

En español

In English

Evaluación de la aplicación de agua electrolizada oxidante como fungicida en dos variedades de rosa (*Rosa sp*) en invernadero

Belén Rocío Fernández¹, Bernardo Castillo²,
Eliana Díaz³ y Jesús Hernán Camacho⁴

RESUMEN

La evaluación de la aplicación de agua electrolizada oxidante (EO) para el control de *Botrytis* (*Botrytis cinerea*), mildew polvoso (*Sphaerotheca pannosa*) y mildew veloso (*Peronospora sparsa*) en dos variedades de rosa bajo invernadero, tiene como objeto verificar la efectividad de esta nueva tecnología en contraste con el manejo químico tradicional, usando en los ensayos dos concentraciones de ácido hipocloroso en el agua EO, producidas bajo el proceso de electrólisis en la celda P1200 y aplicadas con un equipo estacionario de presión hidráulica a tres volúmenes (V1, V2 y V3). Las variedades comerciales de rosa (*Rosa sp*) estudiadas fueron dos: var. Orlando y var. Versilia. El agua EO usada fue tipo C, ligeramente ácida, pH 5,0, alto potencial de óxido-reducción (ORP) de +850 milivoltios (mV) con cloro en forma de ácido hipocloroso (HOCL), agua EO C-50 (50 ppm de HOCL) y agua EO C-75 (75 ppm de HOCL). Los resultados de los ensayos muestran la viabilidad del agua EO como fungicida a los diferentes volúmenes evaluados, siendo significativo el control de mildew polvoso de acuerdo con su alta incidencia por el factor climático. El mejor control de las enfermedades se obtuvo con la aplicación del mayor volumen, aunque con éste también se presentó la aparición de algunos folíolos rizados.

Palabras claves: agua electrolizada oxidante, volumen de aplicación, concentración de ácido hipocloroso, *Botrytis*, mildew polvoso, mildew veloso, rosas.

Recibido: mayo 6 de 2010

Aceptado: julio 15 de 2011

Introducción

Colombia es uno de los países de América Latina que posee mayor diversidad de variedades de flores debido a su lugar geográficamente estratégico. El área sembrada es cercana a 72,7 km², ocupando cerca de 182.000 empleos directos, siendo considerado uno de los sectores que contribuye a la generación de divisas. Colombia es actualmente el segundo exportador de flores del mundo. Las rosas representan cerca del 30% del total

Evaluating electrolysed oxidising water as a fungicide using two rose varieties (*Rosa sp*) in greenhouse conditions

Belén Rocío Fernández⁵, Bernardo Castillo⁶,
Eliana Díaz⁷ y Jesús Hernán Camacho⁸

ABSTRACT

The aim of evaluating electrolysed oxidising water (EOW) for controlling botrytis (*Botrytis cinerea*), powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa*) and downy mildew (*Peronospora sparsa*) using two greenhouse rose varieties was to verify this new technology's effectiveness by contrast with traditional chemical handling. Two concentrations of hypochlorous acid in EOW were produced during electrolysis in a P1200 cell and applied at three application volumes using stationary hydraulic pressure equipment. The commercial rose varieties (*Rosa sp*) used here were the Orlando and Versilia varieties. The EOW used was slightly acidic type C, pH 5.0, having high-oxide-reduction potential (ORP) +850 millivolts (mV). Two types of EOW were evaluated for this study: EOW C-50 (50 ppm HOCl) and EOW C-75 (75 ppm HOCl). The test results showed the feasibility of EOW as a fungicide at the volumes tested here, providing significant control of powdery mildew which has high incidence due to climatic conditions. The best disease control was achieved by applying the highest volume; however, some curled leaflets appeared with this application.

Keywords: Electrolysed oxidising water, application volume, hypochlorous acid concentration, powdery mildew, downy mildew, greymould, roses.

Received: May 6th 2010

Accepted: July 15th 2011

Introduction

Colombia is one of the Latin-American countries having the most diverse varieties of flowers due to its geographically strategic location. The planted area is close to 72.7 km², representing about 182,000 direct jobs; it is considered to one of the most important sectors for producing foreign exchange. Colombia is currently the second largest flower exporter in the world; roses account for about 30% of the country's total production figures

¹ Primacide S.A.S. bfernandezprimacide@ftenjo.com

² Ingeniero Agrícola, Universidad Nacional de Colombia. M.Sc. UNICAMP, Brazil, Ph.D. Universidad Politécnica de Valencia, España. Profesor Asociado, Universidad Nacional de Colombia. bcastilloh@unal.edu.co

³ Primacide S.A.S. ediazprimacide@ftenjo.com.

⁴ Ingeniero Agrícola, Universidad Nacional de Colombia. M.Sc. en ingeniería Agrícola, Universidad Estatal de Campinas. Profesor Asistente, Universidad Nacional de Colombia. jhcamachot@unal.edu.co

⁵ Primacide S.A.S. bfernandezprimacide@ftenjo.com

⁶ Agricultural Engineer, Universidad Nacional de Colombia. M.Sc. UNICAMP, Brazil, Ph.D. Universidad Politécnica de Valencia, Spain. Associate Professor, Universidad Nacional de Colombia. bcastilloh@unal.edu.co

⁷ Primacide S.A.S. ediazprimacide@ftenjo.com.

⁸ Agricultural Engineer, Universidad Nacional de Colombia. M.Sc. Agricultural Engineering, Universidad Estatal de Campinas. Assistant Professor, Universidad Nacional de Colombia. jhcamachot@unal.edu.co

En español

producido en el país (Asociación Colombiana de Exportadores de Flores, Asocolflores, 2007).

Existen varios agentes externos limitantes que afectan el cultivo de rosa, entre los cuales se encuentran las enfermedades causadas por hongos que perjudican el desarrollo de la planta y la producción, resaltándose la presencia de mildew veloso (*Peronospora sparsa*) (Mendoza et al., 2005), mildew polvoso (*Sphaerotheca pannosa*) y Botrytis (*Botrytis cinerea*) (Pasini et al., 1997).

El control de estas enfermedades en la floricultura se realiza normalmente con la aplicación repetida y constante de químicos, que presentan ingredientes activos tóxicos para el aplicador y que impactan el medio ambiente, lo que obliga al uso de implementos de protección personal y ambiental (Mendoza et al., 2005); este control genera un incremento permanente en los costos de producción.

El agua electrolizada oxidante (EO) es una nueva tecnología que podría dar respuesta a esa búsqueda de un control de plagas eficiente, económico y amigable con el medio ambiente. Esta tecnología se produce mediante el principio de electrólisis sobre la solución salina de agua y cloruro de sodio (NaCl), en que un flujo de corriente eléctrica pasa por dos electrodos que se encuentran en compartimentos separados por una membrana que regula el paso de iones (Kim et al., 2000; Buck et al., 2003). Cuando los electrodos son cargados eléctricamente el ánodo atrae los electrones del agua y el cátodo se los proporciona. Al final del proceso se obtiene agua con baja concentración de electrones en el ánodo y agua con alta concentración de electrones en el cátodo. La primera se conoce como agua "electrolizada oxidante" (EO), tiene alto grado de actividad electrónica debido al incremento de su capacidad de oxidación y, en busca del equilibrio eléctrico, presenta la propiedad de tomar electrones de aquellos organismos con los que esté en contacto (Kohno, 1996).

Por el proceso descrito el agua electrolizada oxidante presenta gran actividad fungicida al contacto con la superficie de las plantas. Buck et al. (2002) y Buck et al. (2003) reportaron una reducción total de la germinación de esporas en especies de hongos de pared delgada tales como *Botrytis cinerea* y *Monilinia fructicola*, las cuales fueron eliminadas al contacto con agua EO en intervalos menores a 30 s, mientras que esporas de hongos de paredes gruesas, como *Curvularia sp* y *Alternaria panax* requirieron mayores tiempos para reducir su germinación significativamente. En aplicaciones foliares de alto volumen Fujiwara et al. (2009) y Guentzel et al. (2011) consiguieron controlar mildew polvoso (*Sphaerotheca fuliginea* Pollacci) en hojas de pepino (*Cucumis sativus L.*) y *Botrytis cinerea* en plantas de fresa (*Fragaria sp.*), respectivamente.

Kohno (1996) halló que el agua EO no afecta las células de la epidermis de los seres humanos y de las plantas, ya que éstas presentan células de paredes más duras y gruesas que las células de los patógenos. En consideración al ácido hipocloroso presente y a un pH ligeramente ácido se debe evaluar la susceptibilidad del material vegetal objetivo a esta condición; sin embargo, Buck et al. (2003) afirman que la aplicación del agua EO vía foliar puede ser segura para una gran variedad de plantas ornamentales en condiciones de invernadero, al tiempo que Guentzel et al. (2011) consideran insignificante la fitotoxicidad causada por aplicaciones foliares de EO agua con 50 y 100 ppm de cloro

In English

(Asocolflores, 2007).

Several limitations affect rose growing, including fungal diseases that harm plant development and production, the most important being downy mildew (*Peronospora sparsa*) (Mendoza et al., 2005), powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa*) and botrytis (*Botrytis cinerea*) (Pasini et al., 1997).

Controlling such diseases in floriculture is typically done with the repeated and constant application of chemicals containing active toxic ingredients for applicators and the environment thereby forcing the use of personal protective equipment and environmental implements (Mendoza et al., 2005); such control leads to ever increasing production costs.

Electrolyzed oxidizing water (EOW) is a new technology that could respond to the search for economically effective and environmentally friendly pest control. This technology is produced through the principle of electrolysis of saline water and sodium chloride (NaCl) in which a flow of electric current is passed through two electrodes in compartments separated by a membrane regulating the passage of ions (Kim et al., 2000; Buck et al., 2003). The anode attracts water electrons from the cathode when the electrodes are electrically charged; At the end of the process, water having low electrode concentration is obtained at the anode and water having high electrode concentration at the cathode. The former, called electrolysed oxidising water (EOW), has high electron activity due to its increased oxidative capacity and, when searching for electrical balance has the property of taking electrons from the organisms which they come into contact with (Kohno, 1996).

EOW thus has high fungicidal activity when coming into contact with plant surfaces. Buck et al., 2002 and Buck et al., 2003 have reported an overall reduction in the germination of thin-walled fungal species' spores, such as *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructicola*, which were eliminated from contact with EOW at intervals of less than 30 seconds, while thick-walled fungal species, such as *Curvularia sp* and *Alternaria panax* required more time for germination to become significantly reduced. Fujiwara et al., 2009 and Guentzel et al., 2011 were able to control powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea* Pollacci) on cucumber leaves (*Cucumis sativus L.*) and *Botrytis cinerea* on strawberry plants (*Fragaria sp.*) in high volume foliar applications.

Kohno (1996) found that EOW did not affect human skin cells and plant cells as they have thicker and harder walls than pathogenic cells. Target plant material susceptibility to this condition should thus be evaluated when considering hypochlorous acid at a slightly acidic pH. However, Buck et al., 2003, have argued that applying foliar EOW may be safe for a variety of ornamental plants in greenhouse conditions, while Guentzel et al., 2011, have also considered the phytotoxicity caused by foliar applications of EOW to be negligible at 50 and 100 ppm total residual chlorine on strawberry plants.

residual total en plantas de fresa.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del agua electrolizada oxidante como fungicida, para el control de las enfermedades más importantes producidas por hongos, que afectan el cultivo de rosas en invernadero en la Sabana de Bogotá.

Materiales y métodos

Los ensayos se llevaron a cabo durante el segundo semestre del año 2007 en una finca productora de rosas para exportación, situada en el municipio de Tenjo, Cundinamarca.

Equipo de aplicación

Se realizaron las aplicaciones de agua EO semanalmente por medio de un equipo estacionario de presión hidráulica con bomba BEAN® 1287811 de 2,6 kW, capacidad de 37,85 L•min⁻¹, accionada por un motor trifásico 3,58 kW, 1700 rev•min⁻¹; manguera de 100 m de longitud que soporta 4,1 MPa, con regulador de presión y cuatro salidas para lanzas de aplicación. La lanza consta de tres boquillas (figura 1); se usaron tres tipos de boquillas, suministradas por el fabricante del equipo estacionario, identificadas como D-35 (un orificio), C-35 (dos orificios) y B-7 (tres orificios). El caudal de estas boquillas, a una presión de 1,7 MPa, fue de 2,8, 4,9 y 8,0 L•min⁻¹, respectivamente.

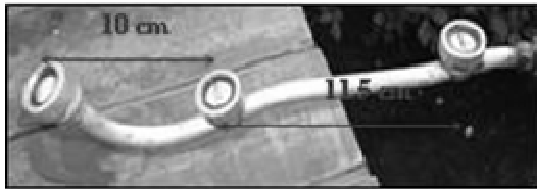


Figura 1. Lanza con tres boquillas usada en la aplicación de los tratamientos

El equipo usado para las aplicaciones tiene un tanque con capacidad de 1.100 L y se lavaba previamente con agua EO A-100 (pH 1,7 a 2,4, +1.160 mV de potencial de óxido-reducción (ORP) y 100 mg•kg⁻¹ de HOCl para eliminar residuos químicos que pudiera contener, a fin de evitar posibles alteraciones de las propiedades del agua para los tratamientos.

Material vegetal

Se evaluaron dos variedades comerciales de rosas cuyo portainjerto es del tipo Natal Briar: la variedad Orlando y la variedad Versilia. La primera es del tipo híbrido de té, de botón rosado fuerte de 6 cm, tallo de 60-70 cm. La segunda variedad es de color salmón rosado, largo promedio de 70 cm y botón de 6 cm. La aplicación para la variedad Orlando se realizó durante 11 semanas y para la variedad Versilia durante 7 semanas. Las plantas se encontraban en condiciones ambientales típicas bajo sistema de invernadero, con control climático mediante cortinas accionadas mecánicamente y ductos que cierran las aberturas cenitales.

Aplicación de agua EO

Las clases de agua EO aplicadas fueron, agua C-50 (50 mg•kg⁻¹ de Cl) y agua C-75 (75 mg•kg⁻¹ de Cl) con un pH de 5,0, +850

This study was aimed at evaluating the effect of electrolysed water as a fungicide for controlling major diseases caused by fungi that affect roses grown in greenhouses on the Savannah around Bogotá.

Materials and Methods

The tests were carried out during the second half of 2007 on a farm producing roses for export, located in Tenjo, Cundinamarca.

Application equipment

EOW applications were made weekly using stationary hydraulic equipment with a 2.6 kW capacity 37.85 L•min⁻¹ BEAN pressure pump powered by a 3.58 kW, 1,700 rev•min⁻¹ AC motor. 4.1 MPa 100 m length hose with pressure regulator and four outputs for application nozzles was used. The lance had three nozzles (Figure 1); three types of nozzle were used, identified as D-35 (one hole), C-35 (two holes) and B-7 (three holes); 1.7 MPa nozzle flow was 2.8, 4.9 and 8.0 L•min⁻¹, respectively.

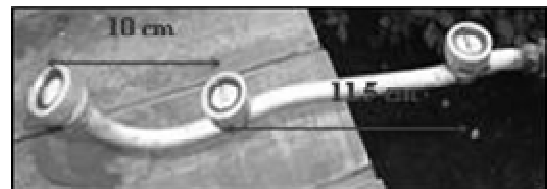


Figure 1 Three-nozzle lance used for applying the treatments

The equipment used for applications had 1,100 L tank capacity. The tank had been previously washed with EOW A-100 (at pH 1.7 to 2.4, +1160 mV ORP and 100 mg•kg⁻¹ HOCl) to remove chemical residues and thus avoid possible alteration of treatment water properties.

Plant material

Two commercial varieties of rose were evaluated whose rootstock is natal briar: Orlando and Versilia. The first was a hybrid tea type, having 6 cm hot pink flower bud and 60-70 cm stem length. The second variety was salmon pink, having 70 cm average stem length and 6 cm flower bud. The product was applied to the Orlando cultivar for 11 weeks and for 7 weeks to Versilia. The plants were kept in typical environmental conditions in a climate-controlled greenhouse system by using mechanically operated curtains and ducts closing zenith openings.

EOW application

The EOW types applied here were: C-50 water (50 mg•kg⁻¹ Cl)

mV de ORP; este tipo de agua C corresponde a agua EO ligeramente ácida (Kitamura *et al.*, 2009). El agua se aplicó por un período constante de 1,9 min por cama y con los caudales mencionados se obtuvieron volúmenes de aplicación por cama de 5,3 L (tratamiento V1), 9,3 L (V2) y 15,2 L (V3). En cada una de las aplicaciones se registraron los datos de pH y ORP en la planta de producción de agua, en el tanque de aplicación y a la salida de la boquilla. Estos registros se consiguieron mediante el uso de pH-metros Hanna H198128 de precisión $\pm 0,01$ y para medición de ORP el equipo Hanna H198120 de precisión ± 2 mV.

El agua EO se aplicó semanalmente en horas de la mañana con una técnica en la que se realiza un movimiento en arco con la lanza iniciando desde la parte baja de las plantas hasta el dosel, por cada lado de la cama tratamiento, buscando que el agua pulverizada sea depositada en el haz, en el envés y en el botón de las plantas. Fue necesario el uso de un coadyuvante tensoactivo no iónico comercial para reducir el deslizamiento del agua en la hoja y permitir mayor recubrimiento.

Se usaron camas testigo a las que se les aplicaron fungicidas convencionales en un plan de rotación en el que semanalmente se aplicó un químico para determinada enfermedad, según la sanidad de las plantas. Para el control de *Sphaerotheca pannosa*: tebuconazole y triadimenol, dosis $0,7 \text{ cm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ agua; spiroxamina, dosis $0,35 \text{ cm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ agua; dodemorph acetato, dosis $2,5 \text{ cm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ agua; para el control de *Botrytis cinerea*: carbendazim, dosis $0,35 \text{ cm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ agua; boscalid, dosis $1,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ agua, fludioxonil y ciprodinil, dosis $0,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ agua; y para *Peronospora sparsa*: azoxystrobin, dosis $0,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ agua; metalaxil-M, dosis $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ agua; triflumizole, $1,5 \text{ cm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ agua con los mismos volúmenes de aplicación.

Evaluación de tratamientos

El monitoreo de sanidad de las camas se realizó después de cada aplicación mediante la cuantificación de la incidencia de las tres enfermedades y de severidad de la enfermedad de mildew polvoso. También se evaluaron signos de susceptibilidad a los componentes de los tratamientos sobre las plantas mediante la presencia de folíolos afectados con rizamiento y un análisis foliar fisicoquímico. Estos análisis se efectuaron en todo el invernadero de una muestra aleatoria de material foliar del tercio medio de las plantas de cada cama, antes de iniciar las aplicaciones de agua EO, y en cada tratamiento después de llevadas a cabo todas las aplicaciones.

La incidencia de las enfermedades se evaluó como el porcentaje de plantas afectadas por la enfermedad sobre la población evaluada, y la severidad como el grado de afección de la enfermedad en una planta usando una escala de 0 a 5, donde el menor valor corresponde a un 0% de incidencia de la enfermedad y el mayor a un 100%.

Diseño experimental

Para el análisis de los datos se empleó un diseño factorial de 3^2 , 2 factores cada uno de ellos con tres niveles y tres repeticiones. Para el factor "agua" dos de los niveles fueron las clases de agua EO ya mencionadas, y el tercer nivel lo constituyó el producto químico en uso para el control de las enfermedades evaluadas. Para el factor "volumen" fueron tres niveles, correspondientes a los volúmenes de aplicación V1, V2 y V3. Se usó análisis de varianza multifactorial (modelo GLM), y a los efectos de estudiar

and C-75 water ($75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Cl}$) at pH 5.0, +850 mV ORP (oxidation/reduction potential). This type of C water has a slightly acid EOW, Kitamura *et al.*, (2009). Water was applied for a constant period of 1.9 min per bed with the abovementioned flows. Application bed volumes were 5.3 L (treatment V1), 9.3 L (V2) and 15.2 L (V3). pH and ORP measurements per water production plant and out of the nozzles were recorded for every application. A Hanna H198128 hand-held pH-meter (± 0.01 precision) and ORP measurements with Hanna H198120 precision ± 2 mV were used for obtaining these records.

EOW was applied weekly in the mornings using a technique in which the lance was moved in an arc, starting from the bottom and spraying upwards towards the canopy of the plants for treating each side of the bed, taking care that water spray was deposited on the upper and lower surfaces of the leaves and buds of the plants. A commercial non-ionic surfactant was used to reduce water slip on leaves and allow greater coverage.

Conventional fungicides were applied weekly to control beds in a rotation scheme according to plant health. Tebuconazole and triadimenol were used for controlling *Sphaerotheca pannosa* ($0.7 \text{ cm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ water dose), dodemorph acetate for *Spiroxamina* ($0.35 \text{ cm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ water), carbendazim ($2.5 \text{ cm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ water), boscalid ($0.35 \text{ cm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ water), fludioxonil ($1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ water) and ciprodinil ($0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ water) for *Botrytis cinerea* and azoxystrobin ($0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ water), metalaxyl-M ($6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ water), triflumizole ($1.5 \text{ cm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ water) for *Peronospora sparsa* with the same water application volumes.

Evaluating treatments

The beds' health was monitored after each application by quantifying the incidence of the three diseases and powdery mildew severity. The susceptibility to treatment compounds on plants was also evaluated by measuring the presence of curling leaflets and foliar physicochemical analysis. These tests were conducted in the greenhouse on random samples of foliar material from the middle third of the plants in each bed before starting EOW application and after completing all applications.

The incidence of disease was assessed as the percentage of plants affected by such disease in the population being evaluated and severity affecting a plant on a scale of 0 to 5 (the lowest value = 0% incidence and the greatest = 100%).

Experimental design

A 3^2 factorial design was used for data analysis, two factors having three levels and three replications. For "Water", two of the levels were the EOW types and the third was the chemical used for the control treatment. For "Volume", the three levels were the V1, V2 and V3 application volumes. Multivariate analysis of variance (GLM model) was used and to study the differences between factor levels using the LSD method.

las diferencias entre niveles de factores se utilizó el método LSD.

Resultados y discusión

Variedad Orlando

De las tres enfermedades evaluadas solamente hubo una incidencia importante del mildew polvoso, dado que la presencia de mildew veloso y *Botrytis* en el período analizado fue muy baja en todos los tratamientos (menor al 1%). No hay evidencia experimental de una acción preventiva de los tratamientos usados, puesto que las condiciones ambientales en la mayor parte del tiempo evaluado no fueron propicias para la esporulación de mildew veloso y de *Botrytis*.

Como se observa en la tabla 1, se presentó un efecto significativo de los factores agua y volumen sobre la incidencia de mildew polvoso al nivel del 5% de probabilidad, así como también su interacción.

En la figura 2 se muestra que en los tratamientos con agua EO se presentó menor incidencia del mildew polvoso en comparación con el tratamiento que incluía la rotación de fungicidas convencionales.

Tabla 1. Significación estadística de los efectos principales y su interacción sobre las variables dependientes del ensayo en la variedad Orlando. *Efecto significativo al 95% de nivel de confianza

	Incidencia de mildew polvoso		Foliolos rizados	
	F	P	F	P
Agua	22,49	0,00*	30,83	0,00*
Volumen	14,61	0,00*	24,78	0,00*
Agua X Volumen	2,98	0,02*	11,97	0,00*

Results and Discussion

Orlando variety

Only powdery mildew incidence was significant regarding the three diseases evaluated, since downy mildew and botrytis presence during the analysed period was very low in all treatments (less than 1%). There was no experimental evidence of preventive action by the treatments being used since climatic conditions during most evaluation times were not conducive to downy mildew or botrytis sporulation.

Table 1 shows the significant effect of Water and Volume on powdery mildew incidence at 5% probability level, as well as their interaction.

Figure 2 shows that EOW treatment had lower powdery mildew incidence compared to treatment that included conventional fungicide rotation.

Table 1 Statistical signification of the main effects and interaction regarding dependent variables for the Orlando trial. *Significant effect at 95% confidence level

	Incidence of powdery mildew		Affected leaflets	
	F	P	F	P
Water	22.49	0.00*	30.83	0.00*
Volume	14.61	0.00*	24.78	0.00*
Water X volume	2.98	0.02*	11.97	0.00*

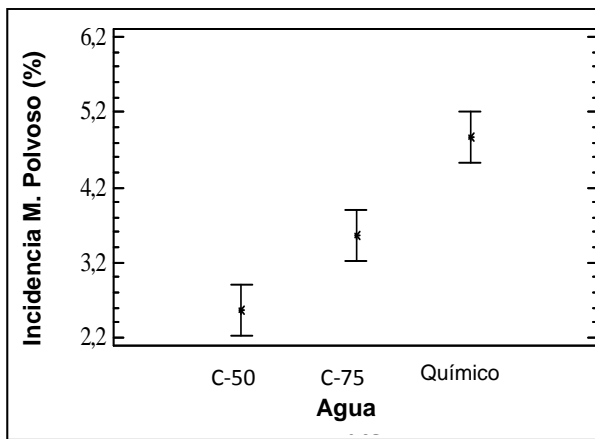


Figura 2. Efecto del tipo de agua y químicos aplicados en la incidencia de mildew polvoso en la variedad Orlando

Entre los tratamientos de agua EO, la C-50 consiguió un mejor control que la C-75, significativo al 95% de probabilidad. En cuanto al volumen de aplicación de los líquidos, la figura 3 es concluyente en mostrar que el mayor volumen (15,2 L por cama) conduce a un mejor control de esta enfermedad, mientras que no hay diferencia entre los dos volúmenes menores en el promedio de todos los líquidos usados.

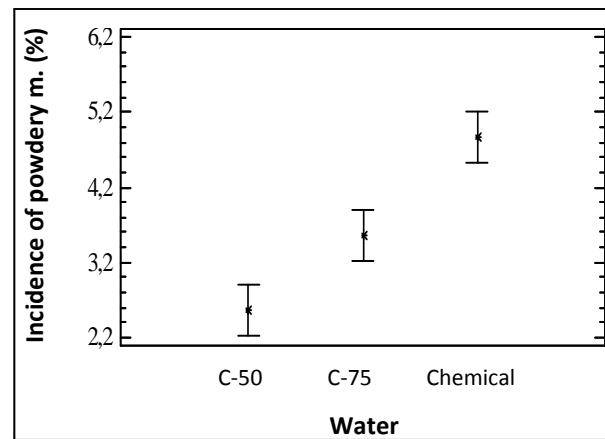


Figure 2 Effect of water type and chemical applied on powdery mildew incidence in the Orlando variety

C-50 EOW led to better control than C-75 (being significant at 95% probability). In terms of liquid application volume, Figure 3 is conclusive in showing that the largest volume (15.2 L per bed) led to better control of this disease, while there was no difference between the two lower volumes regarding the average of all liquids used.

En español

En la figura 4 se observa la interacción entre los factores: tipo de agua y volumen aplicado, la cual señala que el mejor control de mildew polvoso se obtuvo con la utilización de agua C-50 y el mayor volumen de aplicación, aunque para esta EO podrían usarse también volúmenes menores y alcanzar un control semejante.

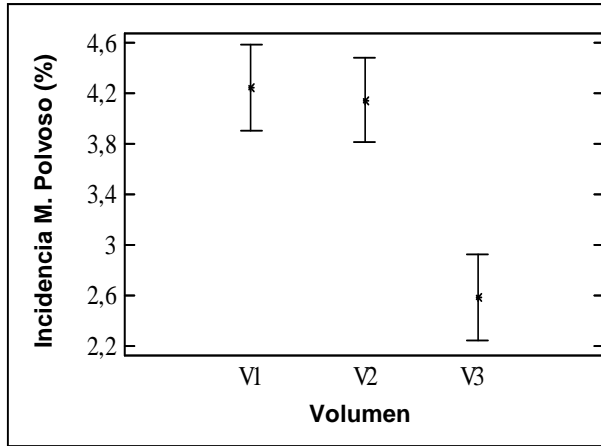


Figura 3. Efecto del volumen de aplicación en la incidencia de mildew polvoso en la variedad Orlando

El hecho de que el agua EO C-50 haya conseguido el mejor control en comparación con la C-75 no resulta fácil de explicar, puesto que conforme a varios autores (Al-Haq *et al.*, 2005; Liao *et al.*, 2007; Cui *et al.*, 2009) el efecto bactericida y fungicida de las aguas EO reside en la acción combinada del alto ORP, bajo pH y la concentración de cloro libre disponible (en forma de cloro molecular o de ácido hipocloroso), que para este caso es la única diferencia entre los dos tipos de agua. Por lo tanto, el agua C-75 que tiene una mayor concentración de cloro libre, debería tener una mayor acción fungicida, en tanto que su acción por contacto sustenta totalmente el mejor resultado con el volumen de aplicación mayor. Por lo demás, ya Yamaki (1998), citado por Al-Haq *et al.* (2005), había conseguido el control de mildew polvoso por más de dos semanas después de la siembra en pepino, igual que Müller *et al.* (2003) lo había hecho durante varias semanas en *Gerbera jamesonii*, un cultivo ornamental bajo invernadero, pero haciendo énfasis como tratamiento preventivo más que curativo y como complemento en un manejo integrado de este hongo.

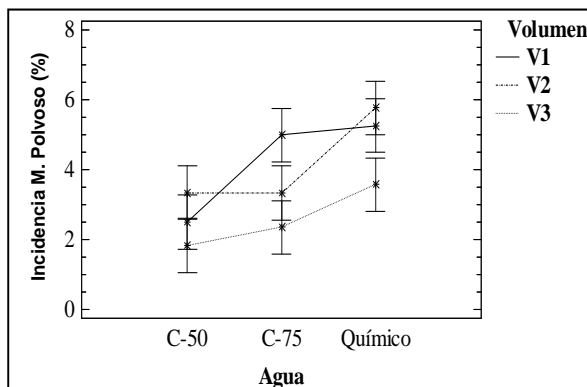


Figura 4. Efecto de la combinación de los factores agua y volumen sobre porcentaje de incidencia de mildew polvoso en la variedad Orlando

In English

Figure 4 shows the interaction between applied water type and volume. The best control was achieved by using EOW C-50 and a higher application volume, although lower volumes could also be used for this EOW to accomplish such control.

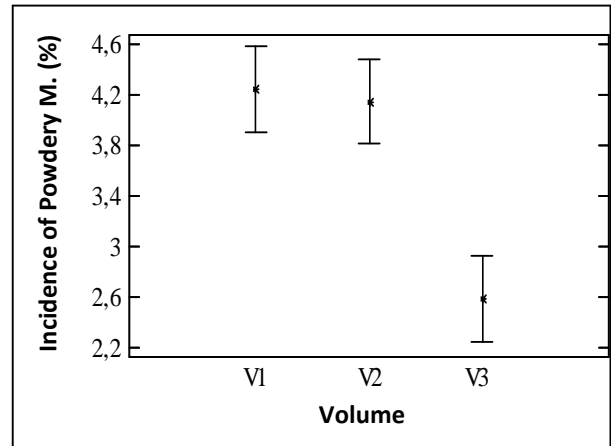


Figure 3 Effect of application volume on powdery mildew incidence for the Orlando variety

The fact that EO C-50 attained the best control was not easy to explain since, according to several authors (Al-Haq *et al.* 2005; Liao *et al.* 2007; Cui *et al.* 2009), EOW's bactericidal and fungicidal effect lies in the combined action of high ORP, low pH and free available chlorine concentration (as molecular chlorine or hypochlorous acid) which, in this case, was the only difference between two types of water. C-75 water having higher free chlorine should thus have been more fungicidal and its action by contact fully supported the best result for the highest application volume.

Yamaki (1998) quoted by Al-Haq *et al.*, (2005) managed to control powdery mildew for more than two weeks in cucumber, the same as Müller *et al.*, (2003) did for several weeks in *Gerbera jamesonii* (an ornamental specie) in greenhouse conditions, but as a preventative treatment rather than a curative one and as a complement to integrated management of this fungus.

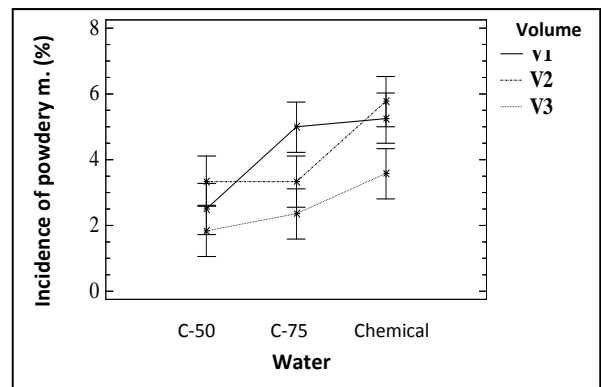


Figure 4 The effect of a combination of water and volume on powdery mildew incidence percentage for the Orlando variety

En español

Si bien la incidencia de mildew veloso y *Botrytis* se dio muy baja, su comportamiento fue similar, dado que el menor porcentaje de incidencia de la enfermedad se presentó con la aplicación de altos volúmenes de agua EO.

Por otra parte, las aplicaciones de agua EO en la variedad Orlando presentaron efecto estadísticamente significativo respecto al porcentaje de foliolos afectados, como se señala en la tabla 1; éste aumentó con el uso de altos volúmenes y la aplicación de agua C-75. La figura 5 describe este hecho, así como también muestra que para el volumen menor, independientemente del producto usado, el porcentaje de foliolos afectados es bajo, y que el uso de las EO con altos volúmenes favorece la aparición de foliolos rizados. Sin embargo, la presencia de éstos fue transitoria en el ciclo de dicha variedad, y en el momento del corte de la flor ésta cumplió con los estándares de producción y calidad para exportación.

El análisis foliar fisicoquímico reveló elevadas concentraciones de sodio en el follaje antes y después de las aplicaciones de los tratamientos con agua EO (figura 6). El valor más alto fue cercano a 500 ppm con el tratamiento de agua C-75 x V3, y el más bajo de los tratamientos fue agua C-50 x V1, lo cual concuerda con el resultado referente a la fitotoxicidad. En general, todos los tratamientos que incluyeron el uso de agua EO estuvieron por encima de los 200 ppm de sodio, siendo éste el umbral permisible de concentración de sodio en follaje de rosas que propone Calderón, 2001.

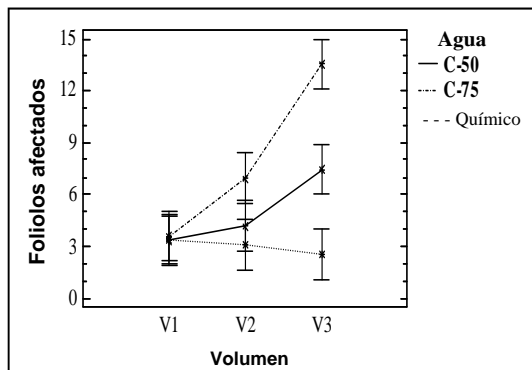


Figura 5. Foliolos afectados por los tratamientos aplicados en la variedad Orlando respecto a la interacción de los factores agua-volumen

Las altas concentraciones de sodio generan fitotoxicidad, la cual puede verse reflejada en cambios de las características de las plantas que van a afectar su aspecto físico con la modificación de la morfología de la hoja, reduciendo el área fotosintéticamente activa y con ésta la cantidad de fotoasimilados producidos para un adecuado desarrollo del botón floral; sin embargo, aunque ante algunas aplicaciones las plantas rizaban sus foliolos, esto no persistía, conservándose las características de esta variedad sin alterar la producción; por el contrario, el follaje de las plantas de esta variedad se limpió de residuos químicos y lució más verde.

Cabrera (2006), en la evaluación de la sensibilidad a la salinidad en rosas, analizó los rendimientos de masa seca, daño foliar y concentraciones en tejidos foliares de rosas injertadas sobre varios portainjertos y fertirrigadas con soluciones nutritivas que contenían niveles crecientes de NaCl. Se encontró en este estudio que las acumulaciones de Na y Cl, y en la misma proporción

In English

While powdery mildew and botrytis incidence was very low, their behaviour was similar, as the lowest percentage for disease incidence was presented with the application of high volumes of EOW.

Applications of EOW in the Orlando variety had a statistically significant effect regarding the percentage of affected leaflets (as noted in Table 1). This increased with the use of high C-75 EOW application volumes. Figure 5 describes this and also indicates that for the smallest volume, regardless of the product used, the percentage of affected leaflets was low, and high volumes promoted the appearance of curled leaflets. However, the presence of these was transient in this variety's cycle and, when the flower was cut, this met the export production quality standards.

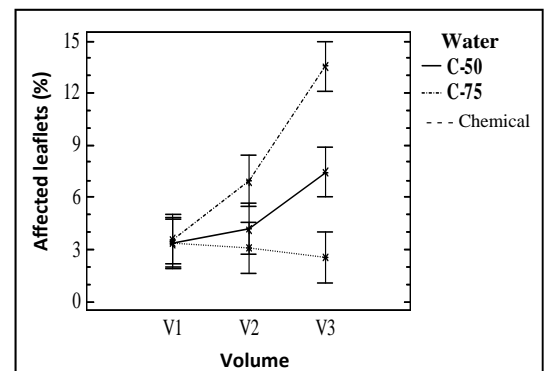


Figure 5 The percentage of Orland variety affected leaflets of regarding interaction factors

High sodium concentrations produce phytotoxicity which can be reflected in changes of the plants' characteristics which would affect their physical appearance with changes in leaf morphology, thereby reducing the active photosynthetic area and the amount of photo assimilates for proper flower bud development. However, even though some plants curled their leaflets when EOW was applied, this did not persist, thereby preserving this variety's features without altering its yield; on the contrary, the foliage became cleared of chemical residues and looked greener.

Cabrera, (2006) when assessing sensitivity to salinity in roses, analysed the yield of dry mass, leaf damage and sodium leaf tissue concentration of roses grafted onto various rootstocks and fertilised with nutrient solutions containing increasing levels of NaCl. He found that Na and Cl accumulation and leaf damage (necrosis differential burns) in the Bridal White roses' leaf tissue

En español

el daño foliar (necrosis y quemaduras diferenciales) en el tejido foliar de rosas Bridal White, fueron influidas significativamente por el tipo de portainjerto. Para plantas sobre portainjertos como *R. manetti* y *R.x Dr. Huey* mostraron cambios mínimos en la concentración de Na en las hojas; a su vez, plantas injertadas sobre *R.x Natal Briar* y *R. odorata* respondieron acumulando los niveles más altos de Na, lo que sugiere entonces que “los mecanismos de exclusión de sodio en el tejido foliar en rosas son significativos y diferencialmente influidos por la raíz (p. e. portainjertos)”.

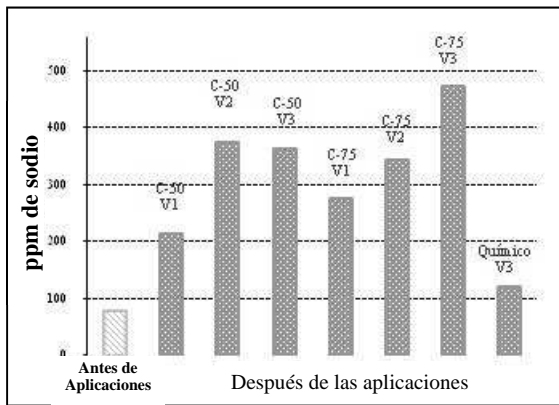


Figura 6. Concentración foliar de sodio para la variedad Orlando, antes y después de las aplicaciones con agua EO y químicos convencionales

Varietad Versilia

La combinación de los factores agua-volumen presentó estadísticamente un efecto significativo sobre el control de mildew polvoso. Según la figura 7, todos los tratamientos presentan valores por debajo del 5% de incidencia. Nuevamente la interacción C-50 x V1 presenta el mejor efecto en el control de mildew polvoso en comparación con cualquiera de las combinaciones de los tratamientos del químico.

El factor volumen tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la incidencia de mildew veloso en los tratamientos, aunque como lo muestra la figura 8, se presentan valores muy pequeños de porcentaje de la enfermedad. Hay una mayor incidencia con el menor volumen con respecto a los otros dos.

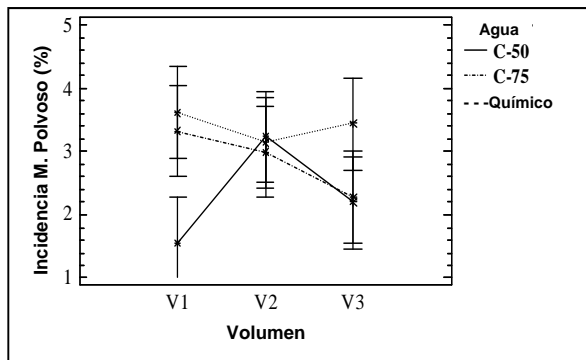


Figura 7. Efecto de la combinación de los factores agua y volumen sobre porcentaje de incidencia de mildew polvoso en la variedad Versilia

Conforme con los resultados, los niveles de incidencia de *Botrytis* fueron muy pequeños para las variedades Versilia y Orlando,

In English

were significantly influenced by rootstock type. Plants on rootstocks such as *R. manetti* and *R.x Dr Huey* showed minimal changes in sodium concentration in leaves; plants grafted onto *R.x Natal Briar* and *R. odorata* rootstocks responded by accumulating higher levels of Na, suggesting that sodium exclusion mechanisms in rose foliar tissue are significant and differentially influenced by the root (i.e. the rootstock).

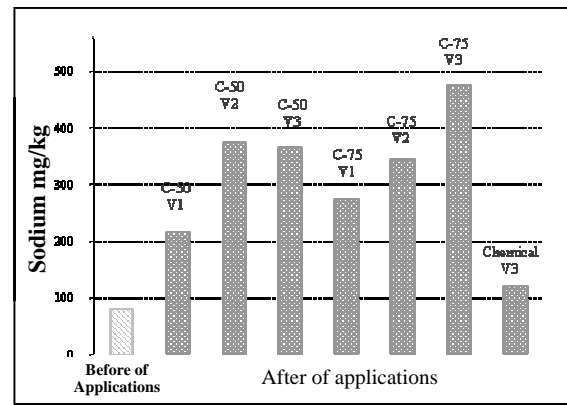


Figure 6 Foliar concentration of sodium for the Orlando variety before and after EOW and conventional chemical application

Versilia variety

The combination of Water x Volume had a statistically significant effect on powdery mildew control. According to Figure 7, all treatments led to below 5% incidence. Again, the C-50 x V1 interaction had the best effect on controlling powdery mildew compared to any combination of chemical treatments.

Volume had a statistically significant effect on downy mildew incidence although, as shown in Figure 8, this accounted for a very small percentage of the disease. There was higher incidence with the lower volume compared to the other two.

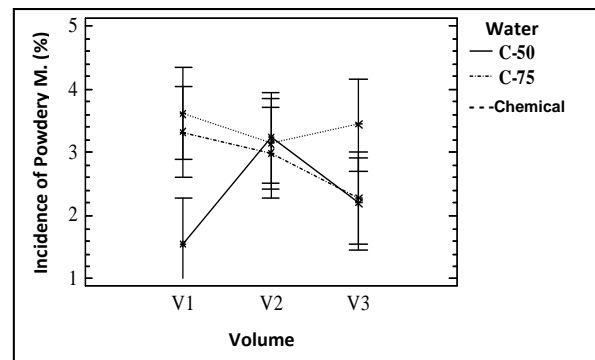


Figure 7. The combined effect of volume and water on powdery mildew incidence percentage in the Versilia variety

Botrytis incidence was very low for the two varieties analysed, which may have been due to EOW properties in removing any

En español

In English

lo cual puede deberse a las propiedades del agua para eliminar cualquier brote de la enfermedad, o a que el agua EO genera un ambiente más saludable alrededor de las plantas, lo que propicia un buen crecimiento y una disminución de esporas en el ambiente.

outbreak or that EOW created a healthier environment around plants promoting good growth and a reduction of spores in the environment.

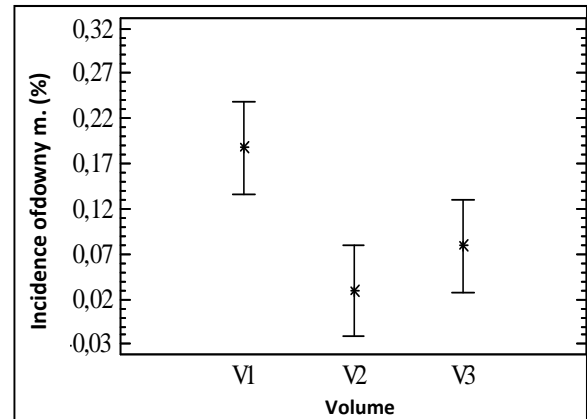
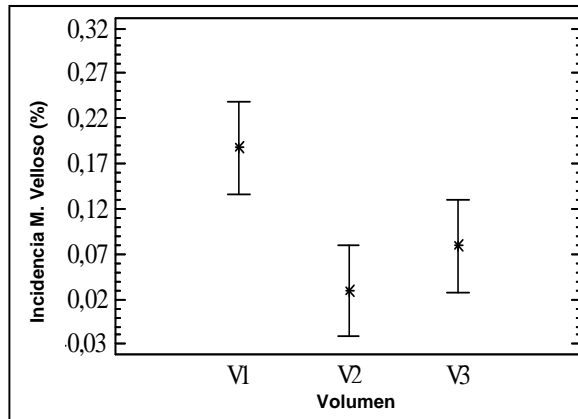


Figura 8. Incidencia de mildew velloso en relación con el volumen de aplicación para la variedad Versilia

Figure 8. Downy mildew incidence in relation to application volume for the Versilia variety

En la variedad Versilia la sensibilidad de las plantas a los componentes del agua fue la variable determinante para la finalización de las aplicaciones, ya que como lo muestra la figura 9, ésta aumentó con el tiempo considerablemente. El análisis estadístico corrobora la afección, y los resultados de los análisis foliares mostraron que las aplicaciones de agua EO generaron concentraciones de sodio en la variedad Versilia que superan el umbral permisible de 200 ppm conforme Calderón (2001), donde para el agua C-50 x V1 presenta el valor más próximo a 200 ppm de sodio y para la combinación de agua C-75 x V3 se presentan los niveles más alejados por encima de los 200 ppm.

Versilia plants' sensitivity to water compounds was responsible for ending EOW application since (as shown in Figure 9) it increased significantly as time elapsed. Statistical analysis confirmed this and foliar analysis showed that EOW applications produced sodium concentrations above the allowable threshold of 200 ppm Na, according to Calderón (2001); the C-50 x V1 treatment thus had the closest value to 200 ppm sodium and levels above 200 ppm Na for C-75 x V3.

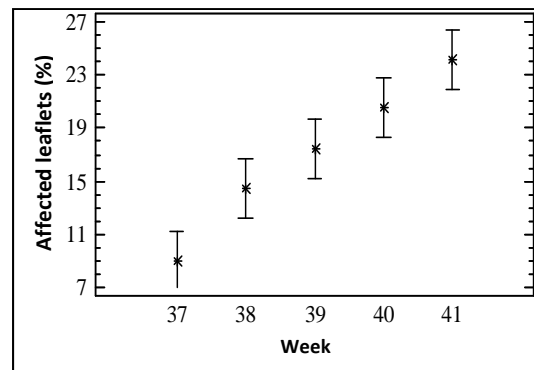
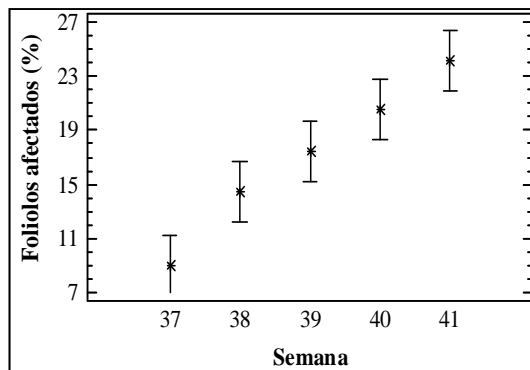


Figura 9. Porcentaje de foliolos afectados en la variedad Versilia durante cinco semanas de aplicación del agua EO

Figure 9. Percentage of Versilia variety affected leaflets during 5 weeks of EOW application

Conclusiones

El agua EO ligeramente ácida, tipo C, usada en los ensayos, tiene propiedades fungicidas que controlan la incidencia de mildew polvoso en las variedades Versilia y Orlando. La aplicación con el mayor volumen, V3, garantiza una mayor cobertura del follaje, por lo que se logra un mejor control del mildew polvoso en comparación con los otros volúmenes del ensayo; sin embargo, la cobertura de los volúmenes V1 y V2 generan un muy buen

Conclusions

Slightly acidic EOW, type C, as used in the trials, had fungicidal properties that controlled powdery mildew incidence in Orlando and Versilia varieties. The application having the highest volume (V3) assured better foliage coverage, thereby achieving better control of this fungus compared to the other volumes. However, volume V1 and V2 coverage produced good pathogen control, resulting in less cost, less application time and lower incidence of

En español

control del patógeno, implican menos costos, menor tiempo de aplicación y menor incidencia de componentes para los cuales pueden o no ser susceptibles las variedades de rosa. Igual tendencia se aprecia con respecto a la incidencia de mildew veloso en la variedad Versilia.

El agua EO C-50 produjo un mejor control del mildew polvoso que el agua EO C-75 y que los químicos convencionales, con la ventaja adicional de producir menores efectos fitotóxicos en las dos variedades de rosas estudiadas con relación a la EO C-75.

El mejor control de mildew polvoso para las dos variedades se consiguió con la combinación EO C-50 y un volumen de aplicación V1 (5,3 L por cama), sin presentarse problemas de afección del follaje y desarrollo en las variedades.

Recomendaciones

El agua EO en el ambiente elimina las esporas que se propagan y afectan otras plantas; se debe desarrollar una metodología de aplicación no directa a la planta, sino nebulizado al ambiente para obtener la alta efectividad del control en las enfermedades, sin probabilidad de efectos de sensibilidad a los componentes en las variedades.

Se ha de realizar la evaluación con nuevas celdas electrolíticas que presentan menor consumo de cloro y más eficiencia en el proceso de electrólisis para concentraciones insignificantes de iones sodio.

Previo a la aplicación del agua EO sobre una variedad de rosa, se requiere hacer una prueba de susceptibilidad.

En el control de enfermedades en el cultivo de rosa, el agua EO ligeramente ácida puede sustituir parte de las aplicaciones tradicionales de productos químicos, con lo que podría lograrse una mayor eficiencia a menor costo, además de disminuir los riesgos para la salud humana.

Es necesario dar continuidad a estas investigaciones para la aplicabilidad del agua EO en otras variedades y cultivos.

Referencia / References

- Al-Haq, M.I., Sugiyama, J., Isobe, S., Applications of electrolyzed water in agriculture & food industries., *Food Sci. Technol. Res.*, 11 (2), 2005, pp. 135-150.
- Asociación Colombiana de Exportadores de Flores., *Floricultura colombiana Estadísticas*, 2007, Bogotá.
- Buck, J.W., Van Iersel, M.W., Oetting, R.D., Hung, Y.-C., In Vitro Fungicidal Activity of Acidic Electrolyzed Oxidizing Water., *Plant Dis.* 86, 2002, pp. 278-281.
- Buck, J.W., Van Iersel, M.W., Oetting, R.D., Hung, Y.-C., Evaluation of acidic electrolyzed water for phytotoxic symptoms on foliage and flowers of bedding plants., *Crop Protec-*

In English

components which may or may not be susceptible rose varieties. Downy mildew incidence has the same trend in the Versilia variety.

The EOW C-50 resulted in better powdery mildew control than EOW C-75 and conventional chemicals with the added advantage of producing less phytotoxic effects in the two varieties of roses studied regarding EO C-75.

The best powdery mildew control for the two varieties was achieved with a combination of EOW C-50 and V1 application volume (i.e. 5.2 L per bed) without presenting phytotoxicity problems regarding the foliage and the varieties' growth being affected.

Recommendations

EOW in a greenhouse environment eliminates the spread of spores or effects on other plants. An application technique such as a thermo nebulisation should be developed as it does not spray directly onto plants to obtain high disease control effectiveness with no chance of affecting plants' sensitivity regarding water components.

Evaluation should include new electrolytic cells, with lower chlorine consumption and more efficiency regarding electrolysis at negligible sodium ion concentrations.

A susceptibility test should be done prior to applying EOW to a specific variety of rose.

Slightly acid EOW can replace part of the traditional chemical application when controlling diseases in roses which could result in greater efficiency at lower costs, besides decreasing risks to human health.

This type of research should be continued for establishing EOW applicability in other varieties and plants.

Because EOW contains chlorine and an electron capability that can easily be altered by environmental and mechanical conditions, it should be kept at low temperatures and repeated oxygenation and prolonged storage time should be avoided.

tion, 22, 2003, pp. 73-77.

- Cabrera, R., Consideraciones sobre nutrición mineral y fertilización en rosas., *Avances sobre ferirriego en la floricultura colombiana*, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2006.
- Calderón, S., *Muestreo foliar en rosas.*, Bogotá, Colombia, 2001.
- Cui, X., Shang, Y., Shi, Z., Xin, H., Cao, W., Physicochemical properties and bactericidal efficiency of neutral and acidic electrolyzed water under different storage conditions., *Journal of Food Engineering*, 91, 2009, pp. 582-586.

- Fujiwara, K., Fujii, T., Park, J., Comparison of foliar spray efficacy of electrolytically ozonated water and acidic electrolyzed oxidizing water for controlling powdery mildew infection on cucumber leaves., *Ozone: Science & Engineering*, 31, 2009, pp. 10 – 14.
- Guentzel, J.L., Callan, M.A., Emmons, S.A., Dunham, V.L., . Evaluation of electrolyzed oxidizing water for phytotoxic effects and pre-harvest management of gray mold disease on strawberry plants., *Crop Protection in press*, 2011.
- Kim, C., Hung, Y., Brackett, R.E., Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of foodborne pathogens., *International Journal of Food Microbiology*, 61, 2000, pp.199–207.
- Kitamura, T., Todo, H., Sugibayashi, K., Effect of several Electrolyzed Waters on the Skin Permeation of Lidocaine, Benzoic Acid and Isosorbide Mononitrate., *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 35, 2009, pp. 145–153.
- Kohno, H., Agricultural practice using super-electrolyzed water., Rural Culture Association (Nobunkyo), Japan, 1996.
- Liao, L.B., Chen, W.M., Xiao, X.M., The generation and inactivation mechanism of oxidation-reduction potential of electrolyzed oxidizing water., *Journal of Food Engineering*, 78, 2007, pp. 1326-1332.
- Mendoza, D., Piedrahita, A., Ramírez, E., Estudio económico comparativo del control manual vs. el control químico de *Peronospora sparsa* en *rosa* sp., Programa Agronomía Universidad de Caldas, Manizales, Colombia, 2005.
- Mueller, D.S., Hung, Y.-C., Oetting, R.D., van Iersel, M.W., Buck, J.W., Evaluation of Electrolyzed oxidizing water for management of powdery mildew on *Gerbera* Daisy., *Plant Dis.*, 87, 2003, pp. 965-969.
- Pasini, C., D'Aquila, F., Curir, P., Lodovica, M., Effectiveness of antifungal compounds against rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) in glasshouses., *Crop Protection*, 16 (3), 1997, pp. 251-256