



Eliminatie van Q(waardige)organismen middels drainwaterverhitters

Februari 2019

Inleiding

Er zijn apparaten op de markt voor het afdoden van bacteriën, virussen en schimmels in drainwater door blootstelling aan hoge temperaturen gedurende een korte verblijftijd. De toegepaste behandelingen zijn:

- A) Verhitten op 95°C gedurende 30 seconden.
- B) Verhitten op 85°C gedurende 180 seconden.

Bron: https://www.vandijkheating.com/nl/glastuinbouw_producten/drainwaterontsmetters/ (website bezocht op 18 februari 2019).

De vraag is of er voldoende informatie is om met zekerheid te kunnen zeggen dat deze temperatuurbehandelingen (alle) quarantaine(waardige)organismen (Q(waardige)organismen) in water elimineren (100% effectiviteit).

Methodiek

Er is gebruik gemaakt van een aantal bekende Engelstalige studies naar de ontsmetting van drainwater bij hoge temperaturen en korte verblijftijden (Runia et al., 1988; McPherson et al., 1995; Ehret et al., 2001; Runia & Amsing, 2001), aangevuld met literatuuronderzoek voor een beperkt aantal Q(waardige)organismen. Ook is gebruik gemaakt van een aantal reviews naar de overleving van pathogenen tijdens compostering (Mikkelsen et al., 2006; Noble et al., 2009), hoewel de meeste studies waarnaar in deze reviews wordt verwezen afdoding van plantpathogenen hebben onderzocht bij lagere temperaturen en langere verblijftijden. In het literatuuronderzoek is specifiek gezocht naar studies over afdoding van plantpathogenen bij hoge temperaturen en korte verblijftijden overeenkomend met bovenstaande behandelingen. Hieronder worden per organismengroep (bacteriën excl. fytoplasma's, fytoplasma's, nematoden, schimmels, oomyceten, virussen en viroïden) de resultaten van het literatuuronderzoek besproken. Uitgangspunt daarbij is dat de bacteriën, nematoden, virusdeeltjes, viroïden en schimmelsporen uitsluitend als vrije cellen/deeltjes/sporen in afvalwater voorkomen en dus niet zijn ingebed in plantenweefsel of in een biofilm; indien ingebed in plantenweefsel of in biofilm kan de voor eliminatie benodigde temperatuur hoger en de benodigde verblijftijd langer zijn.

Resultaten

Bacteriën (excl. fytoplasma's)

Er is weinig informatie gevonden over afdoding van quarantaine bacteriën bij hoge temperaturen in combinatie met korte verblijftijden. Er is specifiek gezocht naar literatuur over afdoding van *Clavibacter* spp. (gram-positief) en *Ralstonia* spp. (gram-negatief).

Secor et al. (1988) vonden eliminatie van *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms) bij 82°C – 5 min, maar toetsten geen hogere temperaturen bij kortere verblijftijden. Steinmüller et al. (2013) vonden overleving van Cms na 70°C – 90 min in besmette pulp en er is onzekerheid bij welke temperaturen en verblijftijden de bacterie wordt geëlimineerd. Tomatenzaden die besmet waren met *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) werden volledig ontsmet door dompeling in een waterbad van 52°C gedurende 20 min (Fatmi et al., 1991), maar ook voor dit organisme is geen informatie gevonden over het effect van hogere temperaturen bij kortere verblijftijden.

Voor *Ralstonia solanacearum* zijn twee relevante publicaties/rapporten gevonden. Lee et al. (1998) vonden afdoding bij 70°C – 3 min met een verhittingsapparaat. De publicatie is geschreven in het Koreaans en de opwarmtijd staat niet vermeld in de Engelstalige samenvatting. Termorshuizen (2006) vond eliminatie van *R. solanacearum* in een waterbad bij 70°C en een verblijftijd van 2 minuten. De humaan-pathogene en gramnegatieve bacteriën *Escherichia coli* en *Salmonella enterica* W775 werden geëlimineerd bij respectievelijk 70°C – 1 min. en 68°C – 50 sec. Gramnegatieve bacteriën zijn niet bekend als hittestolerant en de behandeling 85°C – 180 sec wordt als afdoende beschouwd voor alle gramnegatieve Q(waardige)bacteriën. De behandeling 95°C – 30 sec is vermoedelijk ook afdoende maar er ontbreken gegevens om dat met zekerheid te kunnen concluderen.

Voor quarantaine bacteriën die (vrijwel) uitsluitend via vectoren worden overgedragen zoals diverse '*Candidatus Liberibacter* spp.' is de effectiviteit van de behandelingen minder relevant omdat de kans op overdracht via besmet water bij deze organismen nihil is.

Fytoplasma's

Fytoplasma's zijn gram-positieve bacteriën, die buiten de waardplant uitsluitend via vectoren worden overgedragen. De behandelingen zijn voor deze organismen dan ook weinig relevant.

Schimmels

Over eliminatie van schimmels bij hoge temperaturen en korte verblijftijden (≤ 5 min) zijn de volgende Engelstalige publicaties gevonden):

- *Ceratocystis fimbriata* (isolaat van zoete aardappel; voor het Q-organisme *Ceratocystis platani* is geen informatie gevonden), eliminatie bij 54,5°C – 1 min (een suspensie van conidiën, endoconidiën en ascosporen in een waterbad) (Nielson, 1977).
- *Fusarium oxysporum* f.sp. *melongenae*: onverklaarbare resultaten in laboratoriumexperimenten (waterbad) waarbij een incubatietijd van 0 en 30 sec bij 90°C (opwarmtijd 1 min) een beter resultaat gaf dan een incubatietijd van 2 min (conidiën en chlamydosporen in water; overleving bepaald middels uitplaten). Dergelijke onverklaarbare resultaten werden ook behaald met *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* en *Verticillium dahliae*, maar alleen met jonge sporen): "Effectivity of the treatment seemed not to be correlated with its intensity. This response was not always found; it was evident in five out of twelve trials with *F. oxysporum* f.sp. *melongenae* and after treatments given to young spores only. Similar results were obtained for *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* and *V. dahliae*. Until now, we failed to define the conditions determining this irregular response" (Runia et al., 1988).
- *Fusarium oxysporum* f.sp. *melongenae*: geen eliminatie (wel sterke afname) bij 94°C-10 sec (drainwater verhit middels een verhittingsapparaat; opwarmtijd ca. 2 sec; overleving bepaald middels een biotoets) (Runia et al., 1988).
- *V. dahliae*, eliminatie in een kasproef bij 90°C-10 sec en 83°C-10 sec (drainwater verhit middels een verhittingsapparaat; opwarmtijd ca. 2 sec; overleving bepaald middels een biotoets) (Runia et al., 1988).
- *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*: eliminatie bij 80°C – 45 sec (conidiën in water met een commercieel verhittingsapparaat, opwarmtijd niet vermeld) (Runia & Amsing, 2001).

Fusarium oxysporum is bekend als een relatief hittestolerante schimmel (Bollen, 1985) en het vermoeden is dat temperatuurregimes die *F. oxysporum* elimineren ook de meeste andere

schimmels elimineren. De beschikbare informatie (hoge temperaturen bij korte incubatietijden) is echter beperkt, waarbij in het verleden ook nog eens onverklaarbare resultaten zijn gevonden met sporen van 2 formae speciales van *F. oxysporum* en met *V. dahliae* (Runia et al., 1988).

Op basis van bovenstaande informatie kan daarom niet met zekerheid worden geconcludeerd dat quarantaine(waardige) schimmels onder alle omstandigheden (opwarmtijd, inoculumsoort, leeftijd van de sporen etc.) worden geëlimineerd bij de bovenstaande behandelingen. Van de quarantaine(waardige) schimmels is ten minste *Synchytrium endobioticum* bekend als hittetolerant. Er zijn aanwijzingen dat de wintersporangia van deze schimmel hoge temperaturen kunnen overleven hoewel de resultaten van verschillende publicaties elkaar soms tegenspreken (Glynne, 1926; Welss & Brierley, 1928; Steinmoller et al., 2012; Kerins et al., 2018). Volgens (Steinmoller et al., 2012) overleefden wintersporangia 80°C gedurende 8 uur in een waterbad.

Nematoden

Voor nematoden is in het verleden door de Plantenziektenkundige Dienst (tegenwoordig NVWA) onderzoek uitgevoerd aan cysten van *Globodera pallida* en *G. rostochiensis*. Op basis van dat onderzoek is geconcludeerd dat voor nematoden bovenstaande behandelingen voldoende effectief zijn.

Oomyceten

Phytophthora cinnamomi (hyphen en chlamydosporen op agar) werd volledig geëlimineerd bij 39°C-90 min en 44°C-4,5 min in een waterbad (Benson, 1978). *P. citrophthora* werd geëlimineerd in vruchten bij 48,9°C-2 min en *P. parasitica* bij 60°C-1,5 min (Barrett & Fawcett, 1922; Rosenbaum, 1920, beiden geciteerd in Benson, 1978). Verhitting van drainwater (95°C-30 sec) voorkwam verspreiding van *Phytophthora cryptogea* and *Pythium aphanidermatum* in respectievelijk een tomaten- en komkommergewas (McPherson et al., 1995). *Phytophthora* soorten zijn niet bekend als hittetolerant (Bollen, 1985) en de inschatting is dan ook dat de quarantaine *Phytophthora* soorten, *P. ramorum* en *P. fragariae* worden geëlimineerd bij de voorgestelde temperatuurbehandelingen.

Virussen

Onderzoeksresultaten zijn gevonden voor *Tomato mosaic virus* (ToMV) bij de voorgestelde behandelingen. Dit virus en andere virussen uit het genus Tobamovirus zijn bekend als hitte-tolerant (Runia & Amsing, 2001; Noble & Roberts, 2004; Noble et al., 2009). Beschikbare resultaten voor ToMV:

- Eliminatie in een kasproef bij 97°C-10 sec (apparaat om drainwater te verhitten; opwarmtijd ca. 2 sec; eliminatie bepaald middels een biotoets) (Runia et al., 1988).
- Eliminatie bij 84°C – 75 sec en 95°C -15 sec (commerciële verhitter; opwarmtijd niet vermeld) (Runia & Amsing, 2001).

In het onderzoek van Runia & Amsing (2001) is niet aangegeven hoe lang het duurde om het afvalwater op de gewenste temperatuur te krijgen. Hierdoor kunnen geen conclusies worden getrokken over de effectiviteit van de behandelingen (85°C-180 sec en 95°C-30 sec) zonder opwarmtijd. Omdat ToMV bekend is als hittetolerant, bestaat wel het vermoeden dat de temperatuurbehandelingen voldoende zijn voor eliminatie van (de meeste) andere plantpathogene virussen. Door gebrek aan onderzoeksresultaten met andere virussen kan dat echter niet met zekerheid worden geconcludeerd. Voor virussen die (vrijwel) uitsluitend buiten de plant via vectoren kunnen worden overgedragen zoals *Tomato chlorosis virus* en *Tomato yellow leaf curl virus* zijn de behandelingen minder relevant.

Viroïden

Er zijn geen onderzoeksresultaten bekend met viroïden. Viroïden zijn bekend als hittetolerant en onderzoek is nodig om te bepalen of viroïden worden geëlimineerd bij 95°C - 30 sec. en 85°C - 180 sec.

Bevindingen en aanbevelingen

In de wetenschappelijke literatuur is een beperkt aantal onderzoeken gevonden met een beperkt aantal organismen waarbij de effectiviteit van hoge temperaturen en korte verblijftijden is onderzocht. Het vermoeden is dat de meeste Q(waardige)organismen worden geëlimineerd bij 95°C - 30 sec. en 85°C - 180 sec., maar vanwege de beperkte informatie kan dat alleen voor bepaalde organismen met zekerheid worden geconcludeerd.

Voor de volgende Q(waardige)organismen(groepen) zijn de behandelingen als 100% effectief beoordeeld:

- alle nematoden,
- *Phytophthora fragariae* en *P. ramorum*,
- alle pathogenen die (vrijwel) uitsluitend via vectoren worden overgedragen zoals de fytoplasma's, '*Candidatus liberibacter* spp.', *Tomato chlorosis virus* en *Tomato yellow leaf curl virus*.

Voor de gramnegatieve Q(waardige)bacteriën is de behandeling 85°C – 180 sec. als 100% effectief beoordeeld. Er zijn geen gegevens gevonden om met zekerheid te concluderen dat de behandeling 95°C - 30 sec. de gramnegatieve Q(waardige)bacteriën ook elimineert.

Er is niet voor elk Q(waardig)organisme een apart literatuuronderzoek uitgevoerd en mogelijk dat op basis van onderzoek sommige Q(waardige)organismen nog aan bovenstaande lijst kunnen worden toegevoegd.

Er wordt aanbevolen om onderzoek uit te voeren naar de eliminatie van Q(waardige)organismen in afvalwater bij hoge temperaturen en korte verblijftijden. Hierbij kan uit de lijst van Q(waardige)organismen een aantal representatieve organismen per organismengroep worden gekozen, zodat op basis van de resultaten met deze organismen conclusies getrokken kunnen worden over de effectiviteit van de behandelingen tegen de meeste/alle Q(waardige)organismen uit dezelfde groep (dit mede-afhankelijk van de eenduidigheid van de resultaten). Daarbij is het belangrijk om een behandeling te hebben met een korte gestandaardiseerde opwarmtijd (een opwarmtijd die ten minste korter is dan de kortst mogelijke opwarmtijd onder praktijkomstandigheden) en ook de afkoelingsperiode zo kort mogelijk te houden en te standaardiseren.

Referenties

- Benson D, 1978. Thermal inactivation of *Phytophthora cinnamomi* for control of Fraser fir root rot. *Phytopathology*, 68, 373-371.
- Bollen G, 1985. Lethal temperatures of soil fungi. In: 1985. Ecology and management of soil-borne plant pathogens. pp. 191-193.
- Ehret D, Alsanius B, Wohanka W, Menzies J & Utkhede R, 2001. Disinfestation of recirculating nutrient solutions in greenhouse horticulture. *Agronomie*, 21, 323-339.
- Fatmi M, Schaad NW & Bolkan HA, 1991. Seed treatments for eradicating *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from naturally infected tomato seeds. *Plant Disease*, 75, 383-385. <https://doi.org/dx.doi.org/10.1094/PD-75-0383>
- Glynne MD, 1926. The viability of the winter sporangia of *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc., the organism causing wart disease in Potato. *Annals of Applied Biology*, 13, 19-36.
- Kerins G, Blackburn J, Nixon T, Daly M, Conyers C, Pietravalle S, Noble R & Henry C, 2018. Composting to sanitize plant-based waste infected with organisms of plant health importance. *Plant Pathology*, 67, 411-417.
- Lee G, Kim S, Chang Y, Jin Hyun O & Jee H, 1998. Development of an electric heating device to sterilize nutrient solutions for recycling. *RDA Journal of Farm Management & Agri Engineering*, 40, 138-143.
- McPherson G, Harriman M & Pattison D, 1995. The potential for spread of root diseases in recirculating hydroponic systems and their control with disinfection. Mededelingen-Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen Universiteit Gent (Belgium).
- Mikkelsen L, Elphinstone J & Jensen DF, 2006. Literature review on detection and eradication of plant pathogens in sludge, soils and treated biowaste. Desk study on bulk density. Bruxelles: The European Commission DG RTD under the Framework, 6.
- Nielson LW, 1977. Thermotherapy to control sweet potato sprout-borne root knot, black rot, and scurf. *Plant Disease Reporter*, 61, 882-887. <https://babel.hathitrust.org/cgi/pt?id=mdp.39015001262677;view=1up;seq=387>
- Noble R, Elphinstone J, Sansford C, Budge G & Henry C, 2009. Management of plant health risks associated with processing of plant-based wastes: a review. *Bioresource technology*, 100, 3431-3446.
- Noble R & Roberts SJ, 2004. Eradication of plant pathogens and nematodes during composting: a review. *Plant Pathology*, 53, 548-568. <https://doi.org/doi:10.1111/j.0032-0862.2004.01059.x>
- Runia WT & Amsing JJ, 2001. Disinfection of recirculation water from closed cultivation systems by heat treatment. *Acta Horticulturae*, 548, 215-222.
- Runia WT, Os EAV & Bollen GJ, 1988. Disinfection of drainwater from soilless cultures by heat treatment. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 36, 231-238.
- Secor GA, DeBuhr L & Gudmestad NC, 1988. Susceptibility of *Corynebacterium sepedonicum* to disinfectants in vitro. *Plant Disease*, 72, 585-588. <https://doi.org/dx.doi.org/10.1094/PD-72-0585>
- Steinmoller S, Bandte M, Buttner C & Muller P, 2012. Effects of sanitation processes on survival of *Synchytrium endobioticum* and *Globodera rostochiensis*. *European Journal of Plant Pathology*, 133, 753-763. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1007/s10658-012-9955-y>
- Steinmüller S, Müller P, Bandte M & Büttner C, 2013. Risk of dissemination of *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* with potato waste. *European Journal of Plant Pathology*, 137, 573-584.
- Termorshuizen AJ, 2006. Management of soil health in horticulture using compost. Final Report of EU-project QLK5-CT-01442. Wageningen-UR, Wageningen, the Netherlands.

Welss F & Brierley P, 1928. Factors of spread and repression in Potato wart. Technical Bulletin.
United States Department of Agriculture, 56.