengel- + bladlengte op 23 nov. 04.

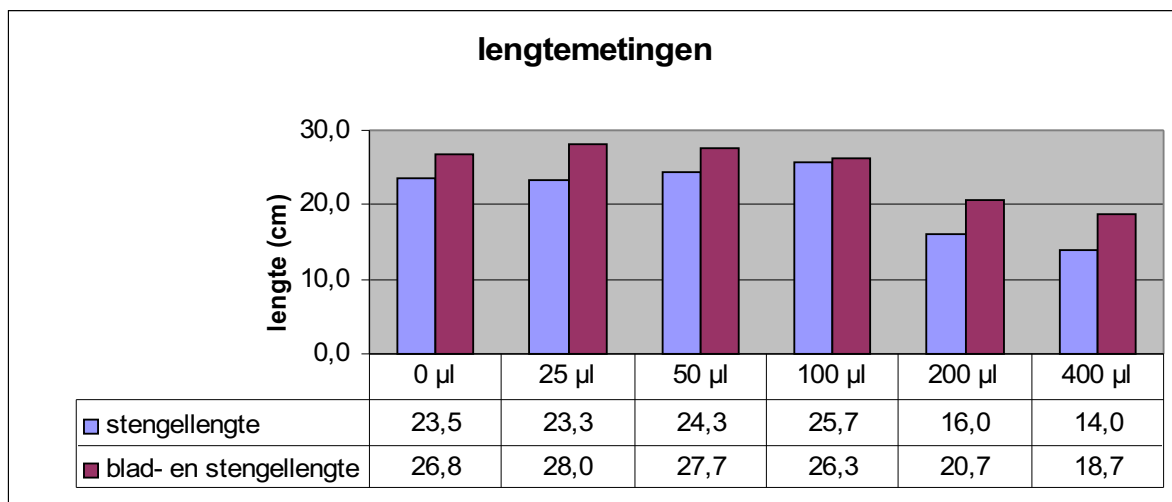
proefplant	% referentie	DUNCAN
0 µl	100,0	a
25 µl	104,5	a
50 µl	103,2	a
100 µl	98,3	a
200 µl	77,1	b
400 µl	69,7	b

➤ de bladtelling op 23 nov. 04.

Eerst werd de homogeniteit van de residuele variantie gecontroleerd via Levene's test, om na te gaan of de ANOVA-analyse toegepast mocht worden. Hieruit bleek dat er geen significant (Pr = 0.427) verschil was tussen de residuen in de verschillende behandelingsgroepen.

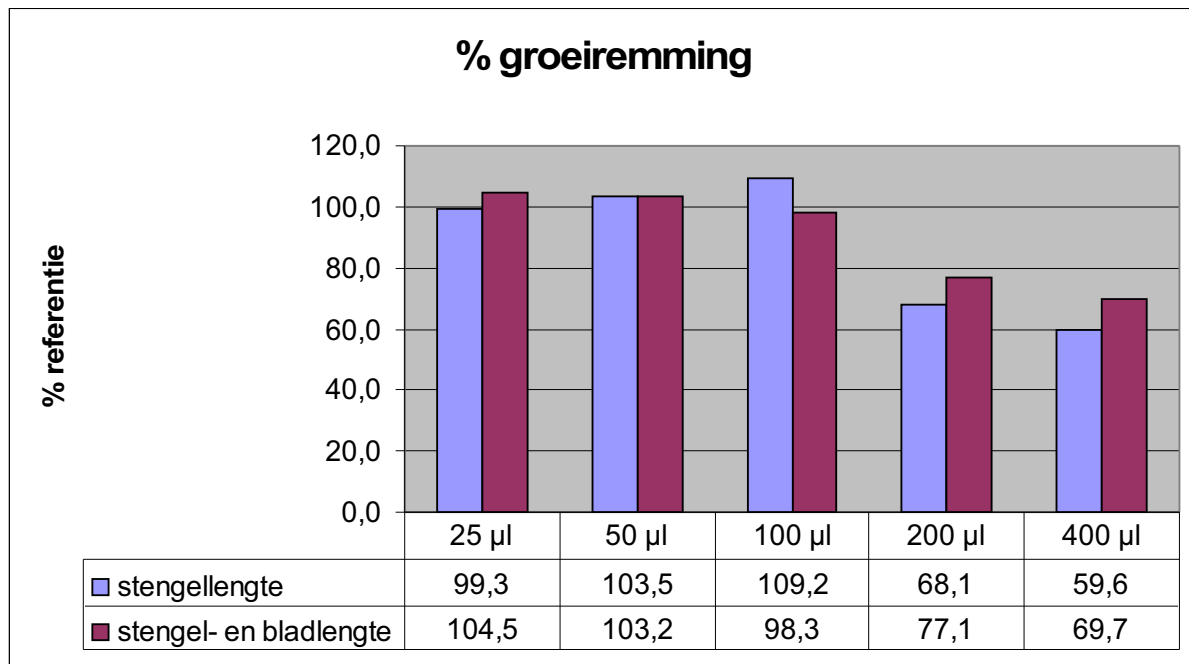
Uit de variantie-analyse bleek dat de behandeling geen significant (Pr: 0.119) effect had op het bladaantal.

De lengtemetingen worden grafisch voorgesteld in figuren 62 en 63:



Figuur 62: Lengtemetingen bij de concentratiereeks.





Figuur 63: %groeiremming bij de concentratiereeks.

De laagste dosissen blijken de groei niet te remmen, integendeel, ze veroorzaken geen schade maar vormen een N-bron voor de plant (zie 1.4.3 Toxiciteit van ammoniak bij planten). De resultaten zijn hier vrij uitgesproken daar de planten voor de proef reeds leden aan een klein N en P tekort. Vandaar dat vanaf deze datum de plantenvoeding in een 3 maal hogere dosis werd toegediend.

Dit besluit wordt eveneens bevestigd via de bepaling van het aantal aanwezige bladeren (tabel 24) en de mate van chlorose op de plant bij de referentie, 25, 50 en 100 µl-reeks. De mate van chlorose en de snelheid van de bladval is immers gerelateerd aan de snelheid waarmee de plant zijn stikstof herverdeelt (naar jongere plantendelen). Hierbinnen vertoont de referentie de meeste chlorose. Bij 50 en 100 µl is er veel minder chlorose maar er komen nergens kiemblaadjes voor. Bij 25 µl is er eveneens veel minder chlorose en bovendien komt er nog hier en daar een kiemblaadje voor op de plant. In feite komt hier ook de rol van de N-voedingstoestand van de proefplanten naar voor. Indien de proefplanten zich in een ideale voedingstoestand zouden bevinden, zou de ammoniak geen positief effect meer betekenen als N-voedingsbron. Mogelijk zou men dan wel een groeiremming vaststellen van 50 µl-planten t.o.v. de referentieplanten.

Uit deze concentratiereeks kan besluiten dat de behandeling pas een significant effect heeft op de lengte (en de overeenkomstige groeiremming) van de proefplanten vanaf een dosis van 200 µl (tabel 25 en 26).

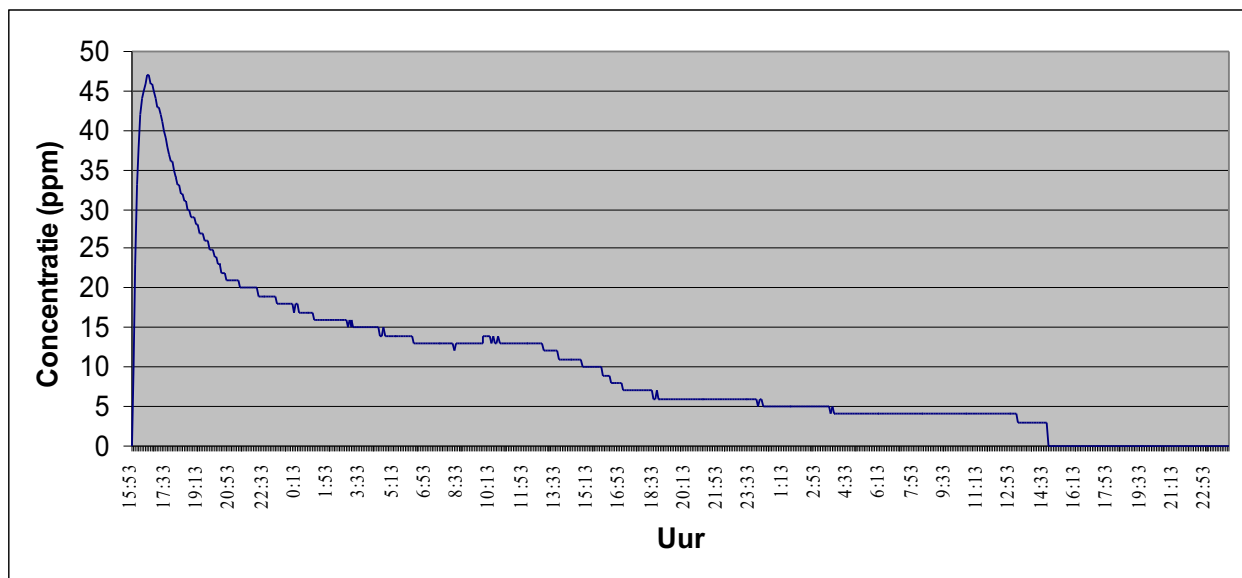
Uit tabel 21 blijkt overigens eveneens dat er een dosis nodig is van 200 µl om de proefplanten voldoende te beschadigen om ze in klasse II onder te brengen. Dit stemt overeen met de resultaten uit 'plantenproef 1' waar een 200 µl-behandeling reeds na één dag de planten onder klasse II bracht. Bij een dosis van 400 µl komen de proefplanten reeds in klasse III terecht.

Men kan dus stellen dat de schadegrens zich in deze concentratiereeks situeert vanaf toepassing van 200  $\mu$ l.

## 7.2.4. Blancometing 2

### 7.2.4.1. Proefopstelling

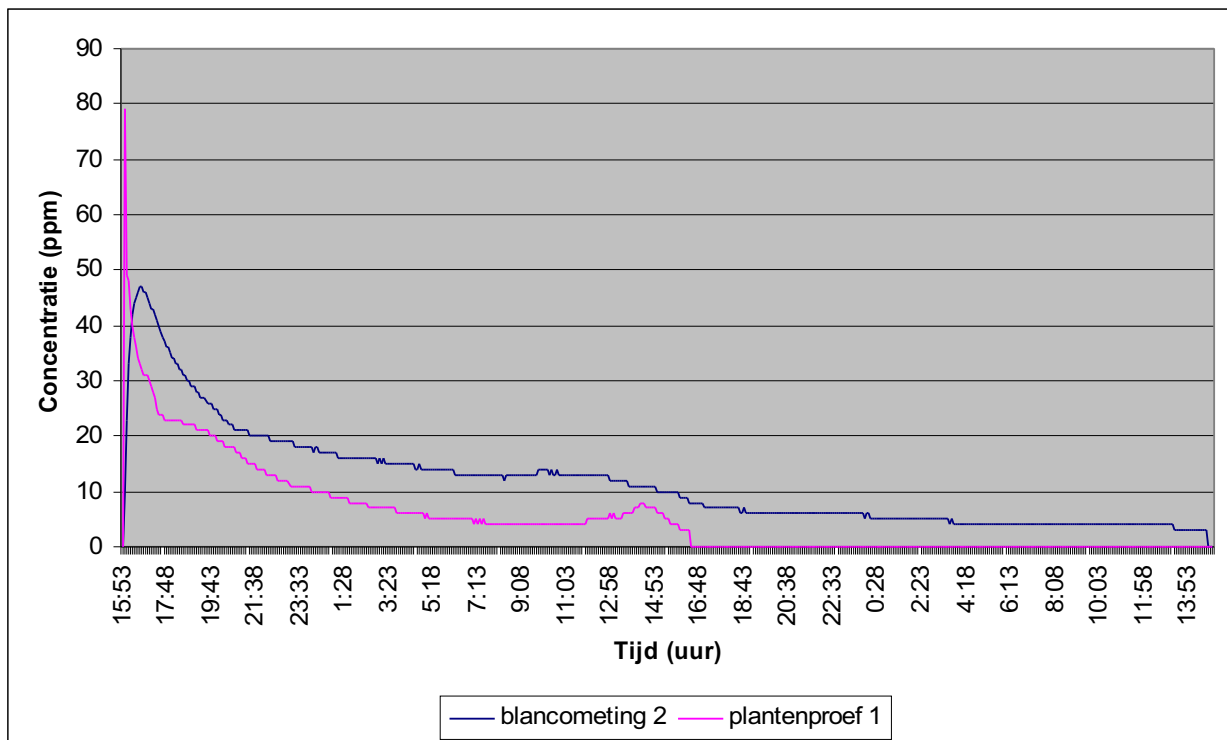
Deze proef werd op dezelfde manier uitgevoerd als de eerste blancobepaling maar met slechts 3 containers en gedurende 6 dagen (10 nov. 04; 16.00u- 16 nov. 04; 10.00u). Dit werd gedaan daar alle overige proeven met drie planten werden uitgevoerd en dus alleen op die manier benaderend nagegaan kon worden hoeveel ammoniak de planten wegnamen. Hiertoe werden de resultaten van deze proef vergeleken met die van 'plantenproef 1'.



Figuur 64: Resultaten van blancometing 2.

### 7.2.4.2. Bespreking

Om na te gaan hoeveel de plant wegneemt dient men de resultaten van plantenproef 1 te vergelijken met die van deze proef (blanco). Legt men de 2 grafieken naast elkaar dan is er geen significant verschil waar te nemen.



Figuur 65: Vergelijking resultaten blancometing 2 en plantenproef 1.

Uit figuur 65 kan men dus besluiten dat aanwezigheid van ammoniak langer aanhoudt bij de 'blancometing 2' maar bij de proef met de planten ligt de piek van de ammoniakconcentratie ongeveer 30 ppm hoger (78 ppm i.p.v 47 ppm). Toch valt op te merken dat de hoeveelheid ammoniak die de plant wegneemt in feite niet echt meetbaar is daar de gemeenschappelijke invloed van andere factoren (zoals temperatuur, vochtigheid en licht) op de reactie enerzijds en het vrijkomen van ammoniak anderzijds veel groter is dan de dosissen die de planten zouden wegnemen.

## 7.2.5. Concentratiebepaling

### 7.2.5.1. Proefopstelling

In deze proef werd gewerkt met reeds hoger aangehaalde 18820 ml-tonnen. Er werden opnieuw 3 containers per ton geplaatst en een beker met 50 ml water met een bepaalde dosis  $\text{NH}_4\text{OH}$ . In eerste instantie werd afgetast welke concentratiegrootte en –duur er vereist was in grotere proefvolumes. In 2 tonnen werd er 1600  $\mu\text{l}$  25 % ammoniak gebracht en werd het effect onderzocht voor een periode van enerzijds 1 dag en anderzijds 3 dagen. In drie andere tonnen werd slechts een dosis van 800  $\mu\text{l}$  aangewend en dit voor een periode van respectievelijk 1, 3 en 5 dagen.



Figuur 66: Beeld van de proefopstelling.

Een laatste ton fungeerde voor 5 dagen als referentie. De proef werd opgestart op 17 nov. 2004, 11.30u.

➤ Proefschema:



0  $\mu$ l;  
5 dagen

800  $\mu$ l;  
1 dag

800  $\mu$ l;  
3 dagen

800  $\mu$ l;  
5 dagen

1600  $\mu$ l;  
1 dag

1600  $\mu$ l;  
3 dagen

➤ Einde van de proeven:

22 nov 04 ;  
10.30u

18 nov 04;  
17.00u

19 nov 04;  
15.30u

22 nov 04 ;  
10.30u

18 nov. 04 ;  
17.00u

22 nov. 04 ;  
10.30u

De visuele schade zichtbaar onmiddellijk na het uit de ton nemen van de plant:

Ton 1 → 0  $\mu$ l; 5 dagen:

- referentie vertoonde chlorose, wat echter duidelijk een gebreksymptoom was tengevolge van P en vooral N-tekort

Ton 2 → 800  $\mu$ l; 1 dag:

- verwelking en verkleuring tot olijfgroen van de gehele plant
- transparant worden van het bladweefsel verspreid over de gehele plant
- omknikken van alle bladeren met uitzondering van de topscheut en de twee laatst gevormde echte bladeren
- verdroging en val van de kiemblaadjes en de eerste (soms ook tweede) echte blad

Ton 3 → 800  $\mu$ l; 3 dagen:

- verwelking (zonder verkleuring tot olijfgroen) van de gehele plant

- transparant worden van het bladweefsel verspreid over de gehele plant
- ook schade (=verdroging) aan de bladtop van de topscheut en de laatst gevormde echte bladeren
- volledige verdroging en val van de kiemblaadjes en de eerste twee echte bladeren.

Ton 4 → 800 µl; 5 dagen:

- alle bladeren waren verdord en afgevallen op de topscheut en de 2 laatst gevormde bladeren; deze vertoonden alleen verdorring aan de toppen
- de stengel bleef groen en vertoonde geen tekenen van schade (geen omknikken)

Ton 5 → 1600 µl; 1 dag:

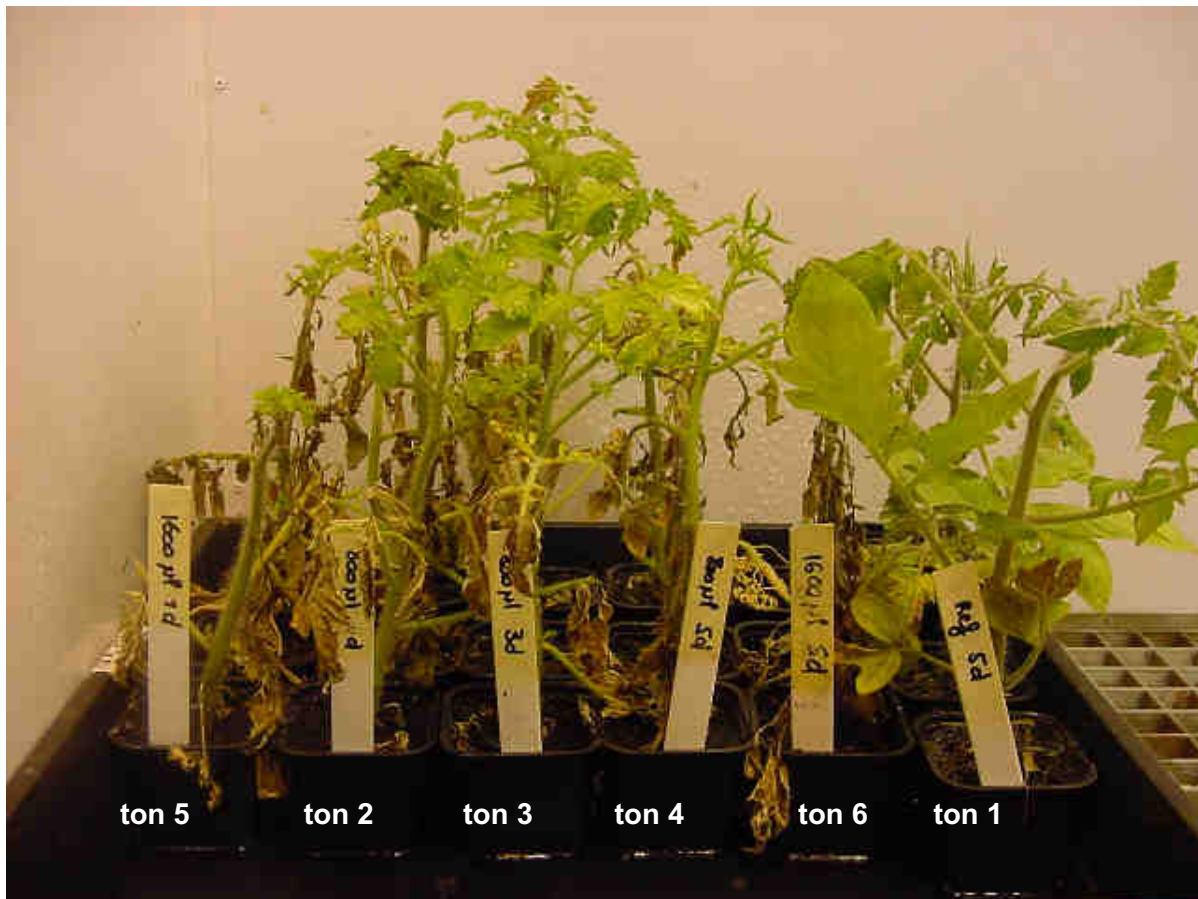
- verwelking en verkleuring tot olijfgroen (idem als hoger vermelde proeven) van de gehele plant
- transparant worden van het bladweefsel verspreid over de gehele plant
- omknikken van alle bladeren met uitzondering van de topscheut
- verdroging en val van de kiemblaadjes en de eerste 2 – 3 echte bladeren

Ton 6 → 1600 µl; 3 dagen:

- alle bladeren en de topscheut waren volledig verdord en meestal afgevallen
- alleen de stengel was nog (licht)groen, maar bij sommige planten was die zelfs omgeknikt, analoog zoals het omknikken van bladeren in voorgaande proeven



Figuur 67: Visuele schade van planten in ton 2 en 5.



Figuur 68 : Visuele schade op 23 nov. 04.



Figuur 69: Resultaat op 22 nov. 04 van ton 6 en ton 4 t.o.v. de referentie.

De visuele schade na twee weken (03 dec. 04):

Ton 1 → 0 µl; 5 dagen:

- geen relevante afwijkingen

Ton 2 → 800 µl; 1 dag:

- wel vorming van maar geen uitgesproken groei van needscheuten; de topscheut bleef immers in alle gevallen leven

- pleksgewijze weefselbeschadiging (o.v.v. lichtbruine necrotische vlekken) van de topscheut en de twee laatst gevormde echte bladeren
- verdroging en val van de bladschijven van de onderste bladeren (meestal zonder de bladsteel echter, hoger in de plant)

Ton 3 → 800 µl; 3 dagen:

- wel vorming van maar geen uitgesproken groei van needscheuten; de topscheut bleef immers in alle gevallen leven
- pleksgewijze weefselbeschadiging (o.v.v. lichtbruine necrotische vlekken) van de topscheut en de twee laatst gevormde echte bladeren
- verdroging en val van de bladschijven van de onderste bladeren (meestal zonder de bladsteel echter, hoger in de plant)

Ton 4 → 800 µl; 5 dagen:

- in bepaalde gevallen werd er opnieuw groei van needscheuten waargenomen, zeker daar waar de topscheut volledig afgestorven was door ammoniakale inwerking
- er werd ook een duidelijke groeireductie van deze proefplanten vastgesteld ten aanzien van de planten van ton 3 en ton 4

Ton 5 → 1600 µl; 1 dag:

- soms vorming van drie tot vijf needscheuten aan de stengelbasis, daar waar de stengel voor de helft verdroogd was
- in de andere gevallen bleek de topscheut nog in leven, ofwel morfologisch zo goed als intact, of misvormd door ammoniakschade
- daar waar de topscheut in leven bleef, was er vorming van één –soms twee- needscheuten aan de stengelbasis

Ton 6 → 1600 µl; 3 dagen:

- soms was de plant volledig dood, namelijk daar waarbij de schade aan de topscheut doorliep tot aan de stengelvoet
- daar waar de plant in leven bleef, was er vorming van drie tot vijf needscheuten aan de stengelbasis
- in alle gevallen bleek de topscheut dood en de stengel voor de helft verdroogd





Figuur 70: Visuele schade op 3 dec. 04.



Tabel 27: Gezondheidsklassen bij de concentratiebepaling.

Visuele schade:	Direct na de proef	Twee weken na de proef
0 $\mu$ l; 5 dagen  => Klasse I	<ul style="list-style-type: none"> <li>chlorose door voedsel- en lichtgebrek.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>geen relevante afwijkingen.</li> </ul>
800 $\mu$ l; 1 dag  => Klasse III	<ul style="list-style-type: none"> <li>verwelking gehele plant (transparante verkleuring).</li> <li>kiem- en eerste 2 echte bladeren verdwenen.</li> <li>omknikken alle bladeren uitgezonderd topscheut en 2 jongste bladeren.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>topscheut in leven.</li> <li>aanleg –geen uitgroei- van needscheuten.</li> <li>necrotische vlekken op topscheut en 2 jongste bladeren.</li> <li>bladschijven onderste bladeren weg.</li> </ul>
800 $\mu$ l; 3 dagen  => Klasse III	<ul style="list-style-type: none"> <li>verwelking gehele plant (transparante verkleuring).</li> <li>kiem- en eerste 2 echte bladeren verdwenen.</li> <li>schade aan alle bladtoppen van topscheut en overige bladeren.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>topscheut in leven.</li> <li>aanleg –geen uitgroei- van needscheuten.</li> <li>necrotische vlekken op topscheut en 2 jongste bladeren.</li> <li>bladschijven onderste bladeren weg.</li> </ul>
800 $\mu$ l; 5 dagen  => Klasse IV	<ul style="list-style-type: none"> <li>alle bladeren verdwenen uitgezonderd 2 jongste bladeren en topscheut.</li> <li>daar alleen schade aan de toppen.</li> <li>stengel bleef groen.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ernstige topscheutschade =&gt; groei needscheuten.</li> </ul>
1600 $\mu$ l; 1 dag  => Klasse IV	<ul style="list-style-type: none"> <li>verwelking gehele plant (transparante verkleuring).</li> <li>kiem- en eerste 3 echte bladeren verdwenen.</li> <li>omknikken alle bladeren uitgezonderd topscheut.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>topscheut en stengeltop dood =&gt; vorming 3 tot 5 needscheuten.</li> <li>topscheut beschadigd en in leven =&gt; vorming 1 tot 2 needscheuten.</li> </ul>
1600 $\mu$ l; 3 dagen  => Klasse IV/V	<ul style="list-style-type: none"> <li>alle bladeren verdwenen, topscheut verdord.</li> <li>alleen stengel nog groen en soms omgeknikt.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>plant soms volledig dood.</li> <li>plant nog in leven (topscheut en stengeltop dood) =&gt; vorming 3 tot 5 needscheuten.</li> </ul>

Van alle planten werd zowel de stengellengte als de stengel- en bladlengte samen opgemeten.

Tabel 28: Resultaten van de meting van de stengellengte op 3 dec. 04.

proefplant	lengte (cm)	lengte (cm)	lengte (cm)	Gemiddelde	% referentie
0 µl - 5d	29,0	33,0	31,0	31,0	100,0
800 µl - 1d	31,0	24,0	34,0	29,7	95,7
800 µl - 3d	24,5	35,5	38,0	32,7	105,4
800 µl - 5d	26,0	20,5	22,0	22,8	73,7
1600 µl - 1d	17,0	12,0	24,0	17,7	57,0
1600 µl - 3d	0,0	9,0	6,5	5,2	16,7

Tabel 29: Resultaten van de meting stengel- + bladlengte op 3 dec. 04.

proefplant	lengte (cm)	lengte (cm)	lengte (cm)	Gemiddelde	% referentie
0 µl - 5d	34,0	38,0	37,0	36,3	100,0
800 µl - 1d	35,0	28,0	36,5	33,2	91,4
800 µl - 3d	30,0	38,5	45,0	37,8	104,2
800 µl - 5d	29,0	28,0	23,0	26,7	73,5
1600 µl - 1d	21,0	21,0	30,0	24,0	66,1
1600 µl - 3d	0,0	11,0	8,0	6,3	17,4

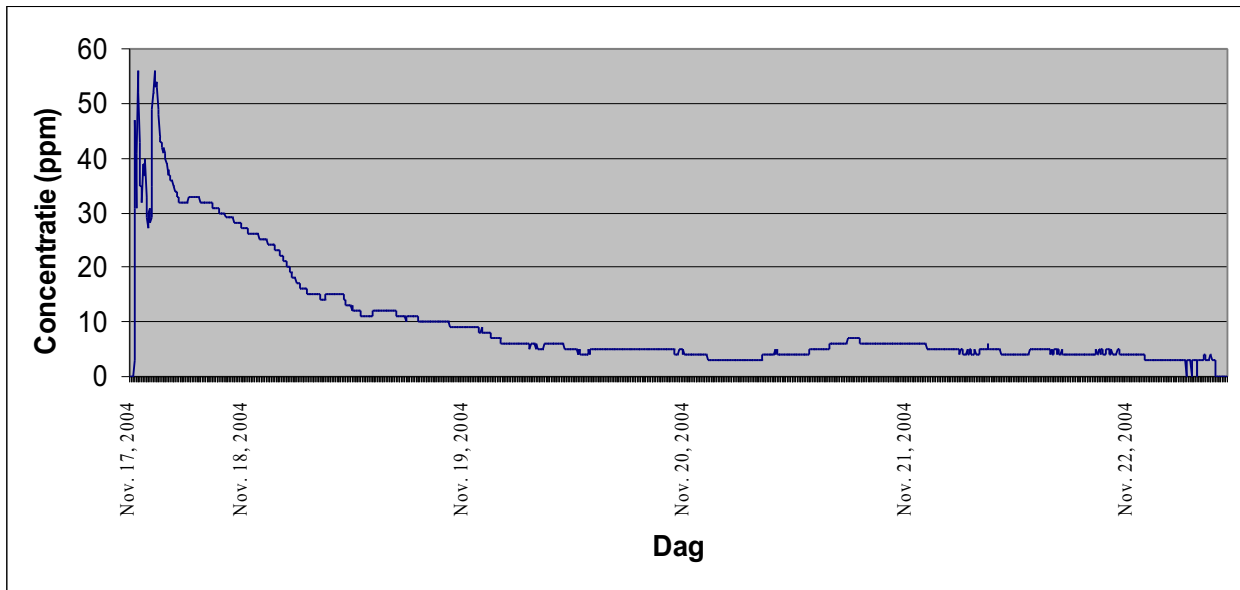
Daarnaast werd ook van elke plant het aantal bladeren en het aantal zij scheuten genoteerd.

Tabel 30: Bladbepaling op 03 dec. 04.

proefplant	aantal bladeren	aantal bladeren	aantal bladeren	Gemiddelde	% referentie
0 µl - 5d	7,0	10,0	10,0	9,0	100,0
800 µl - 1d	8,0	7,0	3,0	6,0	66,7
800 µl - 3d	8,0	10,0	9,0	9,0	100,0
800 µl - 5d	6,0	1,0	2,0	3,0	33,3
1600 µl - 1d	4,0	1,0	0,0	1,7	18,5
1600 µl - 3d	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabel 31: Scheutbepaling op 03 dec. 04.

proefplant	aantal scheuten	aantal scheuten	aantal scheuten	Gemiddelde	% referentie
0 µl - 5d	2,0	0,0	3,0	1,7	100,0
800 µl - 1d	1,0	3,0	3,0	2,3	137,3
800 µl - 3d	1,0	1,0	0,0	0,7	39,2
800 µl - 5d	1,0	4,0	3,0	2,7	156,9
1600 µl - 1d	2,0	3,0	3,0	2,7	156,9
1600 µl - 3d	5,0	0,0	4,0	3,0	176,5



Figuur 71: Resultaten van de concentratiebepaling (800 µl).

### 7.2.5.2. Bespreking

Er werd nagegaan of de morfologische verschillen van de proefplanten significant waren:

- meting van de stengellengte op 03 dec. 04.

Eerst werd de homogeniteit van de residuele variantie gecontroleerd via Levene's test, om na te gaan of de ANOVA-analyse toegepast mocht worden. Hieruit bleek dat er geen significant ( $Pr = 0.293$ ) verschil was tussen de residuen in de verschillende behandelingsgroepen.

Uit de variantie-analyse bleek dat de behandeling een significant ( $Pr: 0.000$ ) effect had op de lengte.

Uit de DUNCAN-test (tabel 32) bleek dat de groeiremming alleen significant verschillend was van de 0 µl-behandeling (referentie) bij de behandeling van 1600 µl (1 en 3 dagen) en bij de behandeling van 800 µl van 3 dagen.

Tabel 32: De DUNCAN-test bij meting van de stengellengte op 03 dec. 04.

proefplant	% referentie	DUNCAN
0 µl - 5d	100,0	a,b
800 µl - 1d	95,7	a,b
800 µl - 3d	105,4	b
800 µl - 5d	73,7	a,c
1600 µl - 1d	57,0	c
1600 µl - 3d	16,7	d

- meting van de stengel- + bladlengte op 03 dec. 04.

Eerst werd de homogeniteit van de residuele variantie gecontroleerd via Levene's test, om na te gaan of de ANOVA-analyse toegepast mocht worden. Hieruit bleek dat er geen significant ( $Pr = 0.425$ ) verschil was tussen de residuen in de verschillende behandelingsgroepen.

Uit de variantie-analyse bleek dat de behandeling een significant ( $Pr: 0.000$ ) effect had op de lengte.

Uit de DUNCAN-test (tabel 33) bleek dat de groeiremming alleen significant verschillend was van de 0  $\mu\text{l}$ -behandeling (referentie) bij de behandeling van 1600  $\mu\text{l}$  (1 en 3 dagen) en bij de behandeling van 800  $\mu\text{l}$  van 5 dagen.

Tabel 33: De DUNCAN-test bij meting van de stengel- en bladlengte op 03 dec. 04.

proefplant	% referentie	DUNCAN
0 $\mu\text{l}$ - 5d	100,0	a
800 $\mu\text{l}$ - 1d	91,4	a,b
800 $\mu\text{l}$ - 3d	104,2	a
800 $\mu\text{l}$ - 5d	73,5	b
1600 $\mu\text{l}$ - 1d	66,1	b
1600 $\mu\text{l}$ - 3d	17,4	c

- de bladbepaling op 03 dec. 04.

Eerst werd de homogeniteit van de residuele variantie gecontroleerd via Levene's test, om na te gaan of de ANOVA-analyse toegepast mocht worden. Hieruit bleek dat er geen significant ( $Pr = 0.060$ ) verschil was tussen de residuen in de verschillende behandelingsgroepen.

Uit de variantie-analyse bleek dat de behandeling een significant ( $Pr: 0.000$ ) effect had op het bladaantal.

Uit de DUNCAN-test (tabel 34) bleek dat de groeiremming alleen significant verschillend was van de 0  $\mu\text{l}$ -behandeling (referentie) bij de behandeling van 1600  $\mu\text{l}$  (1 en 3 dagen) en bij de behandeling van 800  $\mu\text{l}$  van 5 dagen.

Tabel 34: De DUNCAN-test bij de bladbepaling op 03 dec. 04.

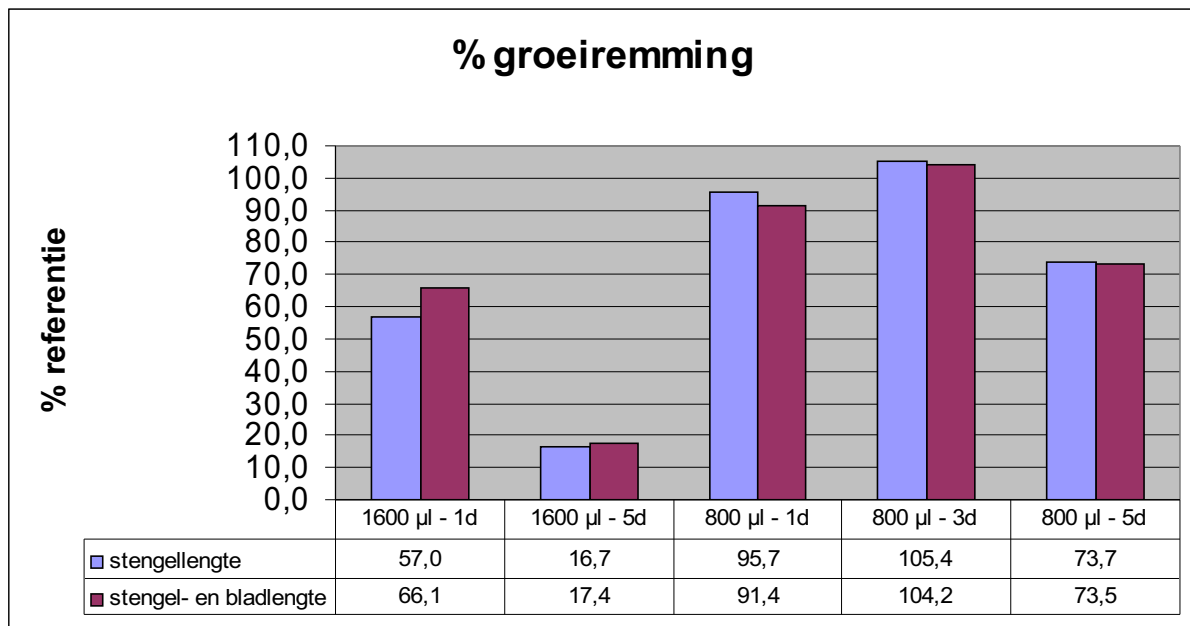
proefplant	% referentie	DUNCAN
0 $\mu\text{l}$ - 5d	100,0	a
800 $\mu\text{l}$ - 1d	66,7	a,b
800 $\mu\text{l}$ - 3d	100,0	a
800 $\mu\text{l}$ - 5d	33,3	b,c
1600 $\mu\text{l}$ - 1d	18,5	c
1600 $\mu\text{l}$ - 3d	0,0	c

- de scheutbepaling op 03 dec. 04.

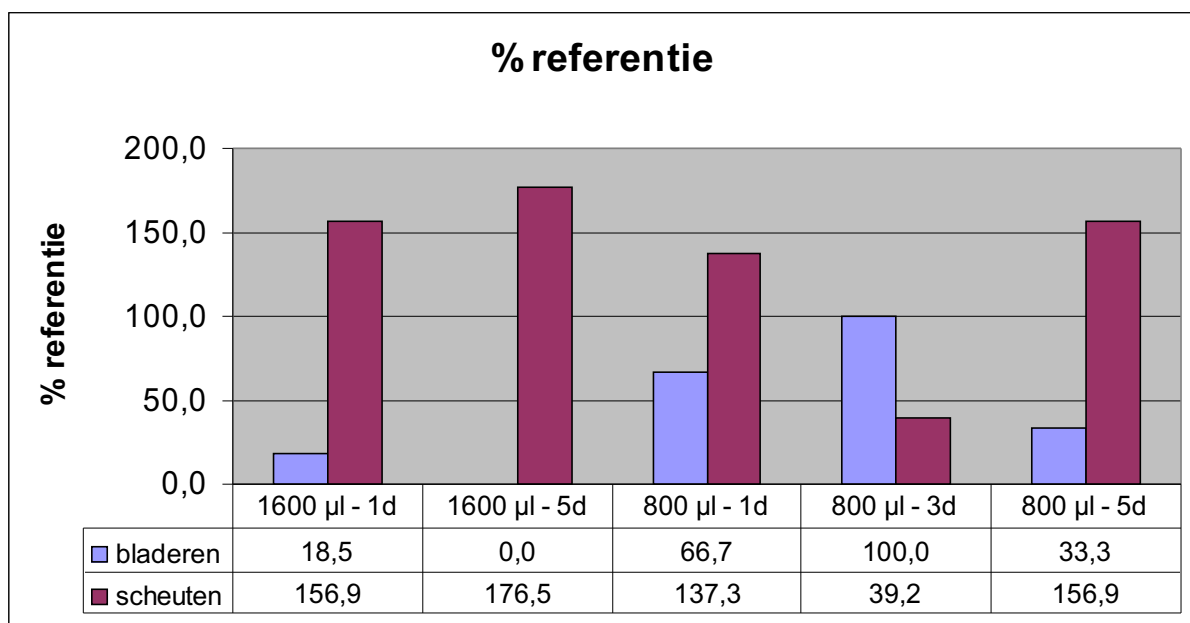
Eerst werd de homogeniteit van de residuele variantie gecontroleerd via Levene's test, om na te gaan of de ANOVA-analyse toegepast mocht worden. Hieruit bleek dat er geen significant ( $Pr = 0.072$ ) verschil was tussen de residuen in de verschillende behandelingsgroepen.

Uit de variantie-analyse bleek dat de behandeling geen significant (Pr: 0.468) effect had op het scheutaantal.

De lengtemetingen en de blad- en scheutbepalingen worden grafisch voorgesteld in figuren 72 en 73:



Figuur 72: %groeiremming bij de concentratiereeks.



Figuur 73: %referentie van de blad- en scheutbepaling.

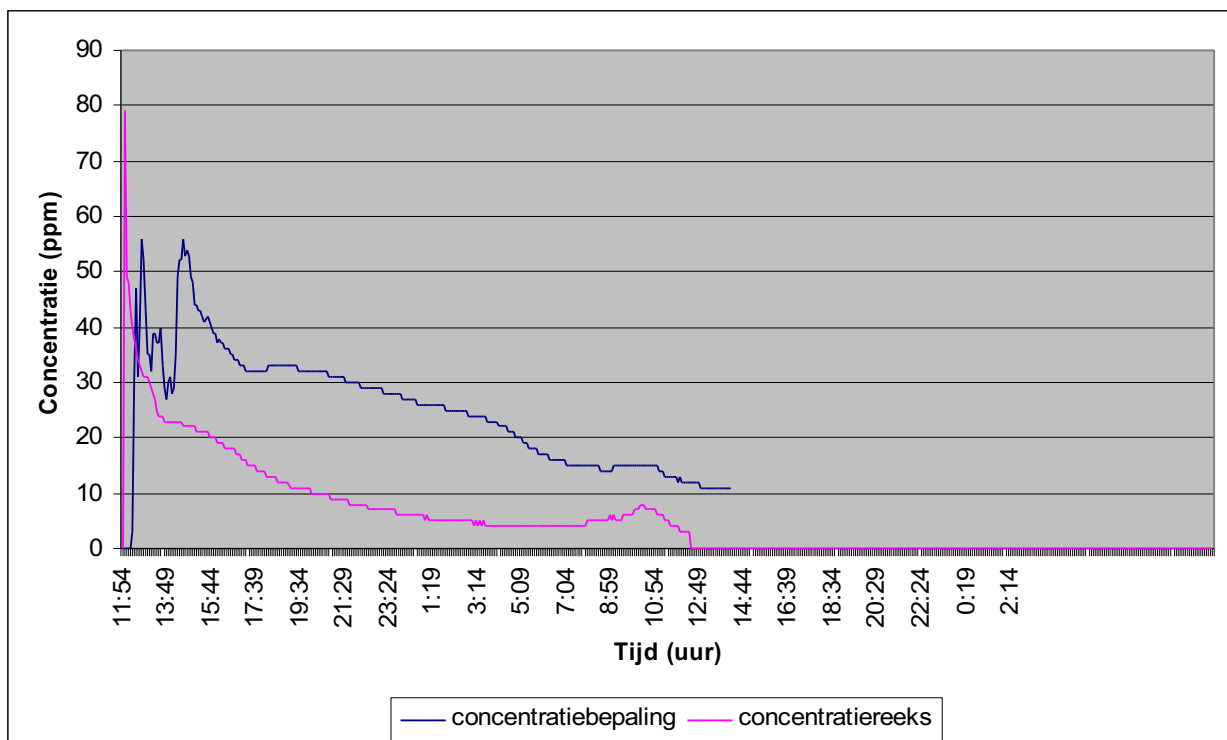
Men kan dus uit deze proef besluiten dat de behandeling pas een significant effect heeft op de lengte en groeiremming van de plant bij een dosis van 1600  $\mu\text{l}$ . Bij een dosis van 800  $\mu\text{l}$ , was de behandeling pas effectief vanaf een behandelingduur van 5 of 3 dagen (tabel 32 en 33).

Dit wordt in tabel 34 nog eens bevestigd via het aantal bladeren van elke proefplant die na de behandeling overschieten. Uit de bepaling van het aantal scheuten kan men echter geen significante conclusies trekken.

Wat betreft de gezondheidsklassen ziet men in tabel 27 dat de visuele schade bij een behandeling van 800 en 1600  $\mu\text{l}$  na één dag reeds de planten respectievelijk in klasse III en IV onderbrengt. Bij een stijgende behandelingsduur loopt dit bij beide behandelingen nog op naar klasse IV en V.

Als men de resultaten van deze proef vergelijkt met deze van de concentratiereeks (figuur 55) dan blijkt de blootstellingduur een grotere impact te hebben op de plant dan de grootte van de piekconcentratie. Hoewel de proeven enerzijds in tonnen en anderzijds in kolven gebeurde, ziet men bij het vergelijken van de concentraties (ppm) tijdens het verloop van beide proeven (figuur 74):

- dat concentratiebepaling (800  $\mu\text{l}$ ) een piek vertoont van 56 ppm en dat de aanwezigheid van ammoniak 4.5 dagen aanhoudt.
- dat concentratiereeks (200  $\mu\text{l}$ ) een piek vertoont van 79 ppm en dat de aanwezigheid van ammoniak 1 dag aanhoudt.



Figuur 74: Vergelijking tussen de concentratiebepaling (800  $\mu\text{l}$ ) en de concentratiereeks (200  $\mu\text{l}$ ).

Toch blijkt dat de proefplanten bij de concentratiebepaling na 1 dag bij 800  $\mu\text{l}$  zich al in klasse III bevinden (tabel 27) terwijl ze in de concentratiereeks na 1 dag wat schade betreft onder klasse

II vallen (tabel 16), ondanks de veel hogere piekconcentratie. De grootte van de schade aan de planten is waarschijnlijk positief gecorreleerd aan de oppervlakte onder de kromme. Verder onderzoek dient uitgevoerd te worden om deze stelling te staven.

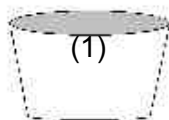
Men kan dus besluiten dat voor de praktijk het zorgen voor voldoende verluchting van de serre een oplossing kan bieden: planten kunnen een vrij hoge concentratiepiek verdragen, zolang die niet lang aanhoudt. De schade aan planten zal dus minder groot zijn als men op geregelde tijdstippen een luchtstroom kan creëren boven het substraatoppervlak.

## 7.2.6. Plantenproef 2

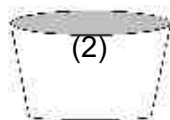
### 7.2.6.1. Proefopstelling

Het proefopzet van dit experiment was volledig analoog met dat van de voorgaande 'concentratiebepaling' en mag gezien worden als aanvulling op die proef. De proef werd gestart op 26 nov. 04; 16.00u.

➤ Proefschema:



0 µl; 5 dagen



1600 µl; 3 dagen



1600 µl; 5 dagen

➤ Einde van de proeven:

1 dec. 04 ; 16.00u

29 nov. 04; 13.00u

1 dec. 04; 16.00u

De visuele schade zichtbaar onmiddellijk na het uit de ton nemen van de plant:

Ton 1 → 0 µl; 5 dagen: referentie.

- Opvallend waren de vele luchtwortels tot halverwege de stengel te wijten aan de hoge RV. In een 100 % RV omgeving is de plant niet meer in staat te transpireren wat leidt tot ophoping van bepaalde groeistoffen in de plant.

Ton 2 → 1600 µl; 3 dagen:

- verwelking en verkleuring tot olijfgroen (idem als hoger vermelde proeven) van de gehele plant
- transparant worden van het bladweefsel verspreid over de gehele plant
- omknikken van alle bladeren en van de topscheut
- verdroging en val van de kiemblaadjes en de eerste 2 – 3 echte bladeren

Ton 3 → 1600 µl; 5 dagen:

- verwelking en verkleuring tot olijfgroen (idem als hoger vermelde proeven) van de gehele plant
- transparant worden van het bladweefsel verspreid over de gehele plant
- omknikken van alle bladeren en van de topscheut
- verdroging en val van de kiemblaadjes en de eerste 2 – 3 echte bladeren.



Figuur 75: Ton 2, twee dagen na einde proef en ton 2 onmiddellijk na de proef.

De visuele schade na 1-2 weken(13 dec. 04):

Ton 1 → 0 µl; 5 dagen: referentie.

- normale groei

Ton 2 → 1600 µl; 3 dagen:

- alle bladeren en –in de meeste gevallen- ook de topscheut, waren verdord en/of afgevallen
- vorming van needscheuten op de stengel tot in de top van de plant

Ton 3 → 1600 µl; 5 dagen:

- alle bladeren en –in de meeste gevallen- ook de topscheut, waren verdord en/of afgevallen
- vorming van needscheuten op de stengel tot in de top van de plant





Figuur 76: Schade op 13 dec. 04.

Tabel 35: Gezondheidsklassen bij de plantenproef 2.

Visuele schade:	Direct na de proef	Twee weken na de proef
0 µl; 5 dagen  => Klasse I	<ul style="list-style-type: none"> <li>• luchtwortels door hoge RV.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• geen relevante afwijkingen.</li> </ul>
1600 µl; 3 dagen  => Klasse IV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• verwelking gehele plant (transparante verkleuring).</li> <li>• kiem- en eerste 2-3 echte bladeren verdwenen.</li> <li>• omknikken alle bladeren en topscheut.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alle bladeren en meestal topscheut dood.</li> <li>• aanleg en uitgroei van nood scheuten.</li> </ul>
1600 µl; 5 dagen  => Klasse IV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• verwelking gehele plant (transparante verkleuring).</li> <li>• kiem- en eerste 2-3 echte bladeren verdwenen.</li> <li>• omknikken alle bladeren en topscheut.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alle bladeren en meestal topscheut dood.</li> <li>• aanleg en uitgroei van nood scheuten. necrotische vlekken op topscheut en 2 jongste bladeren.</li> <li>• bladschijven onderste bladeren weg.</li> </ul>

Van alle planten werd zowel de stengellengte als de stengel- en bladlengte samen opgemeten.

Tabel 36: Resultaten van de meting stengellengte op 13 dec. 04.

proefplant	lengte (cm)	lengte (cm)	lengte (cm)	Gemiddelde	% referentie
1600 µl - 3d	24,0	32,0	32,0	29,3	77,8
1600 µl - 5d	34,5	36,5	36,0	35,7	94,6
ref	39,0	32,0	42,0	37,7	100,0

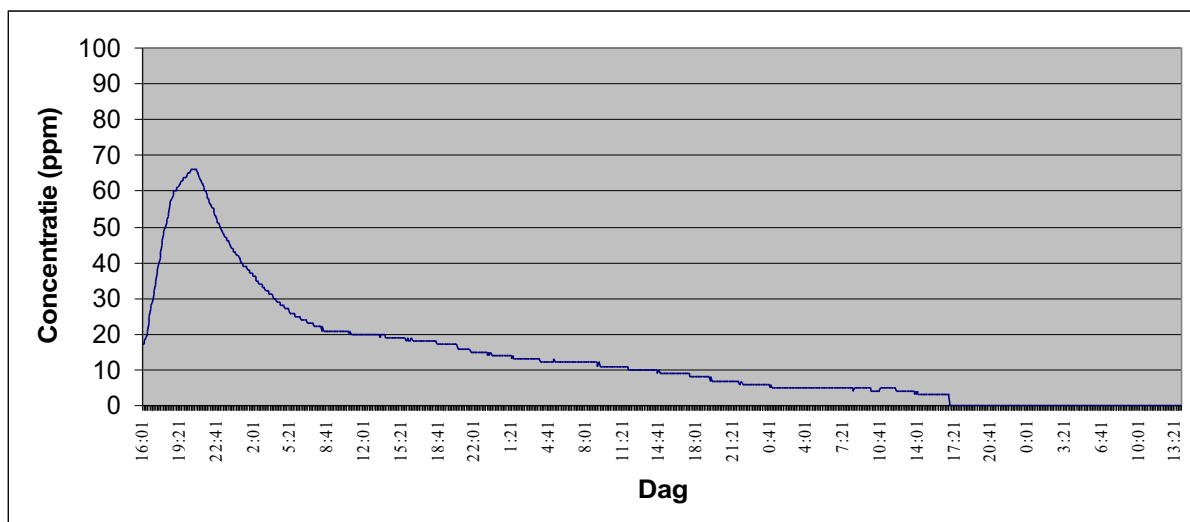
Tabel 37: Resultaten van de meting stengel- + bladlengte op 13 dec. 04.

proefplant	lengte (cm)	lengte (cm)	lengte (cm)	Gemiddelde	% referentie
1600 µl - 3d	28,0	34,0	33,0	31,7	70,8
1600 µl - 5d	37,0	40,0	42,0	39,7	88,7
ref	45,0	42,0	47,0	44,7	100,0

Daarnaast werd ook van elke plant het aantal (nood)scheuten genoteerd.

Tabel 38: Scheutbepaling op 13 dec. 04.

proefplant	aantal scheuten	aantal scheuten	aantal scheuten	Gemiddelde
1600 µl - 3d	6,0	2,0	3,0	3,7
1600 µl - 5d	6,0	5,0	4,0	5,0
ref	1,0	1,0	0,0	0,7



Figuur 77: Resultaten van plantenproef 2.

### 7.2.6.2. Bespreking

Er werd nagegaan of de morfologische verschillen van de proefplanten significant waren:

- meting van de stengellengte op 13 dec. 04.

Eerst werd de homogeniteit van de residuele variantie gecontroleerd via Levene's test, om na te gaan of de ANOVA-analyse toegepast mocht worden. Hieruit bleek dat er geen significant (Pr = 0.105) verschil was tussen de residuen in de verschillende behandelingsgroepen.

Uit de variantie-analyse bleek dat de behandeling geen significant (Pr: 0.099) effect had op de lengte.

- meting van de stengel- + bladlengte op 13 dec. 04.

Eerst werd de homogeniteit van de residuele variantie gecontroleerd via Levene's test, om na te gaan of de ANOVA-analyse toegepast mocht worden. Hieruit bleek dat er geen significant (Pr = 0.756) verschil was tussen de residuen in de verschillende behandelingsgroepen.

Uit de variantie-analyse bleek dat de behandeling een significant (Pr: 0.003) effect had op de lengte.

Uit de DUNCAN-test (tabel 39) bleek dat de groeiremming alleen significant verschillend was van de 0 µl-behandeling (referentie) bij de behandeling van 1600 µl van 3 dagen.

Tabel 39: De DUNCAN-test bij meting van de stengel- en bladlengte op 13 dec. 04.

proefplant	% referentie	DUNCAN
1600 µl - 3d	70,8	b
1600 µl - 5d	88,7	a
ref	100,0	a

- de scheutbepaling op 13 dec. 04.

Eerst werd de homogeniteit van de residuele variantie gecontroleerd via Levene's test, om na te gaan of de ANOVA-analyse toegepast mocht worden. Hieruit bleek dat er geen significant (Pr = 0.132) verschil was tussen de residuen in de verschillende behandelingsgroepen.

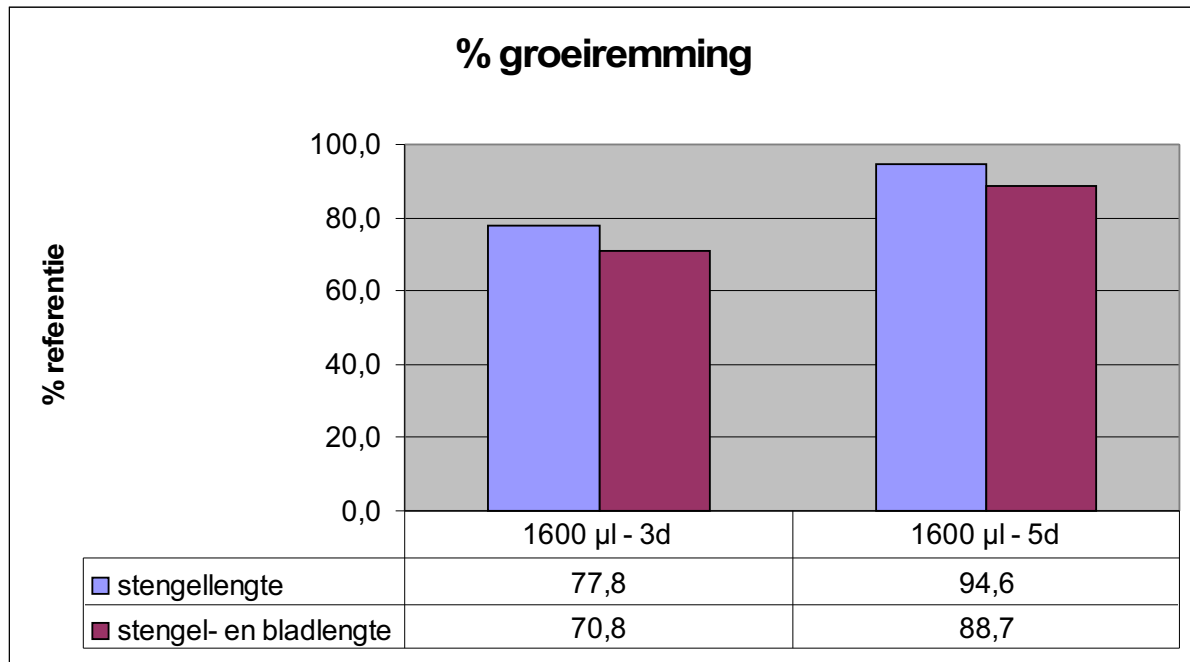
Uit de variantie-analyse bleek dat de behandeling een significant (Pr: 0.021) effect had op het scheutaantal.

Uit de DUNCAN-test (tabel 40) bleek dat de groeiremming significant verschillend was van de 0 µl-behandeling (referentie) bij de behandeling van 1600 van 3 en 5 dagen.

Tabel 40: De DUNCAN-test bij de scheutbepaling op 13 dec. 04.

proefplant	Gemiddelde	DUNCAN
1600 µl - 3d	3,7	b
1600 µl - 5d	5,0	b
ref	0,7	a

De lengtemetingen worden grafisch voorgesteld in figuur 78:



Figuur 78: %groeiremming bij de plantenproef 2.

Men kan dus uit deze proef en tabel 39 besluiten dat de behandeling een significant effect heeft op de lengte en groeiremming van de plant. Dit is in overeenstemming met de voorgaand proef waar men kon concluderen dat de behandeling reeds significant was na een behandeling van 1 dag. (tabel 32 en 33).

Dit wordt in tabel 34 nog eens bevestigd via het aantal bladeren van elke proefplant na de behandeling.

Wat betreft de gezondheidsklassen ziet men in tabel 35 dat de visuele schade bij een behandeling van 1600 µl de planten in gezondheidsklasse IV bracht. Analoge resultaten werden hiervoor bekomen in de vorige proef 'concentratiebepaling' (tabel 27).

## 7.2.7. Plantenproef 3

### 7.2.7.1. Proefopstelling

Zoals reeds hoger aangehaald, werd de plantenproef 1 herhaald. Door een meetfout van het toestel (batterijproblemen), konden er geen resultaten gereproduceerd worden. Bij dit proefopzet ging er echter opnieuw iets mis, namelijk met de reactie  $\text{NH}_4\text{OH} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_3$  (mogelijk door aanwezigheid van potgrond in de 50 ml-beker?).

Deze proef verliep dus onder volgende omstandigheden:

- 3 planten per pot
- 200 µl (4 druppels) 25 % ammoniak in 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$
- Uitstroom open
- Start 22 nov. 04; 17.00h - Einde 25 nov. 07; 09.15h.

Achteraf bleek dus uit de concentratiegrafiek dat de planten niet onderhevig waren geweest aan een piek, maar eerder aan een min of meer constant lage dosis van ongeveer 5 ppm. Daar dit eerder werkelijke omstandigheden zijn die kunnen voorkomen in een serre, werd ervoor geopteerd om deze resultaten te behouden en de planten verder op te volgen wat schadebeelden betrof.

De visuele schade zichtbaar onmiddellijk na het uit de kolf nemen van de plant:



Figuur 79: Detail van de proefplant en de proefplant en referentie naast elkaar.

#### Proefplant:

- geen schade: geen omknikken van bladeren, geen verwelking
- hier en daar kwam wel een stipsgewijze weefselbeschadiging voor onder vorm van een lichtbruine verdroging
- ter hoogte van de verkleuring was het weefsel eveneens erg transparant, wat duidelijk wijst op weefselbeschadiging.

#### Referentie:

- geen omknikken en alle bladeren zagen er gezond uit
- de referentieplanten vertoonden over het algemeen toch een groter bladoppervlak

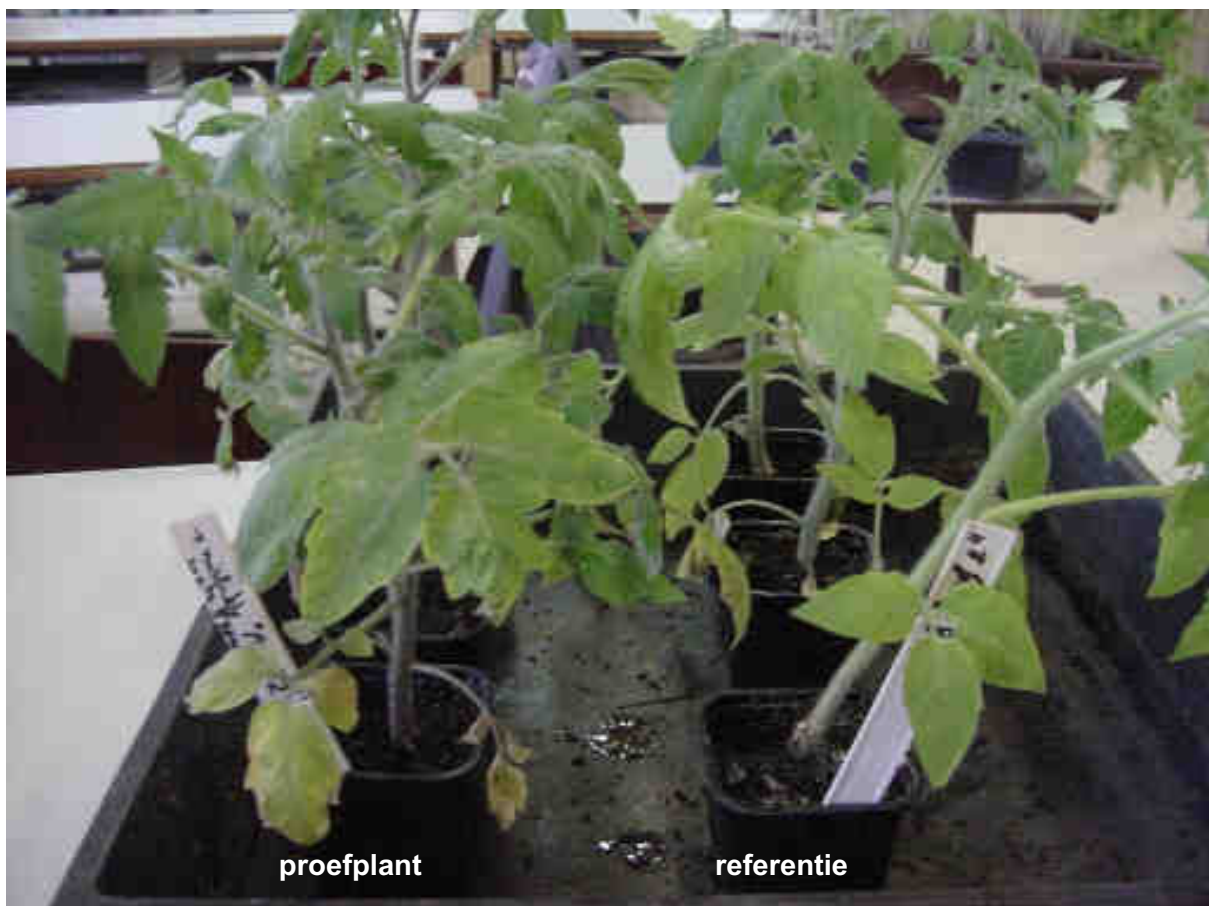
De visuele schade na twee weken (13 dec. 04):

Proefplant:

- de stengel is paarser verkleurd dan de referentieplanten
- de planten zijn ook compacter van vorm dan de referentieplanten
- alle bladeren herstelden zich van de stipvormige aantasting maar in sommige gevallen waren er enerzijds nog necrotische puntjes aanwezig in het bladmoes en anderzijds lichte misvormingen van de bladschijf

Referentie:

- de referentieplanten werden gekenmerkt door het feit dat de oudere bladeren meer geëtioleerd waren dan de proefplanten. Dit was niet het geval voor de stengel



Figuur 80: Schade op 13 dec. 04.

Tabel 41: Gezondheidsklassen bij de plantenproef 3.

Visuele schade:	Direct na de proef	Twee weken na de proef
0 $\mu$ l; 3 dagen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• geen relevante afwijkingen.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• geen relevante afwijkingen.</li> </ul>

=> Klasse I 200 µl; 3 dagen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• geen schade.</li> <li>• Soms stipvormige weefselbeschadiging in bladmoes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alle bladeren herstelden.</li> <li>• soms lichte morfologische bladafwijkingen en paarse stengel.</li> </ul>
=> Klasse I/II		

Van alle planten werd zowel de stengellengte als de stengel- en bladlengte samen opgemeten.

Tabel 42: Resultaten van de meting stengellengte op 13 dec. 04.

proefplant	lengte (cm)	lengte (cm)	lengte (cm)	Gemiddelde	% referentie
proefplant	21,5	26,5	24,5	24,2	106,0
ref	24,5	21,5	22,5	22,8	100,0

Tabel 43: Resultaten van de meting stengel- + bladlengte op 13 dec. 04.

proefplant	lengte (cm)	lengte (cm)	lengte (cm)	Gemiddelde	% referentie
proefplant	24,0	29,0	24,5	25,8	104,2
ref	25,5	23,5	25,5	24,8	100,0

Daarnaast werd ook van elke plant het aantal (nood)scheuten genoteerd.

Tabel 44: Scheutbepaling op 13 dec. 04.

proefplant	aantal scheuten	aantal scheuten	aantal scheuten	Gemiddelde
proefplant	3,0	5,0	5,0	4,3
ref	0,0	0,0	0,0	0,0

Resultaten van plantenproef 3: De ammoniakmeter gaf aan dat de proefplanten gedurende anderhalve dag blootgesteld werden aan een concentratie die ongeveer constant was, namelijk 4 ppm.

### 7.2.7.2. Bespreking

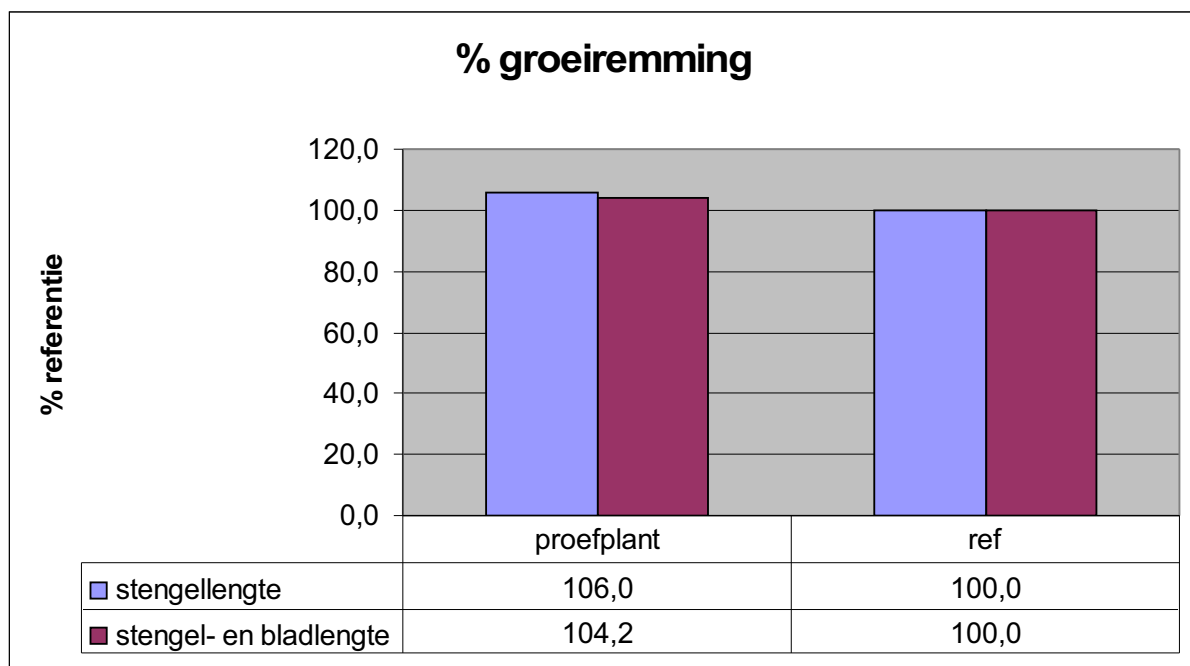
Opvallend bij deze proef was de stipsgewijze aantasting. Die stipsgewijze aantasting is duidelijk te zien op de onderstaande figuur 81. Deze vlekjes kwamen nergens voor op de referentieplanten. Dit is dus geen schade als gevolg van een te hoge RV maar door ammoniak of door een combinatie van een hoge RV en aanwezigheid van ammoniak.





Figuur 81: Stipvormige aantasting.

De lengtemetingen worden grafisch voorgesteld in figuur 82:



Figuur 82: %groeiremming bij de plantenproef 3.

Deze proef bevestigt opnieuw het besluit van de 'concentratiebepaling', namelijk dat de duur van de blootstelling een grotere impact heeft op de plant dan de concentratiegrootte (van de piek). Hoewel de ammoniakconcentratie nooit boven de 5 ppm kwam, bleek blootstelling hieraan gedurende anderhalve dag ruim voldoende om de planten in gezondheidsklasse II te brengen via de stipvormige weefselschade (tabel 41).

Er konden echter geen conclusies getrokken worden uit de lengtemetingen, noch uit de scheutbepaling (tabel 42, 43 en 44).



## 7.2.8. Proef met gesnoeide planten

### 7.2.8.1. Proefopstelling

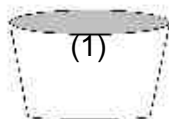
Voor deze proef werd om hoger aangehaalde redenen, gewerkt met gesnoeide planten. Op deze wijze werd immers ook het effect onderzocht van ammoniak in grotere volumes maar bij oudere, weliswaar compactere, planten. Het stadium waarin de plant zich bevond op het ogenblik van deze proef, is te zien op onderstaande figuur 83.



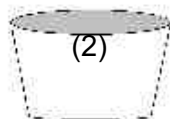
Figuur 83: Stadium van de proefplant voor proef.

Een laatste ton fungeerde voor vijf dagen als referentie. De proef werd opgestart op 8 dec. 2004, 16.00h.

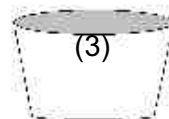
➤ Proefschema:



0 µl; 5 dagen



800 µl; 2 dagen



800 µl; 5 dagen

➤ Einde van de proeven:

13 dec 04 ; 14.45h

10 dec 04 ; 12.30h

13 dec 04 ; 14.45h

De visuele schade zichtbaar onmiddellijk na het uit de ton nemen van de plant:

Ton 1 → 0 µl; 5 dagen:

- veel vorming van wortels op de stengel door de hoge RV
- vorming van callusweefsel op de bladranden om dezelfde reden (zie figuur 84). In een 100 % RV-milieu kan de plant niet transpireren wat leidt tot opstapeling van bepaalde groeistoffen in het blad

Ton 2 → 800 µl; 2 dagen:

- aanwezigheid van noodscheuten (op de gevormde zijscheuten na snoei)
- alle bladschijven waren volledig verdord of olijfgroen gekleurd als gevolg van weefselschade
- op de topscheuten was er alleen schade aan de bladranden

Ton 3 → 800 µl; 5 dagen:

- geen aanwezigheid van noodscheuten (op de gevormde zijscheuten na snoei)
- alle bladschijven waren volledig verdord of olijfgroen gekleurd als gevolg van weefselschade
- op de topscheuten was er meer schade dan in ton 2



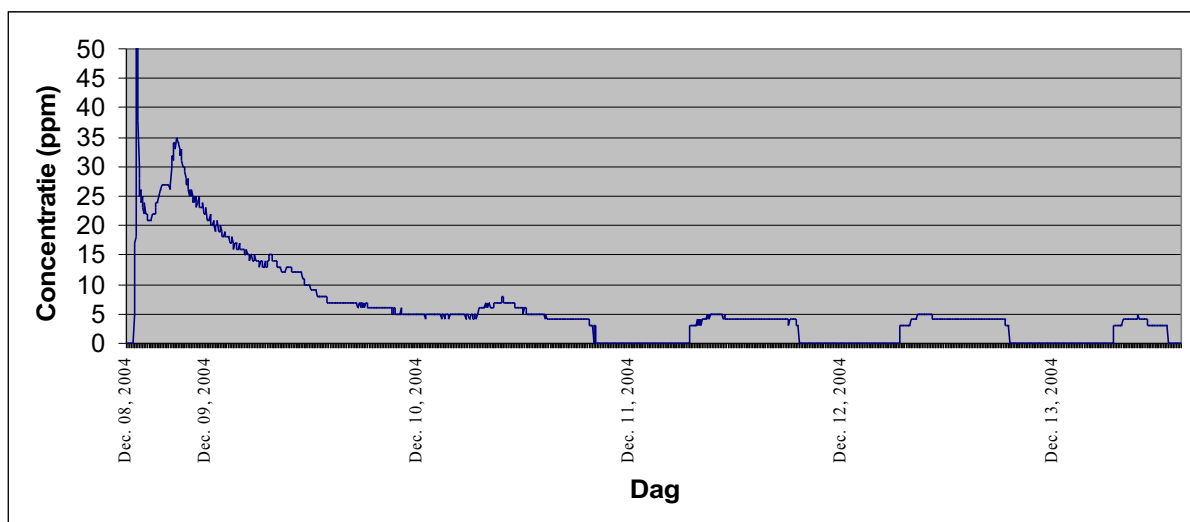
Figuur 84: Callusvorming op de bladrand.



Figuur 85 :Visuele schade ton 2 en alle planten onmiddellijk na de proef.

Tabel 45: Gezondheidsklassen bij de proef met gesnoeide planten.

Visuele schade:	Direct na de proef
0 µl; 5 dagen => Klasse I	<ul style="list-style-type: none"> <li>• luchtwortels en callusweefsel door hoge RV.</li> </ul>
800 µl; 2 dagen => Klasse III	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alle bladeren verdord/beschadigd.</li> <li>• vorming needscheuten.</li> <li>• schade aan rand van topscheut.</li> </ul>
800 µl; 5 dagen => Klasse III/IV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alle bladeren verdord/beschadigd.</li> <li>• nog geen needscheuten.</li> <li>• meer schade aan rand van topscheut dan ton 2.</li> </ul>



Figuur 86: Resultaten van proef met gesnoeide planten.

### 7.2.8.2.Bespreking

Tabel 45 geeft aan dat de behandeling ervoor zorgt dat de proefplanten qua schade minstens in klasse III terecht komen.

Opvallend bij deze proef was het periodiek verloop in de concentratiegrafiek (figuur 86) na de tweede dag. Hierbij werd een eerste periode (van 20.00h tot 06.30h) gekenmerkt door een concentratie van 0 ppm en een tweede (van 06.30h tot 20.00h) door een concentratie van 5 ppm. Dit kan alleen te verklaren zijn door de heersende omstandigheden van temperatuur of lichtduur. Als men kijkt naar de groeiomstandigheden, ingesteld in de fytotron (zie 7.1.4.1 zaaien van de proefplanten), dan blijkt de temperatuur overdag en 's nachts constant te zijn (20 °C). Dit biedt dus geen verklaring voor het voorkomen van deze periodieke grafiek. Wel is de belichtingsduur ingesteld van 06.00h tot 21.00h. De belichtingsperiode heeft dus duidelijk een invloed op de concentratie en vrijkomen van ammoniak in de ton. Er van uitgaan dat de temperatuur hier geen rol in speelt, is voorbarig en niet bewezen. Het vrijkomen van ammoniak is immers niet noodzakelijk rechtstreeks het gevolg van aanwezigheid van licht. Belichting kan via het serre-effect voor een opwarming in de tonnen gezorgd hebben waardoor dit op zijn beurt weer tot het vrijkomen van ammoniak heeft geleid. De temperatuur werd immers tijdens de proeven niet in de kolven of tonnen zelf gemeten en alleen verder onderzoek op dit vlak kan uitsluitel geven.

Tenslotte kan men de schade bij deze proef (gesnoeide planten) gaan vergelijken met de schade bij niet gesnoeide planten ('concentratiebepaling'). Als men tabel 45 en 27 vergelijkt dan is er geen verschil waar te nemen tussen beide, noch wat schadedetails betreft, noch wat gezondheidsklassen betreft: afhankelijk van de duur gaat het in beide gevallen om klasse III of IV.

## 7.2.9.Wormenmestproef 1

### 7.2.9.1.Proefopstelling

Het opzet van deze proef was nagaan of er ammoniak vrijkwam uit wormenmestkorrels. Hiertoe werden er twee volumedelen korrels en drie volumedelen potgrond (samen vijf volumedelen) vermengd, waarbij één volumedeel 250 ml bedroeg.

Dit gaf dus 40 vol% korrels in 100 vol% substraat. Als potgrond werd 'Universele Potgrond VIANO' gebruikt.

De omgevingsomstandigheden gedurende de proef waren:

- Dagtemperatuur: 20 °C
- Nachttemperatuur: 20 °C
- Belichtingsduur: 06.00h – 21.00h
- Belangrijk was ook het feit dat er geen water toegevoegd werd aan het substraat (0.0 vol% water toegevoegd)

➤ Verloop van de proef:

13/12; 15.00h: menging korrels in potgrond in de kolf

14/12; 08.45h: start meting ammoniak

16/12; 13.00h: einde meting



Figuur 87: Proefopstelling.

Meting op het extractiewater van de wormenmest korrels gaf zoals reeds hoger vermeld volgende waarden:

⇒ pH=6.25

⇒ EC=5.75 mS/cm

Resultaten van de proef: Er is geen ammoniak vrijgekomen; meetwaarden = 0 ppm.

### 7.2.9.2. Bespreking

Hoewel het hier ging om 'wormenmest 1' met een N-gehalte van 7.5 % en dit product gedoseerd was in een hoeveelheid –veel hoger dan praktijkgebruik- van 40 vol% van het substraat, kwam hier geen ammoniak vrij. In een volgende proef werd dan ook gezocht naar een mogelijke reden hiervoor.

## 7.2.10. Wormenmestproef 2

### 7.2.10.1. Proefopstelling

Bij deze proef werden er twee volumedelen korrels en vijf volumedelen potgrond (samen zeven volumedelen) vermengd, waarbij één volumedeel 250 ml bedroeg.

Dit gaf dus 28.5 vol% korrels in 100 vol% substraat. Als potgrond werd 'Universele Potgrond AVEVE' gebruikt.

De omgevingsomstandigheden gedurende de proef waren:

- Dagtemperatuur: 20 °C
- Nachttemperatuur: 20 °C
- Belichtingsduur: 06.00h – 21.00h
- Maar: een thermometer in de kolf zelf gaf een hogere waarde (22 °C) door de lichtinstraling

Er werd 1.5 volumedeel (375 ml) water extra toegevoegd aan het substraat (21.4 vol% water toegevoegd).

➤ Verloop van de proef:

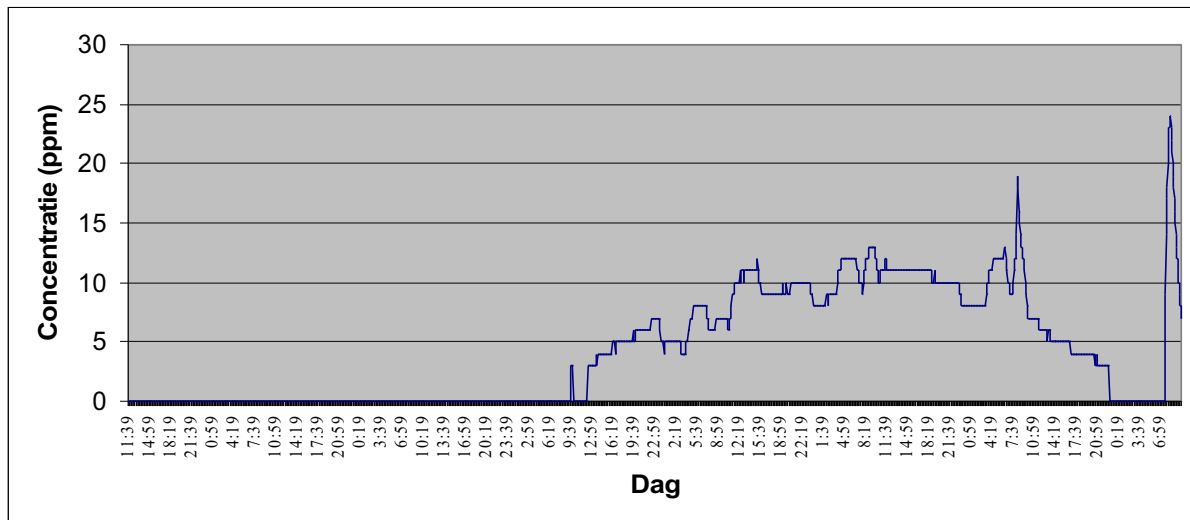
03/03; 13.00h: menging korrels in vochtige potgrond in kolf

04/03; 11.30h: start meting ammoniak

11/03; 10.15h: einde meting



Figuur 88: Wormenmestkorrels en fungi op 11 maart.



Figuur 89: Resultaten van de 'wormenmestproef 2'.

Daarnaast werd er ook nog na de proef op 14 maart 2005 een meting op het extractiewater van het substraat (de wormenmest korrels + potgrond AVEVE); dus 10 dagen na menging: Hierbij werd één volumedeel substraat in vijf volumedelen leidingwater gemengd, dus 50 ml substraat in 250 ml water.

Dit gaf volgende resultaten voor de meting op het extractiewater na het affiltreren van de vaste fase:

- ⇒ pH = 7.22
- ⇒ EC = 2.77 mS/cm

### 7.2.10.2. Bespreking

De resultaten van deze proef zijn een duidelijk bewijs dat er ammoniak kan geproduceerd worden in en vrijkomen uit wormenmest. Dit was niet het geval bij de vorige wormenmestproef waar de hoeveelheid wormenmest zelfs opliep tot 40 vol% in plaats van 30 vol%. De enige parameter die gewijzigd werd bij dit proefopzet, was de aanwezigheid van water. Men kan dus besluiten dat de aanwezigheid van voldoende water een essentiële factor is voor het vrijkomen van ammoniak uit wormenmest. Dit is vrij logisch daar water een essentieel agens is in praktisch alle (bio)chemische reacties. Verder zou men ook onderzoek kunnen wijden aan de schimmelgroei (figuur 88) en nagaan om welke schimmelsoorten het hier gaat. Mogelijk spelen die ook een rol bij de ammoniakvrijstelling.

## 7.2.11. Wormenmestproef 3

### 7.2.11.1. Proefopstelling

Bij deze proef werd er één volumedeel korrels en negen volumedelen potgrond (samen tien volumedelen) vermengd, waarbij één volumedeel 250 ml bedroeg. Deze verhoudingen leunen dichterbij toepassingen van wormenmest in de praktijk.

Dit gaf dus 10 vol% korrels in 100 vol% substraat. Als potgrond werd 'Universele Potgrond AVEVE' gebruikt.

De omgevingsomstandigheden gedurende de proef waren:

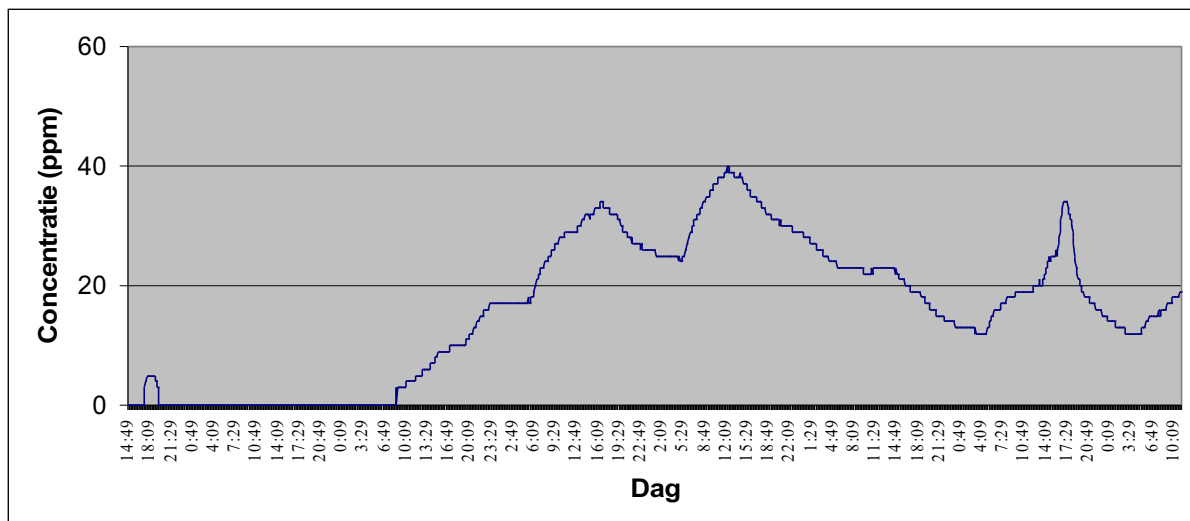
- Dagtemperatuur: 20 °C
- Nachttemperatuur: 20 °C
- Belichtingsduur: 06.00h – 21.00h
- Maar: een thermometer in de kolf zelf gaf een hogere waarde (23 °C) door de lichtinstraling.

Er werd 2 volumedelen (500 ml) water extra toegevoegd aan het substraat (20.0 vol% water toegevoegd).

➤ Verloop van de proef:

12/04; 14.45h: menging korrels in vochtige potgrond in kolf + start meting ammoniak

19/04; 11.25h: einde meting



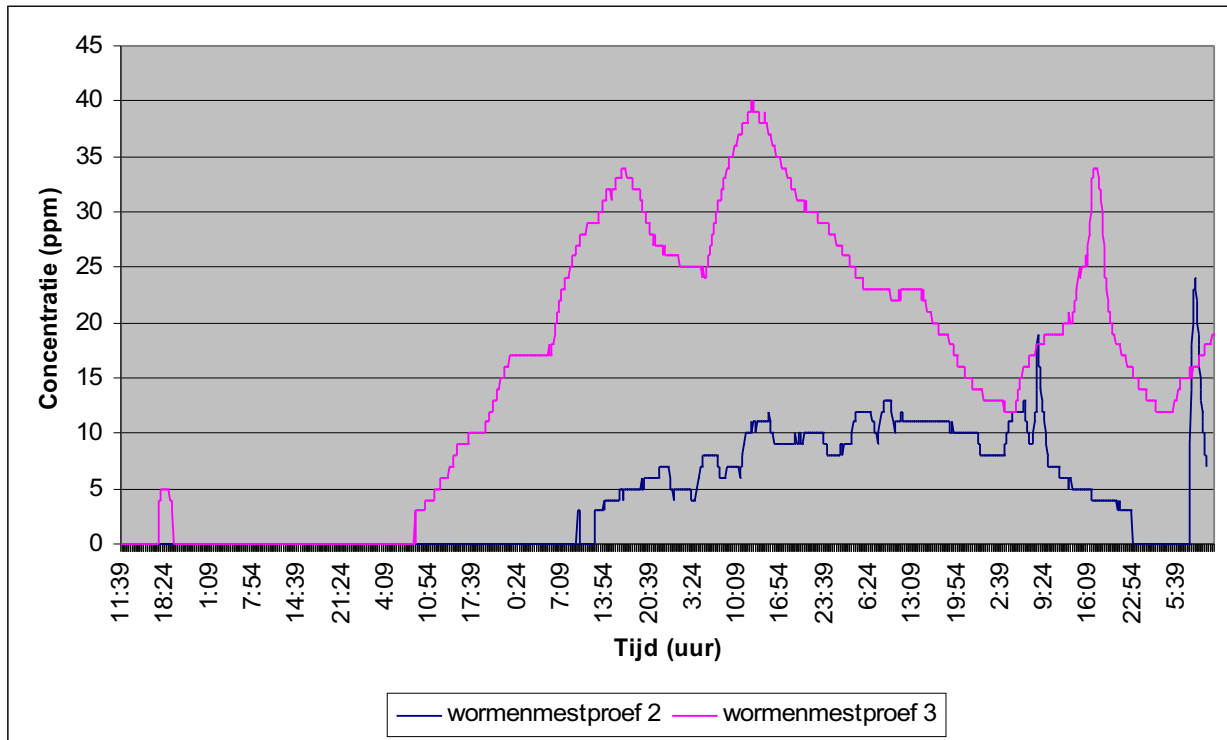
Figuur 90: Resultaten van wormenmestproef 3.

### 7.2.11.2. Bespreking

Net als in de 'wormenmestproef 2' kwam er veel ammoniak vrij uit de wormenmest in het substraat. De hoeveelheid toegevoegd water bleef hetzelfde (20 vol%) maar de hoeveelheid



wormenmestkorrels werd verlaagd tot 10 vol%. Deze hoeveelheden stemmen beter overeen met de teeltoomstandigheden van Krist Haemerlinck. Voor zijn tomatenteelt werd 10 ton wormenmest per hectare ingewerkt en tomaten worden, eens ze van het opkweekbedrijf komen, onmiddellijk goed nat gezet in een hoge RV.



Figuur 91: Vergelijking 'wormenmestproef 2' en 'wormenmestproef 3'.

Als men deze proef vergelijkt met 'wormenmestproef 2' (figuur 89 en 91) dan ziet men toch een aantal verschillen:

- ° Bij 'wormenmestproef 2' duurt het 3 dagen en 23 uur vanaf de menging alvorens er ammoniak vrijkomt.
- ° Bij 'wormenmestproef 3' duurt het slechts 1 dag en 19 uur vanaf de menging alvorens er ammoniak vrijkomt.

De concentraties die vrijkomen bij 'wormenmestproef 3' (tot 40 ppm) zijn ook veel hoger dan die bij 'wormenmestproef 2' (tot 24 ppm).

In figuur 90 ziet men voor beide proeven in eerst instantie een algemene stijging in de  $\text{NH}_3$ -concentratie, gevolgd door een afname. Daarnaast kan men er opnieuw het periodisch verloop terugvinden (zie 7.2.8.2 Bespreking): de pieken in de curve situeren zich allen tussen 12.00h en 14.00h; de dalen tussen 00.00h en 02.00h, zeker voor 'wormenmestproef 3'. Aangezien deze proef zonder planten uitgevoerd werd, kan men de invloed van planten, via hun opname van ammoniak, op het periodiek verloop van de concentratiecurve uitsluiten. Zoals reeds aangehaald dient men de oorzaak bij de variatie in lichtinstraling en/of warmte te zoeken.

## 7.2.12.Compostproef

### 7.2.12.1.Proefopstelling

Bij deze proef werd er één volumedeel wormenmestkorrels, 2 volumedelen compost en zeven volumedelen potgrond (samen tien volumedelen) vermengd, waarbij één volumedeel 250 ml bedroeg. Op deze manier kan men nagaan of compost een deel van de vrijkomende ammoniak kan vastleggen of de hoeveelheid die vrijkomt kan temperen. Dit gaf dus 10 vol% korrels en 20 vol% compost in 100 vol% substraat. Als potgrond werd 'Universele Potgrond AVEVE' gebruikt. De eigenschappen van de compost zijn reeds hoger behandeld (onderdeel 7.1.2 substraten)

De omgevingsomstandigheden gedurende de proef waren:

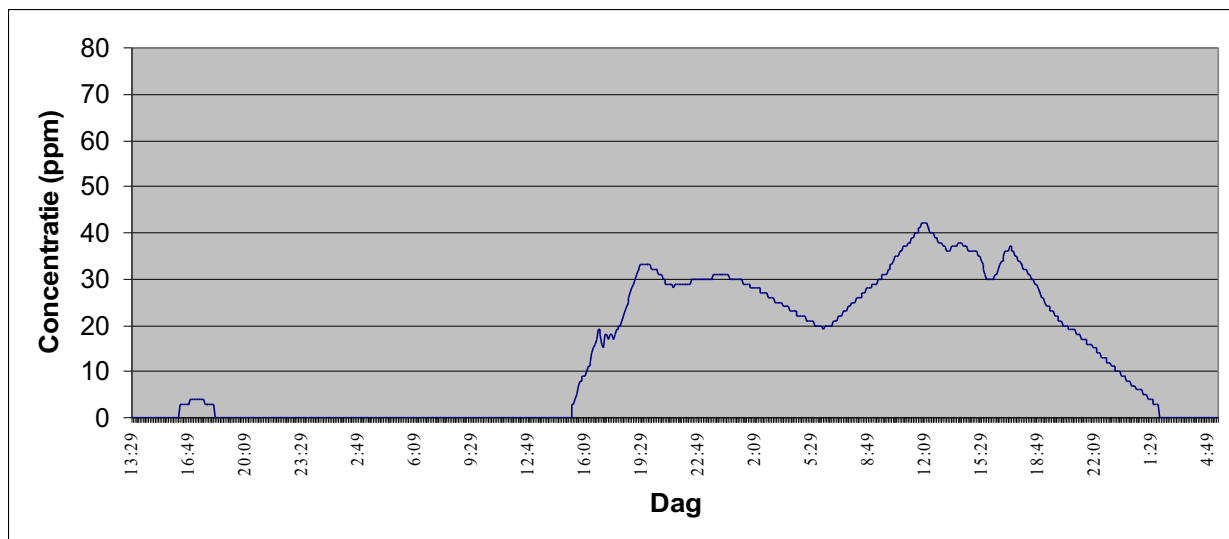
- Dagtemperatuur: 20 °C
- Nachttemperatuur: 20 °C
- Belichtingsduur: 06.00h – 21.00h

Er werd 2 volumedelen (500 ml) water extra toegevoegd aan het substraat (20.0 vol% water toegevoegd).

➤ Verloop van de proef:

26/04; 16.15h: menging korrels en compost in vochtige potgrond in de kolf + start meting ammoniak

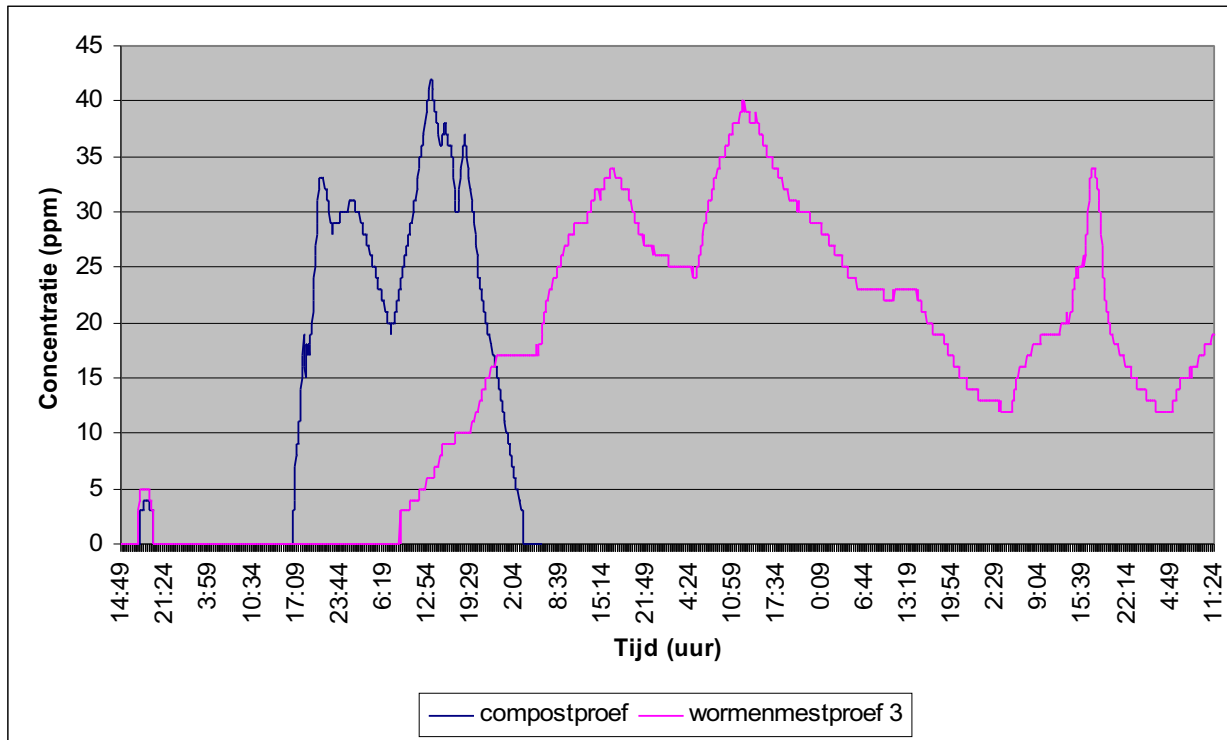
30/04; 08.25h: einde meting



Figuur 92: Resultaten van compostproef.

### 7.2.12.2.Bespreking

Deze proef verliep analoog met 'wormenmestproef 3', met dat verschil dat er een deel potgrond vervangen werd door compost. De vergelijking tussen beide concentratiecurves is te zien in figuur 93.



Figuur 93: Vergelijking 'compostproef' en 'wormenmestproef 3'.

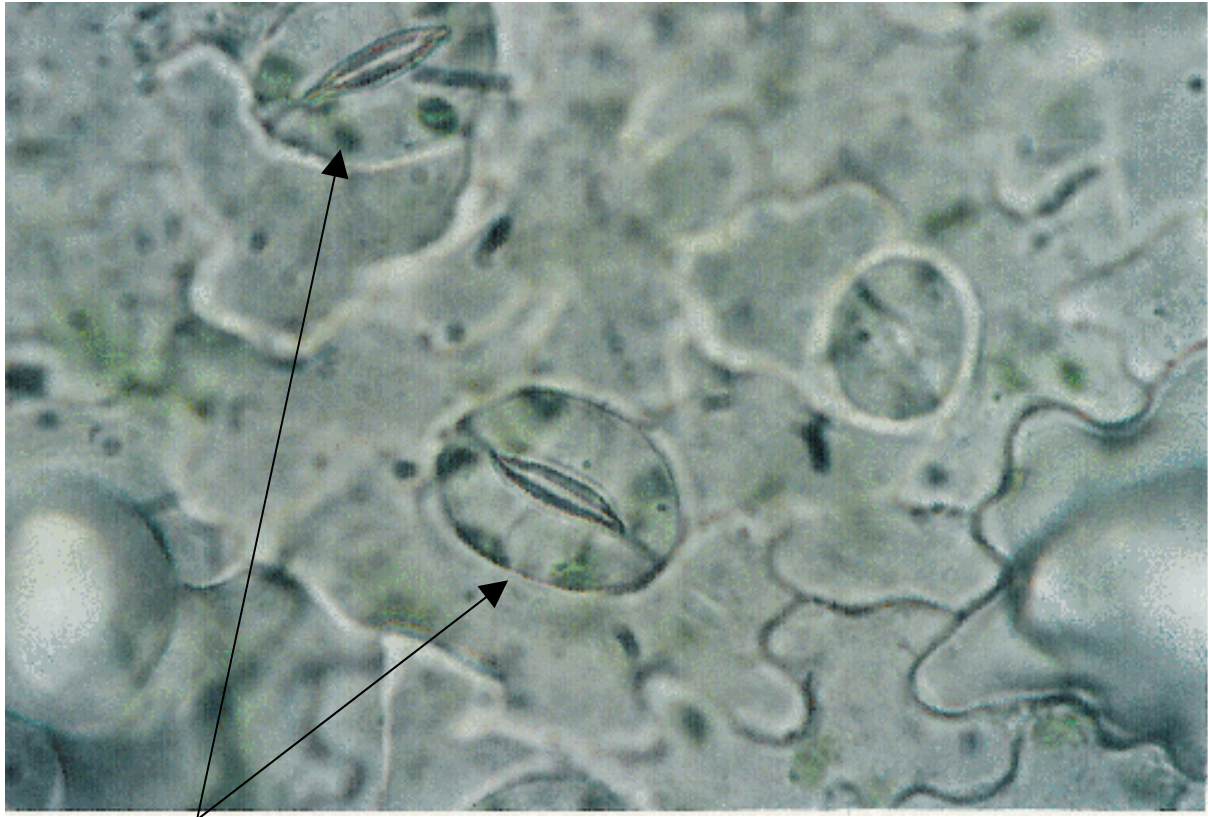
Uit deze figuur valt alleen maar te concluderen dat in aanwezigheid van compost, ammoniak sneller en in grotere hoeveelheden vrijkomt uit wormenmest. Toch valt hierbij op te merken dat één proef onvoldoende is om bevindingen rond de invloed van compost op de afgifte van ammoniak uit wormenmest, te voltooien.

## 7.2.13. Stomatale schade

### 7.2.13.1. Proefopstelling

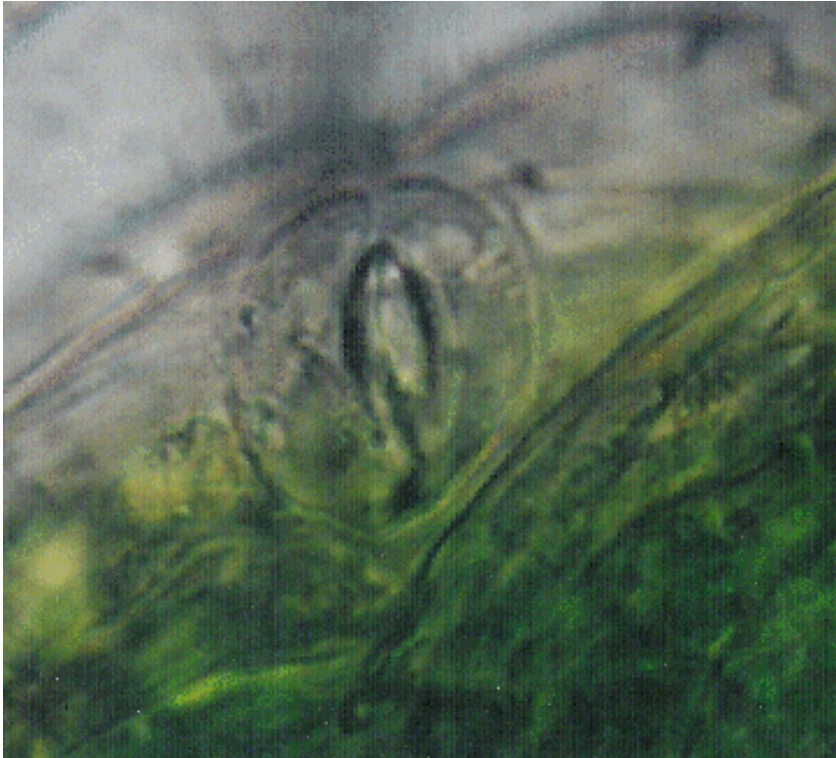
Voor deze proef werden 2 planten in de 4000ml-kolf geplaatst en 1 referentieplant onder analoge omstandigheden gehouden. Net als in 'plantenproef 1' werd 25 % ammoniak in 50 ml H<sub>2</sub>O gedoseerd. Hierbij werd 300 µl gebruikt en de proef zelf duurde 1 dag. De ammoniakconcentratie werd niet gemeten maar na de proef werden de bladeren van zowel de proefplanten als de referentie onder een microscoop onderzocht. Dit gebeurde drie dagen na het beëindigen van de blootstelling. Het doel was nagaan of er door ammoniakwerking stomatale schade visueel vast te stellen was via de microscoop. De foto's werden genomen bij een vergroting van 10x40x1/1.6.

In figuur 94 is een beeld te zien van de stomata in onbeschadigd plantenmateriaal van de referentie-planten.

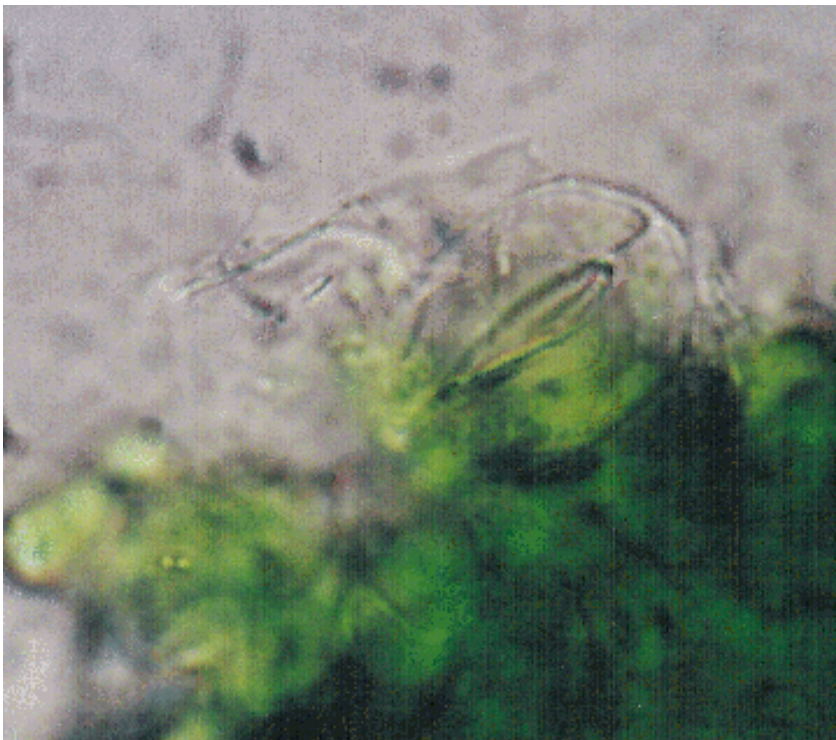


Figuur 94: Stomata in onbehandeld plantenmateriaal.

In figuur 95 en 96 is een beeld te zien van de stomata in beschadigd maar nog levend plantenmateriaal van de proefplanten.



Figuur 95: Stomata in behandeld plantenmateriaal.



Figuur 96: Stomata in behandeld plantenmateriaal.

### 7.2.13.2. Bespreking

Hoewel de schade visueel moeilijk vast te stellen is, lijken de stomata van de proefplanten meer opgezwollen (turgescient) en geopend (figuur 95 en 96) dan die van de referentie-planten (figuur 94). Ammoniak lijkt dus een grotere openingsgraad van de stomata te veroorzaken, wat voor een stuk de verregaande verwelkingssymptomen bij behandelde planten in voorgaande proeven kan verklaren. Of deze openingsgraad nu louter te wijten is aan ammoniakale beschadiging of eerder aan veranderingen in het omliggende weefsel door de behandeling (of beiden), is niet duidelijk. Het is echter wel bekend dat stomata de sterkste cellen (cf. weerstaan hoge turgordruk) van het bladweefsel zijn. Dit veronderstelt dat de beïnvloedende spanningen van het omringende weefsel een verwaarloosbaar effect zouden moeten hebben op de morfologie van het huidmondje. Maar verder onderzoek en foto's zijn vereist om dit te staven.



## 8. Besluit

In dit eindwerk werd de invloed van ammoniak in de atmosfeer op planten onderzocht, met name de directe schade. Hierbij gaat het dus om rechtstreekse visuele schadesymptomen binnen een periode van een aantal dagen. Daarnaast kan er ook indirecte schade optreden bij meerjarige planten onder vorm van ernstige fysiologische veranderingen en een verminderde vitaliteit als gevolg van ammoniakale inwerking. Deze symptomen worden pas duidelijk na een blootstelling van minstens een jaar. De indirecte effecten werden in deze studie niet onderzocht wegens de duur van een dergelijk onderzoek.

In dit onderzoek werd bewezen dat de aanwezigheid van ammoniak kan leiden tot schade aan planten en dus ook zijn gevolgen zal hebben op de opbrengst in serreteelten op substraat. Bij concentraties die in de praktijk voorkomen leidt dit niet noodzakelijk tot de dood van de plant, maar eerder tot een groeiremming als gevolg van abiotische stress. Dit kan optreden door een reductie van het assimilerende oppervlak. De groeiremming was in deze labo-omstandigheden significant vanaf een concentratie van 10 ppm (met een 5 minuten durende piek van 75 ppm) gedurende één dag. De schade aan het gewas leidt uiteindelijk tot een verlenging van de teeltduur, die kan oplopen tot een maand, wat op zijn beurt voor aanzienlijke economische verliezen zorgt naar de teler toe.

Uit de proeven is ook gebleken, naar analogie met de bevindingen van Dandrieux et al. (2001), dat naast de concentratie ook de blootstellingduur een belangrijke rol speelt. Vergelijkbare resultaten werden in dit onderzoek gevonden (tabel 46). Het concentratieverloop in deze proeven vertoonde meestal een grote piek in de eerste dag om daarna snel terug te vallen tot een lage waarde die gedurende enkele dagen aanhield. Het effect van de duur zou normaliter veel duidelijker tot uiting komen bij proeven met een constant verlopende concentratiecurve.

Tabel 46: Overzicht van de gezondheidsklassen in functie van de behandelingsduur en concentratie.

<b>Dosis:</b>	<u>25 / 50 µl</u>	<u>100 µl</u>	<u>200 µl</u>	<u>400 µl</u>	<u>800 µl (ton)</u>	<u>1600 µl (ton)</u>
<b>Duur:</b>						
<u>1 dag</u>			Klasse II		Klasse III	Klasse IV
<u>1.5 dagen</u>			Klasse II			
<u>2 dagen</u>	Klasse I	Klasse I	Klasse II	Klasse III	Klasse III	
<u>3 dagen</u>					Klasse III	Klasse IV/V
<u>5 dagen</u>			Klasse III		Klasse III/IV	Klasse IV

In dit onderzoek werd eveneens bewezen dat ammoniak kan vrijkomen uit wormenmest. Bij toepassing van 10 vol% wormenmest in het substraat, bleken er na één à drie dagen reeds concentraties van 10 tot 40 ppm ammoniak vrij te komen. Dit was echter enkel het geval bij aanwezigheid van voldoende water ( $\pm$  20 vol%). Zonder water is er geen vrijstelling maar in de praktijk biedt dit geen oplossing; water is essentieel voor plantengroei. Bovendien dient men

ook nog onderscheid te maken tussen verschillende soorten wormenmest. Zo zijn er nog geen schadegevallen bekend bij rechtstreekse toepassing van regenwormencompost als plantensubstraat. Men kan dus best voor het gebruik van een onbekende wormenmestsoort overgaan tot analyses om vervolgens de juiste mengverhouding te bepalen.

Uit de proeven met compost, konden geen sluitende conclusies getrokken worden. De aanwezigheid van compost bij wormenmest in het substraat kan de vrijstelling van ammoniak versterken, temperen of niet beïnvloeden. Mogelijk kan er uit compost zelf, die bijvoorbeeld onvoldoende uitgerijpt is, ook ammoniak vrijkomen. Verder onderzoek op dit vlak kan zeker nuttig zijn.

Visuele schade en morfologische veranderingen aan de stomata door inwerking van ammoniak op de plant konden eveneens niet bewezen worden aan de hand van microscopisch onderzoek. Toch leek de opening van de huidmondjes onder invloed van ammoniak groter te zijn. Er zijn echter meer foto's en plantenmateriaal nodig om stomatale erosie als gevolg van het directe effect van atmosferische ammoniak aan te tonen en tot een besluit te komen.

Hierbij valt nog op te merken dat deze schade voorkomt in de glastuinbouw aangezien men daar in een gesloten teeltsysteem werkt. Men kan dit probleem echter gemakkelijk verhelpen door voor voldoende verluchting te zorgen, zodat er een luchtstroom gecreëerd wordt net boven het substraat. Immers, ammoniak zal met zijn hoog soortelijk gewicht boven het substraat waaruit het vrijgesteld wordt, blijven hangen. Zoals reeds aangehaald, reageren planten nog vrij goed op langdurige lage concentraties en krijgen ze het lastig bij (kortstondige) hoge pieken. Het één à twee maal per dag verluchten van de serre verhindert het ontstaan van ammoniakpieken, vrijgesteld uit een substraat.

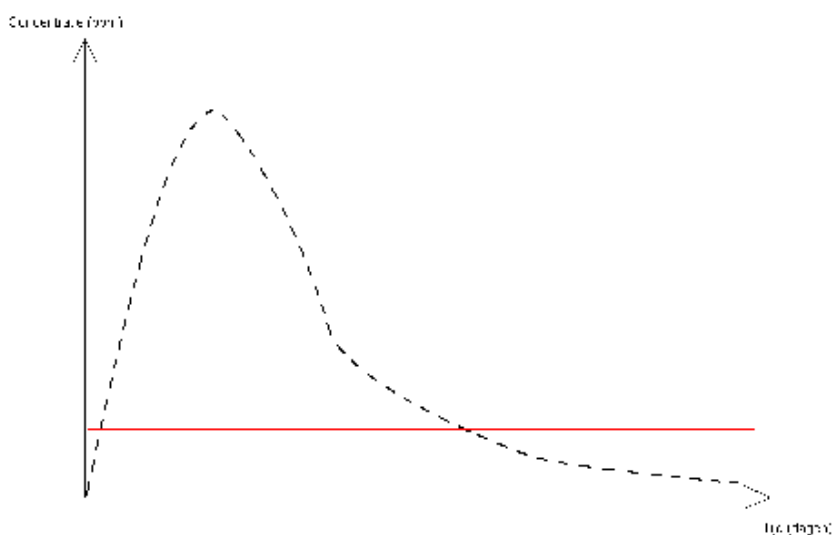
Toch dient er bij dit onderzoek naar de interactie tussen  $\text{NH}_3$  en de directe effecten ervan bij planten opgemerkt te worden dat men de resultaten niet zonder meer kan extrapoleren naar praktijksituaties. Deze studie beschrijft de schade aan de planten in functie van de blootstellingduur en de ammoniakconcentratie, maar in omstandigheden in de praktijk blijkt de schade aan het gewas vaak reeds bij lagere concentratie of een kortere blootstellingduur op te treden (Van der Eerden et al., 1990). Secundaire en indirecte effecten van ammoniak op de plant, zoals stress- en vorstgevoeligheid, lijken belangrijker. Voor een nauwkeurige bepaling van de grenswaarden voor de ammoniakconcentratie bij planten, is onderzoek naar die indirecte effecten een noodzaak. Dergelijke studies nemen echter jaren in beslag en zijn vooral interessant om de invloed van ammoniak op de natuurlijke vegetatie te onderzoeken. In de tuinbouwsector komt het er vooral op aan de schadesymptomen snel te herkennen en in te grijpen –via verluchting- alvorens er opbrengstverliezen kunnen optreden als gevolg van groeiremning. Langdurige en indirecte effecten spelen een minder belangrijke rol daar de teelt van tuinbouwgewassen hoogstens twee jaar duurt.



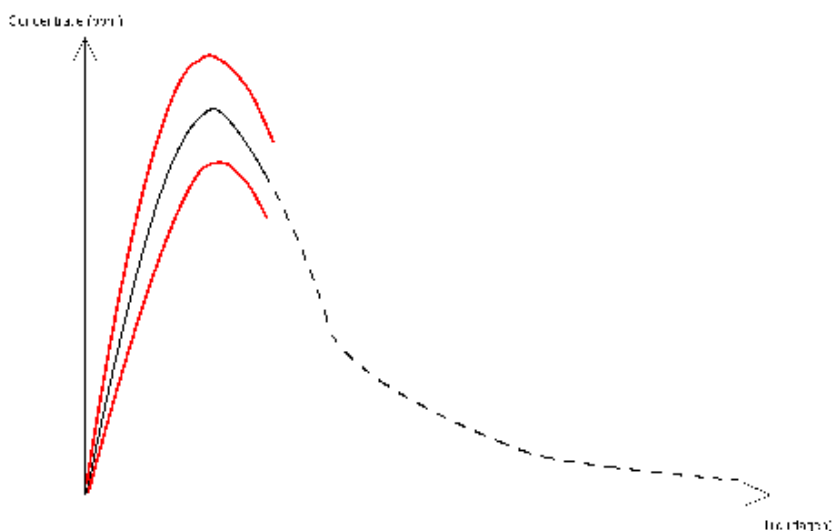
Maar ook op het terrein van directe ammoniakale schade in de tuinbouw kan er nog heel wat verder onderzoek verricht worden. Dit is voor een stuk het gevolg van de vele beïnvloedende factoren op de effecten van ammoniak op het gewas: licht en temperatuur in de serre, temperatuur, samenstelling en vochtgehalte van het substraat, de verluchting, de gewassoort, ... kunnen allen een determinerende rol spelen bij het schadebeeld.

Aanwijzingen voor de richting waarin verder onderzoek op dit vlak kan gedaan worden, zijn hieronder nog eens vermeld:

1. Het concentratie verloop van de proeven, beschreven in deze studie, vertoont telkens ongeveer hetzelfde verloop: een hoge piek in de eerste uren na de start van de proef, om vervolgens langzaam in grootte af te nemen gedurende de volgende dagen. Het zou ook interessant zijn om volgende situaties te onderzoeken, daar die dichter aanleunen bij mogelijkheden in de praktijk:
  - lagere constant gehouden dosissen met variatie in de tijd (figuur 97).
  - kortere blootstelling (tot zichtbare verwelking tijdens de proef), namelijk alleen tijdens het concentratiemaximum, met variatie in de hoogte van de ammoniakpiek (figuur 98).



Figuur 97: Constant, lager concentratieverloop.



Figuur 98: Kortere blootstelling met verschillende piekconcentraties.

2. Verder kan men ook nog de gevoeligheid gaan testen bij (a) afgeharde planten en (b) geëtioleerde planten t.o.v. referentieplanten. Op deze manier gaat men na wat de invloed van ammoniak is (of de variatie in schade) op planten die geteeld werden in groeiomstandigheden met respectievelijk (a) verschillende temperaturen en (b) verschillende lichthoeveelheden.
3. Zoals in dit besluit reeds hoger aangehaald werd, blijkt het vrijkomen van ammoniak uit een substraat gerelateerd te zijn aan de samenstelling (wormenmest, compost,...), de temperatuur en het vochtgehalte ervan. Ook op dit vlak kan men de invloedsfactoren onderzoeken, door telkens een parameter afzonderlijk te laten variëren en te controleren in welke mate de ammoniakale vrijstelling wijzigt.
4. Tenslotte valt ook nog op te merken dat alle proeven met dezelfde plant (tomaat) uitgevoerd werden. Het kan nuttig zijn om gelijkaardig onderzoek met andere gewassoorten te doen, bijvoorbeeld met bonen (*Phaseolus vulgaris*). Problemen met ammoniakschade in serres komen zelden of niet voor in de conventionele glastuinbouw daar men meestal op hydroteelt werkt. Dit is echter niet het geval in de biologische tuinbouw waar altijd aan grondteelt wordt gedaan. De boon is dan ook een belangrijk gewas in de biologische tuinbouw. Deze plant is net als de tomaat een snelle groeier wat bij proeven tot snelle resultaten zou leiden.

# Referenties

- AGNEW, J.M. & LEONARD, J.J. (2003). The physical properties of compost. *Compost Science and Utilization*, 11 (3),238-264.
- ANDERSON, D.P. (1964). The adverse effects of ammonia on chickens including resistance to infection with the Newcastle disease virus. In : DENTON, J.E. (2004).
- ANDERSON, K.(2004). United States Department of Agriculture: Plants Database. Internet. (<http://plants.usda.gov/index.html>)
- Ammonia in the UK. Internet, Scotland, 2004. (<http://www.scotland.gov.uk/Resource/Doc/1052/0002246.pdf>)
- Biologische appels en peren: Levende bodem als basis. Internet, Driebergen, Louis Bolk Instituut, 2003. ([http://www.louisbolk.nl/downloads/lf75/lf75\\_h3.pdf](http://www.louisbolk.nl/downloads/lf75/lf75_h3.pdf))
- Biologische teelt: ammoniak is waarschijnlijk de oorzaak van bladverdroging. *Groenten en fruit*, 2004 (week 6), blz. 27.
- BEDBOROUGH, D. R. (1980). Sensory measurement of odours. In : VALENTIN, F. & NORTH, A. (2005). Odour control – a concise guide. Internet, Warren Spring Laboratory, Stevenage, 2005. ([http://www.rfisk.is/media/utgafa/Skyrsla\\_01-99.pdf](http://www.rfisk.is/media/utgafa/Skyrsla_01-99.pdf))
- BOGAERT, A. (2004). Respiratiemetingen van compost d.m.v. statische en dynamische methoden. Eindwerk tot het behalen van de titel en de graad van industrieel ingenieur landbouw en biotechnologie, Gent, Hogeschool Gent Departement BIOT, 2003-2004, 94 blz.
- BAERT, G. (2003). Bemestingsleer. Cursus, Gent, Hogeschool Gent Departement BIOT 2003-2004, 166 blz.
- BOBBINK, R., HORNUNG, M. and ROELOFS, J.G.M. (1998). The effects of air-borne nitrogen pollutants on species diversity in natural and semi-natural European vegetation. *Journal of Ecology* 1998 (86), 717-738.
- BUYSSE, J., DEVLIEGHER, W., en BRAEKEVELT, A. (2002). Het gebruik van compost in de groenvoorziening. In : BOGAERT, A. (2004).

BUYSSE, J., Modeling the Phyto-availability of nutrients and contaminants. 'niet gepubliceerde doctoraatsstudie', Leuven, K.U. Leuven, 1996, 123 blz.

CCQC (2001). Compost maturity index. Internet, Nevada City, California Compost Quality Council, 2005.

(<http://www.ccqc.org>)

CLEMENT, J.M.A.M. (1996). Interaction of atmospheric ammonia pollution with frost tolerance of plants: a study on winter wheat and Scots pine. Proefschrift, Groningen, Rijksuniversiteit Groningen, 1996, 138 blz.

(<http://www.ub.rug.nl/eldoc/dis/science/j.m.a.m.clement/>)

COOLS, A.-M. (2003). Studie van fytotoxiciteitstesten voor mengsels van groencompost en potgrond. Eindwerk tot het behalen van de titel en de graad van industrieel ingenieur landbouw en biotechnologie, Gent, Hogeschool Gent Departement BIOT, 2002-2003, 85 blz.

DANDRIEUX, A., DUSSERRE, G., OLLIVIER, J. & MANZONE, D. (2001). Feedback information of an accidental ammonia dispersion: use of phyto-references. Internet, Alès, Laboratoire Génie de l'Environnement Industriel, Ecole des Mines d'Alès, 2004.

(<http://www.sciencedirect.com/>)

DECREET van 2 juli 1981 betreffende de voorkoming en het beheer van afvalstoffen, Belgisch Staatsblad, 2 juli 1981, blz 1-23.

DENTON, J.E. (2004). Adoption of chronic reference exposure levels for airborne toxicants. Internet, California, 2000.

([http://www.oehha.ca.gov/air/chronic\\_rels/pdf/7664417.pdf](http://www.oehha.ca.gov/air/chronic_rels/pdf/7664417.pdf))

DE SCHOESITTER, J. (2003). Evaluatie van stabiliteit en kwaliteit van groencompost als turfvervanger in potgrond. Eindwerk tot het behalen van de titel en de graad van industrieel ingenieur landbouw en biotechnologie, Gent, Hogeschool Gent Departement BIOT, 2002-2003, 85 blz

DEVOS, M., PATTE, F., ROUALT, J., LAFFORT, P. & VAN GEMERT, L.J. (1990). Standardized human olfactory thresholds. Oxford, Oxford University Press, 165 p.

EECKHOUT, M. (2003). Ingenieurstechnieken deel I. Cursus, Gent, Hogeschool Gent Departement BIOT 2003-2004, 156 blz.

FANGMEIER, A., HADWIGER-FANGMEIER, A., VAN DER EERDEN, L. en JAGER, H.J. (1994). Effects of atmospheric ammonia on vegetation: a review. *Environmental Pollution* 86

(1), 43–82. Geciteerd in: DANDRIEUX, A., DUSSERRE, G., OLLIVIER, J. & MANZONE, D. (2001).

GÖRANSSON, A. (1990) Alger, lavar och barruppsättning hos unggraner längs en kvävegradient från Sverige til Holland – en pilotstudie. Geciteerd in: BOBBINK, R., HORNING, M. and ROELOFS, J.G.M. (1998).

HAESAERT, G. (2003). Fytotechnie. Cursus, Gent, Hogeschool Gent Departement BIOT 2003-2004, 158 blz.

HEBER, M., BALLENTINE, K., DELOS, C. & ERICKSON, R. (1999). Update of Ambient Water Quality Criteria for Ammonia. Internet, Washington D.C., Office of Science and Technology, 1999.

(<http://www.epa.gov/waterscience/standards/ammonia/99update.pdf>)

HOLNESS, D.L. (1989). Acute and chronic respiratory effects of occupational exposure to ammonia. Geciteerd in : DENTON, J.E. (2004).

Industrial Scientific Corporation, (2004). ITX Multi-gas Monitor: Instruction Manual. Internet, Oakdale UK, 2004.

(<http://www.myitx.com/manual.asp>).

JANSEN, J. (2004). Wormenkwekerij Lanter. Internet, Wehl, 2000.

([http://www.wehl.net/bedrijf/wormenkwekerij\\_lanters](http://www.wehl.net/bedrijf/wormenkwekerij_lanters))

KAFKAFI, U. (1990). Root temperature, concentration and the ratio  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  effect on plant development. *Journal of Plant Nutrition*, 13, 1291-1306.

KELLNER, O. & REDBO-TORSTENSSON, P. (1995). Effects of elevated nitrogen deposition on the field-layer vegetation in coniferous forests. Geciteerd in: BOBBINK, R., HORNING, M. and ROELOFS, J.G.M. (1998).

KIEKENS, L., Bodemkunde en bemestingsleer. Deel II bemestingsleer. 'niet gepubliceerde cursus', Gent, Hogeschool, 3e jaar tuinbouw, 2000, 166 blz.

KHAN, M.R. & KHAN, W. (1995). Effects of ammonia and root-knot nematode on tomato. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 53 (1), 71–81. Geciteerd in: DANDRIEUX, A., DUSSERRE, G., OLLIVIER, J. & MANZONE, D. (2001).

LASARIDI, K.E. & STENTIFORD, E.I. (1998). Biological parameters for compost stability assessment and process evaluation. *Acta Horticulturae* 469. Geciteerd in: DE SCHOESITTER, J. (2003).

Leopold Siegrist GmbH (2004). MECCOS® EV MONITOR: Kontinuierliche Detektion von Gasen. Internet, Karlsruhe, 2004.

(<http://www.siegrist.de/shop/Productfiles/0000-0200-00001.pdf>).

LEVANON, D. & PLUDA, D. (2002). Chemical, physical and biological criteria for maturity in composts for organic farming. *Compost Science and Utilization*, 10 (4), 339-346.

LOOF, P. (2004). Paarden, de mest en de weide. Internet, Terneuzen, 2005.

([http://www.paardnatuurlijk.nl/index\\_js.htm?http://www.paardnatuurlijk.nl/weetjes/wormen.htm](http://www.paardnatuurlijk.nl/index_js.htm?http://www.paardnatuurlijk.nl/weetjes/wormen.htm))

MILLS, H.A. (2000). Vegetable crops: Tomato. Internet, Georgia, College of Agricultural and Environmental Sciences: Department of Horticulture, 2001.

(<http://www.uga.edu/vegetable/tomato.html>)

PAIN, B.F., REES, Y.J. & LOCKYER, D.R. (1987). Odour and ammonia emission following the application of pig or cattle slurry to land. Geciteerd in : NIELSEN, VOORBURG & L'HERMITE (1988).

PÉREZ-SOBA, M., DUECK, T.A., PUPPI, G. en KUIPER, P.J.C. (1995). Interactions of elevated CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> and O<sub>3</sub> on mycorrhizal infection, gas exchange and N metabolism in saplings of Scots pine. *Plant and Soil* 176, 107–116. Geciteerd in: DANDRIEUX, A., DUSSERE, G., OLLIVIER, J. & MANZONE, D. (2001).

PING, J., BREMER, E. and JANZEN, H. H. (2000). Foliar Uptake of Volatilized Ammonia from Surface-Applied Urea by Spring Wheat. Internet, Lethbridge, Agriculture and Agri-Food Canada, Research Centre, 2005.

([http://res2.agr.ca/lethbridge/scitech/janzen\\_e.htm](http://res2.agr.ca/lethbridge/scitech/janzen_e.htm))

SCHOEB, T.R. (1982). Intracage ammonia promotes growth of *Mycoplasma pulmonis* in the respiratory tract of rats. Geciteerd in : DENTON, J.E. (2004).

SHEPPARD, S.C. (1999). Effect of atmospheric ammonia on terrestrial plants- derivation of critical toxicity values. Internet, Canada, ECOMatters Inc. W.B. Lewis Business Centre, 2005.

(<http://www.ecomatters.com/execsum3.html>)

Taxonomy Omne vivum. Internet, 2005.

(<http://www.omne-vivum.com/a/757.htm>)

TIQUIA, S.M. and WAN, J.H.C. and TAM, N.F.Y. (2002). Microbial population dynamics and enzyme activities during composting. *Compost Science and Utilization*, 10 (2), 150-161.

Tomato Gardening Tips. Internet, UK, 2003.

(<http://www.tomatogardeningtips.com>)

TOOGOOD, A. (2003). The Royal Horticulture Society: Propagating Plants. 2e druk, London, Dorling Kindersley Ltd., 320 blz.

VAN DEN MEERSCHAUT, D. & VANDEKERCKHOVE, N. (1997). GFT-compost en menspathogene bacteriën: evaluatie van de hygiënisatiegraad van GFT-composteerinstallaties in Vlaanderen. Eindwerk tot het behalen van de titel en de graad van industrieel ingenieur chemie, optie biochemie, Gent, Hogeschool Gent Departement BIOT, 1996-1997, 124 blz.

VAN DER EERDEN, L.J., DUECK, T.A., ELDERSON, J. (1990). Effects of NH<sub>3</sub> and (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> deposition on terrestrial semi-natural vegetation on nutrient poor soils. Geciteerd in: BOBBINK, R., HORNING, M. and ROELOFS, J.G.M. (1998).

VANDERVREKEN, A. (1996). C- en N-mineralisatie uit GFT- en Groencompost. Eindwerk tot het behalen van de titel en de graad van bio-ingenieur in land- en bosbeheer, Gent, Universiteit Gent faculteit landbouwkundige en toegepaste biologische wetenschappen, 1995-1996, 124 blz.

VANOVERBEKE, K., (2004). Ammoniakreductie via voedingsmaatregelen. Eindwerk tot het behalen van de titel en de graad van industrieel ingenieur landbouw en biotechnologie, Gent, Hogeschool Gent Departement BIOT, 2003-2004, 104 blz.

VLERICK, C. (2003). Ecologische aspecten van de productietechnieken. Cursus, Gent, Hogeschool Gent Departement BIOT 2003-2004, 315 blz.

VYVEY, D. (1999). Geur- en ammoniakvewijdering bij GFT-composteringsafvallucht. Eindwerk tot het behalen van de titel en de graad van bio-ingenieur in de milieutechnologie, Gent, Universiteit Gent faculteit landbouwkundige en toegepaste biologische wetenschappen, 1998-1999, 185 blz.

WECKHUYSSEN, B. VRIENS, L. & VERACHTERT, H. (1994). Biotreatment of ammonia- and butanol-containing waste gases. Applied Microbiology and Biotechnology, 42, 147-152.

Wikipedia, de vrije encyclopedie (2005). Regenworm. Internet, Nederland, 2005.

(<http://nl.wikipedia.org/wiki/Regenworm>)

Woods End Research Laboratory, (1999). Guide to Solvita® testing for compost maturity index. Internet, Mt Vernon (Maine), 2004.  
([http://www.woodsend.org/pdf-files/solvita\\_manual\\_Vers4.pdf](http://www.woodsend.org/pdf-files/solvita_manual_Vers4.pdf))



Departement Biotechnologische wetenschappen,  
Landschapsbeheer en Landbouw  
4de jaar Landbouw en biotechnologie optie tuinbouw  
keuze toegepaste cel- en gentechnologie

(stamnummer 19970709)

**Sven Spruytte**

18/05/1978, Poperinge

geslaagd met grote onderscheiding

E	Opleidingsonderdelen	Kwot.	Opm. (*)
15	Effecten van ammoniak uit onrijpe compost op jonge tomatenplanten	16	(C/04/1)
3	Genetische identificatietechnieken	18	C/04/2
3	Toegepast management	16	(C/04/1)
3	Biologische land- en tuinbouw	14	(C/04/1)
3	Fruitteelt	15	C/04/2
6	Groenteteelt	18	(C/04/1)
3	Hydroteelt	18	(C/04/1)
3	Nutriëntenbeheer	17	C/04/2
3	Plantenveredeling en -vermeerdering	14	C/04/2
3	Plantenweefselteelt	18	(C/04/1)
3	Vollegrondgroenteteelt	15	C/04/2
3	Bio-informatica en -statistiek	17	(C/04/1)
3	Biotechnologische productietechnieken	16	(C/04/1)
3	Cel- en gentechnologie	16	(C/04/1)
3	GIS	14	(C/04/1)
Eindresultaat /1000		810	

Voorzitter: Prof. dr. ir. VAN ASSCHE Paul

Secretaris: DETEMMERMAN Marnix

Gent, 13/09/2005



(\*) Opmerkingen: J\*\*/\* (Jaar) overdracht van examenpunten  
C\*\*/\* verworven credits  
G\*\*/\* andere reeds behaalde punten  
(\*/\*/\*) zijn overdrachten uit vorige zittingen