

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

OPTIMALISATIE VERHITTINGSAPPARATUUR VOOR HET ONTSMETTEN VAN RECIRCULATIEWATER IN DE GLASTUINBOUW

Energiebesparing door advisering op maat

Project 3001



W.T. Runia, J.J. Amsing, M. van der Sar en J. Stelma
Naaldwijk, maart 2000

Vertrouwelijk Rapport

2204899

INHOUD

SAMENVATTING	5
1. INLEIDING	7
2. MATERIAAL EN METHODEN	9
1.1 VERHITTINGSINSTALLATIE	9
1.2 PROEFOPZET	9
1.3 FUSARIUM OXYSPOURUM F.SP. LYCOPERSICI	10
1.4 PYTHIUM APHANIDERMATUM	10
1.5 PHYTOPHTHORA CRYPTOGEA	10
1.6 RADOPHOLUS SIMILIS	11
1.7 ERWINIA CHRYSANTHEMI	12
3. RESULTATEN EN DISCUSSIE	13
2.1 FUSARIUM OXYSPOURUM F.SP. LYCOPERSICI	13
2.2 PYTHIUM APHANIDERMATUM	14
2.3 PHYTOPHTHORA CRYPTOGEA	14
2.4 RADOPHOLUS SIMILIS	14
2.5 ERWINIA CHRYSANTHEMI	15
2.6 ALGEMEEN	15
4. CONCLUSIE	19
LITERATUUR	20
BIJLAGEN	21

SAMENVATTING

In 1999 is door het Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente onderzoek verricht naar de optimalisatie van verhittingsapparatuur voor het ontsmetten van recirculatiewater in de glastuinbouw.

Het praktijkadvies is op dit moment een behandeling van 95°C gedurende 30 seconden of een behandeling van 85°C gedurende 3 minuten. Beide adviezen zijn erop gericht om het recirculatiewater **volledig** te ontsmetten tegen aaltjes, bacteriën, schimmels en virussen. Veel gewassen worden echter slechts bedreigd door één of enkele wortel-pathogenen. Virussen, die zich via het water verspreiden komen maar in enkele gewassen voor.

In opdracht van Van Dijk Heating B.V. en met subsidie van Novem (Nederlandse onderneming voor energie en milieu) is om die reden onderzoek uitgevoerd, om te komen tot een advisering op maat met een zo laag mogelijk energieverbruik voor alle glastuinbouwgewassen.

Uit dit onderzoek is naar voren gekomen dat het ontsmetten van recirculatiewater tegen schimmels, bacteriën en aaltjes bij lagere temperaturen kan worden uitgevoerd dan die tot nu toe zijn geadviseerd.

De schimmel *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* was volledig gedood na een behandelingstijd van 75 seconden bij 50°C.

De schimmel *Phytophthora cryptogea* werd uitgeschakeld bij een temperatuur van 40°C gedurende 75 seconden.

De schimmel *Pythium aphanidermatum* overleefde geen 48°C gedurende 45 seconden.

De letale temperatuur voor het aaltje *Radopholus similis* was 49°C bij een behandelingstijd van 75 seconden.

Na 75 seconden behandelingstijd bij 54°C was het aantal *Erwinia chrysanthemi* gereduceerd met 97%.

Deze gegevens hebben geresulteerd in een advies voor de praktijk om recirculatiewater gedurende twee minuten te verhitten bij 60°C tegen pathogene schimmels, bacteriën en aaltjes.

Het advies voor een behandeling tegen virussen in het recirculatiewater blijft 30 seconden 95°C, 2 minuten 90°C of 3 minuten 85°C.

De energiebehoefte bij 85°C ligt 20% lager ten opzichte van een behandeling van 30 seconden bij 95°C.

De besparing aan energie bij een behandeling van 60°C gedurende 2 minuten is 42%.

1. INLEIDING

In het kader van het project 3402 'Ontsmetting van voedingswater' is door het PBG (destijds PTG) te Naaldwijk in 1986 en 1987 onderzoek uitgevoerd naar de effectiviteit van verhitting tegen plantpathogenen in recirculatiewater. Verhitting van recirculatiewater wordt gerealiseerd met behulp van warmtewisselaars. Het principe berust op de uitwisseling van warmte via een geleidende wand. Heet ketelwater verwarmt het te behandelen koude water tot de vereiste temperatuur, die gedurende een bepaalde tijd wordt gehandhaafd, waarna het behandelde water wordt teruggekoeld. De warmte, die bij het terugkoelen vrijkomt, wordt weer gebruikt om onbehandeld water te verhitten.

Een prototype van een verhittingsinstallatie werd ontworpen door het IMAG aan de hand van gegevens, die waren verkregen in laboratoriumproeven, uitgevoerd op de Landbouwniversiteit in Wageningen. Dit prototype is op het Proefstation op semi-praktijkschaal getest op ontsmettende werking tegen *Fusarium oxysporum* f.sp. *melongenae* en *Verticillium dahliae* en tabaksmozaïekvirus. In deze installatie was de behandelingstijd ongeveer 10 seconden. De temperatuur varieerde van 90 tot 97°C bij de verschillende proeven. Onder deze proefomstandigheden werd *Fusarium oxysporum* voor 96% en de beide andere pathogenen voor 100% gedood.

De proefinstallatie bood geen mogelijkheden voor verder onderzoek bij variabele behandelingstijden en temperaturen. Om die reden werd het onderzoek afgesloten. Het praktijkadvies werd gesteld op een behandeling van 95°C gedurende 30 seconden (Runia, 1988).

De mogelijkheden om behandelingstijden en temperaturen in een verhittingsinstallatie te variëren werd in 1997 geboden door Van Dijk Heating te Bunnik. In opdracht van dit bedrijf is een onderzoek uitgevoerd naar de effectiviteit van een verhittingsinstallatie bij lagere temperaturen. Dit onderzoek heeft aangetoond dat tomaatmozaïekvirus en *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* volledig werden gedood bij een temperatuur van 85°C en een behandelingstijd van 3 minuten. Technisch gezien is deze behandelingstijd goed te realiseren. Als tweede optie wordt sinds dit onderzoek tuinders geadviseerd om recirculatiewater te ontsmetten bij 85°C gedurende 3 minuten (Runia, 1998). Het voordeel van dit advies is dat er minder energie nodig is vanwege de lagere behandelingstemperatuur en dat de tuinder zijn eigen verwarmingsketel kan gebruiken in plaats van een extra keteltje, dat bij 95°C wel noodzakelijk is. Beide adviezen zijn erop gericht om het recirculatiewater volledig te ontsmetten tegen aaltjes, bacteriën, schimmels en virussen. Veel gewassen worden echter slechts bedreigd door één of enkele wortelpathogenen. Virussen, die zich via het water verspreiden komen maar in enkele gewassen voor. Het zijn juist deze virussen, die een hoge letale temperatuur kennen, wanneer ze in grond voorkomen. Bodemschimmels worden bij veel lagere temperaturen gedood en de letale temperaturen voor aaltjes en bacteriën in grond zijn nog lager. Mogelijk geldt dit ook voor deze pathogenen in water.

Een selectief advies voor het ontsmetten van recirculatiewater tegen één bepaald pathogeen of groep van pathogenen zou kunnen leiden tot aanzienlijke energiebesparing en lagere investeringskosten.

In opdracht van Van Dijk Heating B.V. en met subsidie van Novem (Nederlandse onderneming voor energie en milieu) is onderzoek uitgevoerd om te komen tot een advisering op maat met een zo laag mogelijk energieverbruik voor alle glastuinbouwgewassen. Het onderzoek is ook van belang voor andere sectoren

buiten de glastuinbouw zoals de bloembollen en bolbloemen, de witloftrek op water en de boomteelt in containers.

2. MATERIAAL EN METHODEN

2.1 VERHITTINGSINSTALLATIE

De verhittingsinstallatie is geplaatst in een kasafdeling van het PBG te Naaldwijk. Het schema van de verhittingsinstallatie is weergegeven in Bijlage 1. Het te ontsmetten water wordt aangezogen uit de silo met onbehandeld drainwater (A). Het water wordt in de warmtewisselaar (D) opgewarmd door het afkoelen van het reeds ontsmette water. Hierna komt het water in het verhittingscircuit, dat bestaat uit ketel (F) en warmhouder (H). Het water wordt in de ketel verhit tot een gewenste temperatuur en in de warmhouder wordt de verblijftijd gerealiseerd. De warmhouder is voorzien van elf tappunten. Elk tappunt bestaat uit een kogelafsluiter en koelspiraal waarin het afgenomen monster in 3 seconden teruggekoeld wordt van de behandelingstemperatuur tot maximaal 42°C. Elk tappunt is tevens voorzien van een nauwkeurige temperaturopnemer. De gerealiseerde temperaturen per proef staan vermeld in de bijlagen.

Met het inregelventiel wordt de stroomsnelheid in het systeem (1000 l/uur) zodanig ingeregeld dat de verblijftijd op tappunt 1 15 seconden bedraagt en op tappunt 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 en 11 respectievelijk 45, 75, 105, 135, 165, 195, 225, 255, 285 en 315 seconden bedraagt.

Na de behandeling is het water in de proefinstallatie teruggekoeld met een koelspiraal, waarna de watermonsters zijn afgetapt. De taptijd in de schimmel- en bacterieproeven bedroeg 5 seconden voor 100 ml watermonster. Door de taptijd nam de werkelijke behandelingstijd af met 0,4 seconden. In de aaltjesproeven is per monster 2 liter drainwater afgetapt, waardoor de gerealiseerde behandelingstijd afnam met 6,6 seconden.

Het behandelde drainwater is afgevoerd naar het riool.

In een praktijkinstallatie komt het water in de warmtewisselaar (D), waar het vrijwel alle warmte afstaat aan het water dat nog moet worden behandeld. Via het inregelventiel komt het water in de silo met behandeld drainwater. Vanuit deze silo wordt het drain-water hergebruikt.

In de eerste proef is het water opgewarmd, waarna de ketel uitgezet is en bij diverse temperaturen het drainwater is afgetapt. Vervolgens is de ketel nogmaals opgestookt om een nog niet gerealiseerde temperatuur alsnog te testen. Bij deze laatste behandeling is er mogelijk besmetting opgetreden vanuit een lagere temperatuur. Om die reden is bij de volgende proeven de ketel maar één keer opgestookt en zijn de monsters vervolgens afgetapt van hoge naar lage temperatuur. De eerste proef is herhaald.

2.2 PROEFOPZET

De proef is uitgevoerd op het PBG te Naaldwijk in een kasafdeling met een gesloten teeltsysteem, waarin tomaten zijn geteeld in steenwol. De tomaten (Aromata) zijn geplant op 20 april 1999 en geteeld tot 1 december 1999. Het drainwater van tomaat is voor de proeven opgevangen in een verzameltank van 2000 liter. De samenstelling van de meststoffen in het drainwater is bij elke proef geanalyseerd en is weergegeven in de bijlagen. Het drainwater werd kunstmatig geïnfecteerd met één van de te testen pathogenen. De onderzochte pathogenen zijn: de schimmels *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Pythium aphanidermatum* en *Phytophthora cryptogea*, het wortelnecrose-aaltje *Radopholus similis* en de bacterie *Erwinia chrysanthemi*. In het drainwatervat is met een pomp het drainwater voortdurend in beweging gehouden, zodat er continu

een goede menging was van het drainwater en het pathogeen. De controlemonsters werden uit het vat met besmet drainwater genomen. Het besmette drainwater werd door de verhittingsinstallatie geleid bij verschillende behandelingstijden en temperaturen. Vervolgens is de effectiviteit van de behandelingen vastgesteld.

De effectiviteit van de behandelingen wordt voldoende geacht als de pathogene schimmels voor minimaal 99,9%, de bacteriën voor minstens 99,999% en de aaltjes voor 100% worden gedood.

2.3 FUSARIUM OXYSPORUM F.SP. LYCOPERSICI

De eerste proef met *Fusarium oxysporum* is uitgevoerd op 4 mei 1999. De samenstelling van het drainwater is weergegeven in Bijlage 2. De proef is herhaald op 19 oktober 1999 met een bredere temperatuurreeks. De voedingsanalyse van het drainwater staat vermeld in Bijlage 3.

Fusarium is gekweekt in een vloeibaar medium (Czapek Dox) bij kamertemperatuur. Na een week is het gevormde mycelium met kaasdoek afgefilterd en is de sporensuspensie aan het drainwater toegevoegd. De sporensuspensie bestaat hoofdzakelijk uit microconidiën met daarnaast enkele macroconidiën.

De effectiviteit van de behandelingen is vastgesteld door de watermonsters uit te platen op een specifieke voedingsbodem voor *Fusarium* (Komada). Per behandeling is op elk van vier petrischalen 0,5 ml van het te testen watermonster uitgeplaat. Bij de onbehandelde controlemonsters zijn tevens verdunningen van de watermonsters gemaakt. Na circa vijf dagen zijn de door *Fusarium* gevormde kolonies op de schalen geteld.

Een aantal tussen de dertig en driehonderd kolonies wordt als meest betrouwbaar beschouwd. De verdunning die een dergelijke uitslag opleverde is vermeld in dit verslag en is verder gebruikt voor conclusies ten aanzien van de effectiviteit van de behandelingen.

2.4 PYTHIUM APHANIDERMATUM

De proef met *Pythium aphanidermatum* is uitgevoerd op 14 september 1999. De voedingsanalyse van het drainwater staat vermeld in Bijlage 4. *Pythium aphanidermatum* is op 6 september 1999 gekweekt op een vaste voedingsbodem van aardappel-dextrose-agar (pda); 25 schalen met isolaat V1 en 25 schalen met isolaat 301. Op 14 september 1999 zijn de schalen met schimmelsporen en mycelium gemixed in 250 ml kraanwater per schaal. Deze *Pythium*-suspensie van 12,5 liter is vervolgens aan 2000 liter drainwater toegevoegd, wat resulteerde in een sporenconcentratie van circa 80 sporen per ml drainwater. Het besmette drainwater werd door de verhittingsinstallatie geleid, waarna we per behandeling zes halve filtreerpapierjes in 100 ml flesjes met de watermonsters hebben gedaan. Dit filtreerpapier heet in het vakjargon bait en dient als vangsubstraat voor *Pythium*. De filtreerpapierjes zijn gedrenkt in een antibioticum om bacteriegroei te remmen.

Op 15 september 1999 zijn de filtreerpapierjes uitgeplaat op wateragar met antibioticum; twee platen per behandeling. Op 16 en 18 september 1999 zijn de filtreerpapierjes op de platen beoordeeld op uitgroei van *Pythium*.

2.5 PHYTOPHTHORA CRYPTOGEA

De eerste proef met *Phytophthora cryptogea* is uitgevoerd op 13 oktober 1999. De voedingsanalyse van het drainwater staat vermeld in Bijlage 5. Een tweede

proef is uitgevoerd op 30 november 1999 om de resultaten uit de eerste proef te bevestigen. De voedingsanalyse van het drainwater is opgenomen in Bijlage 6. *Phytophthora cryptogea* (isolaat PD 94/150 van Gerbera) is gedurende één week gekweekt in vloeibaar medium (V8) in petrischalen met een doorsnede van 14 cm. Vervolgens is het mycelium gewassen en in een laag voedingsoplossing van Saintpaulia gezet. Na vijf dagen zijn de schalen met zoosporangiën 30 minuten in de koelkast gezet en vervolgens 30 minuten bij labtemperatuur om de vorming van zoösporen te stimuleren. Het mycelium is afgefilterd met kaasdoek, waarna de sporensuspensie is toegevoegd aan het drainwater. De sporenc concentratie was circa 100 zoösporen per ml drainwater.

Het besmette drainwater werd door de verhittingsinstallatie geleid, waarna we per behandeling in de eerste proef twee ponsjes van Rhododendron en drie stukjes van gedroogde biologische appeltjes in 100 ml-flesjes met de watermonsters hebben gedaan. In de tweede proef is alleen Rhododendron gebruikt, als meest betrouwbaar substraat. De substraten dienden als bait voor de *Phytophthora* in de watermonsters. Na vijf dagen zijn de substraten uit de watermonsters gehaald, gedroogd op filtreerpapier en vervolgens uitgeplaat op een selectief medium voor *Phytophthora* (P₁₀VPH) en in een broedstoom geplaatst bij 24°C. Na vier tot zeven dagen is de eindbeoordeling uitgevoerd.

2.6 RADOPHOLUS SIMILIS

De proef met *Radopholus similis* is uitgevoerd op 10 juni 1999. De voedingsanalyse van het drainwater staat vermeld in Bijlage 7. De aaltjes zijn gekweekt op schijfjes wortel (*Daucus carota*) in steriele petrischalen met wateragar, zoals is beschreven door Kaplan en Davis (1990). De aaltjes waren afkomstig uit wortels van *Anthurium andreaeanum*. Na een kweekperiode van twaalf weken zijn de aaltjes uit de wortelstukjes geëxtraheerd. De aaltjessuspensie bevatte 98% spontaan bewegende aaltjes en bestond uit 57% volwassen aaltjes en 43% larven. Na toevoeging aan het drainwater was de eindconcentratie 1375 aaltjes per liter drainwater. Na een half uur rondpompen is het controlemonster uit de verzameltank van het drainwater genomen. Daarna is het besmette drainwater door de verhittingsinstallatie geleid. Per aftappunt (= behandelingstijd) is 2 liter drainwater afgetapt. Gedurende de aftaptijd van 70-84 seconden fluctueerde de temperatuur maximaal 1,2°C. Na afloop van de proef zijn nog twee monsters genomen bij het aftappunt van 75 seconden om vast te stellen of de harde straal effect heeft op de overleving van de aaltjes. Het eerste monster werd op normale aftaphoogte genomen en het tweede monster op circa 60 cm afstand van het aftappunt. De temperatuur van deze monsters was 34°C. De volgende dag zijn de monsters van twee liter tot op 100 ml afgeheveld. Hieruit is 10 ml genomen en op meerdere dagen onderzocht op het bewegend vermogen van de aaltjes. De resterende hoeveelheid van 90 ml is gebruikt voor het inoculeren van Anthuriums; één plant per behandeling. Per plant zijn gemiddeld 2430 aaltjes aangebracht op vier plaatsen rond de plant. Vijftien weken na inoculatie zijn de planten bemonsterd. Van elke bemonsterde plant zijn alle wortels verwijderd, van substraat ontdaan, het vers wortelgewicht bepaald en in 1 cm-stukjes geknipt. Per plant is een 20 g-wortelmonster genomen, dat is verwerkt volgens de mixer/wattenfiltermethode (Stermerding, 1964). Na 30 uur extractie zijn de aantallen *Radopholus similis* geteld.

2.7 ERWINIA CHRYSANTHEMI

De proef met *Erwinia chrysanthemi* is uitgevoerd op 29 september 1999. De voedingsanalyse van het drainwater staat vermeld in Bijlage 8. De bacterie is gekweekt in een vloeibaar medium (nutrient broth) in een schudincubator bij 26°C gedurende twee dagen. Aan 1500 liter drainwater is 4,8 liter bacteriesuspensie toegevoegd, hetgeen resulteerde in een eindconcentratie van circa 100.000 bacteriën per ml drainwater. Het besmette drainwater werd door de verhitter geleid, waarna de opgevangen watermonsters met de spiraalplaattechniek zijn uitgeplaat op een medium voor bacteriën (nutrient agar). Per behandeling zijn twee petrischalen gebruikt. De schalen zijn drie dagen bebroed bij 26°C. Daarna zijn de kolonies op de schalen geteld.

3. RESULTATEN EN DISCUSSIE

3.1 FUSARIUM OXYSPORUM F.SP. LYCOPERSICI

De resultaten van de tweede proef met *Fusarium* zijn samengevat in Figuur 1. De gedetailleerde uitslagen, zoals het aantal kolonievormende eenheden (kve) per schaal staan vermeld in de bijlagen 9 (eerste proef) en 10 (tweede proef). Uit Bijlage 9 blijkt dat in de eerste proef bij 55°C de doding van *Fusarium* minimaal 99,996% is ten opzichte van de onbehandelde controle. Bij 59°C wordt na een behandelingstijd van 15 seconden nog een enkele *Fusarium*kolonie op de schalen teruggevonden en vanaf 61°C is de doding 100%. Bij 62°C gedurende 15 seconden overleeft een zeer klein deel van de *Fusarium*sporen, maar dit is mogelijk te wijten aan een onjuiste proefuitvoering. Uit Figuur 1 blijkt dat in de tweede proef *Fusarium* 100% is gedood na een behandeling bij 54°C, ongeacht de behandelingstijd.

In de eerste proef overleefden enkele sporen deze temperatuur van 55°C maar de vitaliteit van de conidiën van *Fusarium* was in de eerste proef veel hoger; 30000 kve/ml ten opzichte van 1335 kve/ml in de tweede proef. De hoeveelheid in de tweede proef komt vrij goed overeen met een praktijksituatie, waar meestal circa 1000 kve/ml worden gevonden.

Zowel een temperatuur van 55°C in de eerste proef als 54°C in de tweede proef realiseren beiden ruimschoots de gewenste doding van *Fusarium* van minimaal 99,9%.

Zoals uit Bijlage 10 blijkt kwam in de tweede proef een nieuw fenomeen naar voren: bij de twee laagste temperaturen van 42°C en 46°C werd bij de drie langste behandelingstijden een zeer onregelmatige uitslag verkregen. De variatie tussen de schalen was enorm, wat zeer ongebruikelijk is. Hoewel er nog wel steeds sprake is van minstens 60% doding ten opzichte van de onbehandelde suspensie, is de regelmatigheid en logica in verband met oplopende behandelingstijden met name bij 42°C verdwenen. Uit de literatuur is bekend dat schimmels bij een supraoptimale temperatuur van 45°C 'warmte shock eiwitten' kunnen vormen (Plesofsky-Vig & Bramble, 1985). Of deze eiwitten gevormd zijn door de behandeling en verantwoordelijk zijn voor het onverwachte resultaat is niet bekend.

Het praktijkadvies voor verhitting zal een dermate hogere temperatuur worden dat dit fenomeen niet zal optreden.

3.2 PYTHIUM APHANIDERMATUM

De resultaten van de proef met *Pythium aphanidermatum* zijn samengevat in Figuur 2. Gedetailleerde informatie staat vermeld in Bijlage 11. Uit Figuur 2 blijkt dat 43°C geen effect heeft op *Pythium aphanidermatum*; bij 47°C is een behandelingstijd nodig van 45 seconden en bij 51°C 15 seconden voor een 100% dodend effect. Uit Bijlage 11 blijkt dat bij de temperaturen van 55, 60 en 63°C *Pythium* voor 100% wordt gedood bij alle geteste behandelingstijden.

De beoordeling is echter slechts gedeeltelijk kwantitatief; er worden geen kolonievormende eenheden geteld op de petrischalen maar de uitgroei van *Pythium* op zes baits per behandeling. Het dodingspercentage is berekend door het aantal baits in de behandelingen zonder *Pythium* te delen op het totaal aantal baits met *Pythium* in de onbehandelde controle en dit getal te vermenigvuldigen met 100.

3.3 PHYTOPHTHORA CRYPTOGEA

De resultaten van de twee proeven met *Phytophthora* zijn gedetailleerd beschreven in Bijlage 12 en zijn samengevat in Figuur 3. Uit Bijlage 12 en Figuur 3 blijkt dat bij een behandelingstijd van 15 seconden bij 40°C er nog *Phytophthora* overleeft. Bij alle hogere temperaturen en langere behandelingstijden wordt *Phytophthora* volledig gedood. Bij temperaturen onder de 40°C overleeft *Phytophthora* alle geteste behandelingstijden.

De beoordeling is evenals in de proef met *Pythium* echter slechts gedeeltelijk kwantitatief; er worden geen kolonievormende eenheden geteld op de petrischalen maar de uitgroei van *Phytophthora* op zes baits per behandeling. Het dodingspercentage is berekend door het aantal baits in de behandelingen zonder *Phytophthora* te delen op het totaal aantal baits met *Phytophthora* in de onbehandelde controle en dit getal te vermenigvuldigen met 100.

Uit Bijlage 12 blijkt ook dat Rhododendron een beter vangsubstraat is voor *Phytophthora* dan appel. Tevens is gebleken dat de uitgroei van *Phytophthora cryptogea* in de proef met de lage temperaturen bij onbehandeld erg tegenviel; er groeiden allerlei andere schimmels uit, die mogelijk de groei van *Phytophthora* hebben onderdrukt. De resultaten van de beide proeven zijn echter duidelijk; na 75 seconden bij 40°C of hoger is *Phytophthora cryptogea* dood.

3.4 RADOPHOLUS SIMILIS

De resultaten van de proef met *Radopholus similis* zijn wat betreft de letale temperaturen samengevat in Figuur 4. In Bijlage 13 zijn de dodingspercentages ten opzichte van onbehandeld weergegeven, 1, 4, 7, 14 en 21 dagen na de behandeling. Bijlage 14 vermeldt het aantal spontaan bewegende aaltjes na 1, 4, 7, 14 en 21 dagen. In Bijlage 15 is de aantasting van *Radopholus similis* in Anthuriumwortels bij de verschillende behandelingen weergegeven.

Alle genoemde behandelingstijden zijn in werkelijkheid 6,6 seconden korter vanwege de aftaptijd van 80 seconden.

Uit Figuur 4 en Bijlage 13 blijkt dat de aaltjes bij 53°C zijn gedood bij alle geteste behandelingstijden vanaf 15 seconden. Bij deze temperatuur is dan ook nooit aantasting ontstaan (Bijlage 15). Vijf procent van de aaltjes overleeft een behandelingstijd van 15 seconden bij 49°C, hetgeen resulteert in aantasting. Behandelingstijden van 75 seconden of langer voorkwamen aantasting. Bij een temperatuur van 44°C was ook de langste behandelingstijd van 195 seconden onvoldoende om aantasting te voorkomen. Deze behandeling leverde een maximale doding op van 54%.

Een interessant verschijnsel is dat een deel van de aaltjes zich heeft hersteld van de warmwaterbehandeling. Dit blijkt uit Bijlage 14, waarin de percentages spontaan bewegende aaltjes zijn weergegeven op de dagen 1, 4, 7, 14 en 21 na het behandelen. Alleen deze aaltjes zijn tot aantasting in staat. Bij 49°C en een behandelingstijd van 15 seconden waren er na één dag geen spontaan bewegende aaltjes aanwezig. Op grond hiervan zou men kunnen concluderen dat deze behandeling 100% effectief is geweest. Later werden echter wel spontaan bewegende aaltjes aangetroffen. Uiteindelijk was na 14 en 21 dagen 2% spontaan bewegend, waardoor de planten toch werden aangetast. Een behandelingstijd van 195 seconden bij 44°C leek aanvankelijk ook 100% effectief. Bij deze behandeling

waren na één dag geen spontaan bewegende aaltjes aanwezig, maar na 14 dagen was 26% spontaan bewegend.

De harde straal waarmee het behandelde water uit de aftappunten kwam, had op de lange termijn gezien geen noemenswaardige invloed op het bewegend vermogen. Dit blijkt uit de vergelijking van het bewegend vermogen ten opzichte van de aaltjes in de verzameltank (Bijlage 14). Na 1 dag is er wel een negatief effect op het bewegend vermogen, maar na 4 dagen is er geen verschil meer in bewegend vermogen. De harde straal heeft de aaltjes klaarblijkelijk enigszins versuft. Dit had geen effect op het aantastingsvermogen van de aaltjes (Bijlage 15).

De resultaten in deze proef zijn iets gunstiger dan die welke zijn behaald in een warmwaterbak in het laboratorium. In dat onderzoek was een behandelingstijd van 2 minuten nodig bij 50°C of 30 seconden bij 52,5°C om geen spontaan bewegende aaltjes meer te hebben en aldus aantasting te voorkomen (Amsing & Runia, 2000).

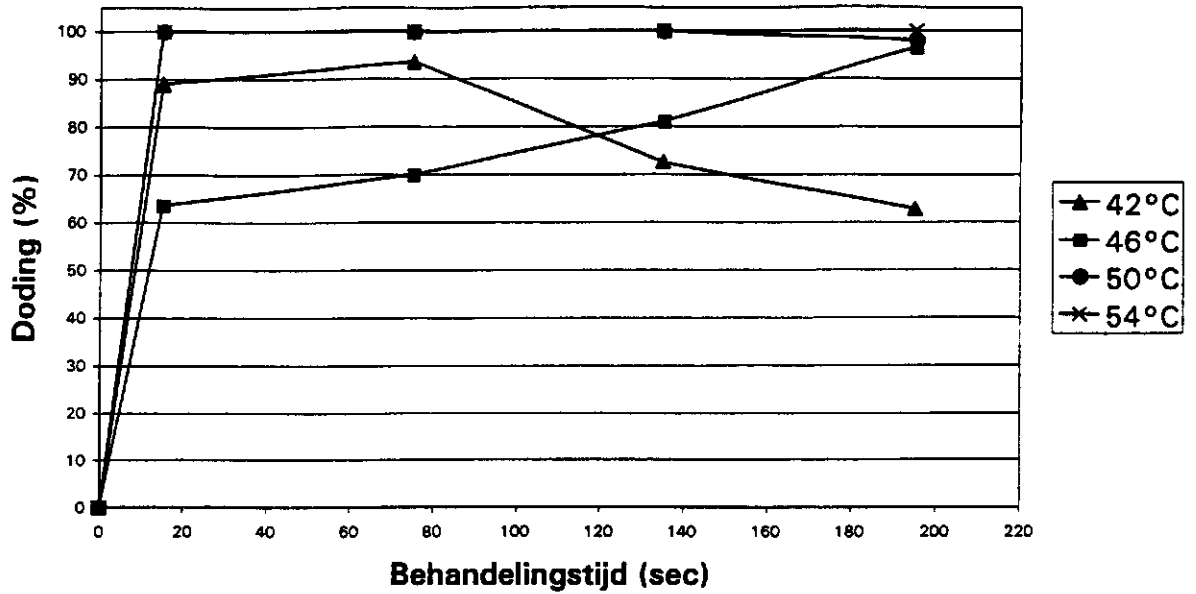
3.5 ERWINIA CHRYSANTHEMI

De resultaten van de proef met *Erwinia chrysanthemi* zijn samengevat in Figuur 5. In Bijlage 16 staat het gemiddelde aantal kolonies per ml per behandeling vermeld en in Bijlage 17 staan de dodingspercentages van alle geteste behandelingen. Uit Bijlage 16 blijkt dat het aantal kolonies per ml drainwater varieert van circa 3000 tot circa 5000. Het berekende aantal toegevoegde sporen was circa 100.000. Mogelijk was een deel van de sporen niet vitaal. Ook is het mogelijk dat een kolonie uit meerdere bacteriën bestaat. Uit Figuur 5 en Bijlage 17 blijkt dat een temperatuur van 42°C geen effect heeft op de bacterie. Bij 46°C loopt het dodend effect geleidelijk op naar 98% bij een behandelingstijd van 315 seconden. Bij 50°C is na 105 seconden 98% gedood. Bij 54, 58 en 62°C is ongeacht de behandelingstijd de doding steeds meer dan 90%. Een 100% effect wordt nergens bereikt, omdat er naast de toegediende bacterie nog veel andere bacteriën in het drainwater aanwezig zijn. Ook kunnen bacteriën uit de lucht de watermonsters na de verhitting hebben besmet. Deze 'achtergrondvervuiling' maakt de beoordeling extra lastig; er kunnen bacteriekolonies zijn geteld, die niet van *Erwinia chrysanthemi* afkomstig zijn of nabesmetting zijn. Een reële behandelingstemperatuur is om die redenen 54°C.

3.6 ALGEMEEN

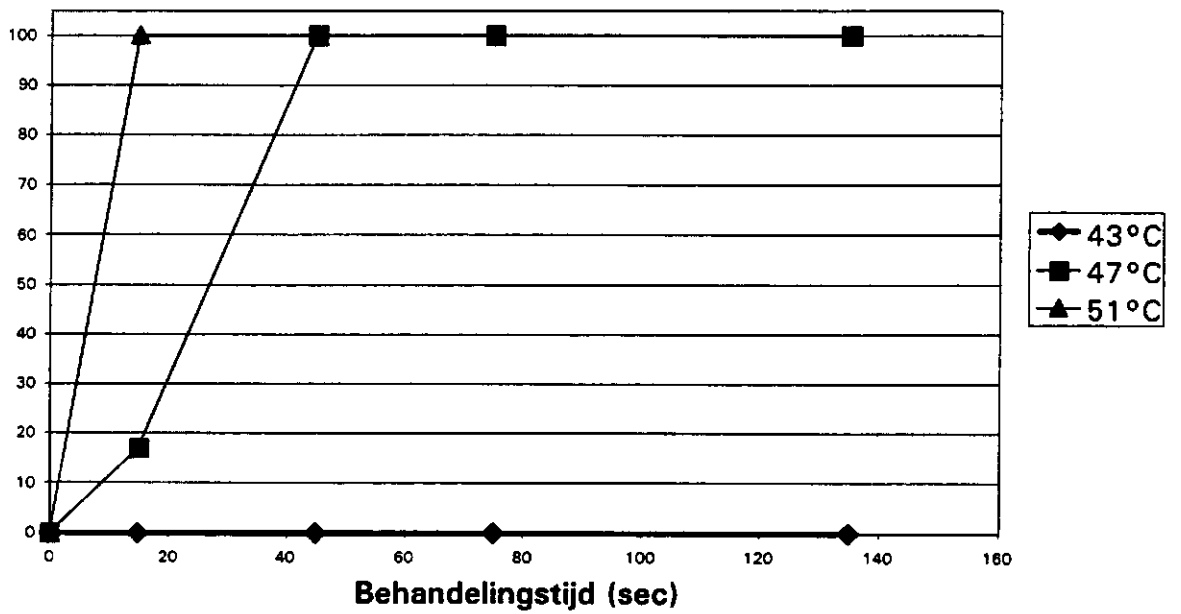
De resultaten van de drie geteste schimmels *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Phytophthora cryptogea* en *Pythium aphanidermatum*, de bacterie *Erwinia chrysanthemi* en het aaltje *Radopholus similis* tonen aan dat drainwaterontsmetting tegen schimmels, aaltjes en bacteriën kan worden uitgevoerd bij veel lagere temperaturen dan die tot nu toe zijn geadviseerd. In de advisering wordt een veiligheidsmarge ingebouwd omdat in dit onderzoek slechts een aantal vertegenwoordigers van de bepaalde groepen pathogenen is getest en het advies geldt voor alle pathogenen binnen die groepen. Het advies voor de tuinders wordt het recirculatiewater een behandeling van 2 minuten bij 60°C te geven tegen pathogene schimmels, bacteriën en aaltjes, voordat het water wordt hergebruikt.

Letale temperatuur *Fusarium oxysporum*



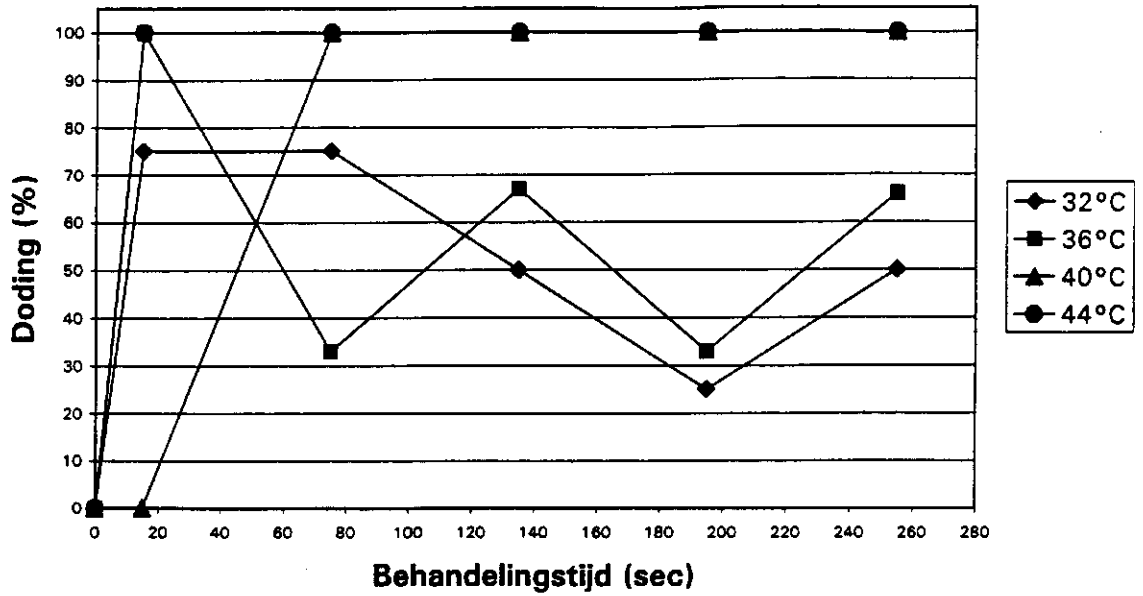
Figuur 1 - Effectiviteit verhitting tegen *Fusarium oxysporum*

Letale temperatuur *Pythium aphanidermatum*



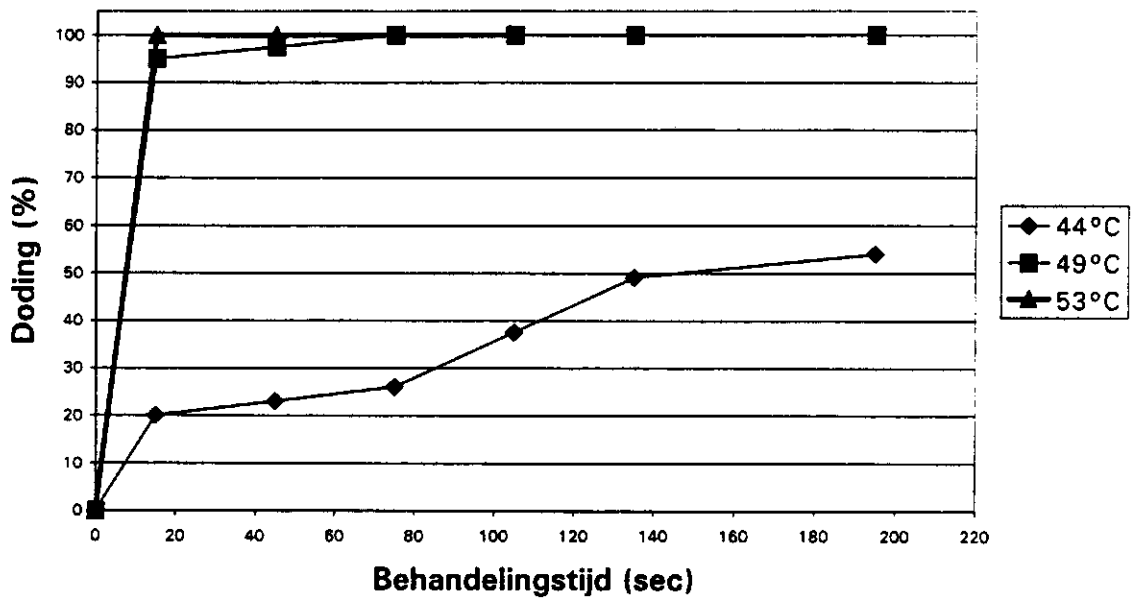
Figuur 2 - Effectiviteit verhitting tegen *Pythium aphanidermatum*

Letale temperatuur *Phytophthora cryptogea*



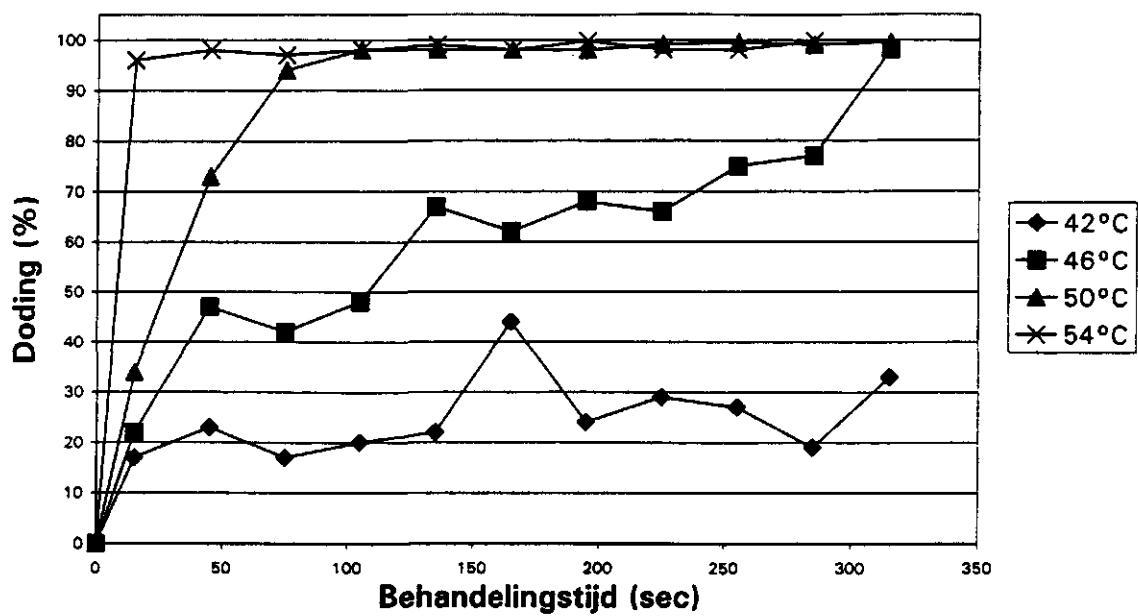
Figuur 3 - Effectiviteit verhitting tegen *Phytophthora cryptogea*

Letale temperatuur *Radopholus similis*



Figuur 4 - Effectiviteit verhitting tegen *Radopholus similis*

Lethale temperatuur *Erwinia chrysanthemi*



Figuur 5 - Effectiviteit verhitting tegen *Erwinia chrysanthemi*

4. CONCLUSIE

Uit dit onderzoek is naar voren gekomen dat het ontsmetten van recirculatiewater tegen schimmels, bacteriën en aaltjes bij lagere temperaturen kan worden uitgevoerd dan die tot nu toe zijn geadviseerd.

De schimmel *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* was volledig gedood na een behandelingstijd van 75 (correctie - 0,4) seconden bij 50°C.

De schimmel *Phytophthora cryptogea* werd uitgeschakeld bij een temperatuur van 40°C gedurende 75 (correctie - 0,4) seconden.

De schimmel *Pythium aphanidermatum* overleefde geen 48°C gedurende 45 (correctie - 0,4) seconden.

De letale temperatuur voor het aaltje *Radopholus similis* was bij 49°C een behandelingstijd van 75 (correctie - 6,6) seconden.

Na 75 (correctie - 0,4) seconden behandelingstijd bij 54°C was het aantal *Erwinia chrysanthemi* gereduceerd met 97%.

Deze gegevens hebben geresulteerd in een advies voor de praktijk om recirculatiewater gedurende twee minuten te verhitten bij 60°C tegen pathogene schimmels, bacteriën en aaltjes.

Het advies voor een behandeling tegen virussen in het recirculatiewater blijft 30 seconden 95°C, 2 minuten 90°C of 3 minuten 85°C.

Deze advisering heeft het voordeel dat er, indien nodig, technisch gemakkelijk overgeschakeld kan worden van 60 naar 90°C omdat de behandelingstijden gelijk zijn. Dit betekent dat ook de beide warmhoud-compartimenten gelijk zijn.

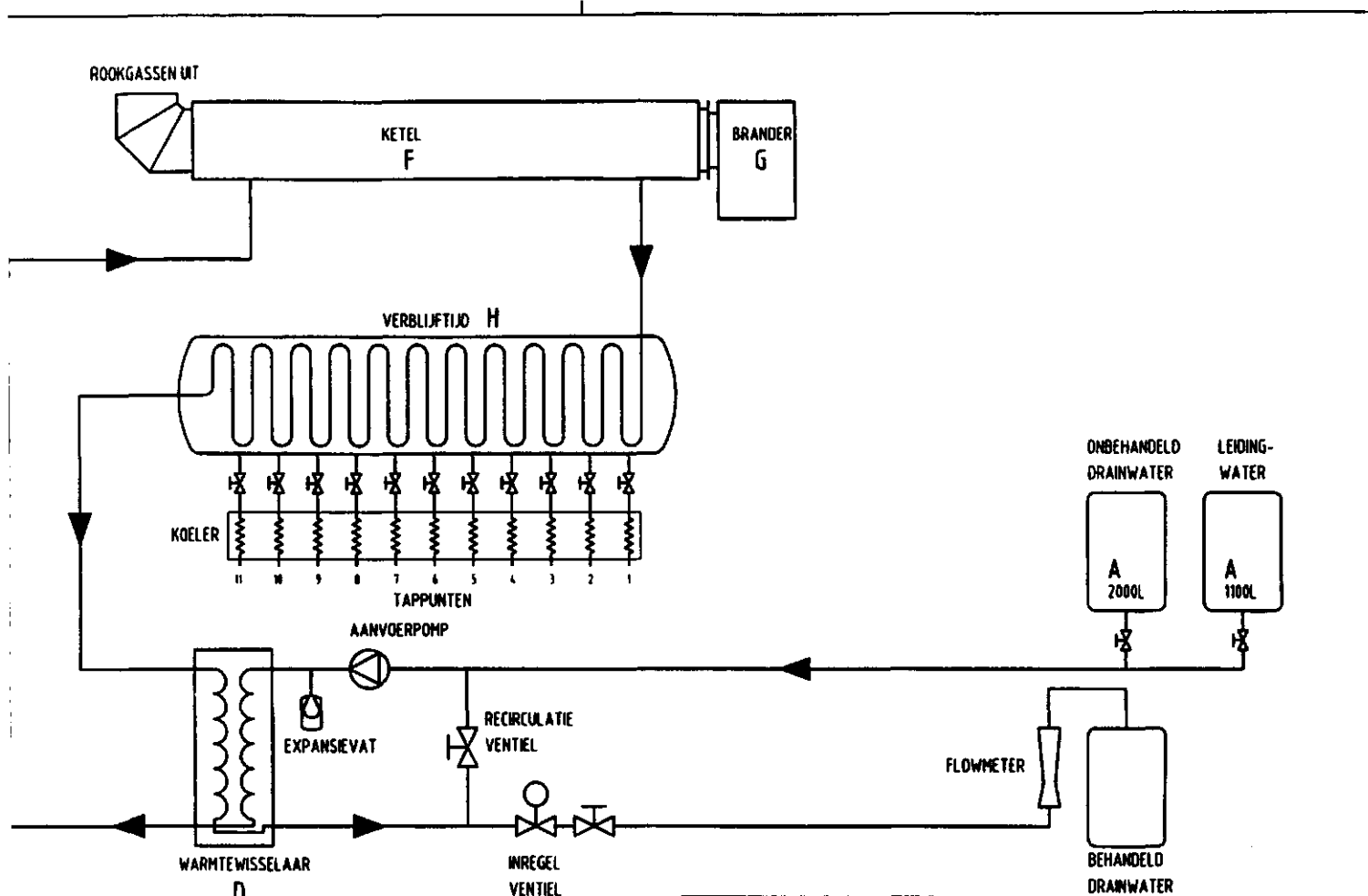
De energiebehoefte bij 85°C ligt 20% lager ten opzichte van een behandeling van 30 seconden bij 95°C.

De besparing aan energie bij een behandeling van 60°C gedurende 2 minuten is 42%.

LITERATUUR

- Amsing, J.J. & W. Th. Runia, 2000. Waterontsmettingsmethodieken tegen wortelaaltjes, verhitting, UV-straling, ozon, waterstofperoxide en langzame zandfiltratie. *Rapport 228 van het Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente, locatie Aalsmeer.*
- Kaplan, D.T. and E.L. Davis, 1990. Improved nematode extraction from carrot disk culture. *Journal of Nematology 22 (3): 399-406.*
- Plesofsky-Vig, N. & R. Brambl, 1985. The heat shock response of fungi. *Experimental mycology 9: 187-194.*
- Runia, W., 1988. Milieubewust en economisch verantwoord omspringen met water. Ontsmetting drainwater in recirculerende systemen. *Tuinderij, 27 oktober, 38-39.*
- Runia, W., 1998. Recirculatiewater verhitten met lagere temperatuur. *Groenten en Fruit, vakdeel Glasgroenten, 10 juli, 6-7.*
- Stemerding, S., 1964. A blender-cottonwool filter method for collecting migratory endoparasitic nematodes from roots. *Verslag Plantenziektenkundige dienst, Wageningen, 141 (Jaarboek 1963), 170-175.*

Bijlage 1. Schema verhittingsinstallatie



POS.	AANT.	OMSCHRIJVING	MATERIAAL en/of HALFFABRIKAAT	NORMAANDWIJZING of AFMETINGEN	OPMERKING
		RUIPHEID VOLGENS NEN3634	MAATTOLERANTIES VOLGENS NEN2365		VORM- EN PLAATSTOLERANTIE VOLGENS NEN3311
		van Dijk heating	SCHAAL 1:1	EENHEID M/M	OPM
		Regulerings- en 2000 L tank Postbus 21, 2000 CA Noord-Holl.	GETEKEND RST	DATEM 17-02-00	
			GECONTROLEERD	DATEM	
		OMSCHRIJVING PROEFOPSTELLING ECOSTER			AM PROJ TEKENINGENLEVER
		FORM: A			REV: -
		ALL RIGHTS ARE RESERVED REPRODUCTION, SALE, OR IMPORT IS PROHIBITED WITHOUT THE WRITTEN CONSENT OF THE COPYRIGHT OWNER			
		FILENAM:			

Bijlage 2. Voedingsanalyse eerste proef met *Fusarium oxysporum*

Bestandsnaam	990504WR
Projectnummer	3001
Proefnummer	
Onderzoeker	W.Runia
Bemonsteringsdatum	04-mei-99
Verzenddatum	04-mei-99
Soort onderzoek	water
Monstersoort	voeding
Analysekosten	
Lab-nr.	9900-1229
begin/eind	
Monsteridentificatie	

Labnr	Code	pH	EC mS/cm	NH4 mmol/l	K mmol/l	Mg mmol/l	Na mmol/l	NO3 mmol/l	C mmol/l
1229	1	5.77	3.31	0.69	9.28	3.62	1.35	20.51	6.0
Cl mmol/l	SO4 mmol/l	HCO3 mmol/l	P mmol/l	Fe umol/l	Mn umol/l	Zn umol/l	B umol/l	Cu umol/l	
<0.1	3.82	<0.1	2.13	19.9	11.0	7.3	51	1.9	
Mo umol/l	Si umol/l								
0.9	0,05								

Bijlage 3. Voedingsanalyse tweede proef met *Fusarium oxysporum*

Bestandsnaam	991019WR
Projectnummer	3001
Proefnummer	
Onderzoeker	W.Runia
Bemonsteringsdatum	19-okt-99
Verzenddatum	19-okt-99
Soort onderzoek	water
Monstersoort	voeding
Analysekosten	
Lab-nr.	9900-2802
begin/eind	
Monsteridentificatie	

Labnr	Code	pH	EC mS/cm	NH4 mmol/l	K mmol/l	Mg mmol/l	Na mmol/l	NO3 mmol/l	Ca mmol/l
2802	F.o.	4.74	1.75	0.15	4.16	1.58	0.47	9.78	3.77

Cl mmol/l	SO4 mmol/l	HCO3 mmol/l	P mmol/l	Fe umol/l	Mn umol/l	Zn umol/l	B umol/l	Cu umol/l
<0.1	1.73	<0.1	0.67	14.9	3.7	2.8	20	0.8

Mo umol/l	Si umol/l
0.9	0.05

Bijlage 4. Voedingsanalyse drainwater proef met *Pythium aphanidermatum*

Bestandsnaam	990914WR
Projectnummer	3001
Proefnummer	
Onderzoeker	W.Runia
Bemonsteringsdatum	14-sep-99
Verzenddatum	14-sep-99
Soort onderzoek	Water
Monstersoort	Voeding
Analysekosten	
Lab-nr.	99-2469
begin/eind	
Monsteridentificatie	

Labnr	Code	PH	EC mS/cm	NH4 mmol/l	K mmol/l	Mg mmol/l	Na mmol/l	NO3 mmol/l	C mmol/l
2469	PA	4.84	3.73	0.12	6.36	4.75	1.32	27.25	10
Cl mmol/l	SO4 mmol/l	HCO3 mmol/l	P mmol/l	Fe umol/l	Mn umol/l	Zn umol/l	B umol/l	Cu umol/l	
<0.1	4.96	<0.1	0.51	43.6	4.1	7.4	57	1.0	

**Bijlage 5. Voedingsanalyse drainwater eerste proef met
*Phytophthora cryptogea***

Bestandsnaam	991012WR
Projectnummer	3001
Proefnummer	
Onderzoeker	W.Runia
Bemonsteringsdatum	12-okt-99
Verzenddatum	13-okt-99
Soort onderzoek	water
Monstersoort	voeding
Analysekosten	
Lab-nr. begin/eind	9900-2769
Monsteridentificatie	

Labnr	Code	PH	EC mS/cm	NH4 Mmol/l	K mmol/l	Mg mmol/l	Na mmol/l	NO3 mmol/l	Ca mmol/l
99-2769	pc	4.34	1.99	0.17	4.52	1.89	0.51	12.79	4.31
Cl mmol/l	SO4 mmol/l	HCO3 mmol/l	P mmol/l	Fe Umol/l	Mn umol/l	Zn umol/l	B umol/l	Cu umol/l	
<0.1	1.96	<0.1	0.64	17.7	3.6	4.2	26	0.8	

**Bijlage 6. Voedingsanalyse drainwater tweede proef met
*Phytophthora cryptogea***

Bestandsnaam	991130WR
Projectnummer	3001
Proefnummer	
Onderzoeker	W. Runia
Bemonsteringsdatum	30-nov-99
Verzenddatum	01-dec-99
Soort onderzoek	water
Monstersoort	voeding
Analysekosten	
Lab-nr.	3094
begin/eind	
Monsteridentificatie	

Labnr	Code	pH	EC mS/cm	NH4 Mmol/l	K mmol/l	Mg mmol/l	Na mmol/l	NO3 mmol/l	me
3094	PC2	4.02	2.82	0.28	8.50	2.48	0.57	18.30	5
Cl mmol/l	SO4 mmol/l	HCO3 mmol/l	P mmol/l	Fe Umol/l	Mn umol/l	Zn umol/l	B umol/l	Cu umol/l	
<0.1	2.72	<0.1	1.46	25.6	8.5	4.2	26	1.7	

Bijlage 7. Voedingsanalyse drainwater proef met *Radopholus similis*

Bestandsnaam	990605WR
Projectnummer	3001
Proefnummer	
Onderzoeker	W. Runia
Bemonsteringsdatum	05-jun-99
Verzenddatum	09-jun-99
Soort onderzoek	water
Monstersoort	voeding
Analysekosten	
Lab-nr.	9900-1545
begin/eind	
Monsteridentificatie	

Labnr	Code	pH	EC mS/cm	NH4 mmol/l	K mmol/l	Mg mmol/l	Na mmol/l	NO3 mmol/l	Ca mmol/l
1545	R.s.	5.20	3.18	0.31	5.79	4.15	0.98	21.00	8.01
Cl mmol/l	SO4 mmol/l	HCO3 mmol/l	P mmol/l	Fe Umol/l	Mn umol/l	Zn umol/l	B umol/l	Cu umol/l	
<0.1	4.64	<0.1	1.79	23.4	3.3	6.0	60	0.6	

Mo umol/l	Si umol/l
0.6	0,14

Bijlage 8. Voedingsanalyse drainwater proef met *Erwinia chrysanthemi*

Bestandsnaam	990928WR
Projectnummer	3001
Proefnummer	
Onderzoeker	W.Runia
Bemonsteringsdatum	28-sep-99
Verzenddatum	28-sep-99
Soort onderzoek	water
Monstersoort	Voeding
Analysekosten	
Lab-nr. begin/eind	9900-2611
Monsteridentificatie	

Labnr	Code	pH	EC mS/cm	NH4 mmol/l	K mmol/l	Mg mmol/l	Na mmol/l	NO3 mmol/l	
2611	EC	5.19	2.54	0.10	3.56	3.01	0.85	16.95	6
Cl mmol/l	SO4 mmol/l	HCO3 mmol/l	P mmol/l	Fe umol/l	Mn umol/l	Zn umol/l	B umol/l		Cu umol/l
<0.1	2.74	<0.1	0.29	28.7	2.4	4.2	34		0.6

Bijlage 9. Effectiviteit verhitting tegen *Fusarium oxysporum* (eerste proef)

Aantal kve van <i>Fusarium</i>	Behandelingstijd (sec)											
	0*	15	45	75	105	135	165	195	225	255	285	315
Temperatuur 70,3 – 70,7°C												
Schaal 1	196	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Schaal 2	172	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Schaal 3	177	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Schaal 4	173	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Per ml	35900	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Temperatuur 66,1°C												
Schaal 1	101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Schaal 2	108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Schaal 3	109	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Schaal 4	108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Per ml	21300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Temperatuur 62,2°C												
Schaal 1	170	3	1	0	4	0	0	0	1	0	0	1
Schaal 2	203	2	0	0	6	0	0	0	0	0	0	2
Schaal 3	182	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
Schaal 4	180	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
Per ml	36750	3	1	0	10	0	0	0	1	0	0	2
Temperatuur 60,8°C												
Schaal 1	163	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Schaal 2	170	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Schaal 3	151	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Schaal 4	169	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Per ml	32650	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Temperatuur 58,3 – 59,3°C												
Schaal 1	139	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Schaal 2	116	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Schaal 3	126	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Schaal 4	164	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Per ml	27250	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
Temperatuur 54,9°C												
Schaal 1	129	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0
Schaal 2	111	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Schaal 3	142	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Schaal 4	122	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Per ml	25200	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0

* = verdunningsfactor 100x

**Bijlage 10. Effectiviteit verhitting tegen *Fusarium oxysporum*
(tweede proef)**

Aantal kve <i>Fusarium</i>	Behandelingstijd (sec)				
	0**	15	75	135	195
Temperatuur 68,4°C					
Schaal 1	72	0	0	0	0
Schaal 2	69	0	0	0	0
Schaal 3	56	0	0	0	0
Schaal 4	70	0	0	0	0
Per ml	1335	0	0	0	0
Schaal 1 T = 64,7°C	72	0	0	0	0
Schaal 2	69	0	0	0	0
Schaal 3	56	0	0	0	0
Schaal 4	70	0	0	0	0
Per ml	1335	0	0	0	0
Schaal 1 T = 60,7°C	72	0	0	0	0
Schaal 2	69	0	0	0	0
Schaal 3	56	0	0	0	0
Schaal 4	70	0	0	0	0
Per ml	1335	0	0	0	0
Schaal 1 T = 57,2°C	72	0	0	0	0
Schaal 2	69	0	0	0	0
Schaal 3	56	0	0	0	0
Schaal 4	70	0	0	0	0
Per ml	1335	0	0	0	0
Schaal 1 T = 54,0°C	72	0	0	0	0
Schaal 2	69	0	0	0	0
Schaal 3	56	0	0	0	0
Schaal 4	70	0	0	0	0
Per ml	1335	0	0	0	0
Schaal 1 T = 50,0°C	72	0	0	0	12
Schaal 2	69	0	0	0	14
Schaal 3	56	0	0	1	11
Schaal 4	70	0	0	0	14
Per ml	1335	0	0	1	26
Schaal 1 T = 45,8°C	72	189	252	223	2
Schaal 2	69	392	162	237	4
Schaal 3	56	22	33	15	77
Schaal 4	70	366	351	31	9
Per ml	1335	485	399	253	46
Schaal 1 T = 42,0°C	72	78	2	315	494
Schaal 2	69	62	7	391	45
Schaal 3	56	76	85	15	31
Schaal 4	70	78	77	13	422
Per ml	1335	147	86	367	496

** = 1 controlemonster genomen; verdunningsfactor 10x

Bijlage 11. Effectiviteit verhitting tegen *Pythium aphanidermatum*

Behandelingstijd (sec)	Aantal baits (n = 6) met uitgroei van <i>Pythium</i> na n dagen							
	43,1 - 43,5°C		46,8 - 47,4°C		51,0 - 51,8°C		54,9 - 55,3, 58,8 - 61,3 en 62,8 - 64,3°C	
	1 dag	3 dagen	1 dag	3 dagen	1 dag	3 dagen	1 dag	3 dagen
0	6	6	6	6	6	6	6	6
15	6	6	2	5	0	0	0	0
45	6	6	0	0	0	0	0	0
75	6	6	0	0	0	0	0	0
105	6	6	0	0	0	0	0	0
135	6	6	0	0	0	0	0	0
165	6	6	0	0	0	0	0	0
195	6	6	0	0	0	0	0	0
225	6	6	0	0	0	0	0	0
255	5	6	0	0	0	0	0	0
285	5	6	0	0	0	0	0	0
315	5	6	0	0	0	0	0	0

Bijlage 12. Effectiviteit verhitting tegen *Phytophthora cryptogea*

Behandelingstijd (sec)	Groei <i>Phytophthora</i> op Rhododendron (n = 2, + = uitgroei, - geen uitgroei)					
	39,9°C	44,0°C	49,3°C	52,5°C	56,0°C	59,4°C
0	++	++	++	++	++	++
15	+-	--	--	--	--	--
75	--	--	--	--	--	--
135	--	--	--	--	--	--
195	--	--	--	--	--	--
255	--	--	--	--	--	--
	Groei <i>Phytophthora</i> op appel (n = 3, + = uitgroei, - geen uitgroei)					
0	---	+++	+++	+++	++-	+++
15	---	---	---	---	---	---
75	---	---	---	---	---	---
135	---	---	---	---	---	---
195	---	---	---	---	---	---
255	---	---	---	---	---	---
	Groei <i>Phytophthora</i> op Rhododendron (n = 6, + = uitgroei, - geen uitgroei)					
	32,0°C	36,0°C	39,9°C	44,0°C	48,5°C	5,1°C
0	++++--	+++---	+-----*	-----*	-----*	-----*
15	+-----	-----	+-----	-----	-----	-----
75	+-----	++-----	-----	-----	-----	-----
135	++-----	+-----	-----	-----	-----	-----
195	+++---	++-----	-----	-----	-----	-----
255	++-----	+-----	-----	-----	-----	-----

* = volop groei van andere schimmels dan de testschimmel; na verhitting zijn ook deze schimmels dood.

**Bijlage 13. Effectiviteit verhitting tegen *Radopholus similis*
(percentage doding)**

Tijdstip (dag)	1	4	7	14	21
Behandelingstijd (sec)	Percentage doding ten opzichte van onbehandeld (%)				
	44,0 - 44,8°C				
15	3	10	8	14	20
75	5	16	22	24	26
135	9	36	45	47	49
195	15	50	52	53	54
	48,4 - 48,9°C				
15	96	89	92	94	95
75	100	100	100	100	100
135	100	100	100	100	100
195	100	100	100	100	100
	52,1 - 53,3°C				
15	100	100	100	100	100
45	100	100	100	100	100
75	100	100	100	100	100
105	100	100	100	100	100
	55,2 - 57,1°C				
15	100	100	100	100	100
45	100	100	100	100	100
75	100	100	100	100	100
105	100	100	100	100	100
Inoculum	-1	-6	-6	-4	-18
Harde straal	3	3	4	7	8

**Bijlage 14. Effectiviteit verhitting tegen *Radopholus similis*
(percentage spontaan bewegende aaltjes)**

Tijdstip (dag)	1	4	7	14	21
Behandelingstijd (sec)	Percentage spontaan bewegende aaltjes (%)				
	44,0 - 44,8°C				
15	31	48	44	38	30
75	9	29	31	40	28
135	1	10	17	28	20
195	0	9	15	26	20
	48,4 - 48,9°C				
15	0	1	1	2	2
75	0	0	0	0	0
135	0	0	0	0	0
195	0	0	0	0	0
	52,1 - 53,3°C				
15	0	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0
105	0	0	0	0	0
	55,2 - 57,1°C				
15	0	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0
105	0	0	0	0	0
	Controles				
Verzameltank	52	50	48	44	30
Inoculum	98	70	62	54	45
Harde straal	44	57	42	38	27

Bijlage 15. Aantallen *Radopholus similis* in Anthuriumwortels

Behandelingstijd (sec)	Vers wortelgewicht (g)	Aantal <i>Radopholus similis</i> per	
		10 gram wortels	PLANT
Behandelingstemperatuur 44,0 – 44,8°C			
0	58,7	6581	38630
15	106,2	6625	70358
75	78,9	4750	37478
135	112,8	3620	40834
195	120,2	3200	38464
Behandelingstemperatuur 48,4 – 48,9°C			
0	109,0	4400	47960
15	115,5	65	751
75	101,8	0	0
135	Niet bemonsterd	-	-
195	Niet bemonsterd	-	-
Behandelingstemperatuur 52,1 – 53,3°C			
0	107,1	7775	83270
15	99,0	0	0
45	Niet bemonsterd	-	-
75	Niet bemonsterd	-	-
105	Niet bemonsterd	-	-
Behandelingstemperatuur 55,2 – 57,1°C			
0	119,3	5125	61141
15	113,2	0	0
45	Niet bemonsterd	-	-
75	Niet bemonsterd	-	-
105	Niet bemonsterd	-	-
Verzameltank	98,5	5970	57750
Inoculum	91,6	5500	50380
Harde straal	87,7	6250	54813

**Bijlage 16. Aantallen kolonievormende eenheden (kve) van
*Erwinia chrysanthemi***

behandelingstijd (sec)	Aantallen <i>Erwinia chrysanthemi</i> (kve/ml)					
	41,8 °C	45,8 °C	49,8 °C	54,3 °C	57,6 °C	61,4 °C
0	4780	4630	4200	4180	5000	3080
15	3960	3640	2760	150	50	140
45	3700	2460	1120	80	80	100
75	3980	2700	250	110	90	80
105	3840	2400	70	90	110	100
135	3720	1540	80	60	80	260
165	2680	1780	70	80	90	140
195	3640	1500	90	10	100	120
225	3400	1580	60	70	60	100
255	3500	1160	20	70	140	50
285	3860	1080	50	10	90	60
315	3180	110	20	-	30	60

- = geen waarneming

Bijlage 17. Effectiviteit verhitting tegen *Erwinia chrysanthemi*

behandelingstijd (sec)	Dodingspercentages (%)					
	41,8 °C	45,8 °C	49,8 °C	54,3 °C	57,6 °C	61,4 °C
0	0	0	0	0	0	0
15	17	22	34	96	99	95
45	23	47	73	98	98	97
75	17	42	94	97	98	98
105	20	48	98	98	98	97
135	22	67	98	99	98	92
165	44	62	98	98	98	95
195	24	68	98	99,8	98	96
225	29	66	99	98	99	97
255	27	75	99,5	98	97	98
285	19	77	99	99,8	98	98
315	33	98	99,5	-	99	98

- = geen waarneming