



Toepassing van Aquanox in de glastuinbouw

Jantineke D. Hofland-Zijlstra¹, Amir Grosman¹, Roel Hamelink¹, Eric de Groot¹ & Jan Reinders²

¹ Wageningen UR Glastuinbouw, Violierenweg 1, Bleiswijk

² Reinders Vernevelings- en Ontsmettingstechniek, Dr. Holwerdastraat 41, Wijk bij Duurstede



Bron: Vakblad voor de Bloemisterij



Referaat

Wageningen UR Glastuinbouw heeft samen met Reinders Vernevelings- en Ontsmettingstechniek het project uitgevoerd naar Toepassingen van Aquanox in de glastuinbouw. Gefinancierd door Productschap Tuinbouw en Ministerie EL&I. Screeningstesten onder laboratoriumcondities geven aan dat er een brede werking is tegen schimmels en bacteriën. Virusdeeltjes in plantensap werden echter nog onvoldoende gedood door geactiveerd water. Screening van het gedrag van insecten op overleving na 24 uur in een vernevelingsbehandeling met Aquanox gaf geen doding op natuurlijke plaagbestrijders. Een lichte bestrijdende werking werd gevonden op witte vlieg, spintmijt en Californische trips. De proeven met tomaat, komkommer, roos, Poinsettia en gerbera geven aan dat er een bestrijdend effect is van geactiveerd water tegen echte meeldauw en Botrytis. Het vervolgonderzoek zal gericht zijn op vermindering van corrosierisico's en vermindering van risico op gewasschade binnen diverse toepassingen in de teelt.

Abstract

Wageningen UR Greenhouse Horticulture cooperated with Reinders Vernevelings- en Ontsmettingstechniek in the project Applications of Aquanox in greenhouses. This project is financed by Dutch Horticultural Production Board and Dutch Ministry of EL&I. Screening tests under laboratory conditions indicate a broad action against fungi and bacteria. Virus particles in plant material were, however, insufficiently killed after treatment with activated water. Beneficial insects treated with ultrasonic mist were not negatively affected after 24 hours. A small controlling effect was found on whitefly, spider mites and thrips. The experiments with tomato, cucumber, rose, poinsettia and gerbera indicate that activated water is effective against powdery mildew and Botrytis. The follow-up study will focus on reducing risks of corrosion and reduce risk of crop damage with crop treatments.

© 2010 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO)

Wageningen UR Glastuinbouw

Adres : Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk
: Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk
Tel. : 0317 - 48 56 06
E-mail : glastuinbouw@wur.nl
Internet : www.glastuinbouw.wur.nl

Reinders Vernevelings- en Ontsmettingstechniek

Adres : Dr. Holwerdastraat 41, 3962 AV
Wijk Bij Duurstede
Tel. : 06-53938222
E-mail : rvot.gj@gmail.com
Internet : www.rvot.nl

Inhoudsopgave

	Voorwoord	5
	Samenvatting	7
1	Inleiding	9
2	Aquanox	11
	2.1 Eigenschappen	11
	2.2 Invloed van keukenzout op redoxpotentiaal	11
3	Brede screening op plagen en natuurlijke plaagbestrijders	13
	3.1 Achtergrond en doel	13
	3.2 Plan van aanpak	13
	3.3 Resultaten	15
	3.4 Discussie & Conclusies	16
4	Brede screening op ziekteverwekkers	17
	4.1 Achtergrond en doel	17
	4.2 Plan van aanpak	17
	4.3 Resultaten	18
	4.3.1 Testen met schimmeldraden	18
	4.3.2 Testen met schimmelsporen en bacteriën	20
	4.3.3 Virustest	20
	4.4 Discussie & conclusie	21
5	Werking van Aquanox in de teelt	23
	5.1 Pseudomonas cattleya (Phalaenopsis)	23
	5.1.1 Achtergrond	23
	5.1.2 Plan van aanpak	23
	5.1.3 Resultaten	24
	5.1.4 Discussie en conclusie	25
	5.2 Echte meeldauw (tomaat)	25
	5.2.1 Achtergrond	25
	5.2.2 Plan van aanpak	25
	5.2.3 Resultaten	26
	5.2.4 Discussie en conclusie	27
	5.3 Mycosphaerella en echte meeldauw (komkommer)	27
	5.3.1 Achtergrond	27
	5.3.2 Plan van aanpak	28
	5.3.3 Resultaten	29
	5.3.4 Discussie en conclusie	31

5.4	Echte meeldauw (potroos)	31
5.4.1	Achtergrond	31
5.4.2	In vitro test met besmette rozenbladeren	31
5.4.2.1	Doel	31
5.4.2.2	Aanpak	31
5.4.2.3	Resultaten	32
5.4.2.4	Discussie en conclusie	33
5.4.3	Zure pH versus neutrale pH	33
5.4.3.1	Doel	33
5.4.3.2	Aanpak	33
5.4.3.3	Resultaten	34
5.4.3.4	Discussie en conclusie	35
5.4.4	Optimale frequentie van toepassing	35
5.4.4.1	Doel	35
5.4.4.2	Aanpak	36
5.4.4.3	Resultaten	36
5.4.4.4	Discussie en conclusie	39
6	Werking Aquanox in de naoogstfase	41
6.1	Achtergrond en doel	41
6.2	Preventieve bestrijding van Botrytis op gerberabloemen	41
6.2.1	Plan van aanpak	41
6.2.2	Resultaten	41
6.2.3	Discussie en conclusie	42
6.3	Preventieve bestrijding botrytis in Poinsettia	42
6.3.1	Plan van aanpak	42
6.3.2	Resultaten	43
6.3.3	Discussie en conclusie	43
7	Discussie	45
7.1	Toepassingen als biocide	45
7.2	Toepassingen als gewasbeschermingsmiddel in de teelt	45
7.3	Toepassingen als gewasbeschermingsmiddel in de naoogst	47
7.4	Conclusies & Aanbevelingen	47
8	Literatuurlijst	49
Bijlage I	Biocidetoelating voor anodische oxidatie	51

Voorwoord

Het project Toepassing van Aquanox in de Glastuinbouw heeft een turbulent jaar achter de rug. Na de toelating van electrochemisch geactiveerd water als biocide eind 2009 waren naast het bedrijf van Jan Reinders meerdere bedrijven actief om reclame te maken voor hun product. Er ontstonden gaandeweg het project bij verschillende toepassingen een heleboel vragen over de achtergrond en precieze werking van het electrochemisch geactiveerd water van de verschillende producten die fabrikanten leveren. Ook bleek dat er risico's kleven aan ondeskundig gebruik: gewasschade, problemen met corrosie van hogedruknevelleiding of zelfs persoonlijk letsel na te langdurige blootstelling aan nevel. Eén jaar bleek nog niet voldoende om alle vragen te beantwoorden en veilige toepassing in de teelt (mens, gewas, apparatuur en kas) mogelijk te maken. Daarom ben ik blij dat dit onderzoek een vervolg krijgt binnen het PT project Toepassing geactiveerd water in de glastuinbouw.

Van hieruit wil ik graag de enthousiaste groep van telers bedanken die dit project hebben begeleid en waarvan een aantal dit voort zullen zetten binnen het nieuwe project. Ik heb de bijeenkomsten als prettig ervaren en het is bijzonder voorrecht om een project te mogen coördineren waarvan de sectorale betrokkenheid zo groot is. Johan Meeuwissen wil ik bedanken voor het verstrekken van de Aquanox gedurende de periode dat de proeven liepen. Ook de andere telers wil ik bedanken die in de praktijk proeven deden en daarvan openheid gaven, zodat we die konden vergelijken met de resultaten vanuit het onderzoek. Van Productschap Tuinbouw wil ik Monique Compier en Peter van Boekel bedanken die dit project mede mogelijk hebben gemaakt. Van LTO Groeiservice wil ik zeker ook Matthijs Beelen bedanken die zich met veel enthousiasme op dit project gestort heeft en nieuwe impulsen wist te geven. Tenslotte wil ik Leo Oprel van het Ministerie EL&I bedanken voor zijn inbreng en betrokkenheid. Door financiering vanuit Kas als Energiebron was het mogelijk om extra testen te doen met bestrijding van echte meeldauw in potroos. Komend jaar hoop ik dat we weer nieuwe stappen kunnen zetten in het veilig toepassen van electrochemisch geactiveerd water in de glastuinbouwsector.

Jantineke Hofland-Zijlstra, Wageningen UR Glastuinbouw

Samenvatting

Samen met Reinders Vernevelings- en Ontsmettingstechniek heeft Wageningen UR Glastuinbouw het project uitgevoerd naar Toepassingen van Aquanox in de glastuinbouw. Dit project is gefinancierd door Productschap Tuinbouw, Ministerie EL&I en begeleid vanuit LTO Groeiservice. De eerste fase bestond uit een brede en snelle screening van Aquanox op ziekten en insecten onder laboratoriumcondities. Daarnaast zijn proeven gedaan om ziekten te bestrijden tijdens de teeltfase en in de naoogstfase. Hiervoor is een proefonthefing aangevraagd, want het Ministerie van VROM staat sinds november 2009 officieel het gebruik van Aquanox toe als biocide, maar nog niet als gewasbeschermingsmiddel.

Aquanox is een productnaam van electrochemisch geactiveerd water. Een mengsel van keukenzout en onthard leidingwater wordt via membraanelectrolyse onder spanning gebracht en brengt een product voort met als belangrijkste ingrediënten: onderchlorig zuur en hypochloriet. Hierdoor heeft het product verspreid via ultrasone nevel of toegepast als geactiveerd water een brede oxiderende werking en reageert snel met organische deeltjes (o.a. microben).

Brede screening tegen ziekten, plagen en natuurlijke bestrijders

In de laboratoriumtesten waarbij werd gekeken naar overleving na 24 uur werd duidelijk dat een éénmalige vernevelingsbehandeling met Aquanox geen direct dodend effect heeft op natuurlijke plaagbestrijders zoals de roofmijt *Amblyseius swirskii*. Echter, *Phytoseiulus persimilis* had zelfs een 25% hogere overleving na behandeling met Aquanox. Wellicht omdat deze roofmijten beter gedijen onder vochtige condities. Licht dodende effecten werden gevonden op witte vlieg (12%), spintmijt (19%) en Californische trips (6%). Bij boterbloemluis, rode luis en wolluis was er geen dodend effect na een éénmalig behandeling. Bij behandeling van schimmels, bacteriën en virussen waren de resultaten zeer wisselend per organisme en de fase waarin het organisme zich bevond. Schimmeldraden bleken weinig gevoelig voor éénmalige behandeling, alleen in het geval van *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* werd een lichte groeiremming waargenomen. *Botrytis* en *Pythium* werden niet direct geremd in hun groei. Het is nog wel aan te raden om te onderzoeken welke effecten er zijn na meermaals behandelingen op de sporenproductie. Behandelde sporensuspensies bleken veel gevoeliger. Na een inwerkingstijd van één uur verminderde *Fusarium oxysporum* f. sp. *tulipae* met 50% en *Nectria galligena* zelfs met 100%. Van de geteste bacteriën was *Erwinia chrysanthemi* volledig afgedood na behandeling en *Pseudomonas cattleya* met meer dan 50%. Behandelen van virus besmet plantensap met geactiveerd water resulteerde nauwelijks in minder symptoomvorming na herinoculatie op tabaksplanten.

Teeltproeven

Teeltproeven zijn uitgevoerd met *Phalaenopsis*, tomaat, komkommer en potroos. Hierbij is met verschillende toepassingen gewerkt: ultrasone verneveling, verschillende concentraties spuitbehandelingen en aangietbehandelingen (10% Aquanox). Een ultrasone vernevelingsbehandeling van besmette planten met de bladvlekkenziekte, *Pseudomonas cattleya* gaf nog geen vermindering van risico op verspreiding via opspattend gietwater, ondanks de positieve resultaten onder laboratoriumcondities. Misschien zou verhoging van de behandelingsfrequentie nog een betere bestrijding kunnen geven, zodat de bacterie minder tijd krijgt om door te groeien. Bestrijding van echte meeldauw in tomaat bleek niet te werken, waarschijnlijk doordat de ziekte al in een te ver gevorderd stadium was. *Mycosphaerella* in komkommer lijkt licht gevoelig voor behandeling met geactiveerd water, maar ook hier is het nodig om de frequentie van de behandeling op te voeren en de schimmel geen kans te geven om in het gewas te groeien. Jonge komkommerplanten toonden gewasschade na een te langdurige behandeling met ultrasone verneveling. Wel toonden deze planten de minste meeldauwaantasting.

Behandeling van een beginnende meeldauwaantasting in potroos bleek effectief te zijn. Toepassingen van ultrasone verneveling geeft vermindering van de schimmelgroei ten opzichte van een onbehandelde controle. Dagelijkse behandelingen zijn het meest effectief. Als de planten bij behandelen droog blijven en de fijne mist geen kans krijgt om neer te slaan (rv 85-90%), treedt er geen gewasschade op. Bij het toedienen van spuitbehandelingen met 30-50% Aquanox werd de groei volledig geremd. Dagelijkse behandelingen resulteerden echter wel in gewasschade. Het lijkt voor de hand te liggen dat hier met betrekking tot de toegediende druppelgrootte nog valt te optimaliseren. Het optimum voor effectieve bestrijding zal dus ergens tussen de ultrasone verneveling en grovere spuitbehandeling in liggen en afhangen van de benodigde regelmaat van toediening.

Een vergelijking tussen de biocidewerking van producten met een zure (pH 2-3) dan wel neutrale (pH 6-7) pH gaf aan dat dit geen verschil geeft ten aanzien van meeldauwbestrijding. Voor de praktijktoepassingen in de teelt verdient het dan ook aanbeveling om voor vermindering van corrosierisico te werken met het neutrale product.

Naoogst

De naoogstproeven met gerberabloemen en Poinsettia toonden aan dat Botrytissporen effectief te bestrijden zijn met een éénmalige behandeling met ultrasone verneveling van geactiveerd water. Doorontwikkeling van deze toepassing zal zich kunnen richten op verkorting van de inwerktijden door een efficiëntere toedieningstechniek.

Conclusies & Aanbevelingen

Producten met electrochemisch geactiveerd water lijken goed als gewasbeschermingsmiddel in een teelt te kunnen worden ingezet. Na éénmalig toediening was er geen direct dodend effect op natuurlijke plaagbestrijders en een lichte verminderde overleving werd gevonden van witte vlieg, spintmijt en trips. Mogelijk langere termijn effecten op de populatieontwikkeling van natuurlijke vijanden zijn nog niet bekend en dienen verder onderzocht te worden. Een brede reeks van schimmels, bacteriën en virussen is gevoelig, maar de effectiviteit van een behandeling verschilt sterk per organisme en is afhankelijk van het stadium waarin deze zich bevindt. Schimmeldraden lijken bijvoorbeeld minder gevoelig dan sporen. Doordat de behandeling slechts een contactwerking heeft, zijn voor een afdoende bestrijding van al gekiemde sporen (en uitgegroeide schimmeldraden met sporendragers) meerdere behandelingen achterelkaar noodzakelijk om de ziekteverwekker voldoende te verzwakken. Ter vermindering van het risico op gewasschade is het aan te bevelen om te voorkomen dat het gewas nat wordt na een behandeling en te werken met een zo fijn mogelijke mist (ultrasone verneveling), zodat de contacttijd met het gewas zo gering mogelijk is. Persoonlijk contact met de nevel moet zoveel mogelijk voorkomen worden. Bijvoorbeeld door in de avonduren te behandelen, of op andere tijdstippen dat er geen personen in de behandelruimte aanwezig zijn of door te werken met een (nog te ontwikkelen) toedieningsapparaat die de nevel zo veel mogelijk gericht toedient in een afgesloten behandelcabine. Om problemen met corrosie zoveel mogelijk te voorkomen is het aan te raden producten met een neutrale of zelfs basische pH te gebruiken en de inwerktijd zoveel mogelijk te beperken door een efficiënte toediening te ontwikkelen. In dit onderzoek is niet gekeken naar de effecten van mee circuleren met het voedingswater van geactiveerd water. Dit zal naast vermindering van corrosie en risico op gewasschade ook meege-nomen als aandachtspunten in het vervolgonderzoek.

1 Inleiding

De behoefte aan niet-chemische bestrijdingsmiddelen neemt steeds sterker toe. De beschikbaarheid van chemische middelen wordt steeds geringer door de hogere eisen die gesteld worden aan emissie in het milieu, residu en specificiteit. Daarnaast zijn belangrijke nadelen: een verminderde effectiviteit door resistentieontwikkeling, verbrandingsverschijnselen na toepassing, nadelige invloed op natuurlijke plaagbestrijders en frequente toediening kost vaak productie. Biologische bestrijdingsmiddelen zijn daarnaast door de lange en kostbare registratieprocedures nog maar beperkt beschikbaar. Middelen op basis van electrochemisch geactiveerd water lijken perspectievolle alternatieven voor bestrijding van een breed scala aan ziekteverwekkers. Het Ministerie van VROM staat sinds november 2009 officieel het gebruik van Aquanox toe als biocide, maar nog niet als gewasbeschermingsmiddel (zie Bijlage 1). In Rusland is de techniek ontwikkeld voor het desinfecteren van drinkwater en voor toepassingen in ziekenhuizen. Tegenwoordig wordt het ook toegepast in de voedselverwerkende industrie, intensieve veehouderij en in de tandheelkunde ter bestrijding van bacteriele infecties. De meeste toepassingen vinden plaats om bacteriën te bestrijden, maar ook schimmels en virussen lijken gevoelig.

Middelen op basis van electrochemisch geactiveerd water kunnen ter plaatse op een bedrijf worden geproduceerd. De enige grondstoffen zijn onthard leidingwater en keukenzout. De geactiveerde vloeistof bevat ondermeer onderchlorig zuur, hypochloriet, ozon en waterstofperoxide. Doordat de chloorverbindingen stabiel zijn dan in andere chloorproducten (bijv. bleekwater) kan de werking 5x sterker zijn vanwege een langere duurwerking. Een voordeel is dat het middel biologisch afbreekbaar is en vervalt tot water. De vloeistof kan op verschillende manieren worden toegepast: als een fijne mist via ultrasone verneveling waarbij het gewas droog blijft, spuitbehandeling, meegeedoseerd via het voedingswater of als aangietbehandeling.

Bij Wageningen UR Glastuinbouw werden binnen het Parapluplan Gerbera de eerste ervaringen opgedaan met electrochemisch geactiveerd water. Een effectieve bestrijding van Botrytis op lintbloemen van gerbera kon worden aangetoond. De eerste oriënterende proeven kregen alleen nog geen vervolg, omdat er destijds nog geen zekerheid was rondom toelating van electrochemisch geactiveerd water als gewasbeschermingsmiddel.

Doel van het project

1. Bepalen van de effectiviteit en de inzetbaarheid van Aquanox in de naoogst- en teeltfase tegen ziekten en plagen in verschillende gewassen.
2. Bepalen van de effecten op natuurlijke vijanden van Aquanox en geschikte toedieningstijdstippen.
3. Protocollen ontwikkelen voor de toepassing van Aquanox in de naoogst- en teeltfase tegen ziekten en plagen in verschillende gewassen.

Uitvoering project

Fase 1 – Brede screening van effectiviteit van Aquanox tegen ziekten en plagen en effect op natuurlijke plaagbestrijders.

- a. Effect van Aquanox tegen ziekten. Voor de belangrijkste schimmels, bacteriën en virussen in de glastuinbouw is op labschaal onderzocht wat de effectieve werking is van Aquanox.
- b. Effect van Aquanox op plagen en natuurlijke plaagbestrijders. De belangrijkste plagen in de glastuinbouw zijn: spint, trips, witte vlieg en bladluizen. Op laboratoriumniveau is getest wat de invloed is van Aquanox op deze plagen. Ook is het effect van Aquanox op de meest gebruikte natuurlijke plaagbestrijders getest.

Fase 2 – Toepassing van Aquanox tijdens de teelt van vruchtgroenten en siergewassen.

In een aantal kasproeven is onderzocht op welke wijze Aquanox effectief is in te zetten om bovengrondse schimmelziekten te bestrijden en welk effect het middel heeft op bestrijding van plagen en natuurlijke plaagbestrijders. Als voorbeeld gewassen is gewerkt worden met roos, tomaat en komkommer. Ook zijn proeven uitgevoerd met Phalaenopsis en de bacterie, *Pseudomonas cattleya*. Er is in alle proeven steeds gewerkt met spuitbehandelingen, ultrasone verneveling en aangietbehandelingen.

Fase 3 – Toepassing van Aquanox in de naoogst.

Voor twee gewassen (gerbera en Poinsettia) is getest welke dosering een effectieve bestrijding geeft van botrytis.

2 Aquanox

2.1 Eigenschappen

Bij de meeste proeven is gewerkt met Aquanox met een lage pH (2-3) en een hoog redoxpotentiaal (> 1100mV). Actieve chloorgehalten zijn niet bepaald, maar liggen naar verwachting rond 65 ppm (Hricova et al. 2008).

2.2 Invloed van keukenzout op redoxpotentiaal

Doel:

Redoxmetingen van niet geactiveerd zout water testen in vergelijking met een 100% Aquanox-oplossing.

Uitvoering:

In een maatbeker van één liter is zout toegevoegd aan kraanwater. Dit is in oplossing gebracht en na één uur gemeten ter bepaling van de redoxwaarde. De redoxwaarde van de Aquanox-oplossing is direct gemeten.

Tabel 2.1. Overzicht van verhoogde redoxwaarden na toevoeging van verschillende hoeveelheden keukenzout en zuiver NaCl ten opzichte van een 100% Aquanox product.

Behandeling	Redox waarde (mV)
kraanwater	211
keukenzout 3 g/l (NaCl)	459
keukenzout 8 g/l (NaCl)	456
NaCl 3 g /l (zuiver)	479
NaCl 8 g /l (zuiver)	480
Aquanox (100%)	1361

Resultaten en conclusies:

Puur kraanwater heeft een redoxwaarde van 200 mV. Toevoeging van zout verhoogt de redoxwaarde tot 450-480 mV. Door het zuivere product te gebruiken is een verhoging van ca. 20-25 mV te bereiken ten opzichte van het ongezuiverde product. Alleen door water en zout onder electrolyse te brengen is de redoxwaarde te verhogen naar waarden boven de 750 mV, zoals duidelijk te zien is bij de waarde van de pure Aquanox-oplossing.

3 Brede screening op plagen en natuurlijke plaagbestrijders

3.1 Achtergrond en doel

Bij toepassingen van Aquanox als ultrasone verneveling in de kas, zal het de vraag zijn in hoeverre deze behandelingen nadelig zullen zijn voor het gedrag van biologische bestrijders en is er wellicht ook een gunstig neveneffect in de bestrijding van plagen?

Doel: Nadelige werking toetsen van Aquanox nevel op een aantal belangrijke plagen en natuurlijke vijanden in de glastuinbouw.

3.2 Plan van aanpak

Het effect van Aquanox nevel is getoetst op een aantal belangrijke plagen en natuurlijke vijanden in de glastuinbouw. In Tabel 3.1. staan de insecten vermeld die getest zijn, de daarbij behorende gewassen en het gemeten effect op overleving 24 uur na het toedienen van Aquanox.

Tabel 3.1. Effecten van ultrasone nevelbehandelingen met Aquanox gedurende 15 minuten op een aantal belangrijke plagen en natuurlijke vijanden.

	Insect	Toetsplant	Effect Aquanox nevel op overleving (24 uur na toediening)
Plagen	<i>Trialeurodes vaporariorum</i> (witte vlieg)	tomaat	Gemiddeld 12.5% lagere overleving van larven
	<i>Tetranychus urticae</i> (spint mijt)	komkommer	Gemiddeld 19% lagere overleving
	<i>Aulacorthum solani</i> (boterbloemluis)	paprika	Geen effect
	<i>Myzus persicae</i> (rodeluis)	paprika	Geen effect
	<i>Frankliniella occidentalis</i> (californische trips)	paprika	Gemiddeld 6% lagere overleving
	<i>Planococcus citri</i> (wolluis)	roos	Geen effect ¹
Natuurlijke vijanden	<i>Amblyseius swirskii</i> (roofmijt)	paprika	Geen effect
	<i>Phytoseiulus persimilis</i> (roofmijt)	komkommer	Gemiddeld 27% hogere overleving
	<i>Macrolophus caliginosus</i> (roofwants)	tomaat	Geen resultaten
Bestuivers	<i>Bombus terrestris</i> (aardhommel)	Niet op gewas	Geen effect op overleving direct na toediening (indicatief resultaat – zie tekst)

1 Proef uitgevoerd in het kader van project 'Geïntegreerde bestrijding van wolluis in roos' (PT nummer 13528).

Het effect van Aquanox op plagen en natuurlijke vijanden is getoetst door de insecten op bladponsjes te plaatsen en vervolgens bloot te stellen aan Aquanox beneveling. Bij zeer beweeglijke insecten (*M. caliginosus*, *T. vaporariorum*, *B. terrestris*) is gekozen voor een aangepaste methode (zie hieronder).

Toetsmethode

Voor iedere test werden toetssystemen gemaakt die afgestemd waren op de insecten en hun waardplanten (zie Tabel 3.1.). De ponsjes werden gelegd op een laag agar in een plastic bekertje (250 ml; zie Figuur 3.1.). De insecten werden op de ponsjes aangebracht (10 per ponsje) en de bekertjes werden gesloten met een deksel waarin een gaasraampje was gemaakt (ter ventilatie). Eén dag daarna werd het aantal levende insecten per ponsje geteld.

Figuur 3.1. Toetssysteem van bladponsje met boterbloemluis in een plastic beker met agar.



De helft van de bekertjes werden geplaatst zonder deksel in een gesloten plastic compartiment, waar Aquanox in beneveld is (zie Figuur 2.2.). De toedieningsduur was 15 minuten, behalve bij *T. urticae* (spint) en *P. persimilis* (10 minuten). De Aquanox was één dag oud, behalve bij de test met rode luis (13 dagen oud). De tweede helft van de bekertjes werd niet blootgesteld aan Aquanox en diende als controle. Eén dag na de toediening werd de overleving van de insecten per ponsje bepaald. De bekertjes werden gedurende het hele proces bewaard in een klimaatkast (20 °C / 80% relatieve vochtigheid). Per insectensoort werden 20 bekertjes gemaakt.

Bij de testen met *P. persimilis* werd eerst *T. urticae* (spint) op de bladponsjes aangebracht en pas drie dagen later de roofmijten geplaatst om te zorgen dat de roofmijten voldoende voedsel hadden tijdens de test. Bij de testen met *A. swirskii* werden pollen toegevoegd als voedselbron.

Bij de testen met *F. occidentalis* (californische trips) en *A. swirskii* waren de insecten mobiel, en is gekozen om aquanox toe te dienen direct na het plaatsen van de insecten op de ponsjes.

Figuur 3.2. Compartiment voor toediening van Aquanox.



Testprotocol witte vlieg

De adulten van witte vlieg zijn erg beweeglijk en daardoor niet geschikt voor de bovenbeschreven testmethode. Er is daarom een aangepast protocol gebruikt, gericht op het testen van het effect van Aquanox op de immobiele larvale fase van *T. vaporariorum*.

Proefopzet: Tomaat planten zijn in gaaskooien geplaatst (één plant per kooi). Per kooi is er een halve gram *T. vaporariorum* poppen geplaatst op een petrischaal. Twee weken later werden de uitgekomen volwassen witte vliegen weggehaald en waren er larven en eieren op de bladeren. Er werden ponsjes gemaakt van bladeren waar minstens 10 larven aanwezig waren. Ieder ponsje werd in een beker op een agarlaag gelegd. De helft van de bekertjes dienden als controle, en de andere helft werd blootgesteld aan Aquanox zoals boven beschreven. De bekertjes werden geïncubeerd in een klimaatkast (18 °C, 80% relatieve vochtigheid). Na twee weken werd het aantal niet uitgekomen poppen geteld.

Testprotocol roofwantsen

De roofwantsen zijn dusdanig beweeglijk dat testen in bekertjes zoals hierboven beschreven niet mogelijk waren. Er is geprobeerd om de testen uit te voeren op intacte planten, maar ook deze methode bleek ongeschikt. Gezien de beperkte middelen was het in het kader van dit project niet mogelijk om andere methodes te testen.

Testen met aardhommel

Op verzoek van de BCO is er oriënterend gekeken naar het effect van Aquanox op *B. terrestris*. Het is belangrijk te realiseren dat hier gaat om een indicatieve test, waarbij het effect op overleving direct na toediening bepaald is bij een klein aantal insecten.

Proefopzet: Voor de proef werden vijf vitale hommels gebruikt. De hommels werden gevangen zonder deze te verdoven. De hommels werden gedurende 15 minuten blootgesteld aan een fijne nevel van Aquanox, in een afgesloten compartiment (zie foto's 3 en 4). Vervolgens is de overleving van de hommels direct na de behandeling bepaald.

3.3 Resultaten

Bij *M. persicae* (rode luis), *A. swirskii* en *A. solani* (boterbloemluis) was er geen effect van Aquanox beneveling op overleving (Figuur 3.3.).

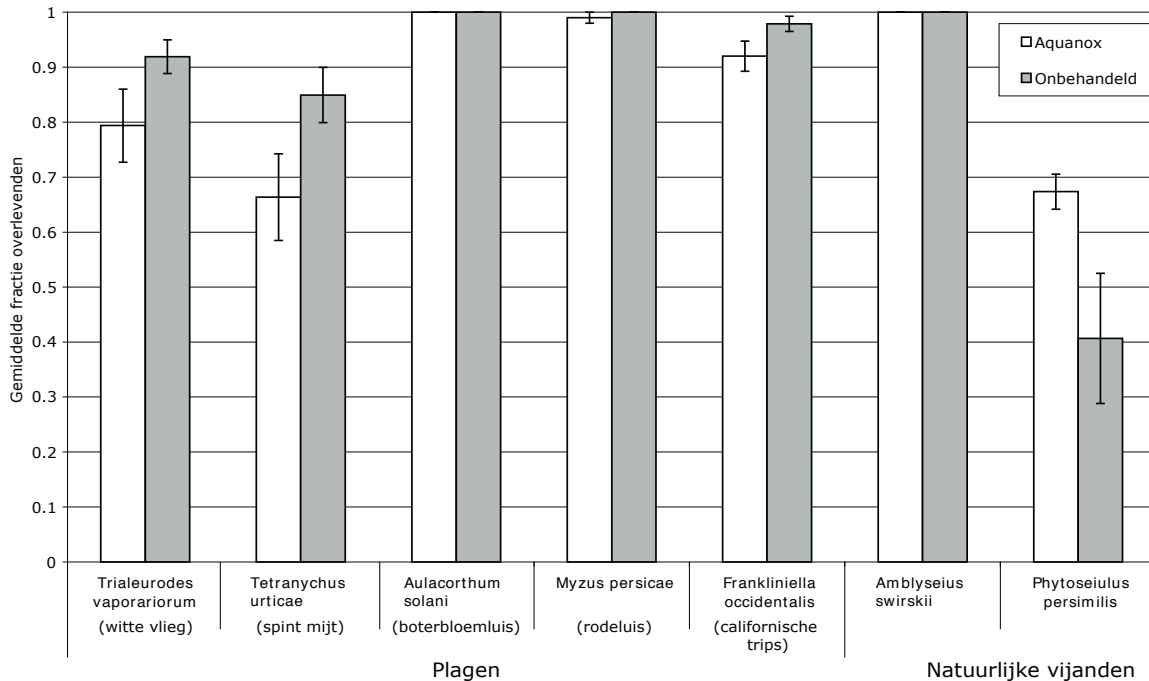
Aquanox beneveling veroorzaakt lichte mortaliteit bij *T. vaporariorum* (witte vlieg) larven (gem. 12.5% lagere overleving). Deze reductie is niet voldoende voor een effectieve bestrijding van deze plaag.

Aquanox beneveling heeft een effect op overleving van *T. urticae* (spint) (reductie 19%), mogelijk omdat *T. urticae* beter ontwikkelt in relatief droge omstandigheden. Echter, deze reductie biedt geen perspectief als bestrijdingsmethode. Ook de reductie van *F. occidentalis* (californische trips) (gemiddeld 6%) biedt geen perspectief voor bestrijding.

Overleving van *P. persimilis* verbetert door Aquanox, mogelijk omdat deze roofmijt beter ontwikkelt in relatief vochtige omstandigheden. Echter – de proef is uitgevoerd met een klein aantal herhalingen, waardoor een harde conclusie niet mogelijk is.

Bombus terrestris (hommels). Na de behandeling waren de hommels nat van de nevel en daardoor konden ze niet meer actief vliegen. Na ca. 15 minuten droogden de hommels op en vlogen weer. Tijdens de test zijn er geen hommels overleden.

Figuur 1: Effect van Aquanox niveau op overleving van plagen en natuurlijke vijanden



Figuur 3.3. Effect van Aquanox ultrasone verneveling op overleving van plagen en natuurlijke vijanden.

3.4 Discussie & Conclusies

Effect op plagen

Het effect van Aquanox op overleving van de geteste plaagorganismen was klein of afwezig. Op basis van deze proeven, waar alleen gekeken is naar overleving 24 uur na het toedienen, biedt Aquanox geen perspectief in de bestrijding van *F. occidentalis* (californische trips), *T. urticae* (spint), *M. persicae* (rode luis), *A. solani* (boterbloemluis), *P. citri* (wolluis) en *T. vaporariorum* (witte vlieg). Licht bestrijdende effecten werden gevonden tegen witte vlieg (12%), spintmijt (19%) en Californische trips (6%), terwijl boterbloemluis, rode luis en wolluis ongevoelig bleken voor een behandeling. Uit de praktijk komen geluiden dat luizen wel goed te bestrijden zijn, maar hierbij is het onduidelijk of dit puur het natmaken van het gewas betreft of echt het resultaat is van het geactiveerde water. In de screeningstesten bleek het lastig een goede controle mee te nemen. Zodra niet geactiveerd water wordt verneveld, slaat het direct neer en komt het niet als fijne nevel tevoorschijn.

Effect op natuurlijke vijanden

Aquanox had geen negatief effect op roofmijten in deze testen. Voor *Phytoseiulus persimilis* werd een 25% hogere overleving gevonden na behandeling met Aquanox. Eén verklaring hiervoor kan zijn dat deze roofmijten beter gedijen onder vochtige condities. Ook hier is het belangrijk te vermelden dat er alleen gekeken is naar overleving 24 uur na de toediening waardoor er niet met zekerheid geconcludeerd kan worden dat Aquanox ook bij frequentere toediening veilig is voor roofmijten. In geval dat Aquanox regelmatig in een gewas toegepast zal worden, is het aanbevolen om onderzoek te verrichten naar mogelijke lange termijn effecten op de populatieontwikkeling van natuurlijke vijanden.

Effect op hommels

Aquanox had geen direct dodend effect op hommels in de oriënterende proef. Verder onderzoek is nodig om lange termijn effecten van Aquanox op overleving en zoekgedrag van hommels te bepalen.

4 Brede screening op ziekteverwekkers

4.1 Achtergrond en doel

Aquanox kan tegen ziekten in de kas op verschillende manieren worden toegepast. Als een fijne mist via ultrasone verneveling, een spuitbehandeling, aangietbehandeling of meegedoseerd via het voedingswater. Bij de testen tegen bovengrondse ziekten onder laboratoriumcondities is met deze toepassingswijzen rekening gehouden. In het volgende hoofdstuk staan de proeven beschreven die op planten zijn uitgevoerd. Bij de proeven op planten zijn behandelingen meerdere keren uitgevoerd, terwijl in de proeven met kunstmatige voedingsbodems er meestal één keer werd gedoseerd.

Doel: Werking van een éénmalige behandeling met Aquanox toetsen tegen schimmels, bacteriën en virussen op kunstmatige voedingsbodems.

4.2 Plan van aanpak

Bij de testen van micro-organismen op kunstmatige voedingsbodems is in eerste instantie gewerkt met behandelingen met ultrasone verneveling. Hierbij werd van dezelfde opstelling gebruik gemaakt als bij de testen op insecten (Figuur 3.2.). Voor een aantal ziekteverwekkers bleek het daarnaast ook zinvol om behandelingen met 10% - Aquanox oplossingen te werken en deze toe te voegen aan een sporensuspensies (Tabel 4.1.).

Tabel 4.1. Overzicht van geteste micro-organismen en toetsmethode. * Getoetst voor bollensector, ** getoetst voor fruit. Schuingedrukt = organismen moeten nog getoetst worden als er vers materiaal beschikbaar komt in 2011.

Organisme	Groep	op kunstmatige voedingsbodem (myceliumgroei)	op kunstmatige voedingsbodem (sporensuspensie)	op kleine planten of bloemen	Toetsplant(en)
Botrytis cinerea	schimmel	x		x	Tomaat, gerbera, poinsettia
Echte meeldauw	schimmel			x	potroos, tomaat, komkommer
Fusarium oxysporum f sp radicis-cucumerinum	schimmel	x			komkommer
F. o. f. sp. tulipae*	schimmel		x		
Pythium	schimmel	x			
Mycosphaerella	schimmel			x	komkommer
Penicillium expansum*	schimmel	x	x		
Nectria galligena**	schimmel	x			
Venturia inequalis**	schimmel			x	appel/peer
Gloeosporium**	schimmel	x			
Pseudomonas cattleya	bacterie		x	x	Phalaenopsis
Erwinia chrysanthemi	bacterie		x		
Pepinomozaïekvirus	virus			x	tomaat

Botrytis cinerea, Fusarium oxysporum f. sp. radices-cucumerinum (FORC), Pythium

Voor de testen met Botrytis en Fusarium zijn deze schimmels eerst opgekweekt op aardappeldextrose agar (PDA). Vanuit de rand van de kolonie zijn ponsjes van gelijke grootte gesneden en op andere schalen met PDA geplaatst. Op een deel van de petrischalen is bovenop de agar een steriel cellulosefilter geplaatst om groei van de schimmel in de agar te voorkomen. De schalen met myceliumplugjes zijn op twee momenten behandeld: direct na het enten of 24 uur na enten. Behandelingsduur was 15 minuten. Incubatietemperatuur 22 °C. Waarnemingen aan diameter van de kolonie: 24 uur (voor toediening van Aquanox) en 48 uur na enten.

Fusarium oxysporum f. sp. tulipae (FOT), Nectria galligena, Penicillium expansum en Pseudomonas cattleya FOT werd aangeleverd door PPO Lisse op een voedingsbodem van PDA. Nectria werd aangeleverd door PPO Randwijk op ziek plantmateriaal met verse sporen van Nectria en Penicillium is aangeleverd op een kunstmatige voedingsbodem. De bacterie, Pseudomonas cattleya is geïsoleerd uit besmette Phalaenopsis planten. De schimmelsporen van Fusarium, Penicillium en Nectria werden van de voedingsbodem of plantmateriaal afgeschraapt en in steriel demiwater overgebracht en gefilterd om stukjes mycelium te verwijderen. De sporensuspensie werd in twee gelijke delen opgesplitst. Aan één deel is Aquanox (pH 3.8, 1148 mV) toegevoegd tot een concentratie van 10% was verkregen. Het tweede deel werd gebruikt als onbehandelde controle en hieraan werd eenzelfde hoeveelheid steriel demiwater toegevoegd. Vooraf is de sporencentratie (sporen/ml) bepaald met behulp een Fuchs-Rosenthal telkamer. Beide sporensuspensies werden met een roervlo voor 1 uur op een roerder geplaatst. Na de inwerktijd zijn de suspensies uitgeplaat op PDA. Van elke suspensie zijn in 5 herhalingen 3 verdunningen uitgeplaat. Kolonievormende eenheden werden geteld na een incubatietijd van 5 dagen.

4.3 Resultaten

4.3.1 Testen met schimmeldraden

Botrytis cinerea

Bij de behandeling van myceliumplugjes van Botrytis met vernevelde Aquanox werd geen directe remming van myceliumgroei waargenomen (Tabel 4.2.). Er was eveneens geen onderscheid of de plugjes wel of niet op een cellulosefilter waren gezet. Wel was er een snellere horizontale groei van de plugjes op de cellulosemembranen ten opzichte van de plugjes die wel in de agar konden groeien. In deze proef is niet gekeken naar vermindering van de sporenvitaliteit.

Tabel 4.2. Myceliumgroei (mm) van Botrytis cinerea na nevelbehandeling met Aquanox gedurende 15 minuten.

Behandeling	Aantal dagen na enten	cellulosefilter	Aquanox beh.	Dagnummer		
				1	2	3
1	0	nee	nee	11.6	32.8	66.4
2	0	nee	ja	10.0	34.2	69.6
3	0	ja	nee	13.7	37.1	67.3
4	0	ja	ja	14.0	39.7	73.8
5	1	nee	nee	12.8	32.9	68.7
6	1	nee	ja	11.8	34.3	69.7
7	1	ja	nee	13.6	38.6	71.1
8	1	ja	ja	14.4	35.6	69.7

Fusarium oxysporum f. sp. radicum-cucumerinum (FORC)

De behandeling van FORC plugjes met vernevelde Aquanox geeft alleen een licht effect op remming van myceliumgroei bij de plugjes die op een cellulosefilter zijn geplaatst (zie behandeling 8 in Tabel 4.3.). Zodra de schimmeldraden in de agar kunnen groeien ondervinden ze geen directe remming meer van een Aquanox behandeling.

Tabel 4.3. Myceliumgroei (mm) van Fusarium oxysporum f. sp. radicum-cucumerinum na nevelbehandeling met Aquanox gedurende 15 minuten. Een sterretje geeft een betrouwbaar verschil aan ten opzichte van onbehandelde controle ($P < 0,05$).

Behandeling	Aantal dagen na enten	cellulosefilter	Aquanox beh.	dagnummer		
				1	2	3
1	0	nee	nee	10.6	21.4	27.4
2	0	nee	ja	10.2	21.2	27.2
3	0	ja	nee	10.6	22.8	28.8
4	0	ja	ja	10.3	21.7	29.8
5	1	nee	nee	11.2	21.8	28.4
6	1	nee	ja	10.8	21.9	28.2
7	1	ja	nee	10.2	21.6	31.5
8	1	ja	ja	10.5	18.9	27.6*

Pythium

Behandeling van Pythium plugjes met mycelium geeft geen groeiremming na behandeling met Aquanox nevel (Tabel 4.4.).

Tabel 4.4. Myceliumgroei (mm) van Pythium na nevelbehandeling met Aquanox gedurende 15 minuten.

Behandeling	Aantal dagen na enten	Aquanox beh.	Dagnummer	
			1	2
1	0	nee	15.9	54.8
2	0	ja	15.3	55.9
3	1	nee	18.1	56.7
4	1	ja	18.0	55.4

4.3.2 Testen met schimmelsporen en bacteriën

Een overzicht van de micro-organismen waarvan de sporen of bacteriecellen zijn behandeld is weergegeven in Tabel 4.5.

Tabel 4.5. Overzicht van de effectiviteit van behandeling van sporensuspensies of bacteriecellen met 10% Aquanox-oplossingen bij een inwerktijd van een uur. Een sterretje geeft een betrouwbaar verschil aan ten opzichte van onbehandelde controle ($P < 0,05$).

Organisme	Onbehandeld (kve/ml)	Behandeld met 10% Aquanox (kve/ml)
Fusarium oxysporum f. sp. tulipae	12. 10 ⁵	5. 10 ⁵ *
Nectria galligena	1,8. 10 ⁵	0*
Erwinia chrysanthemi	7,5. 10 ⁸	0*
Pseudomonas cattleya	30. 10 ⁶	12. 10 ⁶ *

De sporen van Nectria en de bacteriecellen van Erwinia blijken zeer gevoelig voor een behandeling met 10% Aquanox oplossing. Geen enkele spore blijkt meer kiemkrachtig na de incubatietijd van één uur.

De sporen van FOT en Pseudomonas blijken in de test wel gevoelig voor een éénmalige behandeling met 10% Aquanox, maar er zijn nog steeds veel sporen aanwezig die nog wel kunnen kiemen.

4.3.3 Virustest

De virustest is uitgevoerd met een agressief isolaat van pepinomozaïekvirus (isolaat DB1). Dit virus kan onder meer in tomaat flinke symptomen geven op bladeren en vruchten. Plantensap uit blad van besmette planten is gemengd met Aquanox-oplossingen van 0, 10%, 20% en 40%. De behandelingen werden gedurende 30 en 60 minuten weggezet en continu in beweging gehouden met een roervlo op een roerder. Vervolgens zijn met dit plantensap tabaksplanten besmet. Deze geven namelijk een snelle symptoomontwikkeling in een jong stadium, terwijl dit bij tomatenplanten langer duurt. De bladeren zijn voor inoculatie behandeld met carburundumpoeder om de bladeren lichtjes te beschadigen en de infectie te bevorderen. Infectie vond plaats door een wattenpropje te dopen in de virusoplossing en te inoculeren op twee volgroeide bladeren per plant (2 planten per behandeling). Planten zijn weggezet in een kas bij 20 °C. Na een week zijn de symptomen beoordeeld.

De biotoets liet zien dat er bij behandeling met een 40%-Aquanox oplossing gedurende een uur nog steeds voldoende virusdeeltjes overblijven om symptomen te veroorzaken (Figuur 4.1.).



Figuur 4.1. Foto overzicht van de behandelingen die gedurende één uur zijn geroerd met 0, 10%, 20% of 40% geactiveerd water.

4.4 Discussie & conclusie

Bij de behandeling van schimmels, bacteriën en virussen waren de resultaten zeer wisselend per organisme en de fase waarin het organisme zich bevond. Schimmeldraden bleken weinig gevoelig voor éénmalige behandeling, alleen in het geval van *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* werd een lichte groeiremming waargenomen. *Botrytis* en *Pythium* werden niet direct geremd in hun groei. Bij de screeningstesten moet wel opgemerkt worden dat het nuttig is om te onderzoeken welke effecten er zijn na meerdere behandelingen op de sporenvitaliteit. Op basis van de ervaringen met UV-C belichting kan geconcludeerd worden dat dagelijks behandelen of om de dag wel een sterke vermindering geeft van sporenproductie en de schimmel aanzienlijk verzwakt. Ook al groeien de schimmeldraden even snel door als de onbehandelde controle op een kunstmatige voedingsbodem, de productie van sporendragers verloopt wel trager en er worden hierdoor minder sporen geproduceerd (Hofland-Zijlstra et al. 2009). Ook de resultaten van de proef met potroos bevestigen dit (zie paragraaf 4.4).

Behandeling van schimmelsporen en bacteriecellen in water met een 10% Aquanox-oplossing blijkt afhankelijk van het organisme veel effectiever. *Nectria galligena* en *Erwinia chrysanthemi* werden na een inwerktijd van 1 uur met 100% afgedood. Verdere dosis-responstesten zullen nodig zijn om te onderzoeken in hoeverre de inwerktijd verder kan worden teruggebracht. *Fusarium oxysporum* f. sp. *tulipae* en *Pseudomonas cattleya* zijn wel gevoelig, maar hiervoor zullen meerdere behandelingen nodig zijn die herhaald moeten worden in de tijd om een potentiële infectie voldoende te remmen. Plantensap besmet met pepinomozaïekvirus toonde na behandeling met geactiveerd water nog steeds voldoende actieve virusdeeltjes om symptomen te veroorzaken na herinoculatie op tabaksplanten. Dit geldt ook voor *Pseudomonas cattleya*. Bij behandeling van bacteriën en virussen kunnen er dus nog voldoende infectieuze deeltjes overblijven om alsnog ernstige symptomen te veroorzaken. Zeker wanneer de planten vooraf verwond worden en er geen barrières meer zijn om infectie tegen te gaan. Bij toepassingen tegen deze organismen zal dus goed beoordeeld moeten worden wat de gewenste effectiviteit van bestrijding is en met welke regelmaat een bestrijding dient te worden uitgevoerd.

5 Werking van Aquanox in de teelt

5.1 *Pseudomonas cattleya* (Phalaenopsis)

5.1.1 Achtergrond

Pseudomonas cattleya is een bacterieziekte die bladvlekken veroorzaakt in Phalaenopsis. De planten staan dicht bij elkaar waardoor verspreiding snel kan plaatsvinden onder meer via opspattend gietwater. Condities met hoge rv (> 90%) zijn bevorderlijk voor snelle infectie. De symptomen zijn snel zichtbaar. Het begint met kleine, ringvormige vlekken, maar deze breiden zich snel over het blad uit, het blad vergeelt en de hele plant valt uiteindelijk weg (Figuur 5.1.).

Doel: Effectiviteit testen van Aquanox om verspreiding van de bacterie, *Pseudomonas cattleya* vanuit zieke planten te voorkomen via opspattend gietwater.

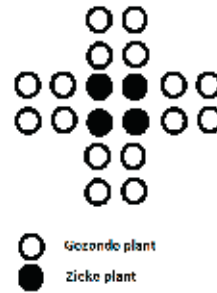


Figuur 5.1. *Phalaenopsis* plant met ernstige symptomen van *Pseudomonas cattleya*.

5.1.2 Plan van aanpak

In een kasproef zijn vier behandelingen in drie herhalingen uitgezet op drie tafels. De proef werd uitgevoerd in een geconditioneerde kas die goed op relatieve luchtvochtigheid is te sturen (Figuur 5.2.). Als cultivar werd Tropic Snowball (Aphrodite, Rozenburg) gebruikt, opgepot in week 14. Per herhaling staan vier zieke planten omgeven door 16 gezonde planten. Bij de gezonde planten werd de middennerf van de bladeren vooraf gekneusd, zodat symptomen sneller zijn waar te nemen. Voedingswater is boven door gegeven, zodat er risico was van opspattend water. Kascondities: temp. 26 °C, rv 90%. Wekelijkse waarneming van symptomen van bladvlekken bij de gezonde planten.

Behandelingen: planten kregen gedurende vier weken tweemaal per week water waarbij vooraf de zieke planten behandeld werden met Aquanox gedurende 0 (A), 5 (B), 15 (C) of 30 minuten (D).

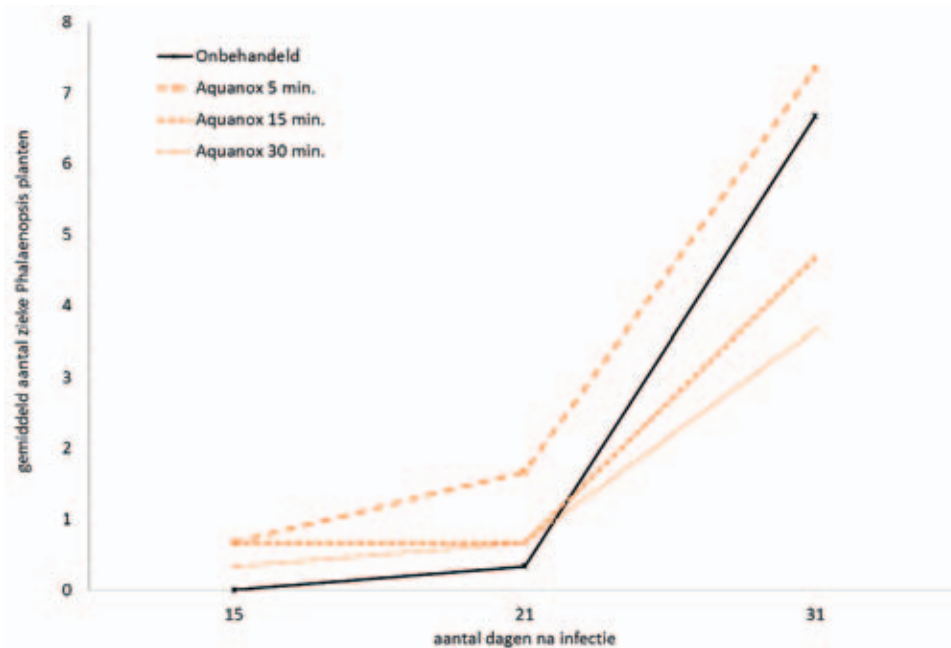


Figuur 5.2. Opstelling van besmette en niet-besmette *Phalaenopsis* planten in een geconditioneerde kas . Per herhaling staan vier zieke planten (zwart rondje) omgeven door 16 gezonde planten (witte rondjes).

Op een aantal extra planten zijn behandelingen uitgevoerd met de bacteriesuspensie van *Pseudomonas cattleya* waar een 10% Aquanox-oplossing aan was toegevoegd (zie H₄). Ook bij deze planten werd de middennerf gekneusd om infectie te bevorderen.

5.1.3 Resultaten

Figuur 5.3. toont het gemiddeld aantal zieke *Phalaenopsis* planten per behandeling tot 31 dagen na de eerste infectie. Het lijkt erop dat een behandeling met 15 of 30 minuten in staat is om het infectiegevaar van besmette planten terug te dringen, maar dit zijn echter geen betrouwbare verschillen door de grote variatie die binnen elke behandeling aanwezig was. De meeste planten raakten in de proefperiode besmet vanuit de zieke planten en vertoonden de typische zwart verkleurde middennerven (Figuur 5.1.).



Figuur 5.3. Aantal *Phalaenopsis* planten met bladvlekensymptomen na een nevelbehandeling met Aquanox gedurende 0, 5, 15 of 30 minuten.

De planten die met een bacteriesuspensie waren behandeld met een 10%-Aquanox oplossing vertoonden even snel de symptomen van zwart verkleurde middennerf als de planten die met een onbehandelde bacteriesuspensie waren behandeld.

5.1.4 Discussie en conclusie

Nevelbehandelingen met Aquanox tweemaal per week is bij *Phalaenopsis* onvoldoende om verspreiding van *P. cattleya* vanuit besmette planten via gietwater tegen te gaan. In de laboratoriumproeven werd wel een vermindering waargenomen van bacteriecellen. Wanneer de planten echter al beschadigd zijn geraakt dan zullen de overgebleven vitale cellen alsnog de plant kunnen infecteren, zoals nu bleek in deze proeven. De behandeling van twee keer per week was afgestemd op de watergiftfrequentie die gebruikelijk is bij *Phalaenopsis* telers. Het is alleen de vraag of dit niet te weinig is geweest. De bacterie kan zich kennelijk nog voldoende herstellen om de plant alsnog te infecteren. Het moment van doden zal moeten plaatsvinden voordat de bacterie de kans krijgt om in de plant te groeien. Hierbij wordt snel aan bijna dagelijkse behandelingen gedacht om de kans van infectie te minimaliseren. De planten in deze proef zijn bewust vooraf gekneusd. Doordat de planten dicht opeen staan is dit een realistische praktijksimulatie. Alleen bij niet verwonde planten zal het infectieproces een stuk trager verlopen en zal de tijdsduur tussen behandelingen wellicht ruimer kunnen zijn.

5.2 Echte meeldauw (tomaat)

5.2.1 Achtergrond

Echte meeldauw (*Oidium neolycopersici*) in tomaat is naast *Botrytis* een belangrijk probleem. Vooral in het najaar kan de aantasting sterk oplopen en ten koste gaan van productie. De sporen bevatten zelf vocht genoeg om ook onder relatief droge condities (rv 60%) al te kunnen kiemen. Maar eenmaal gekiemd dan zijn vochtigere omstandigheden zeer bevorderlijk voor een snel verloop van de verspreiding van de ziekte.

Doel: Effectiviteit van Aquanox toetsen als aangiet- en vernevelingsbehandelingen tegen echte meeldauw in tomaat en risico op gewasschade toetsen.

5.2.2 Plan van aanpak

Voor deze proef zijn jonge tomatenplanten (Komeett) opgezet in een hogedraad teeltsysteem. In de kas was in week 33 al spontaan echte meeldauw gekomen en aantasting met mineervlieg. Per behandelingen werden vier planten geselecteerd. De plekken van de planten werden zodanig gekozen dat ze op verschillende steenwolmatten stonden, zodat er geen invloed was van de aangietbehandelingen op de andere planten. Om verschillende behandelingen in een kas met elkaar te kunnen vergelijken zijn individuele planten in een plastic hoes gewikkeld en vervolgens behandeld met ultrasone nevel van Aquanox. Gewaswerkzaamheden zijn minimaal uitgevoerd, zodat de planten veel bladmassa hadden. De meeldauwontwikkeling per plant is gedurende twee weken gevolgd met behulp van een ziekte-index: 0 (0%), 1 (1-2%), 2 (2-5%), 3 (5-10%), 4 (10-20%), 5 (20-30%), 6 (30-50%), 7 (> 50%).

Behandelingen (tweemaal uitgevoerd):

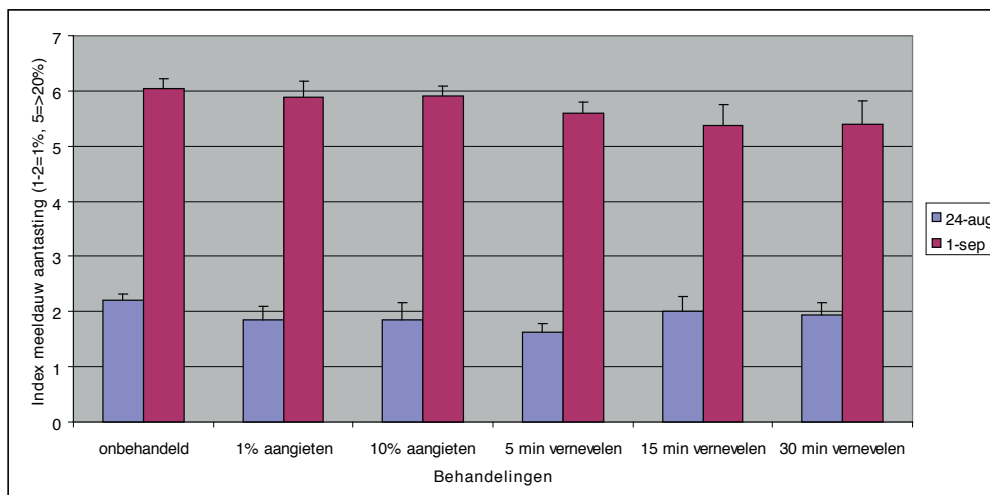
- A – onbehandelde controle
- B – 1% Aquanox (aangietbehandeling)
- C – 10% Aquanox (aangietbehandeling)
- D – 5 min. vernevelen (plant in plastic hoes gehuld)
- E – 15 min. vernevelen (plant in plastic hoes gehuld)
- F – 30 min. vernevelen (plant in plastic hoes gehuld)



Figuur 5.4. Uitvoering van toediening van een Aquanox-behandeling met behulp van een ultrasoon vernevelingsapparaat bij een individueel ingehulde plant.

5.2.3 Resultaten

Er was geen meetbaar effect van Aquanox nevelbehandelingen op de aantasting door echte meeldauw (Figuur 5.5.). Na behandeling van de hele kas bleef het niveau van aantasting gemiddeld 6.3. De aangietbehandelingen leken eveneens geen direct effect te hebben. Er werd daarnaast geen effect op de mineervliegaantasting aangetroffen. Zowel de aangietbehandelingen als de nevelbehandelingen gaven geen verschijnselen van gewasschade. Bij de behandeling van 30 minuten werd het gewas wel zichtbaar nat na behandeling.



Figuur 5.5. Verloop van echte meeldauw in tomaat bij verschillende behandelingen met Aquanox.

5.2.4 Discussie en conclusie

Nevel- en aangietbehandelingen met Aquanox waren niet effectief tegen een vergevorderde meeldauwaantasting in tomaat. De meeldauwinfectie was waarschijnlijk al in een te ver gevorderd stadium van aantasting. Dan zijn de structuren die op het epidermis groeien te ver vergroeid met de cellagen eronder. Hieronder sterven hooguit een aantal sporendragers aan de bovenkant af, maar het pakket aan schimmeldraden is te sterk verankerd in het plantenweefsel en produceert in korte tijd weer nieuwe sporendragers die actief sporen vormen en de witte plekken vertonen.

Daarnaast kan het dichte bladerpakket ook de indringing van de nevel hebben bemoeilijkt. Doorgaans worden de onderste bladeren verwijderd om het gewas luchtig te houden. Door het inpakken van de planten kostte het uitvoeren van de behandelingen veel tijd, hierdoor was de frequentie van behandelingen beperkt (slechts twee keer behandeld met tussenpoos van een week). Frequenter behandelen is nodig om de meeldauwsporen geen kans te geven om te kiemen.

Het lijkt beter om curatieve behandelingen zo snel en regelmatig mogelijk te laten plaatsvinden als de schimmelinfectie zich nog in een jong stadium bevindt en deze nog niet vergroeid is met de epidermislagen van de plant. De behandelingen via nevel of als aangietbehandeling gaven na twee behandelingen geen verschijnselen van gewasschade.

5.3 Mycosphaerella en echte meeldauw (komkommer)

5.3.1 Achtergrond

In de komkommerteelt zijn de belangrijkste schimmelziekten Mycosphaerella en echte meeldauw. Mycosphaerella kan aanwezig zijn als stengel- of bladaantasting of vruchtrot veroorzaken. Vooral inwendig vruchtrot veroorzaakt veel directe en indirecte schade. Het is vochtgerelateerde ziekte. Stengel- of bladaantasting wordt sterk beïnvloed door hoge relatieve luchtvochtigheden (> 85%) en inwendig vruchtrot wordt meer bepaald door plantbelasting, ec-gehalte, opname van calcium en silicium. Bepaalde fungiciden (oa. strobilurines) zijn nog goed werkzaam alleen er is wel een sterk risico van resistentie. En het nadeel is dat voor de bestrijding van echte meeldauw grotendeels dezelfde fungiciden worden ingezet, zodat door het regelmatige gebruik sommige middelen nu al minder werkzaam zijn. Er zijn meeldauwtolerante cultivars beschikbaar, maar nog niet geschikt voor alle teelten. Ook voor deze teelt is er behoefte aan afwisseling met minder resistentiegevoelige producten. In deze proef met jonge komkommerplanten is gekeken in hoeverre verschillende behandelingen met electrochemisch geactiveerd water een vermindering van Mycosphaerella en echte meeldauw kon geven. Hierbij is getest op werking tegen stengelaantasting van Mycosphaerella, omdat de symptomen hiervan in een korte teelt snel te reproduceren zijn.

Doel: Effectiviteit van Aquanox toetsen als aangiet-, verneveling of spuitbehandeling tegen stengelaantasting door Mycosphaerella en echte meeldauw op jonge komkommerplanten.



Figuur 5.6. Beginnende symptomen van *Mycosphaerella* stengelaantasting (foto's boven) en echte meeldauw (foto onder) in een jong komkommengewas.

5.3.2 Plan van aanpak

Komkommers (Roxanne) zijn gezaaid in week 37 en in een hogedraadsysteem op steenwolmatten geplaatst. Bij het verschijnen van het eerste echte blad is de stengel bespoten met ascosporen van *Mycosphaerella*. Deze waren vers uit aangetaste vruchten geïsoleerd. Per behandelingen werden 16 planten gekozen. De plekken van de planten waren zodanig gekozen dat deze op verschillende steenwolmatten stonden, zodat er geen invloed was van de aangietbehandelingen op andere behandelingen. Na tien dagen werd genoteerd of de plant wel of niet geïnfecteerd was geraakt en werd de lesiegrootte waargenomen gedurende twee weken. De relatieve luchtvochtigheid van de kas werd ingesteld op 90% om de aantasting zoveel mogelijk te bevorderen. Bij de vernevelingsbehandelingen werden vier planten tegelijkertijd overdekt met plastic.

Behandelingen (éénmalig uitgevoerd):

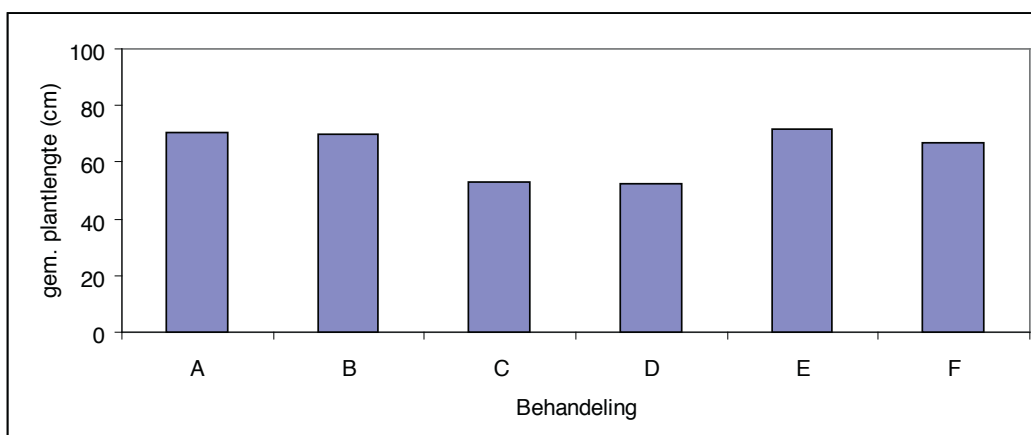
- A – onbehandelde controle
- B – 10% aangietbehandeling
- C – 15 min. vernevelen (plant in hoes hullen)
- D – 30 min. vernevelen (plant in hoes hullen)
- E – spuitbehandeling 50% water: 50% Aquanox (+ uitvloeier)
- F – spuitbehandeling 50% water: 50% water (+ uitvloeier)

5.3.3 Resultaten

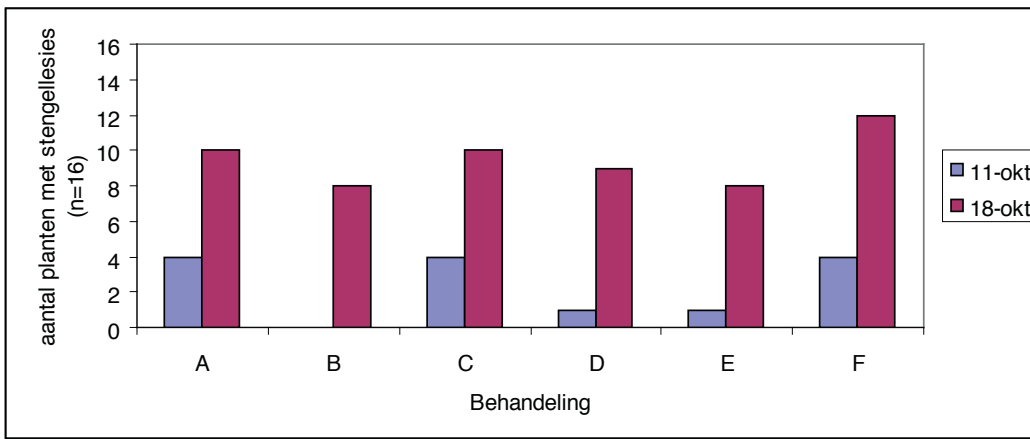
De planten die behandeld waren met ultrasone verneveling met Aquanox gaven direct gewasschade te zien (Figuur 5.7.). Dit gaf ook meteen verschil in plantlengte (Figuur 5.8.). De spuitbehandelingen en aangietbehandeling gaven geen blad-schade. Bij de langste nevelbehandeling (30 min.) en de spuitbehandeling leek het wel alsof de aantasting in het begin het sterkste geremd werd (Figuur 5.9.). Maar na één behandeling bleef de aantasting zich sterk genoeg verder ontwikkelen, zodat er na 7 dagen op 18 oktober geen verschil meer was in aantal aangetaste planten of per behandeling of gemiddelde lesielengte (Figuur 5.9, 5.10). Spontaan kwam er echte meeldauw in het gewas. De planten die verneveld waren geweest toonden geen enkele aantasting (Figuur 5.11). Niet duidelijk is of dit verband houdt met de slechtere stand van het gewas.



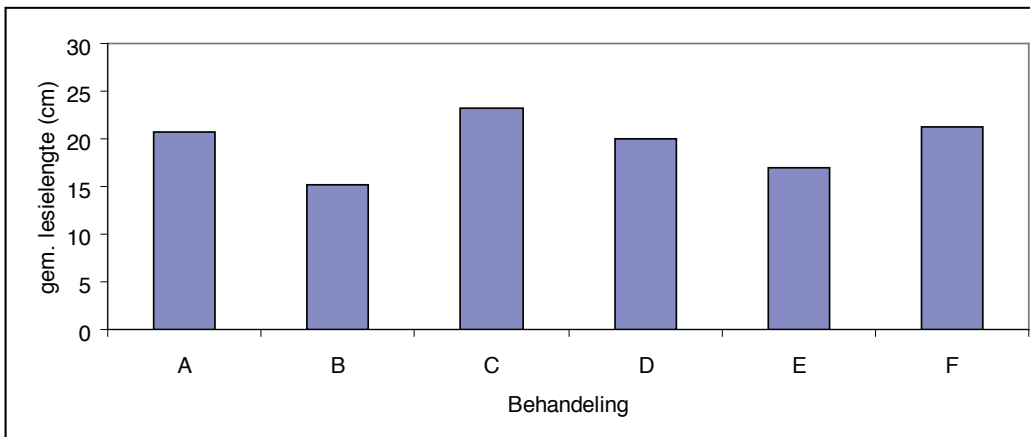
Figuur 5.7. Overzicht van de kasproef met Aquanox behandelingen tegen *Mycosphaerella* en echte meeldauw . Behandeling A: onbehandelde controle, behandeling B aangietbehandeling met 10% Aquanox en behandeling D 30 minuten verneveling gaf gewasschade die te zien was als vergeelde plekken op het blad.



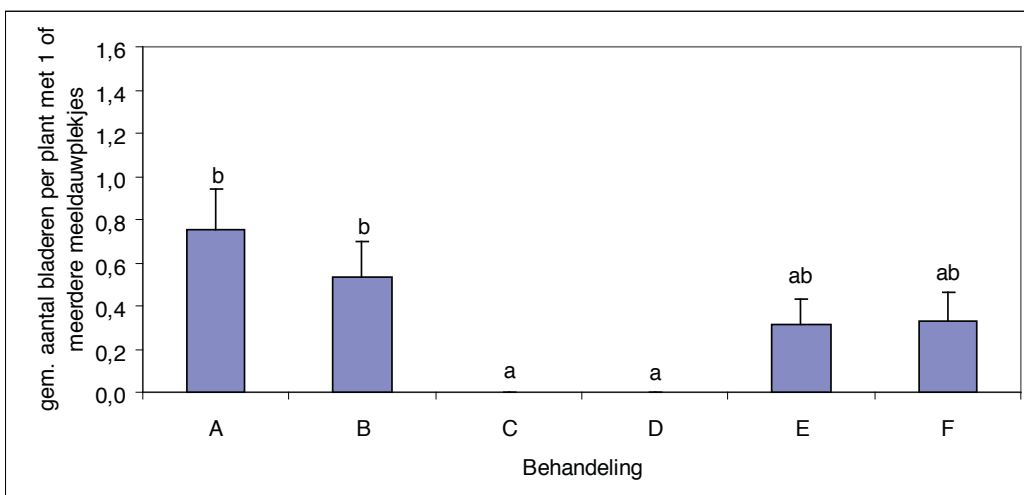
Figuur 5.8. Effect van Aquanox-behandelingen op gemiddelde plantlengte op 18 oktober. Planten die verneveld waren met Aquanox ondervonden bladschade en bleven daardoor achter in groei. De spuitbehandeling met 50% Aquanox en aangietbehandeling leken geen nadelig effect op de groei te hebben.



Figuur 5.9. Effect van Aquanox-behandelingen op aantal planten met stengellesies veroorzaakt door aantasting met *Mycosphaerella* (16 planten per behandeling). Waargenomen op 11 en 18 oktober.



Figuur 5.10. Effect van Aquanox-behandelingen op gemiddelde lesielengte op 18 oktober. Er waren geen betrouwbare verschillen tussen behandelingen aanwezig ($P < 0.05$).



Figuur 5.11. Effect van behandelingen met Aquanox op de aanwezigheid van natuurlijk aanwezige plekken van echte meeldauw. In grafiek staat het gemiddeld aantal bladeren per plant vermeld met daarop een lichte aantasting van echte meeldauw en de standaardfout binnen de behandelingen. Verschillende letters geven een betrouwbaar verschil aan ($P < 0.05$) tussen behandelingen.

5.3.4 Discussie en conclusie

Toediening van Aquanox via ultrasone verneveling (15 en 30 min.) gaf in deze proef directe gewasschade bij jonge komkommerplanten. Hierdoor is het lastig om harde conclusies te trekken over de werkzaamheid van het product bij deze toepassing, omdat de verminderde weerstand van het gewas de gevoeligheid voor infectie kan hebben beïnvloed. Van komkommer is bekend dat ze vooral in een jong stadium gevoelig zijn. Bij Proeftuin Zwaagdijk zijn echter eerder ook proeven gedaan met Aquanox in een volgroeid gewas en daar werden geen symptomen van gewasschade waargenomen (Commandeur 2006). Toediening van Aquanox via ultrasone verneveling gedurende 30 minuten lijkt een vertraagde ontwikkeling van *Mycosphaerella* aantasting te geven. In deze proef waar slechts één behandeling is uitgevoerd, is het de vraag of de effecten sterker worden als de frequentie wordt verhoogd naar bijvoorbeeld 3-4 x per week. Een aangietbehandeling met 10% Aquanox lijkt een remmende werking te hebben op de ontwikkeling van *Mycosphaerella* stengellesies, zonder nadelige invloed op de plantlengte. Spuitbehandeling met 50% Aquanox geeft verminderde ontwikkeling van stengellesies ten opzichte van controle en de spuitbehandeling zonder Aquanox. Toediening van Aquanox via ultrasone verneveling lijkt effectief te werken tegen echte meeldauw.

5.4 Echte meeldauw (potroos)

5.4.1 Achtergrond

Een aantal commerciële rozencultivars zijn erg gevoelig voor echte meeldauw. De sporulerende kolonies zijn zichtbaar als witte vlekken op het blad en soms zelfs op de knoppen. Tegen echte meeldauw in roos worden veel bespuitingen uitgevoerd, bij hoge infectiedruk soms wel om de vijf dagen. Eén van de nadelen is dat het gewas nat wordt en dat door sluiten van de huidmondjes de fotosynthesecapaciteit wordt beperkt. In de proeven met potroos is daarom gekozen om te werken met de vernevelingsbehandelingen, maar ook met spuitbehandelingen. Voor het vernevelen is aparte apparatuur nodig, terwijl een spuitbehandeling met beschikbare spuitapparatuur kan worden uitgevoerd. De aangietbehandeling is opgenomen om te toetsen of er wellicht door de plantenwortels bloot te stellen aan een product met waterstofperoxide, ozon en hypochloriet wellicht een bepaalde systemische weerbaarheid optreedt. Voor toetsing op kleine schaal is in eerst instantie gewerkt met het behandelen van losse, besmette rozenbladeren (in vitro test). In een later stadium is overgegaan op kleine potrozen die werden geïnoculeerd met echte meeldauw. Door aanvullende financiering vanuit Kas als Energiebron is een uitgebreidere proef mogelijk gemaakt waarbij met verschillende producten (zure en basische pH) en frequentie van toediening kon worden gewerkt.

5.4.2 In vitro test met besmette rozenbladeren

5.4.2.1 Doel

Effectiviteit van Aquanox toetsen als aangiet-, verneveling of spuitbehandeling tegen echte meeldauw op roos.

5.4.2.2 Aanpak

Jonge planten van Red Naomi met een beginnende meeldauwaantasting zijn in een kas éénmalig behandeld met Aquanox. Daarna zijn voor de in vitro test bladeren verzameld en bij kamertemperatuur op vochtig filterpapier in petrischalen weggelegd en waargenomen gedurende 1 week.

Behandelingen (éénmalig uitgevoerd):

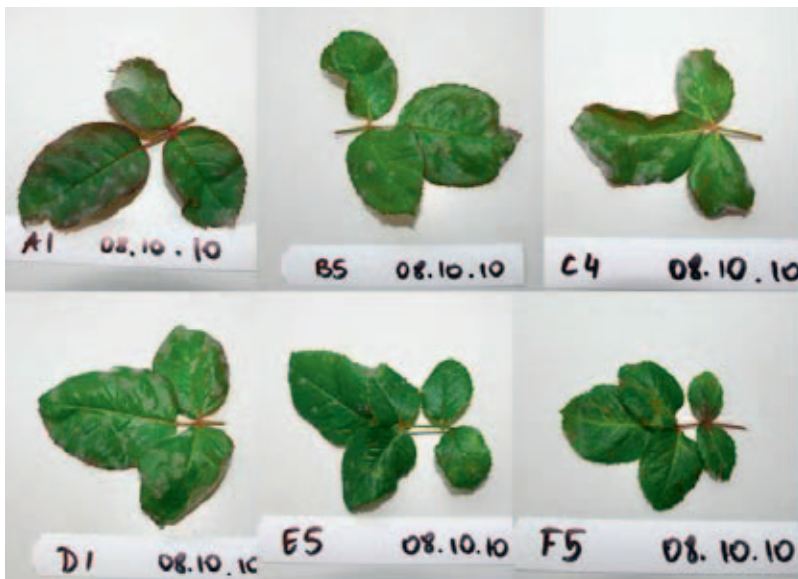
- A – onbehandelde controle
- B – 10% aangietbehandeling
- C – 15 min. vernevelen
- D – 30 min. vernevelen
- E – spuitbehandeling 50% water: 50% Aquanox (+ uitvloeier)
- F – spuitbehandeling 50% water: 50% water (+ uitvloeier)



Figuur 5.12. Red Naomi met aantasting van echte meeldauw.

5.4.2.3 Resultaten

Bij de onbehandelde blaadjes sporuleerden de meeldauwblaadjes nog volop. Bij de nevelbehandelingen trad eveneens nog sporulatie op, maar wel minder. De spuitbehandelingen leken het sterkste de meeldauwgroei te remmen. Bij alle behandelingen kon de meeldauw zich nog wel weer voldoende herstellen om verder groeien. De kwaliteit van de Aquanox behandelde bladeren was beter ten opzichte van de spuitbehandeling met alleen water (behandeling F). Het was lastig om de verschillen in meeldauwaantasting goed te kwantificeren op afzonderlijke bladeren die sterk in aantastingsniveau varieerden en in kwaliteit snel achteruit gingen in de petrischalen. Voor de andere proeven is daarom besloten om verder te gaan met hele planten en om die zelf te besmetten, zodat de eerste aantasting meer gelijk verdeeld is over de planten.



Figuur 5.13. Overzicht van rozenbladeren na een éénmalige behandelingen met Aquanox. A – onbehandelde controle, B – 10% aangietbehandeling, C – 15 min. Verneveld, D – 30 min. Verneveld, E – spuitbehandeling 50% Aquanox (+ uitvloeier) en F – spuitbehandeling met water (+ uitvloeier).

5.4.2.4 Discussie en conclusie

De behandelingen met Aquanox (m.n. spuitbehandeling) lijken een remmend effect te hebben op de meeldauwontwikkeling, maar in deze test waren deze verschillen echter moeilijk vast te stellen door de grote variatie in aantastingsniveau. Een éénmalige behandeling geeft nog geen 100% doding en herhaling van behandelingen is noodzakelijk voor een effectievere werking.

5.4.3 Zure pH versus neutrale pH

In de loop van 2010 werd duidelijk dat verschillende fabrikanten producten met electrochemisch geactiveerd water leveren die een verschillende zuurgraad hebben. Met het oog op vermindering van gewasschade en corrosieschade is het wenselijk om te werken met een hogere pH dan 2-3 waarmee Aquanox op de markt is gekomen. De vraag is alleen of deze producten dan ook een vergelijkbare werking hebben op echte meeldauw. Daarnaast was er behoefte om uitgebreidere testen te doen met benodigde concentraties en minimaal benodigde tijdsduur van verneveling. Aquanox bleek inmiddels ook verkrijgbaar met een neutrale pH, zodat voor deze proef twee producten verschillende zuurtegraden met elkaar waren te vergelijken. Een spuitbehandeling met zout is ook meegenomen als referentiebehandeling om te onderzoeken wat de toegevoegde waarde is van het electrochemisch activeren van een zoutoplossing. In deze test werd geselecteerd op het best werkzame spuit- of vernevelingsproduct om deze vervolgens in een volgende test uitgebreider op toedieningsfrequentie te testen (paragraaf 5.4.4.).

5.4.3.1 Doel

Effectiviteit toetsen van éénmalige Aquanox spuit- en nevelbehandelingen op basis van een zure of neutrale pH bij verschillende concentraties en inwerktijden op een jonge meeldauw infectie in roos.

5.4.3.2 Aanpak

In de eerste test is gewerkt met een potroos 'Isabel'. Deze bleek echter niet gevoelig voor meeldauw. Cultivar 'The Fairy' bleek wel zeer gevoelig en snel te sporuleren (Figuur 5.14). Droge inoculatie vond plaats door besmette blaadjes van Red Naomi met echte meeldauw tussen het gewas te leggen. Bij het waarnemen van de eerste beginnende aantasting werd gestart met de behandelingen op 7 december. Behandelingen met ultrasone verneveling werden uitgevoerd door de planten in een lichtdichte tent te plaatsen (Figuur 5.15). Per behandeling zijn vier planten beoordeeld. Het verloop van de aantasting werd vastgesteld door het aantal besmette blaadjes te tellen per plant. Drie waarnemingen vonden plaats gedurende twee weken op 6, 10 en 14 december.

Behandelingen (éénmalig uitgevoerd):

- onbehandelde controle
- spuitbehandeling + uitvloeier (Finish)
- spuitbehandeling met keukenzout (met en zonder uitvloeier)
- zuur geactiveerd water, ultrasone nevelbehandelingen (1, 5, 10, 20 en 30 min)
- zuur geactiveerd water, spuitbehandelingen (10%, 30%, 50%, 80%)
- neutraal geactiveerd water, ultrasone nevelbehandelingen (1, 5, 10, 20 en 30 min)
- neutraal geactiveerd water, spuitbehandelingen (10%, 30%, 50%, 80%)
- bicarbonaat



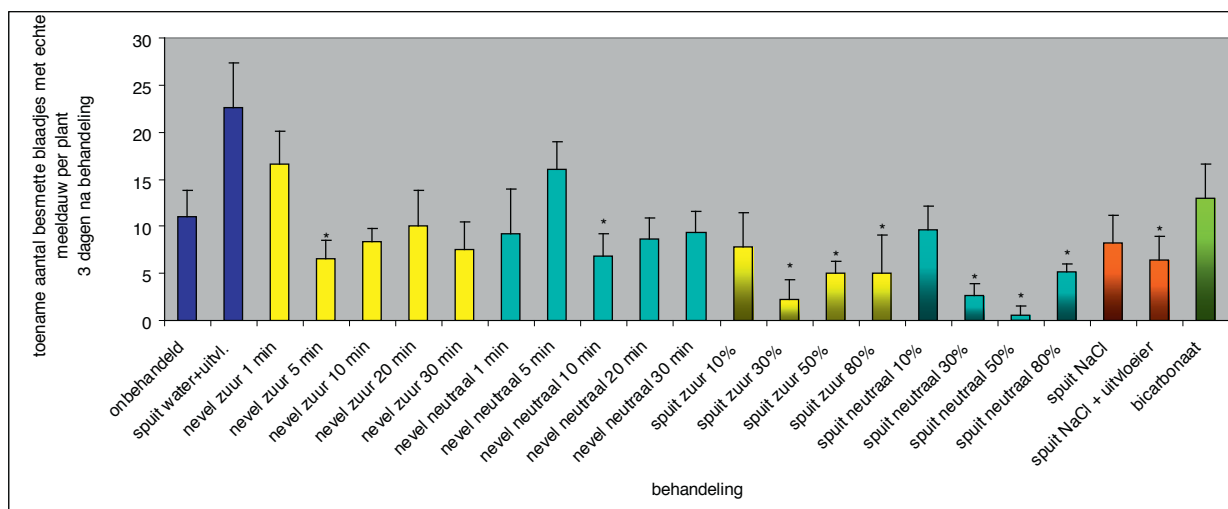
Figuur 5.14. Sporulerende echte meeldauw kolonie op potroos 'The Fairy'.



Figuur 5.15. Behandelruimte die gebruikt is voor de proeven met potroos en Poinsettia planten. Links van de tent is de Aquanox-machine opgesteld die linksboven de nevel in de tent blaast. De behandeltime gaat in als de ultrasone nevel de tent volledig heeft gevuld (rv>90%).

5.4.3.3 Resultaten

Geen verschillen tussen zure en neutrale pH (Figuur 5.16). Effectiefste behandelingen: 5 en 10 minuten vernevelen of spuitbehandeling met minimaal 30% Aquanox. Spuitbehandeling met zout alleen effectief met gebruik van uitvloeier, geeft wel residu op blad. Bicarbonaat heeft geen reducerende werking en geeft residu op het blad.



Figuur 5.16. Toename van aantal blaadjes met meeldauw vanaf de eerste infectie op 6 december en de volgende waarneming op 10 december. Betrouwbare verschillen ten opzichte van de waterbehandeling zijn aangegeven met een sterretje ($P < 0.05$). Verschillende groepen van behandelingen zijn voor de overzichtelijkheid met verschillende kleuren aangegeven.

5.4.3.4 Discussie en conclusie

Uit deze proef blijkt dat een éénmalige toediening van neutraal en zuur geactiveerde water een vergelijkbare biocidewerking heeft tegen echte meeldauw in potroos. In de vervolgprouven is er dan ook voor gekozen om gebruik te maken van het neutrale product, omdat dit product minder risico op corrosie met zich meebrengt in vergelijking met het zure product. De optimale inwerktijd van de ultrasone verneveling ligt in deze proef tussen 5-10 minuten.

Spuitbehandelingen met Aquanox verminderen de meeldauwaantasting, maar hebben minimaal een concentratie van 30% nodig voor optimale werking. De vorige proeven zijn uitgevoerd met concentraties van 50%, zodat voor de consistentie toch voor deze behandeling is gekozen om voort te zetten in de frequentieproef. Spuiten met gewoon zout is even effectief als de spuitbehandeling met geactiveerd water, maar geeft wel het bekende nadeel van residu op de bladeren. Het voordeel van geactiveerd water is dat het juist geen residu achterlaat en dat planten droog zijn te behandelen bij ultrasone verneveling. De behandeling met bicarbonaat gaf geen vermindering van meeldauwaantasting.

5.4.4 Optimale frequentie van toepassing

5.4.4.1 Doel

Frequentie van benodigde Aquanox spuit- en nevelbehandelingen vaststellen om een groeiremming te bewerkstelligen van meer dan 90% ten opzichte van onbehandelde controle.

5.4.4.2 Aanpak

Met de meest effectieve behandelingen van paragraaf 5.4.3 is verder gegaan om de benodigde frequentie van de doseringen te bepalen. Als uitgangspunt is gekozen voor de neutrale vloeistof (pH 7). Deze werd 10 minuten verneveld of als 50% spuitbehandeling toegediend. De controlebehandeling met water is éénmalig uitgevoerd. Opnieuw is gebruik gemaakt van potroos 'The Fairy'. De planten van deze proef zijn voorafgaand aan de behandelingen handmatig besmet door besmette blaadjes tussen de potten te leggen en over de bladeren te wrijven. Bij de start van de behandelingen zijn de planten eerst geward en in een blokkenproefschema geplaatst zodat er geen betrouwbare verschillen in initiële aantasting tussen de behandelingen aanwezig waren. Door de start van de proef in december was de kwaliteit van het uitgangsmateriaal matig. Het was daardoor nodig om een keer te spuiten tegen spint (de eerste week na aanvang van de Aquanox behandelingen). Per behandeling zijn vijf planten gescoord om het verloop van de meeldauwaantasting te volgen 6 en 12 dagen na start van de eerste behandelingen.

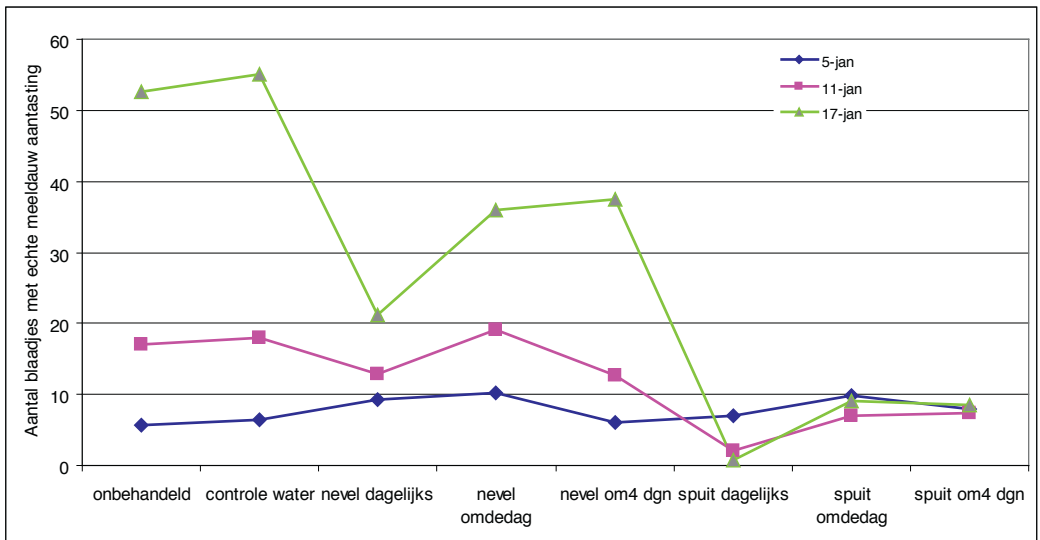
Behandelingen:

- controle (onbehandeld)
- controle met water (éénmalig uitgevoerd)
- dagelijks (ultrasone verneveling)
- om de dag (ultrasone verneveling)
- om de vier dagen (ultrasone verneveling)
- dagelijks (spuitbehandeling)
- om de dag (spuitbehandeling)
- om de vier dagen (spuitbehandeling)

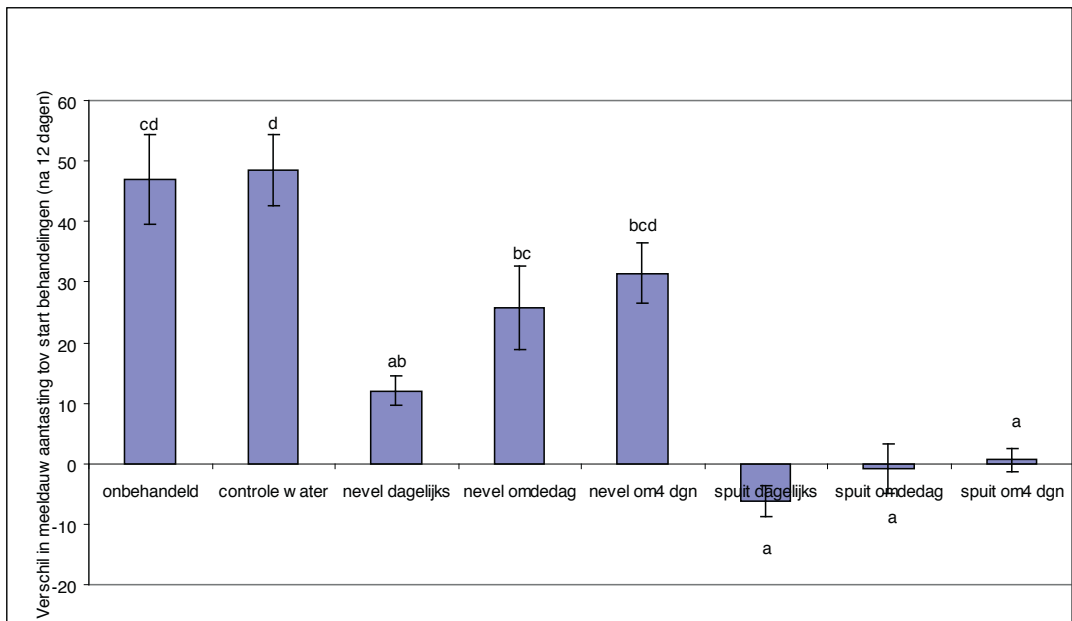
5.4.4.3 Resultaten

De behandelingen met ultrasone verneveling (10 minuten) geven een reductie van het verloop van de aantasting (35-75%). Zie Figuur 5.17 en 5.18. Dit komt overeen met de resultaten uit de eerdere proef waarin verschillende doseringen van Aquanox zijn getoetst. De planten die dagelijkse behandeld zijn vertonen minder blaadjes met meeldauw dan planten die om de dag of om de 4 dagen zijn verneveld. Geen van de planten vertoonde verschijnselen van gewasschade.

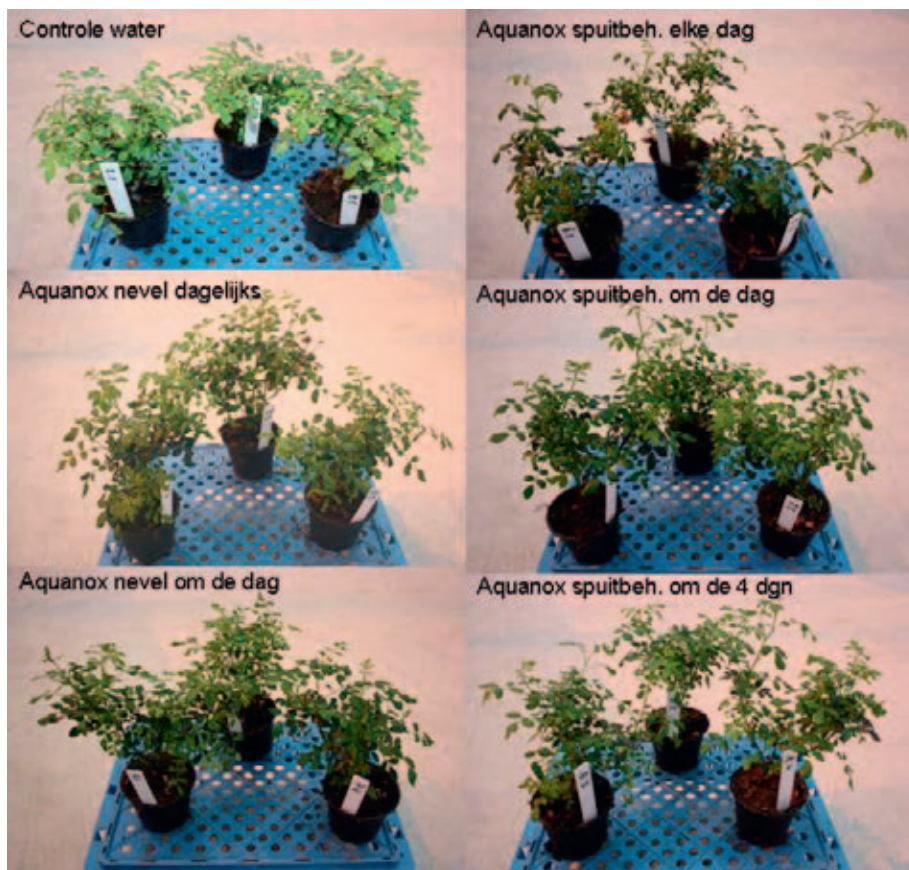
De spuitbehandeling met 50% Aquanox geeft de sterkste reductie van de aantasting met meeldauw (Figuur 5.17-5.21). Waarbij de dagelijkse behandeling en de behandeling om de dag de aanwezige aantasting verminderd wordt tot onder het niveau van de aantasting bij het begin van de proef. De dagelijkse behandeling geeft echter wel sterke gewasschade. Waardoor de behandeling om de dag als meest effectieve overblijft. Bij de spuitbehandelingen valt het op dat de bladeren bedekt zijn met een glimmende laag.



Figuur 5.17. Aantal aangetaste blaadjes met echte meeldauw per behandeling. De waarnemingen zijn gedaan op 5 januari (aanvang van de behandelingen), 11 en 17 januari (na 6 en 12 dagen).



Figuur 5.18. Toename of afname in aantasting tussen 5 en 17 januari per behandeling. De kolommen geven de gemiddelde waarden aan per behandeling. De staafjes geven de variatie aan binnen een behandeling (standaardfout) en verschillende letters geven betrouwbare verschillen aan tussen de behandelingen ($P < 0.05$).



Figuur 5.19. Overzicht van gewasgroei voor een aantal behandelingen met duidelijke verschillen in de aantasting met echte meeldauw.



Figuur 5.20. Detail van de gewasschade bij de dagelijkse spuitbehandeling met Aquanox.



Figuur 5.21. Foto links. Detail van sporulerende kolonie bij de onbehandelde controle. Foto rechts. Detail van dood schimmelpuis bij de spuitbehandeling met Aquanox die om de dag werd toegediend.

5.4.4.4 Discussie en conclusie

De behandeling met ultrasone nevel (10 minuten) geeft een verminderde ontwikkeling van de meeldauwaantasting (35-75%), maar wordt niet tot staan gebracht. Er is een duidelijke relatie met frequentie van de behandelingen, waarbij dagelijkse behandelingen nodig zijn voor de sterkste remming.

De spuitbehandelingen met 50% Aquanox verhinderen de ontwikkeling van een bestaande aantasting als deze dagelijks of om de dag worden gedoseerd, maar dit geeft wel sterke gewasschade. Alles lijkt samen te hangen met de contactduur van het middel en het blad. Een kort moment van contact is nodig om de schimmels voldoende te raken, maar te lang contact geeft bij herhaaldelijk dosering verbranding. In deze proef zijn de spuitbehandelingen uitgevoerd met een gewone plantenspuit, maar de gekozen druppelgrootte waarmee de vloeistof verspoten wordt, is nog beter te optimaliseren door met een fijnere druppel te werken, zodat de verblijftijd van de vloeistof op het blad is in te korten.

6 Werking Aquanox in de naoogstfase

6.1 Achtergrond en doel

Botrytis is een schimmel die in een brede reeks van gewassen voor uitval zorgt in het handelskanaal. Tijdens de teelt landen de sporen op het gewas. De condities zijn dan nog meestal niet gunstig genoeg om te kiemen. Pas bij verwerking en transporteren van het geogste product ontstaan er condities door bijv. temperatuurschommelingen dat er condens optreedt en de sporen voldoende vocht krijgen om te kiemen. Van Botrytissporen is vanuit de literatuur bekend dat ze gevoelig zijn voor electrochemisch geactiveerd water (Buck et al. 2002). Minder duidelijk is in hoeverre deze sporen ook goed te raken zijn als ze zich op een gewas bevinden. Ter bevestiging van de vorige resultaten zijn de proeven met gerbera nog een keer overgedaan. Daarnaast is ook een potplant meegenomen. In de maand december viel de keus op Poinsettia's die sterk gevoelig kunnen zijn voor uitval door Botrytis.

Doel: Effectiviteit van ultrasone verneveling van Aquanox tegen Botrytissporen op bloemen of gewas.

6.2 Preventieve bestrijding van Botrytis op gerberabloemen

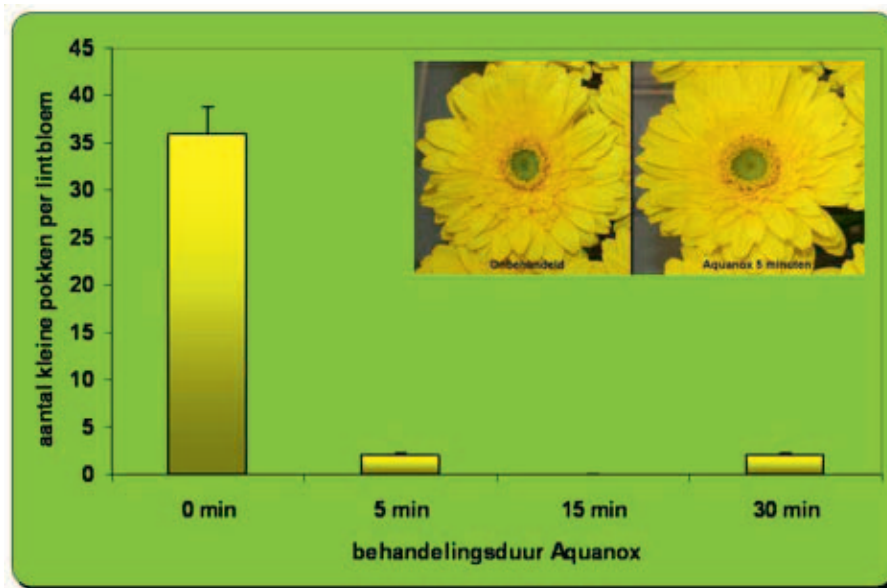
6.2.1 Plan van aanpak

Uit de praktijk zijn gerbera bloemen gehaald (Cultivar Okidoki). De bloemen zijn op natuurlijke wijze bij de teler met Botrytis-sporen besmet. De bloemen zijn voor een periode van 0, 5, 15 en 30 minuten in een nevel van Aquanox (pH 2.7, 1100 mV) geplaatst. De Aquanox was op de dag van behandeling vers bereid. Na de behandeling met Aquanox zijn de bloemen voor een periode van 48 uur bij een rv van 100% geplaatst, ter bevordering van de kieming van aanwezige Botrytissporen. Na deze periode is onder de binoculair per bloem op 1 lintbloem (1 cm²) het aantal gekiemde Botrytissporen geteld. Per behandeling zijn 10 bloemen gebruikt. Als controle zijn 10 onbehandelde bloemen gebruikt. De proef is uitgevoerd op 15 september 2010. De Botrytiswaarneming is uitgevoerd op 17 september 2010.

Behandelingen: 0, 5, 15 of 30 minuten met ultrasone verneveling (éénmalige dosering).

6.2.2 Resultaten

Vanaf 5 minuten was er een volledige doding van Botrytissporen die met het blote oog zichtbaar zijn (grote pokken) en de pokken die onder de binoculair zichtbaar zijn (kleine pokken) werden met 95% gereduceerd (Figuur 6.1.). Er was na behandeling geen bloem schade zichtbaar.



Figuur 6.1. Aantal kleine Botrytis-pokken per lintbloem na behandeling met ultrasonische verneveling van Aquanox gedurende 0, 5, 15 en 30 minuten. Op de kolommen is de standaardfout weergegeven.

6.2.3 Discussie en conclusie

Behandeling van individuele gerberabloemen met Aquanox nevel geeft een effectieve doding van sporen, zodat deze niet meer in staat zijn om te kiemen onder gunstige condities. Het risico op herbesmetting is niet bekend, maar uit de proeven met UV-C belichting is gebleken dat dit risico in de praktijk klein is, doordat de sporendruk in de sorteerruimte doorgaans laag is (< 0,2 sporen/l).

Uit de eerdere proeven binnen het Gerbera Parapluplan is ook gebleken dat de inwerktime nog te reduceren is door bloemen in een kleinere ruimte te vernevelen met een omgekeerde trechter. Een behandelingstijd van 1 minuut bleek haalbaar zonder natslag van bloemen. Voor toepassingen in de praktijk zal gedacht kunnen worden aan momenten in de verwerking waarbij de bloemen niet te dicht opeen zitten, maar wel gedurende enkele minuten te vernevelen zijn (bijv. een gesloten tent boven het waterbad).

6.3 Preventieve bestrijding botrytis in Poinsettia

6.3.1 Plan van aanpak

Uit de praktijk zijn Botrytis gevoelige Poinsettia's gehaald. Op de eerste dag zijn de planten kunstmatig besmet met Botrytissporen ($1 \cdot 10^5$ sporen/ml) en na opdrogen van de sporensuspensie behandeld met ultrasonische verneveling in een lichtdichte, afgesloten Deense kar. Planten werden na behandeling bijgeplaatst in een kas met Phalaenopsis planten (temp. 26 °C, rv 90%). Deze condities zouden eveneens bevorderlijk genoeg moeten zijn voor kieming van Botrytissporen, maar na een week vertoonden de planten nog geen symptomen. Vervolgens zijn de planten afgedekt met plastic hoezen gedurende 24 uur, om aanwezige sporen alsnog te laten kiemen. Deze behandeling gaf ook geen symptomen, zodat twee weken later de planten opnieuw kunstmatig besmet zijn met Botrytissporen ($2,8 \cdot 10^4$ sporen/ml) en de Aquanox behandelingen hebben ondergaan. Ditmaal zijn de planten direct afgedekt na behandeling ter bevordering van de sporengroei en dit resulteerde wel in zichtbaar aangetaste planten (Figuur 6.2.).

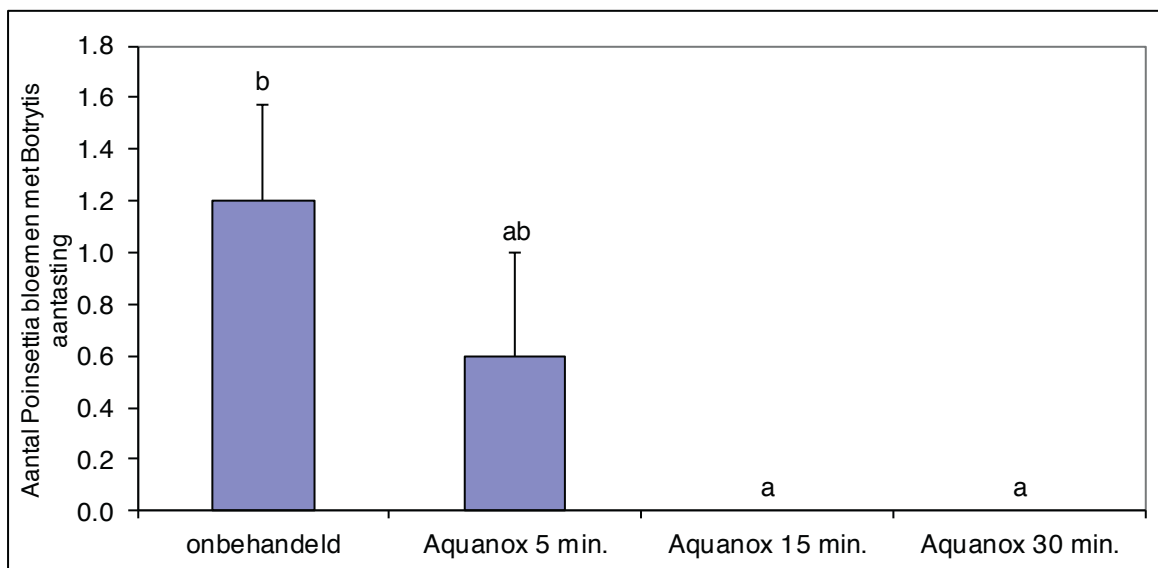
Behandelingen: 0, 5, 15 of 30 minuten met ultrasone verneveling (éénmalige dosering).



Figuur 6.2. Poinsettia met symptomen van een beginnende Botrytis aantasting.

6.3.2 Resultaten

Er is een duidelijke dosis-respons reactie te zien (Figuur 6.3.). Hoe langer de planten verneveld worden hoe meer sporen niet meer in staat zijn om te zorgen voor uitval van bladeren. De behandelingstijd van 15 minuten lijkt voldoende effectief te werken. Bij geen enkele behandeling is gewasschade waargenomen.



Figuur 6.3. Aantal Poinsettia bloemen met symptomen van Botrytis aantasting na behandeling met ultrasone verneveling van Aquanox gedurende 0, 5, 15 en 30 minuten.

6.3.3 Discussie en conclusie

Bij de potplant, Poinsettia werkt de ultrasone vernevelingsbehandeling zeer effectief om kieming van Botrytissporen tegen te gaan. Een behandelingstijd van 15 minuten is voldoende om alle sporen van Botrytis af te doden. Dit wordt bereikt na slechts één behandeling. Gewasschade treedt niet op. Voor praktijktoepassing zal gedacht kunnen worden aan tunnelconstructies waarin de planten te vernevelen zijn voordat ze worden afgeleverd in het handelskanaal.

7 Discussie

In dit onderzoek was een van de doelen om een eerste indruk te krijgen van de werkzaamheid van electrochemisch geactiveerd water tegen een brede reeks van organismen die relevant zijn voor de glastuinbouwsector. En om te toetsen of de vermelde claims op waarheid berusten of grotendeels overtrokken zijn. Daarnaast was het van belang om te testen of er naast een biocidewerking toepassingen mogelijk zijn als gewasbeschermingsmiddel in de teeltfase zonder dat de inzet van biologische bestrijders gevaar loopt. Vooral het droog kunnen behandelen van een gewas tegen een schimmelziekte als echte meeldauw lijkt een zeer veelbelovende toepassing. Hiermee zou het gebruik van fungiciden aanzienlijk zijn te verminderen zonder dat het gewas nat gemaakt hoeft te worden en wat meestal ten koste gaat van productie.

7.1 Toepassingen als biocide

De laboratoriumtesten tonen aan dat sporen van schimmels en bacteriën die zich bevinden in een waterige oplossing sterk gevoelig zijn voor blootstelling aan geactiveerd water. Niet voor niets is deze techniek in eerste instantie ontwikkeld om water te desinfecteren (Hricova et al. 2008). Hier liggen kansen voor diverse proceswaterstromen in de glastuinbouw, zoals desinfectie van drainwater. Ook valt te denken aan fustreiniging waar sporen van schimmels en bacteriën op zijn achtergebleven. Hierbij is het te reinigen materiaal wel van invloed. Hoe ruwer het oppervlak des te minder is de te verwachten werkzaamheid. Sporen zuiveren in lucht behoort ook tot de mogelijkheden. Hier zal echter wel gelet moeten worden op gevoeligheid van apparatuur voor corrosie als deze in een ruimte aanwezig is.

Met betrekking tot de werking op virussen is op basis van dit onderzoek nog te weinig te zeggen. Er is nu alleen één test uitgevoerd met pepinomozaiekvirus waarbij de tabaksplanten alsnog symptomen vertoonden na herinoculatie met behandeld plantensap. In de literatuur wordt wel enige reductie van virusdeeltjes gevonden na blootstelling aan geactiveerd water, maar de doding is slechts gering (Al-Haq et al. 2005). Zeker met virussen zoals komkommerbontvirus dient de werkzaamheid van reinigingsmiddelen meer dan 99% te zijn anders is er nog steeds een te groot risico voor infectie aanwezig. Meer toetsen en kwantitatieve bepalingen zullen zijn nodig voor diverse virussen om de effectiviteit van behandelingen met geactiveerd water te bepalen.

7.2 Toepassingen als gewasbeschermingsmiddel in de teelt

Voor toepassingen in een teelt zijn testen verricht met behulp van ultrasone verneveling, spuitbehandelingen of aangietbehandelingen. Hierbij bleek het bestrijdende effect vooral af te hangen van de frequentie van behandeling. Uit de proef met potroos is geleerd dat er bijna dagelijks behandeld moet worden met ultrasone verneveling voor een remming van de meeldauwgroei. De beste effecten zijn verkregen als infecties in een jong stadium werden behandeld. Zodra de schimmel of bacterie al kans heeft gezien om de plant binnen te dringen dan is er geen werking meer te verwachten van geactiveerd water. Hooguit nog een reductie van de sporendruk van de bestaande geïnfecteerde plekken die weer nieuwe sporendragers willen gaan vormen. Dit geldt dus niet alleen voor *Botrytis*, maar ook voor echte meeldauw. Een schimmel die in een jong stadium nog van het blad af te wrijven is, omdat deze alleen cellen aan de oppervlakte raakt, maar later ook in dieper gelegen cellen zich bevindt. Bij zeer zware infecties groeit de schimmel zelfs door het blad heen om vervolgens ook aan de onderkant te gaan sporuleren.

Gewasschade trad bij de vernevelingsbehandelingen een aantal keren op. Dit had te maken met of een jong kwetsbaar gewas (komkommer) of condens na te lange behandelingstijd in een te kleine ruimte (potroos, proef niet besproken). Als de planten bij behandelen droog blijven en de fijne mist geen kans krijgt om neer te slaan (rv 85-90%), treedt er geen gewasschade op. Per gewas zullen de kritische grenzen hiervoor moeten worden vastgesteld.

Bij het toedienen van spuitbehandelingen met 30-50% Aquanox (pH 6-7) werd de groei van de schimmel volledig geremd. Dagelijkse behandelingen resulteerden echter wel in gewasschade. Waarschijnlijk ligt dit aan de inwerkingstijd van de oxidatieve chloride-ionen op het blad doordat grovere druppels langer op het blad blijft liggen.

Het lijkt voor de hand te liggen dat hier met betrekking tot de toegediende druppelgrootte nog valt te optimaliseren. Het optimum voor effectieve bestrijding zal waarschijnlijk ergens tussen ultrasone verneveling en spuitbehandeling in liggen en afhangen van de benodigde regelmaat van toediening. Daarnaast is er meer informatie nodig over de kritische grenzen van actief chloor en een bepaalde biocidewerking.

Bij de aangietbehandelingen met 10% Aquanox werd in geen enkel geval fytoxische symptomen waargenomen.

Een vergelijking tussen de biocidewerking van producten met een zure (pH 2-3) of neutrale (pH 6-7) pH geeft aan dat dit geen verschil geeft ten aanzien van meeldauwbestrijding. Voor de praktijktoepassingen in de teelt verdient het dan ook aanbeveling om voor vermindering van corrosierisico te werken met het neutrale product.

Het beste tijdstip van toediening is nog niet duidelijk. Wel dient het gezien de aard van het product liefst onder lichtarme condities te gebeuren, omdat actief chloor sneller afbreekt onder invloed van licht (Hricova et al. 2008). De proeven met potroos en Poinsettia zijn uitgevoerd in een donkere ruimte en hierin had de ultrasone vernevelde vloeistof een goede werking. De proef met komkommer vond plaats met doorzichtig plastic, maar ook daar miste de nevel zijn werking niet, wat zichtbaar was aan de gewasschade. Om snel op de gewenste hoge relatieve luchtvochtigheid te komen voor effectieve toepassing (85-95%) ligt het voor de hand in de namiddag of in de avonduren behandelingen uit te voeren.

De belangrijkste knelpunten bij toediening van de techniek zijn de risico's op gewasschade in geval men spuittoepassingen gebruikt, risico op corrosie en veilige toediening zonder gezondheidsrisico's. Al deze knelpunten lijken echter niet onoverkomelijk. Risico op gewasschade is te verminderen zijn door verkleining van de druppelgrootte en/of vermindering van concentratie actief chloor. Vermindering van corrosie is mogelijk door verlaging van het zoutgehalte en/of toevoegingen bij te mengen, bijvoorbeeld met fosfaten of sulfaten (Malcheskey & Fricker 2003). In dit project is gebruik gemaakt van het product Aquanox, maar tussen fabrikanten van electrochemisch geactiveerd water zijn grote verschillen aanwezig in de hoeveelheid zout die ze gebruiken in het electrolyseproces, de efficiëntie waarmee met 1 gram zout een hoeveelheid actief chloor worden geproduceerd, pH waarde en oxidatie-reductiepotentiaal. Hier valt dus nog genoeg te optimaliseren. Tevens is het van belang de toegepaste nevel zodanig toe te passen dat er geen risico is voor het personeel. Door bijv. toediening in de avonduren als er geen personeel rondloopt of in afgesloten cabines (mobiele teelt).

De beschikbare apparatuur voor verneveling is nog niet voldoende opgeschaald om grote kasoppervlakten in korte tijd (20-30 minuten) te behandelen. Daarnaast is het een vereiste dat de apparatuur betrouwbaar moet zijn. De productieapparatuur moet meetinstrumenten bevatten waarmee de gehalten van actief chloor, pH en ORP waarden te meten zijn, zodat een controle op het geproduceerde water mogelijk is.

7.3 Toepassingen als gewasbeschermingsmiddel in de naoogst

De naoogstproeven met gerberabloemen en Poinsettia toonden aan dat Botrytissporen effectief te bestrijden zijn met een éénmalige behandeling met ultrasone verneveling van geactiveerd water. Deze resultaten worden bevestigd vanuit de literatuur. Buck *et al.* (2002) vond dat Botrytissporen gevoelig zijn voor behandelingen met zuur geactiveerd water en dat de kieming van sporen binnen 30 seconden al gereduceerd wordt met 99.1% als deze aanwezig zijn in een waterige oplossing.

Bij doorontwikkeling van deze toepassing zal het van belang zijn om de inwerktijden te verkorten. Dit is mogelijk door een efficiëntere toedieningstechniek. Waarbij de behandelingstijd is gerelateerd aan de inhoud van de behandelingsruimte en de snelheid waarmee de ruimte op een relatieve vochtigheid van 85% komt. Zoals blijkt uit de proeven met potroos zal ook het neutraal geactiveerde water een vergelijkbare biocidewerking hebben, wat eveneens overeenkomt met gegevens uit de literatuur (Hricova *et al.* 2008). Daarnaast is er behoefte aan ontwikkeling van apparatuur waarbij de mist of ultrasone nevel in afgesloten cabines kan worden toegediend, zodat er geen risico's zijn voor de volksgezondheid.

7.4 Conclusies & Aanbevelingen

Producten met electrochemisch geactiveerd water lijken goed als gewasbeschermingsmiddel in een teelt te kunnen worden ingezet, zonder nadelige effecten op natuurlijke plaagbestrijders en met lichte vermindering op de overleving van witte vlieg, spintmijt en trips. Een brede reeks van schimmels, bacteriën en virussen is gevoelig, maar de effectiviteit van een behandeling verschilt sterk per organisme en is afhankelijk van het stadium waarin deze zich bevindt. Schimmeldraden lijken bijvoorbeeld minder gevoelig dan sporen. Doordat de behandeling slechts een contactwerking heeft, zijn voor een afdoende bestrijding van al gekiemde sporen (en uitgegroeide schimmeldraden met sporendragers) meerdere behandelingen achterelkaar noodzakelijk om de ziekteverwekker voldoende te verzwakken. Ter vermindering van het risico op gewasschade is het aan te bevelen om te voorkomen dat het gewas nat wordt na een behandeling en te werken met een zo fijn mogelijke mist (ultrasone verneveling), zodat de contacttijd met het gewas zo gering mogelijk is. Contact met de nevel moet zoveel mogelijk voorkomen worden door in de avonduren te behandelen, op andere tijdstippen dat er geen persoonlijk in de behandelruimte is of een toedieningsapparaat die de nevel zo veel mogelijk gericht toedient in een afgesloten behandelcabine. Om problemen met corrosie zoveel mogelijk te voorkomen is het aan te raden producten met een neutrale of zelfs basische pH te gebruiken en de inwerktijd zoveel mogelijk te beperken door een efficiënte toediening te ontwikkelen. In dit onderzoek is niet gekeken naar de effecten van recirculeren met het voedingswater van geactiveerd water. Dit zal naast vermindering van corrosie en risico op gewasschade ook meegenomen worden als aandachtspunten in het vervolgonderzoek.

8 Literatuurlijst

Al Haq, M.I., S. Junichi and S. Isobe (2005).

Application of electrolyzed water in agriculture and food industries. *Food Science Technology Research* 11:135-150.

Buck, J.W., M.W. van Iersel, R.D. Oetting and Y-C. Hung (2002).

In vitro fungicidal activity of acidic electrolyzed oxidizing water. *Plant Disease* 86:278-281.

Commandeur, R. (2006) Bestrijding meeldauw (*Sphaerotheca fusca*) in komkommerplanten. Onderzoeksrapport

Proeftuin Zwaagdijk, pp 6.

Hofland-Zijlstra, J.D., J. Köhl en S. Böhne (2009).

Preventieve en curatieve bestrijding van *Botrytis* stengelaantasting in tomaat met chemische en niet-chemische middelen. Wageningen. Wageningen UR Glastuinbouw. Rapporten GTB-232.

Hricova, D., R. Stephan and C. Zweifel (2008).

Electrolyzed water and its application in the food industry. *Journal of Food Protection* 71:1934-1947.

Malchesky, P.S. and C.M. Fricker (2003).


United States Patent, Chemical modification of electrochemically activated solutions for improved performance, US 6.623.695 B2.

Van Os, E.A., J.D. Hofland-Zijlstra, R. Hamelink and G.J.L. van Leeuwen (2010).

Parapluplan Gerbera "Beheersing van *Botrytis* door efficiënter energiegebruik": Bestrijding van *Botrytis* in gerbera tijdens de teelt en in de na-oogstfase: Deelproject 4 van Parapluplan Gerbera: kasklimaat, energie en *Botrytis* bij gerbera; oorzaak, verband en maatregelen. Wageningen. Wageningen UR Glastuinbouw. Rapporten GTB-1057_JV.

Bijlage I Biocidetoelating voor anodische oxidatie

Staatscourant 26 oktober 2009, Nr. 16032. Regeling van 20 oktober 2009 tot wijziging van de Regeling gewasbeschermingsmiddelen en biociden in verband met de aanwijzing van beoordelingsmethoden.



§ 3a Werkzaamheid van biociden

Artikel 3.7a Werkzaamheid

Het college houdt bij de beoordeling van de werkzaamheid van desinfecterende middelen rekening met een reductie volgens de tabel, bedoeld in bijlage XVI, en met een inwerktijd van ten hoogste 5 minuten.

H

In artikel 9.6 wordt de zinsrede 'artikel 90, eerste lid,' vervangen door: artikel 90.

I

Artikel 10.1 komt te luiden:

Artikel 10.1 Werkingsgebied

De hoofdstukken 2 en 3 zijn van toepassing bij besluiten op grond van hoofdstuk 9 van de wet met uitzondering van de artikelen 2.4, 2.4a, 2.7, derde en zevende lid, 2.7a, 2.10a, 2.10b, 2.10c, 3.4, 3.4a, 3.7, zevende lid, en 3.7a.

J

Aan het slot van bijlage IX wordt een nieuw onderdeel toegevoegd, luidende:

Chloorverbinding die op de plaats van toepassing door een daartoe bestemd apparaat wordt gegenereerd uit natriumchloride, tenzij de toepassing is bestemd voor desinfectie van leidingen voor drinkwater voor mens of dier.

K

Na bijlage XIV worden twee bijlagen toegevoegd, luidende:

BIJLAGE XV BEOORDELINGSMETHODEN UIT RICHTSNOEREN EN ANDERE BEOORDELINGSMETHODEN

Deel A bevat de op grond van de artikelen 8, tweede lid, en 12, tweede lid, Besluit gewasbeschermingsmiddelen en biociden, aangewezen richtsnoeren.

