

# Extra zuurstof in het voedingswater biedt meerwaarde als waterbehandeling tegen *P. cryptogea*

## 1 INLEIDING

*Phytophthora cryptogea* of bruin wortelrot veroorzaakt al verschillende jaren schade in de hydroteelt van sla. De oömyceet *P. cryptogea* kan de wortels in een heel korte tijd helemaal doen verslijmen, weggroten en volledig verdwijnen. In de praktijk neemt de infectiedruk sterk toe bij toenemende kas- en watertemperatuur. Ook bij lage waterstand in de bassin trekken hydrobedrijven het water onderaan de vijver/bassin en ondervinden problemen door snelle groei van pathogenen: bij gebruik van warm irrigatiewater met een meer anaeroob milieu, gedijen organismen beter en neemt de biofilm in de leidingen toe.

De omstandigheden voor het telen van gewassen worden steeds uitdagender. Enerzijds zoals hierboven vermeld door de klimaatsverandering en anderzijds door de beperkingen van toegestane middelen. Naast het gebruik van de juiste rassen die een tolerantie bieden tegen *P. cryptogea* is een goede waterbehandeling belangrijk om kwalitatieve sla te telen. In de zomer van 2023 zijn er op PSKW twee opeenvolgende proeven aangelegd waarbij vier verschillende behandelingen zijn vergeleken met een onbehandelde afdeling. In alle afdelingen gaat het drainwater eerst doorheen een snelle zandfilter en een actievekoolfilter, waarna dan het voedingswater nog een eventuele extra waterbehandeling kreeg.

In proef 1 vergelijken we een zo hoog mogelijke concentratie zuurstof (onder nanobubbels) in het voedingswater van de propere put op de kleine planten unit ( $\pm 16$  ppm) met de onbehandelde afdeling. Ook een behandeling waarbij we een proefmiddel op basis van saponinen in het voedingswater toevoegen wordt vergeleken met diezelfde onbehandelde afdeling. Daaropvolgend startte proef 2 waarin de combinatie zuurstof ( $\pm 20$  ppm) en koeling ( $\pm 18^\circ\text{C}$ ) in het voedingswater van de kleine planten unit en ook een afdeling met het gebruik van Taegro<sup>®</sup>, een fungicide op basis van *Bacillus amyloliquefaciens* stam FZB24, vergeleken we met een onbehandelde toepassing.

## 2 PROEFOPZET

### Infacteren van het systeem

Vooraleer we de proef konden starten moesten we infectie hebben in onze drie afdelingen. In april 2023 kregen we in dit serrecompartiment een natuurlijk opkomende infectie. Planten die geïnfecteerd waren plaatsten we aan de inlaat van de goot op de unit van de kleine planten om de verspreiding in de afdeling te stimuleren. Het plaatsen van de geïnfecteerde planten aan de bovenkant van de goot herhaalden we week na week voor de infectie. Daarnaast creëerden we in de serre stress om de groei van deze schimmel te bevorderen door het voedingswater te verwarmen tot  $25^\circ\text{C}$ , het schermdoek niet te gebruiken, de ramen aan de windzijde dicht te houden en aan de luwzijde meer te knijpen. Kraanvak 2 werd één keer droog gelegd, veel gietbeurten gedurende dag en nacht, de serre werd niet afgewit en de actieve koolfilter werd voor de start van de proeven niet gebruikt om de groei van *P. cryptogea* te promoten.

### Geteste producten/ behandelingen

Testen van verschillende waterbehandelingen bij matige infectie van *P. cryptogea*:

- **Proef 1:**
  - 1) Nanobubbels in voedingswater van kleine planten
  - 2) Proefmiddel op basis van saponinen
- **Proef 2:**
  - 3) Nanobubbels en koeling van voedingswater van kleine planten
  - 4) Taegro<sup>®</sup>, een product op basis van *Bacillus amyloliquefaciens* stam FZB24

### Teeltverloop Proef 1

Proeflocatie	Proefstation voor de Groenteteelt Sint-Katelijne-Waver – Afdeling 28, 29 en 30 MGS teeltnr. 174, 175 en 176
Proefplan	3 opeenvolgende zaaingen
Variëteit	Fairly (Enza Zaden) en Emeldia (Rijk Zwaan)
Zaaidatum	12 mei 2023 (nr. 174)
Datum op tray	25 mei 2023 (nr. 174)
Oogstdatum	3 juli 2023 (Herhaling 1) 10 juli 2023 (Herhaling 2) 17 juli 2023 (Herhaling 3)

<u>Kropsla</u>	<u>Zaadhuis</u>	<u>Resistentie HR</u>
Fairly	Enza Zaden	Bl:29-34,36EU; Nr:0; TBSV
Emeldia	Rijk Zwaan	Bl:29-40EU

De toevoer van zuurstof onder de vorm van nanobubbels en het gebruik van het proefmiddel op basis van saponinen, een biostimulant, werden getest op hun nevenwerking tegen *P. cryptogea*. De zuurstof werd toegediend in de propere put van de kleine planten door een Moleaer toestel. Het toestel haalt lucht uit de omgeving en enkel O<sub>2</sub> wordt als nanobubbels in het voedingswater gebracht. Het proefmiddel paste we op twee verschillende manieren toe. De eerste keer werd het proefmiddel bespoten op de jonge planten staande op de tray met een concentratie van 0,5%. Daarnaast werd het proefmiddel bij de start van de proef gedoseerd in de propere en drain put van de kleine planten met een concentratie van 0,3%. Het doseren in de put gebeurde éénmalig bij de start van de proef. De theorie achter het proefmiddel is dat saponinen een positief effect hebben op de opname van nutriënten. Een betere nutriëntenopname zou een gunstig invloed hebben op de plantgezondheid en –weerbaarheid. Daarnaast zouden de saponinen zich hechten aan het membraan, waardoor er scheuren ontstaan, de sporen afsterven en we zo een neveneffect zouden hebben tegen *P. cryptogea*. Dit is vergelijkbaar met het wassen van handen met zeep. Voor deze proef werd een proefontheffing aangevraagd. Deze proef is gestart op 16 mei 2023.



Foto 1: Moleaer toestel

### Teeltverloop Proef 2

Proeflocatie	Proefstation voor de Groenteteelt Sint-Katelijne-Waver – Afdeling 28, 29 en 30 MGS teeltnr. 182, 183, 184 en 185
Proefplan	4 opeenvolgende zaaingen
Variëteit	Fairly (Enza Zaden) en Emeldia (Rijk Zwaan)
Zaaidatum	7 juli 2023 (nr.182)
Datum op tray	13 juli 2023 (nr. 182)
Oogstdatum	28 augustus 2023 (Herhaling 1) 4 september 2023 (Herhaling 2) 11 september 2023 (Herhaling 3) 18 september 2023 (Herhaling 4)

<u>Kropsla</u>	<u>Zaadhuis</u>	<u>Resistentie HR</u>
Fairly	Enza Zaden	Bl:29-34,36EU; Nr:0; TBSV
Emeldia	Rijk Zwaan	Bl:29-40EU

De toevoer van zuurstof gecombineerd met koeling van het voedingswater en het gebruik van Taegro<sup>®</sup>, een fungicide van het bedrijf Syngenta op basis van *Bacillus amyloliquefaciens* stam FZB24, werden getest op hun (neven)werking tegen *P. cryptogea*. De zuurstof werd ook hier toegediend onder de vorm van nanobubbels in de propere put van de kleine planten door hetzelfde Moleaer toestel. Gedurende de volledige teelt hebben we het voedingswater op een temperatuur rond 18°C gehouden. Taegro<sup>®</sup> heeft een erkenning in sla onder glas als spuittoepassing bij een dosis van 0,37 kg/ha ter bestrijding van valse meeldauw (*Bremia lactucae*). In deze proef gebruiken we het product als druppeltoepassing en willen we bekijken of deze *Bacillus* zich gaat hechten aan de wortel om zo bescherming te bieden aan de sla tegen *P. cryptogea*. Taegro<sup>®</sup> werd elke week gedoseerd in de propere put van zowel de kleine als de grote planten. Hierdoor werd voor deze proef een profontheffing aangevraagd aangezien we een niet erkende druppeltoepassing testen. De proef is gestart op 17 juli 2023.

### Infectiegraad van *P. cryptogea*

In proef 1 hadden we een matige infectiedruk van *P. cryptogea*, terwijl we tijdens proef 2 een zwaardere infectie hadden. Dit kunnen we verklaren doordat juli iets minder warm was dan normaal. Het was eerder een natte en sombere maand, waardoor de gewenste matige infectiedruk bereikt werd. De zwaardere infectie in proef 2 komt door de late hittegolf die we kregen in september. September 2023 was de warmste septembermaand ooit sinds het begin van de metingen, wat ideale omstandigheden zijn voor de ontwikkeling van *P. cryptogea*.

### De beoordeling

De planten werden gescoord op rand, wortelgezondheid en wortelontwikkeling en daarnaast werd het kropgewicht mee genomen. Bij elke zaaiing werden telkens 16 planten op deze vier paramaters aan inlaat, midden en uitlaat beoordeeld, dit voor zowel het ras Fairly als het ras Emeldia. Voor rand werd een score gegeven op de hoeveelheid bruine puntjes aanwezig bovenaan de krop. Indien er geen rand aanwezig is krijgt dit score 9, indien de krop helemaal verwelkt en dus ook helemaal bruin zag kreeg dit score 1. Bij wortelgezondheid was: score 1 = volledig rotte wortels en 9 = spierwitte gezonde wortels. Bij wortelontwikkeling was: score 1 = amper of geen wortels en 9 = een grote hoeveelheid wortels aan de kluit. Het gewicht werd per krop apart gewogen. Het kropgewicht bleek de beste indicator te zijn voor de werking van de behandelingen.

## 3 RESULTATEN

### 3.1 PROEF 1

#### Fairly

Aangezien Fairly een gevoelig ras is voor *P. cryptogea* gaan we de verschillen in waterbehandelingen duidelijker zien bij het ras Fairly dan bij Emeldia, die een tolerantie heeft tegen *P. cryptogea*. Al de waterbehandelingen hebben een invloed op de kleine planten, aangezien het voedingswater van de kleine planten worden behandeld in deze proeven. Onderstaande foto's geven de verschillen in wortels weer waarbij de sla op kraanvak 3 staat, dus het einde van de kleine planten unit. Na 3 weken op de goot zien we bij de laatste herhaling van proef 1 mooie wortels bij de behandeling met zuurstofnanobubbels. Bij de onbehandelde toepassing zien we kortere wortels met bruinverkleuring. De wortels in de afdeling waar het proefmiddel wordt toegepast hadden de slechtste wortels.



Foto 2: Sla 3 weken op goot (staande op kleine planten unit) van de laatste beoordeelde zaaiing. Foto links uit de toepassing met zuurstofnanobubbels, foto midden uit onbehandeld toepassing en foto rechts behandeling met het proefmiddel

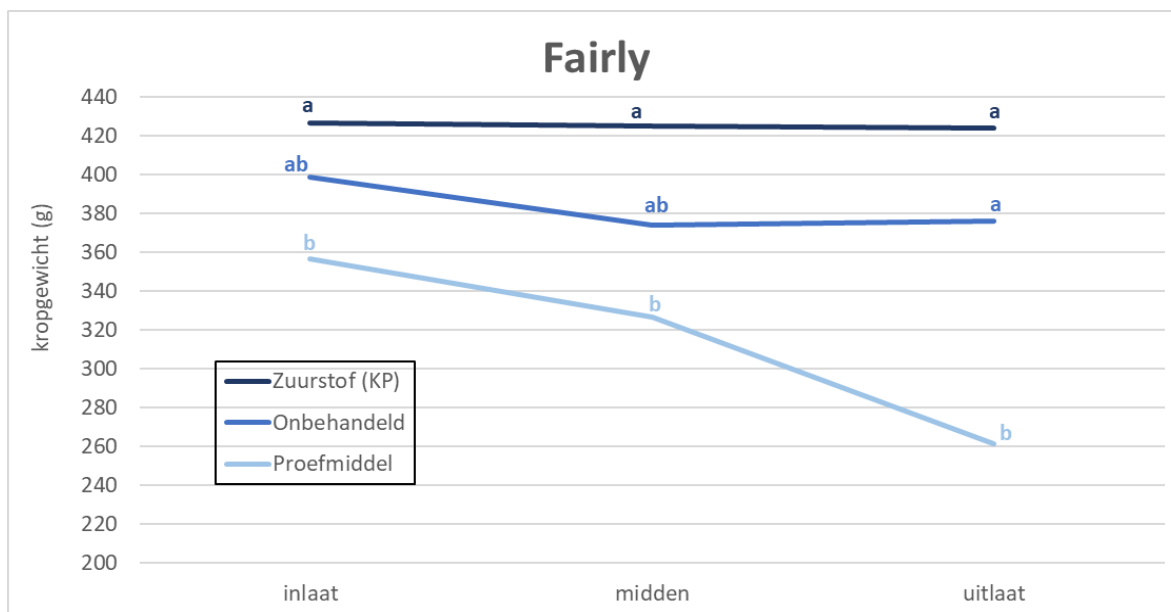
Onderstaande tabel geven de gemiddelde resultaten weer voor het ras Fairly van de vier beoordeelde opeenvolgende zaaiingen voor de drie verschillende behandelingen.

Tabel 1: Beoordelingsresultaten van Fairly (Enza) van de verschillende behandelingen in proef 1

	Kropgewicht	Wortel- gezondheid	Wortel- hoeveelheid	Rand
Nanobubbels	425,2 a	6,41 a	6,23 a	8,69a
Onbehandeld	382,8 a	5,77 a	5,43 ab	8,79a
Proefmiddel	315,1 b	5,51 a	5,19 b	7,89b

De gewichten liggen voor het ras Fairly het hoogst in de afdeling waar zuurstofnanobubbels wordt toegevoegd gevolgd door de onbehandelde afdeling, maar deze zijn niet significant verschillend. De laagste gewichten zagen we in de behandeling met het proefmiddel op basis van saponinen. Deze ligt significant lager dan de andere twee behandelingen. Voor wortelgezondheid en wortelhoeveelheid zien we de hoogste score bij de behandeling met zuurstofnanobubbels maar niet significant verschillend met de onbehandelde afdeling. Het proefmiddel kreeg de laagste score maar is ook niet significant verschillend met de onbehandelde afdeling.

Indien we de gemiddelde gewichten meer in detail bekijken (grafiek 1), zien we de grootste verschillen aan de uitlaat van de goot. De invloed van de nanobubbels werken tot over de hele goot door de gelijke gewichten aan inlaat, midden en uitlaat goot. Die typische *P. cryptogea* aantasting zien we bij de onbehandelde afdeling en de afdeling met toepassing van het proefmiddel, waarbij *P. cryptogea* meer aantasting geeft aan uitlaat van de goot ten opzicht van de inlaat. Het proefmiddel heeft duidelijk weinig effect op het reinigen van het voedingswater.



Grafiek 1: de gemiddelde gewichten aan inlaat, midden en uitlaat goot voor de drie verschillende waterbehandelingen

## Emeldia

Tabel 2: Beoordelingsresultaten van Emeldia (Rijk Zwaan) van de verschillende behandelingen in proef 1

	Kropgewicht	Wortel- gezondheid	Wortel- hoeveelheid	Rand
Zuurstof	479,1 a	6,43 b	5,69 a	8,23b
Onbehandeld	485,4 a	6,82 a	6,07 a	8,58a
Proefmiddel	490,1 a	6,98 a	6,17 a	8,06b

Voor het ras Emeldia, met een tolerantie tegen *P. cryptogea*, zien we geen verschillen in gemiddeld kropgewicht in de drie waterbehandelingen, alsook voor de score op wortelhoeveelheid. Voor wortelgezondheid heeft het ras Emeldia in de afdeling met zuurstofnanobubblen een significant lagere score ten opzichte van de onbehandelde toepassing, maar is in score een zeer klein verschil. Voor de score op rand zien we dezelfde trend. Al zijn de verschillen in scores zeer beperkt tussen de drie waterbehandelingen voor het ras Emeldia.



### 3.1 PROEF 2

#### Fairly

Onderstaande foto's geven de verschillen weer in wortels waarbij sla op kraanvak 3 staan, wat de laatste kraanvak is van de kleine planten unit.



Foto 2: Sla 3 weken op goot (staande op kleine planten unit) van de laatste beoordeelde zaaiing. Foto links uit gecombineerde toepassing nanobubbels en koeling, foto midden uit onbehandeld toepassing en foto rechts behandeling met Taegro®

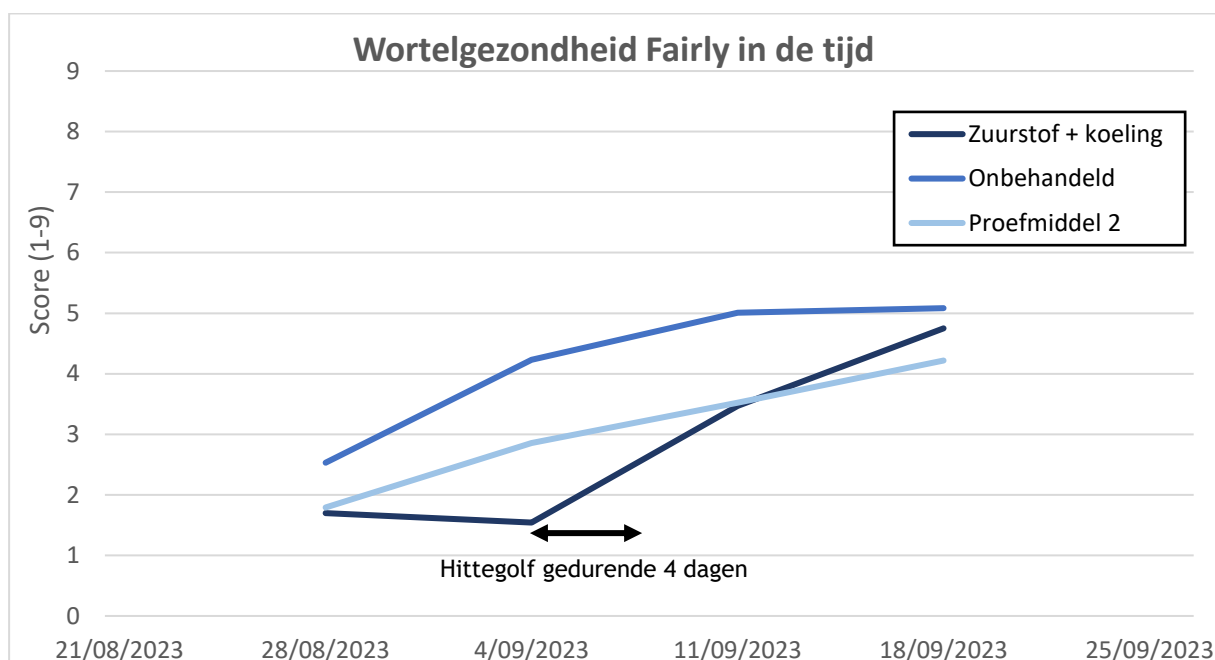
Onderstaande tabel geven de gemiddelde resultaten weer voor het ras Fairly van de vier beoordeelde opeenvolgende zaaiingen samen voor de drie verschillende behandelingen.

Tabel 3: Beoordelingsresultaten van Fairly (Enza) van de verschillende behandelingen in proef 2

	Kropgewicht	Wortelgezondheid	Wortelhoeveelheid	Rand
Zuurstof en koeling	153,2 b	2,86 b	2,80 b	5,30 b
Onbehandeld	254,1 a	4,21 a	4,12 a	6,67 a
Taegro®	183,3 b	3,09 b	3,09 b	5,44 b

Indien we de scores en gewichten bekijken zien we duidelijk dat er in proef 2 een hogere infectie is vergeleken met proef 1. Voor het ras Fairly kwam de onbehandelde toepassing in proef 2 er voor de vier verschillende parameters steeds significant beter uit. Een verklaring hiervoor is dat we in de onbehandelde afdeling enkele zaaiingen rassenproeven hebben aangelegd waardoor de infectie lichtelijk daalde in deze afdeling. Tussen de gecombineerde toepassing zuurstof met koeling en de afdeling Taegro® zijn er geen significante verschillen al zien we dat in de toepassing met Taegro® 30 gram meer gewicht wordt bereikt vergeleken met de gecombineerde toepassing zuurstof en koeling.

Indien we de wortelgezondheid per zaaiing bekijken (zie grafiek 2), kunnen we de verbetering van de wortelgezondheid in functie van de tijd voor de drie waterbehandelingen aantonen. Voor de onbehandelde toepassing is er gedurende de beoordeelde weken steeds een stijging van de wortelgezondheid met eerder een afvlakking naar het einde toe. Voor de toepassing met het product Taegro® zien we gedurende de vier weken ook steeds die stijging in wortelgezondheid maar er is geen verschil in verbetering waarneembaar vergeleken met de onbehandelde toepassing. De afvlakking in evolutie van wortelgezondheid zien we niet bij gebruik met Taegro®. Uit een andere proef bleek een spuittoepassing een betere werking te hebben dan een druppeltoepassing, waardoor er in 2024 een extra kleine proef zal aangelegd worden met Taegro® als spuittoepassing. Bij de gecombineerde toepassing van zuurstof en koeling zien we in de eerste week een daling van de wortelgezondheid. Door het temperatuurverschil (sterke daling) bij de opstart van de proef kunnen er veel sporen vrijgekomen zijn waardoor de infectie even verhoogd werd. Vanaf de tweede week zien we de werking van deze gecombineerde toepassing door een snelle stijging in wortelgezondheid in de opeenvolgende zaaiingen, ondanks de hittegolf vanaf 4 september 2023. Hierdoor willen we de positieve werking van de gecombineerde toepassing van zuurstof en koeling aantonen op de *P. cryptogea* infectie.



Grafiek 2: De wortelgezondheid per zaaiing in de tijd voor de drie waterbehandelingen

## Emeldia

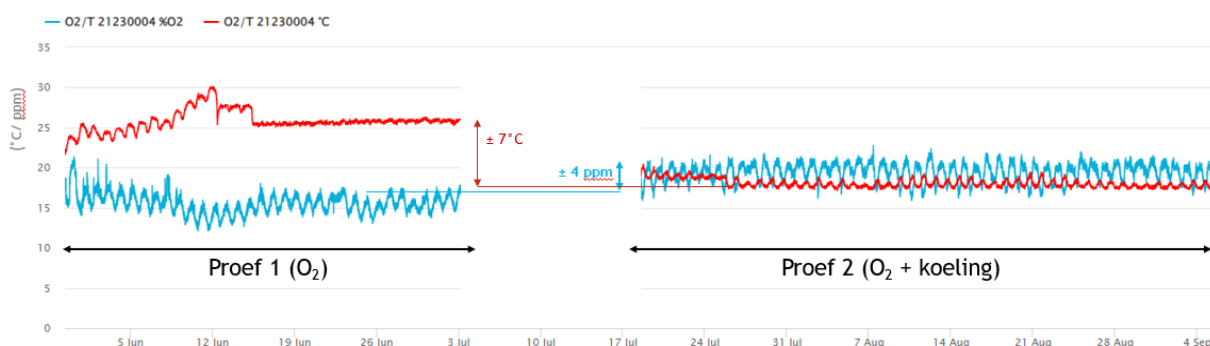
Tabel 4: Beoordelingsresultaten van Emeldia (Rijk Zwaan) van de verschillende behandelingen in proef 2

	Kropgewicht	Wortel-gezondheid	Wortel-hoeveelheid	Rand
Zuurstof en koeling	377,9 ab	4,90 a	4,42 ab	7,64a
Onbehandeld	390,1 a	5,66 a	5,17 a	7,65a
Taegro®	320,4 b	4,64 a	4,13 b	6,72b

Voor het ras Emeldia, met een tolerantie tegen *P. cryptogea*, zien we de hoogste gewichten bij de onbehandelde toepassing, gevolgd door de gecombineerde toepassing zuurstof en koeling en tenslotte de laagste gewichten bij de behandeling met Taegro®. Voor alle opgenomen parameters zien we geen significante verschillen tussen de gecombineerde toepassing zuurstof en koeling en de onbehandelde toepassing, maar wel tussen de toepassing met Taegro® en de onbehandelde toepassing, die het beduidend minder deed. Ook voor dit ras geldt dat de infectie in de onbehandelde afdeling was gedaald door de rassenproeven die in deze afdeling heeft gelegen.

## 3.2 TEMPERATUUR- EN ZUURSTOFMETINGEN GEDURENDE DE TWEE PROEVEN

Grafiek 3 toont de verschillen in watertemperatuur en de hoeveelheid zuurstof gemeten in de propere put gedurende proef 1 en proef 2. De temperatuur van het voedingswater bij de gecombineerde toepassing met koeling ligt ongeveer 7-8°C lager dan bij de behandeling waar enkel zuurstofnanobubbels werd toegevoegd. Door die lagere temperaturen bij de gecombineerde toepassing hebben we een hogere zuurstofcapaciteit en meten we ongeveer 4 ppm meer zuurstof dan in de behandeling waar enkel zuurstofnanobubbels worden toegevoegd.



Grafiek 5: Temperatuur- en zuurstofmetingen gedurende proef 1 en 2

## 4 BESLUIT

Om conclusies te kunnen nemen uit de geteste waterbehandelingen van 2023 moeten we in ons achterhoofd houden dat deze toepassingen preventieve behandelingen zijn. In deze proeven hebben we de toepassing gestart bij een aanwezige infectie van *P. cryptogea* en dus niet preventief toegepast.

Bij een zuurstofbehandeling op de unit van de kleine planten hadden we gemiddeld 40 gram hoger kropgewicht vergeleken met de onbehandelde toepassing. Er waren geen significante verschillen voor gewicht, wortelhoeveelheid, -gezondheid en rand, maar de scores waren steeds hoger bij de zuurstoftoepassing. Als de toepassing met zuurstofnanobubbel preventief wordt gebruikt, blijft vermoedelijk de ziektedruk meer onder controle. Om de *Phytophthora*-populatie volledig onder controle te houden zal een goed ras en/of tweede bijkomende toepassing zoals injecteren van H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nodig zijn.

Uit de gecombineerde behandeling gekoeld water en extra zuurstof in het voedingswater op de kleine planten unit kunnen we enkel een voorzichtige conclusie trekken. Het lijkt de infectiedruk wel te kunnen onderdrukken. Opnieuw is deze gecombineerde toepassing een preventieve behandeling. Het is de bedoeling deze gecombineerde toepassing in 2024 opnieuw toe te passen in combinatie met waterstofperoxide en een BCO om het positief effect te kunnen bevestigen als preventieve toepassing.

Het proefmiddel op basis van saponinen heeft geen effect op *P. cryptogea*.

In de tweede proef is Taegro<sup>®</sup> toegepast als druppeltoepassing, hierbij kunnen we geen effect aantonen. In 2024 willen we in een kleine opstelling het effect van Taegro<sup>®</sup> bekijken, maar dan als spuittoepassing op de jonge planten. We weten uit een andere proef in 2023 dat een spuittoepassing met een *Bacillus* betere resultaten geven dan een druppeltoepassing.

## 5 DANKWOORD

Dit onderzoek werd uitgevoerd in het kader van het LA-traject 'HydroPhyt: Alternatieve beheersing van *P. cryptogea* in de hydrocultuur van sla en witloof', met steun van het Agentschap Innoveren & Ondernemen.

T. Dockx

Proefstation voor de Groenteteelt, Sint-Katelijne-Waver