

Biologische ontsmetting van tarragronden besmet met quarantine organismen

L. van Overbeek, P. Kastelein, W. Runia, L. Molendijk
WACO 17 december 2012



Literatuur onderzoek 2011

- Opdrachtgever EL&I/nVWA
- Fytosanitaire risico's in kaart brengen van hergebruik van tarragronden uit de landbouw
 - Gewasresten (aardappels als veevoer)
 - Zeefgrond (inschuren)
 - Sorteerground (sorteren)
 - Tarragronden verwerkende industrie (wasserijen)
 - Compost
 - Digestaat



Literatuuronderzoek 2010

- Doel: beheersing van fytosanitaire risico's van verspreiding van “fytopathogenen” en onkruidzaden
- Focus: Overleving van (quarantaine) organismen in reststromen na
 - Behandeling van gewasresten
 - Grond behandeling
 - Compostering
 - Fermentatie
- *Globodera spp.* , *Ralstonia solanacearum*



Literatuuronderzoek 2010

- Gewasresten
 - Rs in restanten uit zetmeelindustrie
- Grondbehandeling
 - 3 min 60°C *Globodera* spp.; Rs: 10 min 55°C
- Aerobe compostering; 60-70°C, 15-20 dagen, ±50% vocht; **T**
- Anaerobic fermentation; >90% vocht; **T + gasproductie**
 - mesofiel 30-40°C 30 dagen
 - thermofiel 50-60°C 15 dagen
- **Geen overleving *Globodera* en Rs na compostering of fermentatie**



Conclusie Literatuuronderzoek 2010

- De overleving van quarantaine organismen in tarragronden wordt als “kenniskloof” in huidige kennis gezien
 - Alleen beperkte kennis over effect temperatuur
 - Geen literatuur over andere methodieken
- Relevant voor de praktijk
- Behoeftte aan betrouwbare ontsmettingsmogelijkheden voor tarragronden

Phytosanitary risks of reuse of waste streams and treated wastes for agricultural purposes , 2011, Plant Research International, Report 382 (Overbeek, Runia).



Fytosanitaire reststromen

Project EL&I/nVWA

- Inventarisatie opties ontsmetting tarragrond
- Onderzoek 2011-2012
- Uitgangspunten
 - On-site behandeling van grond
 - Effectieve methode: > 99% doding
 - “best practice”, maximale behandeltime
 - Toepasbaar op alle gronden
 - Praktisch en economisch haalbaar



Inventarisatie opties –geen perspectief

■ Stomen

- Advies voor grond: minimaal 30 minuten 70°C
- Praktisch/technisch niet toepasbaar voor alle tarrastromen; strikte randvoorwaarden
- Hoog energieverbruik; economisch niet haalbaar.

■ Pasteurisatie; technisch mogelijk maar duurder dan stomen

■ Solarisatie; alleen voor de toplaag

■ Hete lucht behandeling; Cultivit

■ Warmwaterbehandeling



Inventarisatie opties - perspectief

- Inundatie
 - Perspectief bij voldoende tijd en temperatuur
- Biologische grondontsmetting (BGO)
- inwerken organische massa, bevochtigen, afdekken met gasdichte folie
 - Met ongedefinieerde, verse massa (gras)
 - Met gedefinieerde, bewerkte organische massa



Proefopzet ontsmetting tarragronden

■ Twee grondsoorten:

- marine zeeklei (21% lutum, 2.4 % OS , pH 7.2)
- dekzand (3.2% OS, pH 5.5)

■ Twee quarantaine organismen:

- *Ralstonia solanacearum* biovar 2
- *Globodera pallida* (Rookmaker_PA3_vermeerdering PPO-AGV_2009; E-400)

■ Twee jaren: 2011 -2012, 12 weken behandeltijd



Proefopzet ontsmetting tarragronden

- **Vijf behandelingen:**

- (1) Geen behandeling (controle)
- (2) BGO met ingewerkt gehakseld gras (2-3 cm); 80 ton/ha
- (3) BGO met ingewerkte Herbie 7025 (Thatchtec, Wageningen); 24 ton/ha
- (4) inundatie; waterlaag ca 10 cm
- (5) inundatie + ingewerkte Herbie 7025

- **Vier herhalingen**



Experimental set up (Q facility PPO-AGV)



Globodera pallida cysts in mesh bags



Mixing *Ralstonia solanacearum* through soil



Placing mesh bags (with Rs or Gp) in buckets with soil (sand or clay)



Opening of the buckets after 12 weeks



Soil temperature

soil	Treatment	2011			2012		
		Min	Max	Avg	Min	Max	Avg
Sand	no	9.5	27.2	16.8	7.9	25.4	16.2
	Grass	9.0	27.1	16.5	7.3	26.7	16.1
	H 7025	9.1	23.8	16.6	7.6	24.6	15.6
	Inundation	9.7	25.5	16.3	8.4	25.3	16.8
	H 7025 + inund.	9.4	26.2	16.3	NT	NT	NT
Clay	no	9.0	26.3	16.4	7.9	25.3	16.1
	Grass	9.5	26.2	16.6	8.4	25.7	16.3
	H 7025	9.5	26.4	16.5	6.5	27.1	16.3
	Inundation	9.7	24.5	16.0	8.2	24.3	16.0
	H 7025 + inund.	9.8	26.9	16.4	NT	NT	NT
Ambient temperature		6.8	28.8	16.0	3.1	29.5	15.6



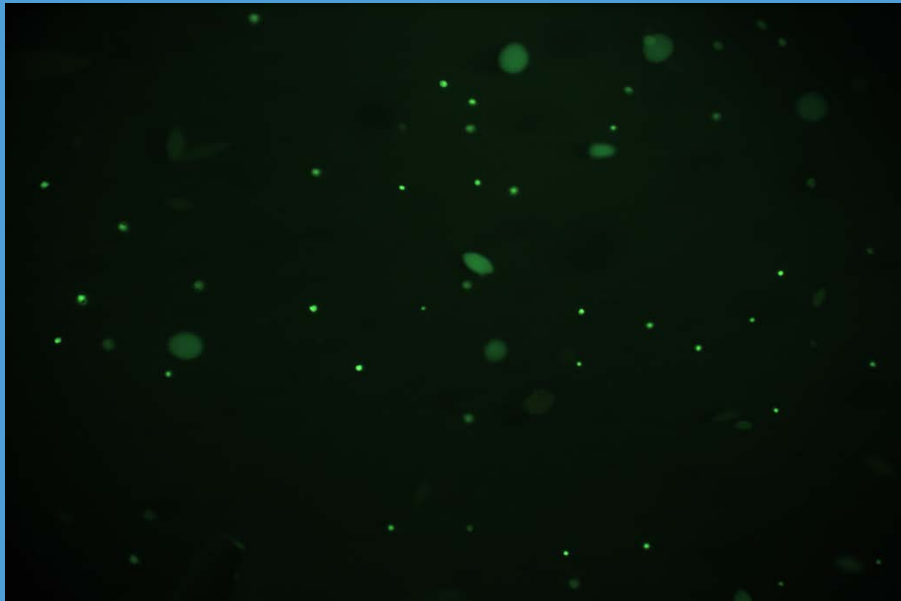
Analyses for pathogen survival

- *R. solanacearum* biovar 2, strain 1609
 - Immunofluorescence colony staining,
 - Bio assay on bacterial wilt in tomato
- *G. pallida* viability test on eggs (hatching of larvae)
 - 2000 cysts in mesh bags in soil,
 - After 12 weeks exposure time cyst bags were removed from containers
 - Cysts were soaked in water, crushed and eggs were exposed to potato root exudate (duration of 6 weeks)
 - Number of hatched living juveniles was counted per week

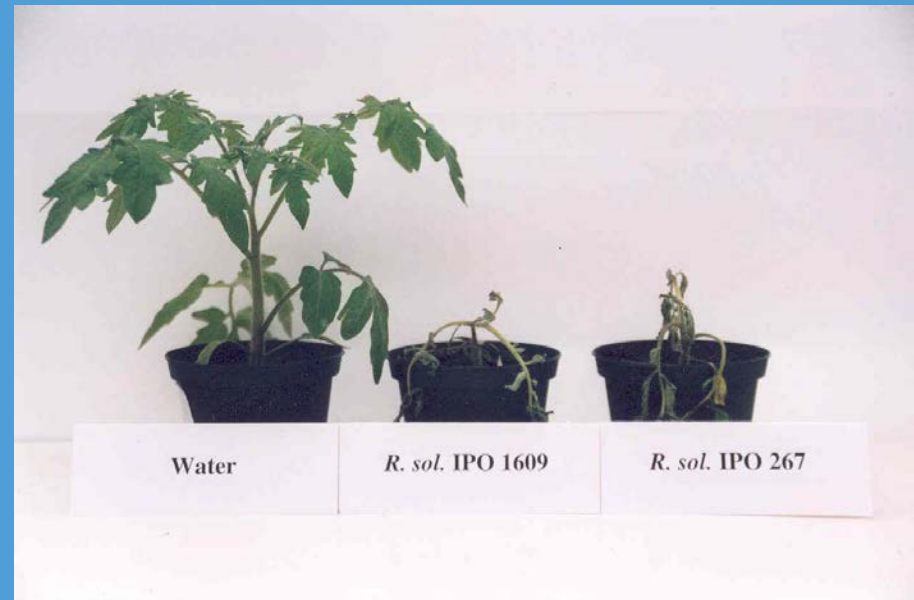


R. solanacearum survival test

Immunofluorescence colony staining (IFC)

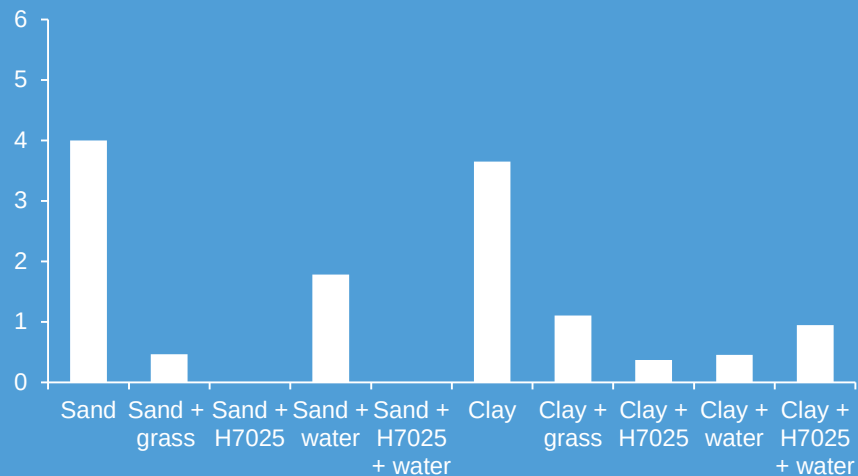


Bio assay for bacterial wilt in tomato

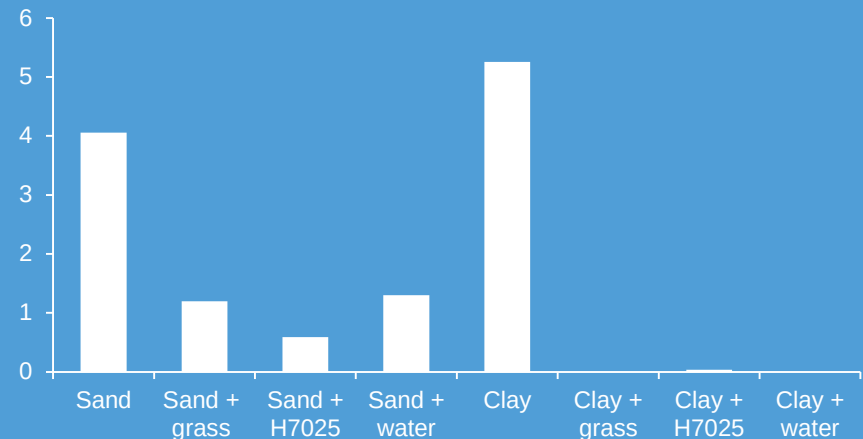


Ralstonia solanacearum bv 2 survival

Log *R. solanacearum* CFU/ g dry soil



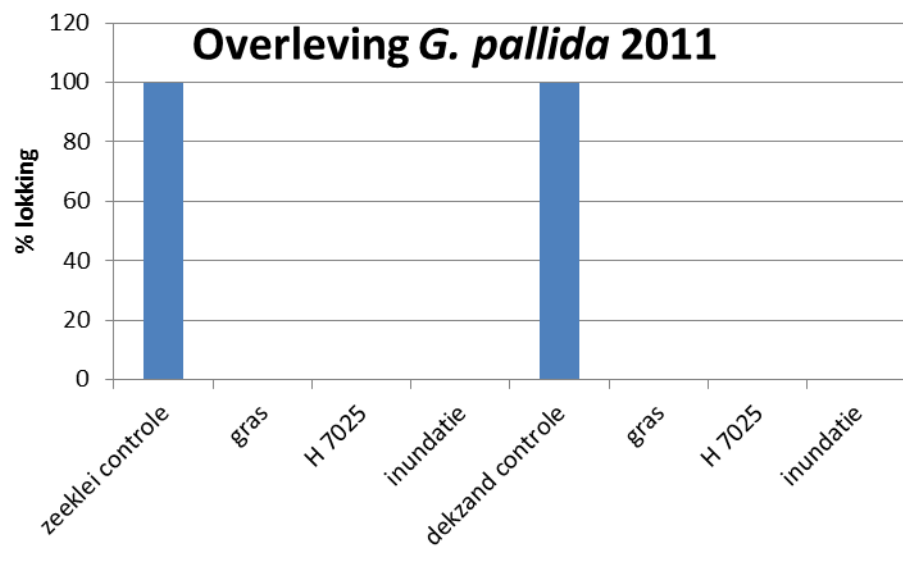
2011



2012



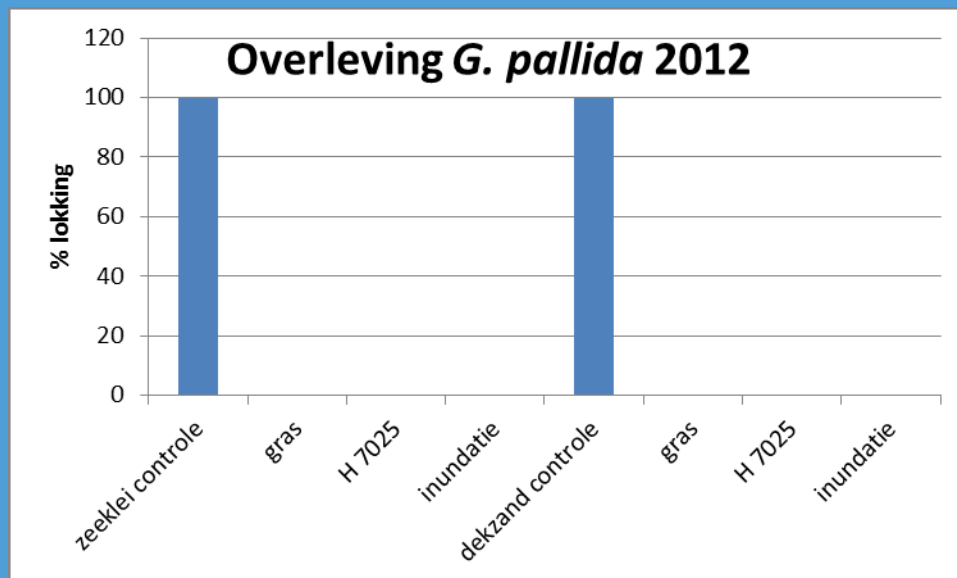
Overleving *G. pallida* - proefjaar 2011



Objecten	Overleving	P=0.05
zeeklei controle	100	. b
gras	0.04	a .
H 7025	0.03	a .
inundatie	0.03	a .
dekzand controle	100	. . c
gras	0.04	a . .
H 7025	0.04	a . .
inundatie	0.1	. b .



Overleving *G. pallida* - proefjaar 2012



Objecten	Overleving	P=0.05
zeeklei controle	100	. . c .
gras	0.28	. b . .
H 7025	0.11	a . . .
inundatie	0.19	a b . .
dekzand controle	100	. . c
gras	0.09	a . .
H 7025	0.08	a . .
inundatie	0.34	. b .



Conclusies

- De effectiviteit van alle behandelingen tegen zowel *R. solanacearum* als tegen *G. pallida* was tenminste 99% reductie in overleving.
- Omdat geen 100% effect is bereikt, kan niet worden gesproken van complete uitroeing van de besmetting.
- Beide q-organismen zijn in extreem hoge hoeveelheden aan de grond toegevoegd.
- Grondbehandeling met Herbie 7025 lijkt het meest effectief tegen *R. solanacearum*.



Thanks to:
Leontine Colon,
Loes den Nijs and
Paul Jellema of the
Netherlands Food and
Consumer Product
Safety Authority
(**NVWA**) for helpful
discussions.

