

CB

Bibliotheek
Proefstation
Naaldwijk

A
3
R
85

Proefstation voor Tuinbouw onder Glas te Naaldwijk

Onderzoek naar de werking van een ultrafiltratiemembraan ten aanzien van enkele planteziekten en meststoffen

W.Th. Runia

Naaldwijk, maart 1985
Project D 15

Intern verslag nr. 29

224 2283

Onderzoek naar de werking van een ultrafiltratiemembraan ten aanzien van enkele planteziekten en meststoffen.

Inleiding

De membraantechnologie is in de tuinbouw het meest bekend door het ontzouten van water met behulp van omgekeerde osmose membranen; de zogenaamde hyperfiltratiemembranen. Afhankelijk van de grootte van de poriën wordt er een onderscheid gemaakt in microfiltratie - (0,1 tot 10 μm), ultrafiltratie - (\pm 0,001 μm) en hyperfiltratiemembranen (\pm 0,0001 μm ; deeltjestransport via de intermoleculaire ruimten).

In het kader van het onderzoek naar de ontsmettingsmogelijkheden van zowel retourwater als drainwater van al dan niet recirculerende systemen, werd in dit onderzoek een ultrafiltratiemembraan (UF-membraan) getest, waarbij werd nagegaan of eventuele ziektekiemen worden tegengehouden, en of alle meststoffen het membraan kunnen passeren.

Materiaal en methoden

Enkele afmetingen : 1 μm = $1 \cdot 10^{-6}$ m = 0,001 mm = 1 micron
1 nm = $1 \cdot 10^{-9}$ m = 1 nanometer (nm)

In dit onderzoek is gebruik gemaakt van een UF-membraan (type G50) dat voor dit doel beschikbaar is gesteld door Promac-Nederland BV te Zaltbommel. Dit membraan scheidt derhalve deeltjes die kleiner dan wel groter zijn dan \pm 0,001 μm . Kleinere deeltjes worden doorgelaten; het zogenaamde permeaat, en grotere deeltjes worden tegengehouden en verlaten via een andere weg als concentraat (brijn) het membraan. Als controle dienden onbehandelde suspensies. Dit UF-membraan is geschikt voor een pH-traject van 2 tot 10 en bij een temperatuur van maximaal 50 $^{\circ}\text{C}$.

Tijdens de experimenten was zowel de voordruk als de brijndruk 3 bar. De geteste pathogenen zijn: het komkommerbontvirus (KV-2) met een deeltjes grootte van 18 x 300 nm en het tabaksmozaiekvirus (TMV) met dezelfde afmetingen, KV-2 werd in ongezuiverde vorm toegepast en TMV in gezuiverde vorm. Verder *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* met een afmeting van 5-12 x 2.2-3.5 μm voor de microsporen. De *Fusarium*suspensie bestaat voor het overgrote deel uit microsporen; de eventueel aanwezige macrosporen zijn uiteraard groter dan de genoemde afmetingen.

Ook is getest *Verticillium albo-atrum*, waarvan de conidiosporen een afmeting hebben van 3.5-8 x 2-3 μm .

Onder de lichtmicroscop werden tellingen verricht van zowel de onbehandelde (controle) *Fusarium*- en *Verticillium*suspensie als van het permeaat en concentraat.

Voor dit doel werd de telkamer van Fuchs en Rosenthal gebruikt. Per behandeling werden 16 velden geteld met een totale inhoud van $16 \cdot \frac{1}{4} \times \frac{1}{4} \times 0.2 \text{ mm} = 0.2 \text{ mm}^3$. Per cm^3 (ml) is het aantal sporen dan 5000 x n, waarbij n het aantal getelde sporen voorstelt. Alle behandelingen zijn in duplo geteld.

Voor het experiment met de meststoffen werden die stoffen gekozen die de grootste afmeting hebben; de ijzerchelaten (Fe-chelaten). Getest werden Fe-DTPA 9%, Fe-EDTA 13% en Fe-EDDHA 5½%.

De verhouding tussen permeaat en concentraat bedroeg bij de proeven met de planteziekten 70%: 30%. Bij de test met de Fe-chelaten was die verhouding ongeveer 80%: 20%, resulterend in 2.5 l permeaat per minuut, hetgeen overeenkomt met 3,6 m^3 permeaat/dag.

De overige gegevens staan vermeld bij de afzonderlijke experimenten.

Experiment 1. Het doorleiden van *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (fysio 1) en *Verticillium albo-atrum* door een UF-membraan.

In dit experiment werd op 7-3-1984 900 ml *Fusarium*-suspensie toegevoegd aan 30 l gietwater. Nadat het UF-membraan 5 minuten in werking was geweest, werden het permeaat en het concentraat afgetapt. Vervolgens werden kiemplantjes met 1 à 2 loofblaadjes, van het tomatenras Moneydor 10 minuten met hun wortels gedompeld in deze suspensies waarna ze werden opgepot. Het wortelstelsel van de kiemplantjes was van te voren schoongespoeld met leidingwater. Nadat het UF-membraan 10 minuten was doorgespoeld met gietwater werd 500 ml *Verticillium* in 30 l water door het membraan geleid, waarna dezelfde behandeling volgde als bij de *Fusarium*. Per behandeling zijn 30 tomatplantjes gebruikt. Op 12-4-1984 werd dit experiment beëindigd. In tabel 1 staat het resultaat van dit experiment.

Tabel 1. Resultaat van het doorleiden van *Fusarium* en *Verticillium* door een UF-membraan.

Pathogeen	Besmettelijkheid*			gemiddelde incubatieperiode in dagen		
	permeaat	concentraat	controle	permeaat	concentraat	controle
<i>Fusarium-oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	0/30	30/30	30/30	--	22	24
<i>Verticillium</i> albo-atrum	0/30	28/30	30/30	--	12	12

* besmettelijkheid = het aantal zieke planten op het totaal aantal planten per behandeling.

Sporetellingen werden verricht op 20-3-1984. In tabel 2 staan de gevonden aantallen per behandeling vermeld.

Tabel 2. Sporetellingen van *Fusarium* en *Verticillium*.

Pathogeen	aantal Sporen per telling (0.2 mm ³)		
	permeaat	concentraat	controle
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>			
telling 1	1	73	74
telling 2	1	91	57
<i>Verticillium</i> albo-atrum			
telling 1	3	25	29
telling 2	4	34	32

In de verdunde *Fusarium*-suspensie (controle) zaten gemiddeld $5000 \times 65.5 = 327.500$ sporen per ml.

De onverdunde suspensie bevatte derhalve $\frac{30}{0,9} \times 327.500 = 10,9 \cdot 10^6$ sporen per ml.

In de verdunde *Verticillium*-suspensie (controle) waren gemiddeld $5000 \times 30.5 = 152.500$ sporen per ml aanwezig.

In de onverdunde suspensie waren $\frac{30}{0,5} \times 152.500 = 9,2 \cdot 10^6$ sporen per ml aanwezig. In het concentraat liggen de aantallen sporen op een gelijkwaardig niveau ten

opzichte van de controle, hetgeen overeenkomt met de uitslag van de besmettelijkheid bij de biologische toets.

In het permeaat worden nog maar enkele sporen teruggevonden. In de biologische toets bleek dit kleine aantal sporen niet bij machte een aantasting te veroorzaken bij de tomatenkiemplantjes (zie tabel 1).

Experiment 2. Het doorleiden van komkommerbontvirus en tabaksmozaiekvirus door een UF-membraan.

Dit experiment werd uitgevoerd op 6 maart 1984. Perssap van ongezuiverd komkommerbontvirus (KV-2) werd in een hoeveelheid van 25 ml toegevoegd aan 25 l gietwater. Nadat het UF-membraan 5 minuten in werking was geweest, werd alleen permeaat afgetapt. Vervolgens werden komkommerplantjes (Ras: Sporu), die 1 loofblad hadden, bestoven met carborundum en daarna geïnoculeerd met de diverse suspensies. Per behandeling werden 15 komkommers ingesmeerd.

Ook een suspensie van gezuiverd tabaksmozaiekvirus (TMV-stam SPS) werd op deze wijze behandeld; 1 op 1000 verdund en vervolgens doorgeleid door het UF-membraan. Na het doorleiden van dit virus werd zowel permeaat als concentraat afgetapt. Per behandeling werden 20 tomatenplantjes (Ras: Moneydor) met 2 loofblaadjes, geïnoculeerd met het permeaat, concentraat of de controlesuspensie.

Op 12-4-1984 werd de proef beëindigd. De resultaten zijn samengevat in tabel 3.

Tabel 3. Resultaat van het doorleiden van komkommerbontvirus en tabaksmozaiekvirus door een UF-membraan.

Pathoogeen	Besmettelijkheid		gemiddelde incubatieperiode in dagen			
	permeaat	concentraat	controle	permeaat	concentraat	controle
komkommerbontvirus	0/15		12/14	--		17
tabaksmozaiekvirus	2/20	19/20	20/20	21	13	13

Uit tabel 3 blijkt dat het komkommerbontvirus na passage door het UF-membraan niet meer aantoonbaar is. Het tabaksmozaiekvirus wordt op een enkele plant nog aangetoond na toetsing van het permeaat.

Experiment 3. Het doorleiden van Fe-chelaten door een UF-membraan

Op 7-3-1984 werden Fe-chelaten in gietwater opgelost en door het UF-membraan geleid. Nadat het membraan 5 minuten in werking was geweest, werden het permeaat en concentraat afgetapt waarna de oplossing werd geanalyseerd op het Fe- en Zn-gehalte. Als extra controle werd gietwater zonder de toevoeging van Fe-chelaat geanalyseerd op de aanwezigheid van Fe en Zn (zink).

Aan 30 liter gietwater werd toegevoegd 0.19 g. Fe-DTPA 9% (mol gewicht 490) of 0.13 g. Fe-EDTA 13% (mol. gewicht 383).

In een vervolg-experiment werd gedemineraliseerd water (demi-water) gebruikt in plaats van gietwater. Tevens werd aan iedere oplossing 100 ml B-voeding toegevoegd om een EC > 0 te realiseren waardoor de pH stabiel blijft; de EC bedroeg 0.2 mS/cm en de pH-waarde was ± 5 .

de toegevoegde hoeveelheden Fe-chelaat aan 30 l demi-water zijn:

0.3 g Fe-EDDHA 5½% (mol. gewicht 360), 0.19 g Fe-DTPA 9% of 0.13 g Fe-EDTA 13%.

De resultaten van dit experiment staan vermeld in tabel 4.

Tabel 4. Resultaat van het doorleiden van Fe-chelaten door een UF-membraan.

Behandeling	permeaat		concentraat		controle		hoeveelheden in micromol/l
	Fe	Zn	Fe	Zn	Fe	Zn	
Fe-EDDHA demi-water	13		17		11		
Fe-DTPA gietwater	1.4	16	3.3	14	11	4.2	
demi-water	21		26		12		
Fe-EDTA gietwater	8.5		9.5		11		
demi-water	16		17		11		
Controle gietwater zonder Fe-toevoeging					0.5	2.3	

Uit tabel 4 blijkt dat bij het gebruik van gietwater, het Zn uit het gietwater het Fe uit het chelaat kan verdrijven, waardoor het Fe neerslaat als Fe₂O₃; zie Fe-DTPA in gietwater. Bij gebruik van demiwater wordt dit verschijnsel voorkomen. Wel zijn de Fe-gehalten na passage door het UF-membraan hoger dan ervoor. Dit is mogelijk het gevolg van ijzerafgifte van de pomp. De Fe-chelaten, en daarmee ook de overige meststoffen, passeren het UF-membraan.

Conclusie

Een suspensie van de schimmel *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, die ruim 300.000 sporen per ml bevatte, werd door een ultrafiltratiemembraan geleid en gescheiden in een permeaat, dat nog slechts een gering aantal sporen bevatte van dit pathogeen, en een concentraat waarin het aantal sporen op gelijk niveau lag met de controle. In de biologische toets bleek, dat het relatief kleine aantal sporen in het permeaat (< 1% ten opzichte van de controle) niet in staat was een aantasting te veroorzaken bij kiemplanten van tomaat.

Hetzelfde geldt voor de schimmel *Verticillium albo-atrum*. Het aantal sporen in het permeaat, na passage door het UF-membraan, was weliswaar hoger dan bij de fusariumsuspensie (\pm 10% t.o.v. de controle), maar bleek eveneens niet in staat tomatenkiemplantjes te infecteren. Het aantal sporen in het concentraat was nagenoeg gelijk aan de controle, en wel ruim 150.000 sporen per ml.

Het komkommervontvirus werd in een verdunning van 1:1000, door het UF-membraan geleid en daarin tegengehouden; het permeaat veroorzaakte geen aantasting van dit virus bij de komkommers, terwijl bij de controle het aantastingspercentage 85% was.

Passage door het UF-membraan van een 1 op 1000 verdunde tabaksmozaiekvirus-suspensie had tot gevolg dat het permeaat 10% van de toetsplanten aantastte, het concentraat 95% en de controle 100%. De incubatieperiode bij de met permeaat geïnoculeerde planten was gemiddeld 8 dagen langer dan bij de beide andere behandelingen.

De geteste Fe-chelaten EDDHA, DTPA en EDTA passeren allen het UF-membraan. Aandacht dient te worden besteed aan het Zn-gehalte in het gietwater omdat zink het ijzer uit het chelaat kan verdrijven, waardoor het ijzer neerslaat als Fe₂O₃.



TMV₁ - normal

TMV₁ - normal



TMV₁ - normal



TMV₁ - normal

TMV₁ - normal



TMV₁ - normal

TMV₁ - normal