



# Opsporen en meten van groeiremming in recirculatiewater en gewas

Werkpakket 2 Glastuinbouw Waterproof substraat

Bram van der Maas<sup>1</sup>, Ines van Marrewijk<sup>2</sup>, Wessel Holtman<sup>3</sup>, Berry Oppedijk<sup>3</sup>, Chris Blok<sup>1</sup>, Patricia de Boer<sup>1</sup>, Steven Driever<sup>1</sup>, Mary Warmenhoven<sup>1</sup> en Rob Meijer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Wageningen UR Glastuinbouw <sup>2</sup> Groen Agro Control <sup>3</sup> Fytagoras



## Referaat

Groeiremming is vaak een reden voor telers om het recirculatiewater te verversen en het overtollige water te lozen. Behalve een te hoog Na-gehalte of een optredende ziekte in het water is de oorzaak van groeiremming nog steeds onduidelijk. Doelstellingen van het uitgevoerde onderzoek waren het vaststellen van de oorzaak van groeiremming, voorstellen van te nemen maatregelen en het ontwikkelen van methoden om groeiremming vroegtijdig te bepalen.

Via een getrapte analyse is onderzoek gedaan naar mogelijke groeiremmende componenten. De groeiremmende factor in het drainwater wordt vooral veroorzaakt door een microbiologische factor die zeer waarschijnlijk van een bacteriologische oorsprong is; gewasbeschermingsmiddelen in het drainwater blijken de groei in diverse groeitesten niet te remmen.

Monitoring van de zuurstofconcentratie in het water en wortelmilieu en de metingen van de lichtbenuttingsefficiëntie in een rozengegewas hebben geen relaties met optredende groeiremming aangetoond. De waarde van deze meetmethoden kon niet goed worden beoordeeld, omdat alleen groeiremming is aangetoond in het drainwater, maar niet in het rozengegewas.

## Abstract

Growth inhibition is often a reason for growers to refresh the recirculation water and to discharge the excess of water. In addition to a too high level of sodium concentration or an occurring disease in the water the cause of growth inhibition is still unclear. Objectives of the study are the determination of the cause of growth inhibition, the proposing of measures and the development of methods to determine growth inhibition early.

Potential growth inhibitory components have been investigated through phased analysis. The growth inhibitory factor in the drain water is mainly caused by a microbiological factor most likely with a bacterial origin. Drainage water with pesticides showed in various tests no growth inhibition.

Monitoring of the oxygen concentration in the water and soil environment and the measurements of the light utilization efficiency in a rose crop didn't show any relations with occurring growth inhibition. The value of these methods could not be assessed because only growth inhibition was demonstrated in the drainage water, but not in the rose crop.

© 2012 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) onderzoeksinstituut Wageningen UR Glastuinbouw.

## Overige financiers / partners:



## Overige uitvoerenden:



# Wageningen UR Glastuinbouw

Adres : Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk,  
Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk  
Tel. : 0317 - 48 56 06  
Fax : 010 - 522 51 93  
E-mail : [glastuinbouw@wur.nl](mailto:glastuinbouw@wur.nl)  
Internet : [www.glastuinbouw](http://www.glastuinbouw)

# Inhoudsopgave

	Voorwoord	5
	Samenvatting	7
1	Inleiding en doel	9
2	Aanpak onderzoek: oorzaak, monitoring en maatregelen	11
	2.1 Algemeen	11
	2.2 Oorzaak Groeiremming	11
	2.2.1 Identificatie groeiremmende componenten	11
	2.2.1.1 Hypothese	11
	2.2.1.2 Aanpak/activiteiten	11
	2.2.1.3 Resultaten	14
	2.2.1.4 Conclusies	19
	2.2.2 Zuurstofmetingen wortelmilieu en water	20
	2.2.2.1 Hypothese	20
	2.2.2.2 Aanpak/activiteiten	20
	2.2.2.3 Inrichting proef	21
	2.2.2.4 Resultaten	22
	2.2.2.5 Conclusies	25
	2.2.3 Metingen licht-benuttingsefficiëntie	26
	2.2.3.1 Hypothese	26
	2.2.3.2 Aanpak/activiteiten	27
	2.2.3.3 Resultaten	27
	2.2.3.4 Conclusies	30
	2.3 Ontwikkeling snelle meetmethode	31
	2.3.1 Doel	31
	2.3.2 Aanpak	31
	2.3.3 Resultaat	32
	2.3.4 Conclusie	35
3	Overall conclusies en aanbevelingen	37



# Voorwoord

Het onderzoek beschreven in dit verslag is onderdeel van het drie jarige project Glastuinbouw Waterproof - Substraten (Beerling, 2010; Klap & Beerling, 2010). De algehele projectleiding lag bij Joke Klap (PT) en Ellen Beerling (WUR). Zij maakten daarbij gebruik van een kernteam met specialisten van WUR, TNO en LTO. De vele projectpartners en de financiers kwamen bijeen in half jaarlijkse klankbord bijeenkomsten. Het project was opgedeeld in 7 werkpakketten met elk een eigen technisch leider met team. Er waren 3 Begeleiding Commissies Onderzoek (BCO) aangesteld voor verschillende combinaties van werkpakketten. In dit rapport wordt het uitgevoerde onderzoek in werkpakket 2 beschreven. Doelstellingen van het uitgevoerde onderzoek waren het vaststellen van de oorzaak van groeiremming, voorstellen van te nemen maatregelen en het ontwikkelen van methoden om groeiremming vroegtijdig te bepalen. Een deel van het onderzoek is uitgevoerd op het rozenbedrijf van Aad en Tom Meewisse, gedurende de duurproef uit werkpakket 1. Bij deze willen we de ondernemers oprecht bedanken voor hun medewerking.

De BCO bestond uit:

T. Cuijpers, Hoogheemraadschap Schieland & Krimpenerwaard; J. Mulder;  
B.R. den Houter, gerberateler; G.W. van Ruijven, rozenteler; D. Grootsholten, paprikateler; N. Enthoven, Priva; W. Holtman, Fyttagoras; K. Haas, Technisch Bureau Bruine de Bruin B.V.; M. Schoenmakers, LTO Groeiservice; E.A.M. Beerling, R.J.M. Meijer en A.A. van der Maas, Wageningen UR Glastuinbouw.

Bram van der Maas





De partners in het project Glastuinbouw Waterproof Substraat hebben in de periode mei 2010 - oktober 2012 oplossingen (door)ontwikkeld voor het voorkomen van emissies van nutriënten en gewasbeschermingsmiddelen naar het oppervlaktewater of riool. Dit heeft zijn beslag gekregen in 6 werkpakketten rond de thema's: maximaliseren van het hergebruik door opheffen van groeiremming (WP 1 en 2) en de optimalisatie van bemesting (WP 3 en 4), het zuiveren en valoriseren van het restant te lozen water (WP 5 en 6). Communicatie van resultaten naar de sector liep als rode draad door alle werkpakketten heen.

De resultaten zijn weergegeven in de volgende rapporten:

- Maas, B van der; Os, E van; Blok, C; Beerling, E & Enthoven, N (2012). Zuivering recirculatiewater in de rozenteelt, duurproef. Werkpakket 1. Wageningen UR Rapport GTB-1198
- Maas, B van der; Raaphorst, M & Beerling, E (2012). Monitoren bedrijven met toepassing van geavanceerde oxidatie als waterzuiveringsmethode. Werkpakket 1. Wageningen UR Rapport GTB-1199
- Maas, B van der; Meijer, R; Driever, S; Warmenhoven, M; Boer, P de; Blok, C; Marrewijk, I; Holtman W; Oppedijk B (2012). Opsporen en meten van groeiremming vanuit het recirculatiewater. Werkpakket 2. Wageningen UR Rapport GTB-1200
- Gieling, T; Blok, C; Maas, B van der; Os, E van & Lagas, P (2012). Literatuurstudie ion-specifieke meetmethoden. Werkpakket 3. Wageningen UR Rapport GTB-1195
- Boer-Tersteeg, P de; Winkel, A van; Steenhuizen, J; IJdo, M; Eveleens, B & Blok, C (2012). Een blauwdruk voor optimaal hergebruik van drainwater getoetst op 5 bedrijven. Werkpakket 4. Wageningen UR Rapport GTB-1196
- Jurgens, R; Appelman, W; Kuipers, N; Feenstra, L; Creusen, R; Os, E van; Bruins, M & Balendonck, J (2010). Haalbaarheidsstudie zuiveringstechnieken restant-water substraatteelt. Werkpakket 5. TNO rapport TNO-034-UT-2010-02389
- Jurgens, R; Appelman, A; Zijlstra, M; Creusen, R; Os, E. van (2012). Glastuinbouw Waterproof, substraatteelt - WP5-onderzoek fase 2 (laboratorium onderzoek). TNO Rapport
- Appelman, A; Creusen, R; Jurgens, R; Medevoort, J van; Zijlstra, M; Os, E. van (2012). Glastuinbouw Waterproof, substraatteelt - WP5-onderzoek fase 3 (pilotonderzoek membraandestillatie). TNO Rapport
- Feenstra, L; Balendonck, J & Kuipers, N (2011). Haalbaarheidsstudie valorisatie van concentraatstromen. Fase 1 - Desktop studie "Scenario's". Werkpakket 6. Wageningen UR Rapport GTB-1203
- Feenstra, L; Nijhuis, M; Bisselink, R; Kuipers, N; Jurgens, R (2012). Valorisatie van concentraatstromen. Fase 2 - Laboratoriumonderzoek. TNO-rapport | TNO-060-UT-2012-01396
- Balendonck, J; Feenstra, L.; Os, E van; Lans D van der (2012). Haalbaarheidsstudie valorisatie van concentraatstromen. Fase 2 - Desktop studie afzetmogelijkheden van concentraat als meststof voor andere teelten. Werkpakket 6. Wageningen UR Rapport GTB-1204
- Os, E van; Jurgens, R; Appelman, W; Enthoven, N; Bruins, M; Creusen, R; Feenstra, L; Santos Cardoso, D; Meeuwse, B & Beerling, E. (2012). Technische en economische mogelijkheden voor het zuiveren van spuiwater. Wageningen UR Rapport GTB-1205

# Samenvatting

Groeiremming is vaak een reden voor telers om het recirculatiewater te verversen en het overtollige water te lozen. Anders dan een te hoog Na-gehalte of een optredende ziekte in het water is de oorzaak van groeiremming nog steeds onbepaald. Doelstellingen van het uitgevoerde onderzoek waren het vaststellen van de oorzaak van groeiremming, voorstellen van te nemen maatregelen en het ontwikkelen van methoden om groeiremming vroegtijdig te bepalen.

Groen Agro Control heeft via een getrapte analyse onderzoek gedaan naar mogelijke groeiremmende componenten, door Fytagoras is nader gekeken naar het verloop van de zuurstofconcentraties in het wortelmilieu en door Wageningen UR is de efficiëntie van de lichtbenutting gemonitord. Dit alles om na te gaan of er een relatie is te leggen tussen groeiremming, zuurstof- en fotosynthese stress. Wageningen UR Glastuinbouw heeft onderzocht of de gebruikte biotoets (Fytotoxkit) efficiënter te maken was. Het onderzoek is uitgevoerd in combinatie met de duurproef roos die in werkpakket 1 (Voorkomen groeiemming) is opgezet.

Het onderzoek heeft de volgende resultaten opgeleverd:

- De groeiemmende factor in het drainwater wordt vooral veroorzaakt door een microbiologische factor die zeer waarschijnlijk van een bacteriologische oorsprong is; gewasbeschermingsmiddelen in het drainwater in concentraties die overeenkomen met praktijksituaties blijken de groei in diverse groeitesten niet te remmen; de in de praktijk gangbare ontsmettingsmethoden kunnen de groeiemmende factor uitschakelen.
- Monitoring van de zuurstofconcentratie in het water en wortelmilieu en de metingen van de lichtbenuttingsefficiëntie hebben geen relaties met optredende groeiemming aangetoond. De waarde van de meetmethoden kon niet goed worden beoordeeld, omdat alleen enkele malen groeiemming is aangetoond in het drainwater, maar niet in het rozengewas.
- Zonder verlies aan onderscheidend vermogen is het niet gelukt de test met de Fytotoxkit te versnellen naar twee dagen en deze test hanteerbaarder te maken.





# 1 Inleiding en doel

Regelmatig geven telers remming van de groei van het gewas aan als reden op om het recirculatiewater te verversen en het overtollige water te lozen. In een aantal gevallen is een te hoog Na-gehalte in het water een reden hiervoor; meestal echter is de beslissing tot verversing en lozing gebaseerd op een ingeschatte verminderde vitaliteit en groeikracht van het gewas door de teler, op de vrees voor groeiremming en de ervaring dat groeiproblemen in eerdere gevallen door verversing minder werden. De beste toets om vast te stellen recirculatiewater groeiremmend kan zijn, is een biotoets, de zgn Fytotoxkit. Deze toets geeft een indicatie van mogelijke aanwezigheid van groeiremming, maar geeft niet een definitief uitsluitsel. Deze toets is ook tijdrovend, niet eenvoudig uit te voeren en daardoor ook kostbaar.

Om betere besluiten te kunnen nemen over al of niet recirculeren, waterbehandeling of verversen en lozen is er meer zicht nodig op de oorzaken van groeiremming en zijn snelle, betrouwbare en betaalbare methoden nodig om groeiremming op te sporen. Als de oorzaken van groeiremming bekend zijn, wordt het ook mogelijk om gericht te werken aan methoden om het ontstaan van groeiremming te voorkomen of te verhelpen.

Het doel van het onderzoek in dit werkpakket is om: de oorzaak van groeiremming vast te stellen en te bepalen wat de relatie is met de ophoping van organisch materiaal en stress,

- om voorstellen te doen voor preventieve en curatieve maatregelen tegen groeiremming
- een of meer methodes te ontwikkelen om groeiremming vroegtijdig en snel te detecteren.

Dit onderzoek is uitgevoerd in combinatie met de duurproef roos die in werkpakket 1 Voorkomen groeiremming is opgezet.

Dit werkpakket is uitgevoerd door Groen Agro Control, Fytagoras en Wageningen UR Glastuinbouw. Door Groen Agro Control is via een getrapte analyse onderzoek gedaan naar mogelijke groeiremmende componenten, door Fytagoras is nader gekeken naar het verloop van de zuurstofconcentraties in het wortelmilieu en in het recirculatiewater en door Wageningen UR is de efficiëntie van de lichtbenutting gemonitord. Dit alles om na te gaan of er een relatie is te leggen tussen groeiremming, zuurstof- en fotosynthese stress. Ook is door Wageningen UR Glastuinbouw nagegaan of het mogelijk is de Fytotoxkit efficiënter te maken. In de volgende hoofdstukken wordt op de verschillende onderdelen nader ingegaan.



## 2 Aanpak onderzoek: oorzaak, monitoring en maatregelen

### 2.1 Algemeen

Voor het onderzoek is gebruik gemaakt van de een rozenteelt uit de Duurproef Roos op een praktijkbedrijf; daar is een situatie gecreëerd met daadwerkelijke groeiremming en die vergeleken kan worden met een situatie zonder groeiremming. Er zijn daar drie recirculatiesystemen aangelegd:

- A. Behandeling van het recirculatiewater met Hoge Druk UV (100mJ/cm<sup>2</sup>) en lozing volgens het inzicht van de teler
- B. Behandeling van het recirculatiewater met Hoge Druk UV(100mJ/cm<sup>2</sup>) met volledige recirculatie zonder lozing
- C. Behandeling van het recirculatiewater met Hoge Druk UV(100mJ/cm<sup>2</sup>) en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (15ppm) met volledige recirculatie zonder lozing

Aanvullend is gebruik gemaakt van kleine rozenteelt in een proefkas bij Groen Agro Control waar wel en niet is gerecirculeerd.

### 2.2 Oorzaak Groeiremming

#### 2.2.1 Identificatie groeiremmende componenten

Waterkwaliteit kent diverse parameters. Telers hebben niet alleen met chemische parameters te maken maar ook de microbiologische kwaliteit van water is belangrijk. Voor bestrijdingsmiddelen, bepaalde wortellexudaten en andere organische stoffen en microbiologische componenten zijn er al meetmethoden beschikbaar. Toch is voor roos niet bekend waardoor op zeker moment groeiremming veroorzaakt wordt in een recirculerend systeem.

##### 2.2.1.1 Hypothese

De hypothese is dat bij roos (en andere teelten op substraat) bij aanhoudende recirculatie van drainwater ophoping van diverse stoffen in het water groeiremming in de plant veroorzaakt. Dit zou vooral in de winter voorkomen.

Natrium, tot op heden door veel telers als belangrijkste factor beschouwd, is in dit onderzoek niet verder onderzocht. Groen Agro Control (GAC) onderzocht twee hypothesen:

- Ophoping van (rest)stoffen in substraatsysteem is de oorzaak van minder gewasgroei. Dit kunnen zowel organische als anorganische stoffen zijn.
- Microbiologisch ontstaat een zekere infectiedruk waardoor plantengroei achteruit gaat. Het kan om een nog niet bekende pathogeen gaan of om groei van algemeen voorkomende microbiologisch organisme waardoor concurrentie met de plant ontstaat.

De doelstelling van het onderzoek is om:

- meer duidelijkheid te krijgen over de oorzaak van groeiremming in een recirculerend substraatsysteem van een rozenteelt.
- de groeiremmende factor(-en) te karakteriseren
- een snellere detectiemethode te ontwikkelen om de groeiremmende factor in drainwater te kunnen vaststellen.

##### 2.2.1.2 Aanpak/activiteiten

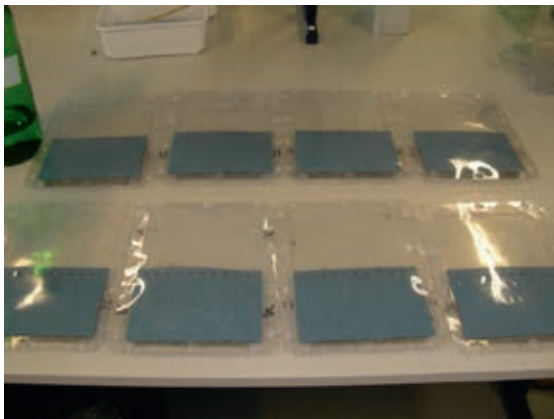
Door het drainwater uit de duurproef gedurende het groeiremmingsproces te bestuderen kan bepaald worden wat de 'onbekende groeiremmende factor' is. Indien mogelijk wordt een snellere detectiemethode ontwikkeld, zodat tuinders niet langer "op gevoel" maar op basis van metingen kunnen besluiten tot waterbehandeling, lozen of recirculatie.

Dit onderzoek is uitgevoerd in de duurproef roos. Ook is gebruik gemaakt van een rozenteelt in een proefkas bij Groen Agro Control waarin wel en niet gerecicleerd werd.

### Activiteiten in het onderzoek door Groen Agro Control

Het onderzoek kende een drietal activiteiten te weten I, II en III

- I. Een getrapte verdere karakterisering van de groeiremmende factor zodat uiteindelijk de stof op naam gebracht kan worden met snelle meettechnieken. Vanwege het uitblijven van meetbare groeiremming in de duurproef roos, en in de proefkas bij GAC werd het onmogelijk om resultaten tot dan toe te verfijnen. Daartoe is vanaf begin 2012 verder onderzoek ingezet op alternatieve activiteiten III
- II. Groeiproeven naar het effect van residuen van gewasbeschermingsmiddelen in drainwater die voorkomen in de duurproef roos, op de groei van zaailingen in de fytotoxkit-methode.
- III. Groeiproeven naar het effect van residuen van gewasbeschermingsmiddelen, in drainwater bij de start van de teelt in groentegewassen op substraat, op de groei van toetsplanten.



Figuur 1. Zaaikits voor de biotoets

### Groeitest methode volgens fytotoxtest

Voor het onderzoek heeft GAC de groeitestmethode van de fytotoxkit van WUR Glastuinbouw overgenomen. In deze kiemtest zijn twee van de drie zaadsoorten steeds gebruikt, te weten de dicotylen zaden van tuinkers en mosterd. Omdat dit onderzoek representatief moet zijn voor het gewas roos, is de monocotyle zaad van sorghum niet gebruikt. Voor elke test worden vier herhalingen (zaaikits) toegepast met elk 10 zaden (zie Figuur 1.). In totaal wordt van 4x10 zaden de wortellengte gemeten. De resultaten zijn vergeleken met een standaard voedingsoplossing als referentie of met een onbehandelde voedingsoplossing uit de rozenproeven, waarin groeiremming is vastgesteld.

Uit eerder onderzoek is gebleken dat deze test groeiremming kan vaststellen in drainwater uit een rozenteelt waarin groeiremming een feit is. Bij 20% remming van de wortellengte of meer ten opzichte van de standaard voedingsoplossing is er sprake van groeiremming in roos.

Daarbij is het nodig om eerst factoren als voedingselementen, ziekten en andere calamiteiten uit te sluiten. Daarom werden drainwatermonsters vooraf onderzocht op pathogene ziekten en op aanwezigheid van gewasbeschermingsmiddelen. Aanvullend op de methode van de WUR hebben wij steeds in het water dat gebruikt werd in het onderzoek met de fytotoxtest parallel kiemgetallen laten bepalen. Die geven de hoeveelheid kolonievormende eenheden van algemeen voorkomende schimmels en aërobe bacteriën per milliliter water weer. Deze waarden geven een indicatie voor de aanwezigheid van organische vervuiling waar micro-organismen van leven. Maar ook geven ze aan in welke mate de methoden en middelen die in het laboratoriumonderzoek zijn toegepast, effect hebben op de micro-organismen in het water.

Later in het onderzoek is de fytotoxtest nog verder verfijnd. In het voedingswater van de referentie in de test én op de zaden bleken bacteriën en schimmels voor te komen die de proeven met de fytotoxtest mogelijk beïnvloedden. Omdat in dit onderzoek meer ingezoomd werd op microorganismen moest deze factor in de gebruikte fytotoxtest 100% uitgesloten worden. Tenslotte zijn extra ontsmette zaden gebruikt en is het voedingswater voor de referentie eerst met UVc straling ontdaan van micro-organismen.

In totaal zijn gedurende de anderhalf jaar dat de rozenproeven gevolgd werd, zo'n 20 series fyto-toxtesten uitgevoerd, waar steeds diverse behandelingen met elkaar vergeleken zijn. In totaal zo'n 120 fyto-toxtesten uitgevoerd in dit onderzoek.

Ingezaaide kiemkits worden onder vaste temperatuur- en RV-omstandigheden 72 uur in de klimaatcel tot kieming gebracht. Daarna wordt van elke kit een Foto gemaakt, om vervolgens later de wortellengte te kunnen bepalen aan de hand van de foto's. Zodoende is er minimaal tijdsverschil tussen de waarneming van de verschillende kits.



*Figuur 2. Klimaatcel en gekiemd zaad in biotoets.*

#### **Groei-testmethode met jonge komkommerplanten**

In de praktijk zijn telers soms huiverig om het eerste drainwater bij de start van de teelt van groentegewassen op substraat te hergebruiken. Uit eerdere metingen is bekend dat er onder andere resten gewasbeschermingsmiddelen in het eerste drainwater blijken te zitten. Om te bepalen of deze concentraties schadelijk zijn is verder onderzoek wenselijk gebleken. Op basis van gemeten waarden in het eerste drainwater van diverse bedrijven in komkommer, tomaat en paprika zijn in overleg met de stuurgroep combinaties van gewasbeschermingsmiddelen vastgesteld voor elk van deze gewassen. Met komkommer als gevoelige toetsplant zijn groeiproeven gedaan naar het effect van deze residuen van gewasbeschermingsmiddelen op de groei van jonge planten in steenwolblokken. De planten zijn vanaf 7 dagen na zaaien verspeend en vanaf dat moment gedurende 12 dagen blootgesteld aan de concentraties aan gewasbeschermingsmiddelen. Vervolgens is het gewas visueel beoordeeld en het vers- en drooggewicht bepaald. Daarnaast zijn de voedingselementen in het gewas gemeten om te kunnen bepalen of de gewasbeschermingsmiddelen invloed hebben op de kwaliteit van de gewasgroei.

#### **Proeflocaties roos voor onderzoek aan drainwater**

Voor dit onderzoek zijn op diverse momenten in de periode van oktober 2010 tot november 2011 drainmonsters uit de duurproef roos in onderzoek genomen. Onderzoek door andere partners in werkpakket 2 richtte zich tegelijkertijd op diezelfde duurproef met varianten A, B en C zoals eerder toegelicht in hoofdstuk 2.1. WUR testte met een zekere regelmaat het drainwater op groeiremming, parallel aan de groeibepalingen aan het gewas. Een proeflokatie waar groeiremming een feit is, was een voorwaarde voor goed onderzoek door GAC. In het drainwater is door WUR een aantal maal groeiremming vastgesteld in variant A, hoewel de parameters aan het gewas die groeiremming niet bevestigden. Met water uit die periode is lange tijd gericht onderzoek gedaan door GAC.



Figuur 3. Proefkas Groen Agro Control.

Daarnaast is er gedurende ruim een jaar, op kleine schaal (ca.10m<sup>2</sup>) bij GAC in een proefkas, een rozengewas aangehouden (Figuur 3.). In de helft werd drainwater 100% gerecirculeerd waarin voedingselementen steeds werden gecorrigeerd. In de andere helft werd water gegeven met vrije drainage. Met een twee jaar oud gewas is een hogere plantdichtheid toegepast dan in de praktijk, om de hoeveelheid wortels en substraat per oppervlakte-eenheid zo hoog mogelijk te hebben. Indien er sprake zou zijn van de ophoping van een groeiremmende component dan zou die in een hogere concentratie voorkomen, en sneller meetbaar zijn. Regelmatig werd met de fytotoxkit onderzocht of er sprake was van groeiremming in het drainwater. Helaas heeft deze proef geen extra informatie opgeleverd omdat het drainwater van 100% recirculatie geen verschil gaf ten opzichte van vrije drainage.

### 2.2.1.3 Resultaten

#### Een getrapte verdere karakterisering van de groeiremmende factor

##### Oorzaak groeiremming dmv identificatie groeiremmende componenten

De hypothese is dat bij roos - vooral in de winter- groeiremming optreedt door ophoping van:

- Stoffen in het substraatsysteem. Dit kunnen zowel organische als anorganische stoffen zijn.
- Microbiologisch infecties. Het kan om een nog niet bekende pathogeen gaan of om groei van algemeen voorkomende microbiologisch organismen waardoor concurrentie met de plant ontstaat.

##### Onderzoek gericht op factoren die groei zouden kunnen beïnvloeden

Factoren die mogelijk een rol spelen zijn trapsgewijs onderzocht. Steeds zijn mogelijke componenten verwijderd of nader onderzocht op de invloed ervan in de groeitest. Eerst werd het drainwater met groeiremming via ontsmettingsmethoden ontdaan van eventuele aanwezige microbiologische factoren die de groei zouden kunnen beïnvloeden. Via verhitting, UVc stralen, ozon, diverse fasen van micro-filtratie en specifieke en algemeen werkende antibiotica, werd het water behandeld. Door het water van vóór en na die behandeling in het fytotoxtest te gebruiken werd steeds meer duidelijk over de oorsprong van de groeibeperkende factor. Behandelingen gericht op microbiologie toonden aan dat na eliminatie van micro-organismen de groeibeperkende factor uit het water verdween. Daarmee kon op zichzelf de factor van resten van gewasbeschermingsmiddelen uitgesloten worden. Om gewasbeschermingsmiddelen toch nog specifiek te testen zijn proeven gedaan met toevoeging van gevonden concentraties aan middelen in drainwater. De concentraties middelen die zijn toegevoegd zijn gebaseerd op meetgegevens van gevonden resten gewasbeschermingsmiddelen in drainwater van het proefbedrijf roos, en in drainwater bij de start van de teelt van glasgroentebedrijven komkommer, paprika en tomaat.

##### Onderzoek naar pathogene ziekten in duurproef

Om te controleren of zowel in drainwater als in het substraat geen pathogene ziekten voorkomen in het recirculatiewater van de duurproef (zie voor beschrijving hoofdstuk 2.1), zijn DNA analyses en analyses op infectiedruk van algemeen voorkomende microbiologie gedaan



Water uit substraat, maart 2011, duurproef roos	Recirculatie (A)	Recirculatie+UV (B)	Recirculatie Peroxide+UV (C)	
Aerob kiemgetal, algemene schimmels en bacteriën				eenheid
Bacteriën	120.000	43.000	61.000	kve/ml
Schimmels	1.000	7.000	2.000	kve/ml
Pathogene schimmels				
Phytophthora spp	n.a.	n.a.	n.a.	kve/ml
Pythium spp	zeer zwak	zeer zwak	zeer zwak	kve/ml
Cylindrocladium scoparium	n.a.	n.a.	n.a.	kve/ml
Cylindrocladium parvum *	zeer zwak	zeer zwak	zeer zwak	kve/ml
Cylindrocarpon destructans *	zeer zwak	zeer zwak	zeer zwak	kve/ml
Water van 3 behandelingen (A, B en C) uit duurproef roos				
* Cylindrocladium parvum is de minst schadelijke van de Cylindrocladium soorten.				
* Cylindrocarpon destructans is een zwakteparasiet en kan plantuitval veroorzaken.				
zeer zwak = infectiedruk is nihil te noemen				
n.a. = niet aangetoond kve/ml = kolonievormende eenheden aan micro-organismen				

Tabel 1. Analyseresultaten microbiologische test in drainwater duurproef roos.

### Toelichting op de twee tabellen.

De resultaten in de tabellen geven aan dat in alle behandelingen de infectiedruk van bij naam bekende bacteriën en schimmels laag tot zeer laag te noemen is (zie Tabel 1 en 2). De groeiremming in het drainwater wordt dus niet veroorzaakt door reeds bekende of pathogene schimmels en bacteriën.

Water uit silo B-vuil, februari 2011, duurproef roos	Recirculatie+UV B	
Aerob kiemgetal, algemene schimmels en bacteriën		
Bacteriën	36.000	kve/ml
Schimmels	130	kve/ml
Benoemde schimmels en bacteriën, infectiedruk		
Trichoderma	n.a.	kve/ml
Penicillium sp	zwak	kve/ml
Aspergillus sp	n.a.	kve/ml
Acremonium	zeer zwak	kve/ml
Fusarium oxysporum	n.a.	kve/ml
Fusarium sp	n.a.	kve/ml
Verticillium	n.a.	kve/ml
Cylindrocarpon	n.a.	kve/ml
Cylindrocladium	n.a.	kve/ml
Gnomonia	n.a.	kve/ml
Pythium spp	zwak	kve/ml
Phytophthora spp	n.a.	kve/ml
Overige schimmels	zeer zwak	kve/ml
Vuil drainwater van behandeling B uit duurproef roos (febr.2011)		
n.a. = niet aangetoond		
kve/ml = kolonievormende eenheden aan micro-organismen		
zeer zwak = infectiedruk is nihil te noemen		

Tabel 2. Analyseresultaten microbiologische test in drainwater duurproef roos.

### Onderzoek met drainwater uit de duurproef roos

Vuil drainwater uit proefvariant B van de duurproef toonde in februari 2011 en in juli 2012 groeiremming in de fyto-toxtest. Op die twee momenten is ruim voldoende water verzameld en gekoeld bewaard. Met dit water is het meeste onderzoek gedaan, waarbij steeds gecontroleerd werd dat de groeiremming in het water behouden bleef. Toch bleek na een zekere periode dat de groeiremming niet meer meetbaar was in het bewaarde monster. Vanaf eind 2011 was er geen drainwater meer beschikbaar met aantoonbare groeiremming, niet uit de duurproef noch uit de kasproef bij GAC. Hier een samenvatting van de resultaten.

## Testen met behandelingen op micro-organismen

Met verschillende methoden is het vuile drainwater behandeld om daarna te kunnen bepalen of de groeiremming opgeheven is. In de onderstaande tabel de resultaten van één serie van die behandelingen met fytotoxtesten.

Eytotoxtest 7 maart 2011	M referentie	M 5min 95graden	M 1uur Ozon	M UVc 1.500mJ	M AB Amp 10ppm	Ref KK voeding	KK 5min 95graden	KK 1uur Ozon	KK UVc 1.500mJ	KK UVc 1.500mJ en AB	KK AB Amp 10ppm
T.o.v. Ref KK	80%	108%	99%	108%	93%	100%	102%	98%	101%	93%	89%
T.o.v. Ref KK 95gr5m	79%	106%	97%	106%	92%	98%	100%	97%	99%	91%	87%
T.o.v. Ref M	100%	135%	123%	135%	117%						
Wortellengte van tuinkers in % t.o.v. diverse referenties Amp: Ampicilline 10ppm											
Kiemgetallen											
Aantal bacteriën	5.70E+04	<10	<10	150	15000	1.50E+05	<10	750	<10	<10	270
Aantal schimmels	170	<10	<10	<10	120	310	<10	<10	<10	<10	270
Kiemgetallen in k.v.e.per ml.											
Behandeling: ontsmet via	-	verhitting	ozon	UVc	antibiotica	-	verhitting	ozon	UVc	UVc en antibiotica	antibiotica
Conclusies	Na UVc, verhitter, ozon is groeiremming in drain B-vuil uit duurproef verdwenen				Bacteriën groeien nog Methode aanpassen	De referentievoeding bevat bacteriën, maar na ontsmetten gelijk effect Geen schadelijke bacterieniveaus. fytotoxtest wordt niet beïnvloed					
Resultaten van Fytotoxtest met diverse behandelingen van drainwater uit duurproef roos (M), vergeleken met referentie komkommer (KK) met dezelfde behandelingen											

Tabel 3. Resultaten biotoets drainwater na diverse zuiveringsbehandelingen.

### Toelichting op de conclusies in de bovenstaande tabel.

Het vuile drainwater uit de behandelig B van de duurproef (M) waarin groeiremming is vastgesteld is gebruikt in diverse proeven. (M) referentie ten opzichte van RefKK is 80%, dat wil zeggen 20% groeiremming in het vuile drainwater van behandeling B in de duurproef roos (M referentie) ten opzichte van de referentie voedingsoplossing. Hieruit blijkt dat verhitten, ozonbehandeling en UVc-ontsmetting de groeiremming in het vuile drainwater opheft. Ten opzichte van de onbehandelde vuile drain (Ref M) blijkt duidelijk dat de ontsmettingsbehandelingen de groei sterk verbeteren, met respectievelijk 35, 23 en 35%.

In een eerste test met de antibiotica Ampiciline, bleek dat er zeer veel bacteriën meetbaar waren in het filtraat. Omdat Ampiciline een breedwerkende antibiotica is zou dat niet kunnen. Daarom is verder onderzoek gedaan om de juiste concentratie en de juiste methode te bepalen voor de toepassing van antibiotica.

De ontsmettingsbehandelingen zijn ook uitgevoerd op de referentie voedingsoplossing. De ontsmettingsbehandelingen blijken de groei in neutraal water niet positief noch negatief te beïnvloeden. Hiermee wordt bevestigd dat de referentie zowel als behandelde als onbehandelde oplossing een juiste referentie is voor deze proeven.

Na de behandelingen met ontsmettingsmethoden is verder onderzoek gericht op de identificatie van de bepalende micro-organisme(n) die de groei beïnvloeden. Dat is gedaan met filtratie en met filtratie in combinatie met bactericiden en fungiciden (zie Tabel 4).

Tabel 4. Gebruikte middelen voor het uitschakelen van micro-organismen.

Overzicht van gebruikte bactericiden en fungiciden microbiologische organismen uit te schakelen		
Bactericiden	Afkorting	
Bacitracin	Ba	doding van gram positieve bacteriën d.m.v. inhibitie van celwand synthese
Cefotaxime	Cefo	doding van gram negatieve bacteriën d.m.v. inhibitie van celwand synthese
Ampicilline	Ampi	doding van gram positieve en negatieve bacteriën d.m.v. inhibitie van celwand synthese
Fungiciden		
Carbendazim	Carb	doding van Schimmels in algemene zin
Etridiazool	AAT	doding van Waterschimmels als Pythium en Phytophthora

Schimmels zijn qua organismen over het algemeen kleiner dan bacteriën. Door filtratie door filters met verschillende maasgroottes met diametergrootte 0,2 en 0,45 µm, zijn scheidingen gemaakt en vervolgens is het filtraat getest in de fytotoxtest. Vuil drainwater dat door een 0,2µm filter gehaald wordt, geeft een verbetering de groei in de fytotoxtest. Dat geldt niet voor het filtraat dat door een 0,45µm filter gegaan is. Hieruit bleek dat de groeiremming zéér waarschijnlijk door een bacteriesoort wordt veroorzaakt, of mogelijk door een combinatie van verschillende bacteriesoorten.

Tevens zijn filters van twee soorten materiaal gebruikt, om uit te sluiten dat polaire chemische stoffen achterblijven in het filter door hechting aan het filtermateriaal.

Testen om de bacteriesoort(en) te kunnen identificeren zijn gedaan door verschillende soorten antibiotica toe te passen. Daartoe zijn eerst fytoxttesten met concentratiereeksen van antibiotica opgezet, om een concentratie te bepalen die de groei in de groeitest niet verstoort.

De testen werden beïnvloed omdat gaandeweg het onderzoek bleek dat het oorspronkelijke water uit de duurproef minder dan 10% groeiremming gaf. Daardoor zijn een aantal vragen in het onderzoek niet beantwoord.

- Antibiotica bindt mogelijk aan organische vervuiling waardoor minder effect op de doding van de bacterie.
- In een oplossing waarin een bacteriegroep selectief wordt gedood, kunnen andere soorten mogelijk versneld groeien.
- Mogelijk is niet de bacterie zelf de groeibelemerende factor maar een stof die de bacterie uitscheidt.
- In een niet 100% steriel gemaakte oplossing kan explosieve bacteriegroei optreden van één of enkele soorten die de groei sterk beïnvloeden.

Uit alle proeven die gedaan zijn blijkt dat de groeiremming zéér waarschijnlijk door één bacteriesoort wordt veroorzaakt, of mogelijk door een combinatie van verschillende bacteriesoorten.

### Proeven met gewasbeschermingsmiddelen in de fytoxttest

Uit de resultaten van dit lopende onderzoek werd geconcludeerd dat de groeibeperkende factor in het drainwater uit de duurproef veroorzaakt wordt door een microbiologische factor. Om er zeker van te zijn dat de groeiremming niet door gewasbeschermingsmiddelen (GBM) in het water veroorzaakt is, werden twee series testen gedaan met de werkzame stoffen van de GBM middels de fytoxtkit.

In groeiremmende drainwater werden in februari 2011 15 werkzame stoffen van gewasbeschermingsmiddelen aangetroffen, samen zo'n 33 microgram per liter. Twee stoffen die samen meer dan 70% uitmaakten zijn in de fytoxttest toegevoegd aan een standaard voedingswater. Uit deze groeitest bleek dat deze twee stoffen (Spiroxamine en Thiametoxam) samen geen groeiremming geven.

In een tweede serie testen zijn alle 15 werkzame stoffen van gewasbeschermingsmiddelen in de fytoxttest toegevoegd. Dezelfde concentraties als aangetroffen in het drainwater, werden getest. Met daarnaast ook twee varianten met respectievelijk een 10 keer en een 100 keer hogere concentratie van die 15 stoffen. Zodoende zijn groeitesten gedaan met resp. 33, 330 en 3.300 microgram van 15 werkzame stoffen van gewasbeschermingsmiddelen per liter voedingsoplossing.

Tabel 5. Resultaten groeitest met een oplopende reeks van gewasbeschermingsmiddelen uitgedrukt als relatieve wortellengte t.o.v. de referentieoplossing.

Gewasbeschermingsmiddelen uit duurproef roos in febr. 2011 (15stoffen)	Referentie	Concentratie 100x	Concentratie 10x	Concentratie 1x
Tuinkers wortellengte	100%	110%	115%	113%
15 werkzame stoffen uit B-vuil drain	Standaard voedingswater, EC 1.3 pH 5.9			

### Toelichting op Tabel 5.

In geen van die testen werd groeiremming vastgesteld. Er leek zelfs een minimale verbetering in groei zichtbaar te zijn in alle drie de concentraties. Het verschil is niet groter dan 20% verbetering, dus is er geen betrouwbaar verschil in de fytoxttest aangetoond. Daarmee wordt de eerdere conclusie bevestigd (dat de oorsprong van groeiremming microbiologisch is).

### Proeven met gewasbeschermingsmiddelen in een groeitest met jonge komkommerplanten

Op basis van gemeten waarden in het eerste drainwater van diverse bedrijven in komkommer, tomaat en paprika zijn de volgende combinaties van gewasbeschermingsmiddelen vastgesteld. Met jonge komkommerplanten zijn groeiproeven gedaan naar het effect van deze residuen van gewasbeschermingsmiddelen op de groei van jonge planten in steenwolblokken.

Er is bewust gekozen om de middelen toe te voegen aan zeer jonge planten (10 dagen oud), omdat die meer gevoelig zijn voor groei-effecten dan pootbare planten zoals in de praktijk. Als er in jonge planten geen effect zichtbaar is, zijn de concentraties voor de groei van oudere planten niet schadelijk.

Totaal zijn er 8 behandelingen met elk 5 planten ingezet. De gekozen concentraties (1x is zoals in de praktijk gemeten in drainwater) en een tien keer zo hoge concentratie, voor komkommer, paprika en tomaat en voor twee concentraties methanol (zie Tabel 6). Methanol is toegevoegd als oplosmiddel voor de pure werkzame stoffen. Om uit te sluiten dat methanol de groei beïnvloedt is deze ook in de groeitest meegenomen (methanol had geen invloed op de resultaten).

Mix van stoffen/gewasbescherminngesmiddelen per gewas			
Mix uit komkommer		K 1x	K 10x
Stof	Middel o.a.	( $\mu\text{g/l}$ )	( $\mu\text{g/l}$ )
Abamectine	Vertimec	0,5	5
Imidacloprid	Admire	6	60
Spinosad	Tracer	6	60
Teflubenzuron	Nomolt	0,5	5
	som van stoffen	13	130
Mix uit paprika		P 1x	P 10x
stof	Middelen	( $\mu\text{g/l}$ )	( $\mu\text{g/l}$ )
Azoxystrobine	Ortiva	50	500
Imidacloprid	Admire	5	50
Methoxyfenozide	Runner	25	250
Pirimicarb	Pirimor	1	10
Spinosad	Tracer	2	20
	som van stoffen	83	830
Mix uit tomaat		T 1x	T 10x
Stof	Middelen	( $\mu\text{g/l}$ )	( $\mu\text{g/l}$ )
Abamectine	Vertimec	0,5	5
Bitertanol	Baycor	3	30
Boscalid	Collis	30	300
Flubendiamide	Fame	0,5	5
Imidacloprid	Admire	2,5	25
Methoxyfenozide	Runner	10	100
Pymetrozine	Plenum	15	150
Pyridaben	Carex	0,5	5
Pyrimethanil	Scala	10	100
Spinosad	Conserve	5	50
	som van stoffen	77	770
Oplosmiddel in mixen		M 1x	M 10x
Stof	Middel	( $\mu\text{g/l}$ )	( $\mu\text{g/l}$ )
Methanol	nvt	0,009%	0,09%

Tabel 6. Overzicht van de toegepaste middelen (uit drainwater van komkommer, paprika en tomaat) in een groeitest met jonge komkommerplanten.

Gedurende 12 dagen zijn steeds 5 planten blootgesteld aan de concentraties aan gewasbeschermingsmiddelen waarmee de steenwolkblokken verzadigd waren. Alle behandelingen zijn bij dezelfde voedingssamenstelling gegroeid.

Visueel gaven de planten geen verschil in kleur, ze leken dus niet beïnvloed te zijn door de gewasbeschermingsmiddelen in het substraat. In het gewas zijn de voedingselementen gemeten. In het gewas bleek de behandeling met 10x de concentratie aan gewasbeschermingsmiddelen niet significant afwijkend ten opzichte van de referentie zonder middelen. De opname en inbouw van voedingselementen wordt niet belemmerd door de gewasbeschermingsmiddelen in het substraat.

Tevens zijn de wortelbeelden onder het blok vastgelegd, daarin waren geen verschillen zichtbaar.

Plantgewicht van komkommer na 12 dagen groei	Vers		Droog		Herh. #
	gemiddelde (g)	%	gemiddelde (g)	%	
Referentie zonder GBM	30,4		2,3		n=6
GBM uit Komk conc.1x	28,1	92%	2,2	93%	n=5
GBM uit Komk conc.10x	32,0	105%	2,4	103%	n=5
GBM uit Paprika conc.1x	32,2	106%	2,4	104%	n=5
GBM uit Paprika conc.10x	26,9	88%	2,0	87%	n=5
GBM uit Tomaat conc.1x	31,1	102%	2,4	104%	n=5
GBM uit Tomaat conc.10x	31,4	103%	2,4	102%	n=5
Methanol 1x ref	29,9	98%	2,3	99%	n=5
Methanol 10x ref	31,1	102%	2,3	101%	n=5

Conclusie: Statistisch geen betrouwbare verschillen  
In grijs de trends ter indicatie bij >5% verschil t.o.v. de referentie

Tabel 7. Resultaten groeitest met mix van middelen van 3 gewassen toegediend in 2 concentraties.

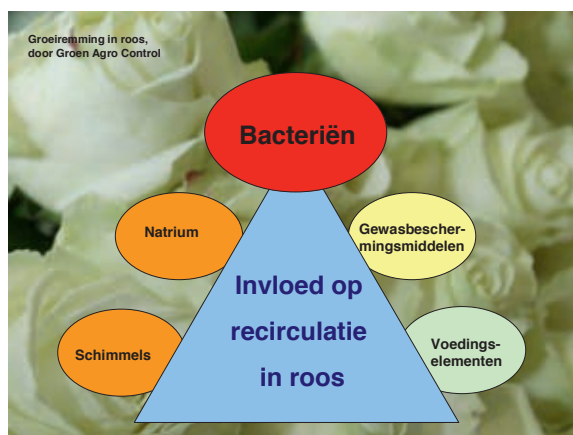
Na 12 dagen groei zijn de planten nét boven het blokkoppervlak afgesneden en is het vers- en het drooggewicht bepaald. Statistisch waren er geen betrouwbare verschillen. Twee behandelingen leken als trend iets slechtere groei te geven, dat zijn Paprika10x en Tomaat1x. En twee behandelingen leken als trend iets betere groei te geven, dat zijn Komk10x en Paprika1x. De resultaten van alle behandelingen staan in tabel 7 (Plantgewicht van komkommer na 12 dagen groei).

Omdat de proef statistisch niet betrouwbaar bleek is er geen uitsluitsel of gewasbeschermingsmiddelen in water tijdens de start van de teelt groeibeperking geeft. Toch lijkt het aannemelijk dat de voorkomende concentratie in de praktijk van paprika en tomaat (1x behandelingen) geen belemmering zijn voor de groei.

#### 2.2.1.4 Conclusies

##### Conclusies

Door Groen Agro Control is met trapsgewijze scheidingen en analyses van drainwater uit de duurpoef roos gezocht naar de oorzaak van groeiremming (zie Figuur 4.). Aangetoond is dat groeiremming in het drainwater vooral veroorzaakt werd door een microbiologische factor, zeer waarschijnlijk van bacteriologische oorsprong. Gewasbeschermingsmiddelen in het drainwater in concentraties die overeenkomen met praktijksituaties blijken in de groeitesten de groei niet te remmen. Door water met groeiremming zoals voorkwam in de duurproef roos te ontsmetten volgens bestaande technieken in de praktijk (UV, ozon, verhitten) wordt de groeiremmende factor uitgeschakeld.



Figuur 4. Schematisch overzicht van de factoren die de kwaliteit van het recirculatiewater beïnvloeden en mogelijk tot groeiremming leiden.

## 2.2.2 Zuurstofmetingen wortelmilieu en water

### 2.2.2.1 Hypothese

De wortelzone is gedurende de teelt constant aan verandering onderhevig. Wortels worden gevormd maar verliezen naar verloop van tijd hun functie en verkurken of sterven af. Organisch materiaal hoopt zich gedurende de teelt op en ook micro-organismen zullen zich vestigen. Ook de structuur van het teeltsubstraat zal in de loop der tijd veranderen onder invloed van wortelgroei wat op zijn beurt ook weer invloed heeft op de waterhuishouding in de mat. Al deze processen (Figuur 5.) hebben ook weer invloed op het metabolisme van zowel de wortels als de micro-organismen.



Figuur 5. Relatie tussen zuurstof en overige factoren. Een rode pijl geeft een negatief verband aan en een groene pijl een positief verband. Een hogere temperatuur leidt bijv. tot een hogere wortelactiviteit (groene pijl) en een lager zuurstofgehalte (rode pijl)

Micro-organismen vestigen zich niet alleen in de mat maar in de gehele keten van aanvoer- en retourleidingen en de (dag) voorraad. Zowel in de mat als in de rest van de keten zullen voedingsstoffen worden gemetaboliseerd (omgezet zodat energie vrij komt) waarbij zuurstof verbruikt wordt en metabolieten (afval- en bijproducten van het metabolisme) vrijkomen. Zeker onder zuurstofarme condities kunnen metabolieten worden gevormd die ongunstig zijn voor groei van het gewas en dus groeiremming kunnen veroorzaken.

Door de zuurstofconcentratie op een aantal belangrijke posities in de keten constant te bewaken kunnen we zien of:

1. De zuurstofconcentratie niet te laag wordt waardoor mogelijk groeiremmende metabolieten worden gevormd of zuurstofstress optreedt bij het gewas
2. Er veranderingen optreden in de zuurstofprofielen (verloop van de zuurstofconcentratie in de tijd) die een indicatie kunnen geven dat in het metabolisme van gewas of micro-organismen veranderingen zijn opgetreden.

### 2.2.2.2 Aanpak/activiteiten

We verwachten dat er een verband kan worden gevonden tussen groeistagnatie en veranderingen in het metabolisme van gewas en micro-organismen. Deze veranderingen kunnen zichtbaar worden gemaakt middels zuurstofconcentratieprofielen. Hieruit volgende zuurstofstressprofielen zouden als vroege indicator voor groeiremming kunnen dienen nog voor dit aan het gewas zichtbaar is. Hierdoor kan mogelijk preventief worden opgetreden in plaats van curatief, wanneer de groeiremming al is opgetreden.



### 2.2.2.3 Inrichting proef

#### Meetopstellingen

Meetopstellingen zijn geplaatst in de drie proefvakken A,B en C van het KRW werkpakket 1 (zie hoofdstuk 2.1)

- A. Controle (Teler)
- B. Volledige recirculatie met UV-ontsmetter
- C. Volledige recirculatie met UV-ontsmetter en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-dosering

In elk proefvak is in twee matten gemonitord. Per mat zijn 6 zuurstofsensoren ingestoken onderin de mat. Per proefvak zijn 2 meetcuvetten geplaatst waarin druppelwater werd opgevangen waarin het zuurstofgehalte werd gemeten. Een meetcuvet bevat 15 ml t.b.v. druppelwateropvang. Aangezien een druppelbeurt 10x zo groot is als het meetvolume van de cuvet wordt deze volledig doorgespoeld en opnieuw gevuld na elke druppelbeurt. Het drainwater wordt direct onder de goot bij de drainafvoer opgevangen in cuvetten van 50 ml. Ook hier wordt met 2 sensoren het zuurstofgehalte bewaakt.

Samengevat:

Aantal meetmatten per proefvak: 2

Aantal zuurstofsensoren per mat: 6

Aantal zuurstofsensoren bij druppelwateropvang: 2

Aantal zuurstofsensoren bij drainwateropvang: 2

Elke 15 minuten is het zuurstofgehalte gemeten. Ter controle is ook het watergehalte in de mat bepaald aangezien het zuurstofgehalte in de mat sterk wordt beïnvloed door het watergehalte. Ook is tegelijk met elke zuurstofmeting de mattemperatuur bepaald.

#### Meetprincipe

De zuurstofmetingen zijn uitgevoerd met optische sensoren. Dit type sensoren verbruikt zelf geen zuurstof tijdens de meting. De zuurstofmeting vindt plaats aan het oppervlak aan het uiteinde van een optische fiber (Figuur 6.). Aangezien de zuurstofgehalten in een mat lokaal sterk kunnen verschillen zijn meerdere sensoren (6) per mat geplaatst om een goed beeld te verkrijgen van de verdeling van zuurstof in de mat.



Figuur 6. Meetopstelling met optische zuurstofsensoren.

### Definitie van zuurstofstress

De zuurstofconcentratie in de mat wordt bepaald door de aanvoer van zuurstof van buitenaf en verbruik van zuurstof in de mat. De aanvoer van zuurstof gebeurt bij een correcte watergiftstrategie voor ca. 90% via de poriën in het substraat en voor ca. 10% via het druppelwater. Zuurstof wordt verbruikt door zowel wortels als micro-organismen. Daarnaast spelen ook temperatuur, matleeftijd, matstructuur en watergiftstrategie een belangrijke rol. In Figuur 5. is aangegeven welke factoren effect hebben op de zuurstofconcentratie en hoe deze factoren op elkaar ingrijpen.

Met name overdag, wanneer de temperatuur hoger is, de mat natter en de wortels actief, is de kans op lagere zuurstofwaarden in de mat hoger. Wanneer de zuurstofconcentratie op een bepaalde plek in de mat onder de 5% daalt (< 2 - 2,5 mg/l) dan zullen de wortels die op deze plek groeien stress ondervinden en zullen afhankelijk van hoe laag de zuurstofconcentratie is, geen voedingsstoffen meer kunnen transporteren. In ernstige gevallen, wanneer een groot deel van de mat zuurstofarm is, kan dit leiden tot groeiremming

Om de invloed van zuurstofconcentratie aan groeiremming te relateren wordt gewerkt met de zuurstofstressfactor. Deze factor wordt berekend door op 6 posities in de mat gedurende het etmaal alle zuurstoftekorten van alle metingen (4 metingen per uur, gemeten waarden kleiner dan 5% zuurstof) te sommeren. De stresswaarden in de drie proefvakken worden vervolgens met elkaar vergeleken.

### 2.2.2.4 Resultaten

#### Metingen aan het druppelwater

In de zuurstofgehalten in het druppelwater zijn vrij grote verschillen aangetoond. Opvallend was dat met name proefvak B (100% recirculatie en UV) een duidelijk lager O<sub>2</sub>-gehalte in het druppelwater liet zien. Gedurende enkele dagen in februari 2011 was het druppelwater zelfs bijna zuurstofloos. Het druppelwater uit het proefvak met waterstofperoxide liet de hoogste zuurstofwaarden zien.

Tabel 8. Gemiddeld zuurstofgehalte in druppelwater.

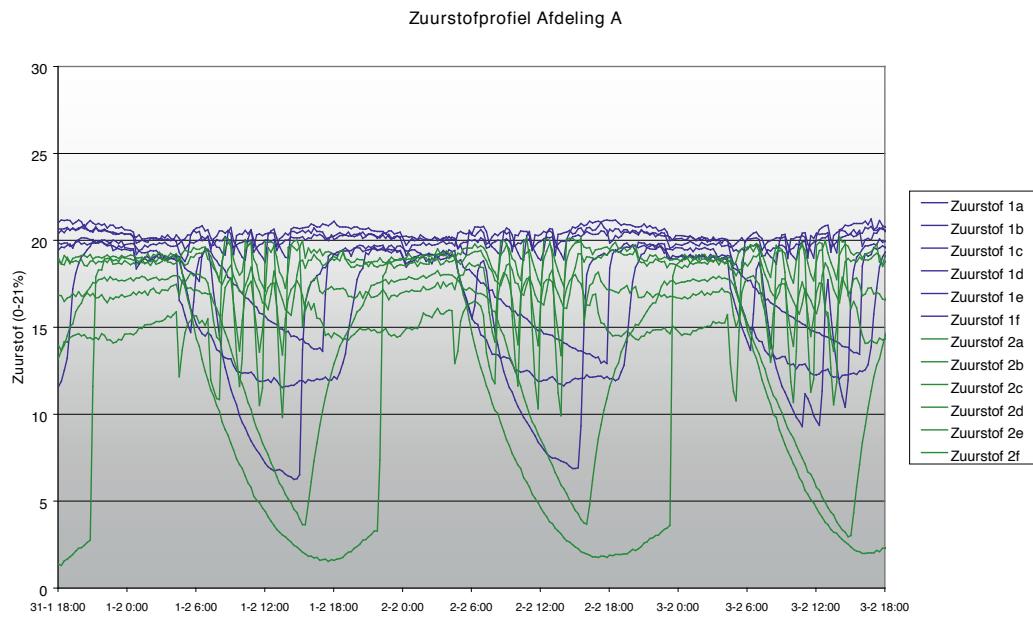
Proefvak	Okt - Dec. 2010	Dec - Mrt 2011	Mrt - mei 2011	Mei - Aug 2011	Aug - Okt 2011	Okt - Dec 2011
A (Teler)	10%	7-10%	9-14%	6-10%	2-10% *	4-6%
B (recirculatie + UV)	3-5%	2-5%	3-5%	4-9%	4-8%	4-7%
C (recirculatie + UV + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	14-15%	8 - 14%	7-12%	9-14%	9-14%	9-14%

\*Tussen 10 en 17 augustus is het zuurstofgehalte in het druppelwater zeer laag geweest (iets onder 2%)

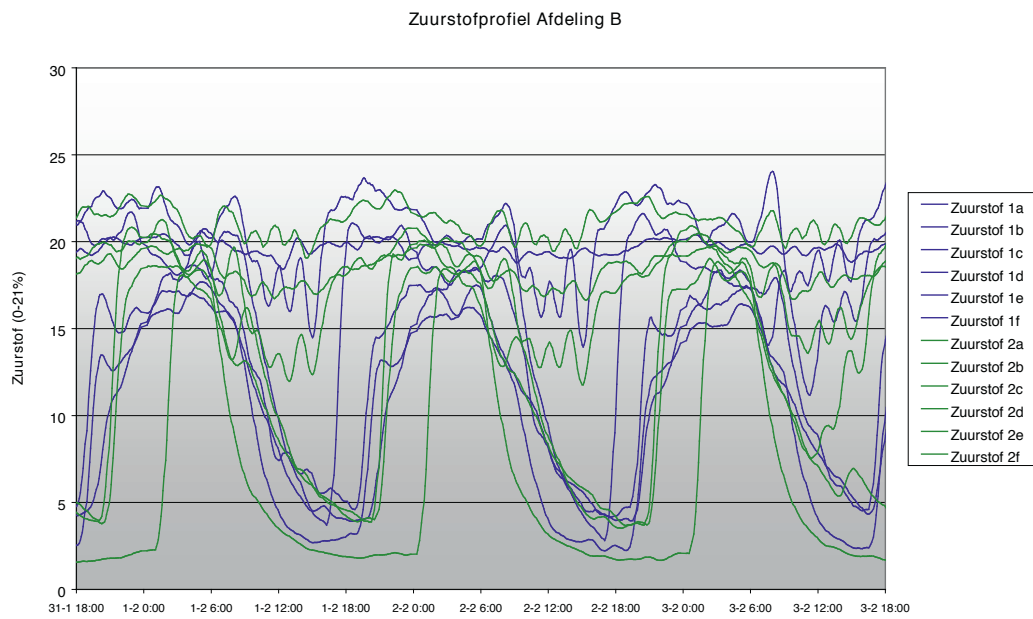
#### Metingen in de mat

In alle proefvakken worden gebruikelijke zuurstofprofielen gemeten. Dit houdt in dat overdag, naarmate de mat natter wordt, de temperatuur stijgt en ook de wortelactiviteit toeneemt het zuurstofgehalte in de mat op meerdere posities daalt. Aan het eind van de dag draait dit patroon om. De mat wordt droger, de temperatuur daalt en ook de wortelactiviteit zakt waardoor de zuurstofgehalten weer stijgen. Figuur 7. toont ter illustratie een zuurstofprofiel over 3 dagen in proefvak A (teler). We zien hier het zuurstofconcentratieverloop over een periode van 3 dagen bij de 12 ingestoken sensoren. De blauwe lijnen laten het verloop zien in de eerste proefmat in proefvak A, de groene lijnen tonen het verloop in de tweede proefmat. De grens waarop het gewas daadwerkelijk last krijgt van zuurstoftekort ligt bij ca. 5% ofschoon soms ook uitgegaan wordt van 10%.

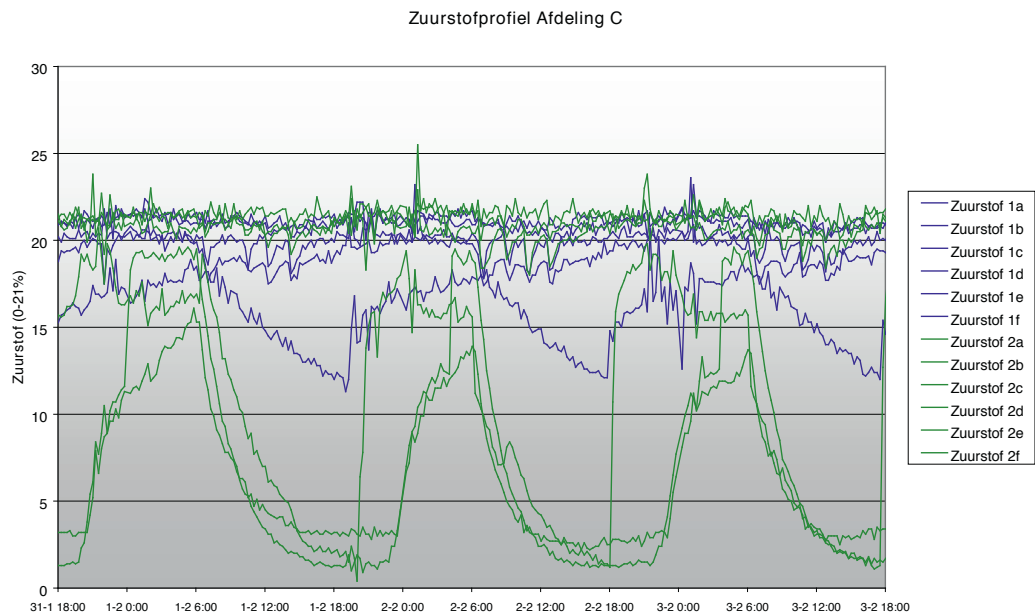
Voor het berekenen van de zuurstofstressfactor gaan we uit van de grens van 5%. We zien dat in één van de 2 matten op 2 posities tussen ca. 12:00 e middernacht zuurstofstress optreedt.



Figuur 7. Zuurstofprofiel over een periode van 3 dagen in de mat bij proefvak A.

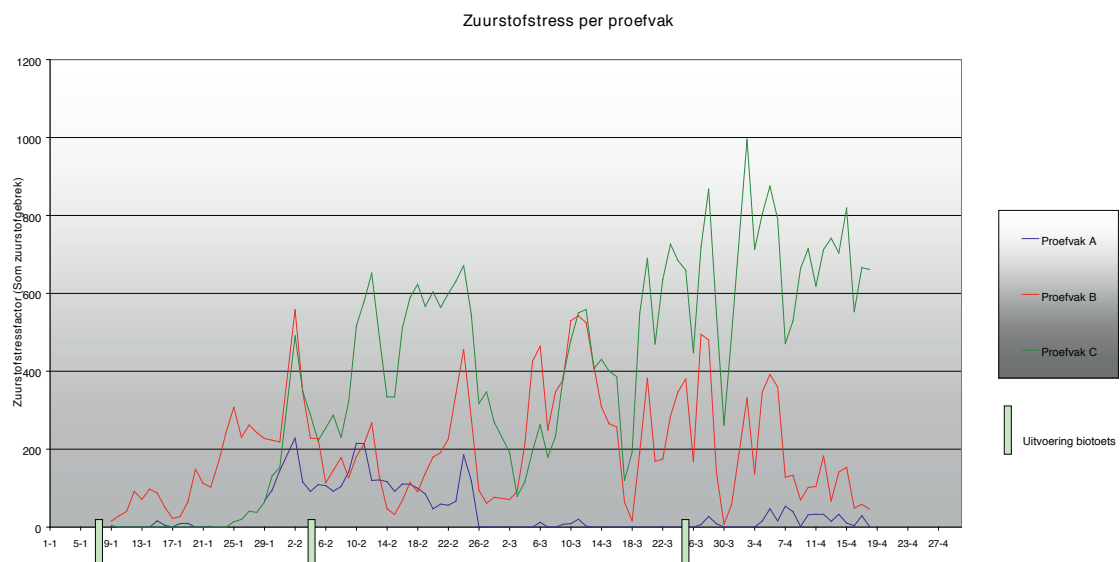


Figuur 8. Zuurstofprofiel over een periode van 3 dagen in de mat bij Proefvak B.



Figuur 9. Zuurstofprofiel over een periode van 3 dagen in de mat bij proefvak C.

In proefvak C maar met name in proefvak B (Figuur 8. en 9.) zien we dat op meer posities dan in proefvak A zuurstoftekort optreedt. Dit zien we ook terug in de zuurstofstressberekeningen (Figuur 10.) waarin kan worden afgelezen dat de zuurstofstress in de periode 31 januari t/m 3 februari hoger is in proefvak B en C ten opzichte van de stress in proefvak A. In deze grafiek zijn tevens de monsterdata van de biotoetsen aangegeven. Voorafgaand aan de monsterdatum 7 januari zien we in geen van de proefvakken zuurstofstress optreden maar er wordt wel groeiremming waargenomen in de biotoets. In de periode voorafgaand aan 4 februari treedt wel zuurstofstress op in alle proefvakken. In de biotoets van 4 februari wordt in alle proefvakken groeiremming waargenomen. In de biotoets van 25 maart wordt alleen groeiremming waargenomen in de monsters uit proefvak B en C. In de periode voorafgaand aan 25 maart zien we zuurstofstress optreden in proefvak B en C maar niet in proefvak A.

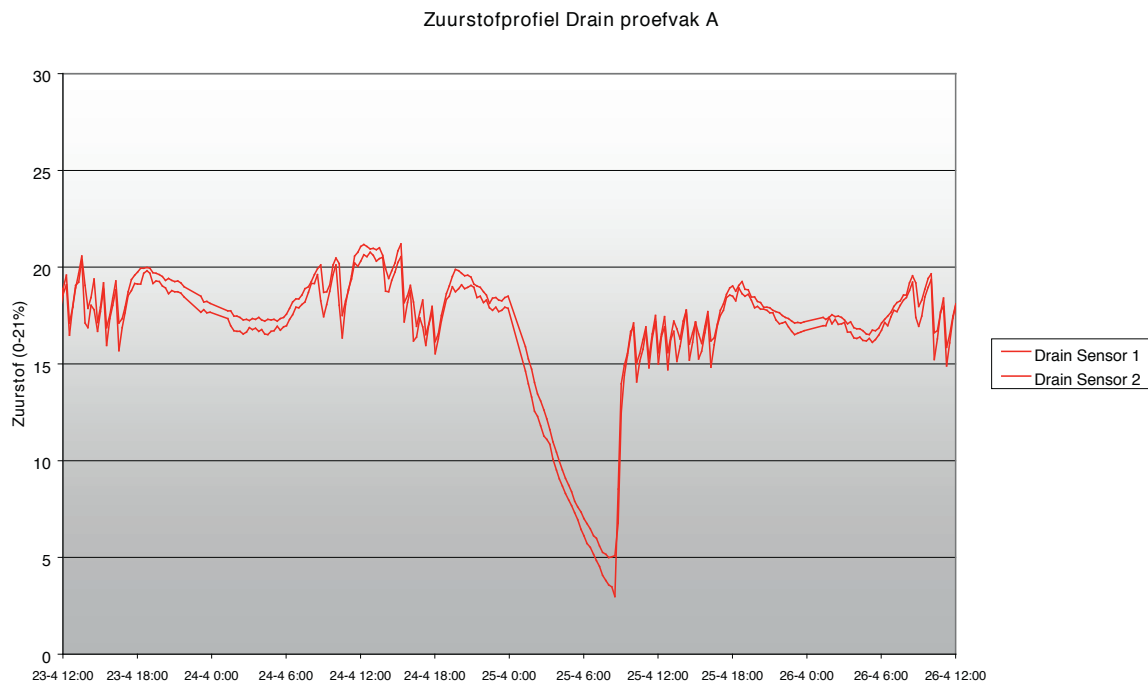


Figuur 10. Berekening van zuurstofstress aan de hand van zuurstofprofielen uit de 3 proefvakken.

### Metingen aan het drainwater

Het opgevangen drainwater bevat in alle proefvakken bijna altijd meer dan 15% zuurstof. In de zuurstofprofielen zijn de watergiften goed zichtbaar. Er is echter nooit enig verband gevonden tussen zuurstofconcentraties in het drainwater

en zuurstofstress in de mat. Ook zijn er geen verbanden gevonden tussen de waarnemingen in de biotoetsen en zuurstofprofielen van het drainwater. Opvallend was dat op enkele dagen (gemiddeld 1x per 2 maanden) een hoog zuurstofverbruik in de meetcuvet van het drainwater werd waargenomen. Figuur 11. laat ter illustratie op 25 april een scherpe daling van het zuurstofgehalte zien. Dit betekent dat het zuurstofverbruik in de open, aan lucht blootgestelde draincuvet, hoger was dan de diffusie van zuurstof naar het drainwater in de cuvet vanuit de lucht. Dit hoge verbruik wordt vrijwel zeker veroorzaakt door een sterk verhoogd metabolisme in het drainwater in de draincuvet. Dit verhoogde metabolisme kan verklaard worden door een hoge concentratie van bacteriën of schimmels maar kan ook verklaard worden door een toegenomen concentratie van de voedingsbron voor deze bacteriën en schimmels. Deze scherpe dalingen zijn verder niet gerelateerd aan waargenomen groeiremming in het gewas. Er zijn geen biotoetsen uitgevoerd op data waar deze dalingen voorkwamen.



Figuur 11. Zuurstofprofiel drainwater met afwijkende waarden op 25 april.

## 2.2.2.5 Conclusies

### Relatie met groeiremming

Tijdens de gehele anderhalf jaar durende meetcampagne is er geen groeiremming gesignaleerd in het gewas. Hierdoor is het vrijwel onmogelijk om aan de hand van de meetdata een verband te vinden tussen groeiremming in het gewas roos en zuurstofprofielen in druppel-, mat- en drainwater. Wel is een aantal maal in de winter/voorjaar van 2011 groeiremming aangetoond in de biotoetsen. Hier leek zich een relatie af te tekenen tussen zuurstofstresswaarden in de mat en groeiremming in de biotoetsen. Dit zagen we met name op 25 maart 2011 waarbij er zuurstofstress en groeiremming in de biotoets wordt gedetecteerd in proefvak B en C maar niet in A.

### Zuurstofwaarden in druppelwater

De verschillen tussen de zuurstofconcentraties in het druppelwater van proefvak B en C zijn groot (onder de 5% vs boven de 10%). Dit is ook te verwachten aangezien de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-proefvak (C) de groei van micro-organismen in de leidingen zal onderdrukken. We zien echter ook dat de soms zeer lage zuurstofconcentraties in het druppelwater geen groeiremming veroorzaken in het gewas. Dit betekent niet dat lage zuurstofconcentraties in het druppelwater per definitie onschadelijk zijn maar toont wel aan dat er geen verband is tussen de zuurstofconcentratie in het druppelwater en groeiremming. Zuurstofmonitoring in het druppelwater lijkt als tool om groeiremming te kunnen voorspellen niet bruikbaar.

### **Zuurstofmetingen in de mat**

Gedurende de eerste maanden van de meetcampagne (september tot januari 2010) is geen zuurstofstress waargenomen in de mat. In dezelfde periode laten ook de biotoetsen geen groeiremming zien. In de winter en het voorjaar van 2011 zien we voor het eerst zuurstofstress optreden in de mat. In deze periode is ook een aantal malen groeiremming gedetecteerd in de biotoets. Opvallend is vooral het resultaat van de biotoets van 25 maart 2011. Hierbij zien we bij tuinkers een groeiremming optreden in proefvak B en C, maar niet in A. In de weken voorafgaand aan 25 maart zien we zuurstofstress in B en C maar eveneens niet in A. Op 4 februari zien we in de biotoets in alle proefvakken groeiremming. In de dagen voorafgaand aan de toets zien we, met name op 2 februari zuurstofstress optreden, eveneens in alle proefvakken. De biotoets van 7 januari laat echter ook groeiremming zien maar voorafgaand aan 7 januari is geen zuurstofstress waarneembaar in de mat.

Zuurstof stress is mogelijk een indicator voor groeiremming. Echter om een uitspraak te kunnen doen over zuurstofstress in de mat als indicator voor groeiremming is het noodzakelijk dat er niet alleen in de biotoets maar juist ook in het gewas groeiremming optreedt. Gedurende de gehele meetcampagne heeft echter geen groeiremming plaatsgevonden. Hierdoor kunnen er nog geen conclusies worden getrokken over de mogelijke toepassing van zuurstofstressmetingen als indicator voor groeiremming in het gewas. Zuurstofstress wordt nu nog uitgedrukt in een arbitraire waarde. Metingen aan een gewas waar wel groeiremming optreedt zijn noodzakelijk om de wegingsfactoren waaruit deze waarde is opgebouwd (mate van zuurstoftekort, verdeling over de mat van zuurstoftekort en duur van zuurstoftekort) beter te kunnen bepalen.

### **Zuurstofmetingen in het drainwater**

In het drainwater is geen verband gevonden tussen zuurstofconcentraties en de resultaten van de biotoetsen. Wel zien we af en toe vooral bij de teler (vak A) sporadisch gedurende korte tijd significant verlaagde zuurstofwaarden. Er is echter geen verband tussen deze verlaagde waarden en zuurstofstress in de mat of groeiremming in de biotoetsen.

### **Eindconclusie**

Gedurende de proeven is zo nu en dan in de mat zuurstofstress opgetreden. Aangezien de productie aan rozen in de duurproef gedurende anderhalf jaar niet verschillend was kan niet aangegeven worden of zuurstofstress een geschikte indicator of voorspeller is voor groeiremming in het gewas. Het is mogelijk dat er geen verband is tussen zuurstofstress in de wortelzone en (voorspelling van) groeiremming. Het is echter mogelijk dat de gemeten zuurstofstress te gering is om groeiremming te veroorzaken of een aanstaande groeiremming te voorspellen.

## **2.2.3 Metingen licht-benuttingsefficiëntie**

### **2.2.3.1 Hypothese**

Om te onderzoeken of op gewasniveau gedetecteerd kan worden wanneer groeiremming plaats vindt, zijn er metingen gedaan van Licht-BenuttingsEfficiëntie (LBE) met behulp van chlorofyl fluorescentie aan bladeren van roos. Met behulp van chlorofyl fluorescentie kan de zogenaamde operating efficiency van fotosysteem II bij een bepaalde lichtniveaus gemeten worden ( $F_q'/F_m'$ ). Deze chlorofyl fluorescentie parameter geeft informatie over de staat van de fotosystemen van het gewas, die aan de basis staan van de fotosynthese. Hypothese is dat bij het optreden van groeiremming bij roos, de fotosynthese van het blad geremd zal worden en zodoende de staat van de fotosystemen zal veranderen.



### 2.2.3.2 Aanpak/activiteiten

- De LBE metingen zijn gedaan op verschillende dagen aan bladeren van scheuten in de drie behandelingen A, B en C bij het rozenbedrijf van de duurproef. Er zijn metingen uitgevoerd op respectievelijk: 22 oktober 2010, 18 november 2010, 17 februari 2011, 11 maart 2011 en 6 mei 2011.
- Gedurende een dag zijn in alle drie de behandelingen LBE metingen gedaan, aan de planten op substraatmatten waarbij ook zuurstof gemeten is (door Fytagoras).
- Aan de hand van LBE metingen is getracht te bepalen in hoeverre groeiremming, zoals bepaald met behulp van de fytotox-kit en zuurstof-metingen, een detecteerbaar effect heeft op de fotosynthese en zodoende of dit met behulp van chlorofyl fluorescentie parameter voor LBE een indicator kan vormen voor deze groeiremming in roos.

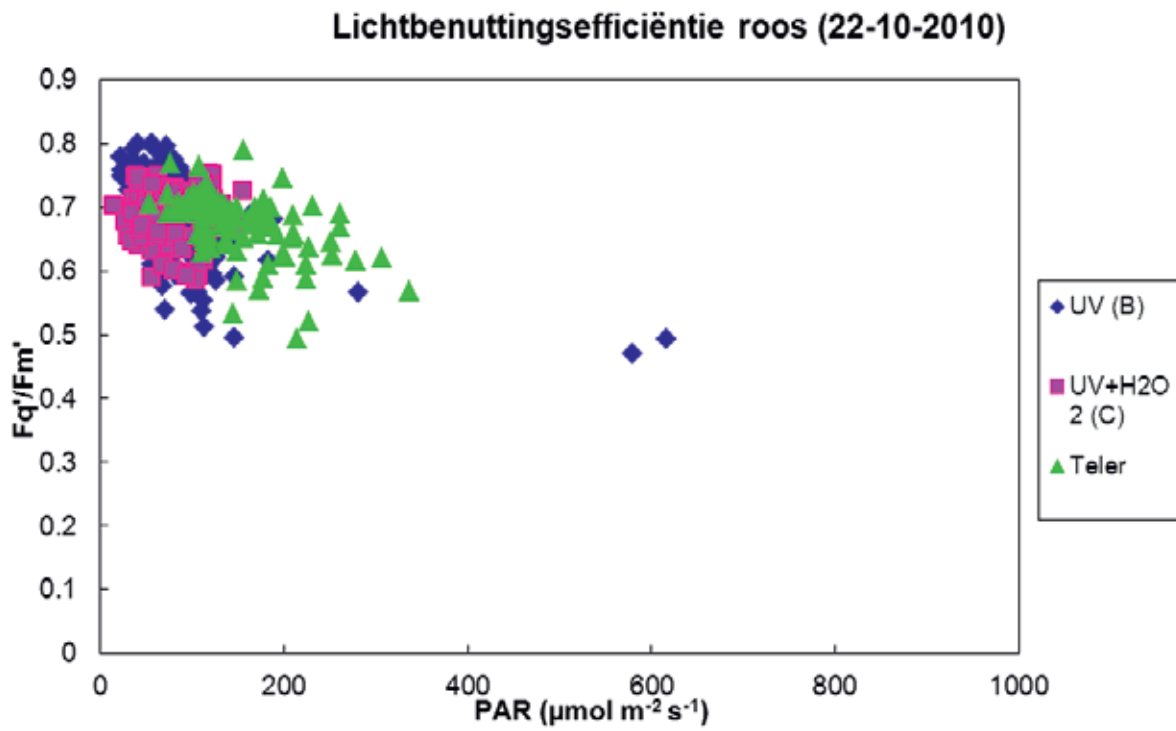
### 2.2.3.3 Resultaten

Aan de hand van de gemeten LBE, weergegeven als de chlorofyl fluorescentie parameter  $Fq'/Fm'$  uitgezet tegen de lichtintensiteit, was te zien dat er vrijwel geen verschil te vinden was tussen de gegeven behandelingen van 22 oktober 2010 tot en met 17 februari 2011. De gemeten  $Fq'/Fm'$  waren vergelijkbaar tussen alle behandelingen, zoals te zien in onderstaande figuren 12 t/m 14. Deze metingen van LBE gaven geen aanleiding om te veronderstellen dat er detecteerbare veranderingen tussen behandelingen waren opgetreden.

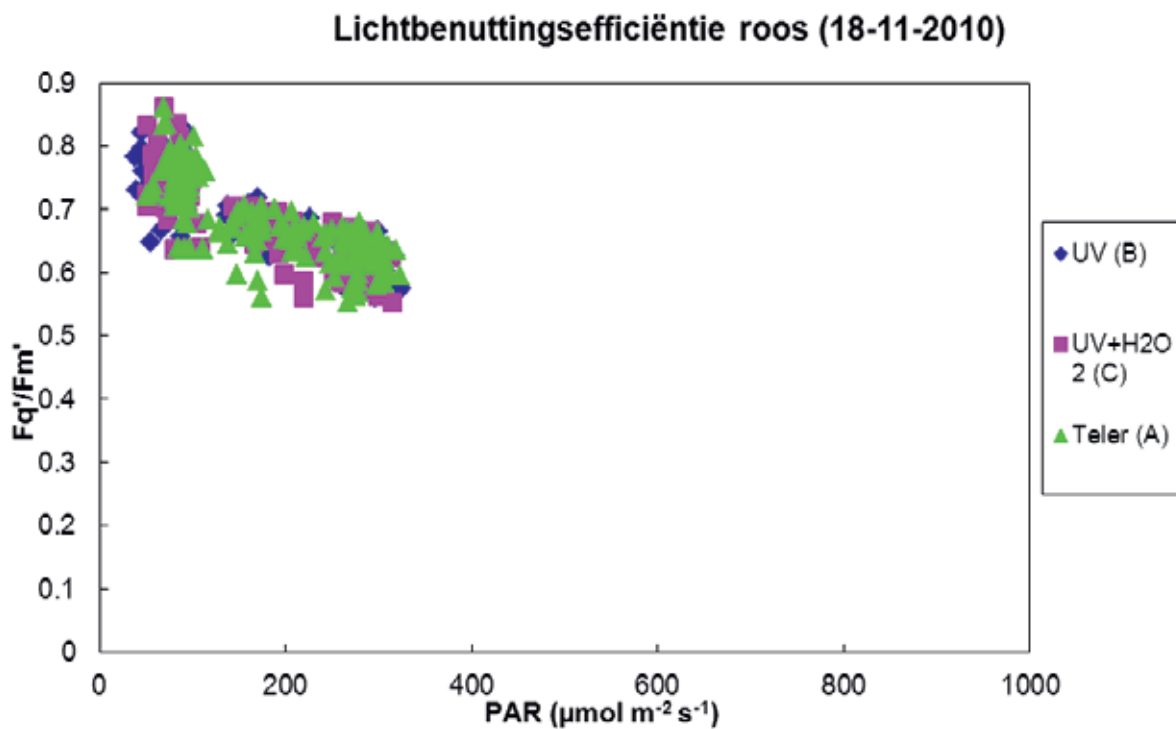
De LBE metingen op 11 maart 2011 lieten een ander beeld zien (Figuur 15.). Bij deze metingen is te zien dat de gemeten  $Fq'/Fm'$  in behandelingen UV (B) en UV+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (C), over een groot deel van de hogere lichtintensiteiten lager liggen dan die in de behandeling Teler. Een lagere  $Fq'/Fm'$  duidt op een lagere LBE en daarmee mogelijk een effect van groeiremming. Echter, bij de LBE metingen op 6 mei 2011 waren de eerder gevonden verschillen weer verdwenen; de gemeten  $Fq'/Fm'$  waarden waren niet verschillend tussen de behandelingen (Figuur 16.). In de periode rond 11 maart 2011 waren er aanwijzingen dat er groeiremming zou kunnen zijn opgetreden.

Aangezien er slechts één maal een verschil is gevonden tussen de behandelingen voor LBE (11 maart 2011), blijft het onduidelijk of dit verschil verband houdt met groeiremming. Het is in principe mogelijk dat lokale verschillen in de lichtintensiteit die het gewas ontvangt op verschillende plekken in de kas de oorzaak zijn van de gevonden LBE verschillen. De behandelingen liggen immers in verschillende vakken verspreid over de kas. Om uit te sluiten dat de waargenomen verschillen in LBE door een verschil aan licht intensiteit op het gewas zijn veroorzaakt, zijn extra metingen gedaan. Bij deze metingen is het PAR lichtniveau bepaald over het deel van het pad waarin ook de LBE metingen zijn gedaan. In Figuur 17. is te zien dat er slechts kleine verschillen gevonden werden, die niet significant verschillend waren, in de PAR lichtniveaus tussen de verschillende behandelingen. Het lijkt daarom niet waarschijnlijk dat de gevonden verschillen in gemeten LBE op 11 maart 2011 hierdoor zijn veroorzaakt.

In de periode na 6 mei 2011 is er in geen van de behandelingen groeiremming gevonden, waardoor het niet mogelijk was de metingen met en zonder groeiremming te herhalen en vast te stellen of metingen van LBE in direct verband gebracht kunnen worden.

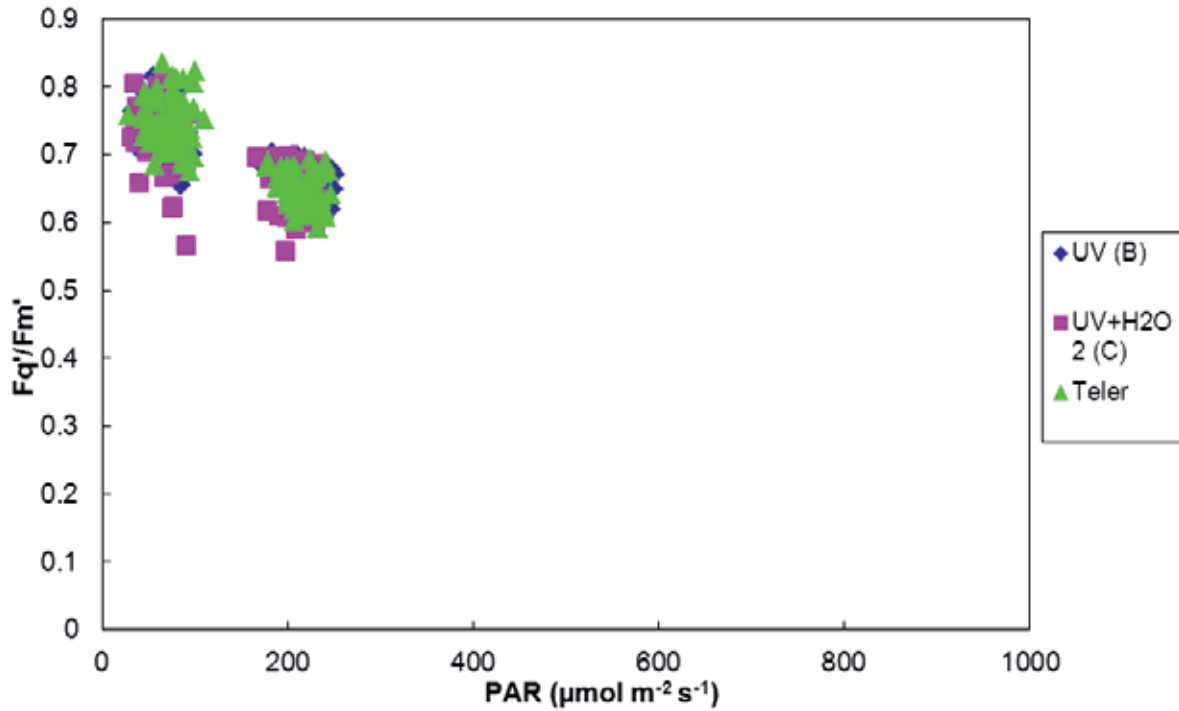


Figuur 12. Resultaten metingen lichtbenuttingsefficiëntie in de behandelingen A (=teler), B en C op 22-10-2010.



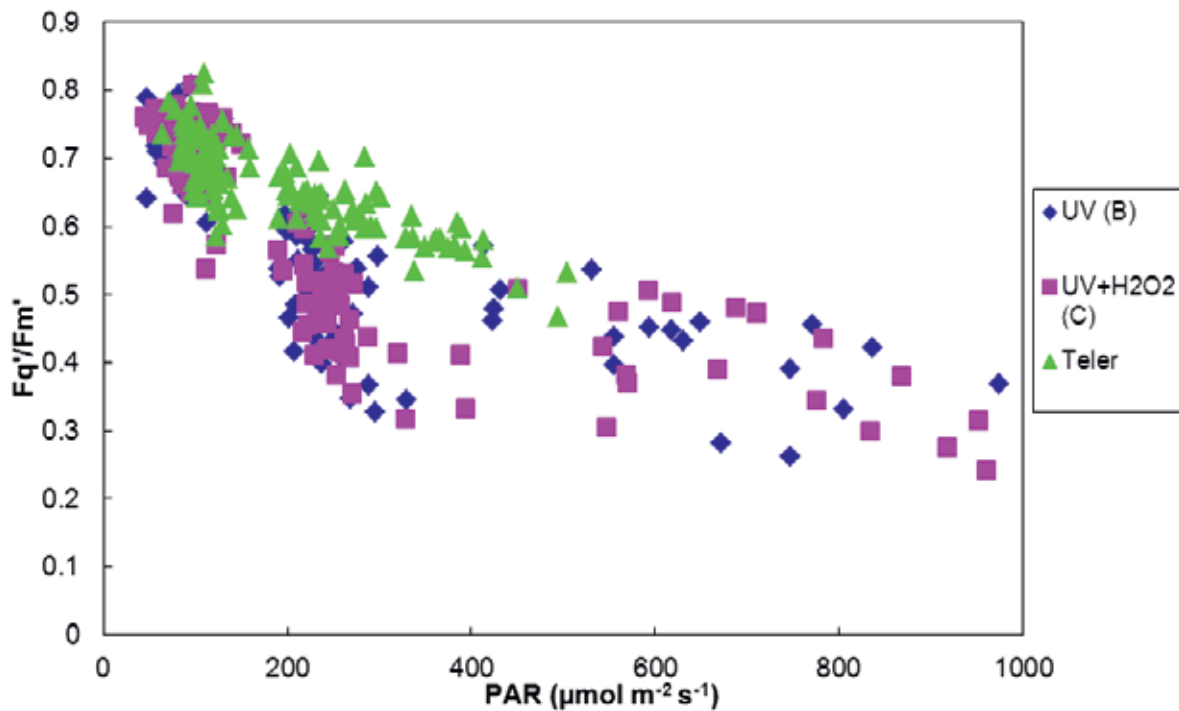
Figuur 13. Resultaten metingen lichtbenuttingsefficiëntie in de behandelingen A (=teler), B en C op 18-11-2010.

### Lichtbenuttingsefficiëntie roos (17-02-2011)



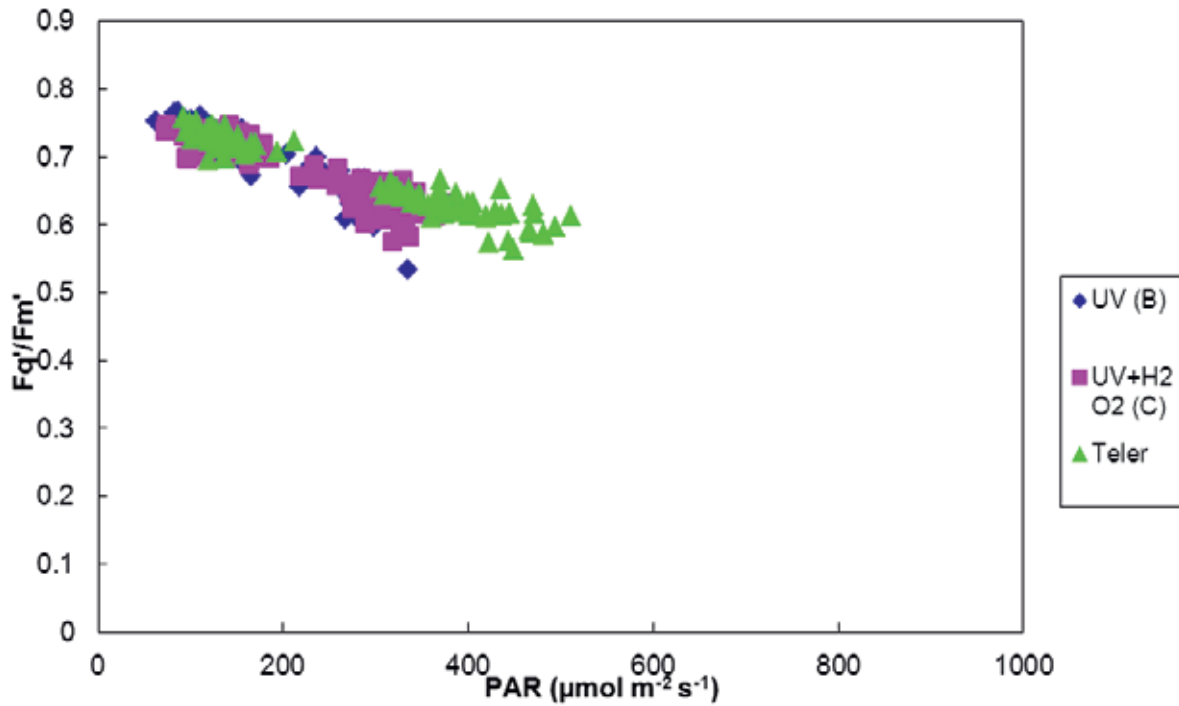
Figuur 14. Resultaten metingen lichtbenuttingsefficiëntie in de behandelingen A (=teler), B en C op 17-02-2011.

### Lichtbenuttingsefficiëntie roos (11-03-2011)

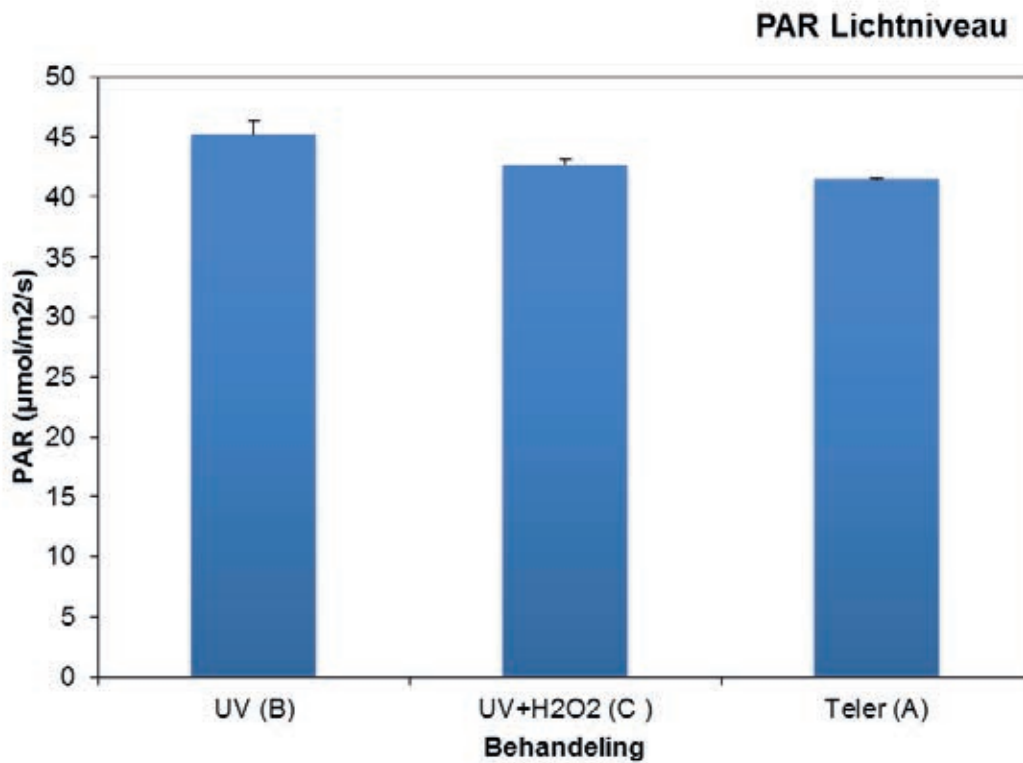


Figuur 15. Resultaten metingen lichtbenuttingsefficiëntie in de behandelingen A (=teler), B en C op 11-03-2011.

### Lichtbenuttingsefficiëntie roos (06-05-2011)



Figuur 16. Resultaten metingen lichtbenuttingsefficiëntie in de behandelingen A (=teler), B en C op 06-05-2011.



Figuur 17. Gemeten PAR-lichtniveau's in het gewas in de verschillende behandelingen.

#### 2.2.3.4 Conclusies

Er zijn één maal duidelijke verschillen in LBE tussen de behandelingen gevonden rond de periode dat er aanwijzingen voor groeiremming zijn gevonden uit andere metingen. Echter, er is geen tweede maal groeiremming gevonden in de looptijd

van het project. De metingen van LBE konden hierdoor niet worden herhaald bij een gewas met groeiremming. Hoewel er in dit project aanwijzingen zijn gevonden dat groeiremming met behulp van LBE te meten zou kunnen zijn, kan niet met zekerheid vastgesteld worden of door meting van LBE bovengronds groeiremming vastgesteld kan worden. Verder onderzoek is nodig om dit vast te stellen.

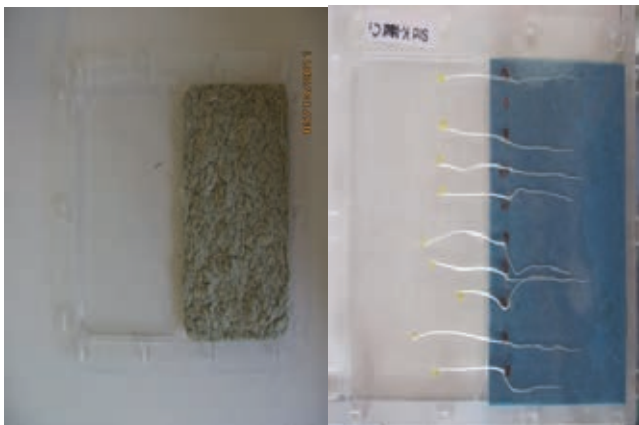
## 2.3 Ontwikkeling snelle meetmethode

### 2.3.1 Doel

Doel van dit onderdeel was het verzamelen van informatie waarmee een snelle en meer verfijnde detectiemethode kan worden ontwikkeld voor de groeiremmende factor(en).

### 2.3.2 Aanpak

Bij de huidige methode wordt gebruik gemaakt van een testmethode met de fytotoxkit (Figuur 18.). Hierbij wordt de onderste helft van het kitje handmatig gevuld met een vaste hoeveelheid steenwolgranulaat. Het steenwolgranulaat en het zaadtestpapier wordt bevochtigd met de te testen oplossing en tien tuinkers of mosterdzaden worden op het zaadtestpapier gelegd. Na een incubatieduur van drie dagen bij 25 °C wordt de wortellengte van de testgewassen gemeten. Standaard worden per behandeling vier fytotoxkits ingezet (dus 40 zaden).



*Figuur 18. De huidige testmethode met de fytotoxkit. Links een met steenwolgranulaat gevulde fytotoxkit, rechts een met steenwolgranulaat gevulde fytotoxkit met daarbovenop zaadtestpapier en tuinkers kiemplanten na drie dagen incubatie.*

#### **Verkorten incubatieduur**

Als eerste stap is getest of de test betrouwbaar uit te voeren is bij een kortere incubatieduur van twee in plaats van drie dagen.

#### **Alternatieve uitvoering zonder steenwolgranulaat**

Daarnaast is gezocht naar een alternatief testsysteem. Het handmatig vullen van de fytotoxkit met steenwolgranulaat is tijdrovend en bovendien zal hierdoor variatie tussen de kitjes ontstaan. Door het steenwolgranulaat weg te laten, zal de methode goedkoper worden en kan de nauwkeurigheid van de methode verbeteren. Omdat de fytotoxkit zich niet leent voor gebruik met alleen zaadtestpapier, is gezocht naar alternatief voor de fytotoxkit. Het alternatieve testsysteem is uitgetoetst met het groeiremmende middel trichloorazijnzuur (TCA) en drainwater van verschillende bedrijven.

## 2.3.3 Resultaat

### Verkorten incubatieduur

Bij een standaard behandeling (komkommervoeding) waren de wortels van tuinkers na twee dagen gemiddeld 21 mm en na drie dagen 44 mm lang. Bij mosterd was de gemiddelde wortellengte na twee dagen 27 mm en na drie dagen 52 mm. De wortellengte na twee dagen was dusdanig kort, dat dit het onderscheidend vermogen van de test sterk zal verminderen. Een incubatieduur van twee dagen lijkt daarom niet haalbaar. Een intermediaire tijdsduur zou een oplossing kunnen bieden, maar is praktisch gezien niet de meest ideale oplossing.

### Alternatieve uitvoering zonder steenwolgranulaat - met groeiremmer TCA

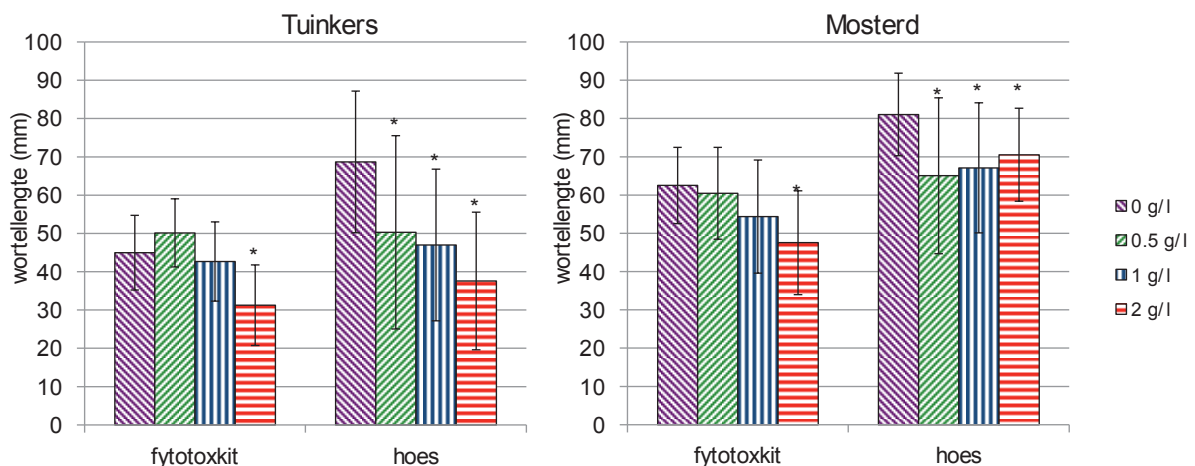
De huidige methode is vergeleken met een testmethode waarbij de zaden op twee zaadtestpapieren in een transparante polystyreen hoef zijn geplaatst (Figuur 19.).



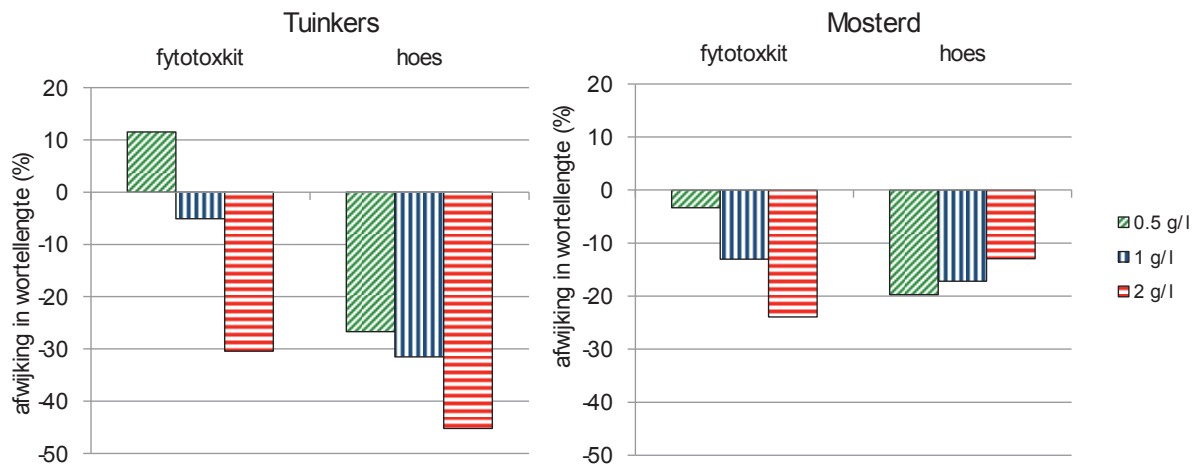
Figuur 19. De alternatieve testmethode met hoef.

De test is uitgevoerd met verschillende concentraties TCA opgelost in komkommervoeding.

De gemiddelde wortellengte van tuinkers en mosterd na drie dagen incubatie is weergegeven in Figuur 20. Wat opvalt is dat de wortels van beide testgewassen bij de behandeling zonder TCA langer waren in de hoef dan bij de huidige fyto-toxkit methode. Dit kan wijzen op watergebrek.



Figuur 20. Gemiddelde wortellengte van tuinkers en mosterd bij de huidige methode (fyto-toxkit) en de alternatieve methode (hoef), bij verschillende concentraties TCA. Foutbalken geven de standaarddeviatie weer. Een \* geeft een significant verschil ( $p < 0.05$ ) met de referentiebehandeling weer (de behandeling in fyto-toxkit of hoef zonder TCA). Huidige methode:  $n=4$ , totaal 40 zaden; alternatieve methode:  $n=4$ , totaal 32 zaden).



Figuur 21. Afwijking in wortellengte uitgedrukt als percentage van de wortellengte bij de referentiebehandeling (de behandeling in fytotoxkit of hoes zonder TCA).

### Alternatieve uitvoering zonder steenwolgranulaat – met drainwater

In een vervolgtest is de alternatieve testmethode uitgeprobeerd met drainwatermonsters van verschillende bedrijven. Hierbij is getest of de spreiding in de wortellengte bij tuinkers kleiner werd door een extra laag (dun) zaadtestpapier bovenop de zaadtestpapieren te plaatsen (Figuur 22). Het idee hierachter is dat de dunnere zaadtestpapieren een andere structuur hebben en hierdoor wellicht beter in staat zijn de zaden/kiemplanten van vocht te voorzien.

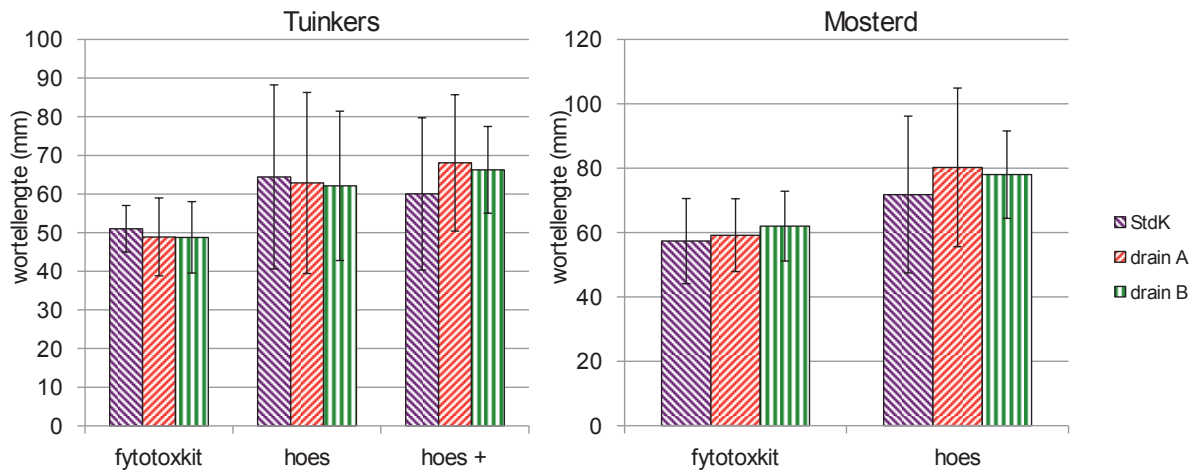


Figuur 22. De alternatieve testmethode met hoes, met een extra laag zaadtestpapier.

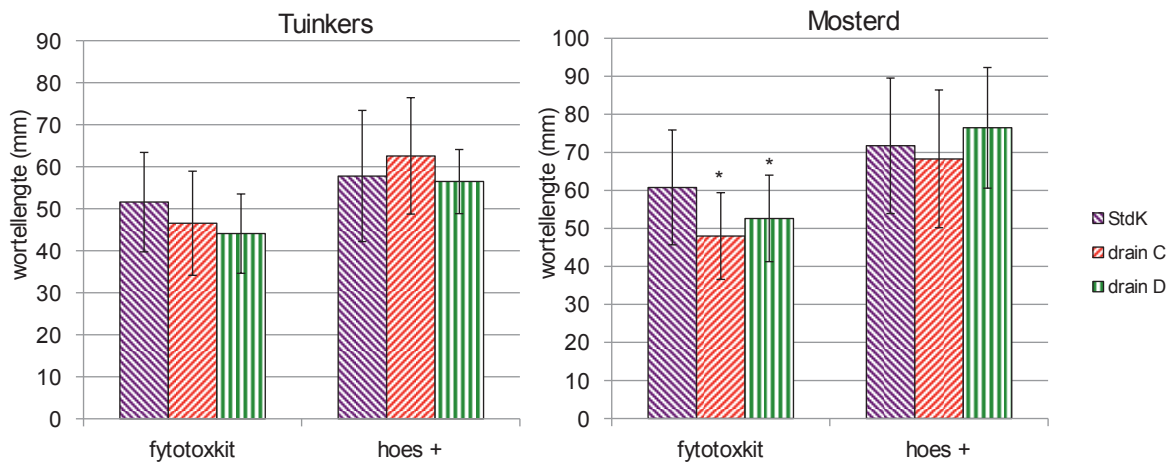
Figuur 23. laat zien dat het effect van toevoeging van de extra laag zaadtestpapier de spreiding in wortellengte bij tuinkers bij de alternatieve methode reduceerde. Het geteste drainwater van een paprika- en een tomatenbedrijf veroorzaakte bij beide testgewassen geen groeiremming, bij zowel de huidige als de alternatieve methode.

In een volgende test met drainwater van twee gerberabedrijven waren de wortels van mosterd bij de huidige methode significant korter bij de drainwatermonsters dan bij de referentiebehandeling (Figuur 24). Het verschil in wortellengte met de referentiebehandeling bedroeg respectievelijk 21% en 13%. Bij de alternatieve methode was er geen significant verschil tussen de behandelingen wat betreft de wortellengte van mosterd. Dit betekent dat de huidige methode wel groeiremming detecteerde, maar de alternatieve methode niet. Bij tuinkers was de wortelgroei bij zowel de huidige als de alternatieve methode niet geremd. Wel was de kieming van tuinkers bij de alternatieve methode opvallend slecht bij drainwater van bedrijf C (figuur 25).

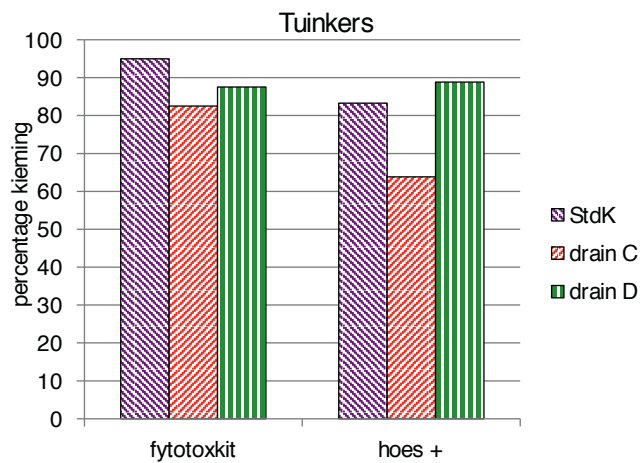




Figuur 23. Gemiddelde wortellengte van tuinkers en mosterd bij de huidige methode (fytotoxkit), de alternatieve methode (hoes) en de alternatieve methode met aanvullend zaadtestpapier (hoes+). De test is uitgevoerd met een referentiebehandeling (StdK - standaard komkommervoeding) en vuil drainwater van bedrijf A (paprika) en B (tomaat). Foutbalken geven de standaarddeviatie weer. Bij geen van de geteste testsystemen was er een significant verschil tussen de behandelingen ( $p < 0.05$ ). Huidige methode:  $n=4$ , totaal 40 zaden; aangepaste methode:  $n=6$ , totaal 36 zaden).



Figuur 24. Gemiddelde wortellengte van tuinkers en mosterd bij de huidige methode (fytotoxkit) en de alternatieve methode met aanvullend zaadtestpapier (hoes+). De test is uitgevoerd met een referentiebehandeling (StdK - standaard komkommervoeding) en vuil drainwater van bedrijven C en D (beide gerberateelt). Foutbalken geven de standaarddeviatie weer. Een \* geeft een significant verschil ( $p < 0.05$ ) met de referentiebehandeling weer (de referentiebehandeling in fytotoxkit of hoese+). Huidige methode:  $n=4$ , totaal 40 zaden; aangepaste methode:  $n=6$ , totaal 36 zaden).



Figuur 25. Percentage kieming bij tuinkers bij de huidige methode (fytotoxkit) en de alternatieve methode met aanvullend zaadtestpapier (hoes+). Niet gekiemde zaden en zaden waaruit de kiemplant nauwelijks groeit omdat de zaadhuid niet goed loslaat worden tot de niet gekiemde zaden gerekend.

### 2.3.4 Conclusie

Doel van dit onderdeel was het verzamelen van informatie waarmee een snelle en meer verfijnde detectiemethode kan worden ontwikkeld voor de groeiremmende factor(en).

- Versnelling van de methode door de incubatieduur te verkorten van drie naar twee dagen zal het onderscheidend vermogen van de test sterk verminderen.
- Er is een alternatieve testmethode ontwikkeld en uitgetest met TCA en drainwater van verschillende bedrijven. De resultaten van de testen met deze alternatieve methode bieden onvoldoende aanknopingspunten om de methode te kunnen wijzigen.



### 3 Overall conclusies en aanbevelingen

Uit het onderzoek kunnen de volgende conclusies worden getrokken:

1. Groeiremming van het gewas vanuit het drainwater wordt vooral veroorzaakt door een microbiologische factor die zeer waarschijnlijk van een bacteriologische oorsprong is.
2. Gewasbeschermingsmiddelen in het drainwater in concentraties die overeenkomen met praktijksituaties blijken de groei van het gewas niet te remmen.
3. Door recirculatiewater met groeiremming zoals voorkwam in de duurproef roos te ontsmetten met bestaande technieken uit de praktijk zoals UV, ozon of verhitten wordt de groeiremmende factor uitgeschakeld.
4. Het is niet uitgesloten dat monitoring van de zuurstofconcentratie in de mat en in het drain- en recirculatiewater en het bepalen van zuurstofstress een goed hulpmiddel kan zijn om de teler te attenderen op groeiremming vanuit het recirculatiewater. Vanwege het achterwege blijven van voldoende groeiremming in een van de teeltstrategieën van de Duurproef Roos kon de waarde van deze zuurstofmeting als monitoringsinstrument van groeiremming niet vastgesteld worden.
5. Meting van de lichtbenuttingsefficiëntie van het gewas kan een methode zijn om stress van het gewas door groeiremming vanuit het recirculatiewater te monitoren. Vanwege het achterwege blijven van voldoende groeiremming in een van de strategieën van de Duurproef Roos kon de waarde van deze meting als monitoringsinstrument van groeiremming niet vastgesteld worden.
6. Zonder verlies aan onderscheidend vermogen is het niet gelukt de test met de Fytotoxkit te versnellen naar twee dagen en deze test hanteerbaarder te maken.
7. Preventieve en curatieve maatregelen zijn in dit werkpakket niet verder onderzocht vanwege het ontbreken van groeiremming in de verschillende teeltstrategieën in de duurproef Roos. Hierdoor was het niet mogelijk om relaties vast te stellen en verder te onderzoeken. Curatieve behandeling van het recirculatiewater is nader onderzocht en verslagen in Werkpakket 1: Voorkomen van Groeiremming.

#### **Aanbevelingen**

Het totale watersysteem op glastuinbouwbedrijven op substraat is vaak een complex systeem. Het uitgangswater, het druppelwater en het recirculatiewater wordt met of zonder voorbehandeling of ontsmetting voor korte of lange duur in opslag gehouden in diverse soorten silo's en bassins. Daarin kunnen zich microbiologische organismen ontwikkelen door de aanwezigheid van organische resten en voedingselementen en onder invloed van licht en temperatuur. Zo maakt het vanwege de temperatuur bijvoorbeeld al een groot verschil wanneer de keuze is gemaakt om de opslag van water in buitensilo's te doen. Ook door het wisselend gebruik van verschillende soorten uitgangswater kan het microbiologische evenwicht verstoord worden. Deze en nog een keur aan andere invloedsfactoren dragen ertoe bij dat er in het gebruikte water verhoogde microbiologische activiteit van schimmels en bacteriën kan ontstaan.

Meer inzicht in het verloop van de microbiologische activiteit in water, en het tijdig bijsturen ervan, zou een meer stabiele groei voor gewassen op substraat kunnen betekenen.

Voorop staat dat er geen pathogene organismen in het water aanwezig mogen zijn. Voor detectie van bekende microbiologische ziekten zijn diverse mogelijkheden. Daarnaast zijn er mogelijkheden door zogenaamde kiemgetallen te bepalen in water, dat wil zeggen de infectiedruk van in water aanwezige bacteriën en schimmels. Hiermee kan zowel het aantal kolonievormende eenheden aan anaërobe bacteriën als het aantal aërobe bacteriën en schimmels bepaald worden. Helaas moet daarbij opgemerkt worden dat in deze methode slechts een deel van alle soorten aan bacteriën en schimmels geteld worden, omdat niet alle soorten op de algemene voedingsbodem groeien. Verder wordt met deze methode geen onderscheid gemaakt in pathogene, niet pathogene en stimulerende bacteriën en schimmels.

Bepaling van het kiemgetal in water geeft een indicatie van de algemeen aanwezige infectiedruk van bacteriën en schimmels.





