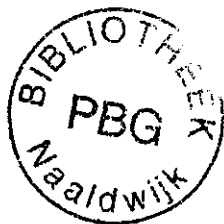


Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente
Vestiging Naaldwijk
Kruisbroekweg 5, Postbus 8, 2670 AA Naaldwijk
Tel 0174-636700, fax 0174-636835

EFFECTIVITEIT WATERSTOFPEROXIDE, PERAZUR, DEGACLEAN EN DEGACLEAN PLUS TEGEN FUSARIUM OXYSPORIUM IN DRAINWATER

Proef 001-1602.21A

VERTROUWELIJK



W.Th. Runia
M. van der Sar

Naaldwijk, augustus1997

2204005

INHOUD

SAMENVATTING	5
1. INLEIDING	7
2. MATERIAAL EN METHODEN	8
2.1 Proefopzet	8
2.2 Producten	8
3. RESULTATEN EN DISCUSSIE	10
3.1 proef 1	
3.2 proef 2	
4. CONCLUSIE	15
BIJLAGEN	16
1 pH-gegevens eerste proef	16
2 pH-gegevens tweede proef	17
3 tellingen Fusariumsporen	17

SAMENVATTING

In 1997 is op het Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente te Naaldwijk onderzoek verricht naar de effectiviteit van waterstofperoxide, PerAzur, Degaclean en Degaclean Plus tegen *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Er zijn twee proeven uitgevoerd, waarbij het pathogeen is toegevoegd aan drainwater. Vervolgens is het drainwater behandeld met diverse doseringen van de genoemde producten. Behandelingstijden van 5 en 30 minuten zijn gerealiseerd door toevoeging van een neutralisator. De watermonsters zijn daarna uitgeplaat op een *Fusarium*-specifieke voedingsbodem. Na enkele dagen zijn de uitgegroeide kolonies op de petrischalen geteld. In de eerste proef is de effectiviteit van waterstofperoxide, PerAzur en Degaclean tegen *Fusarium* onderzocht. In de tweede proef zijn Degaclean en Degaclean Plus getest op effectiviteit tegen deze schimmel.

In de eerste proef is alleen effectiviteit vastgesteld bij Degaclean bij de hoogste dosering van 400 ppm product. Een behandelingstijd van 5 minuten met 400 ppm Degaclean resulteerde in een doding van 81% en bij een behandelingstijd van 30 minuten was 86% van de *Fusarium*sporen gedood ten opzichte van de controle onbehandeld.

In de tweede proef is de effectiviteit van Degaclean tegen *Fusarium* vergeleken met die van Degaclean Plus. Bij toepassing van 400 ppm product was de doding van *Fusarium* bij Degaclean circa 98% en bij Degaclean Plus circa 99%. Het gewenste dodingspercentage van minimaal 99,9% werd bij beide producten bereikt bij 1000 ppm.

Er is geen effect vastgesteld van de neutralisator natriumsulfiet op *Fusarium*.

1. INLEIDING

In de glastuinbouw is het recirculeren van overtollige voedingsoplossing, het zogenaamde drainwater, voor veel teelten momenteel al verplicht en zal in de komende jaren gaan gelden voor de meeste teelten onder glas. Hergebruik van drainwater betekent echter een risico voor wat betreft de verspreiding van wortelziekten, die in het drainwater aanwezig kunnen zijn. Het drainwater kan worden ontsmet door middel van verhitting, ozon of ultra-violette straling. Deze methodieken ontsmetten het drainwater maar hebben geen depotwerking, dat wil zeggen dat in het drainwater dat naar de planten gaat geen actieve stoffen aanwezig zijn, die eventuele verspreiding van wortelziekten binnen het teeltsysteem kunnen voorkómen.

Producten op basis van waterstofperoxide kunnen het drainwater ook ontsmetten. Deze producten hebben wel een depotwerking, zodat de planten continu beschermd kunnen worden tegen eventuele belagers. Verspreiding van wortelziekten binnen de teeltgoten kan zo worden voorkómen. Bovendien kan verstopping van de druppelaars door deze middelen ook worden verminderd. De effectieve concentratie van deze middelen is bepalend of ze in de teelt kunnen worden toegepast; hoge concentraties kunnen leiden tot fytotoxiciteit. Wanneer te hoge concentraties nodig zijn zal alleen het drainwater kunnen worden ontsmet, waarna een neutralisator de resthoeveelheid van het product dient weg te vangen voordat het drainwater weer naar de planten gaat.

In opdracht van EPENHUYSEN CHEMIE N.V. te Zwijndrecht is in dit kader onderzoek uitgevoerd naar de effectiviteit van een aantal producten op basis van waterstofperoxide tegen *Fusarium oxysporum* in drainwater.

2. MATERIAAL EN METHODEN

2.1 PROEFOPZET

Er zijn twee proeven uitgevoerd met de schimmel *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (fysio 1): één op 11 en 12 februari en één op 27 en 28 mei 1997. Beide proeven zijn uitgevoerd op het laboratorium van het PBG.

Er is gebruik gemaakt van drainwater van tomaat uit kassen op het PBG. In de eerste proef is het drainwater voor gebruik gefilterd door kaasdoek, omdat er algen in zaten, in de tweede proef was dit niet het geval.

Per behandeling is 1 liter drainwater gebruikt. In de eerste proef is 46 ml en in de tweede proef 56 ml *Fusarium*suspensie toegediend per behandeling. Dit resulteerde in een sporenconcentratie van 10^5 sporen per ml drainwater. Na toevoeging van de schimmel zijn de diverse producten toegediend in verschillende concentraties. In de eerste proef is 0, 100, 200 en 400 ppm product toegediend en in de tweede proef 0, 200, 400, 1000 en 4000 ppm product.

De behandelingstijdstippen zijn gerealiseerd door de toevoeging van een neutralisator op het gewenste tijdstip; na 5 en na 30 minuten. In de eerste proef is een katalyse van runderlever gebruikt: 20 druppels bij 400 ppm product en 15 druppels bij 200 en 100 ppm product.

In de tweede proef is natriumsulfiet (Na_2SO_3 - 2%) toegepast. Om een eventueel effect van de neutralisator op de *Fusarium*sporen te kunnen vaststellen is een behandeling uitgevoerd met uitsluitend de toevoeging van de neutralisator (= 0 ppm product). Bij toepassing van 4000, 1000, 400 en 0 ppm Degaclean is respectievelijk 4,88 ml, 1,22, 0,49 ml en 4,88 ml neutralisator toegediend. Bij toepassing van 1000, 400, 200 en 0 ppm Degaclean Plus is respectievelijk 1,24 ml, 0,50 ml, 0,25 ml en 1,24 ml neutralisator toegediend.

Alle behandelingen zijn uitgeplaat op de *Fusarium*specifieke voedingsbodem Komada. De *Fusarium*kolonies die daarop uitgroeien worden na circa 5 dagen geteld. Per behandeling zijn twee verdunningen gemaakt, zodat de kans het grootst is dat de kolonies bij tenminste één verdunning goed te tellen zijn. Elke verdunning is uitgeplaat op 4 petrischalen met 0,5 ml te testen drainwater per plaat. De telling van de eerste proef is uitgevoerd op 17 februari en van de tweede proef op 2 juni 1997.

Omdat de vraag rees of de *Fusarium*sporen door de producten worden geoxideerd en daardoor verdwijnen, zijn ook ná de behandelingen tellingen van de *Fusarium*sporen verricht onder microscoop. Normaal gebeurt dit alleen vóór de proeven om vast te stellen wat de uitgangconcentratie van de *Fusarium*suspensie is.

De watertemperatuur was in de eerste proef circa 19° C en in de tweede proef circa 20° C.

Er zijn pH-metingen verricht in het drainwater, vóór en na toepassing van het product en na toepassing van de neutralisator.

2.2 PRODUCTEN

De onderzochte producten zijn: waterstofperoxide (35%), PerAzur 470, Degaclean 50 en Degaclean 50 met activator. Dit laatste product wordt in dit verslag verder aangeduid als Degaclean Plus. Alle producten bevatten waterstofperoxide, waaraan bij PerAzur, Degaclean en Degaclean Plus azijnzuur is toegevoegd. Door de combinatie van waterstofperoxide en azijnzuur ontstaat de actieve component perazijnzuur. Bij Degaclean Plus is bovendien nog een activator toegevoegd.

3. RESULTATEN EN DISCUSSIE

3.1 EERSTE PROEF

De pH-gegevens van deze proef zijn samengevat in bijlage 1.

De resultaten van de proef met waterstofperoxide tegen *Fusarium* staan vermeld in tabel 1. In tabel 2 staat het resultaat van Perazur en in tabel 3 het resultaat van Degaclean tegen deze schimmel. Wanneer in de tabellen wordt aangegeven dat het aantal kolonies niet te tellen was, betekent dit dat er circa 1000 kolonies per schaal aanwezig waren. Omgerekend zijn dat circa 20000 *Fusarium*sporen per ml onverdund drainwater, maar mogelijk nog meer omdat er gewoonweg onvoldoende ruimte op de schalen is geweest voor de uitgroei van alle kiemkrachtige sporen. Het effect van de middelen op *Fusarium*, ten opzichte van de controle van 70000 sporen per ml, ligt dan globaal tussen 0 en 70%. Vóóraf was niet in te schatten welk effect er verwacht mocht worden van de diverse concentraties. Om die reden was ook niet bekend welke verdunningen tot een telbaar aantal *Fusarium*kolonies zouden leiden op de schalen. Aangezien gestreefd wordt naar een effectiviteit van 99,9% is het niet exact vaststellen van het dodingspercentage tussen 0 en 70% geen probleem omdat de effectiviteit gewoonweg onvoldoende is.

Tabel 1 - Effectiviteit van waterstofperoxide (35%) tegen *Fusarium oxysporum*

Behandeling	Verdunning	Aantal <i>Fusarium</i> kolonies per 0,5 ml					Fusarium per ml	Doding (%)
		schaal 1	schaal 2	schaal 3	schaal 4	gemiddeld		
0 ppm + Fus	1:100	316	385	316	364	345,25	69050	0
100 ppm 5 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	-	-
100 ppm 30 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	-	-
200 ppm 5 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	-	-
200 ppm 30 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	-	-
400 ppm 5 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	-	-
400 ppm 30 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	-	-

n.t.t = niet te tellen
 - = niet vast te stellen

Tabel 2 - Effectiviteit van PerAzur 470 tegen *Fusarium oxysporum*

Behandeling	Verdunning	Aantal Fusariumkolonies per 0,5 ml					Fusarium per ml		Doding (%)
		schaal 1	schaal 2	schaal 3	schaal 4	gemiddeld	onverdund		
0 ppm + Fus	1:100	397	427	417	396	409,25	81850	0	
100 ppm 5 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	
100 ppm 30 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	
200 ppm 5 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	
200 ppm 30 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	
400 ppm 5 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.t	n.t.t.t	n.t.t.t	n.t.t.	-	
400 ppm 30 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	

n.t.t. = niet te tellen
 - = niet vast te stellen

Tabel 3 - Effectiviteit van Degaclean 50 tegen *Fusarium oxysporum*

Behandeling	Verdunning	Aantal Fusariumkolonies per 0,5 ml					Fusarium per ml		Doding (%)
		schaal 1	schaal 2	schaal 3	schaal 4	gemiddeld	onverdund		
0 ppm + Fus	1:100	372	380	400	358	377,5	75500	0	
100 ppm 5 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	
100 ppm 30 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	
200 ppm 5 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	
200 ppm 30 min	1:10	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	n.t.t.	-	
400 ppm 5 min	1:10	678	711	786	725	725	14500	81	
400 ppm 30 min	1:10	504	475	536	587	525,5	10510	86	

n.t.t. = niet te tellen - = niet vast te stellen

Uit tabel 1 blijkt dat er geen effect van waterstofperoxide tegen *Fusarium* is vastgesteld bij de geteste concentraties en behandelingstijden. Hetzelfde geldt voor PerAzur en de twee laagste concentraties van Degaclean. Bij deze behandelingen zal het effect ergens tussen de 0 en 70% liggen. Een meetbaar effect is vastgesteld bij 400 ppm Degaclean; 81% doding bij een behandelingstijd van 5 minuten en 86% doding bij 30 minuten.

Een product wordt als voldoende effectief beschouwd als er minimaal 99,9% doding wordt geconstateerd.

In deze proef was geen van de geteste middelen voldoende effectief.

3.4 TWEEDE PROEF

De pH-gegevens van deze proef zijn samengevat in bijlage 2.

De tellingen van de sporen na de behandelingen zijn opgenomen in bijlage 3.

De resultaten van de proef met Degaclean staan vermeld in tabel 4. In tabel 5 staat het resultaat van Degaclean Plus.

Tabel - 4 Effectiviteit van Degaclean tegen *Fusarium oxysporum*

Behandeling	Verdunning	Aantal Fusariumkolonies per 0,5 ml					Fus per ml		Doding (%)
		schaal 1	schaal 2	schaal 3	schaal 4	gemiddeld	onverdund		
0 ppm + Fus	1:100	204	138	152	177	167,75	33550	0	
0 ppm + Fus na 5 min Na ₂ SO ₃	1:100	111	178	140	157	146,5	29300	13	
0 ppm + Fus na 30 min Na ₂ SO ₃	1:100	196	188	158	214	189	37800	- 13	
400 ppm 5 min	1:1	285	276	274	310	286,25	572,5	98,3	
400 ppm 30 min	1:1	297	242	244	224	251,75	503,5	98,5	
1000 ppm 5 min	1:1	25	26	12	16	19,75	39,5	99,9	
1000 ppm 30 min	1:1	0	0	0	0	0	0	100	
4000 ppm 5 min	1:1	0	0	0	0	0	0	100	
4000 ppm 30 min	1:1	0	0	0	0	0	0	100	

Tabel - 5 Effectiviteit Degaclean Plus tegen *Fusarium oxysporum*

Behandeling	Verdunning	Aantal Fusariumkolonies per ml					Fus per ml	Doding (%)
		schaal 1	schaal 2	schaal 3	schaal 4	gemiddeld	onverdund	
0 ppm + Fus	1:100	200	198	192	207	199,5	39850	0
0 ppm + Fus na 5 min Na ₂ SO ₃	1:100	222	215	196	219	213	42600	- 7
0 ppm + Fus na 30 min Na ₂ SO ₃	1:100	250	244	245	222	240,25	48050	- 21
200 ppm 5 min	1:10	ca 650	ca 650	ca 650	ca 650	ca 650	ca 13000	ca 67,4
200 ppm 30 min	1:10	459	619	534	557	542,25	10845	72,8
400 ppm 5 min	1:1	199	206	164	195	191	382	99,0
400 ppm 30 min	1:1	158	165	167	131	155,25	310,5	99,2
1000 ppm 5 min	1:1	0	0	0	1	0,25	0,50	99,999
1000 ppm 30 min	1:1	1	0	0	0	0,25	0,50	99,999

- Alle resultaten zijn niet absoluut omdat verschillende verdunningen met elkaar worden vergeleken. De uitkomsten zijn een indicatie op welk niveau de doding ongeveer ligt.
- Er is geen effect vastgesteld van de neutralisator op *Fusarium*.
- In deze tweede proef is het aantal vitale sporen (= ca 30.000-40.000) lager dan in de eerste proef (= ca 70.000-80.000).
- Het resultaat van 400 ppm Degaclean is in deze proef beter (98,3-98,5% doding) dan in de eerste proef (81-86% doding). Dit kan samenhangen met het feit dat er in de tweede proef minder vitale sporen aanwezig waren om te doden.
- De behandelingstijd van 30 minuten geeft steeds een iets beter resultaat dan de behandelingstijd van 5 minuten. Het lijkt erop dat de middelen na ongeveer 10 minuten zijn uitgewerkt.
- Degaclean Plus is maar fractioneel effectiever dan Degaclean. Uitgaande van de norm dat minimaal een doding van 99,9% moet worden gerealiseerd, kan worden geconcludeerd dat zowel 1000 ppm Degaclean als 1000 ppm Degaclean Plus

voldoende effectief is tegen *Fusarium oxysporum*.

- De sporen zijn na de behandeling niet weggeoxideerd; na de behandelingen met Degaclean worden gemiddeld 126.000 sporen geteld per ml drainwater en na toepassing van Degaclean Plus is dit aantal gemiddeld 114.000. De berekende toevoeging van het aantal sporen was 100.000 sporen per ml drainwater. Ook is er geen afname in het aantal sporen bij toenemende concentratie product.

4. CONCLUSIE

Waterstofperoxide (35%) en PerAzur 470 zijn onvoldoende effectief gebleken tegen *Fusarium oxysporum* bij doseringen tot en met 400 ppm product. Er werd bij de geteste doseringen geen effect vastgesteld, omdat er per behandeling met twee verdunningen is gewerkt, die beiden resulteerden in een ontelbaar aantal *Fusarium*kolonies op de petrischalen.

Degaclean en Degaclean Plus zijn voldoende effectief (minimaal 99,9% doding) bij een dosering van 1000 ppm product.

De behandelingstijd van 30 minuten geeft maar een lichte verbetering in het resultaat ten opzichte van de behandelingstijd van 5 minuten. Waarschijnlijk zijn deze producten na ongeveer 10 minuten uitgewerkt.

De *Fusarium*sporen worden niet weggeoxideerd door de producten. Tellingen onder de microscoop wezen uit dat na de effectieve behandelingen het aantal sporen nog even hoog was als vóór de behandelingen, namelijk ongeveer 100.000 sporen per ml drainwater.

Er is geen effect vastgesteld van de neutralisator natriumsulfiet op de *Fusarium*sporen.

BIJLAGE 1. pH-gegevens eerste proef

PRODUCT EN BEHANDELING	CONCENTRATIE			
	0 PPM	100 PPM	200 PPM	400 PPM
WATERSTOFPEROXIDE				
pH in drainwater + product	5.7	5.7	5.7	5.7
pH in drainwater + product + neutralisator	-	5.7	5.7	5.7
PERAZUR				
pH in drainwater + product	5.6	5.6	5.6	5.5
pH in drainwater + product + neutralisator	-	5.6	5.6	5.5
DEGACLEAN				
pH in drainwater + product	5.6	5.6	5.5	5.3
pH in drainwater + product + neutralisator	-	5.6	5.5	5.3

- = niet getest

BIJLAGE 2. pH-gegevens tweede proef

BEHANDELING	CONCENTRATIE DEGACLEAN			
	0 ppm	400 PPM	1000 PPM	4000 PPM
pH in drainwater + product	5.0	4.6	4.2	3.6
pH in drainwater + product + neutralisator	6.3	4.7	4.4	3.8
	CONCENTRATIE DEGACLEAN PLUS			
	0 PPM	200 PPM	400 PPM	1000 PPM
pH in drainwater + product	4.9	4.5	4.4	3.9
pH in drainwater + product + neutralisator	5.3	4.7	4.5	4.1

BIJLAGE 3. Tellingen *Fusarium*sporen na de behandelingen

Behandeling	Aantal <i>Fusarium</i> sporen per ml drainwater
Degaclean	
0 ppm - 30 min	88.000
400 ppm - 30 min	128.000
1000 ppm - 30 min	128.000
4000 ppm - 30 min	160.000
Degaclean Plus	
0 ppm - 30 min	136.000
200 ppm - 30 min	96.000
400 ppm - 30 min	88.000
1000 ppm - 30 min	136.000