

Zuwendungsempfänger:

Humboldt-Universität zu Berlin

Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät

Institut für Gartenbauwissenschaften

Fachgebiet Phytomedizin

Forschungsprojekt-Nr.: 04HS014

Risikominderung der Verbreitung von
Quarantäneschadorganismen durch hygienisierende
Maßnahmen

Laufzeit: 15.11.2004 – 14.02.2009

Berichtszeitraum: 15.11.2004 – 14.02.2009

In Kooperation mit:

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

(Ehemals Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft)

Institut für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit

Pflanzenschutzamt der Landwirtschaftskammer Niedersachsen

Brandenburgisch-Technische Universität

Fakultät 4: Umweltwissenschaften und Verfahrenstechnik

Lehrstuhl Abfallwirtschaft

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
1. Ziele und Aufgabenstellung.....	3
1.1 Planung und Ablauf	3
1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	4
2. Material und Methoden	6
2.1 Verwendete Abfallarten	6
2.2 Verwendete Schadorganismen	6
2.3 Angewendete Nachweisverfahren	8
2.4 Trägersystem zum Einbringen von <i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>sepedonicus</i> und <i>Synchytrium endobioticum</i>	14
2.5 Kompostierung.....	16
2.6 Pasteurisierung	18
2.7 Versäuerung	19
3. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse.....	23
3.1 Trägersystem zur Einbringung von <i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>sepedonicus</i> und <i>Synchytrium endobioticum</i>	23
3.2 Kompostierung.....	25
3.3 Pasteurisierung	31
3.4 Versäuerung	32
4. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse	36
5. Zusammenfassung.....	41
6. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen und Hinweisen auf weiterführende Fragestellungen	43
7. Literaturverzeichnis.....	44
Anhang I	47
Abbildungsverzeichnis.....	50
Tabellenverzeichnis	51

1. Ziele und Aufgabenstellung

1.1 Planung und Ablauf

Im Rahmen des durchgeführten Forschungsprojektes war zu prüfen, inwieweit die ordnungsgemäße Kompostierung bzw. Pasteurisierung von Abfällen aus der Kartoffelverarbeitung eine abtötende Wirkung auf die Quarantäneschadorganismen *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* (Cms), *Synchytrium endobioticum* (Se) und *Globodera rostochiensis* (Gr) und *G. pallida* (Gp) haben.

Darüber hinaus sollte in einer Modellsimulation im Labor die Inaktivierung von Cms, Se und Gr durch die nur Sekunden dauernde Einwirkung von Heißdampf überprüft werden.

Das Projekt gliederte sich in mehrere Phasen, die aufeinander aufbauten.

Phase 1: Überprüfung der Eignung von Abfällen aus der Kartoffelverarbeitung

Bestimmung der für eine Kompostierung geeigneten festen / schlammigen Abfälle aus der Kartoffelverarbeitung bzw. Festlegung der geeigneten Mischungsverhältnisse und notwendigen Zusatzstoffe für die Kompostierung.

Phase 2: Sicherung des methodischen Ansatzes

A) Standardisierung der Methoden zum Einbringen und Wiederauffinden der Schadorganismen in den Abfällen

Bestimmung geeigneter Trägersysteme, in denen die zu untersuchenden Erreger in größere Abfallmengen eingeschleust werden können. Wichtige Voraussetzungen sind die Absicherung des Wiederauffindens der Schadorganismen nach der Kompostierung bzw. Pasteurisierung für die weiteren Untersuchungen sowie die Vermeidung eines Austretens der Schadorganismen aus den Trägersystemen. Die hygienisierende Wirkung der Kompostierung / Pasteurisierung darf dabei jedoch nicht gemindert werden.

B) Prüfung geeigneter Nachweismethoden

Bestimmung verschiedener Nachweismethoden, die sich für den Nachweis von Cms und Se im Kompost bzw. Gärrest eignen. Die in Komposten bzw. Gärresten vorkommenden anderen saprophytischen Bakterien dürfen die Nachweise nicht stören.

Festlegung von Nachweisgrenzen in Kompost bzw. Abfällen für die genannten Schadorganismen.

Phase 3: Versuche zur Inaktivierung der Schadorganismen

A) Maßstab: Dewar-Gefäße (2 L)

Überprüfen der Temperaturentwicklung und –beständigkeit während der Kompostierung verschiedener Abfälle und deren Mischungen. Voruntersuchungen zur Wirkung der Kompostierung auf Cms bzw. Se und Gr.

B) Maßstab: technische Versuchsanlage (60 L)

Überprüfung der inaktivierenden Wirkung der Kompostierung auf die Schadorganismen bei deren Einschleusen über ausgewählte Trägersysteme in die Abfälle.

C) Pasteurisierung der Abfälle

Überprüfung der inaktivierenden Wirkung der Pasteurisierung auf die Schadorganismen bei deren Einschleusen über ausgewählte Trägersysteme in die Abfälle.

D) Simulation der Dampfschälung

Nachweis der inaktivierenden Wirkung von sekundenlang einwirkendem Heißdampf auf mit Bakterieller Ringfäule bzw. Kartoffelkrebs kontaminierten Kartoffeln.

Phase 4: Datenauswertung, Zusammenfassung, Erstellen einer Empfehlung

Auswertung der Untersuchungen, Zusammenfassung der Ergebnisse und Ableitung von Entscheidungshilfen für den Auftraggeber für die Behandlung fester bzw. schlammiger Abfälle aus der Kartoffelverarbeitung

1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Im Kalenderjahr 2008 wurden in Deutschland ca. 11,2 Millionen Tonnen Kartoffeln geerntet. Zusätzlich wurden 2007/2008 über 450.000 Tonnen Kartoffeln importiert. Mehr als 6 Millionen Tonnen Kartoffeln wurden 2007/2008 industriell verarbeitet (HAMBLOCH et al. 2008). Bei der industriellen Verarbeitung fallen viele Abfälle an, die sich zur Verwertung auf landwirtschaftlichen Flächen eignen. Eine derartige Verwertung entspricht dem Sinn des *Gesetzes zur Förderung der Kreislaufwirtschaft und Sicherung der umweltverträglichen Beseitigung von Abfällen* (ANONYM 1994).

Grundsätzlich besteht jedoch die Möglichkeit, dass Kartoffelabfälle mit Quarantäneschadorganismen (QSO) wie ***Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus*** (Cms), ***Synchytrium endobioticum*** (Se) und ***Globodera rostochiensis*** (Gr) und ***G. pallida*** (Gp) kontaminiert sind (BRÖTHER, 2003). Eine im Auftrag des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) durchgeführte Risikoanalyse (STEINMÖLLER et al. 2004) stuft alle Abfälle, die in der Landwirtschaft verwendet und weder im Verlauf der Produktion erhitzt, noch auf Dauergründland ausgebracht werden, in die Risikostufe 3 (voraussichtlich hohes Risiko) und 4 (hohes Risiko) ein. Derartige Abfälle müssen vor der Verwendung auf landwirtschaftlichen Flächen in jedem Fall einer hygienisierenden Behandlung unterzogen werden.

Die Bioabfallverordnung (BioAbfV, ANONYM 1998) fordert für organische Abfälle die in der Landwirtschaft verwendet werden eine hygienisierende Behandlung. Vorgegeben sind neben der anaeroben Behandlung in einer Biogasanlage auch eine Kompostierung bzw. eine Pasteurisierung mit festgelegten Parametern. So müssen bei einer Kompostierung Temperaturen von 55 °C für 2 Wochen oder von 65 °C für eine Woche erreicht werden. Die Pasteurisierung muss bei 70 °C für eine Stunde durchgeführt werden. Die Wirkung dieser beiden Verfahren auf Quarantäneschadorganismen der Kartoffel wurde jedoch bisher kaum untersucht. Es fehlen daher wissenschaftliche Daten über die Parameter, die zur Abtötung von Cms ebenso wie zur Abtötung von Se oder Gr und Gp führen.

Ebenfalls fehlen wissenschaftliche Untersuchungen zur hygienisierenden Wirkung der Dampfschälung, die in einigen Verarbeitungsbetrieben eingesetzt wird. Für dieses Verfahren werden die Kartoffeln bei neun bar für durchschnittlich 12 – 20 Sekunden bedampft. Bisher werden Abfälle aus der Dampfschälung aufgrund der durch den Druck entstehenden Hitze von ca. 180 °C als voraussichtlich risikofrei eingestuft. Eine versuchstechnische Überprüfung dieser Einschätzung fand bisher noch nicht statt.

2. Material und Methoden

2.1 Verwendete Abfallarten

Im Verlauf der Kartoffelverarbeitung fallen unterschiedliche Arten von Abfällen an. Sie unterscheiden sich vor allem in der Art der Zusammensetzung und Konsistenz. Für die Kompostierung und die Pasteurisierung kommen vor allem feste Abfälle in Frage, wie z. B. Pülpe oder Schälreste. Inwieweit sich diese Abfälle in ausreichendem Maße kompostieren lassen ist jedoch bisher nicht untersucht. Verschiedene Abfälle aus der Kartoffelverarbeitung wurden daher auf ihre Kompostierungseignung geprüft. Diese Arbeiten wurden an der BTU¹ Cottbus durchgeführt.

In Tabelle 1 sind die geprüften Abfallarten, ihre Zusammensetzung, ihr Vorkommen im Verarbeitungsprozess, ihre Konsistenz und die Herkunft dargestellt. Erden und Schlämme, die während der Verarbeitung anfallen wurden nicht geprüft. Die detaillierte Beschreibung der Prüfverfahren ist im Abschlussbericht der BTU Cottbus¹ aus dem Jahr 2008 (Kap. 2) zu finden.

Tab. 1: Verwendete Abfallarten, deren Zusammensetzung, Anfall im Verarbeitungsprozess, Konsistenz und Herkunft

Bezeichnung	Zusammensetzung	Anfall im Verlauf des Verarbeitungsprozesses	Konsistenz	Herkunft
Altkartoffeln	Aussortierte Kartoffeln, Pflanzreste, Kartoffelstücke	Nach der Reinigung, im Vorfeld der Verarbeitung	Trocken	FRIWEIKA ²
Pülpe	Zellreste der Kartoffel ohne Stärke und ohne Fruchtwasser	Nach dem Aufreißen der Zellen und Auswaschen der Stärke	Matschig	Emsland-Stärke ³
Schälreste	Schalen und Kartoffelreste	Nach dem Schälen und Zerreiben der Kartoffeln	Nass und schlammig	FRIWEIKA ²

2.2 Verwendete Schadorganismen

***Clavibacter michiganensis* (Smith) Davis et. al. ssp. *sepedonicus* (Spiekermann et Kothoff) Davis et al.**

Cms ist in Anhang I A II der RICHTLINIE 2000/29/EG des Rates vom 8. Mai 2000 über Maßnahmen zum Schutz der Gemeinschaft gegen die Einschleppung und Ausbreitung von Schadorganismen der Pflanzen und Pflanzenerzeugnisse gelistet (ANONYM 2000). In der RICHTLINIE 93/85/EWG des Rates vom 4. Oktober 1993 zur Bekämpfung der bakteriellen Ringfäule der Kartoffel (ANONYM 1993) die in der Verordnung zur Neuregelung pflanzenschutzrechtlicher Vorschriften zur Bekämpfung von Schadorganismen der Kartoffel (ANONYM 2001) in deutsches Recht umgesetzt ist, sind Maßnahmen zur Bekämpfung vorgeschrieben.

¹ Brandenburgische Technische Universität Cottbus, Fakultät für Umweltwissenschaften und Verfahrenstechnik, Lehrstuhl Abfallwirtschaft

² FRIWEIKA, D-08373: Frischkartoffelverarbeitung und -vermarktung

³ Emsland-Stärke GmbH - Werk Kyritz; D-16866 Kyritz: Kartoffelstärkeproduktion und Stärkeveredelungsprodukte

Der Erreger der bakteriellen Ringfäule der Kartoffeln ist ein aerobes coryneformes Bakterium der Ordnung *Firmicutes*. Die einzelnen Bakterienzellen sind unbegeißelt und bilden weder Sporen noch Kapseln. Cms infiziert die Knollen hauptsächlich über natürliche Öffnungen oder Wunden und ist an Geräten, Säcken, Hallenwänden etc. längere Zeit überlebensfähig (ZAHN 2007, ABDEL-KADER et al. 2002). Die Bakterien wachsen sehr langsam auf Nährmedien und werden von anderen saprophytischen Erregern rasch überwachsen (ANONYM 2006). Daher ist ein direkter Nachweis von Cms in komplexen Medien, z.B. Kompost, sehr schwierig.

Verwendet wurden die Stämme NCPPB 2140^{WT} und NCPPB 2140^{strep 4} von der NCPPB York⁵. Die Mutanten NCPPB 2140^{strep} weist eine Toleranz gegenüber dem Antibiotika Streptomycin auf. Durch den Zusatz dieses Antibiotikums im Agarmedium kann das Wachstum anderer saprophytischer Bakterien und Pilze gehemmt werden. Der Nachweis des Erregers aus komplexen Substraten wird somit erleichtert. Positive Erfahrungen mit der Verwendung streptomycin-resistenter Stämme wurden während eines EU-Projektes im Zusammenhang mit dem Nachweis von Cms aus dem Boden gemacht (WOLF et al. 2003).

***Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival**

Se ist in Anhang I A II der RICHTLINIE 2000/29/EG des Rates vom 8. Mai 2000 über Maßnahmen zum Schutz der Gemeinschaft gegen die Einschleppung und Ausbreitung von Schadorganismen der Pflanzen und Pflanzenerzeugnisse gelistet (ANONYM 2000). In der RICHTLINIE 69/464/EWG des Rates vom 8. Dezember 1969 zur Bekämpfung des Kartoffelkrebses (ANONYM 1969) die in der Verordnung zur Neuregelung pflanzenschutzrechtlicher Vorschriften zur Bekämpfung von Schadorganismen der Kartoffel (ANONYM 2001) in deutsches Recht umgesetzt ist, sind Maßnahmen zur Bekämpfung vorgeschrieben.

Der Erreger des Kartoffelkrebses ist ein Pilz aus der Ordnung der *Chytridiales*. Er ist weltweit verbreitet und kommt in verschiedenen Pathotypen vor (LANGERFELD und STACHEWICZ 1993). Der Pilz bildet widerstandsfähige sexuelle Fruchtkörper (Dauersori), die im Boden für mehr als 20 Jahre lebensfähig bleiben (LANGERFELD 1984). In den Dauersori bilden sich während der Reife begeißelte Zoosporen, die während der Keimung der Dauersori freigesetzt werden und erneut Kartoffeln infizieren können. Die Größe der Dauersori liegt zwischen 25 µm und 75 µm, durchschnittlich besitzen die Sporen eine Größe von 50 µm. Sie sind von einer stabilen Wand umgeben, welche die innerhalb der Dauersori gebildeten Zoosporen schützt. Für die Untersuchungen wurden Dauersori der Pathotypen 1⁶ und 8⁷ verwendet.

⁴ Für die Verwendung streptomycinresistenter Stämme wurde der optimale Streptomycinzusatz bei 100µl/ml Nährmedium bestimmt

⁵ National Collection of Plant Pathogenic Bacteria, York

⁶ Zur Verfügung gestellt vom Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz im Ackerbau und Grünland, Kleinmachnow

⁷ Natürlich kontaminierter Ackerboden aus dem Weseremsland

Globodera rostochiensis

Da anzunehmen ist, dass die Zysten von Gr und Gp in den Untersuchungen eine vergleichbare Reaktion aufweisen (mündl. Mitteilung Heinicke⁸), werden aus technischen Gründen ausschließlich Zysten von Gr verwendet.

Gr ist in Anhang I A II der RICHTLINIE 2000/29/EG des Rates vom 8. Mai 2000 über Maßnahmen zum Schutz der Gemeinschaft gegen die Einschleppung und Ausbreitung von Schadorganismen der Pflanzen und Pflanzenerzeugnisse gelistet (ANONYM 2000). In der RICHTLINIE 2007/33/EG des Rates vom 11. Juni 2007 zur Bekämpfung von Kartoffelnematoden (ANONYM 2007) und in der Verordnung zur Neuregelung pflanzenschutzrechtlicher Vorschriften zur Bekämpfung von Schadorganismen der Kartoffel (ANONYM 2001) sind Maßnahmen zur Bekämpfung vorgeschrieben.

Die Gelben Kartoffelnematoden sind bodenbürtige Fadenwürmer, deren Weibchen widerstandsfähige Zysten ausbilden, in denen Eier und Larven geschützt sind. Die Zysten können bis zu 20 Jahre im Boden ruhen. Durch Wurzelausscheidungen der Kartoffel werden die Larven bei günstigen Klimabedingungen zum Schlupf angeregt. Es sind fünf Pathotypen bekannt, von denen in Deutschland der Pathotyp Ro 1 am weitesten verbreitet ist.

2.3 Angewendete Nachweisverfahren

Zum Nachweis der verschiedenen Schadorganismen wurden spezifische Verfahren angewendet (Tab. 2).

Tab. 2: Zusammenfassende Übersicht angewendeter Verfahren zum Nachweis und zur Bestimmung des Vitalitätsstatus der Schadorganismen

X: Verfahren angewendet; -: Verfahren nicht angewendet

Verfahren \ QSO	Cms	Se	Gr
Biotest	x	x	x
Isolierung	x	x	-
IF-Test ⁹	x	-	-
PCR ¹⁰	x	-	-

Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus

Biotest an Auberginenpflanzen

Der Biotest an Auberginenpflanzen ist eine sensitive Methode zum Nachweis von Cms (ANONYM 2006) auch aus Kartoffeln oder anderen komplexen Substraten. Die Eignung des Biotests als

⁸ Dr. D. Heinicke, ehemals Pflanzenschutzamt Hannover der Landwirtschaftskammer Niedersachsen

⁹ Immunofluoreszenz-Test

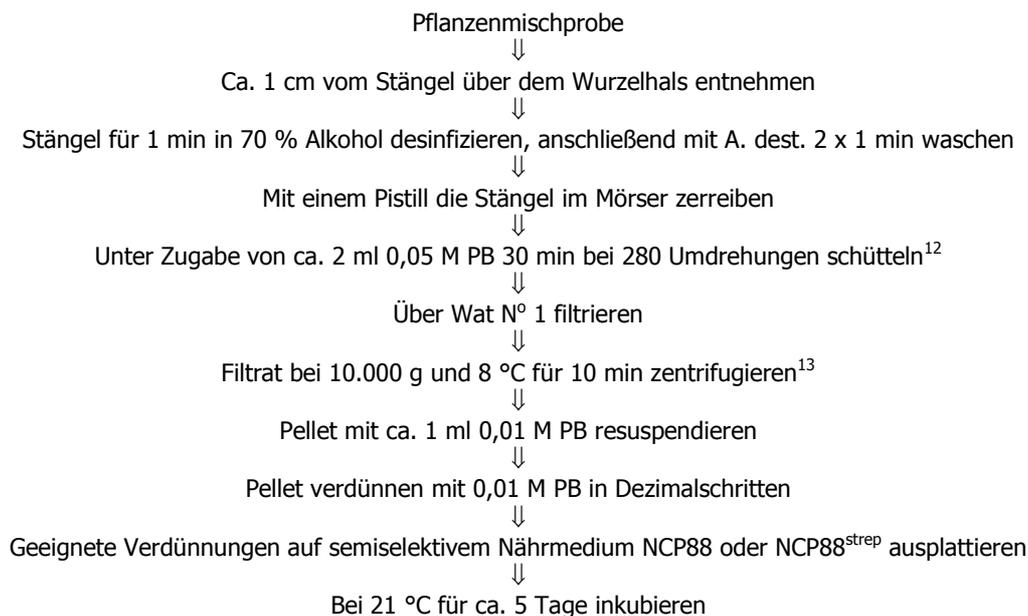
¹⁰ Polymerase-Kettenreaktion

Nachweisverfahren für Cms in Kompost und Abfällen wurde im Vorfeld der Untersuchungen geprüft. Die Nachweisgrenze für Cms in Kompost lag bei 10^2 cfu¹¹/g Substrat.

Als Testpflanze wurde die für Cms sensitive Auberginen-Sorte ‚Black Beauty‘ verwendet. Die Pflanzen wurden bei 21 °C und 16 Stunden Beleuchtung kultiviert. Die Inokulation erfolgte kurz vor Beginn des Dreiblatt-Stadiums direkt über den Keimblättern. Anschließend wurden die Pflanzen für maximal vier Wochen unter den genannten Bedingungen weiterkultiviert.

Pro Probe wurden je 10 Pflanzen inokuliert, für die Positivkontrolle wurden 5 Pflanzen mit einer Reinkultur des verwendeten Cms-Stammes in der Konzentration 10^8 cfu/ml 0,01 M PB und für die Negativkontrolle 2 Pflanzen mit 0,01 M PB inokuliert. Die Pflanzen wurden ab dem siebten Tag zweimal wöchentlich auf charakteristische Symptome untersucht und in die Klassen „Symptomatisch“ bzw. „Symptomlos“ eingeteilt. Cms verursacht an den Auberginen Welken, das mit einer Schlawheit der Blattränder oder zwischen den Blattadern beginnen kann. Das Gewebe verblasst, bevor es nekrotisch wird. Nekrotisches Gewebe bildet oft einen gelben Rand, zwischen den Blattadern erscheint das welke Gewebe häufig ölig-wässrig.

Die Aufarbeitung der Pflanzen erfolgte unabhängig von einer Symptomausprägung nach 4 Wochen Standzeit. Für die anschließende Aufarbeitung wurden Mischproben aus den Versuchspflanzen nach folgendem Schema hergestellt und weiter bearbeitet:



Die Auswertung der Agarplatten erfolgte unter einem Stereomikroskops¹⁴ auf morphologisch charakteristische Cms-Kolonien. Diese wurden vom Nährmedium isoliert, auf ein semiselektives Nährmedium überimpft, für 5 Tage bei 21 °C inkubiert und weitere Tests zur Identifizierung und Bestätigung durchgeführt.

¹¹ Colony Forming Units

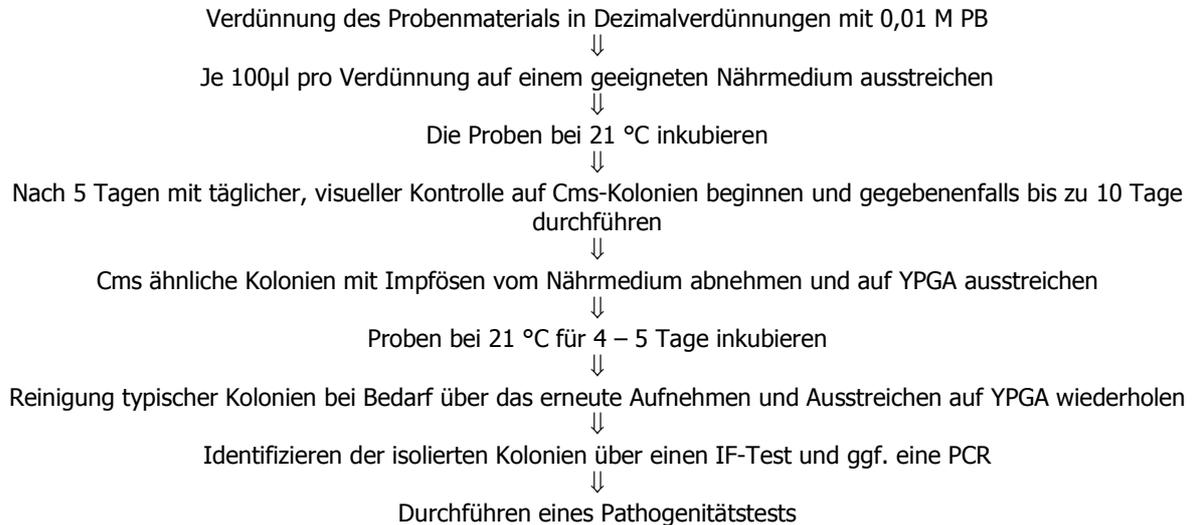
¹² Swip SM 25 der Firma Edmund Bühler

¹³ Zentrifuge 5403 der Firma Eppendorf, Rotor: 16 F 6 - 38

¹⁴ M3C der Firma Wild

Selektivausstrich auf Nährmedium

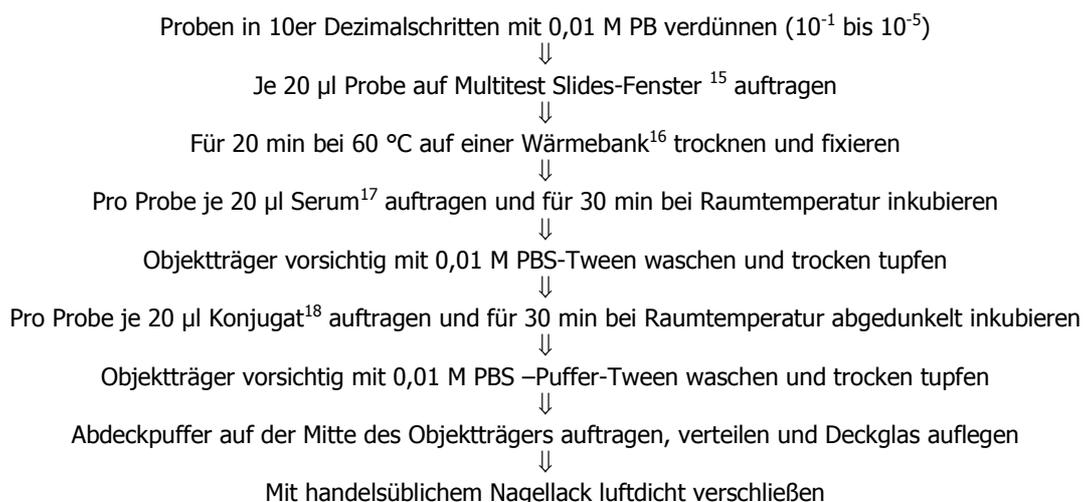
Der Ausstrich ist ein Verfahren zur Isolierung von Cms direkt aus Probenmaterial oder Biotestpflanzen. Er ist in der Richtlinie 2006/56/EG DER KOMMISSION (ANONYM 2006) beschrieben und wurde nach folgendem Schema angewendet:



Cms wächst langsam auf den Nährmedien und bildet kleine, cremig-weiße oder teilweise etwas gelbliche, abgerundete, gewölbte Kolonien mit glatten Rändern und ca. 1 – 3 mm Durchmesser.

Immunfluoreszenz-Test

Der Immunofluoreszenz-Test (IF-Test) ist ein serologisches Nachweisverfahren. Er wurde von JANSE und VAN VAERENBERGH (1987) für den Nachweis von Cms optimiert. In den vorliegenden Versuchen wurde er entsprechend der Richtlinie 2006/56/EG DER KOMMISSION (ANONYM 2006) zum Nachweis von Cms verwendet (Siehe Schema).



¹⁵ MP Biomedicals

¹⁶ Präzitherm der Firma Störk-Tronic

¹⁷ *C. m. sepedonicus* antiserum for IF from goat (LOEWE)

¹⁸ Anti-Goat IgG FITC Konjugat (SIGMA)

Die Auswertung auf fluoreszierende Bakterienzellen erfolgte unter einem Mikroskop mit Fluoreszenz¹⁹ bei 1000facher Vergrößerung²⁰ in Ölimmersion. Als Positivkontrolle wurde jeweils eine Reinkultur des verwendeten Cms-Stammes hergestellt, in Dezimalschritten verdünnt und die Konzentrationen 10^6 cfu/ml 0,01 M PB bis 10^3 cfu/ml 0,01 M PB auf einen Multiwell-Objekträger aufgetragen.

Polymerase-Kettenreaktion

[Nach PASTRIK und RAINEY 1999]

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist ein sensitives Nachweisverfahren beruhend auf der Anlagerung spezifischer Primer an die Bakterien-DNA. Das Verfahren ist in der Richtlinie 2006/56/EG DER KOMMISSION (ANONYM 2006) beschrieben. Die PCR wurde nicht als Standard-Testverfahren eingesetzt, sondern nur in ausgewählten Fällen zur Bestätigung der Diagnose verwendet.

Pathogenitätstest

Der Pathogenitätstest dient dem Nachweis der Virulenz isolierter Pathogene. Der Pathogenitätstest an Auberginenpflanzen wurde von JANSE und VAN VAERENBERGH (1987) für Cms optimiert. Er ist in der Richtlinie 2006/56/EG DER KOMMISSION (ANONYM 2006) beschrieben. Die Durchführung erfolgte entsprechend dem oben angegebenen Schema für den Biotest.

Synchytrium endobioticum

Nasssiebverfahren

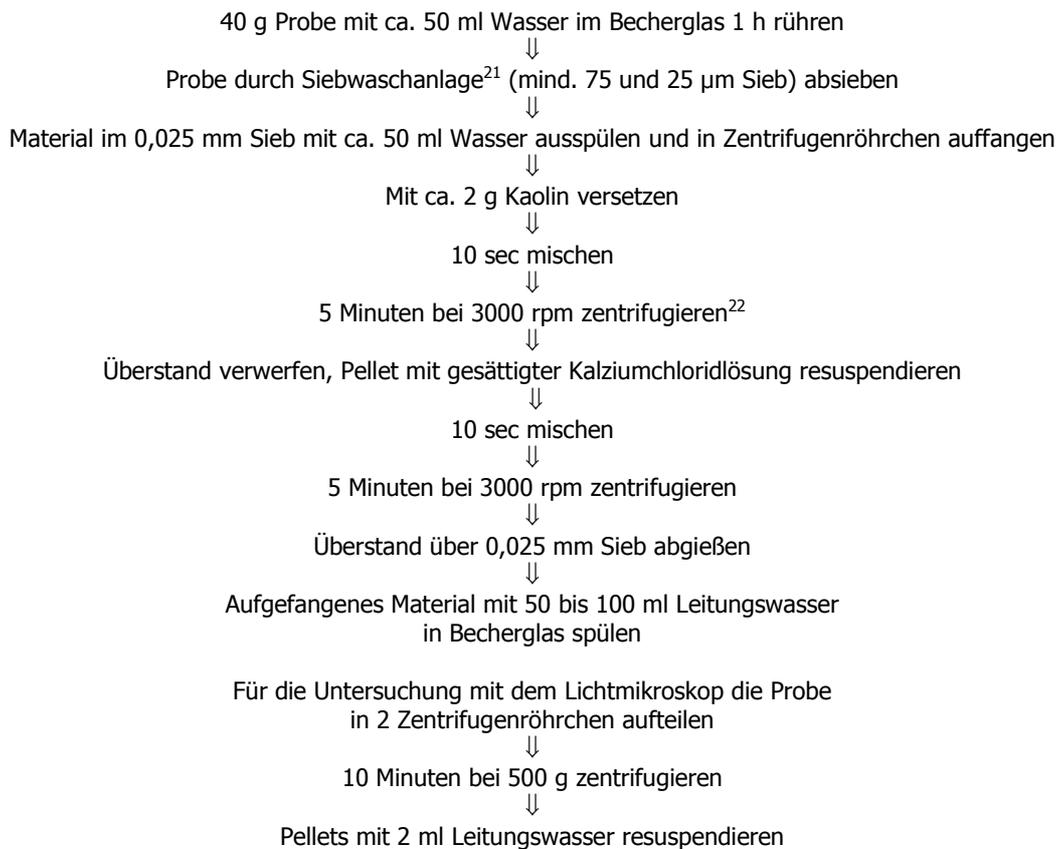
[Nach VAN LEEUWEN et al. 2005]

Für die Aufarbeitung von Proben aus der Kompostierung wurden pro Probe je 2 Aufarbeitungen mit jeweils 40 Gramm Probenmaterial durchgeführt. Um die Dauersori von Se aus dem Probenmaterial zu isolieren wurde ein Nasssiebverfahren nach dem unten aufgeführten Schema angewendet. Abweichend zu den Vorgaben von VAN LEEUWEN et al. (2005) wurden geringere Probenvolumina verwendet. Zudem wurde der im 25 µm Sieb aufgefangene Überstand aus der zweiten Zentrifugation nicht mit Calciumchlorid sondern mit destilliertem Wasser ausgespült.

¹⁹ Zeiss Axioskop

²⁰ Zeiss Plan Neoflux 100/1,30 OIL

Verfahrensschema:



Die Proben wurden unter dem Durchlichtmikroskop in einer Fuchs-Rosenthal-Kammer ausgewertet und die isolierten Dauersori gezählt. Anschließend wurde entsprechend des Kammerfaktors die Gesamtmenge der Dauersori in 2 ml Suspension berechnet. Je Probe wurden 6 Wiederholungen ausgezählt. Entsprechend dem EPPO-Standard (ANONYM 2004) wurde bei der Auswertung der Proben zwischen vitalen Dauersori, also solchen mit deutliche sichtbarem granulären Inhalt (Abb. 1) und toten (leeren) Dauersori (Abb. 2) unterschieden.

²¹ AS 200 basic der Firma Retsch

²² Sigma 2-5, Rotor Nr. 11030 138/02



Abb. 1: Vitaler Dauersorus von Se mit deutlich sichtbarem granulärem Inhalt und dicker Außenwand [Vergrößerung: 400x]

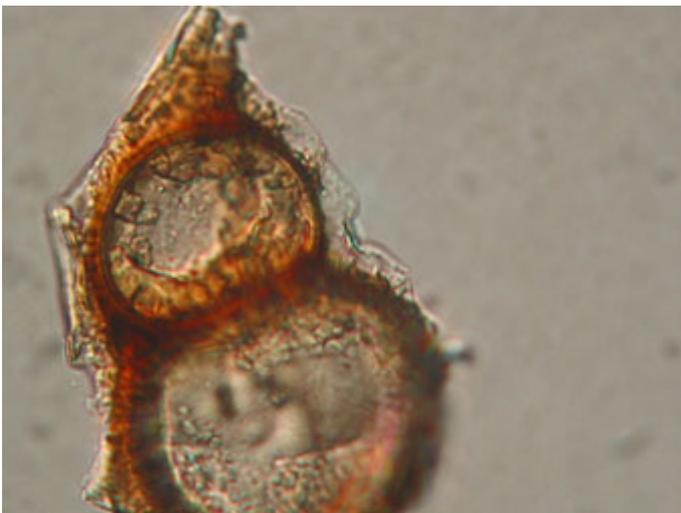
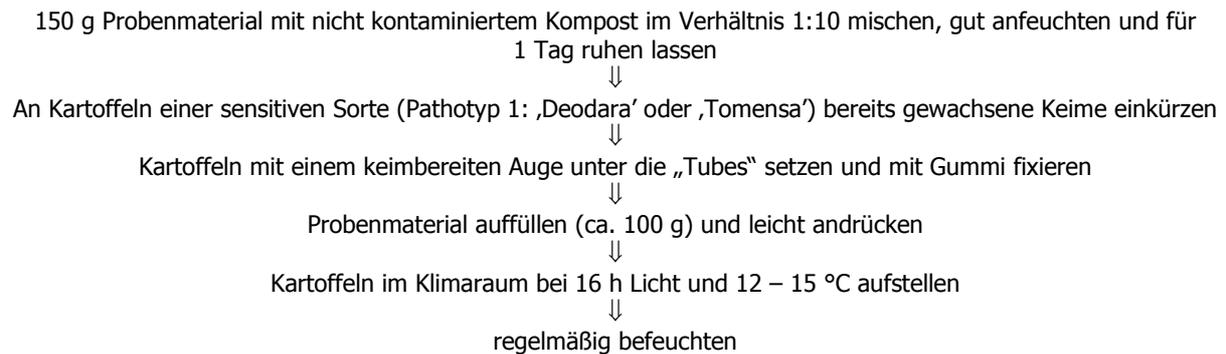


Abb. 2: Zwei vollkommen entleerte, tote Dauersori von Se [Vergrößerung: 400x]

TubeTest

[nach POTOCEK (1982)]

Die Prüfung der Infektiosität der Dauersori nach der Hygienisierung erfolgte über einen Biotest an Kartoffelknollen. Pro Probe wurden jeweils 10 Kartoffelknollen verwendet. Als Positivkontrolle wurde jeweils das unbehandelte Ausgangsmaterial, als Negativkontrolle nicht kontaminierter Kompost an jeweils 5 Knollen geprüft. Die Inokulation erfolgte nach folgendem Schema:



Die Bonitierung der Biotestpflanzen auf charakteristische Wucherungen an den Kartoffelkeimen erfolgt nach 3 Monaten. Die Auswertung erfolgte nach den Kategorien „Bildung frischer Wucherungen“ und „keine Bildung frischer Wucherungen“.

Globodera rostochiensis

Biotest an Kartoffelknollen

Diese Arbeiten wurden am Pflanzenschutzamt der Landwirtschaftskammer Niedersachsen²³ durchgeführt.

Die Zysten wurden zusammen mit 200 ml sterilisierter Gewächshauserde in durchsichtige und mit Kartoffeln der als anfällig eingestufte Sorte ‚Hela‘ bepflanzte Plastiktöpfen gefüllt. Nach 10 Wochen Standzeit im Gewächshaus wurden die durch die Außenwand sichtbaren, neu gebildeten, weißen Weibchen bonitiert und ausgezählt. Als Positivkontrolle wurde sowohl Zystenmaterial verwendet, das über den Versuchszeitraum im Wasserbad bei Raumtemperatur aufbewahrt wurde, als auch Zystenmaterial das zusammen mit der Ausgangspopulation trocken bei 6 °C gelagert wurde.

2.4 Trägersystem zum Einbringen von *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* und *Synchytrium endobioticum*

Um das Wiederauffinden der Schadorganismen im Prüfsubstrat zu gewährleisten wurde ein Trägersystem benötigt, über das die Schadorganismen in die Versuche eingeführt werden können. Da es sich bei den zu testenden Schadorganismen um QSO handelte, mussten die Träger das Austreten der Schadorganismen in das umgebende Substrat verhindern. Zugleich durften sie den stofflichen Austausch und damit die Einwirkzeit aller Reaktionsbedingungen aus dem umgebenden Substrat nicht einschränken.

Geprüft wurde hierfür die Eignung von Schraubdeckelgefäßen (120 ml), deren Boden und Deckel ausgeschnitten wurden. Die so entstandenen Öffnungen wurden entweder mit Poly-Ethylen-Gaze mit einem Porendurchmesser von 17 µm (für Se) oder mit einer Poly-Tetrafluor-Ethylen (PTFE) Membran mit einem Porendurchmesser von 0,2 µm (für Cms) abgedeckt. Als Verschluss diente der Schraubring des Deckels bzw. ein angefertigter Poly-Ethylen-Ring für den Bodenbereich. Zur weiteren Abdichtung

²³ Abschlussbericht Pflanzenschutzamt der Landwirtschaftskammer Niedersachsen (2008, S. 2)

wurden die Abschlussflächen der Deckel mit Gewebepband verklebt. Diese Träger wurden vor allem für die Einbringung von Se in die Kompostierung eingesetzt.

Zur Einbringung kleinerer Probenmengen wurden Kunststoffzentrifugenröhrchen zerteilt und der obere Teil, vergleichbar mit den großen Trägern, mit der PTFE-Membran bzw. der Poly-Ethylen-Gaze und mit Schraubdeckel und Poly-Ethylen-Ring verschlossen. Diese Träger hatten ein Volumen von ca. 10 ml. Sie wurden eingesetzt, um Cms in die Kompostierung, sowie Cms und Se in die Pasteurisierung einzuschleusen.

Eignungsprüfung der Träger

Prüfung der Dichte

Die Undurchlässigkeit der Träger für die geprüften Organismen wurde im Wasserbad nach folgenden Schemata geprüft.

Se	Cms
<p>Isolierung der Dauersori aus 100 g Krebs sand ↓ Aufschwemmung mit Leitungswasser ↓ Einfüllen in 4 Träger mit Gazeverschluss (17µm Porengröße) ↓ Einlegen in a) 2L Leitungswasser (2 Träger) b) 2L Aqua dest. (2 Träger) Versuchszeitraum 2 Wochen ↓ Abgießen des Wassers über ein 25µm Sieb ↓ Aufnehmen des Siebrückstandes in 25ml Leitungswasser ↓ Auswertung der Probe in Aliquoten à 2ml unter dem Durchlichtmikroskop auf Dauersori</p>	<p>Herstellung einer Bakteriensuspension aus Cms-Stamm NCPPB 2140^{WT} (Konzentration 10⁸ cfu/ml 0,01 M PB) ↓ Einfüllen in 4 Träger mit Membranverschluss (0,2µm Porengröße) ↓ Einlegen in c) 2L Leitungswasser (2 Träger) d) 2L Aqua dest. (2 Träger) Versuchszeitraum 2 Wochen ↓ Zentrifugieren des Wassers (10.000 g²⁴, 10 min bei 4°C) ↓ Resuspension des Pellets in 2 ml 0,01 M PB ↓ Ausplattieren von Aliquoten à 100 µl auf MTNA-Nährmedium (15 x) ↓ Kultivierung der Proben für 7 Tage bei 21 °C ↓ Auswertung auf für Cms charakteristische Kolonien unter dem Stereomikroskop</p>

Prüfung des Temperaturverlaufs

Da einer der wesentlichen Wirkfaktoren bei der Hygienisierung die entstehende Temperatur ist, musste gesichert sein, dass die Temperaturen im Träger und im umgebenden Substrat vergleichbar waren. Dies wurde sowohl im Rahmen einer Kompostierung als auch einer Pasteurisierung an der BTU Cottbus¹ geprüft.

²⁴ Centrifuge 5403 der Firma Eppendorf, Rotor: 16 F 6 - 38

Die Kompostierung über 7 Tage wurde im 60-L-Komposter mit einer Mischung aus Altkartoffeln und frischem Gartenkompost im Verhältnis 2:1 durchgeführt. Die Träger wurden zum einen mit Pülpe gefüllt, zum anderen leer in die Prozesse eingebracht, um einen Eindruck der Temperaturentwicklung im Träger zu erhalten. Für die Platzierung der Träger wurden drei Ebenen im Komposter gewählt, die während des gesamten Versuchszeitraumes mit Substrat bedeckt waren. Die Temperaturmesssonden wurden in der Mitte und im Randbereich der drei Ebenen platziert. Weitere Messsonden wurden am Auflagesieb des Komposters und an der Oberfläche des Substrates, sowie in und neben den Trägern verteilt. Die Temperaturentwicklung während des Prozesses wurde im Dreiminutenrhythmus abgelesen. Insgesamt wurden 30 Messpunkte geprüft.

Die Pasteurisierung erfolgte über ein Wasserbad mit 70 °C über 5 Stunden. Geprüft wurden sowohl die Träger mit 120 ml, als auch mit ca. 10 ml Fassungsvermögen. Die Träger wurden entweder mit Pülpe oder mit Kompost befüllt und in Bechergläsern ebenfalls in Pülpe eingebettet. Die Temperaturmesssonden wurden am Rand der Bechergläser sowie in der Mitte der Träger platziert. Die Temperaturentwicklung wurde ebenfalls im Dreiminutenrhythmus abgelesen. Insgesamt wurden 20 Messpunkte geprüft.

2.5 Kompostierung

Versuchsaufbau

Die Versuche wurden in 2-L-Dewar-Gefäßen und in 60-L-Kompostern durchgeführt. Für die Versuche wurden die Schadorganismen in die 2-L-Gefäße (Abb. 3) entweder über Träger (Einfüllen des kontaminierten Probenmaterials in die Träger) oder direkt (Mischung des kontaminierten Probenmaterials mit Abfällen im angegebenen Verhältnis) und in die 60-L-Komposter ausschließlich über Träger eingebracht.



Abb. 3: 2-L-Dewar-Gefäße mit Regelung der Sauerstoffzufuhr während eines Kompostierungsversuchs

In den 60-L-Kompostern wurde das Prüfgut in drei Ebenen verteilt (Abb. 4), die während des gesamten Versuchszeitraumes mit Substrat bedeckt waren. Pro Versuchsebene wurden neun Träger sternförmig um die Mitte des Komposters verteilt (Abb. 4), so dass sich eine gesamte Probenanzahl von 27 ergab. Eine Ausnahme stellten die ersten beiden Versuche dar, bei denen für Se jeweils vier und für Gr jeweils zehn Träger eingebracht wurden. Bei der Kompostierung der Nematoden wurden zum Teil zusätzliche Träger im Randbereich des Komposters positioniert.

Für die Aufarbeitung der Proben aus den Kompostern wurden für Cms und Se jeweils drei Proben einer Ebene zu einer Mischprobe zusammengefasst, so dass pro Ebene drei Wiederholungen geprüft wurden.

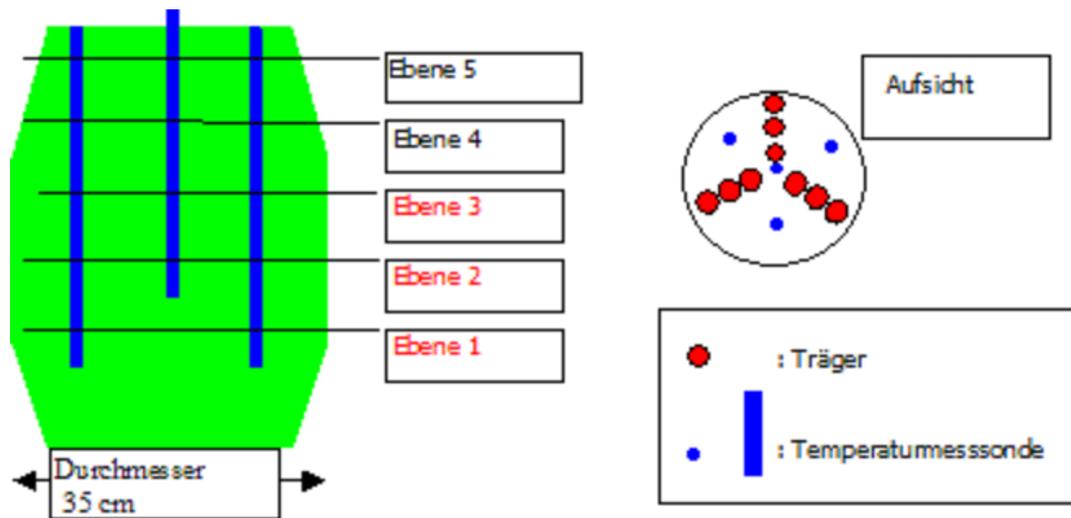


Abb. 4: Schematische Darstellung eines 60-L-Komposters unter Berücksichtigung der Versuchsebenen und der Verteilung der Träger pro Ebene (Aufsicht)

Die Versuchsebenen sind durch rote Schrift gekennzeichnet

Eingesetztes Probenmaterial

Für Cms wurde frischer Kompost mit Bakterien des Cms-Stammes NCPPB 2140^{strep} in den Konzentrationen 10^4 (Probe 1) und 10^6 cfu/ml 0,01 M PB (Probe 2) kontaminiert.

Für Se wurde Krebskompost²⁵ –Pathotyp 1 (Probe 3), Krebsand²⁶ –Pathotyp 1 (Probe 4) und natürlich kontaminierter Ackerboden²⁷ –Pathotyp 8 (Probe 5) verwendet.

Für Gr wurden ausschließlich Zysten des Pathotyps Ro1²⁸ (Probe 6) verwendet.

Neben dem eingesetzten Probenmaterial und der Probenanzahl wurden auch die verwendeten Kompostsubstrate sowie die Dauer der Kompostierung variiert (Tab. 3).

²⁵ Mischung aus Kompost und verrotteten Wucherungen befallener Kartoffeln

²⁶ Mischung aus Quarzsand und verrotteten Wucherungen befallener Kartoffeln

²⁷ Herkunft: Weser-Emsland, zur Verfügung gestellt vom Pflanzenschutzamt der Landwirtschaftskammer Niedersachsen

²⁸ Zur Verfügung gestellt vom Pflanzenschutzamt der Landwirtschaftskammer Niedersachsen

Tab. 3: Überblick der Versuchsansätze in 2-L-Dewar-Gefäßen und in 60-L-Kompostern bei der Kompostierung

Schadorganismus	Kompostiergut		Bedingungen			Probenanzahl
	Substrat	Probe	Gefäß	Einbringung	Dauer	
Cms	3	NCPBP 2140 ^{strep} (10 ⁴ cfu/ml)	2-L	Träger	2 Monate	1
						3
		3				
	4	NCPBP 2140 ^{strep} (10 ⁶ cfu/ml)	60-L	Direkt	12 Tage	2
					21 Tage	2
				Träger	12 Tage	54
21 Tage	54					
Se	1	Se-Pathotyp 8 (Ackerboden)	2-L	Träger	3 Wochen	2
	2					2
	1	Se- Pathotyp 1 (Kompost)				2
	2					2
	3	Se-Pathotyp 1 (Quarzsand)	60-L		2 Wochen	8
	4				2 Monate	54
					12 Tage	27
					21 Tage	27
Gr	3	Zysten des Pathotyps Ro1	60-L	Träger	2 Wochen	20
					2 Monate	54
	4				7 Tage	40
					12 Tage	54
					14 Tage	39
					21 Tage	57

Substrat 1: Pülpe (mit Probenmaterial direkt vermischt)

Substrat 2: Altkartoffeln (mit Probenmaterial direkt vermischt)

Substrat 3: Pülpe mit Gartenkompost

Substrat 4: Altkartoffeln mit frischem Gartenkompost

2.6 Pasteurisierung

Alle Versuche zur Pasteurisierung wurden in einem Wasserbad bei 70 °C durchgeführt. Die Erwärmung erfolgte über 1 Stunde, 1,5 Stunden und 2 Stunden. Unter Berücksichtigung der Erwärmungsphase von ca. 30 Minuten ergab sich so eine reale Pasteurisierungszeit von 30 Minuten, 1 Stunde und 1,5 Stunden.

Eingesetztes Probenmaterial

Für Cms wurde frischer Kompost mit Bakterien des Cms-Stammes NCPPB 2140^{strep} in der Konzentrationen 10⁶ cfu/ml 0,01 M PB kontaminiert. Für Se wurde Krebs sand –Pathotyp 1²⁹ verwendet und für Gr wurden Zysten des Pathotyps Ro 1³⁰ eingesetzt.

Das Probenmaterial wurde entweder über Träger mit ca. 10 ml Fassungsvermögen oder direkt in Bechergläser eingebracht. Bei der Verwendung von Trägern wurden diese in den Bechergläsern in Pülpe eingebettet, um eine direkte Temperaturübertragung zu gewährleisten (Tab. 4).

Tab. 4: Überblick über die Versuchsansätze zur Wirkung der Pasteurisierung auf die Quarantäneschadorganismen

Quarantäne-schadorganismen	Inkubationszeit in Stunden	Einbringung	Probenanzahl
Cms	0,5	Träger	6
	0,5	Direkt	3
	1,0	Träger	6
	1,0	Direkt	3
	1,5	Träger	6
	1,5	Direkt	3
Se	0,5	Träger	3
	1,0		3
	1,5		3
Gr	0,5	Träger	3
	1,0		3
	1,5		3

2.7 Versäuerung

Im Verlauf einer Vergärung entsteht aus organischer Masse unter Ausschluss von Sauerstoff ein Gasmisch. Dieser Entstehungsprozess lässt sich zur Verdeutlichung in vier Stufen unterteilen, nämlich Hydrolyse, Acidogenese, Acetogenese und Methanogenese. Einzelne Teilaspekte der Versäuerung lassen sich außerhalb des Gärreaktors künstlich herbeiführen, z.B. die Hydrolyse bzw. die Acidogenese. Letztere wurde an Abfällen aus der Kartoffelverarbeitung erprobt, um zu prüfen, inwieweit durch eine künstliche Versäuerung von Abfällen eine gezielte Hygienisierung herbeigeführt werden kann. Es wurden verschiedene versäuerte Abfälle untersucht (Tab. 5).

Die Substrate wurden bis zu ihrer Verwendung bei –20 °C aufbewahrt.

²⁹ Mischung aus Quarzsand und verrotteten Wucherungen befallener Kartoffeln

³⁰ Zur Verfügung gestellt vom Pflanzenschutzamt der Landwirtschaftskammer Niedersachsen

Tab. 5: Übersicht der verwendeten Substrate zur Versäuerung von Kartoffelabfällen und ihrer Parameter

kA: Keine Angaben; -: entfällt

Lfd-Nr.	Abfallart	Gemisch	T in °C	Zeit der Versäuerung in Stunden	Belüftung	PH-Wert		FOS ³¹ [g/L]
						vor Versuch	nach Versuch	
1	Schälreste	keine	RT ³²	50	Anaerob	4,04	3,80	1,292
2	Schälabfälle	keine	RT	50	Aerob ³³	3,99	3,82	1,187
3	Schälabfälle	Wasser 2:1	RT	50	Anaerob	3,93	3,70	0,886
4	Schälabfälle	Wasser 2:1	RT	50	Aerob	3,93	3,72	1,002
5	Schälabfälle	Wasser 1:1	RT	50	Anaerob	3,93	3,66	0,785
6	Schälabfälle	Wasser 1:1	RT	50	Aerob	3,94	3,66	0,740
7	Schälabfälle	Hydrolysat ³⁴ 2:1	RT	50	Anaerob	4,31	3,88	2,325
8	Schälabfälle	Hydrolysat 2:1	RT	50	Aerob	4,28	3,88	1,958
9	Schälabfälle	Hydrolysat 1:1	RT	50	Anaerob	4,58	3,88	3,188
10	Pülpe	Hydrolysat 1:1	kA	kA.	kA	kA	kA	kA
11	Pülpe	Hydrolysat 2:1	kA	kA	kA	kA	kA	kA
12	Pülpe	Restmasse ³⁵ 1:1	kA	kA	kA	kA	kA	kA
13	Pülpe	Restmasse 2:1	kA	kA	kA	kA	kA	kA
14	Schälabfälle	-	-	-	-	3,536	-	1,676
15	Schälabfälle gerührt	keine	22 °C	6	Anaerob	3,536	3,521	1,780
16	Schälabfälle gerührt	keine	22 °C	24	Anaerob	3,536	3,510	1,816
17	Schälabfälle gerührt	Hydrolysat 1:1	22 °C	6	Anaerob	3,830	3,788	0,923
18	Schälabfälle gerührt	Hydrolysat 1:1	22 °C	24	Anaerob	3,830	3,780	0,908
19	Schälabfälle	Keine	22 °C	6	Anaerob	3,536	3,500	1,705
20	Schälabfälle	Keine	22 °C	24	Anaerob	3,536	3,490	1,927
21	Schälabfälle	Hydrolysat 1:1	22 °C	6	Anaerob	3,830	3,7943	0,962
22	Schälabfälle	Hydrolysat 1:1	22 °C	24	Anaerob	3,830	3,785	0,991
23	Schälabfälle	Keine	65 °C	6	Anaerob	3,536	3,530	1,665
24	Schälabfälle	keine	65 °C	24	Anaerob	3,536	3,525	1,608
25	Schälabfälle	Hydrolysat 1:1	65 °C	6	Anaerob	3,830	3,828	0,831
26	Schälabfälle	Hydrolysat 1:1	65 °C	24	Anaerob	3,830	3,815	0,846

³¹ Flüchtige organische Säuren

³² Raumtemperatur

³³ Luftzutritt möglich, jedoch nicht extra belüftet

³⁴ Bereits versäuerte Flüssigkeit aus einem Gärreaktor

³⁵ Organische Restmasse aus dem Gärreaktor

Für Se wurde nur die Substrate 10 bis 13 und für Gr die Substrate 9 bis 13 geprüft. Dauersori von Se wurden für die Versuche aus Krebs sand des Pathotyps 1 über ein Nasssiebverfahren isoliert und in Gazesäckchen pipettiert, die an drei Seiten mit einem Spezialklebeband verschlossen waren. Die verwendete Polyethylengaze hatte einen Porendurchmesser von 17 µm. Diese Gazebeutel wurden in die versäuerten Abfälle gehängt, so dass die Dauersori vollkommen von den Abfällen bedeckt waren. Der Versuchszeitraum betrug jeweils 5 Stunden, 1 Tag und 5 Tage (Tab. 6). Die Auswertung der Versuche erfolgte über eine visuelle Bonitur auf vitale Dauersori unter dem Durchlichtmikroskop. Als Negativkontrolle dienten Dauersori die über den Versuchszeitraum in Wasser waren. Für die Auswertung von Se wurde der prozentuale Anteil toter Dauersori an der Gesamtmenge gezählter Dauersori ermittelt.

Für die Versuche mit Gr wurden Zysten in Gazesäckchen in ein Gefäß mit 200 ml versäuertem Schälrest eingesetzt. Es wurden je sechs Proben geprüft. Für die Substrate 10 bis 13 wurden je zwei Proben nach 1 Tag, 5 und 9 Tagen aus dem Schälrest entnommen bei Substrat 9 wurden je zwei Proben nach 5 Stunden, einem Tag und 5 Tagen entnommen (Tab. 6). Als Negativkontrolle dienten in allen Versuchen Gazesäckchen mit Zysten, die während der Versuchsdauer in Wasser gelegt wurden.

Tab. 6: Übersicht über die geprüften versäuerten Abfälle, deren pH-Werte und die jeweiligen Versuchszeiträume für *Synchytrium endobioticum* und *Globodera rostochiensis*

X: geprüft; -: nicht geprüft

Quarantäne-schadorganismus	Substrat-Nr. ³⁶	pH-Wert vor Versuchsbeginn	Versuchszeitraum			
			5 h	1 d	5 d	9 d
Se	10	5,09	X	X	X	-
	11	4,23	X	X	X	-
	12	4,71	X	X	X	-
	13	4,21	X	X	X	-
Gr	9	4,4	-	X	X	X
	10	5,09	X	X	X	-
	11	4,23	X	X	X	-
	12	4,71	X	X	X	-
	13	4,21	X	X	X	-

Für Cms wurde die Anzahl geprüfter Substrate stark erhöht. Für die Versuche mit den Substraten Nr. 1 bis 13 wurde jeweils eine Ausgangssuspension mit dem Cms-Stamm NCPPB 2140^{WT} in der Konzentration 10⁹ cfu/ml 0,01 M PB vorbereitet. Als Ausgangssubstrat wurden Pülpe und flüssige Schälabfälle aus der Kartoffelverarbeitung gewählt. Beide Abfallarten wurden unterschiedlich mit Wasser, Restmasse aus der Vergärung oder Hydrolysat vermischt.

Die Abfälle wurden vor der Bearbeitung bei 1.600 g für 10 Minuten zentrifugiert³⁷ und der Überstand anschließend mit der vorbereiteten Reinkultur versetzt. Die gesamten Proben wurden auf eine Cms-

³⁶ Substratnummer siehe Tab. 51

³⁷Centrifuge 5403 der Firma Eppendorf, Rotor: 16 F 6 - 38

Konzentration von 10^8 cfu/ml Schälrest eingestellt und für unterschiedliche lange Zeit inkubiert (Tab. 7). Anschließend wurden Verdünnungsreihen mit 0,01 M PB in Dezimalschritten von 10^{-1} bis maximal 10^{-5} hergestellt. Davon wurden je 100 μ l in zweifacher Wiederholung auf MTNA-Nährmedium ausplattiert. Als Positivkontrolle wurde jeweils eine Reinkultur Cms des Stammes NCPPB 2140^{WT} in den Konzentrationen 10^7 bis 10^3 cfu/ml 0,01 M PB, als Negativkontrolle nicht kontaminierte, versäuerte Abfälle verwendet. Die Agarplatten wurden bei 21 °C für maximal 7 Tage inkubiert. Eine Auswertung auf morphologisch charakteristische Kolonien erfolgte unter dem Stereomikroskop nach 5 bzw. nach 7 Tagen.

Tab. 7: Übersicht zu den Versuchsansätze zur Wirkung einer künstlichen Versäuerung von Kartoffelabfällen auf *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* für die Substrate Nr. 1 bis 13 (Tab. 5)

X: geprüft; -: nicht geprüft

Substrat-Nr.	pH-Wert bei Versuchsbeginn*	Versuchsdauer auf semiselektivem Nährmedium				Biotest
		1 h	5 h	1 d	5 d	
1	4,06	x	x	x	-	-
2	3,9	x	x	x	-	-
3	3,8	x	x	x	-	-
4	4,1	x	x	x	-	-
5	4,2	x	x	x	-	-
6	4,2	x	x	x	-	-
7	4,3	x	x	x	-	-
8	4,47	x	x	x	-	-
9	4,45	x	x	x	-	-
10	5,09	-	x	x	x	-
11	4,23	-	x	x	x	-
12	4,71	-	x	x	x	-
13	4,21	-	x	x	x	-

Bei den Versuchen mit den Substraten Nr. 14 bis 26 wurde als Probenmaterial der Cms-Stamm NCPPB 2140^{strep} verwendet, um zu verhindern, dass die Kolonien von anderen saprophytischen Bakterien überwachsen werden. Die Abfälle wurden vor der Bearbeitung ebenfalls bei 1.600 g für 10 Minuten zentrifugiert³⁸ und der Überstand anschließend mit einer Reinkultur versetzt. Die Proben wurden auf eine Cms-Konzentration von 10^8 cfu/ml Schälrest eingestellt. Neben der Ausplattierung auf dem semiselektiven Nährmedium NCP88^{strep} wurde zudem ein IF-Test direkt an den kontaminierten Abfällen durchgeführt. Alle Substrate wurden zweimal geprüft. In der ersten Wiederholung wurde zusätzlich ein Biotest an Auberginenpflanzen durchgeführt. Als Positivkontrolle wurde eine Reinkultur NCPPB 2140^{WT} in der Konzentration 10^8 cfu/ml 0,01 M PB und als Negativkontrolle nicht kontaminiertes Filtrat der versäuerten Abfälle verwendet. Nach der Standzeit von 4 Wochen bei 16 Stunden Beleuchtung und 21 °C wurden die Pflanzen als Mischprobe aufgearbeitet. Mit dem Pflanzenpresssaft wurde ein IF-Test sowie eine Isolierung über semiselektives Nährmedium

³⁸Centrifuge 5403 der Firma Eppendorf, Rotor: 16 F 6 - 38

durchgeführt (Tab. 8). Für Cms charakteristische Kolonien aus der Isolierung wurden auf erneut auf NCP88^{strep} überimpft und für 6 Tage bei 21 °C kultiviert. Anschließend erfolgte ein IF-Test, sowie teilweise eine PCR zur Identifizierung als Cms. Bei einer Bestätigung der Ergebnisse wurden die Untersuchungen mit einem Pathogenitätstest an Auberginenpflanzen abgeschlossen.

Tab. 8: Übersicht der Versuchsansätze zur Wirkung einer künstlichen Versäuerung von Kartoffelabfällen auf *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* für die Substrate Nr. 14 bis 26 (Tab. 5)

X: geprüft; -: nicht geprüft

Subst.- Nr.	pH-Wert bei Versuches- Beginn*		Nachweis von Cms über												
			Isolierung über NCP88 ^{strep}						Biotest						
			1 h		4 h		1 d		1 h		4 h		1 d		
14	3,76	3,6	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
15	3,6	3,68	X	X	X	X	X	X	X	-	X	-	X	-	-
16	3,67	3,67	X	X	X	X	X	X	X	-	X	-	X	-	-
17	3,8	3,92	X	X	X	X	X	X	X	-	X	-	X	-	-
18	4,0	3,91	X	X	X	X	X	X	X	-	X	-	X	-	-
19	3,6	3,77	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
20	3,7	3,69	X	X	X	X	X	X	X	-	X	-	X	-	-
21	3,9	4,09	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
22	4,0	4,13	X	X	X	X	X	X	X	-	X	-	X	-	-
23	3,8	3,76	X	X	X	X	X	X	X	-	X	-	X	-	-
24	3,7	3,91	X	X	X	X	X	X	X	-	X	-	X	-	-
25	4,0	4,17	X	X	X	X	X	X	X	-	X	-	X	-	-
26	4,0	4,16	X	X	X	X	X	X	X	-	X	-	X	-	-

* Mehrfach Angaben zeigen die Unterschiede bei Versuchswiederholungen

3. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

3.1 Trägersystem zur Einbringung von *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* und *Synchytrium endobioticum*

Dichteprüfung der Träger

Die Prüfung der mit einer PTFE-Membran verschlossenen und mit einer Bakteriensuspension gefüllten Träger ergab, dass während der zwei Wochen, in denen sie in Leitungswasser bzw. Aqua dest. gelegt waren, kein Cms in das umgebende Medium entweichen konnte. In keinem Fall konnten in dem umgebenden Medium nach Ausplattieren auf dem Nährmedium typische Kolonien festgestellt werden.

Für die Träger, die mit einer Gaze verschlossen und mit einer Dauersorisuspension gefüllt waren, konnte ebenfalls kein Austreten von Dauersori in das umgebende Medium nachgewiesen werden.

Während der visuellen Bonitur unter dem Durchlichtmikroskop konnten keine Dauersori festgestellt werden.

Prüfung der Träger hinsichtlich der Temperaturstabilität

Ein direkter Vergleich der Temperaturentwicklung im Inneren der Träger und im umgebenden Substrat zeigte, dass die Temperaturentwicklung während der zu prüfenden Verfahren vergleichbar ist³⁹. Dies war ein wesentlicher Faktor für die Eignung der Träger. Jedoch kommt es bei der Erwärmung im Inneren der Träger zu einer zeitlichen Verzögerung verglichen mit dem umgebenden Substrat. Dies wurde bei zeitlich genau determinierten Versuchen wie der Pasteurisierung berücksichtigt.

Insgesamt sind die entwickelten Träger gut geeignet, die zu untersuchenden Erreger in ein Substrat einzuschleusen, da sie das Wiederauffinden der Erreger ermöglichen und kein Entweichen in das umgebende Substrat zulassen. Die Plastikgefäße können darüber hinaus desinfiziert werden und sind somit wieder verwendbar. Die verschließende Gaze bzw. Membran ist jedoch nur ein Mal verwendbar. Um die Probengrößen an die Aufbereitung des Probenmaterials anzupassen, wurden neben Gefäßen mit 120 ml Fassungsvermögen auch Träger mit geringerem Volumen von ca. 10 ml hergestellt (Abb. 5). Die Gefäße mit 10 ml Fassungsvermögen sind vor allem im Rahmen der Pasteurisierung den größeren Gefäßen vorzuziehen, da es zu einer raschen Erwärmung des Inhalts kommt. Die Träger waren sehr stabil und auch nach zwei Monaten in der Kompostierung noch absolut intakt, so dass ein Austreten der Schadorganismen ausgeschlossen werden kann (Abb. 6).



Abb. 5: Große Träger (120 ml) für die Einbringung von Se, verschlossen mit PE-Gaze (rechts) und kleine Träger (10 ml) zur Einbringung von Cms (links), verschlossen mit PTFE-Membran

³⁹ Abschlussbericht der BTU Cottbus (2008, S. 25)



Abb. 6: Großer Träger mit einem Verschluss aus PE-Gaze nach 2 Monaten in der Kompostierung

3.2 Kompostierung

Temperaturverlauf

In Abhängigkeit vom verwendeten Kompostsubstrat blieben die Temperaturen während der Versuche in zwei unterschiedlichen Temperaturbereichen. Bei Verwendung von Substrat 1 (Pülpe gemischt mit Gartenkompost im Verhältnis 2:1) stiegen die Temperaturen im Verlauf der Kompostierung nicht über 50 °C, sondern blieben zum Teil deutlich darunter. Dies liegt vor allem an der Konsistenz der eingesetzten Pülpe, die einen hohen Feuchtigkeitsgehalt aufweist⁴⁰. Bei Verwendung von Substrat 2 (Altkartoffeln gemischt mit Gartenkompost im Verhältnis 2:1) konnten auch Temperaturen von mehr als 65 °C erreicht werden.

Auch der Temperaturverlauf innerhalb der 60-L-Komposter war sehr unterschiedlich. In Versuchsebene 2 blieben die erreichten Höchsttemperaturen über einen längeren Zeitraum stabiler als in den Versuchsebenen 1 und 3. Ebene 3 ist die oberste Versuchsebene, die zum äußeren Rand wird, wenn das Substrat durch die Verrottung zusammenfällt. Sie liegt somit nach wenigen Tagen in der kühleren Randzone des Komposters. Ebene 1 ist die unterste Ebene, die über der Sauerstoffzufuhr des Komposters liegt. Auch hier ist der niedrigere Temperaturverlauf durch Abkühlung des Substrates durch den Sauerstoff zu erklären.

Allerdings konnten auch bei exakten Versuchswiederholungen bezüglich Ausgangsmaterialien und Versuchsansatz keine identischen Temperaturverläufe erzielt werden. Diese Unterschiede lassen sich durch die Sensibilität des Kompostierungsprozesses erklären. Die Kompostierung ist von verschiedenen Faktoren abhängig, wie z.B. dem Ausgangsmaterial, der Feuchtigkeit, der Sauerstoffversorgung und der Umgebungstemperatur. Bereits durch Abweichungen in der Struktur des Ausgangsmaterials kann es zu einer unterschiedlichen Temperaturentwicklung bei der Kompostierung kommen⁴¹.

⁴⁰ Abschlussbericht der BTU Cottbus (2008, S. 5)

⁴¹ Abschlussbericht der BTU Cottbus (2008, S. 3)

Wirkung auf die Schadorganismen

Nach der Kompostierung konnte nur bei zwei Versuchen im 2-L-Gefäß kein vitales Cms aus dem Komposter isoliert werden. In 9 Versuchsansätzen im 2-L-Gefäß, und in allen 36 Mischproben aus dem 60-L-Komposter war es jedoch möglich lebensfähige Bakterien über den Biotest an Auberginenpflanzen und anschließendes Ausplattieren auf das semiselektive Nährmedium NCP-88^{strep} zu isolieren (Tab. 9).

Dabei zeigten die Biotestpflanzen keine typischen Symptome, wie Vergilben der Interkostalfelder (Abb. 7). Im Pflanzenpresssaft waren die Cms-Bakterien auch im IF-Test nachweisbar. Im Pathogenitätstest riefen alle überprüften Bakterienkolonien die typischen Symptome an den Biotestpflanzen hervor (Abb. 8) und Cms konnte reisoliert werden.



Abb. 7: Symptomlose Testpflanze aus dem Biotest nach einer Inokulation mit kontaminiertem Kompost mit einer Bakterienkonzentration von 10^6 cfu/g Substrat nach vier Wochen Standzeit



Abb. 8: Pflanzen aus dem Pathogenitätstest isolierter Cms-Kolonien mit typischen Symptomen, wie keilförmige Welke der Interkostalfelder und Vergilbung (weiße Pfeile)

Für Se konnten aus allen Proben über das Nasssiebverfahren noch vitale Dauersori isoliert (Tab. 9) und mikroskopisch bestimmt werden (Abb. 9). Im Biotest was es jedoch nur nach zwei Versuchen möglich, an einem Teil der Biotestpflanzen frische Wucherungen zu induzieren (Abb. 10).

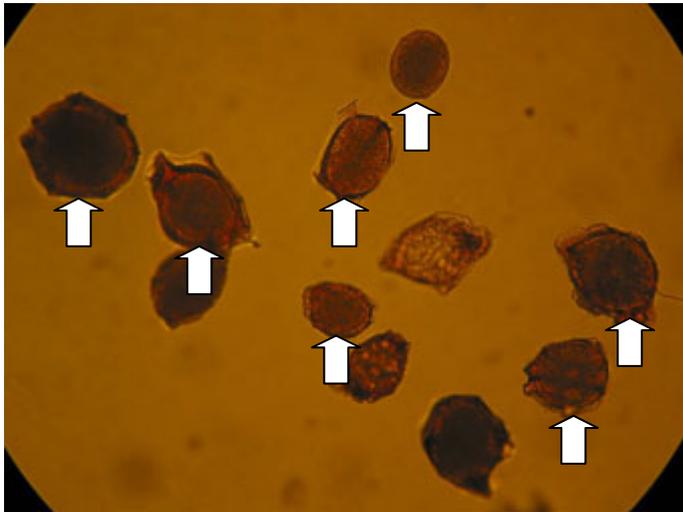


Abb. 9: Dauersori nach der Isolierung aus kompostiertem Probenmaterial (21 Tage bei Temperaturen über 65 °C) mit granulärem Inhalt (weiße Pfeile) [Vergrößerung: 100x]

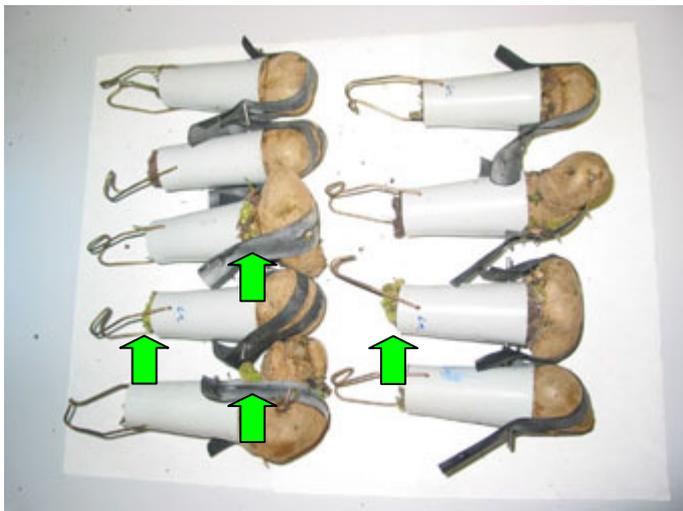


Abb. 10: „TubeTest“ aus Probenmaterial nach 2 Wochen Kompostierung bei Temperaturen unter 50°C; vier Pflanzen zeigen frische Wucherungen (grüne Pfeile)

Gr konnte in fast allen Versuchen vollständig inaktiviert werden (Tab. 9). Eine Probe war aus technischen Gründen nicht auszuwerten, bei einer Probe aus der Kompostierung für 21 Tage bei Temperaturen über 65 °C konnte eine frische Zysten an den Biotestpflanzen induziert werden. Der Grund hierfür ist unklar.⁴²

⁴² Abschlussbericht Pflanzenschutzamt der Landwirtschaftskammer Niedersachsen (2008, S. 8)

Da geringere Temperaturen in der Kompostierung aus wirtschaftlichen Gründen vorzuziehen sind, wurde für Gr ein weiteres Temperaturniveau geprüft. Hier sollten ca. 55 °C für 7 Tage und für 14 Tage eingehalten werden. Auch nach diesen Versuchen war es nicht möglich, mit dem Probenmaterial die Bildung frischer Zysten an den Biotestpflanzen zu induzieren (Tab. 9). Demnach ist bereits eine Kompostierung über 7 Tage bei Maximaltemperaturen von 55 °C ausreichend, die Zysten von Gr vollständig abzutöten.

Tab. 9: Übersicht zur hygienisierenden Wirkung der Kompostierung auf die Schadorganismen *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*, *Synchytrium endobioticum* und *Globodera rostochiensis* unter Angabe der Verfahrensbedingungen und der angewendeten Nachweismethoden (MsP = Mischprobe)

QSO	Temperatur und Gefäß	Substrat	Probe	Dauer in Tagen	Anzahl Proben	Biotest	Isolierung über Nährmedium	IF-Test aus der Biotest-pflanze	PCR Biotest-pflanzen und Kolonien
Cms	T < 50 °C 2-L-Gefäß	1	2	60	3	o. S.	positiv	positiv	positiv
		1	1	60	1	o. S.	positiv	positiv	positiv
		1	2 (direkt)	60	3	o. S.	positiv	positiv	positiv
		2	2 (direkt)	12	2	o. S.	negativ	negativ	fehlt
		2	2 (direkt)	21	2	o. S.	positiv	positiv	positiv
	T > 65 °C 60-L-Komposter	2	2	12	18 MsP	o. S.	positiv	positiv	positiv
		2	2	21	18 MsP	o. S.	positiv	positiv	positiv

o. S. = ohne Symptome; positiv = Cms nachweisbar; negativ = kein Cms nachweisbar

QSO	Temperatur und Gefäß	Substrat	Probe	Dauer in Tagen	Anzahl Proben	Isolierung	Biotest
Se	T < 50 °C 2-L-Gefäß	3	5	21	2	positiv	negativ
		4	5	21	2		negativ
		3	3	21	2		negativ
		4	3	21	2		negativ
	T < 50 °C 60-L-Komposter	1	3	14	8		1 positiv, 7 negativ
		1	4	60	18 MsP		negativ
	T > 65 °C 60-L-Komposter	2	4	12	9 MsP		negativ
		2	4	21	9 MsP		1 positiv, 8 negativ

Positiv: Dauersori von Se nachweisbar; negativ: keine frischen Wucherungen nachweisbar

QSO	Temperatur und Gefäß	Substrat	Probe	Dauer in Tagen	Anzahl Proben	Biotest
Gr	T < 50 °C 60-L-Komposter	1	6	14	20	Keine Bildung frischer Zysten nachzuweisen
		1	6	60	54	
	T ~ 55 °C 60-L-Komposter	2	6	7	40	
		2	6	12	54	
	T > 65 °C 60-L-Komposter	2	6	14	39	
		2	6	21	57	

Substrate

- 1: Pülpe mit Gartenkompost
- 2: Altkartoffeln mit frischem Gartenkompost
- 3: Pülpe (mit Probenmaterial direkt vermischt)
- 4: Altkartoffeln (mit Probenmaterial direkt vermischt)

Proben

- 1: Cms NCPPB 2140^{strep} 10⁴ cfu/g Kompost
- 2: Cms NCPPB 2140^{strep} 10⁶ cfu/g Kompost
- 3: Krebskompost Pathotyp 1
- 4: Krebssand Pathotyp 1
- 5: Kontaminierter Ackerboden Pathotyp 8
- 6: Zysten Pathotyp RO103018

Für Cms wurde festgestellt, dass bei einer Kompostierung von 21 Tagen und Temperaturen von zeitweise über 65 °C eine deutliche Reduzierung der Bakterien in der mittleren Ebene des Komposters im Vergleich zu den anderen beiden Ebenen erfolgte. Die Temperaturen stiegen in diesem Bereich für mehrere Tage über 70 °C (Abb. 12). In Ebene 2, in der Abbildung rosa gefärbt, wurden die höchsten Durchschnittstemperaturen erreicht. In dieser Ebene lagen die Temperaturen für ungefähr sechs Tage bei ca. 70 °C und fielen dann ab. In Ebene 1 (blau) stiegen die Temperaturen ebenfalls auf ca. 70 °C an, fielen jedoch nach ca. zwei Tagen bereits wieder auf 65 °C ab. Nach ungefähr fünf Tagen stiegen sie nochmals kurzzeitig auf ca. 70 °C an, um dann kontinuierlich abzufallen. In Ebene 3 (gelb) stiegen die Temperaturen nur für ca. zwei Tage auf ungefähr 70 °C an, anschließend fielen die Temperaturen kontinuierlich ab.

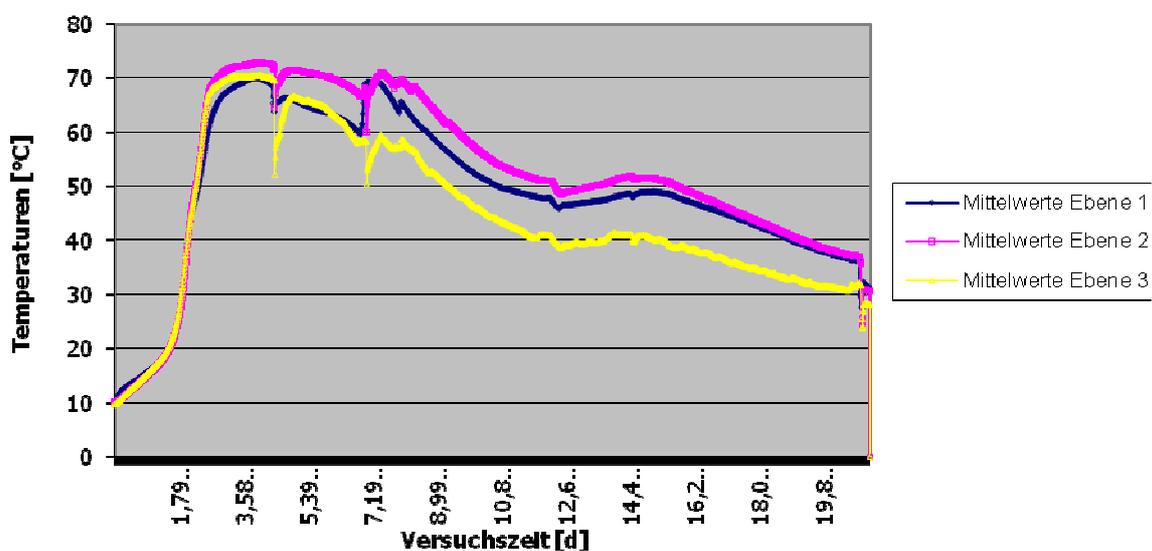


Abb. 11: Mittelwerte der über den Versuchszeitraum von 21 Tagen in den drei Versuchsebenen in Komposter B gemessenen Temperaturwerte

Nach einem IF-Test am Presssaft der Biotestpflanzen (inokuliert mit Probenmaterial aus den drei Versuchsebenen) wird der Unterschied in der Menge fluoreszierender Bakterien unter dem Mikroskop deutlich (Abb. 12). Die niedrigste Anzahl fluoreszierender Cms- Zellen konnte aus Biotestpflanzen isoliert werden, die mit Probenmaterial aus Ebene 2 inokuliert wurden (Mitte). Die höchste Anzahl an Bakterien ist im Probenmaterial aus Ebene 3 zu verzeichnen. In dieser Ebene wurden die niedrigsten Temperaturen im Verlauf dieser Kompostierung erreicht.

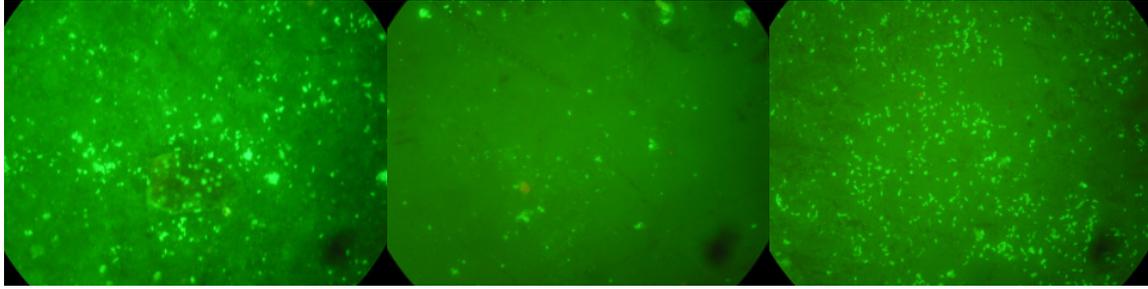


Abb. 12: Nachweis von Cms über einen IF-Test an Presssaft von Biotestpflanzen, inokuliert mit Probenmaterial aus den drei Versuchsebenen nach einer Kompostierung; Links: Ebene 1; Mitte: Ebene 2; Rechts: Ebene 3 [Vergrößerung: 1000x]

Auch bei der Ausplattierung des Pflanzenpresssaftes der Biotestpflanzen auf semiselektivem Nährmedium (Abb. 13) ist eine deutlich verminderte Anzahl an Cms-Kolonien bei Probenmaterial aus Ebene 2 zu erkennen (Mitte). Pflanzenpresssaft mit Probenmaterial aus Ebene 3 ergab die höchste Dichte an Cms-Kolonien (Rechts). Für Ebene 1 sind wesentlich mehr gewachsene Kolonien zu erkennen, jedoch nicht so viele wie bei Ebene 3 (Links). Es ist zu erwarten, dass Temperaturen um 70°C über einen längeren Zeitraum zum Absterben von Cms führen werden. Die in dem beschriebenen Versuch über 6 Tage eingehaltenen Temperaturen von 70 C reichten jedoch noch nicht aus, Cms vollständig abzutöten.



Abb. 13: Isolierung von Cms-Kolonien über semiselektives Nährmedium aus Pflanzenpresssaft der Biotestpflanzen nach Inokulation von Probenmaterial aus den drei Versuchsebenen nach einer Kompostierung über 21 Tage; Links: Ebene 1; Mitte: Ebene 2; Rechts: Ebene 3

Im Gegensatz zu Cms konnte für Se bei der mikroskopischen Auswertung kein Unterschied in Abhängigkeit von höheren Temperaturen in den Versuchsebenen festgestellt werden. Auch eine besonders lange Kompostierung bei mittleren Temperaturen zeigte bei der mikroskopischen Auswertung keine deutliche Reduktion vitaler Dauersori. Die Dauersori werden durch die Kompostierung auch bei höheren Temperaturen vermutlich nicht beeinflusst.

3.3 Pasteurisierung

Zur Prüfung der Pasteurisierung wurden die Schadorganismen über Träger oder direkt in Substrat eingebracht, dass für 30 Minuten, 1 Stunde und 1,5 Stunden bei 70 °C im Wasserbad behandelt wurde.

Im Anschluss an die Behandlung konnte für Cms in keinem Versuch eine Inaktivierung der Bakterien festgestellt werden (Tab. 10). Aus allen Proben wurden noch vitale Cms-Bakterien über einen Biotest isoliert. Auch im IF-Test an Pflanzenpresssaft konnte Cms in allen Proben nachgewiesen werden.

Für Se konnten ebenfalls in keinem Versuch eine vollständige Inaktivierung von Dauersori nachgewiesen werden, aus allen Proben wurden vitale Dauersori isoliert. Im Biotest war es jedoch in keinem Fall möglich, an den Testpflanzen frische Wucherungen zu induzieren (Tab. 10).

Die Zysten von Gr wurden in allen Versuchsansätzen vollständig inaktiviert und es konnte in keiner Probe die Bildung neuer Zysten im Biotest festgestellt werden (Tab. 10)⁴³. Dabei war für eine vollständige Abtötung der Zysten bereits eine Behandlung von 30 Minuten bei 70 °C ausreichend.

Tab. 10: Nachweis der Quarantäneschadorganismen *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*, *Synchytrium endobioticum* und *Globodera rostochiensis* nach der Pasteurisierung unter Berücksichtigung der Probenanzahl und der jeweiligen Nachweisverfahren

QSO	Dauer	Anzahl Proben	Nachweis der Bakterien über			
			Biotest	Isolierung über Nährmedium	IF-Test an Pflanzenpresssaft	PCR Pflanzenpresssaft bzw. Kolonien
Cms	0,5 h	6	o. S.	positiv (Cms nachweisbar)	positiv (Cms nachweisbar)	positiv (Cms nachweisbar)
		3 (direkt)	o. S.			
	1 h	6	o. S.			
		3 (direkt)	o. S.			
	1,5 h	6	o. S.			
		3 (direkt)	o. S.			

QSO	Dauer	Anzahl Proben	Nachweis der Dauersori über	
			Mikroskopische Untersuchung	Biotest
Se	0,5 h	3	positiv (vitale Dauersori nachweisbar)	negativ (keine frischen Wucherungen vorhanden)
	1 h	3		
	1,5 h	3		

QSO	Dauer	Anzahl Proben	Nachweis der Zysten über Biotest
Gr	0,5 h	3	negativ (keine Bildung frischer Zysten)
	1 h	3	
	1,5 h	3	

3.4 Versäuerung

Bei der mikroskopischen Auswertung des Probenmaterials aus der Versäuerung wurden bei Se in allen 12 Proben noch vitale Dauersori festgestellt. Die Auszählung und die Berechnung des prozentualen Anteils toter Dauersori zeigten einen leichten Anstieg der Anzahl toter Dauersori in allen Proben und in der Positivkontrolle über den gesamten Versuchszeitraum (Tab. 11). Dabei blieben die Unterschiede in der Anzahl toter Dauersori gering. Bereits zersetzte oder vollständig zerstörte Dauersori konnten bei der Zählung jedoch technisch nicht erfasst werden.

⁴³ Abschlussbericht Pflanzenschutzamt der Landwirtschaftskammer Niedersachsen (2008, S. 8)

Für Gr konnte nach Kontamination eines versäuerten Schälrestes nach einem Tag Versuchsdauer frische Zysten an den Biotestpflanzen induziert werden, nach fünf und nach neun Tagen wurden keine frischen Zysten an den Testpflanzen festgestellt (Tab. 11).

Bei den Versuchen mit versäuerter Pülpe gemischt mit Hydrolysat oder Restmasse im Verhältnis 1:1 und 2:1 konnte weder in einem der Versuche noch bei den Kontrollen in Wasser die Bildung neuer Zysten an den Biotestpflanzen festgestellt werden. Da die internen Kontrollen des Kooperationspartner zu einer Bildung neuer Zysten an den Testpflanzen führte, ist davon auszugehen, dass die verwendeten Proben durch unbekannte Faktoren bereits abgestorben waren. Eine abschließende Bewertung dieser Versuche ist daher nicht möglich.

Tab. 11: Überblick über die Ergebnisse aus Versuchen zur Wirkung der Versäuerung von Abfällen auf *Synchytrium endobioticum* und *Globodera rostochiensis* unter Berücksichtigung des pH-Wertes des Probenmaterials

nU: nicht untersucht positiv: vitale Zysten im Biotest negativ: keine Zystenbildung

Quarantäne-schadorganismus	Nr. (Tab. 5)	Substrat		Anteil toter Dauersori in %		
		Zusammensetzung	pH-Wert	nach 5 h	nach 1 d	nach 5 d
Se	10	Pülpe und Hydrolysat 1:1	5,09	Ø 6,66	Ø 8,8	Ø 14,51
	11	Pülpe und Hydrolysat 2:1	4,23	Ø 6,4	Ø 9,74	Ø 13,19
	12	Pülpe und Restmasse 1:1	4,71	Ø 4,09	Ø 9,29	Ø 12,73
	13	Pülpe und Restmasse 2:1	4,21	Ø 6,84	Ø 6,95	Ø 11,41
		Positivkontrolle			Ø 5,01	Ø 5,58

Quarantäne-schadorganismus	Nr. (Tab. 5)	Substrat		Zystenbildung nach			
		Zusammensetzung	pH-Wert	5 h	1 d	5 d	9 d
Gr	9	Schälreste	4,4	nU	positiv	negativ	negativ
	10	Pülpe und Hydrolysat 1:1	5,09	nicht auswertbar			nU
	11	Pülpe und Hydrolysat 2:1	4,23				
	12	Pülpe und Restmasse 1:1	4,71				
	13	Pülpe und Restmasse 2:1	4,21				

Für Cms wurden insgesamt 26 verschiedene versäuerte Abfälle geprüft. Bei der Untersuchung der Substrate Nr. 1 bis 13 (Tab. 12) konnte aus insgesamt vier Substraten noch Cms über das semiselektive Nährmedium MTNA isoliert werden. Dabei war bei den Substraten Nr. 3 und 4 nach einer Stunde auch noch ein starkes Wachstum von Cms auf dem Nährmedium zu beobachten. Bei

Substrat 3 (Schälreste) sowie Substrat 10 (Pülpe und Hydrolysat 1:1) konnte auch noch nach einem Tag ein geringes Wachstum von Cms auf dem Nährmedium festgestellt werden. Ein Substrat (8) war im Verlauf des Versuchs verschimmelt und konnte nicht ausgewertet werden.

Tab. 12: Übersicht der Ergebnisse zur Wirkung der Versäuerung auf *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* für die Substrate 1 bis 13 (Tab. 5)

+: Nachweis von Cms möglich -: Nachweis von Cms nicht möglich
 nU: nicht untersucht kA: keine Auswertung

Substrat			Isolierung über MTNA-Nährmedium nach			
Nr.	Zusammensetzung	pH-Wert	1 h	5 h	1 d	5 d
1	Schälreste	4,06	-	-	-	nu
2	Schälreste	3,9	-	-	-	nu
3	Schälreste und Wasser (2:1)	3,8	+	+	+	nu
4	Schälreste und Wasser (2:1)	4,1	+	-	-	nu
5	Schälreste und Wasser (1:1)	4,2	+	-	-	nu
6	Schälreste und Wasser (1:1)	4,2	-	-	-	nu
7	Schälreste und Hydrolysat (2:1)	4,3	-	-	-	nu
8	Schälreste und Hydrolysat (2:1)	4,47	kA	kA	kA	nu
9	Schälreste und Hydrolysat (1:1)	4,45	-	-	-	nu
10	Pülpe und Hydrolysat (1:1)	5,09	nu	+	+	-
11	Pülpe und Hydrolysat (2:1)	4,23	nu	-	-	-
12	Pülpe und Restmasse (1:1)	4,71	nu	-	-	-
13	Pülpe und Restmasse (2:1)	4,21	nu	-	-	-

Bei den Untersuchungen der Substrate Nr. 14 bis 26 (Tab. 13) kam es zum Teil zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen. Bei den Substraten 20 und 24 konnte bereits nach einer Stunde kein Cms mehr isoliert werden, dies Ergebnis ließ sich über den Biotest bestätigen. Bei allen anderen Substraten war es allerdings noch möglich, nach einer Stunde Cms über das semiselektive Nährmedium zu isolieren. Im Biotest war es jedoch nur in vier der untersuchten Substrate (21, 22, 25 und 26) möglich dieses Ergebnis zu bestätigen. Auch noch nach vier Stunden wurde Cms in zwei Substraten (14 und 21) über das semiselektive Nährmedium isoliert, aber auch hier konnte im Biotest dieses Ergebnis nicht erzielt werden. Bei 23 der auswertbaren 25 Substrate war es nach einem Tag weder über das semiselektive Nährmedium noch über den Biotest möglich, Cms nachzuweisen. Dem entgegen war es bei zwei Substraten (22 und 26) trotzdem möglich über den Biotest auch nach einem Tag Cms zu isolieren. Die Ergebnisse zeigen, wie problematisch der zuverlässige Nachweis von Cms in komplexen Substraten sein kann. Aus den Versuchsansätzen 1 und 2 kann dennoch geschlossen werden, dass ein Tag Einwirkungsdauer bereits sehr effektiv hinsichtlich der Abtötung von Cms ist, aber für eine sichere Hygienisierung noch nicht ausreicht.

Tab. 13: Übersicht der Ergebnisse zur Wirkung der Versäuerung auf *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* für die Substrate 14 bis 26 (Tab. 5)

+ : Nachweis von Cms möglich - : Nachweis von Cms nicht möglich nU: nicht untersucht

Substrat				Isolierung von Cms über Nährmedium NCP88 ^{strep}						Nachweis von Cms mit Hilfe eines Biotests					
Nr.	Zusammensetzung	pH-Wert ⁴⁴		1 h		4 h		1 d		1h		4 h		1 d	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
14	Schälreste unbehandelt	3,76	3,6	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Schälreste versäuert	3,6	3,68	-	+	-	-	-	-	-	nu	-	nu	-	nu
16	Schälreste versäuert	3,67	3,67	-	+	-	-	-	-	-	nu	-	nu	-	nu
17	Schälreste:Hydrolysat (1:1)	3,8	3,92	-	+	-	-	-	-	-	nu	-	nu	-	nu
18	Schälreste:Hydrolysat (1:1)	4,0	3,91	-	+	-	-	-	-	-	nu	-	nu	-	nu
19	Schälreste versäuert	3,6	3,77	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	Schälreste versäuert	3,7	3,69	-	-	-	-	-	-	-	nu	-	nu	-	nu
21	Schälreste:Hydrolysat (1:1)	3,9	4,09	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
22	Schälreste:Hydrolysat (1:1)	4,0	4,13	+	-	-	-	-	-	+	nu	+	nu	+	nu
23	Schälreste versäuert	3,8	3,76	-	+	-	-	-	-	-	nu	-	nu	-	nu
24	Schälreste versäuert	3,7	3,91	-	-	-	-	-	-	-	nu	-	nu	-	nu
25	Schälreste:Hydrolysat (1:1)	4,0	4,17	+	+	-	-	-	-	+	nu	-	nu	-	nu
26	Schälreste:Hydrolysat (1:1)	4,0	4,16	+	+	-	-	-	-	+	nu	+	nu	+	nu

⁴⁴ pH-Wert vor Versuchsbeginn unter Angabe von zwei Messwiederholungen (A, B)

4. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Mit den Untersuchungen wurde geprüft, inwieweit widerstandsfähige Quarantäneschadorganismen (QSO) der Kartoffel über die in der Bioabfallverordnung vorgeschriebenen Behandlungsverfahren Kompostierung und Pasteurisierung vollständig inaktiviert werden. In Erweiterung der Projektziele wurde untersucht, ob eine künstliche Versäuerung der Abfälle, die im Rahmen einer Vergärung erfolgen könnte, die QSO abtötet. Für die Versuche wurden die QSO *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (Cms), *Synchytrium endobioticum* (Se) und *Globodera rostochiensis* (Gr) eingesetzt.

Die Voruntersuchungen zur Kompostierbarkeit der ausgewählten Abfälle an der BTU Cottbus⁴⁵ ergaben, dass nur Pülpe und Altkartoffeln für eine Kompostierung geeignet sind, Schälreste können nicht als Hauptbestandteil kompostiert werden. Ausschlaggebend sind hier vor allem die sich im Kompostierungsprozess entwickelnden Temperaturen⁴⁶. Bei der Verwendung von Pülpe wurden Temperaturen um 50 °C, die über mehrere Tage gehalten werden konnten, nur bei einer Mischung mit Kompost im Verhältnis 2:1 erreicht. Bei der Verwendung von Altkartoffeln stiegen die Temperaturen bei einer Mischung mit Kompost im Verhältnis 1:2 auf über 70 °C an. Der Einsatz von Schälresten in der Kompostierung ergab hingegen auch bei unterschiedlichen Mischungen keinen ausreichenden Temperaturanstieg, so dass die Schälreste für die Kompostierung nicht weiter verwendet wurden. Erden aus der Kartoffelverarbeitung lassen sich aufgrund des Mangels an organischer Substanz nur zur Beimischung verwenden.

Für die Einbringung der Schadorganismen in die Versuche wurden Trägersysteme verwendet. Für die Einbringung von Se und Cms musste zunächst ein solches Trägersystem entwickelt werden, da es bisher nicht zur Verfügung stand, geeigneten Trägern für die Versuche jedoch eine bedeutende Rolle zukommt (WIEDEMANN und ENDERLEIN 2004, LORENZ 2004). So mussten die Träger ein ausreichendes Füllvolumen aufweisen, da für den Nachweis zur Lebensfähigkeit der QSO eine Mindestmenge an Probenmaterial benötigt wird. Gleichzeitig müssen die Träger eine ausreichend große aktive Oberfläche aufweisen, damit die chemischen und physikalischen Prozesse der einzelnen Verfahren auch auf Trägerinhalt (die Probe) einwirken konnten. Vor allem sollten die einwirkenden Temperaturen auf den Inhalt der Träger genauso hoch sein wie beim umgebenden Substrat. Ein Austreten der Schadorganismen in das umgebende Substrat musste zudem aus Quarantänegründen ausgeschlossen sein. Das selbstentwickelte Trägersystem erfüllte die gestellten Erwartungen vollkommen. Die Schraubdeckelgefäße waren ausreichend dicht, so dass ein unerwünschtes Austreten der Schadorganismen in das umgebende Substrat vermieden wurde. Zudem zeigten die Untersuchungen zur Temperaturentwicklung in den Trägern im Vergleich mit dem umgebenden Substrat, dass die Plastikgefäße nicht zu einer Temperaturverringerung im Inneren der Träger führten. Somit konnte eine Verfälschung der Ergebnisse durch die Träger ausgeschlossen werden. Zur Kontrolle wurden zudem verschiedene Versuche mit einer direkten Einbringung der Schadorganismen ins Substrat durchgeführt. Auch hier zeigte sich, dass es nicht zu einer Abweichung der Ergebnisse bei direkter Einbringung oder der Verwendung von Trägern kam.

Gr wurde über Gazebeutel in die Versuche gebracht. Dieses System wurde bereits früher vom Kooperationspartner Pflanzenschutzamt der Landwirtschaftskammer Niedersachsen entwickelt.

⁴⁵ Brandenburgische Technische Universität Cottbus, Fakultät für Umweltwissenschaften und Verfahrenstechnik, Lehrstuhl Abfallwirtschaft

⁴⁶ Abschlussbericht der BTU Cottbus (2008, S. 5)

Die Temperaturverläufe bei der Kompostierung waren zum Teil sehr unterschiedlich. Deutliche Unterschiede zeigten sich bei der Verwendung der verschiedenen Substratmischungen Pülpe und Kompost (Verhältnis 2:1) sowie Altkartoffeln und Kompost (Verhältnis 1:2). Dabei wurden den Altkartoffeln zur Strukturstabilität zum Teil weitere Bioabfälle zugesetzt⁴⁷. Die sich entwickelnden Temperaturen ließen sich grob in zwei Temperaturniveaus einteilen. Bei der Verwendung von Pülpe als Hauptbestandteil blieben die Temperaturen in der Regel bei ca. 50 °C oder knapp darunter. Diese Temperaturen ließen sich jedoch auch über längere Zeiträume (bis zu zwei Monate) halten. Bei Verwendung von Altkartoffeln als Hauptbestandteile stiegen die Temperaturen über 65 °C an, blieben jedoch nur einige Tage auf diesem Niveau⁴⁸.

Zusätzlich konnten bei Einsatz der geschlossenen 60-L-Komposter Unterschiede im Temperaturverlauf in den drei Ebenen festgestellt werden. Ebene 2, in der Mitte der Komposter, zeigte durchgängig die höchsten und stabilsten Temperaturverläufe. In den Ebenen 1 und 3 stiegen die Temperaturen nicht so hoch und kühlten auch schneller wieder ab. Die Unterschiede in der Temperaturentwicklung lassen sich vor allem dadurch erklären, dass Kompost ein komplexes System ist und bereits minimale Veränderungen in der Zusammensetzung der Ausgangsstoffe zu einer Veränderung in den Prozessparametern führen können. Die Temperaturunterschiede in den Versuchsebenen erklären sich durch die gezielte Luftzufuhr (Ebene 1) sowie das Zusammenfallen des Substratvolumens und den damit entstehenden Randbereich in Ebene 3.

Bei Einbringung von Cms in den Kompostierungsprozess konnten mit zwei Ausnahmen aus allen Versuchen vitale Bakterien isoliert und nachgewiesen werden. Die Biotestpflanzen zeigten nach Inokulation mit dem kompostierten Probenmaterial im Inkubationszeitraum keine charakteristischen Symptome, die Positivkontrollen hingegen zeigten Symptome. Es ist aus anderen Forschungsarbeiten bekannt, dass bei einer Reisolierung von Cms aus komplexen Substraten die Biotestpflanzen keine oder untypische Symptome zeigen (mündl. Mitteilung Müller⁴⁹). Dennoch war auch in diesen Arbeiten die Isolierung von Cms über ein semiselektives Nährmedium problemlos möglich. Als Ursache hierfür ist anzusehen, dass die Bakterien im Substrat in eine Art „Hungerzustand“ gehen und in den Pflanzen eine längere Phase zur Reaktivierung brauchen. Sie vermehren sich zwar, führen aber nicht zur Symptomausprägung. Erst nach der Passage über ein Nährmedium und erneute Inokulation werden wieder Symptome induziert (mündl. Mitteilung Müller⁴¹). Dementsprechend konnten in den eigenen Versuchen nach der Isolierung über ein semiselektives Nährmedium im Pathogenitätstest wieder typische Symptome hervorgerufen werden. Der Biotest an Auberginen ist mit einer Nachweisgrenze von 10² cfu/g Kompost sehr sensitiv (eigene Untersuchungen) und war für den Nachweis von Cms aus Kompost sehr gut geeignet. In den Pflanzen vermehren sich ausschließlich vitale Zellen. Wird daher über die Symptomausprägung bei den Biotestpflanzen oder einen IF-Test aus Pflanzenpresssaft Cms nachgewiesen, ist die Aussage zulässig, dass die zur Inokulation verwendeten Cms-Zellen vital waren. Warum aus zwei Proben keine vitalen Cms-Zellen isoliert werden konnten ist unklar. Bei identischem Versuchsansatz konnten in anderen Versuchen vitale Cms-Zellen isoliert werden. Vermutet wird ein technischer Fehler, so ist es möglich, dass bei Ansetzen des Probenmaterials keine ausreichende Durchmischung erzielt wurde und in den eingesetzten Proben keine Cms-Zellen vorhanden waren. Von Bedeutung ist vor allem, dass Cms auch bei Temperaturen von ca. 70 °C über sieben Tage in Ebene 2 des 60-L-Komposters nicht vollständig abgetötet wurde. Die gesamte Kompostierungsdauer in diesem Versuch lag bei 21 Tagen. Jedoch war hier eine deutliche Reduzierung des Anteils vitaler Cms-Zellen

⁴⁷ Abschlussbericht der BTU Cottbus (2008, S. 11)

⁴⁸ Abschlussbericht der BTU Cottbus (2008, S. 25)

⁴⁹ Dr. P. Müller; JKI, Institut für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit, Kleinmachnow

im Pflanzenpresssaft zu erkennen. Deutlich höher war der Anteil an vitalen Cms-Zellen im Probenmaterial aus Ebene 1 und 3, obwohl auch hier Temperaturen um 70 °C erreicht wurden. Jedoch fielen die Temperaturen in diesen beiden Ebenen bereits nach zwei Tagen ab und lagen bei Ebene 1 nach sieben Tagen bei ca. 65 °C und in Ebene 3 bei 60 °C. Zu vermuten ist, dass Temperaturen um 70 °C oder darüber über einen längeren Zeitraum zu einer vollständigen Inaktivierung von Cms führen können. Bisher fehlen jedoch weitere Untersuchungen zur letalen Temperatur für Cms in komplexen organischen Substraten. Turner et al. (1983) stellten bei ihren Untersuchungen zur Inaktivierung von Cms über eine anaerobe Behandlung fest, dass Cms nach 7 Tagen bei 35 °C abgetötet wird. Bei der anaeroben Behandlung kommt es aber durch die chemischen Reaktionen zu einem Anstieg der Säuregehalte in den Substraten, so dass ein direkter Vergleich der Ergebnisse nicht möglich ist.

Bei Einbringung von Se in die Kompostierung konnten aus allen Proben noch vitale Dauersori isoliert werden. Dabei war kein Einfluss höherer Temperaturen in den einzelnen Ebenen bzw. in verschiedenen Versuchsansätzen zu erkennen. Ein zahlenmäßiger Vergleich der Dauersori war nicht möglich, da die Verteilung der Dauersori in den Proben sehr ungleichmäßig war (eigene Untersuchungen). Der Nachweis vitaler Dauersori ist hauptsächlich unter dem Mikroskop möglich. Dabei werden gefüllte Dauersori, also solchen mit einem deutlich sichtbaren granulären Inhalt, als vital bewertet. Vollständig entleerte Dauersori, also ohne sichtbaren Inhalt und mit deutlich zerstörter Außenwand, werden als tot bewertet. Zwischenformen, wie teilentleerte, verformte oder plasmolysierte Dauersori sind nicht eindeutig zuzuordnen und müssen daher als lebend eingestuft werden (ANONYM 2004). Im Biotest konnten nur in 2 Fällen frische Wucherungen an den Testpflanzen induziert werden. Jedoch war auch bei den Positivkontrollen die Bildung frischer Wucherungen nicht immer nachweisbar. Der Biotest mit Dauersori ist sehr störanfällig und ungenau. Kurzfristige Trockenheit oder zuviel Nässe können den Biotest nachhaltig stören (mündl. Mitteilung Stachewicz⁵⁰). Die Zeitspanne in der es zu einer Infektion der Kartoffelkeime kommen kann ist sehr kurz und setzt das Vorhandensein von reifen Dauersori voraus, die zu diesem Zeitpunkt ihre Zoosporen in die umgebende Erde entlassen. Die Keimung der Dauersori kann jedoch nicht gesteuert werden kann und unterliegt starken Schwankungen (HAMPSON 1977 und 1980, LANGE und OLSON 1980). Daher wird dem Biotest nur eine untergeordnete Rolle bei der Auswertung der Ergebnisse beigemessen. Die Prüfung alternativer, in der Literatur angegebener Verfahren war im Rahmen des Projektes nicht erfolgreich.

Es wurde mit den vorliegenden Untersuchungen festgestellt, dass **die Kompostierung unter den in der BioAbfV vorgeschriebenen Parametern nicht ausreicht, um Cms oder Se vollständig zu inaktivieren.**

Die Zysten von Gr konnten in allen Kompostierungsversuchen, auch schon nach einer Woche bei 55 °C abgetötet werden. **Die Vorgaben der BioAbfV zur Kompostierung sind für Gr demnach vollständig ausreichend.**

Nach der Pasteurisierung konnten aus allen untersuchten Probenträgern vitale Cms-Zellen bzw. vitale Dauersori von Se isoliert werden. Da der Zeitraum der Erwärmung in den Versuchen recht kurz war (maximal zwei Stunden), wurden gezielt kleinere Träger gewählt, so dass es kaum zu einer Verzögerung bei der Erwärmung des Substrats in den Trägern kommen konnte. Dies wurde im Vorfeld an der BTU Cottbus¹ überprüft⁵¹. Dennoch wurde bei den Untersuchungen eine zeitliche Verzögerung der Erwärmung des Probenmaterials berücksichtigt, so dass die maximale Pasteurisierungsdauer bei 70 °C 1,5 Stunden betrug. Da Cms auch mehrere Tage bei 70 °C in der Kompostierung überdauern

⁵⁰ Dr. H. Stachewicz, ehemals JKI, Institut für Pflanzenschutz im Ackerbau und Grünland, Kleinmachnow

⁵¹ Abschlussbericht der BTU Cottbus (2008, S. 31)

konnte, ist es erklärlich, dass die Pasteurisierung unter den geprüften Bedingungen nicht ausreichend ist, den Schadorganismus zu inaktivieren. Das gilt auch für Se. Eigene weiterführende Untersuchungen zur Inaktivierung der Dauersori von Se über Wärme ergaben, dass auch nach mehreren Stunden bei 90 °C trockener oder feuchter Wärme keine Inaktivierung der Dauersori erfolgte. **Die Pasteurisierung ist demnach kein geeignetes Verfahren zur Inaktivierung von Cms oder Se.**

Die Zysten von Gr konnten in allen Pasteurisierungsversuchen vollständig inaktiviert werden, auch bei 0,5 Stunden bei 70 °C. **Die Vorgaben der Bioabfallverordnung sind für Gr demnach auch bei der Pasteurisierung vollständig ausreichend.**

Untersuchungen zu einer Inaktivierung der Schadorganismen über eine künstliche Versäuerung von Abfällen wurden hauptsächlich für Cms durchgeführt. Für Gr konnte aus technischen Gründen von fünf Versuchsansätzen nur einer ausgewertet werden. Nach einem Tag Versuchsdauer konnte keine vollständige Inaktivierung der Zysten nachgewiesen werden. Nach 5 Tagen waren jedoch alle Zysten vollständig abgestorben. Bei Se konnte auch nach 5 Tagen keine vollständige Inaktivierung der Dauersori nachgewiesen werden. Aufgrund des problematischeren Vitalitätsnachweises bei Se wurde auf weitere Untersuchungen hierzu verzichtet.

Die Wirkung einer künstlichen Versäuerung auf Cms wurde umfangreich geprüft. Insgesamt 26 verschiedene versäuerte Substrate wurden untersucht, von denen eines wegen Fremdbewuchs auf den Nährmedien nicht auswertbar war. Nur bei vier der untersuchten Substrate war es möglich, auch nach einem Tag noch vitale Cms-Zellen zu isolieren. Bei 21 der getesteten Substrate wurde Cms während der Versuchsdauer von einem Tag vollständig inaktiviert. Bei den Substraten 22 und 26 war die Isolierung der Bakterien nach einem Tag nur über den Biotest möglich. Leider konnte aus technischen Gründen bei den Untersuchungen der Substrate Nr. 14 bis 26 in der Wiederholung nur in Einzelfällen ein Biotest durchgeführt werden, so dass die exakte Bewertung dieser Ergebnisse schwierig ist. Es ist davon auszugehen, dass für die künstliche Versäuerung mindestens ein Tag Behandlungszeit erforderlich ist. Bei Substraten, in denen Cms auch nach einem Tag nicht inaktiviert wurde, lag der Gesamtgehalt flüchtiger organischer Säuren (FOS) stets unter einem Gramm pro Liter Substrat. Allerdings lässt der FOS-Gehalt nicht zwangsläufig Rückschlüsse auf die Inaktivierung von Cms zu, da die Bakterien in anderen Substraten mit einem FOS-Gehalt unter einem Gramm pro Liter Substrat vollständig inaktiviert wurden. Die gezielte Bestimmung des Einflusses einzelner Säuren auf die Inaktivierung von Cms konnte aufgrund des begrenzt zur Verfügung stehenden Zeitrahmes nicht durchgeführt werden.

Die Versäuerung der Abfälle ist bisher das einzige geprüfte Verfahren, dass bereits nach einem Tag zum Absterben von Cms führen kann. Es sollte daher unbedingt weiter geprüft werden. Insbesondere, da aus solchen Untersuchungen wichtige Rückschlüsse auf die Inaktivierung der Schadorganismen im Verlauf der Vergärung möglich sind.

Ausblick:

Für eine Pasteurisierung wäre eine gezielte Erhöhung der Temperatur in Verbindung mit längeren Behandlungszeiten denkbar. Bisher fehlen für Cms Untersuchungen zur Wirkung einer Pasteurisierung bei 80 °C für mehrere Stunden. Für Se sind jedoch auch höhere Temperaturen über mehrere Stunden nicht ausreichend. Hierbei muss dann die Wirtschaftlichkeit der Verfahren berücksichtigt werden und es ist nicht zu erwarten, dass ein solches Verfahren praxisrelevant ist. Vergleichbares gilt für die Kompostierung. Eine gezielte Temperatursteuerung ist hier nur bedingt möglich. Zudem muss berücksichtigt werden, dass zu hohe Temperaturen den Kompostierungsprozess vorzeitig beenden können.

Da die Untersuchungen ergeben haben, dass die Parameter der BioAbfV zur Kompostierung und Pasteurisierung für die Abtötung der widerstandsfähigen QSO Cms und Se nicht ausreichend sind, ist es erforderlich, eine Anpassung dieser Verordnung bzgl. der Verwertung von Kartoffelabfällen auf landwirtschaftlich genutzten Flächen vorzunehmen. Insbesondere sollte vorgesehen werden, dass die Abfälle nicht auf Flächen verbracht werden, auf denen Kartoffeln angebaut werden, da beide Schadorganismen für mehrere Jahre auf den Flächen überdauern können (LANGERFELD 1984, WOLF et al. 2005), so dass auch eine zeitlich befristete Anbausperre irrelevant ist.

Eine Prüfung weiterer alternativer Verfahren ist unerlässlich.

5. Zusammenfassung

Im vorliegenden Projekt wurden Untersuchungen zur Abtötung der Quarantäneschadorganismen Cms, Se und Gr über hygienisierende Maßnahmen durchgeführt.

Zu prüfen war, inwieweit die gesetzlichen Vorgaben der BioAbfV für die vorgeschriebenen Verfahren Kompostierung und Pasteurisierung zur Hygienisierung von Abfällen aus der Kartoffelverarbeitung ausreichend sind. Für die Pasteurisierung ist eine Behandlung von einer Stunde bei 70 °C vorgeschrieben. Für die Kompostierung müssen entweder 55 °C für zwei Wochen bzw. 65 °C über eine Woche erreicht werden. Ergänzend wurden Untersuchungen zur Wirkung einer künstlichen Versäuerung der Abfälle, wie sie im Rahmen einer Vergärung erfolgen könnte, durchgeführt.

Für die Einbringung von Cms und Se in die Versuche wurde ein geeignetes Trägersystem aus Polyethylen-Gefäßen entwickelt, deren Eignung im Vorfeld geprüft wurde. Über dieses Trägersystem konnte das sichere wieder Auffinden der Schadorganismen in größeren Abfallmengen gewährleistet werden.

Der Nachweis der Lebensfähigkeit für Cms erfolgte über einen Biotest an Auberginenpflanzen, mit anschließender Aufarbeitung, indirektem IF-Test und Isolierung der Bakterien über ein semiselektives Nährmedium. Zur Identifizierung wurde ein erneuter IF-Test durchgeführt und die Virulenz im Pathogenitätstest bestätigt. Für Se erfolgten eine Isolierung der Dauersori aus dem Kompost über ein Nasssiebverfahren mit anschließender mikroskopischer Auswertung sowie ein Biotest an Kartoffelknollen. Die Untersuchungen zur Lebensfähigkeit von Gr wurden vom Kooperationspartner, dem Pflanzenschutzamt Hannover, durch einen Biotest an Kartoffeln vorgenommen.

Die Untersuchungen zur Wirkung der Kompostierung wurden in 2-L-Dewar-Gefäßen und in 60-L-Kompostern durchgeführt. Die erreichten Temperaturen während der Kompostierungen sowie in den einzelnen Versuchsebenen im 60-L-Komposter unterschieden sich in den Versuchen zum Teil erheblich, so dass ein statistischer Vergleich der Versuchsverläufe schwierig war.

Vitale vermehrungsfähige Cms-Bakterien konnten mit Ausnahme eines Versuches in allen Proben nachgewiesen werden. Bei den Untersuchungen zur Abtötung der Dauersori von Se war es ebenfalls möglich, in allen Proben vitale Dauersori nachzuweisen. Vitale Gr Zysten konnten nach der Kompostierung nur noch in einer Probe nachgewiesen werden.

Die Versuche zur Pasteurisierung erfolgten für alle Schadorganismen bei 70 °C im Wasserbad für eine, anderthalb und zwei Stunden. Vitale Cms waren in allen Versuchansätzen mit diesem Bakterium nachzuweisen. Vitale Dauersori von Se konnten nach den jeweiligen Behandlungen ebenfalls aus allen Versuchansätzen isoliert werden. Gr kontaminiertes Material konnte nach der Pasteurisierung – unabhängig von der Behandlungsdauer keine Zysten mehr an den Biotestpflanzen induzieren.

Bei den Untersuchungen zur Wirkung einer künstlichen Versäuerung auf die Schadorganismen wurden im Bezug auf eine Abtötung von Se vier, Gr fünf und Cms insgesamt 26 verschiedene künstlich versäuerte Abfälle geprüft. Der Nachweis von Cms wurde über eine direkte Ausplattierung auf ein semiselektives Nährmedium und teilweise einen parallel angesetzten Biotest durchgeführt.

Se konnte in allen Proben auch nach neun Tagen noch vitale Dauersori nachgewiesen werden. Die Behandlung führte zu einer leichten Zunahme der Anzahl toter Dauersori, die angestrebte vollständige

Abtötung der Dauersori wurde nicht erreicht. Weiterführende Untersuchungen sind erforderlich und unbedingt anzustreben.

Im einzigen auswertbaren Versuch zur künstlichen Versäuerung konnten alle eingebrachten Zysten von Gr nach fünftägiger Inkubationszeit inaktiviert werden. Eine weitere Prüfung und vor allem eine genauere Festlegung der letalen Verweilzeit sind erforderlich.

Bezüglich der Inaktivierung von Cms durch eine künstliche Versäuerung konnten in 21 der insgesamt 25 untersuchten Substrate nach einem Tag keine vitalen Cms-Zellen mehr nachgewiesen werden. In vier Substraten war es auch nach einem Tag noch möglich, lebende Cms-Bakterien nachzuweisen. Zwischen der Inaktivierung der Bakterien und dem pH-Wert des Substrats bei Behandlungsbeginn ist keine Abhängigkeit zu erkennen. Vermutlich wird die Inaktivierung der Bakterien im Wesentlichen durch den Gesamtgehalt flüchtiger organischer Säuren beeinflusst. Weitere Untersuchungen sind hier notwendig, um eine exakte Bestimmung der organischen Säuren sowie deren Einfluss auf den Prozess zu ermitteln und darzustellen. Diese konnte aus Zeitgründen im Rahmen des vorliegenden Projektes nicht erfolgen.

In den Untersuchungen konnte eindeutig belegt werden, dass es möglich ist, die Zysten von *Globodera rostochiensis* sowohl über die Kompostierung als auch über eine Pasteurisierung vollständig abzutöten. Für die Abtötung waren sowohl eine Pasteurisierung für eine halbe Stunde bei 70 °C, als auch eine Kompostierung über eine Woche bei Maximaltemperaturen von ca. 55 °C vollständig ausreichend. Dies entspricht den in der BioAbfV vorgeschriebenen Parametern.

Für *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* und *Synchytrium endobioticum* hingegen war es weder möglich, die Schadorganismen über eine Kompostierung, noch über eine Pasteurisierung vollständig abzutöten. Selbst eine Kompostierung über einen Zeitraum von 21 Tagen bei Maximaltemperaturen von über 65 °C bzw. eine Pasteurisierung bei 70 °C über einen Zeitraum von zwei Stunden führten nicht zu der gewünschten Inaktivierung der Schadorganismen. Die in der BioAbfV genannten Parameter zur Kompostierung und Pasteurisierung sind demzufolge für eine Abtötung von Cms und Se nicht ausreichend.

6. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen und Hinweisen auf weiterführende Fragestellungen

Die geplanten Ziele des durchgeführten Forschungsprojektes waren die Überprüfung der Wirksamkeit einer Kompostierung bzw. Pasteurisierung von Abfällen aus der Kartoffelverarbeitung auf ***Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus*** (Cms), ***Synchytrium endobioticum*** (Se) und ***Globodera rostochiensis*** (Gr) und ***G. pallida*** (Gp) unter den in der BioAbfV vorgegebenen Bedingungen. Darüber hinaus sollte in einer Modellsimulation im Labor die Inaktivierung von Cms, Se und Gr durch die nur Sekunden dauernde Einwirkung von Heißdampf überprüft werden.

Für die Versuche wurde auf eine Untersuchung von Gp verzichtet, da die Ergebnisse für Gr auf diesen Schadorganismus übertragbar sind (mündl. Mitteilung Heinicke⁸).

Es konnte im Projekt gezeigt werden, dass sowohl die Kompostierung als auch die Pasteurisierung unter den in der BioAbfV vorgegebenen Parametern keine ausreichende abtötende Wirkung auf Cms und Se hat. Für eine Abtötung von Gr sind die Verfahren jedoch ausreichend.

Die Untersuchungsziele konnten in diesen Punkten erfüllt werden.

Technisch nicht zu erreichen war bisher eine Simulierung und Überprüfung der Wirkung von Heißdampf auf die genannten Erreger. Versuche mit Laborautoklaven zur Simulierung der Dampfschälung konnten die Bedingungen nicht in ausreichendem Maße nachstellen. Der Versuch eine technische Modellanlage bei dem Kooperationspartner BTU Cottbus¹ zu entwickeln scheiterte an der Umsetzung vergleichbarer Versuchsbedingungen hinsichtlich des Druckaufbaues. Eine Durchführung der Versuche im Praxistest in einem kartoffelverarbeitenden Betrieb war nach Prüfung aufgrund der Quarantänesituation und der dadurch entstehenden Einschränkungen im Ablaufplan der Produktion nicht möglich.

Nicht in den ursprünglichen Projektzielen vorgesehen waren Untersuchungen zur Wirkung einer künstlichen Versäuerung auf die genannten QSO. Diese Versuche wurden ergänzend aufgenommen als abzusehen war, dass die Kompostierung und die Pasteurisierung für eine Abtötung von Se und Cms nicht ausreichend sind. Es konnte tendenziell eine abtötende Wirkung der künstlichen Versäuerung auf Gr und Cms festgestellt werden. Für Se konnte ein Anstieg des prozentualen Anteils toter Dauersori im Probenmaterial festgestellt werden. Der bisherige Versuchsumfang und die Streuung der Ergebnisse lassen es derzeit noch nicht zu hinreichend abgesicherte verbindliche Aussagen zur Inaktivierbarkeit der Quarantäneorganismen durch eine künstliche Versäuerung zu treffen.

Es ist daher erforderlich, weitere alternative Verfahren zur Hygienisierung von Abfällen aus der Kartoffelverarbeitung zu prüfen. Im Gegensatz zu der doch unerwartet unbefriedigenden Wirkung der Kompostierung scheint die Versäuerung ein aussichtsreiches Verfahren zur Hygienisierung von Abfällen zu sein. Die künstliche Versäuerung sollte unter diesen Aspekten weiter geprüft und ggf. optimiert werden.

7. Literaturverzeichnis

ANONYM (1969): RICHTLINIE 69/464/EWG des Rates vom 8. Dezember 1969 zur Bekämpfung des Kartoffelkrebses. Abl. Nr. L 323/1.

ANONYM (1993): RICHTLINIE 93/85/EWG des Rates vom 4. Oktober 1993 zur Bekämpfung der bakteriellen Ringfäule der Kartoffel. Amtsblatt Nr. L 259 vom 18. Oktober 1993, S. 1, zuletzt geändert am 1.4.2007 durch 2006/56/EG (Abl. 182/1).

ANONYM (1994): Gesetz zur Förderung der Kreislaufwirtschaft und Sicherung der umweltverträglichen Beseitigung von Abfällen. BGBl I 1994, 2705.

ANONYM (1998): Bioabfallverordnung; BGBl. I – Nr. 65, vom 28. September 1998, S. 2955.

ANONYM (2000): RICHTLINIE 2000/29/EG des Rates vom 8. Mai 2000 über Maßnahmen zum Schutz der Gemeinschaft gegen die Einschleppung und Ausbreitung von Schadorganismen der Pflanzen und Pflanzenerzeugnisse. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften Nr. L 169 vom 10. Juli 2000. S. 1 (berichtigte Fassung EG-Amtsblatt L2/40 vom 7. Januar 2003).

ANONYM (2001): Verordnung zur Neuregelung pflanzenschutzrechtlicher Vorschriften zur Bekämpfung von Schadorganismen der Kartoffel vom 5. Juni 2001 (BGBl. I S. 1006), zuletzt geändert am 23.10.2007 (BGBl. I Nr. 53, S. 2494).

ANONYM (2004): EPPO Diagnostic protocols for regulated pests PM 7/28 (1), *Synchytrium endobioticum*. Bulletin OEPP/ EPPO Bulletin **34**, 213–218.

ANONYM (2006): Richtlinie 2006/56/EG DER KOMMISSION vom 12. Juni 2006 zur Änderung der Richtlinie 93/85/EWG des Rates zur Bekämpfung der bakteriellen Ringfäule der Kartoffel. Amtsblatt der Europäischen Union L 182/1.

ANONYM (2007): Richtlinie 2007/33/EG des Rates vom 11. Juni 2007 zur Bekämpfung von Kartoffelnematoden und zur Aufhebung der Richtlinie 69/465/EWG. ABl. Vom 16. Juni 2007, Nr. L 156 S. 12.

ABDEL-KADER D, KAKAU J, MÜLLER P, PASTRIK K-H (2002): Bakterielle Ringfäule- Erste Ergebnisse zur Übertragbarkeit. Kartoffelbau **53** (9), 392–395.

BRÖTHER H (2003): Übertragungsmöglichkeiten von bakteriellen Quarantänekrankheiten durch Abprodukte der Kartoffelverarbeitung. Wintertagung der AG Kartoffelzüchtung und Pflanzguterzeugung am 20. / 21. November 2002, Göttingen.

DE LA CRUZ AR, WIESE MV, SCHAAD NW (1992): A semiselective Agar Medium for isolation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* from potato tissues. Plant Disease **76** (8), 830–834.

HAMBLOCH C, MENTH H, STELZER M, KASBOHM A, WILCKENS A, GRAF G (2008): ZMP-Marktbilanz Kartoffeln 2008. ZMP Zentrale Markt- und Preisberichtsstelle GmbH, Bonn.

HAMPSON MC (1977): A Hypothesis to Explain Erratic and Unpredictable Infection in Potato Wart Disease. Fao Plant Protection Bulletin. **25**, 68-72.

- HAMPSON MC (1980): Responses of resting sporangia of *Synchytrium endobioticum* to in vitro germination treatments. Canadian Journal of Plant Pathology. **2**, 76-82.
- JANSE JD, VAN VAERENBERGH J (1987): Interpretation of the EC method for the detection of latent *Corynebacterium sepedonicum* infections in potato. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin **17**, 1–10.
- JANSING H (1991): Nachweismethoden für *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*, Erreger der bakteriellen Ringfäule an Kartoffeln. Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, 151 S.
- LANGE L, OLSON LW (1980): Germination and Parasitism of the Resting Sporangia of *Synchytrium endobioticum*. Protoplasma. **106**, 69-82.
- LANGERFELD E (1984): *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc.- Zusammenfassende Darstellung des Erregers des Kartoffelkrebses anhand von Literaturberichten. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft **219**.
- LANGERFELD E, STACHEWICZ H (1993): Pathotypen des Kartoffelkrebses (*Synchytrium endobioticum* [Schilb.] Perc.) in den alten und neuen Bundesländern. Gesunde Pflanzen **45** (1), 9-12.
- LELLIOTT RA, STEAD DE (1987): Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Blackwell Scientific Publications, Oxford Stapp C (1943): Die Bakterienringfäule der Kartoffel. Flugblatt der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft Nr. **96**.
- LORENZ H (2004): Überprüfung der phyto- und seuchenhygienischen Unbedenklichkeit von Verpackungsrückständen aus der anaeroben Behandlung von Bioabfällen. Umweltforschungsplan des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit. Abfallwirtschaft. Förderkennzeichen 200 33 331. Bericht.
- PASTRIK K-H, RAINEY FA (1999): Identification and differentiation of *Clavibacter michiganensis* subspecies by polymerase chain reaction-based techniques. Journal of Phytopathology **147**, 687-693.
- POTOCEK J (1982): Panel on Potato Wart Disease. Second meeting, Prague 2. – 3. November 1982, 12 S.
- STEINMÖLLER S, BÜTTNER C, MÜLLER P, BECKERS F (2004): Bewertung des Risikos der Verschleppung von Quarantäneschadorganismen mit Abfällen aus kartoffelverarbeitenden Betrieben und praktische Bedeutung. Tagungsband 54. Deutsche Pflanzenschutztagung, Hamburg 20. – 23. September 2004, 343.
- TURNER J, STAFFORD DA, HUGHES DE, CLARSON J (1983): The reduction of three plant pathogens (*Fusarium*, *Corynebacterium* and *Globodera*) in anaerobic digesters. Agricultural wastes **6**, 1–11.
- VAN LEEUWEN GCM, WANDER JGN, LAMERS J, MEFFERT JP, BOOGERT VAN DEN PHJF, BAAYEN RP (2005): Direct examination of soil for sporangia of *Synchytrium endobioticum* using chloroform, calcium chloride and zinc sulphate as extraction reagentia. OEPP / EPPO, Bulletin OEPP / EPPO **35**, 25–31.
- WOLF VAN DER JM, MANSFELD-GIESE K, MÜLLER P, KARJALAINEN R, STEAD D (2003): Epidemiological studies on *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*, the causal agent of bacterial ring rot in potatoes. 8th

International Congress of Plant Pathology, 2-7 February 2003, Christchurch, New Zealand. Abstract 2.22, S. 16, Volume 2.

WOLF VAN DER JM, ELPHINSTONE JG, METZLER M, MÜLLER P, HUKKANEN A, KARLAINEN R (2005): Epidemiologie of *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* in relation to control of bacterial ring rot. Plant Research International B.V., Wageningen, Report **95**, 30 S.

WIEDEMANN W, ENDERLEIN O (2004): Dekontamination von bakteriellen Ringfäule-infizierten Speisekartoffelpartien durch mesophile Anaerobbehandlung in Biogasanlagen (Abschlussbericht). Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft.

ZAHN V (2007): Bakterienerkrankungen im Kartoffelanbau. Kartoffelbau **58** (6), S. 232–235.

Anhang

Nährmedien, Puffer und Seren

Der pH-Wert der Nährmedien wurde, sofern notwendig, mittels HCl oder NaOH vor dem Autoklavieren (120 °C, 20 min) eingestellt. Die Zugabe der Antibiotika erfolgte nach dem Autoklavieren. Die Mengenangaben der zugesetzten Reagenzien sind hier entsprechend der tatsächlichen Verwendung auf 0,5 Liter Aqua dest. bezogen

Nährmedien

MTNA

(JANSING 1991)

(pH 7,2)

Hefeextrakt	2,0 g
Mannitol	2,5 g
K ₂ HPO ₄	0,25 g
KH ₂ PO ₄	0,25 g
NaCl	0,05 g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,1 g
MnSO ₄ x H ₂ O	0,015 g
FeSO ₄ x 7 H ₂ O	0,005 g
Agar (Oxoid Nr. 1)	16,0 g
A.dest	1,0 L

Antibiotikazusatz:

Trimethoprim	0,06 g/L
Nalidixic Acid	0,002 g/L
Amphotericin B	0,01 g/L

[Für die Antibiotika werden Stammlösungen wie folgt hergestellt und eingesetzt:

Trimethoprim 60 mg in 12 mL 96 %igem Methanol (12 ml in 1 L Agar)

Nalidixic Acid 2 mg in 2 mL 96 %igem Methanol (2 ml in 1 L Agar)

Amphotericin B 10 mg in 10 ml DMSO (10ml in 0,5 L Agar)]

YPGA

(LELLIOTT und STEAD 1987)

(pH 7,0)

Bacto Agar	15,0 g
Hefeextrakt	5,0 g
Bacto-Pepton	5,0 g
α -D(+)-Glucose-Monohydrat	10,0 g
A. dest.	1,0 L

NCP-88^{strep}

(DE LA CRUZ et al. 1992)

(pH 7,2)

Bacto Agar	15,0 g
Hefeextrakt	2,0 g
K_2HPO_4	2,0 g
KH_2PO_4	0,5 g
$MgSO_4 \times 7 H_2O$	0,25 g
D-Mannitol	5,0 g
A. dest.	1,0 L

Antibiotikazusatz:

Nalidixinsäure	0,008 g/L
Polymyxin B Sulphat	0,003 g/L
Cycloheximid	0,2 g/L

[Für die Antibiotika werden Stammlösungen wie folgt hergestellt und eingesetzt:

Nalidixin	200 mg in 20 mL 10% NaOH (800 μ L in 1 L Agar)
Polymyxin B Sulphat	200 mg in 20 mL A. dest. (300 μ L in 1 L Agar)
Cycloheximid	2 g in 2 ml 96% Ethanol (2 mL in 1 L Agar)]

Es erfolgte die Zugabe von 100 μ g Streptomycin pro 1 Liter Nährmedium.

Puffer

0,01 M Phosphate Puffer

(pH: 7,2)

$Na_2HPO_4 \times 12 H_2O$	2,7 g
$KH_2PO_4 \times 2 H_2O$	0,4 g
A. dest.	1 L

0,05 M Phosphate Puffer

(pH:7,0)

Na ₂ HPO ₄	4,26 g
KH ₂ PO ₄	2,72 g
A. dest.	1 L

0,01 M Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS)

(pH: 7,2)

Na ₂ HPO ₄ x 12 H ₂ O	2,7 g
NaH ₂ PO ₄ x 2 H ₂ O	0,4 g
NaCl	8,0 g
A. dest.	1 L

0,01 M PBS-Tween

(pH: 7,2)

Na ₂ HPO ₄ x 12 H ₂ O	2,7 g
NaH ₂ PO ₄ x 2 H ₂ O	0,4 g
NaCl	8,0 g
A. dest.	1 L

Zugabe von 0,1 % Tween 20

Phosphatgepuffertes Glycerin

(pH: 7,6)

Glycerin	90 ml
PB	10 ml
p-Phenylendiamin	0,1 g

(Bei -20 °C abgedunkelt aufzubewahren)

Seren und Konjugate

IF-Test

Serum: *C. m. ssp. sepedonicus* antiserum for IF from goat (LOEWE)

- Arbeitsverdünnung 1:10.000 in PBS

Konjugat: Anti-Goat IgG FITC Conjugat (SIGMA)

- Arbeitsverdünnung 1:200 in PBS

Abbildungsverzeichnis

Seite

Abb. 1: Vitaler Dauersorus von Se mit deutlich sichtbarem granulärem Inhalt und dicker Außenwand [Vergrößerung: 400x].....	13
Abb. 2: Zwei vollkommen entleerte, tote Dauersori von Se [Vergrößerung: 400x]	13
Abb. 3: 2-L-Dewar-Gefäße mit Regelung der Sauerstoffzufuhr während eines Kompostierungsversuchs.....	16
Abb. 4: Schematische Darstellung eines 60-L-Komposters unter Berücksichtigung der Versuchsebenen und der Verteilung der Träger pro Ebene (Aufsicht)	17
Abb. 5: Große Träger (120 ml) für die Einbringung von Se, verschlossen mit PE-Gaze (rechts) und kleine Träger (10 ml) zur Einbringung von Cms (links), verschlossen mit PTFE-Membran.....	24
Abb. 6: Großer Träger mit einem Verschluss aus PE-Gaze nach 2 Monaten in der Kompostierung	25
Abb. 7: Symptomlose Testpflanze aus dem Biotest nach einer Inokulation mit kontaminiertem Kompost mit einer Bakterienkonzentration von 10^6 cfu/g Substrat nach vier Wochen Standzeit.....	26
Abb. 8: Pflanzen aus dem Pathogenitätstest isolierter Cms-Kolonien mit typischen Symptomen, wie keilförmige Welke der Interkostalfelder und Vergilbung (weiße Pfeile).....	26
Abb. 9: Dauersori nach der Isolierung aus kompostiertem Probenmaterial (21 Tage bei Temperaturen über 65 °C) mit granulärem Inhalt (weiße Pfeile) [Vergrößerung: 100x]	27
Abb. 10: „TubeTest“ aus Probenmaterial nach 2 Wochen Kompostierung bei Temperaturen unter 50°C; vier Pflanzen zeigen frische Wucherungen (grüne Pfeile).....	27
Abb. 12: Nachweis von Cms über einen IF-Test an Presssaft von Biotestpflanzen, inokuliert mit Probenmaterial aus den drei Versuchsebenen nach einer Kompostierung; Links: Ebene 1; Mitte: Ebene 2; Rechts: Ebene 3 [Vergrößerung: 1000x]	31
Abb. 13: Isolierung von Cms-Kolonien über semiselektives Nährmedium aus Pflanzenpresssaft der Biotestpflanzen nach Inokulation von Probenmaterial aus den drei Versuchsebenen nach einer Kompostierung über 21 Tage; Links: Ebene 1; Mitte: Ebene 2; Rechts: Ebene 3	31

Tabellenverzeichnis

	Seite
Tab. 1: Verwendete Abfallarten, deren Zusammensetzung, Anfall im Verarbeitungsprozess, Konsistenz und Herkunft	6
Tab. 2: Zusammenfassende Übersicht angewendeter Verfahren zum Nachweis und zur Bestimmung des Vitalitätsstatus der Schadorganismen	8
Tab. 3: Überblick der Versuchsansätze in 2-L-Dewar-Gefäßen und in 60-L-Kompostern bei der Kompostierung	18
Tab. 4: Überblick über die Versuchsansätze zur Wirkung der Pasteurisierung auf die Quarantäneschadorganismen.....	19
Tab. 5: Übersicht der verwendeten Substrate zur Versäuerung von Kartoffelabfällen und ihrer Parameter kA: Keine Angaben; -: entfällt.....	20
Tab. 6: Übersicht über die geprüften versäuerten Abfälle, deren pH-Werte und die jeweiligen Versuchszeiträume für <i>Synchytrium endobioticum</i> und <i>Globodera rostochiensis</i>	21
Tab. 7: Übersicht zu den Versuchsansätze zur Wirkung einer künstlichen Versäuerung von Kartoffelabfällen auf <i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>sepedonicus</i> für die Substrate Nr. 1 bis 13 (Tab. 5) X: geprüft; -: nicht geprüft	22
Tab. 8: Übersicht der Versuchsansätze zur Wirkung einer künstlichen Versäuerung von Kartoffelabfällen auf <i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>sepedonicus</i> für die Substrate Nr. 14 bis 26 (Tab. 5).....	23
Tab. 9: Übersicht zur hygienisierenden Wirkung der Kompostierung auf die Schad-organismen <i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>sepedonicus</i> , <i>Synchytrium endo-bioticum</i> und <i>Globodera rostochiensis</i> unter Angabe der Verfahrensbedingungen und der angewendeten Nachweismethoden (MsP = Mischprobe)	29
Tab. 10: Nachweis der Quarantäneschadorganismen <i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>sepedonicus</i> , <i>Synchytrium endobioticum</i> und <i>Globodera rostochiensis</i> nach der Pasteurisierung unter Berücksichtigung der Probenanzahl und der jeweiligen Nachweisverfahren.....	32
Tab. 11: Überblick über die Ergebnisse aus Versuchen zur Wirkung der Versäuerung von Abfällen auf <i>Synchytrium endobioticum</i> und <i>Globodera rostochiensis</i> unter Berücksichtigung des pH-Wertes des Probenmaterials.....	33
Tab. 12: Übersicht der Ergebnisse zur Wirkung der Versäuerung auf <i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>sepedonicus</i> für die Substrate 1 bis 13 (Tab. 5)	34
Tab. 13: Übersicht der Ergebnisse zur Wirkung der Versäuerung auf <i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>sepedonicus</i> für die Substrate 14 bis 26 (Tab. 5)	35