

***Schriftenreihe
des Fachgebietes Abfalltechnik***

Dissertationen

Band 6

Herausgeber: Prof. Dr.-Ing. Arnd I. Urban, Kassel

Hygienisierung von Kompost

Möglichkeiten zum Nachweis einer
erfolgreichen Abtötung von
Pathogenen und Unkrautsamen

Martin Idelmann

Die vorliegende Arbeit wurde vom Fachbereich Bauingenieurwesen der Universität Kassel als Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Ingenieurwissenschaften (Dr.-Ing.) angenommen.

Erster Berichterstatter:
Zweiter Berichterstatter:

Prof. Dr. sc. techn. Hartmut Vogtmann
Prof. Dr.-Ing. Arnd I. Urban

Tag der mündlichen Prüfung

9. Dezember 2005

Bibliografische Information Der Deutschen Bibliothek
Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar

Zugl.: Kassel, Univ., Diss. 2005
ISBN-10: 3-89958-203-9
ISBN-13: 978-3-89958-203-1
URN urn:nbn:de:0002-2031

2006, kassel university press GmbH, Kassel
www.upress.uni-kassel.de

Umschlaggestaltung: Bettina Brand Grafikdesign, München
Druck und Verarbeitung: Unidruckerei der Universität Kassel
Printed in Germany

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. H. Vogtmann, der als damaliger Leiter des Fachgebietes Ökologischer Landbau an der Universität Kassel, Fachgebiet Landwirtschaft und ökologische Umweltsicherung, die Kompostierung und Kompostwissenschaft maßgeblich in Deutschland vorangetrieben hat und als Präsident des Bundesamtes für Naturschutz die fachliche Betreuung der interdisziplinären Fragestellung übernommen hat.

Mein besonderer Dank gilt ebenfalls Prof. Dr.-Ing. A. Urban, der als Leiter des Fachgebietes Abfalltechnik an der Universität Kassel, Fachgebiet Bauingenieurwesen, die Arbeit gleichermaßen betreut und unterstützt hat.

Dr. Christian Bruns danke ich für seine Vorarbeiten am Fachgebiet ökologischer Landbau auf dem Gebiet der Komposthygiene, die letztendlich die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen ermöglicht haben. An gleicher Stelle möchte ich mich bei den Institutsmitarbeiterinnen und -mitarbeitern und Eleonore Marciniszyn bedanken, die mich bei der Entwicklung von Versuchsansätzen und der Durchführung von Versuchen unterstützt haben.

Großen Dank möchte ich an Thomas Turk, den Mitbegründer und Geschäftsführer der Ingenieurgemeinschaft Witzenhausen Fricke und Turk GmbH (IGW) richten, der es mir ermöglicht hat, die Ergebnisse der Untersuchungen auszuwerten und die Arbeit fertig zu stellen. Die Impulse aus der Arbeit bei der IGW haben die Entwicklung des Hygieneprognosemodells maßgeblich unterstützt.

Prof. Dr. Bernhard Hörning, Dr. Wolfgang Müller, Ruth Arens und Kaja Rosenbaum-Feldbrügge danke ich für ihre anregende Diskussionsbereitschaft. Für die Unterstützung bei kniffligen statistischen Fragen möchte ich mich bei Bertram Schäfer, dem Geschäftsführer der Firma STATCON, bedanken. Mein besonderer Dank gilt Marion Pfurr, die das Lektorat der Arbeit übernommen hat.

Den größten Dank möchte ich an meine geliebten Eltern Bernhard und Maria richten, die mir den Freiraum zu Bildung und Studium geschenkt haben, und Anke, die mich dabei begleitet und unterstützt hat.

KURZFASSUNG	X
ABSTRACT	XI
1 EINLEITUNG	1
1.1 Problemstellung	1
1.2 Zielsetzung	2
2 STAND DES WISSENS ZUR KOMPOSTHYGIENISIERUNG - NACHWEIS- MÖGLICHKEITEN UND BEDEUTUNG FÜR DIE KOMPOSTANWENDUNG	3
2.1 Einflussfaktoren für die Abtötung von Pathogenen und Unkrautsamen	3
2.2 Abtötung durch Wärme	4
2.3 Aussagekraft vorliegender Untersuchungen zur Charakterisierung exakter Abtötungszeitpunkte durch Temperatur-Zeit-Wirkungen	5
2.4 Zur Sicherheit des Hygieneüberwachungssystems der BioAbfV	7
2.5 Bedeutung des Hygienenaachweises für die Kompostanwendung	8
3 MATERIAL UND METHODEN	10
3.1 Allgemeine Angaben zu Methoden der Wärmebehandlung und Versuchsdurchführung	11
3.1.1 Methoden der Temperaturmessung	11
3.1.2 Methoden der Temperaturführung	12
3.1.3 Einstellung des Wassergehaltes der Proben	13
3.2 Spezifische Angaben zu Methoden der Wärmebehandlung einzelner Phytopathogene und Unkrautsamen	13
3.2.1 Untersuchungsmethoden bei <i>Plasmodiophora brassicae</i> (<i>P. brassicae</i>)	13
3.2.1.1 Bestimmung der Infektiösität von <i>P. brassicae</i>	14
3.2.1.2 Screening von Proben aus Altbeständen unbekannter Herkunft	15
3.2.1.3 Screening von Proben aus Neubeständen bekannter Herkunft	15
3.2.1.4 Ansätze zur Steigerung der Homogenität der Proben mit Hilfe von Sporensuspensionen	17
3.2.1.5 Wärmeverträglichkeit von Proben mit sehr hohen TS-Gehalten	17
3.2.2 Versuche mit <i>Fusarium ssp.</i>	18
3.2.2.1 Bereitstellung und Nachweis der Erregerproben	18
3.2.2.2 Versuchsdurchführung	18
3.2.2.3 Verwendete Nährmedien	18
3.2.3 Versuche mit <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	19
3.2.3.1 Bereitstellung und Nachweis der Erregerproben	19
3.2.3.2 Versuchsdurchführung	19
3.2.3.3 Verwendete Nährmedien	19
3.2.4 Versuche mit Unkrautsamen	19
3.2.4.1 Wärmeverträglichkeit von rotteresistenten Unkräutern	19
3.2.4.2 Wärmeverträglichkeit unterschiedlicher Kleearten	20
3.2.5 Versuche mit Tomatensamen	20
3.2.5.1 Einstellung des Feuchtegehaltes der Samen (SFG)	21
3.2.5.2 Bestimmung der Keimfähigkeit	21
3.2.5.3 Bestimmung der Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen mit geringem SFG bei konstanter Bebrütungstemperatur	21
3.2.5.4 Bestimmung der Abtötungszeitpunkte unterschiedlich feuchter Tomatensamen bei langsam steigender Temperatur (+2 °C/0,5 Tage)	22

3.2.6	Versuche mit dem Tabak-Mosaik-Virus	22
3.2.6.1	Herstellung des Infektionsmaterials	22
3.2.6.2	Nachweisverfahren zur Bestimmung der Infektiosität	22
3.2.6.3	Versuche zur Bestimmung der Wärmeverträglichkeit des Tabak-Mosaik-Virus	24
3.3	Versuche zur Bestimmung der Rotteresistenz des Tabak-Mosaik-Virus	24
3.3.1	Modellkompostierungsversuche bei 50 – 55 °C	24
3.3.2	Eigenkompostierungsversuche	26
3.4	Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse	26
4	WÄRMEVERTRÄGLICHKEIT PHYTOPATHOGENER PROTISTEN UND PILZE	28
4.1	Einführung in die Thematik I	28
4.1.1	Vorliegende Angaben zur Wärmeverträglichkeit von <i>P. brassicae</i>	28
4.1.2	Begründung der Versuchsplanung I	29
4.2	Untersuchungsergebnisse zur Wärmeverträglichkeit von <i>P. brassicae</i>	30
4.2.1	Wärmeverträglichkeit von unterschiedlichen Proben aus Lagerbeständen	30
4.2.2	Ursachen für die heteroge Wärmeverträglichkeit von <i>P. brassicae</i>	33
4.2.3	Versuch zur Steigerung der Homogenität von Erregerproben durch Verwendung von Dauersporensuspensionen mit definierter Sporendichte	36
4.2.4	Einfluss des TS-Gehaltes auf die Wärmeverträglichkeit von <i>P. brassicae</i>	39
4.3	Untersuchungsergebnisse zur Wärmeverträglichkeit phytopathogener Pilze	40
4.4	Bewertung der Untersuchungsergebnisse I	42
4.4.1	Bewertung der Wärmeverträglichkeit von <i>P. brassicae</i>	43
4.4.2	Möglichkeiten der Gewinnung von wärmeverträglichen Proben	43
4.4.3	Homogenisierungsmöglichkeiten zur Vereinheitlichung der Wärmeverträglichkeit einzelner Proben	44
4.4.4	Bewertung der Wärmeverträglichkeit phytopathogener Pilze vor dem Hintergrund des Testsystems der BioAbfV	45
4.5	Resümee und Ausblick I	45
5	WÄRMEVERTRÄGLICHKEIT VON UNKRAUTSAMEN	47
5.1	Einführung in die Thematik und Begründung der Versuchsplanung II	47
5.2	Wärmeverträglichkeit von rotteresistenten Unkrautsamen	47
5.3	Wärmeverträglichkeit von Kleesamen (<i>Trifolium sp.</i>)	50
5.4	Bewertung der Untersuchungsergebnisse II	51
5.5	Resümee und Ausblick II	52
6	WÄRMEVERTRÄGLICHKEIT VON TOMATENSAMEN MIT GERINGEM SAMENFEUCHTEGEHALT – POTENZIAL FÜR HYGIENEUNTERSUCHUNGEN	54
6.1	Einführung in die Thematik und Begründung der Versuchsplanung III	54
6.2	Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen mit geringem SFG	54
6.3	Bewertung der Untersuchungsergebnisse III	56
6.3.1	Potenzieller Wert der Untersuchungsergebnisse für das Hygienebewertungssystem der BioAbfV	56
6.3.2	Grundsätzliche Eignung von konditionierten Tomatensamen zur Indikation einer abgesicherten Hygienisierung	57
6.3.3	Bewertung des Einflusses spezifischer Abtötungsfaktoren auf Indikatororganismen	59
6.3.4	Flexibilität des vorgeschlagenen Testsystems	60
6.4	Resümee und Ausblick III	60

7	BESTIMMUNG DER KOMPOSTHYGIENISIERUNG AUF BASIS VON TEMPERATURDATEN - HYGIENISIERUNGSGLEICHUNG	62
7.1	Einführung in die Thematik und Formulierung der Zielsetzung IV	62
7.2	Keimverluste von Tomatensamen in Abhängigkeit von der Behandlungstemperatur, der Behandlungsdauer und der Samenfeuchte	63
7.3	Prognostizierung der Abtötungszeitpunkte von Tomatensamen bei nicht konstanten Temperaturen	66
7.4	Entwicklung neuer Methoden zur Bewertung der Hygienisierung	68
7.4.1	Methodische Vorgehensweise bei der Definition der Wärmeverträglichkeit von Indikatororganismen für Hygieneuntersuchungen	68
7.4.2	Anwendung der Hygienisierungsgleichung zur Bewertung der wärmebedingten Hygienisierung auf Grundlage von Temperaturdaten	70
7.4.3	Exemplarische Anwendung der Hygienisierungsgleichung zur Bewertung der wärmebedingten Hygienisierung eines Rotteprozesses	74
7.4.4	SFG _{äquivalent} als Maßstab für Hygienisierungsanforderungen	79
7.5	Bewertung der Untersuchungsergebnisse IV	85
7.5.1	Allgemeingültigkeit von Hygienisierungsfaktoren	85
7.5.2	Aussagegenauigkeit von Temperaturdaten zur Bewertung des Hygienisierungsprozesses	86
7.5.3	Bewertung eines temperaturbasierten Hygienebewertungssystems im Hinblick auf die Kompostproduktion und -vermarktung	88
7.5.4	Ansatz zur Harmonisierung unterschiedlicher Anforderungen an Temperatur-Zeit-Vorgaben bei der Bioabfallkompostierung in Europa	90
7.6	Resümee und Ausblick IV	91
8	BEDEUTUNG DES AEROBEN MIKROBIELLEN ABBAUS ZUR INAKTIVIERUNG DES TABAK-MOSAIK-VIRUS	93
8.1	Einführung in die Thematik und Formulierung der Zielsetzung V	93
8.1.1	Wärme- und Rotteverträglichkeit des TMV	93
8.1.2	Methodische Ansätze zur Bewertung der Virulenz des TMV	94
8.2	Untersuchungsergebnisse zur Bestimmung der Virulenz des TMV	95
8.2.1	Herleitung eines relativen Grenzwertes für Ergebnisse der Halbblattmethode	95
8.2.2	Bewertung der Ergebnisse der Halbblattmethode anhand von Verdünnungsreihen	96
8.3	Wärmeverträglichkeit des TMV	98
8.4	Rotteverträglichkeit des TMV	100
8.5	Diskussion der Ergebnisse der Versuchsreihen mit dem TMV	110
8.5.1	Bewertung der in der BioAbfV vorgeschriebenen Nachweismethode für das TMV	110
8.5.2	Bewertung der Tenazität des TMV im Hinblick auf die Hygienisierung von Kompost	110
8.5.3	Anwendungsaufgaben für Komposte mit unsicherer Inaktivierung des TMV	112
8.6	Resümee V	112
9	ZUSAMMENFASSUNG UND FAZIT	113
9.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	113
9.2	Fazit der Untersuchungen	116
10	LITERATURVERZEICHNIS	117

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1:	Vergleich der Wärmeverträglichkeiten verschiedener Proben des Erregers <i>P. brassicae</i> aus Lagerbeständen gemessen an der Infektiösität zu verschiedenen Stadien der Behandlung (Index nach Buczacki)	31
Abb. 2:	Beeinflussung der Infektiösität von <i>P. brassicae</i> durch Bebrütung im Temperatursteigerungsversuch, gesamter Datensatz von 8 Proben, n = 40	32
Abb. 3:	Erkrankungsgrad (Index nach Buczacki) von Sarepta Senf mit <i>P. brassicae</i> (Probe 3) in Abhängigkeit von der Bebrütungszeit der Erregerproben bei 50 °C	35
Abb. 4:	Grundinfektiösität des Erregers <i>P. brassicae</i> in Abhängigkeit von der Dauersporenkonzentration, n = 8	37
Abb. 5:	Verwandtschaftsbeziehung der untersuchten Fusarien	40
Abb. 6:	Abtötungszeitpunkte von Phytopathogenen im Vergleich zu unterschiedlich trockenem Gallenmaterial von <i>P. brassicae</i> bei Bebrütung mit stufenweise ansteigender Temperatur	41
Abb. 7:	Einfluss einer stufenweise steigenden Bebrütungstemperatur auf die Keimrate von Unkrautsamen	48
Abb. 8:	Keimverlust von monokotylen und dikotylen Unkrautsamen durch stufenweise steigende Bebrütungstemperatur	48
Abb. 9:	Abtötungszeitpunkte von dikotylen Unkrautsamen im Vergleich zu Tomatensamen bei Bebrütung mit stufenweise ansteigender Temperatur	49
Abb. 10:	Keimrate von kompostbürtigen Kleesamen auf unterschiedlichen Temperaturstufen eines Bebrütungsversuches mit progressiv steigender Temperatur	51
Abb. 11:	Keimfähigkeit von Tomatensamen und Anteil anomal entwickelter Keime in Abhängigkeit von der Bebrütungstemperatur, der Bebrütungsdauer und dem SFG	55
Abb. 12:	Empirische und gemäß Gleichung 4 berechnete Abtötungsdauer [Tage] in Abhängigkeit vom SFG [% H ₂ O] und der Behandlungstemperatur [°C]	64
Abb. 13:	Empirische und gemäß Gleichung 5 berechnete Abtötungsdauer [Tage] in Abhängigkeit vom SFG [% H ₂ O] und der Behandlungstemperatur [°C]	65
Abb. 14:	Prognostizierter und gemessener Verlust der Keimfähigkeit von Tomatensamen in Abhängigkeit vom SFG [%]	68
Abb. 15:	Anpassung des SFG _{äquivalent} von Tomatensamen an die bei 50 °C festgestellte Wärmeverträglichkeit von unterschiedlichen Proben des Erregers <i>P. brassicae</i>	70
Abb. 16:	Hygienisierungsleistung (HyL) unterschiedlicher Temperaturen [%/h] für Tomatensamen mit 12,4 % SFG	72
Abb. 17:	Temperaturdaten der ersten Rottephase einer Tafelmiere	73
Abb. 18:	Auswertung der Temperaturdaten einer Tafelmiere und Berechnung der innerhalb des ersten Rotteabschnittes erreichten kumulativen Hygienisierungsbeiträge (kum.HyBtr) getrennt nach Mietenbereichen; für SFG _{äquivalent/P.br.} = 12,4 %	74
Abb. 19:	Temperaturverlauf während der Intensivrotte einer Tafelmietenkompostierung	75
Abb. 20:	Berechnung des gesamten Hygienisierungsgrades (ges.HyGr) von zwei Rotteabschnitten für SFG _{äquivalent} = 12,4 %; beispielhaft für originäres Rottematerial des Basisbereiches	76

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	V
Abb. 21: Relative Infektiösität der TMV-Kontrollsuspension gemäß BioAbfV in Abhängigkeit von der Verdünnung	97
Abb. 22: Wärmeeinfluss (50, 60 u. 70 °C) auf die relative Infektiösität des TMV	99
Abb. 23: Wärmeeinfluss (50, 60 u. 70 °C) auf die relative Infektiösität einzelner Proben des TMV	99
Abb. 24: Einfluss der Substratfeuchtigkeit auf die relative Infektiösität des TMV bei verschiedenen Behandlungstemperaturen	100
Abb. 25: Temperaturverläufe und Feuchtigkeitsgehalte der Rotteversuche mit einer Solltemperatur von 50 °C (A, B) bzw. 55 °C (C, D)	101
Abb. 26: Temperaturhistogramme und Durchschnittstemperaturen der Versuche A – D	102
Abb. 27: Bewertung der Einflussfaktoren auf die relative Infektiösität des TMV während der Rotte auf Basis einer mehrfaktoriellen Varianzanalyse	103
Abb. 28: Beeinflussung der Infektiösität des TMV durch Wärme- und Rotteeinflüsse in Abhängigkeit von der Rottedauer	104
Abb. 29: Einfluss der Reaktionszeit auf die Infektiösität des TMV in Abhängigkeit vom mikrobiellen Einfluss des aeroben Rotteprozesses.	105
Abb. 30: Temperaturverlauf, Feuchtigkeitsgehalte und Temperaturverteilung des Rotteversuches im unteren thermophilen Bereich	106
Abb. 31: TMV-Inaktivierung eines siebenwöchigen Rotteprozesses bei 45 °C und 40 % Feuchtigkeit (Versuch E)	107
Abb. 32: Temperaturverlauf der Nachrotteversuche von ausgereiftem Eigenkompost	108
Abb. 33: Temperaturprofile der Einlegezonen des TMV bei der Behandlung in ausgereiftem Eigenkompost	108
Abb. 34: TMV-Inaktivierung durch 12-wöchige Nachrotte von Eigenkompost	109

TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1: Indikatororganismen der BioAbfV	7
Tab. 2: Untersuchungsprogramm - Wärmeverträglichkeit von Phytopathogenen und Unkrautsamen	10
Tab. 3: Untersuchungsprogramm - Prognosemodell zur Hygienebewertung auf Basis von Temperaturdaten	10
Tab. 4: Untersuchungsprogramm - Inaktivierung des Tabak-Mosaik-Virus	11
Tab. 5: Boniturschema zur Bewertung des Erkrankungsgrades von Sarepta-Senf (<i>Brassicae juncea</i>), BUCZACKI et al. (1975)	14
Tab. 6: Beschreibung der aus Altbeständen verwendeten Erregerproben des Pilzes <i>P. brassicae</i>	15
Tab. 7: Charakterisierung der Erregerproben, die einer bis zu einwöchigen Wärmebehandlung bei 50 °C im Wasserbad ausgesetzt wurden	16
Tab. 8: Applikationsschema zur Ermittlung der Infektiösität von TMV-Proben	23
Tab. 9: Versuche zur Ermittlung der Wärmeverträglichkeit des TMV	24

Tab. 10:	Versuche zur Ermittlung der Rotteverträglichkeit des TMV	25
Tab. 11:	Versuche zur Ermittlung der Rotteverträglichkeit des TMV	26
Tab. 12:	Berücksichtigte Charakteristika der untersuchten Proben	33
Tab. 13:	Erkrankungsgrad (Index nach Buczacki) von Sarepta-Senfpflanzen (<i>Brassica juncea</i>), Sorte „Vittasso“ in Abhängigkeit von der Dauer einer Wärmebehandlung verschiedener Infektionsmaterialien mit 50 °C, n = 4	35
Tab. 14:	Infektiösität von Dauersporensuspensionen des Erregers <i>P. brassicae</i> (eingemischt in Einheitserde) in Abhängigkeit von der Bebrütungsdauer bei 50 °C und der Dauersporenkonzentration	38
Tab. 15:	Infektiösität von getrockneten Erregerproben des Erregers <i>P. brassicae</i> in Abhängigkeit vom TS-Gehalt des Erregermaterials und der maximalen Bebrütungstemperatur	40
Tab. 16:	Maximale Wärmeverträglichkeit von Klee-Subspezies und Tomatensamen bei einer Bebrütung mit stufenweiser Temperaturerhöhung	50
Tab. 17:	Indikatoren und Nachweisgruppen bei der direkten Prozessprüfung der BioAbfV	58
Tab. 18:	Relevante Phytopathogene nach NOBLE et al. (2004) und deren systematische Zuordnung zu Indikatororganismen der BioAbfV	59
Tab. 19:	Abtötungsdauer [Tage] von Tomatensamen in Abhängigkeit von der Temperatur und dem SFG	63
Tab. 20:	Vergleich der empirisch ermittelten Abtötungsdauer von Tomatensamen mit Prognoseergebnissen gemäß Gleichung 4 und	66
Tab. 21:	Gesamtbewertung der Hygienisierung einer Tafelmiete nach Abschluss einer 22-tägigen Intensivrottephase gemessen an der maximalen Wärmeverträglichkeit von <i>P. brassicae</i> - $SFG_{\text{äquivalent}/P.br.} = 12,42$	78
Tab. 22:	Gesamtbewertung der Hygienisierung einer Tafelmiete nach Abschluss einer 22-tägigen Intensivrottephase gemessen an den Anforderungen der BioAbfV für die Reaktorkompostierung - $SFG_{\text{äquivalent}}$ für 7 Tage ≥ 60 °C = 7,06	79
Tab. 23:	Vergleich der einzuhaltenden Hygienisierungstemperaturen in Europa, USA und Australien nach HOGG et al. (2002) anhand des $SFG_{\text{äquivalent}}$	80
Tab. 24:	Vergleich der von BOLLEN (1985) ermittelten Wärmeverträglichkeiten unterschiedlicher Phytopathogene durch Berechnung des $SFG_{\text{äquivalent}}$	82
Tab. 25:	Vergleich der von GLASSER (1953) ermittelten Wärmeverträglichkeiten unterschiedlicher Phytopathogene durch Berechnung des $SFG_{\text{äquivalent}}$	82
Tab. 26:	Vergleich der von NOBLE et al. (2004) ermittelten Wärmeverträglichkeiten unterschiedlicher Phytopathogene durch Berechnung des $SFG_{\text{äquivalent}}$	83
Tab. 27:	Bewertung der von GLASSER (1953) ermittelten Wärmeverträglichkeit von eingequollenen Unkrautsamen gemäß $SFG_{\text{äquivalent}}$	84
Tab. 28:	Variabilität der durch TMV-haltige Kontrollsuspensionen auf zwei Blatthälften verursachten Läsionen und Darstellung eines den Anforderungen der BioAbfV entsprechenden relativen Grenzwertes für die Halbblattmethode	96

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Aqua bidest.	zweifach destilliertes Wasser
arcsin	Arcussinus transformierte Werte
Befallsindex _{EP}	Befallsindex einer Einzelprobe
BioAbfV	Bioabfallverordnung
BMA	Biomalzagar
bzw.	beziehungsweise
d	Tag
EE0	Einheitserde Typ 0 (ungedüngt)
EU	Europäische Union
FG	Fachgebiet
f.sp	forma specialis
g	Erdanziehungskraft (beim Zentrifugieren)
GD	Grenzdifferenz
h	Stunde
i. d. R.	in der Regel
Läs _K	Läsionen durch Kontrolle bewirkt
Läs _P	Läsionen durch Probe bewirkt
ln	natürlicher Logarithmus
LSD-Test	least significant difference test
max	Maximum (größter Beobachtungswert)
Mg	Megagram (Tonne)
min	Minimum (kleinster Beobachtungswert)
Min.	Minute
N	Stickstoff
<i>P. brassicae</i>	<i>Plasmodiophora brassicae</i> (Kohlhernieerreger, Indikatororganismus der BioAbfV)
P.br.	Abkürzung für <i>Plasmodiophora brassicae</i> in Formeln
PDA	Potato Dextrose Agar
s	Streuung
SEA	Strohextraktagar
SFG	Samenfeuchtegehalt (Wassergehalt von Samen)
SFG _{äquivalent}	Samenfeuchteäquivalent (Erläuterung siehe Glossar)
sp.	Spezies
ssp.	Subspezies
t	Zeit
Temp.	Temperatur
Temp _{Min}	Minimumtemperatur
TM	Trockenmasse
TMV	Tabak-Mosaik-Virus (Indikatororganismus der BioAbfV)
TS	Trockensubstanz
u. a.	unter anderem

vgl.	vergleich
$\bar{x}$	arithmetischer Mittelwert

GLOSSAR

direkter Hygienenachweis	Bewertung der Hygienisierung an der Reaktion von Indikatororganismen, die durch den Rotteprozess geschleust werden
Eigenkompostierung	Kompostierung von haushaltsüblichen Mengen an Garten- und Küchenabfällen im eigenen Hausgarten
Flächenkompostierung	Ausbringung von unvorbehandelten Bio- und Grünabfällen auf landwirtschaftlich genutzte Flächen
$\text{HyBtr}_{\text{Temperaturstufe}} [\%]$	Hygienisierungsbeitrag einer Temperaturstufe: Gibt an, wie viel Prozent der erforderlichen Hygienisierung innerhalb eines Rotteabschnittes durch die Summe aller Stunden einer Temperaturstufe bewirkt wird, wobei die Hygienisierungsansprüche durch den Parameter $\text{SFG}_{\text{äquivalent}}$ definiert werden.
$\text{HyL}_{\text{Temperaturstufe}} [\%]$	Hygienisierungsleistung einer Temperaturstufe: Gibt an, wie viel Prozent der erforderlichen Hygienisierungsleistung durch eine einstündige Einwirkung bewirkt wird, wobei die Hygienisierungsansprüche durch den Parameter $\text{SFG}_{\text{äquivalent}}$ definiert werden.
$\text{IGr}_{\text{Temp.,SFG}} [\%]$	Inaktivierungsgrad: Gibt an, wie viel Prozent der erforderlichen Inaktivierungsdauer durch eine einstündige Einwirkung in Abhängigkeit von den spezifischen Einflussgrößen Temperatur und SFG bewirkt wird.
indirekter Hygienenachweis	Ableitung der Hygienisierung auf Grundlage von Temperaturdaten (Mindesttemperaturen)
$\text{kum.HyBtr}_{\text{Rotteabschnitt}} [\%]$	kumulativer Hygienisierungsbeitrag eines Rotteabschnittes: Gibt an, wie viel Prozent der erforderlichen Hygienisierung durch Addition der spezifischen Hygienisierungsbeiträge eines Rotteabschnittes erreicht wird, wobei die Hygienisierungsansprüche durch den Parameter $\text{SFG}_{\text{äquivalent}}$ definiert werden.
$\text{kum.HyGr} [\%]$	kumulativer Hygienisierungsgrad: Gibt an, wie viel Prozent der erforderlichen Hygienisierung durch Addition der kumulativen Hygienisierungsbeiträge einzelner Rotteabschnitte insgesamt erreicht wird, wobei die Hygienisierungsansprüche durch den Parameter $\text{SFG}_{\text{äquivalent}}$ definiert werden.

	den. Die Hygienisierung ist bei Werten von > 100 % als erfolgreich zu bewerten.
kum.IGr [%]	kumulativer Inaktivierungsgrad: Gibt an, wie viel Prozent der erforderlichen Inaktivierung innerhalb des Bilanzzeitraumes durch Addition einzelne Inaktivierungsbeiträge spezifischer Temperaturstufen erreicht wird.
Organismen	Der Begriff Organismen wird als Oberbegriff für Pathogene und Unkrautsamen verwendet.
SFG _{äquivalent} [%]	äquivalenter Samenfeuchtegehalt für Wärmeverträglichkeiten von Pathogenen: Gibt für eine spezifische Wärmeverträglichkeiten von einzelnen Pathogenen an, bei welchem Samenfeuchtegehalt Tomatensamen eine gleichgroße Wärmeverträglichkeit besitzen wie die jeweiligen Pathogene.
SFG _{äquivalent/P.br.} [%]	äquivalenter Samenfeuchtegehalt für Wärmeverträglichkeiten von <i>P. brassicae</i>
Tafelmiete	Mieten mit trapezförmiger Geometrie (i. d. R. eingehaust)
Tenazität	Widerstandsfähigkeit gegenüber lebenswidrigen Bedingungen

Kurzfassung

Durch die Anforderungen an die Bioabfallbehandlung, die in der Bioabfallverordnung (Bio-AbfV) definiert sind, soll sichergestellt werden, dass durch die Anwendung von Kompost keine Krankheitserreger ausgebreitet werden. Die Sichtung von Literatur hat Hinweise darauf geliefert, dass das in der BioAbfV beschriebene Verfahren der Hygieneüberwachung möglicherweise mit Schwachstellen behaftet ist, die zu Fehleinschätzungen führen könnten. Zum einen lagen widersprüchliche Hinweise zur Wärmeverträglichkeit des als rotteresistent geltenden Testorganismus „*Plasmodiophora brassicae*“ (*P. brassicae*) vor. Zum anderen wiesen Literaturangaben auf eine geringe Rotteresistenz des als sehr wärmeverträglich geltenden Testorganismus „Tabak-Mosaik-Virus“ (TMV) hin.

Das erste Ziel der Arbeit bestand darin, die Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* in Abhängigkeit des Wassergehaltes von Substraten, in die der Erreger zur Simulation von Rotteverhältnissen eingemischt wurde, durch eigene Versuche exakt zu charakterisieren, um die Eignung des derzeitigen Testorganismus für Hygieneuntersuchungen beurteilen zu können. Zur Einordnung der relativen Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* im Vergleich zu anderen Organismen wurden darüber hinaus die Wärmeverträglichkeiten weiterer Phytopathogene und Unkrautsamen bestimmt. Hierzu wurde eine Wärmebehandlungsmethode entwickelt, bei der im Verlauf der Bebrütung die Wärme stufenweise erhöht wird. Mit der Methodenentwicklung wurde beabsichtigt, eine exakte Charakterisierung der relativen Wärmeverträglichkeit von Organismen bei reduziertem Arbeits- und Zeitaufwand vornehmen zu können.

Da die Ergebnisse der Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen bestätigt haben, dass *P. brassicae* als Testorganismus, mit dem insbesondere der wärmebedingte Hygienisierungsprozess beurteilt werden soll, nur bedingt geeignet ist, wurde in einem zweiten Arbeitsschwerpunkt das Ziel verfolgt, eine Methode zu entwickeln, mit der die Hygienisierung von Kompost anhand von Temperaturdaten berechnet werden kann. Mit Hilfe von isothermen Bebrütungsversuchen konnte der dreidimensionale Zusammenhang beschrieben werden, der zwischen der zur Abtötung von Tomatensamen erforderlichen Behandlungsdauer, der Behandlungstemperatur und dem Samenfeuchtegehalt (SFG) besteht. Der mathematische Zusammenhang konnte zur Formulierung einer Hygienisierungsgleichung genutzt werden, mit deren Hilfe die Hygienisierung von Kompost auf Basis von Temperaturdaten nachgewiesen werden kann. Der Hygienisierungsnachweis beruht auf dem Prinzip, dass die Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen durch Verringerung des SFG beliebig gesteigert und somit an die Wärmeverträglichkeit der widerstandsfähigsten Pathogene und Unkrautsamen angepasst werden kann. Zur Charakterisierung des SFG, bei dem Tomatensamen über die gleiche Wärmeverträglichkeit verfügen wie Organismen, deren Abtötung nachgewiesen werden soll, wurde der Begriff Samenfeuchteäquivalent ($\text{SFG}_{\text{äquivalent}}$) eingeführt, mit dem die Hygienisierungsanforderungen definiert werden. Im Hygienienachweisverfahren wird geprüft, ob die Wärmesumme einer Bioabfallbehandlung ausgereicht hat, um den angestrebten Hygienisierungsgrad zu erreichen. Als Grundlage für die Definition einer geeigneten Mindestanforderung an die Hygienisierung wurden die $\text{SFG}_{\text{äquivalente}}$ unterschiedlicher Pathogene und Unkrautsamen auf der Grundlage von Lite-

raturangaben und eigenen Untersuchungen bestimmt. Die Anwendung der Hygienisierungsgleichung wurde exemplarisch in der Praxis getestet. Zur Bewertung des Hygienisierungserfolges wurde dabei das SFG_{äquivalent} des derzeitigen Testorganismus der BioAbfV *P. brassicae* (SFG_{äquivalent/P.br.}) verwendet.

Da die wärmebedingte Inaktivierung des Tabak-Mosaik-Virus (TMV), der im Vergleich zu anderen Pathogenen und Unkrautsamen über eine überproportional hohe Wärmeverträglichkeit verfügt, bei Intensivrotteverfahren mit kurzer Behandlungsdauer und bei der Bioabfallvergärung nicht sichergestellt werden kann, wurde dieses Problem in einem dritten Arbeitsschwerpunkt behandelt. Ausgehend von Literaturangaben, die auf eine relativ geringe Rotteresistenz des Virus hingewiesen haben, wurde der mikrobielle Einfluss des Rotteprozesses auf die TMV-Inaktivierung überprüft und bewertet. Die gute Wirksamkeit des aeroben mikrobiellen Einflusses auf die TMV-Inaktivierung konnte bestätigt werden. Die gewonnenen Ergebnisse konnten genutzt werden, um Vorschläge zu formulieren, mit denen eine alternative Bewertung der TMV-Inaktivierung vorgenommen werden könnte. Der vorgeschlagene Bewertungsansatz berücksichtigt die Dauer des aeroben mikrobiellen Einflusses auf das TMV. In weiteren Untersuchungen sollte überprüft werden, ob möglicherweise auch die Dauer der Kompostlagerung in die Betrachtung einbezogen werden kann.

Abstract

The treatment requirements for organic wastes, defined in the German “Biowaste Ordinance” are meant to ensure that compost can be considered free from hazards related to potentially harmful organisms (plant and human pathogens). A review of the literature suggests that the pasteurisation tests described in the German Biowaste Ordinance may have weak points which could lead to a misinterpretation of the sanitary quality of the compost being assessed. For instance, there were contradictory statements about the heat tolerance of *Plasmodiaphora brassicae* (*P. brassicae*), an indicator organism said to have a high resistance against microbial degradation. In addition there were statements that suggested a low resistance against microbial degradation by Tobacco Mosaic Virus (TMV), an indicator organism considered to be very heat tolerant.

The primary focus of this study was to characterize the heat tolerance of *P. brassicae* in laboratory tests, taking into consideration the influence of moisture of the substrate the fungus was mixed in, in order to evaluate the suitability of this indicator organism for evaluating the composting process in terms of sanitization caused by heat. To classify the relative heat tolerance of *P. brassicae* compared to other organisms, the heat-tolerance of other pathogens and weed seeds has been determined as well. For this, a method has been developed to increase temperature gradually during the incubation. The purpose of this was to ensure an exact characterization of the relative heat tolerance of different organisms with a minimum of time and effort.

The results of testing heat tolerance confirmed that *P. brassicae* is not a reliable indicator organism with which to evaluate the sanitary process due to heat. Therefore, the next objective of this study was to develop a method to calculate the sanitization of compost on

the basis of temperature data. Through the use of isothermal heat treatments on tomato seeds the three-factor relationship existing between the time required to render tomato seeds non viable, the temperature level of the treatment and the moisture content of the tomato seeds could be verified. It was recognised that this relationship could be used to develop a sanitization equation, which can be used to prove the sanitization of compost based on temperature data. Proof of sanitization is based on the principle that the heat tolerance of tomato seeds can be increased by decreasing the moisture content of the seeds. This equates the heat tolerance of tomato seed to the heat tolerance of pathogens and weed seeds. The term 'seed moisture equivalence' was introduced to describe the state when tomato seeds gain the same level of heat tolerance as the specific pathogen organism that needs to be eradicated. The assessment of sanitization is based on the assumption that eradication of pathogens is gained when total loss of germination ability of tomato seeds representing the heat tolerance of most resistant pathogens and weed seeds is achieved. Data of literature and results of own tests were used to calculate the 'seed moisture equivalence' (of tomato seeds) of different pathogens and weed seeds. The use of the sanitization equation has been tested in the real world using temperature data from an existing compost plant where the success of sanitization was assessed by using the 'seed moisture equivalence' of *P. brassicae*, as the fungus represents an important indicator organism in the German Biowaste Ordinance.

In the case of TMV, which has shown a disproportionate heat tolerance compared to other pathogens and weed seeds, inactivation by high temperature cannot be guaranteed in all cases, in particular in the case of fermentation and of aerobic treatments with short composting times. This issue forms the third focus of the study. Following a review of the literature, which suggested that TMV had a relatively low resistance to the composting process, the influence of microbial degradation on the inactivation of TMV has been tested and evaluated. It was confirmed that aerobic microbial activity was very effective at inactivating TMV. The results were used to develop recommendations for the use of an alternative assessment for the inactivation of TMV relating to the duration of exposure to aerobic microbial activity. Further investigation is needed to assess whether the time of storage of composts under aerobic conditions can be taken into account as well.

1 Einleitung

1.1 Problemstellung

Die Kompostierung von getrennt gesammelten Bioabfällen ist eine abfallwirtschaftliche Maßnahme, bei der aus organischen Abfällen ein Produkt gewonnen werden kann, das den Humuskreislauf schließt und die Bodenfruchtbarkeit erhöht. Durch Kompostdüngung werden dem Boden Nährstoffe und organische Substanzen zurückgeführt und die Bodenstruktur verbessert (POLETSCHNY 1989, VOGTMANN et al. 1989). Die Kompostdüngung fördert die Bodenfruchtbarkeit (DICK und McCOY 1993) und wirkt suppressiv gegen bodenbürtige Krankheitserreger (HOITINK et al. 1993, BRUNS 1996).

In Abhängigkeit von der Herkunft der Bioabfälle können Komposte auch unerwünschte Inhaltsstoffe enthalten, die die Anwendung einschränken. Durch Verschmutzung der getrennt gesammelten Bioabfälle können Fremdstoff- und Schwermetallkonzentrationen im Kompost zunehmen (FRICKE et al. 1991). Bei einer Überschreitung der von der Bioabfallverordnung (BioAbfV) festgelegten Grenzwerte wird die Kompostdüngung mengenmäßig begrenzt oder verboten (ANONYM 1998a). Das Rotteausgangsmaterial enthält auch Pflanzenkrankheitserreger und Unkrautsamen (BÖHM und PHILIPP 2003), die bei unsachgemäßer Rotte nicht abgetötet und damit verbreitet werden können. Insbesondere für die schwer bekämpfbaren bodenbürtigen Krankheitserreger, die aufgrund ihrer Biologie nur über sehr begrenzte Ausbreitungsmöglichkeiten verfügen und die prinzipiell durch eine erhöhte Widerstandskraft gegenüber mikrobiellem Abbau gekennzeichnet sind, könnten durch die Kompostausbringung ganz neue Ausbreitungswege eröffnet werden.

Seit den Anfängen der Kompostierung wurden in zahlreichen Untersuchungen das Verhalten und die Abtötung von Pathogenen und Unkrautsamen während der Kompostierung untersucht. Dabei hat sich gezeigt, dass der Kompostierungsprozess grundsätzlich eine geeignete Behandlungsmethode zur Abtötung von Pathogenen und Unkrautsamen darstellt (z. B. GLASSER 1953, BURGE 1982, BOLLEN et al. 1989). Die Untersuchungen haben jedoch auch gezeigt, dass die wirksame Abtötung von Pathogenen und Unkrautsamen eine gute Rotteführung voraussetzt. Bei schlechter Rotteführung, kurzen Rottezeiten oder in schlecht erwärmten Rottezonen können sowohl Pathogene als auch Unkrautsamen den Kompostierungsprozess überleben (MARCINISZYN und GOTTSCHALL 1998). Aufgrund wechselnder Rottebedingungen ist die Möglichkeit einer chargengenauen Bewertung des Hygienisierungserfolges von großem Interesse. Nach Umfragen von NOBLE et al. (2004) wird die Vermarktung von Kompost in den Gartenbausektor dadurch eingeschränkt, dass die potenziellen Abnehmer die Übertragung von Phytopathogenen befürchten. Durch einen gesicherten Hygienienachweis könnte das Vertrauen in das Produkt und der Absatz von hochwertigen Komposten deutlich gesteigert werden.

Bislang wurde noch kein Nachweisverfahren entwickelt, das es ermöglicht, den Hygieniezustand von Kompost für jede einzelne Kompostcharge zu bewerten. Dies gilt auch für Deutschland, wo im europäischen Vergleich die höchsten Anforderungen an die Hygieneüberwachung gestellt werden (BÖHM 2005). Die deutsche BioAbfV schreibt drei Hygienesicherungsmaßnahmen vor (ANONYM 1998a):

- Eine Validierung der Leistungsfähigkeit von Anlagen hinsichtlich der Wirksamkeit der Bioabfallhygienisierung während der Inbetriebnahme,
- die Einhaltung von Mindesttemperaturen über einen definierten Zeitraum (Temperatur-Zeit-Vorgaben) und
- regelmäßige Endproduktprüfung auf austriebsfähige Samen und Pflanzenteile sowie Salmonellen.

In den meisten Staaten der EU werden Temperatur-Zeit-Vorgaben für den Rotteprozess vorgeschrieben, die sich mitunter deutlich voneinander unterscheiden. In einigen Staaten wurden bislang noch keine Hygieneanforderungen definiert (BÖHM 2005).

1.2 Zielsetzung

Die vorliegende Untersuchung wird die Frage behandeln, wie die Hygienisierung von Kompost durch eine Verbesserung der Nachweismethode sicher unter Beweis gestellt werden kann. Hierbei wurde das übergeordnete Ziel verfolgt, die grundsätzlich guten Hygienisierungspotenziale der unterschiedlichen Bioabfallkompostierungsverfahren sichtbar zu machen, um das Vertrauen in das Produkt „Kompost“ zu steigern. Ausgehend von Untersuchungen, in denen die Wärmeverträglichkeiten von Phytopathogenen und Unkrautsamen unter standardisierten und einheitlichen Bedingungen bestimmt wurden, sollten Strategien entwickelt werden, mit denen der Hygienisierungsgrad von Kompost deutlich häufiger, genauer und zuverlässiger bestimmt werden kann, als dies momentan möglich ist. Der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit wurde auf den Aspekt der wärmebedingten Hygienisierung gelegt. Einerseits ist die bei der Rotte entstehende Wärme als der mit Abstand wichtigste Hygienisierungsfaktor zu betrachten (BOLLEN und VOLKER 1996), andererseits ist die Wärme der einzige direkt messbare und quantifizierbare Hygienisierungsfaktor der Rotte. Durch den methodischen Ansatz, die Hygienisierung auf Basis der physikalischen Größen Temperatur und Zeit zu bewerten, sollten die Voraussetzungen für eine häufige und chargengenaue Hygienebewertung von Komposten geschaffen werden. Im Hinblick auf die Genauigkeit der Untersuchungsmethode sollte zur Bewertung der wärmebedingten Hygienisierung der lineare Zusammenhang berücksichtigt werden, der nach PRECHT et al. (1955) zwischen der Höhe der Temperatur und dem Logarithmus der Abtötungsdauer besteht. Dieser Zusammenhang wird bei den starren Temperatur-Zeit-Vorgaben deutscher und europäischer Regelungen bislang nicht beachtet, was die Gefahr birgt, dass aus Gründen einer unsicheren bzw. undifferenzierten Bewertung des Temperatureinflusses zu hohe Anforderungen formuliert werden.

Abschließend sollte für das besonders wärmeverträgliche Tabak-Mosaik-Virus (TMV), dessen Abtötung nicht bei allen Rotteverfahren sicher über den Einfluss der Wärme nachgewiesen werden kann, eine alternative Bewertungsmethode vorgeschlagen werden. Zur Beurteilung der Inaktivierung des Erregers sollte überprüft werden, ob die vergleichsweise geringe Widerstandsfähigkeit des Virus gegenüber einem aeroben mikrobiellen Abbau genutzt werden kann, um speziell für TMV eine Bewertung des Inaktivierungserfolges auf Basis der Rottedauer vornehmen zu können.

2 Stand des Wissens zur Komposthygienisierung - Nachweismöglichkeiten und Bedeutung für die Kompostanwendung

Die im Rahmen dieser Untersuchung behandelten Fragestellungen zum Thema Komposthygiene und deren Nachweismöglichkeiten wurden auf einem Wissensstand bearbeitet, der im folgenden Kapitel allgemein dargestellt wird. Auf der Grundlage des vorhandenen Wissens wurden fünf unterschiedliche Fragestellungen erarbeitet, die in den Kapiteln 4 bis 8 behandelt werden. Zur Einleitung dieser Kapitel werden weitere Literaturhinweise gegeben, die dem Verständnis der jeweiligen Fragestellung dienen, dem Leser einen besseren Einstieg in die jeweilige Thematik ermöglichen und einen Quereinstieg in die spezifischen Fragestellungen erlauben.

2.1 Einflussfaktoren für die Abtötung von Pathogenen und Unkrautsamen

Der Kompostierungsprozess ist eine Abfallbehandlungsmethode, durch die die Abtötung von Pathogenen und Unkrautsamen beschleunigt wird. Unter den Milieubedingungen der Rotte besitzen nur einige wenige Humanpathogene, wie beispielsweise Salmonellen, die Möglichkeit, sich unter bestimmten Voraussetzungen zu vermehren. Phytopathogene, die zur Vermehrung auf Wirtspflanzen angewiesen sind, besitzen im Rahmen der Bioabfallkompostierung keine Reproduktionsmöglichkeit. Auch eine Vermehrung des Unkrautsamenpotenzials, das eine Samen Neubildung voraussetzt, ist nicht möglich. Somit sind die meisten Pathogene und Samen unter Rottebedingungen einem sukzessiven Abtötungsprozess ausgesetzt, der durch unterschiedliche physikalische, chemische und mikrobielle Rotteeinflüsse gefördert wird.

Im Zusammenhang mit der Kompostierung werden drei wichtige Faktoren genannt, die den Hygienisierungsprozess maßgeblich fördern:

- Abtötung durch Wärmeeinwirkung, für die häufig synonym auch der Begriff Temperatureinwirkung verwendet wird;
- mikrobielle Inaktivierung, worunter die mikrobielle Zersetzung zu verstehen ist;
- Einfluss toxischer Substanzen, die bei der Umsetzung von organischer Substanz gebildet werden.

In allen Publikationen, die sich mit dem Thema Hygiene bei der Kompostierung und Vergärung beschäftigen, wird der Wärmeeinfluss als der bei weitem wichtigste Hygienisierungsfaktor genannt (z. B. GLASSER 1953, OESTERLE et al. 1963, MENKE und GROSSMANN 1971, VOGTMANN et al. 1979, YLIMÄKI et al. 1983, BOLLEN 1985, HOITINK und FAHY 1986, STRAUCH und MENKE 1992, POLLMANN 1996, CHRISTENSEN et al. 2001).

Auf die Wirkung anderer Einflussfaktoren wird häufig indirekt geschlossen, wenn eine Abtötung von Pathogenen und Unkrautsamen beobachtet wurde, ohne dass dies allein durch die Einwirkung von Wärme zu erklären ist. YUEN und RAABE (1984) haben festgestellt, dass Sklerotien von *Sclerotium rolfsii*, die unterhalb ihrer Letalitätsgrenze abgetötet wurden, von Bakterien besiedelt waren, die pilztoxische Substanzen produzieren. Solche An-

tagonisten besiedeln Kompost nach HOITINK und FAHY (1986) besonders im mesophilen Temperaturbereich. HOITINK und FAHY (1986) nennen als weiteren Inaktivierungsfaktor die Wirkung von Abbauprodukten, die von Saprophyten bei der Zersetzung von organischer Substanz gebildet werden (Polyphenole, Tannine, organische Säuren, Saponine). Untersuchungen von IDELMANN et al. (1998) haben gezeigt, dass das Tabak-Mosaik-Virus bei der Eigenkompostierung und bei der Flächenkompostierung inaktiviert wird, ohne dass letale Temperaturen vorgeherrscht haben. Sie vermuteten, dass ein mikrobieller Abbau der Viren durch Mikroorganismen stattgefunden hat, die das Viruseiweiß als Proteinquelle genutzt haben. Nach HURST et al. (1980) spielen aerobe Mikroorganismen beim Virusabbau im Boden eine Rolle. Versuche von CHEO (1980) ergaben, dass dieser Abbau insbesondere durch aerobe Bakterien erfolgt.

Bezüglich der Einflussfaktoren, die bei der Kompostierung und Vergärung die Hygienisierung fördern, muss zwischen selektiven und nicht selektiven Inaktivierungsfaktoren unterschieden werden. Der einzige nicht selektive Inaktivierungsfaktor ist die Wärme. Der Wärmeeinfluss bewirkt in Kombination mit der Dauer der Einwirkung (Temperatur-Zeit-Beziehung) und dem Einfluss der Feuchtigkeit ab einer bestimmten Stufe die Abtötung von Pathogenen und Unkrautsamen. Dabei können die Wärmeverträglichkeiten der einzelnen Pathogene und Samen sehr unterschiedlich voneinander sein. Hinsichtlich des Feuchtigkeitseinflusses ist der Wassergehalt der Pathogene und Samen entscheidend. Wobei insbesondere Samen aufgrund ihres Wasseranreicherungsvermögens höhere Wassergehalte besitzen können als das zu kompostierende Substrat aufweist, im dem sie sich befinden.

Alle anderen Inaktivierungsfaktoren des Rotteprozesses besitzen eine mehr oder weniger stark ausgeprägte selektive Wirkung auf einzelne Organismen. In Einzelfällen können sie die Abtötung fördern oder herbeiführen, während andere Pathogene und Unkrautsamen von der gleichen Wirkung nicht nachhaltig geschädigt werden. Im Hinblick auf einen allgemeinen Hygienennachweis bei der Kompostierung muss die Wirkung selektiver Hygienisierungsfaktoren ausgeschlossen sein, da sie keine Verallgemeinerungen erlauben. Im individuellen Fall, z. B. bei der Bewertung der Inaktivierung des Tabak-Mosaik-Virus, können auch spezifische Einflussgrößen herangezogen werden, wenn die wärmebedingte Hygienisierung nicht nachgewiesen werden kann. Es setzt jedoch voraus, dass der hygienisierende Einfluss berechenbar und prognostizierbar ist, damit erregerspezifische Anforderungen an die Hygienisierung festgelegt und überwacht werden können.

2.2 Abtötung durch Wärme

Die hygienisierende Wirkung der Wärme wird aufgrund der nicht selektiven und kalkulierbaren Wirkungsweise in vielen Bereichen zur Hygienisierung eingesetzt. Zur Bekämpfung von bodenbürtigen Phytopathogenen werden Gewächshausböden gedämpft. Zur Abtötung von samenbürtigen Phytopathogenen wird im ökologischen Landbau die Methode der Heißwasserbeize genutzt (SPIESS 1999). Zum Konservieren werden Lebensmittel pasteurisiert und im medizinischen Bereich wird Wärme zur Sterilisierung genutzt (PRECHT et al. 1955).

Die zur vollständigen Abtötung eines Pathogens oder Unkrautsamens erforderliche Zeit ist abhängig von der Dauer der Wärmebehandlung, der dabei wirksamen Temperatur und der

Feuchtigkeit der Pathogene und Samen bzw. des Substrats, in dem sie sich während der Wärmebehandlung befinden. Unabhängig von der Höhe ihrer Wärmeverträglichkeit kann die Temperaturabhängigkeit der Überlebensdauer als Gleichung erster Ordnung (Exponentialfunktion) beschrieben werden. Nach PRECHT et al. (1955) verringert sich die Überlebensdauer bei linear zunehmender Temperatur exponentiell. Hiervon abweichend ist bei Populationen mit unterschiedlich wärmeverträglichen Keimen (heterogener Wärmeverträglichkeit) eine sich bei zunehmender Temperatur nicht so stark verringernde Überlebensdauer zu beobachten. Bei Organismen, die größer als Bakterien sind (Mehrzeller), ist häufig eine, im Vergleich zur Gleichung erster Ordnung, stärker abnehmende Überlebensdauer festzustellen.

Bei abnehmender Feuchtigkeit der Pathogene und Samen ist eine Verlängerung der Überlebensdauer zu beobachten (PRECHT et al. 1955, KIRBY und DAVIS 1990). Von POLLMANN (1996) ermittelte Daten zur Überlebensdauer von Tomatensamen in Abhängigkeit von ihrem Samenfeuchtegehalt deuten darauf hin, dass der Feuchtigkeitseinfluss auf die Abtötungsgeschwindigkeit ebenfalls einer Funktion erster Ordnung folgt. Dabei steigt die Überlebensdauer bei linear abnehmendem Feuchtigkeitsgehalt der Samen exponentiell an. Bei der Kompostierung ist zwischen der Substratfeuchtigkeit und der Feuchtigkeit von Pathogenen und Unkrautsamen zu differenzieren. Es ist zwar eine Korrelation zwischen der Substrat- und Organismenfeuchtigkeit zu vermuten. Bei Samen ist jedoch zu berücksichtigen, dass sie beim Quellen Wasser aus ihrer Umgebung anreichern und deshalb deutlich höhere Wassergehalte aufweisen können als das Rottegut besitzt, in dem sie sich befinden.

Die unspezifische Hygienisierungswirkung der Wärme ist wahrscheinlich damit zu begründen, dass Zellfunktionen geschädigt werden, die für alle Organismen gleichermaßen lebenswichtig sind. Durch die Einwirkung der Temperatur werden insbesondere die an Eiweißstrukturen gebundenen Zellfunktionen gestört. Der Einfluss zu hohen Temperaturen bewirkt eine irreversible Schädigung der Sekundär- und Tertiärstruktur von Proteinen, die auch Viren betrifft. Bei Lebewesen werden Enzyme und Hormone inaktiviert und zerstört (BAKER 1962). Viele Stoffwechselfunktionen, die an Eiweißstrukturen geknüpft sind, können nicht mehr erfüllt werden (PRECHT et al. 1955). Das Genom der Organismen sowie deren Plasma und Zellmembrane werden geschädigt, wodurch das Entwicklungs- und Reproduktionsvermögen (Wachstum und Fortpflanzung) der Organismen zunächst beeinträchtigt und letztendlich gestoppt wird (SCHLEGEL 1992).

2.3 Aussagekraft vorliegender Untersuchungen zur Charakterisierung exakter Abtötungszeitpunkte durch Temperatur-Zeit-Wirkungen

Seit den Anfängen der Kompostierung wurden Versuche durchgeführt, um die Abtötung und Überlebensmöglichkeit von Pathogenen und Unkrautsamen durch den Rotteprozess und später auch durch den Vergärungsprozess beurteilen zu können. Fast alle Versuche folgten einem Schema, bei dem Proben von Erregern und/oder Unkrautsamen in Kompostmieten oder Gärreaktoren eingelegt und verfahrensüblich behandelt wurden. Im Anschluss an die Behandlung wurde überprüft, ob eine Abtötung der Proben erreicht wurde.

In vielen Versuchen wurden begleitende Temperaturmessungen vorgenommen, um den Einfluss der Miettemperatur auf die Hygienisierung abschätzen zu können.

In einem Übersichtsartikel haben NOBLE und ROBERTS (2003) Daten zahlreicher Untersuchungen zur Abtötung von Phytopathogenen zusammengestellt. Die umfangreichsten Untersuchungen wurden von GLASSER (1953), MENKE und GROSSMANN (1971), BOLLEN (1985), LOPEZ-REAL und FOSTER (1985), BRUNS und GOTTSCHALL (1988) sowie BOLLEN et al. (1989) durchgeführt. Aussagen zu exakten Temperatur-Zeit-Wirkungen, die zur Abtötung der behandelten Proben geführt haben, sind aufgrund des gewählten Versuchsansatzes nicht möglich, da

- die letale Wirkung der Wärme aufgrund schwankender Rottetemperaturen nicht bewertet werden kann;
- die genauen Abtötungszeitpunkte der Proben nicht ermittelt worden sind, da die Beprobungszeitpunkte zu weitmaschig waren bzw. nur das Gesamtergebnis der Hygienisierung am Ende der Rotte festgestellt worden ist.

Aufgrund unterschiedlicher Temperaturprofile sind die Ergebnisse der unter Praxisbedingungen gewonnenen Daten nicht miteinander vergleichbar. Die Ergebnisse solcher Untersuchungen erlauben einen Vergleich der relativen Wärmeverträglichkeit von parallel behandelten Erregerproben. Sie ermöglichen somit ein Ranking der behandelten Proben entsprechend ihrer relativen Wärmeverträglichkeit. Hierzu eignen sich insbesondere Proben, die in weniger stark erwärmte Zonen der Kompostmieten eingelegt worden sind und deren Abtötung aufgrund eines nur mäßigen Wärmeeinflusses im Verlauf der Rotte beobachtet werden konnte.

Als Gesamtergebnis der durchgeführten Praxisuntersuchungen kann festgehalten werden, dass Pathogene und Unkrautsamen bei der Kompostierung abgetötet werden, wenn eine gute Erwärmung des Rottegutes erreicht wird. Von den Abtötungsergebnissen der zitierten Untersuchungen wurden die Temperaturanforderungen abgeleitet, die die BioAbfV zum Nachweis der Hygienisierung an den Rotteprozess stellt (s. Kapitel 2.4).

Standardisierte Laborversuche zur Bestimmung der Wärmeverträglichkeit von Pathogenen wurden von PRICE (1933) durchgeführt, der die Inaktivierungsdauer des Tabak-Mosaik-Virus bei unterschiedlichen Temperaturen in wässriger Lösung untersucht hat. MARCINISZYN (1994) hat einen Versuchsansatz gewählt, der einen näheren Bezug zur Kompostierung besitzt. Sie hat die Abtötungsdauer von *P. brassicae* in Abhängigkeit von der Temperatur und der Feuchtigkeit des Umgebungsmaterials untersucht. Noch exaktere Laboruntersuchungen wurden von POLLMANN (1996) zur Bestimmung der Wärmeverträglichkeit von Tomaten- und Gemüsesamen durchgeführt. Dabei wurde neben konstant gehaltenen Temperaturen auch der Wassergehalt der Samen exakt eingestellt. In jüngeren Untersuchungen wurde von COVENTRY et al. (2002) ein Versuchsansatz entwickelt, mit dem die Autoren die Abtötungsdauer von Pathogenen in belüfteten Kleinstrotteversuchen bei konstanten Temperaturen ermittelt haben. Die Temperaturkonstanz wurde durch Verwendung von zwangsbelüfteten Glasgefäßen (2 Liter) erreicht, deren Wärme durch Verwendung eines Wasserbades geregelt wurde. Aufgrund der potenziellen Beeinflussung der Abtötung durch spezifische Rotteeinflüsse kann dieser Versuchsansatz nur bedingt zur

Definition von erforderlichen Temperatur-Zeit-Anforderungen für die Abtötung von Pathogenen verwendet werden, da die gemessene Abtötungsdauer möglicherweise durch andere Rottefaktoren verkürzt worden ist. Die Daten sind allenfalls für nachweislich rottersistente Pathogene zu verwerten.

2.4 Zur Sicherheit des Hygieneüberwachungssystems der BioAbfV

Die BioAbfV schreibt vor: „Entsorgungsträger, Erzeuger und Besitzer haben Bioabfälle vor einer Ausbringung oder Herstellung von Gemischen einer Behandlung zuzuführen, welche die seuchen- und phytohygienische Unbedenklichkeit gewährleistet“ (§ 3, Abs.1, ANONYM 1998a). Im maßgeblichen Anhang 2 der BioAbfV werden drei Anforderungen beschrieben, die zum Hygienisierungsnachweis von den Nachweispflichtigen zu erbringen sind.

Erstens müssen Kompostwerke bei der Inbetriebnahme ihr grundsätzliches Hygienisierungspotenzial unter Beweis stellen. Die Bewertung erfolgt durch die Einlage von vier Indikatororganismen in die Kompostmieten. Die Leistungsfähigkeit der Anlagen im Hinblick auf die Hygienisierung wird durch die Reaktion (Überleben/Abtötung) der Indikatororganismen auf den Rotteprozess bewertet. In Tab. 1 werden die Indikatororganismen der BioAbfV, deren Funktion und die einzuhaltenden Grenzwerte genannt.

Tab. 1: Indikatororganismen der BioAbfV

Indikatororganismus	Grenzwert	Funktion
<i>Plasmodiophora brassicae</i> (<i>P. brassicae</i>)	Befallsindex < 0,5	Indikation für die wärmebedingte Abtötung von Phytopathogenen
Tabak-Mosaik-Virus (TMV)	8 Läsionen pro Blatt	Indikation der Inaktivierung von Viren
Tomatensamen	2 % keimfähige Samen	Indikation der Abtötung von Unkrautsamen
<i>Salmonella senftenberg</i> ₇₇₅ (<i>S. senftenberg</i>)	Keine Nachweisbarkeit	Indikation der Abtötung von Human- und Tierpathogenen

Die Sicherheit, die mit dieser Untersuchung verbunden ist, darf nicht überbewertet werden, da

- nur zwei Untersuchungsgänge je Anlage vorgesehen sind;
- viele Anlagen überhaupt keine Prüfung durchgeführt haben, da sie eine Anerkennung über den Weg der pauschalen Baumusterprüfung bekommen haben;
- die Anerkennung der Inbetriebnahmeprüfung über das Baumuster fragwürdig ist, da nach Untersuchungen von MARTENS (2004) bei baumustergleichen Anlagen in der Praxis mitunter sehr unterschiedliche Rotteergebnisse bzw. Rottetemperaturen zu beobachten sind, wodurch auch unterschiedliche Hygienisierungsgrade zu erwarten sind;

- der Praxisbetrieb von Anlagen, der durch Mindestrottezeiten, Umsetzintervalle etc. gekennzeichnet ist, ebenfalls nach Untersuchungen von MARTENS (2004) häufig nicht mit dem des geprüften Baumusters übereinstimmt;
- die Aussagekraft des Testsystems selbst zu hinterfragen ist, da die Verlässlichkeit der vorgeschriebenen Indikatororganismen infrage gestellt werden muss. Insbesondere die Widerstandsfähigkeit von *P. brassicae* scheint zu variabel für ein Kontrollsystem zu sein (SCHÜLER et al. 1996, IDELMANN et al. 1998), und die Widerstandsfähigkeit von Salmonellen ist zu gering, um die Abtötung von besonders widerstandsfähigen Human- und Tierpathogenen anzuzeigen (GOLUEKE 1982, BREITENFELDT et al. 1998, PHILIPP und BÖHM 1997, BÖHM und PHILIPP 2003).

Zweitens schreibt die BioAbfV vor, dass in Abhängigkeit vom Rottesystem Mindesttemperaturen über einen vorgeschriebenen Zeitraum im gesamten Rottekörper einzuhalten und zu dokumentieren sind. Für das Verfahren der Mietenkompostierung wird eine Temperatur von 55 °C über einen Zeitraum von zwei Wochen oder von 65 °C für eine Woche gefordert. Bei geschlossenen Anlagen wird eine Temperatur von 60 °C über einen Zeitraum von einer Woche gefordert. Nach MARTENS (2004) werden die Anforderungen häufig nicht erfüllt. Hierbei ist insbesondere auch die Vernachlässigung der Dokumentationspflicht betroffen. Da das Verfahren keine Auswertung der Daten vorschreibt, kann es keine Sicherungsfunktionen übernehmen, durch die die Vermarktung von nicht hygienisierten Komposte vermieden werden kann. Die aufgezeichneten Daten, die für einen Zeitraum von fünf Jahren vorgehalten werden müssen, können maximal im Streitfall der Beweissicherung dienen.

Drittens sind regelmäßige Endproduktkontrollen auf Salmonellen und austriebsfähige Pflanzenteile durchzuführen, wobei das Untersuchungsintervall vom Anlagendurchsatz abhängig ist. Da Samen mit einer großen Regelmäßigkeit im Rotteausgangsmaterial enthalten sind, besteht bei diesem Testverfahren die größte Wahrscheinlichkeit, dass Schwachstellen bei der Hygienisierung aufgedeckt werden. Eine chargengenaue Bewertung der Hygienisierung kann jedoch durch die Endproduktkontrolle nicht erreicht werden, da hierzu einerseits nur geringe Kompostmengen überprüft werden können (3 Liter je Probe) und andererseits nur eine geringe Anzahl von Proben zu analysieren ist. Bei einem Anlagendurchsatz von 6.500 Mg sind 12 Proben pro Jahr zu untersuchen. Bei höheren Durchsatzmengen ist eine zusätzliche Probe je 3.000 Mg untersuchen zu lassen.

2.5 Bedeutung des Hygienenachweises für die Kompostanwendung

Das Recyclingsystem der getrennten Bioabfallsammlung dient einer nachhaltigen Landwirtschaft, die derzeit durch eine negative Humusbilanz, zunehmende Bodenversauerung und jährlich auszugleichende Nährstoffentzüge gekennzeichnet ist. Eine Rückführung von Kompost verringert die genannten Probleme (KEHRES 2005). Die Vorteile, die eine intensive Kompostwirtschaft für die Umwelt besitzt, können aber nur nachhaltig genutzt werden, wenn bei der Rückführung von Komposten sichergestellt ist, dass hierdurch keine neuen Probleme entstehen. Im Gegensatz zu den wertmindernden Inhaltsstoffen von Kompost (Schwermetalle und Störstoffe), deren Gehalte sowohl durch obligatorische Kon-

trolluntersuchungen gemäß BioAbfV (ANONYM 1998a, KEHRES 1999) als auch durch freiwillige Qualitätskontrollen (BIDLINGMAIER 1992, KEHRES 1994) der Bundesgütegemeinschaft Kompost (BGK) zuverlässig überwacht werden, muss die Zuverlässigkeit der Hygieneüberwachung aus oben genannten Gründen hinterfragt werden.

Unsicherheiten bezüglich der Komposthygiene wirken sich negativ auf die Kompostvermarktung aus. Eine von NOBLE et al. (2004) durchgeführte Befragung von Gartenbaubetrieben in England hat ergeben, dass die größten Bedenken gegenüber einer Kompostanwendung durch die potenzielle Übertragungsmöglichkeit von Pathogenen entstehen. Zwar ist die Einschätzung englischer Gartenbaubetriebe aufgrund der jüngsten BSE- und Seuchenprobleme nicht mit der Einschätzung deutscher Landwirte gleichzusetzen, es zeigt jedoch den Schwachpunkt eines Systems, das bislang keinen sicheren Hygienenachweis erbringen kann. Durch einen verlässlichen Hygienenachweis können zwei wichtige Ziele erreicht werden. Erstens wird dem Problem begegnet, dass die getrennte Bioabfallsammlung durch Hygienediskussionen mangels stichhaltiger Argumente infolge grassierender Seuchen infrage gestellt wird. Jüngste Probleme in einigen EU-Staaten mit BSE und der Maul- und Klauenseuche haben im Bereich der getrennten Bioabfallsammlung und -kompostierung zu einer kontroversen Hygienediskussion bei der Verabschiedung einer Verordnung geführt, in der die europäischen Hygienevorschriften zur Behandlung von tierischen Nebenprodukten, die nicht für den menschlichen Verzehr bestimmt sind (ANONYM 2002), geregelt werden. Zweitens eröffnet ein sicherer Hygienenachweis neue Kunden und neue Märkte für den Kompostabsatz (NOBLE et al. 2004).

3 Material und Methoden

Im Rahmen der durchgeführten Arbeit wurden schwerpunktmäßig Versuche zur Wärmeverträglichkeit von Pathogenen und Unkrautsamen durchgeführt. Dabei wurden die von MARCINISZYN (1994) und POLLMANN (1996) gewählten Versuchsansätze, die die Abtötung von Pathogenen und Unkrautsamen nicht nur unter dem Einfluss von Temperatur und Zeit, sondern auch unter dem zusätzlichen Einfluss der Feuchtigkeit betrachtet haben, aufgegriffen und methodisch weiterentwickelt. Die behandelten Arbeitsschwerpunkte, die formulierten Zielsetzungen und die verwendeten Untersuchungsmethoden werden in Tab. 2 bis Tab. 4 skizziert.

Tab. 2: Untersuchungsprogramm - Wärmeverträglichkeit von Phytopathogenen und Unkrautsamen

Arbeitsschwerpunkt	Methode	Ziel
Bewertung der Wärmeverträglichkeit von <i>P. brassicae</i> (Kap. 4.2)	Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen (Kap. 3.2.1)	Überprüfung und Optimierung des u. a. auf <i>P. brassicae</i> basierten Hygienetestsystems der BioAbfV
Bewertung der Wärmeverträglichkeit von phytopathogenen Protisten und Pilzen (Kap. 4.3)	Literaturdatenauswertung und Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen (Kap. 3.2.2 - 3.2.3)	Definition der Anforderungen für die wärmebedingte Hygienisierung von Protisten und Pilzen
Bewertung der Wärmeverträglichkeit von Unkrautsamen (Kap. 5)	Literaturdatenauswertung und Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen (Kap. 3.2.4)	Definition der Anforderungen für die wärmebedingte Hygienisierung von Unkrautsamen
Bestimmung der Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen bei unterschiedlichen Feuchtegehalten der Samen (SFG) (Kap. 6)	Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen (Kap. 3.2.5)	Nachweis der Abtötung der wärmeverträglichsten Pathogene und Unkrautsamen auf Basis konditionierter Tomatensamen

Tab. 3: Untersuchungsprogramm - Prognosemodell zur Hygienebewertung auf Basis von Temperaturdaten

Arbeitsschwerpunkt	Methode	Ziel
Entwicklung eines Prognosemodells zur Berechnung der Abtötungsdauer von Tomatensamen in Abhängigkeit von Temperatur, Zeit und SFG der Samen (Kap. 7.2)	Regressionsanalyse auf Basis der durch eigene Untersuchungen ergänzten Datenbasis von POLLMANN (1996) (Kap. 3.4)	Prognose der Abtötungsdauer von Tomatensamen auf Basis von (nicht konstanten) Temperaturdaten bei unterschiedlichen Feuchtegehalten der Samen
Überprüfung der Genauigkeit des entwickelten Prognosemodells (Hygienisierungsgleichung) bei nicht konstanten Temperaturen (Kap. 7.2)	Ermittlung der Abtötungszeitpunkte von Tomatensamen mit unterschiedlichem SFG bei stufenweise steigender Temperatur (Kap. 3.2.5.4)	Beurteilung der Genauigkeit des Prognosemodells durch Vergleich von empirisch bestimmten und berechneten Zeitpunkten der Abtötung von Tomatensamen
Berechnung von Samenfeuchtegehalten, bei denen Tomatensamen eine äquivalente Wärmeverträglichkeit besitzen wie Pathogene und Unkrautsamen ($SFG_{\text{äquivalent}}$) (Kap. 7.3)	Mathematischer Ansatz durch Umstellung der Hygienisierungsgleichung	1.) Ableitung der Anforderungen, die an eine wärmebedingte Hygienisierung zu stellen sind 2.) Einfügen dieser Anforderungen als Konstante in die Hygienisierungsgleichung

Tab. 4: Untersuchungsprogramm - Inaktivierung des Tabak-Mosaik-Virus

Arbeitsschwerpunkt	Methode	Ziel
Bestimmung der durchschnittlichen Läsionsbildungsrate (pro Blatt) bei TMV-Applikation gemäß BioAbfV auf Nachweispflanzen (Kap. 8.2)	Applikation von TMV-Suspensionen auf Tabakblätter (Halbblattmethode) (Kap. 3.2.6.2)	Herleitung eines alternativen Grenzwertes für die Halbblattmethode, der den Anforderungen der BioAbfV entspricht.
Bestimmung der Wärmeverträglichkeit des TMV (Kap. 8.3)	Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen (Kap. 3.2.6.3)	Definition von Anforderungen für die wärmebedingte TMV-Inaktivierung
Bestimmung der Rotteresistenz des TMV (Kap. 8.4)	Rotteversuche (Kap. 3.3)	Definition von Anforderungen für die rottebedingte Inaktivierung des TMV

3.1 Allgemeine Angaben zu Methoden der Wärmebehandlung und Versuchsdurchführung

Zur reproduzierbaren Durchführung von Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen wurden Versuchsansätze entwickelt, mit denen sichergestellt wurde, dass die relevanten Einflussfaktoren für die Inaktivierung von Organismen zielgenau eingestellt und versuchsübergreifend konstant gehalten wurden, um eine homogene Wärmeverteilung und schnelle Wärmeübertragung zu bewirken. Durch die Verwendung eines Referenzthermometers wurden exakt definierte und reproduzierbare Temperatureinstellungen vorgenommen.

Aufgrund der schnelleren Wärmeübertragung und der gleichmäßigeren Wärmeverteilung, was insbesondere bei Versuchen mit kurzen Reaktionszeiten von Bedeutung ist, wurden die Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen im Wasserbad durchgeführt. Das Wasser wurde mittels Umwälzpumpe ständig durchmischt, um inhomogene Wärmeverteilungen zu vermeiden. In Abhängigkeit vom Probenumfang wurde ein 50 l Wasserbad mit Thermostat U3 oder/und ein 100 l Wasserbad mit Thermostat MD der Firma Julabo (Seelbach) verwendet.

Versuche mit langer Behandlungsdauer, bei denen die Geschwindigkeit der Wärmeübertragung von untergeordneter Bedeutung war, wurden in Brutschränken der Firma Heraeus (Typ B 5042 E) durchgeführt.

3.1.1 Methoden der Temperaturmessung

Als Referenzthermometer wurde für alle Wasserbadversuche ein auf 0,1 °C geeichtes Quecksilberthermometer verwendet. Bei Versuchsansätzen, bei denen das Referenzthermometer nicht eingesetzt werden konnte (Rotteversuche im Labormaßstab und Versuche im Brutschrank), erfolgte die Temperaturkontrolle über einen EDV-Datenlogger der Firma Hoffmann (Heidelberg) mittels Temperaturfühlern des Typs Pt 100. Bei der Verwendung von Temperaturfühlern, deren Messgenauigkeit mit ± 1 °C angegeben war, wurde die Anzeige jedes Fühlers zuvor mit Hilfe des Referenzthermometers kalibriert. Zur Bewertung des Temperatureinflusses bei Rotteversuchen wurden die kalibrierten Temperaturfühler in unmittelbarer Nähe der Proben platziert, da innerhalb des Rottekörpers Temperaturinhomogenitäten nicht gänzlich ausgeschlossen werden konnten.

Zur Erfassung der Mietentemperatur innerhalb einer großtechnischen Tafelmiete wurden drahtlose Temperaturmessgeräte des Typs TINYTAG® EXTRA TGX-3080 der Firma Ge-

mini (West Sussex, UK) verwendet. Das Gerät verfügt über einen Datenspeicher, der nach Abschluss der Behandlung ausgelesen wurde. Die Messgeräte wurden auf ein Messintervall von 10 Minuten eingestellt. Zur späteren Berechnung der wärmebedingten Hygienisierung wurden die aufgezeichneten Daten zu Stundenmittelwerten zusammengefasst. Innerhalb der Tafelmiete wurden die charakteristischen Rottezonen (Rand, Kern, Basis) untersucht. Hierzu wurden die Messgeräte zum Schutz vor Wasserdampf in Schraubdeckelgläser eingebettet, die mit Trockenperlen ausgestattet waren. Um Glas und Messgerät vor mechanischen Beschädigungen zu schützen, wurden die Messeinheiten mit dickwandigen Kunststoffhülsen ummantelt. Um den Temperaturzugang zu den Messeinheiten nicht zu behindern, wurden die Stirnflächen der Hülsen nicht verschlossen, lediglich zur Fixierung der Messeinheit mit rottebeständigen Paketbändern verschnürt. Während des Rotteprozesses wurden die Messeinheiten vor dem Umsetzer aus der Miete entnommen und hinter dem Umsetzer wieder in die entsprechende Rottezone eingelegt.

3.1.2 Methoden der Temperaturführung

Zur Bestimmung der wärmeabhängigen Inaktivierung von Pathogenen und Unkrautsamen wurden zwei unterschiedliche Methoden der Temperaturführung verwendet. Wenn ein direkter Vergleich der Ergebnisse mit anderen, in der Literatur beschriebenen Ergebnissen oder eine Ergänzung vorhandener Daten beabsichtigt war, wurden Versuche mit isothermer Temperaturführung durchgeführt. Die isotherme Temperaturführung ist bislang in allen Laborversuchen zur Bestimmung der temperaturabhängigen Letalitätsschwelle von Pathogenen und Unkrautsamen verwendet worden (PRICE 1933, GLASSER 1953, SHINGH et al. 1985, MARCINISZYN 1994, POLLMANN 1996, BREITENFELD et al. 1998).

Zur schnellen Einordnung der relativen Wärmeverträglichkeit von Testorganismen, deren Wärmeverträglichkeit bislang nicht bekannt war, wurden Versuchsansätze mit progressiver Temperaturführung erprobt. Als Anfangstemperatur dieser Testreihen wurden 38 °C ausgewählt, da diese Temperatur für Pathogene und Samen, die im Hinblick auf die Komposthygiene von Bedeutung sind, keine kurzfristige Abtötung bewirkt. Soweit nicht anders angegeben, wurde die Temperatur in einem Zeitintervall von jeweils 12 Stunden kontinuierlich um +2 °C angehoben. Dabei fand vor jeder Temperaturerhöhung eine Probenentnahme zur Bestimmung des Inaktivierungsfortschrittes statt.

Durch die progressive Temperaturführung hat die Alterung der Proben aufgrund des wachsenden Einflusses der Wärme im Verlauf der Untersuchung eine zunehmende Beschleunigung erfahren. Durch Ausnutzung des logarithmischen Zusammenhangs zwischen der Höhe der Temperatur und der Abtötungsdauer, die für Bakterien (BIGELOW 1920), Viren (PRICE 1933) und Samen (ELLIS und ROBERTS 1980a, 1981) beschrieben ist, wurde beabsichtigt, Wärmeverträglichkeit von Pathogenen und Samen in einem Schnelltestverfahren durch Temperatursteigerungsversuche abzuschätzen. Die Methode der progressiven Temperaturführung wurde insbesondere bei Versuchen mit *P. brassicae* angewendet, um einen großen Probendurchsatz zum Ausfindigmachen besonders widerstandsfähiger Proben des Erregers realisieren zu können. Die Schnelltestmethode wurde auch verwendet, um unterschiedliche Pathogene und Unkrautsamen hinsichtlich ihrer relativen Wär-

meverträglichkeit miteinander zu vergleichen und hochwärmeverträgliche Pathogene und Samen ausfindig zu machen.

3.1.3 Einstellung des Wassergehaltes der Proben

Da der Wassergehalt von Pathogenen und Unkrautsamen nach PRECHT et al. (1955) und POLLMANN (1996) einen entscheidenden Einfluss auf deren Wärmeverträglichkeit besitzt, wurden zwei unterschiedliche Versuchsansätze verfolgt, um diesen Einfluss bewerten zu können:

- **Indirekte Wirkung der Feuchtigkeit** - Einlage der Testorganismen in ein Trägersubstrat mit definiertem Wassergehalt zur Simulation von Rottebedingungen, bei denen die Hygienisierung in Abhängigkeit von der Feuchtigkeit des Rottegutes beeinflusst wird.
- **Direkte Wirkung der Feuchtigkeit** - Einstellung der Testorganismen auf einen definierten Wassergehalt.

Der Versuchsansatz zur Bestimmung des indirekten Einflusses der Feuchtigkeit zielte darauf ab, die Bedingungen eines Rotteprozesses zu simulieren. Hierzu wurden die Testorganismen in Trägersubstrat mit definiertem Feuchtigkeitsgehalt eingelegt und mit Wärme behandelt. Zur Simulation suboptimaler Rottebedingungen, bei denen die Wärmeübertragung aufgrund von Trockenheit gehemmt ist, wurde das Trägersubstrat in den meisten Versuchen auf einen Wassergehalt von 30 % eingestellt. Als Trägersubstrat wurde, wie bei Untersuchungen von MARCINISZYN (1994) und BREITENFELD et al. (1998), ungedüngte Einheitserde < 8 mm (EE0) verwendet. Zur Bestimmung der Wärmeverträglichkeiten von Unkrautsamen wurde ausgereifter Kompost < 8 mm aus der Eigenkompostierung gleichzeitig als Trägersubstrat und Samenquelle (Untersuchungsobjekt) verwendet. Zur Bestimmung des direkten Einflusses der Feuchtigkeit auf den Abtötungsprozess wurde bei *P. brassicae* und Tomatensamen der Wassergehalt auch im Gallenmaterial bzw. im Samenkorn eingestellt und eine Behandlung ohne Einbettung in ein Trägersubstrat vorgenommen.

3.2 Spezifische Angaben zu Methoden der Wärmebehandlung einzelner Phytopathogene und Unkrautsamen

3.2.1 Untersuchungsmethoden bei *Plasmodiophora brassicae* (*P. brassicae*)

Erregermaterial von *P. brassicae* kann im Freiland im Herbst von infizierten Kohlkulturen gewonnen werden. Der Ausbruch der Krankheit - und somit die Verfügbarkeit von Erregermaterial - ist stark vom Witterungseinfluss und vom Wassergehalt des Bodens während der Jungpflanzenentwicklung abhängig (MATTUSCH 1980). Deshalb ist die Verfügbarkeit des Erregermaterials begrenzt. Routineuntersuchungen unter Verwendung von *P. brassicae* erfordern deshalb eine Bevorratung des Infektionsmaterials bei einer Temperatur von -25 °C. In der vorliegenden Untersuchung wurden für erste Untersuchungen Proben aus Lagerbeständen des FG Ökologischer Landbau der Universität Kassel verwendet, die aufgrund fehlender Deklaration nicht näher charakterisiert werden konnten. Um die Beeinflussung der Wärmeverträglichkeit in Abhängigkeit von äußeren Bedingungen der Entwicklung

des Pilzes bewerten zu können, wurden für Nachuntersuchungen Erregerproben von verschiedenen Standorten und unterschiedlichen Kulturen gewonnen.

3.2.1.1 Bestimmung der Infektiösität von *P. brassicae*

Die Bestimmung der Infektiösität erfolgte im Rahmen eines Biotestes, der in Anlehnung an die von BRUNS et al. (1990, 1994) weiterentwickelte Methode nach KNOLL et al. (1980) und BUCZACKI et al. (1975) durchgeführt wurde. Zur Erhöhung der Nachweissicherheit wurden bei der weiterentwickelten Methode eine höhere Menge an Infektionsmaterial (1,0 statt 0,4 Liter je Topf) und eine höhere Anzahl an Nachweispflanzen (12 statt 4 Pflanzen je Topf) verwendet. Hierdurch sollten einerseits die zum Teil hohen Schwankungen im Erkrankungsgrad der einzelnen Pflanzen eines Topfes zuverlässiger gemittelt und andererseits das Ausfallen (Absterben) von Nachweispflanzen besser abgesichert werden.

Die zu untersuchenden Proben wurden in je einem Liter eines sterilisierten Sand-Torf-Substrates (pH 6) eingemischt, das zuvor mittels Bodendämpfer sterilisiert wurde (5 Std. bei 80 °C). Das Gemisch wurde in 1,2 Liter fassende Kunststofföpfe überführt, mit 12 vorgekeimten Senfkörnern versetzt und mit einer Düngerlösung aus 250 mg N, 100 mg P₂O₅, 300 mg K₂O und 100 mg MgO pro Liter Kultursubstrat angedüngt. Der Biotest wurde als randomisierte Blockanlage im Lichtthermostat bei 8000 Lux und einer Temperatur von 16 bis 18 °C in der ersten bzw. 22 °C ab der zweiten Woche durchgeführt. Die Wachstumszeit der Pflanzen betrug sechs Wochen, um eine sichere Ausbildung der Krankheitssymptome zu erreichen.

Zur Bewertung der Infektiösität einer Einzelprobe (Befallsindex_{EP}) wurde der Erkrankungsgrad aller in einem Topf angezogenen Pflanzen in einem Alter von sechs Wochen gemäß dem in Tab. 5 dargestellten Boniturschema nach BUCZACKI et al. (1975) beurteilt und der von einer Probe hervorgerufene Erkrankungsgrad gemäß Gleichung 1 berechnet. Der Befallsindex einer Untersuchungsvariante errechnet sich aus dem arithmetischen Mittel der Befallsindices aller Probenwiederholungen.

Gleichung 1: Bestimmung der Infektiösität von Proben des Erregers *P. brassicae*

$$\text{Befallsindex}_{EP} = \frac{\text{Anz. Pfl. Klasse 1} * 1 + \text{Anz. Pfl. Klasse 2} * 2 + \text{Anz. Pfl. Klasse 3} * 3}{\text{Anz. Pflanzen}} * 100$$

Tab. 5: Boniturschema zur Bewertung des Erkrankungsgrades von Sarepta-Senf (*Brassica juncea*), BUCZACKI et al. (1975)

Befallsklasse (KI)	Beschreibung der Symptome
0	keine sichtbaren Symptome
1	leichte Gallenbildung an Haupt- und Nebenwurzeln
2	mittlere Gallenbildung an Haupt- und Nebenwurzeln
3	starke Gallenbildung am gesamten Wurzelsystem

3.2.1.2 Screening von Proben aus Altbeständen unbekannter Herkunft

Im Rahmen des Probenscreenings wurde bevorratetes Erregermaterial von unterschiedlichen Standorten und Wirtspflanzen verwendet. Eine Charakterisierung der einzelnen Proben war aufgrund der unvollständigen Probendeclaration nicht möglich. Die untersuchten Proben sind im Raum Südniedersachsen und Nordhessen gewonnen worden. Der größte Teil der Proben stammte von Weißkohlpflanzen. Einzelne Proben hatten sich in Rotkohl- und Blumenkohlkulturen entwickelt. Tab. 6 enthält eine Beschreibung der aus Altbeständen verwendeten Erregerproben.

Tab. 6: Beschreibung der aus Altbeständen verwendeten Erregerproben des Erregers *P. brassicae*

Probe	Konsistenz	Herkunft	Kultur	Jahr
1	Festes Gewebe (gewaschen)	Nordhessen (Lohfelden)	Spitzkohl	1994
2	Festes Gewebe (gewaschen)	Nordhessen (Lohfelden)	Rotkohl	1994
3	Festes und breiiges Gewebe	Nordhessen	Weißkohl	1993
4 - 8	Festes und zersetztes Gewebe (mit Bodenanhaftungen)	Südniedersachsen Nordhessen	Rotkohl Weißkohl Blumenkohl	1987 und 1990

Die Herstellung des Probenmaterials erfolgte unter Verwendung von 15 g Infektionsmaterial (gemörsert) und 100 ml Einheitserde (gesiebt < 8 mm). Durch Zugabe von Leitungswasser wurde ein TS-Gehalt von 70 % eingestellt. Danach wurde das Probenmaterial in 150 ml-Gläser überführt und mit Schraubdeckeln verschlossen. Der Versuch wurde in fünf-facher Wiederholung angelegt.

Zur Behandlung wurden die Proben in ein auf 38 °C vorgeheiztes Wasserbad gestellt und nach einstündiger Aufwärmphase mit progressiver Temperaturführung (+1 °C je 30 Min.) bis auf eine Maximaltemperatur von 50 °C aufgeheizt. Um eine potenzielle Beeinflussung durch nicht gleichstarke Erwärmung der Proben am Rand auszuschließen, wurden die Proben unterhalb des Wasserspiegels versenkt, damit sie während der gesamten Behandlungsdauer vollständig mit Wasser umgeben waren (submerse Behandlung). Die Entnahme von Proben erfolgten bei 42, 46, 48 und 50 °C, jeweils nachdem die Temperatur für eine halbe Stunde auf die Proben eingewirkt hatte. Die dem Wasserbad entnommenen Proben wurden bis zum Ansatz des Biotests im Kühlschrank zwischengelagert. Zur Bewertung des Temperatureinflusses auf die Abtötung wurden Kontrollproben verwendet, die gemeinsam mit den zur Behandlung vorgesehenen Proben hergestellt und bis zum Ansatz des Biotestes im Kühlschrank aufbewahrt wurden. Der Ansatz des Biotestes erfolgte direkt nach der Entnahme der letzten Proben.

3.2.1.3 Screening von Proben aus Neubeständen bekannter Herkunft

Aufgrund der unterschiedlichen Reaktion verschiedener Proben des Pilzes *P. brassicae* sollte durch Beprobung unterschiedlicher Standorte versucht werden, wärmeverträgliches Erregermaterial zu gewinnen und die Faktoren zu charakterisieren, die die Wärmeverträglichkeit des Erregers bestimmen. Die Suche nach erkrankten Kulturen der nicht regelmäßig auftretenden Krankheit wurde durch norddeutsche Pflanzenschutzämter unterstützt. Im

Jahr 1996 konnten von verschiedenen Standorten, die bereits in der Vergangenheit einen häufigen durch *P. brassicae* verursachten Kohlherniebefall aufgewiesen haben, Erregerproben von verschiedenen Gemüsekulturen gewonnen werden. Auf allen Standorten wurden unterschiedlich stark zersetzte Gallen vorgefunden, die ebenfalls getrennt eingesammelt worden sind (Tab. 7).

Tab. 7: Charakterisierung der Erregerproben, die einer bis zu einwöchigen Wärmebehandlung bei 50 °C im Wasserbad ausgesetzt wurden

Probe	Konsistenz	Kultur	Jahr	Standort
1	Festes Gallengewebe	Spitzkohl	1994	Lohfelden (Nordhessen)
2	Festes Gallengewebe	Rotkohl		
3	Festes u. breiiges Gallengewebe	Weißkohl	1993	Unbekannt (Nordhessen)
9	Festes und breiiges Gallengewebe	Weißkohl	1996	Cuxhaven Standort A (Niedersachsen)
10	Zersetztes Gallengewebe			
11	Infizierter Boden			
12	Festes und breiiges Gallengewebe	Weißkohl	1996	Cuxhaven Standort B (Niedersachsen)
13	Zersetztes Gallengewebe			
14	Festes Gallengewebe	Rotkohl	1996	Cuxhaven Standort B (Niedersachsen)
15	Zersetztes Gallengewebe			
16	Festes und breiiges Gallengewebe	Wirsing	1996	Oldenburg (Niedersachsen)
17	Zersetztes Gallengewebe			
18	Festes Gallengewebe	Weißkohl	1996	Neu-Eichenberg (Nordhessen)
19	Zersetztes Gallengewebe	Rotkohl	1996	
20	Boden mit Gallenrückständen			

Anhand der unterschiedlichen Proben sollte überprüft werden, ob die Widerstandsfähigkeit des Erregers abhängig ist

- vom Alter und Zersetzungsgrad des Gallenmaterials;
- vom geografischen Standort und dessen spezifischen Eigenschaften (Bodenart, Klima etc.);
- von der Pflanzenart, in der die Entwicklung des Pilzes stattgefunden hat (Wirtspflanze).

Das Probenmaterial wurde gewaschen, mit einer groben Raffel einer elektrischen Küchenmaschine zerkleinert und anschließend homogenisiert. Das Homogenat wurde bei 30 °C im Umlufttrockenschrank (Haereus, T 6200) entfeuchtet und nach Bestimmung des exakten Wassergehaltes (24 Std. bei 105 °C) durch Zugabe von Leitungswasser auf einen TS-Gehalt von 70 % eingestellt. Das aufbereitete Probenmaterial wurde direkt nach der Aufbereitung in vierfacher Wiederholung in 150 ml-Gläser überführt und mit Schraubdeckeln verschlossen. Die Bebrütung erfolgte bei 50 °C im Wasserbad (submers). Die maximale Behandlungsdauer betrug sieben Tage, mit Probenentnahmen nach einem, drei und sieben Tagen. Die dem Wasserbad entnommenen Proben wurden bis zum Ansatz des Bio-

tests im Kühlschrank zwischengelagert. Die Bestimmung der Infektiosität der behandelten Proben sowie der Kontrollproben erfolgte gemäß der unter 3.2.1.1 beschriebenen Vorgehensweise.

3.2.1.4 Ansätze zur Steigerung der Homogenität der Proben mit Hilfe von Sporensuspensionen

Zur Herstellung einer Sporensuspension wurde 1 kg aufgetautes Gallenmaterial mit einem Küchenmixer fein zermust. Die zerkleinerte Masse wurde anschließend mit zwei Litern demineralisiertem Wasser versetzt, gründlich gemischt, in vier Lagen Mulltuch gegeben und über einem Becherglas gut ausgedrückt. Das Filtrat wurde drei Minuten bei $250 \times g$ zentrifugiert, das Pellet verworfen, der Überstand für 10 Minuten bei $1.000 \times g$ zentrifugiert. Das zweite Pellet wurde in 150 ml demineralisiertem Wasser resuspendiert (Stammlösung). In der Stammlösung wurde mit einem Haemocytometer (Fuchs-Rosenthal-Zählkammer) eine Sporendichte von $3,5 \times 10^8$ Sporen/ml bestimmt. Durch weitere Verdünnungsschritte um jeweils eine Zehnerpotenz wurden fünf Gebrauchslösungen mit Konzentrationen von 10^8 bis 10^4 Sporen/ml hergestellt. Die zur Untersuchung der Wärmeverträglichkeit verwendeten Proben wurden in 100 ml Schraubdeckelgläsern angemischt. Hierzu wurden 80 ml Einheitserde (ungedüngt) vorgelegt, mit 1 ml der jeweiligen Gebrauchslösung versetzt, durch Zugabe von Leitungswasser auf einen TS-Gehalt von 70 % eingestellt und abschließend homogenisiert. Aufgrund der hohen Anzahl gleichzeitig zu behandelnder Proben und der durchgeführten Homogenisierungsmaßnahmen wurde der Versuch mit dreifacher Probenwiederholung durchgeführt.

Die Wärmebehandlung der Proben erfolgte im Wasserbad bei 50°C und umfasste eine maximale Bebrütungsdauer von sechs Tagen. Am ersten Tag erfolgte die Probenentnahme im Abstand von sechs Stunden, danach im Abstand von einem Tag. Die dem Wasserbad entnommenen Proben wurden bis zum Ansatz des Biotests im Kühlschrank zwischengelagert.

3.2.1.5 Wärmeverträglichkeit von Proben mit sehr hohen TS-Gehalten

Zur Überprüfung der Erregerinaktivierung unter extrem trockenen Verhältnissen wurde zersetztes Gallenmaterial und infektiöser Boden im Umlufttrockenschrank bei 30°C , eine nach MARCINISZYEN und GOTTSCHELL (1995) nicht erregerschädlichen Temperatur, entfeuchtet. Nach Bestimmung der TS-Gehalte wurden durch Wasserzugabe mittels Zerstäuber Proben mit TS-Gehalten von 70, 80, 90 und 95 % hergestellt. Aus den beiden Ausgangskomponenten wurden unter Verwendung von je 25 g (TM) Gallenmaterial und Boden die zu untersuchenden Proben hergestellt, in 100 ml-Gläser überführt, homogenisiert und mit Schraubdeckelgläsern verschlossen. Die Untersuchungsreihe wurde mit dreifacher Probenwiederholung durchgeführt.

Zur Behandlung wurden die Proben in ein auf 38°C vorgeheiztes Wasserbad überführt und nach einstündiger Aufwärmphase auf 38°C mit progressiver Temperaturführung ($+2^\circ\text{C}$ je 12 Std.) bis auf eine Maximaltemperatur von 70°C aufgeheizt. Die Behandlung der Proben erfolgte submers. Die erste Probenentnahme erfolgte bei 42°C und wurde in einem Intervall von $+4^\circ\text{C}$ bis zum Erreichen der maximalen Bebrütungstemperatur von 70°C fortgesetzt. Die Entnahme der Proben erfolgte, nachdem die Zieltemperatur für eine

Dauer von 12 Stunden auf die Proben eingewirkt hatte. Die dem Wasserbad entnommenen Proben wurden bis zum Ansatz des Biotests im Kühlschrank zwischengelagert.

3.2.2 Versuche mit *Fusarium* ssp.

3.2.2.1 Bereitstellung und Nachweis der Erregerproben

Die verwendeten Pilzisolates des Phytopathogens *Fusarium oxysporum* f. sp. (*F. oxysporum* f. sp.) stammten aus Beständen des Institutes für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz der Georg-August-Universität Göttingen. Die Kulturen wurden in Stammhaltung auf Strohextraktagar (SEA) gehalten. Für die Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen wurden Agarscheibchen (Ø 8 mm) der Stammkulturen auf Potato Dextrose Agar (PDA) überimpft und bei 20 °C und Tageslicht bis zur Bildung von Clamydosporen kultiviert. Von den ausgereiften PDA-Kulturen wurden je Probe zwei Agarscheibchen (Ø 8 mm) in 50 mm sterile EEO mit 70 % TS-Gehalt eingemischt und in sterile Schraubdeckelgläser (80 mm) überführt. Die Sterilisation der EEO erfolgte durch 15-minütiges Autoklavieren bei 121 °C und 1 bar. Zur Bewertung der Überlebensfähigkeit der behandelten Proben wurden die Agarscheiben aus der EEO zurück gewonnen und auf PDA-Platten überführt und wie oben beschrieben kultiviert. Das Überleben wurde anhand der Besiedlung und Clamydosporenbildung bewertet.

Für Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen mit *Fusarium culmorum* (*F. culmorum*) wurden infizierte Weizenkörner verwendet, die von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Braunschweig zur Verfügung gestellt wurden. Zur Infektion der Weizenkörner hatte dort eine künstliche Infektion der Weizenpflanzen während des Blütenstadiums stattgefunden, wodurch sich der Pilz innerhalb der sich entwickelnden Körner als Myzel etablieren konnte. Für die Wärmeuntersuchungen wurden je Wiederholung 10 infizierte Weizenkörner in 50 ml sterile EEO (70 % TS) eingemischt und in sterile Schraubdeckelgläser (80 ml) überführt. Zur Bewertung der Überlebensfähigkeit wurden die wärmebehandelten Weizenkörner auf PDA-Platten aufgelegt und anschließend bei 16 °C und mit Schwarzlichtbeleuchtung kultiviert, wodurch *F. culmorum* beim Auskeimen zur Makrokoniendienbildung angeregt wird, die ein eindeutiges Erkennen des Erregers ermöglichen (GERLACH und NIRENBERG 1982).

3.2.2.2 Versuchsdurchführung

Die unterschiedlichen Fusarienproben wurden in vierfacher Wiederholung bereitgestellt und im Wasserbad submers einer Wärmebehandlung mit langsam steigender Temperatur (+2 °C je 12 Std.) unterzogen. Auf jeder Temperaturstufe wurde ein Probensatz entnommen und bis zum Ansatz der Nachweisuntersuchung im Kühlschrank zwischengelagert.

3.2.2.3 Verwendete Nährmedien

PDA (pH 5,6) und 1.000 ml Aqua bidest. wurden mit 24 g Potato Dextrose Broth und 15 g Agar versetzt und autoklaviert.

SEA: pH 6,0: 20 g gemahlenes Weizenstroh (< 2 mm) wurden in 500 ml Aqua bidest. für eine Stunde auf einem Magnetrührer gerührt und anschließend filtriert. Das Filtrat wurde mit Aqua bidest. auf 1.000 ml aufgefüllt, mit 15 g Agar versetzen und autoklaviert.

3.2.3 Versuche mit *Sclerotinia sclerotiorum*

Zur Untersuchung der Wärmeverträglichkeit von *Sclerotinia sclerotiorum* (*S. sclerotiorum*) wurden Sklerotien verwendet, die die Überdauerungsform des Pilzes darstellen und somit die widerstandsfähigste Form des Pilzes repräsentieren.

3.2.3.1 Bereitstellung und Nachweis der Erregerproben

Sklerotien des Pilzes *S. sclerotiorum* können nach SINGLETON et al. (1992) auf Möhrenscheiben gewonnen werden. Für die Untersuchungen wurden klein geschnittene Möhren 2 cm hoch in einen 1.000 ml Erlenmeyerkolben gefüllt und 15 Minuten lang autoklaviert. Nach dem Abkühlen wurden Myzelscheiben (Ø 8 mm) von Stammkulturen des Pilzes, der auf Biomalzagar (BMA) gehalten wurde, auf die Möhrenscheiben übertragen. Die Kolben wurden drei bis vier Wochen bei Raumtemperatur im Tageslichtrhythmus inkubiert, da dies die Sklerotienbildung anregt (HUANG et al. 1984). Die angezogenen Sklerotien wurden aus der Möhrenmasse ausgespült, auf Filterpapier luftgetrocknet und in Gefäßen verschlossen bei 4°C gelagert. Für die Wärmeuntersuchung wurden jeweils 10 Sklerotien in 50 ml sterile EEO (70 % TS) eingemischt und in sterile Schraubdeckelgläser (80 mm) überführt. Zur Bewertung der Überlebensfähigkeit wurden die wärmebehandelten Sklerotien für 10 Minuten in einprozentiger Natriumhypochloridlösung (NaOCl, 1 % aktives Chlor) oberflächlich sterilisiert und dreimal in sterilisiertem Wasser neutralisiert. Danach wurden je Petrischale zwei Sklerotien halbiert und mit der Schnittfläche auf Biomalz-Agar-Medium (BMA) ausgelegt. Die Petrischalen wurden im Brutschrank bei 26 °C dunkel gelagert. Lebensfähige Sklerotien keimten innerhalb von einer Woche aus und bildeten ein dichtes, schneeweißes Myzel. Später bildeten sich in diesem Myzel Tochttersklerotien, die ein eindeutiges Erkennen des Pilzes ermöglichten. Sklerotien wurden als nicht keimfähig eingestuft, wenn im Verlauf von 21 Tagen kein Myzelwachstum eingesetzt hatte.

3.2.3.2 Versuchsdurchführung

Die Proben wurden in vierfacher Wiederholung bereitgestellt und im Wasserbad submers einer Wärmebehandlung mit langsam steigender Temperatur (+2 °C je 12 Std.) unterzogen. Auf jeder Temperaturstufe wurde ein Probensatz entnommen und bis zum Ansatz der Nachweisuntersuchung im Kühlschrank zwischengelagert.

3.2.3.3 Verwendete Nährmedien

BMA (pH 5,8) und 1.000 ml Aqua bidest. wurden mit 24 g Biomalz und 20 g Agar versetzt und autoklaviert.

3.2.4 Versuche mit Unkrautsamen

3.2.4.1 Wärmeverträglichkeit von rotteresistenten Unkräutern

Zur Bestimmung der vergleichenden Wärmeverträglichkeit von Tomaten- und Unkrautsamen wurde die Feinfraktion (< 8 mm) von Eigenkompost verwendet, der über einen Zeitraum von einem Jahr angesammelt wurde. Eigenkompost wird aus zwei Gründen für ein geeignetes Ausgangsmaterial zur Durchführung von Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen angesehen. Einerseits ist bekannt, dass Eigenkomposte aufgrund der geringen Rot-

temperatur über ein hohes Unkrautsamenpotenzial verfügen. Andererseits stellt der Rotteprozess einen Selektionsprozess dar, in dem wenig rotteresistente Samen, die im Hinblick auf die Komposthygiene nicht von Bedeutung sind, zuvor ausgesiekt werden.

Die Kompostfeinfraktion wurde durch Absieben auf einem Sieb mit 8 mm Maschenweite gewonnen. Durch das Verwerfen der Siebauflage (Fraktion > 8 mm) wurden eine Aufkonzentration der Samen und eine Homogenisierung des zu untersuchenden Substrates bewirkt. Das gewonnene Substrat wurde auf einen TS-Gehalt von 70 % eingestellt und einer Wärmebehandlung unterzogen. Die Bebrütung der Proben erfolgte im Wasserbad mit zunehmend steigender Temperatur (Start = 38 °C; Steigerung = +2 °C je 0,5 Tage), wobei die Proben submers behandelt wurden. Da mit dem Versuch beabsichtigt wurde, besonders widerstandsfähige Samen ausfindig zu machen, wurde eine große Substratmenge von einem Liter je Probe verwendet. Quantitative Aussagen zur Absterbekinetik der einzelnen Samen wurden nicht angestrebt, da hierzu die Konzentration vieler Samen trotz der Aufkonzentration in der Feinfraktion nicht hinreichend groß war. Dementsprechend wurde der Versuch ohne Probenwiederholungen angelegt. Auf jeder Temperaturstufe wurden Proben zur Bestimmung des Gehalts an keimfähigen Samen und austriebfähigen Pflanzenteilen entnommen. Die Analyse der Proben erfolgte gemäß der von der Bundesgütegemeinschaft Kompost beschriebenen Methode zur Bestimmung des Unkrautsamenpotenzials (ANONYM 1998b). Da sich diese Methode auf das Quantifizieren der keimfähigen Samen beschränkt, wurde darüber hinaus eine Bestimmung der ausgekeimten Pflanzen anhand der Keimblätter durchgeführt.

3.2.4.2 Wärmeverträglichkeit unterschiedlicher Kleearten

Zur differenzierteren Bewertung der Wärmeverträglichkeit von Klee wurde zertifiziertes Saatgut von sechs verschiedenen Kleearten getestet. Zum direkten Vergleich der Wärmeverträglichkeit von Klee- und Tomatensamen wurden in einem zweiten Versuchsdurchgang zusätzlich zu den Kleesamen auch Tomatensamen der Sorte '*St. Pierre*' behandelt. Als Trägersubstrat für das Saatgut wurde sterilisierter Eigenkompost < 8 mm (70 % TS-Gehalt) benutzt. Je Probe wurden 100 Samen einer Sorte verwendet. Zusätzlich wurde eine Behandlung von kompostbürtigen Kleesamen in Form von nicht sterilisiertem Eigenkompost < 8 mm als Kontrollprobe vorgenommen. Die Probenmenge betrug aufgrund der geringen Anzahl an Kleesamen im Kompost einen Liter. Die Wärmebehandlung der Proben erfolgte submers im Wasserbad mit langsam steigender Temperatur (Start = 38 °C; Steigerung = +2 °C je Tag). Auf jeder Temperaturstufe erfolgte eine Probenentnahme und eine Bestimmung der Anzahl an keimfähigen Samen gemäß der im Absatz zuvor beschriebenen Vorgehensweise.

3.2.5 Versuche mit Tomatensamen

Zur Bestimmung der Widerstandsfähigkeit von Tomatensamen wurde die Sorte '*St. Pierre*' verwendet, die POLLMANN (1996) im Rahmen seiner Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen verwendet hat, und die als Referenzsorte für Hygieneuntersuchungen gemäß BioAbfV vorgeschrieben ist.

3.2.5.1 Einstellung des Feuchtegehaltes der Samen (SFG)

Zur Einstellung des Wassergehaltes wurde der Ausgangs-SFG des Tomatensaatguts durch 24-stündige Trocknung von 105 °C bestimmt und daraus das Zielgewicht der einzustellenden Probe errechnet. Zur Einstellung des SFG der Tomatensamen wurden diese dünn in Petrischalen ausgestreut und offen auf den Siebboden eines Exsikkators gestellt. Der Boden des Exsikkators wurde zur Trocknung der Samen mit Trockenperlen und zur Befeuchtung mit Wasser gefüllt, wodurch eine gleichmäßige Einstellung der anvisierten SFG erreicht werden konnte. Die Gewichtsveränderung der in den Exsikkator überführten Proben wurde regelmäßig überprüft. Nach Erreichen des Zielgewichtes wurden die Samen zum Äquilibrieren in Schraubdeckelgläser überführt und für einen Tag im Kühlschrank aufbewahrt. Parallel dazu wurde das eingestellte SFG an einer Teilprobe überprüft.

Zum Konstanthalten des SFG über die gesamte Versuchsdauer wurden die Samen in dreifacher Wiederholung in HDPE-Ampullen überführt, die zur Behandlung im Wasserbad nochmals in Gläser mit Schraubdeckelverschluss gegeben wurden.

3.2.5.2 Bestimmung der Keimfähigkeit

Die Proben wurden bis zur Bestimmung ihrer Keimfähigkeit im Kühlschrank gelagert. Zur Bestimmung der Keimfähigkeit wurden je Probe 4*50 Samen in abgedeckten Petrischalen mit 9 cm Durchmesser auf vier Lagen angefeuchtetem Filterpapier ausgelegt und bei 25 °C und Dauerbeleuchtung in einen Lichtthermostaten gestellt (ANONYM 1993). Abweichend von der internationalen Vorschrift für die Prüfung von Saatgut wurde als Kriterium für die Keimfähigkeit nicht der normal entwickelte Keimling, sondern das bei Alterungsversuchen gebräuchliche Erscheinen der Wurzelspitze oder des Sprosses gezählt (ANONYM 1979), das auch POLLMANN (1996) bei seinen Untersuchungen herangezogen hatte. Die Anzahl der gekeimten Tomatensamen wurden mindestens im siebentägigen Rhythmus ausgezählt. Da durch die Wärmebehandlung eine extreme Keimverzögerung verursacht werden kann, wurde der Keimtest nicht vor Ende der vierten Woche beendet und danach solange fortgesetzt, bis innerhalb einer Woche keine Neubildung von Keimen mehr zu beobachten war. Die Berechnung der Keimfähigkeit erfolgte gemäß Gleichung 2.

Gleichung 2: Bestimmung der Keimfähigkeit von Samen

$$\text{Keimfähigkeit [\%]} = \frac{\text{Anzahl gekeimter Samen}}{\text{Anzahl ausgelegter Samen}} * 100$$

Zur Berechnung der durchschnittlichen Keimfähigkeit einer Probe wurde das arithmetische Mittel aller Wiederholungen berechnet.

3.2.5.3 Bestimmung der Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen mit geringem SFG bei konstanter Bebrütungstemperatur

Zur Bestimmung der Einflüsse von Temperatur, Zeit und SFG auf die Abtötung von trockenen Tomatensamen wurden Bebrütungsversuche gemäß der von POLLMANN (1996) beschriebenen Untersuchungsmethode durchgeführt. Durch die Untersuchungsreihe sollten Daten von POLLMANN (1996) vervollständigt werden, der die Abtötung von feuchten To-

matensamen im Bereich von 15 bis 50 % SFG detailliert ermittelt hat. Zur Ergänzung wurden Untersuchungsreihen mit 6,5 7,5, 10 und 15 % SFG im Wasserbad bei 50, 55, und 60 °C durchgeführt.

3.2.5.4 Bestimmung der Abtötungszeitpunkte unterschiedlich feuchter Tomatensamen bei langsam steigender Temperatur (+2 °C/0,5 Tage)

Tomatensamen wurden in verschiedenen Feuchtigkeitsstufen (5,5; 7,5; 10; 15 und 35 % SFG) mit zunehmend steigender Temperatur (Start = 38 °C; Steigerung = +2 °C je 0,5 Tage) im Wasserbad submers behandelt, um die Abtötungszeitpunkte bei nicht konstanter Temperatur empirisch zu bestimmen. Die Versuchsreihe wurde durchgeführt, um die Genauigkeit und Zuverlässigkeit des im Absatz zuvor beschriebenen Prognosemodells anhand von empirisch ermittelten Daten zu bewerten. Hierzu wurden auf jeder Temperaturstufe des Bebrütungsversuches Proben zur Bestimmung der Keimfähigkeit entnommen.

3.2.6 Versuche mit dem Tabak-Mosaik-Virus

3.2.6.1 Herstellung des Infektionsmaterials

Die Herstellung von infiziertem Pflanzenmaterial erfolgte an Tabakpflanzen (*Nicotiana tabacum* L. var. Samsun), in denen sich das Virus systematisch ausbreitet. Dazu wurden Tabakpflanzen im Gewächshaus bei 20 °C und einem Tag-/Nachtverhältnis von 16:8 Stunden aufgezogen und im Fünfbblattstadium künstlich mit TMV infiziert. Für die Inokulation wurden die Blätter mit einem Gemisch aus Karborund und Bentonit (1:1) dünn eingepudert, um die mechanische Übertragung des Virus auf die Pflanze zu fördern. Die Inokulation erfolgte durch Auftragen einer TMV-haltigen Suspension auf die Blattoberfläche mit Hilfe eines Wattestäbchens. Hierbei wurde die Suspension unter leichtem Druck mit kreisförmigen Bewegungen auf das Blatt aufgetragen. Zwei bis drei Wochen nach Inokulation konnten die nachwachsenden Blätter, deren mosaikartigen Verfärbungen den Virusbefall anzeigten, über einen Zeitraum von mehreren Wochen geerntet werden. Zur Abdeckung des Nährstoffbedarfes wurde das Kultursubstrat mit 100 mg N/Liter Kultursubstrat (Flori 3; EUFLOR, München) angereichert. Ab dem Vierblattstadium erfolgte eine wöchentlich Nachdüngung der Pflanzen mit 10 mg N/Liter. Die geernteten Tabakblätter wurden zur Homogenisierung direkt nach der Ernte in kleine Streifen geschnitten, anschließend durchgemischt und bei -18 °C gelagert.

3.2.6.2 Nachweisverfahren zur Bestimmung der Infektiösität

Der Effekt einer Behandlung auf die Infektiösität des TMV wurde durch Anwendung der von WALKEY (1991) beschriebenen Halbblattmethode untersucht. Die Methode basiert auf einer Resistenzreaktion, bei der eine Wildform des Tabaks (*Nicotiana glutinosa* L.) auf das Eindringen des TMV durch Bildungen von Blattverkrustungen (Läsionen) reagiert. Dabei korreliert die Anzahl der gebildeten Läsionen mit der Infektiösität der applizierten TMV-Probe (SAMUEL und BALD 1933). Zur Applikation wurden die aus 10 g virushaltiger Blattmasse hergestellten Proben unter Zusatz von 30 ml Phosphatpuffer (0,05 mol/l; pH 7) mit einem Mörser zerkleinert und in ein verschließbares Glasgefäß überführt. Die Kontroll-

probe wurde unter Verwendung von 10 g tiefgefrorenen Tabakblättern in gleicher Weise hergestellt.

Zur Beurteilung der Infektiösität wurden die zu prüfende Probe und die Kontrollprobe auf gegenüberliegende Blätter der Testpflanze *Nicotiana glutinosa* L. aufgetragen. Die Applikation der Proben und Kontrollen erfolgte gemäß dem in Tab. 8 dargestellten Behandlungsschema. Da sich die Testpflanzen hinsichtlich der Anzahl ausgebildeter Läsionen, die als Reaktion auf das eindringende Virus gebildet werden, deutlich voneinander unterscheiden können (FRY und TYLOR 1954, WALKEY 1991, BÄCHLE 1992), wurde jede Probe auf je eine Blatthälfte von zwei verschiedene Pflanzen aufgetragen, um diese Schwankungen auszugleichen.

Tab. 8: Applikationsschema zur Ermittlung der Infektiösität von TMV-Proben

Blattetage	Pflanze 1 Blatthälfte		Pflanze 2 Blatthälfte	
	links	rechts	links	Rechts
oben	Probe A	Kontrolle	Kontrolle	Probe B
unten	Kontrolle	Probe B	Probe A	Kontrolle

Die Nachweispflanzen befanden sich zum Zeitpunkt der Inokulation im Sechs- bis Achtblattstadium und waren ungefähr 70 Tage alt. Zur Förderung der Symptomausprägung wurden die Nachweispflanzen optimal mit Wasser- und Nährstoffen versorgt, damit sie eine dünne Kutikula ausbilden. Hierdurch wird nach MATTHEWS (2002) die Läsionsbildung gefördert. Zur Abdeckung des Nährstoffbedarfes wurde das Kultursubstrat mit 100 mg N/Liter Kultursubstrat (Flori 3; EUFLOR, München) angereichert. Ab dem Vierblattstadium erfolgte eine wöchentliche Nachdüngung der Pflanzen mit 10 mg N/Liter. Für den Nachweistest wurden die Pflanzen durch Entfernen der Vegetationsspitze und der unteren Blätter bis auf vier möglichst gleichgroße Blätter zurück geschnitten. Für die Inokulation wurden die zu behandelnden Blätter mit einem Pudergemisch aus Karborund und Bentonit (1:1) dünn bestäubt. Danach wurden zunächst die aus den Proben hergestellte Suspension und danach die Kontrollsuspension mit Hilfe eines Wattestäbchens durch leicht druckvolle, kreisende Bewegungen auf die Oberseite der Blätter aufgetragen. Nach mindestens zweiminütigem Einwirken der aufgetragenen Suspensionen wurden die Suspensionen und der Puder mit Hilfe einer Spritzwasserflasche von den Blattflächen abgespült. Zur Vermeidung einer Virusverschleppung wurde zunächst die mit der Kontrollsuspension applizierte Blatthälfte und dann die Seite mit der Probensuspension gereinigt.

Bis zur Ausbildung der Läsionen, die innerhalb von vier bis fünf Tagen stattfindet, wurden die applizierten Pflanzen unter den oben genannten Wachstumsbedingungen ins Gewächshaus gestellt. Zur Ermittlung der Anzahl ausgebildeter Läsionen wurden die Blätter von den Pflanzen abgeschnitten und mit Hilfe des Koloniezählgerätes schütt count^{plus} der Firma Schütt Labortechnik (Göttingen) ausgezählt.

Die Berechnung der von einer Proben- oder Kontrollsuspension gebildeten Läsionsanzahl erfolgte durch Addition der auf zwei halben Blättern unterschiedlicher Pflanzen ermittelten Werte. Zur Bestimmung der relativen Infektiösität einer Probe wurden die Ergebnisse der

Probe und der zugehörigen Kontrolle gemäß Gleichung 3 miteinander in Beziehung gesetzt.

Gleichung 3: Bestimmung der relativen Infektiösität von TMV-Proben

$$\text{rel. Infektiösität Probe [\%]} = \frac{\text{Anz. Läsionen Pfl. A Probe} + \text{Anz. Läsionen Pfl. B Probe}}{\text{Anz. Läsionen Pfl. A Kontrolle} + \text{Anz. Läsionen Pfl. B Kontrolle}} \cdot 100$$

3.2.6.3 Versuche zur Bestimmung der Wärmeverträglichkeit des Tabak-Mosaik-Virus

Zur Bestimmung der Wärmeverträglichkeit des TMV wurden drei isotherme Bebrütungsversuche mit 50, 60 und 70 °C durchgeführt. Während der bis zu drei Wochen dauernden Wärmebehandlung wurden zu verschiedenen Zeitpunkten Proben entnommen, um die bis dahin erreichte Inaktivierung zu bestimmen. Die Erregerproben bestanden aus 10 g virushaltiger Blattmasse. Diese wurden in Gazesäckchen eingepackt und zusammen mit Trägersubstrat in Gläser überführt. Zur Bewertung des Einflusses, den trockene und optimal feuchte Wassergehalte eines Rotteprozesses auf die Wärmeübertragung und somit auf die Virusinaktivierung besitzen, wurden zwei unterschiedliche TS-Gehalte (30 und 50 %) im Trägersubstrat eingestellt. Die Temperaturbehandlung erfolgte im Brutschrank. Eine vollständige Zusammenstellung aller Versuchsparameter ist Tab. 9 zu entnehmen.

Tab. 9: Versuche zur Ermittlung der Wärmeverträglichkeit des TMV

Versuch	Temperatur [°C]	Verweilzeit [Tage]	TS-Gehalte [%]	Trägersubstrat	n
TMV1	50	1, 3, 7, 14, 21	50 u. 70	EEO < 8 mm	3
TMV2	60	1, 3, 7, 14, 21	50 u. 70	EEO < 8 mm	3
TMV3	70	1, 3, 7, 14, 21	50 u. 70	EEO < 8 mm	3

Zur Temperatursteuerung wurde eine Probe je Temperaturstufe mit einem Temperaturfühler ausgestattet, mit dem die Temperatur innerhalb der Probengefäße überwacht wurde. Die Proben wurden entsprechend dem in Tab. 9 dargestellten Schema behandelt und nach der Entnahme bis zur Bestimmung ihrer Infektiösität im Kühlschrank bei 4 °C gelagert. Der Infektionsnachweis erfolgte zeitgleich für alle Entnahmevarianten und wurde direkt nach Entnahme der letzten Probe durchgeführt.

3.3 Versuche zur Bestimmung der Rotteresistenz des Tabak-Mosaik-Virus

3.3.1 Modellkompostierungsversuche bei 50 – 55 °C

Zur Bestimmung der Rotteresistenz bzw. der Rotteempfindlichkeit des TMV wurden Rotteversuche im Temperaturbereich von 50 bis 55 °C durchgeführt. In diesem Temperaturbereich bewirkt der alleinige Einfluss der Wärme keine kurzfristige Inaktivierung des Virus. Deshalb wird ein Infektiösitätsverlust während der Rotte den mikrobiell bedingten Rotteeinflüssen zugeordnet. Die Rotte erfolgte in Rottecontainern mit 150 l Fassungsvermögen.

Zur Temperatursteuerung wurden die Rottecontainer in Klimaschränken der Firma Bommhardt & Co (Kassel) aufgestellt, die mit einer Heizung und Kühlung ausgestattet waren. Das Fassungsvermögen der Klimaschränke reichte für drei Container und erlaubte somit eine Versuchsdurchführung in dreifacher Wiederholung. Zur Kontrolle, Steuerung und Dokumentation der Prozesstemperatur dienten Temperatursensoren (Typ PT 100), die die Temperaturdaten im Rottegut erfassten und kontinuierlich in eine meteorologische Messstation (AME 82) der Firma Hoffmann Messtechnik (Rautenberg-Rotenburg) übermittelten. Die Temperatursteuerung erfolgte auf Basis der kontinuierlich erfassten Temperaturen durch manuelle Bedienung der Klimaschränke.

In Anlehnung an die üblichen Praxisbedingungen auf Kompostierungsanlagen wurde für die Rotte eine Mischung aus Bioabfällen und Grüngut (Strukturmaterial) verwendet. Die Ausgangsmaterialien der Modellkompostierungsversuche setzten sich aus zwei Volumenanteilen Bioabfall und einem Volumenanteil Grüngut zusammen. Um ein homogenes Ausgangsgemisch für die Versuche herzustellen, wurde von beiden Materialien nur die relativ homogene Fraktion < 40 mm verwendet. Durch den vergleichsweise hohen Grüngutanteil sollte die Belüftung des Rottegutes sichergestellt und dadurch die aeroben Abbauprozesse gefördert werden. Außerdem sollte durch den relativ hohen Grüngutanteil im Mischungsverhältnis eine verhaltene Temperaturentwicklung erreicht und eine unkontrollierte Selbsterwärmung vermieden werden. Das Rottegut wurde wöchentlich umgesetzt und wieder befeuchtet. Zur Dokumentation der Wassergehalte über den Verlauf der Rotte wurden an den Umsetzterminen vor und nach dem Bewässern Proben zur Bestimmung des TS-Gehaltes des Rottegutes gewonnen. Die TS-Bestimmung erfolgte entsprechend den Vorgaben der Bundesgütegemeinschaft Kompost (ANONYM 1998b).

Die Behandlung der TMV-Proben erfolgte in Gazesäckchen, um eine uneingeschränkte Einwirkung des Rotteprozesses auf die Viren zu ermöglichen. In vier Versuchsdurchgängen wurden TMV-Proben zusätzlich in geschlossenen Gläsern behandelt, um die Viren vor dem Einfluss des aeroben Rotteprozesses zu schützen. Um das Auffinden der Proben zu erleichtern, wurden die Proben in 3 kg Kompost eingemischt und in rottebeständige Gazesäcke überführt. Diese Gazesäcke wurden mit einem Temperaturfühler ausgestattet und mitten in die Rottecontainer platziert. Die Entnahme der TMV-Proben erfolgte gemäß dem in Tab. 10 aufgeführten Untersuchungsplan. Entnommene Proben wurden bis zur Bestimmung ihrer Virulenz bei -18 °C tiefgefroren gelagert.

Tab. 10: Versuche zur Ermittlung der Rotteverträglichkeit des TMV

Versuch	Temperatur [°C]	Verweilzeit [Wochen]	TS-Gehalte [%]	Reaktionsgefäß	n
A	50	1, 2, 3, 5	50	Gaze & Glas	3
B	50	1, 2, 3, 5	50	Gaze & Glas	3
C	55	1, 2, 3, 5	50	Gaze & Glas	3
D	55	1, 2, 3, 5	45	Gaze & Glas	3
E	50	1, 2, 3, 5, 7	40	Gaze	3

3.3.2 Eigenkompostierungsversuche

Zur Bestimmung der Rotteresistenz bzw. der Rotteempfindlichkeit des TMV in weitestgehend ausgerottetem Substrat und bei geringen Temperaturen (20 - 30 °C) wurden TMV-Proben in zwei Eigenkompostern mit einem Fassungsvermögen von je 0,8 m³ behandelt. Die Einlage der Erregerproben erfolgte in eine Mischung von Küchen und Gartenabfällen, die über einen Zeitraum von einem Jahr gesammelt wurden. Mit dem Zeitpunkt der Probeneinlage wurde die Ansammlung von Bioabfällen abgeschlossen und das bis dahin zusammengetragene Material für den Nachrotteprozess umgesetzt und dabei intensiv durchmischt. Die Einlage der Erregerproben erfolgte im Rand¹- und Kernbereich der beiden Komposthaufen. Um das Auffinden der Proben zu erleichtern, wurden die Proben zuvor in dreifacher Wiederholung in 3 kg Kompost eingemischt und in rottebeständige Gazesäcke überführt. Zur Dokumentation der Prozesstemperatur wurden diese Gazesäcke mit Temperaturfühlern (Typ PT 100) ausgestattet, die die Temperaturdaten in direkter Umgebung der Erregerproben erfassten und kontinuierlich in eine meteorologische Messstation (AME 82) der Firma Hoffmann Messtechnik (Rautenberg-Rotenburg) übermittelten. Zur Vermeidung von Anaerobien wurden die Lattenkomposter mit einer wasserdichten Gewebeplane abgedeckt. Zwischen Gewebeplane und Mietenoberfläche verblieb eine Luftschicht, um einen Luftaustausch über die Mietenoberfläche nicht zu behindern. In einem Komposter wurde das Rottegut während der dreimonatigen Ausreifung im monatlichen Rhythmus umgesetzt und wieder befeuchtet. Hierdurch sollten inhomogene Feuchtigkeitsverteilungen in der Miete (trockener Rand, nasse Basis), die sich bei längeren Rottezeiten einstellen, ausgeglichen werden, um den aeroben Abbau zu fördern und anaerobe Prozesse zu vermeiden. An den Umsetzterminen wurden Proben entnommen, um den zeitlichen Verlauf der TMV-Inaktivierung zu erfassen. Entnommene Proben wurden bis zur Bestimmung ihrer Virulenz bei -18 °C tiefgefroren gelagert. Im zweiten Komposter, in dem das Rottegut der Praxis entsprechend nicht umgesetzt wurde, erfolgte eine Bewässerung des äußeren Mietenrandes mit Hilfe einer Gießkanne, um einer Austrocknung und somit einer Hemmung des Rotteprozesses entgegen zu wirken. Die Entnahme der TMV-Proben erfolgte gemäß dem in Tab. 11 aufgeführten Untersuchungsplan. Entnommene Proben wurden bis zur Bestimmung ihrer Virulenz bei -18 °C tiefgefroren gelagert.

Tab. 11: Versuche zur Ermittlung der Rotteverträglichkeit des TMV

Versuch	Verweilzeit [Monate]	Reaktions- gefäß	n
F	1, 2, 3	Gaze	3
G	3	Gaze	3

3.4 Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

Zur Bewertung unterschiedlicher Einflüsse (Temperatur, Zeit, Feuchtigkeit und mikrobielle Aktivität) auf die Erregerabtötung wurden Mittelwertvergleiche durchgeführt. Zum Vergleich von Mittelwerten wurden ein- und mehrfaktorielle Varianzanalysen mit dem Statis-

tikprogramm STATGRAPHICS Plus 5.1 (StatPoint, Herndon, USA) durchgeführt. Hierbei wurde vorab die Prozedur „Varianzcheck“ durchlaufen, die auf Basis verschiedener Testverfahren (Cochran's C Test, Bartlett's Test, Hartley's Test und Levene's Test) die Homogenität der Varianzen prüft. Bei Inaktivierungsversuchen ist häufig eine Korrelation zwischen dem Erkrankungsgrad von Nachweispflanzen und der Höhe der Ergebnisstreuung zu beobachten, wodurch inhomogene Varianzen verursacht (KLECZKOWSKI 1968) und damit die Voraussetzungen für eine Varianzanalyse verletzt werden. Datensätze mit nicht homogenen Varianzen wurden transformiert. Hierbei konnten durch eine von KLECZKOWSKI (1968) vorgeschlagene logarithmische Transformation die Voraussetzungen zur Durchführung einer Varianzanalyse geschaffen werden. Als Voraussetzung für das Vorliegen signifikanter Unterschiede im LSD-Test wurde eine maximale Fehlerwahrscheinlichkeit von 0,05 % erlaubt. Auf schärfere Grenzen ($p \leq 0,01$ oder $\leq 0,001$) wird im Text gesondert hingewiesen.

Auf Grundlage der von POLLMANN (1996) veröffentlichten und durch eigene Untersuchungen ergänzten Datenbasis zur Abtötungsdauer von Tomatensamen in Abhängigkeit von der Höhe der Behandlungstemperatur, der Dauer der Wärmebehandlung und dem Feuchtegehalt der Samen wurden mit Hilfe des Statistikprogramms TableCurve 2D (Systat Software GmbH, Erkrath) die Gleichungen errechnet, die den dreidimensionalen Zusammenhang zwischen der Temperatur, der Zeit und dem SFG auf die Abtötung von Tomatensamen beschreiben. Die erhaltenen Gleichungen, die einen höheren Korrelationskoeffizienten (R^2) als 0,95 aufwiesen, wurden im Folgenden einer Plausibilitätskontrolle unterzogen, bei der die Gleichungsglieder auf das Vorhandensein von Termen geprüft wurde, die bereits wissenschaftlich beschrieben worden sind. Wissenschaftlich zu begründende Gleichungen wurden verwendet, um mit Hilfe des Statistikprogrammes JMP IN (SAS Institute Inc., Cary NC, USA) eine grafische Auswertung des oben genannten Datensatzes vorzunehmen.

¹ 10 cm Abstand zum äußeren Rand der Miete

4 Wärmeverträglichkeit phytopathogener Protisten und Pilze

Die taxonomisch zu unterscheidenden Reiche der Protisten und Pilze werden in einem Kapitel behandelt, da sie beim Hygienebewertungssystem der BioAbfV nicht differenziert betrachtet werden. Der Erreger *P. brassicae*, der in der BioAbfV (ANONYM 1998a) als Indikatororganismus zum Nachweis der Abtötung von phytopathogenen Pilzen dient, zählt taxonomisch ins Reich der Protisten. Nach WHITTAKER (1969) haben sich aus dem Reich der Protisten, das primär einzellige Organismen umfasst, neben dem Reich der Pilze auch die Reiche der Pflanzen und Tiere entwickelt.

4.1 Einführung in die Thematik I

Aufgrund der Indikatorfunktion wurden zunächst Fragestellungen behandelt, die sich mit der Wärmeverträglichkeit unterschiedlicher Proben des Erregers *P. brassicae* beschäftigen. Zur Einordnung der gewonnenen Ergebnisse wurden danach die Wärmeverträglichkeiten von weiteren phytopathogenen Pilzen ermittelt. Hierdurch sollte das auf die Reaktion von *P. brassicae* aufbauende Testsystem anhand einer vergleichenden Beurteilung der Wärmeverträglichkeiten verschiedener Erreger überprüft werden.

4.1.1 Vorliegende Angaben zur Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae*

P. brassicae ist ein phytopathogener Erreger, der aufgrund seiner angeblich hohen Persistenz gegenüber äußeren Einflüssen als Testorganismus für Hygieneuntersuchungen bei der Kompostierung vorgeschlagen wurde (ANONYM 1995, 1998a). Die Infektiosität des Erregers, der in unterschiedlichen Rassen vorkommt, wird als sehr variabel beschrieben (CRUTE et al. 1980, SOME et al. 1996, KUGINUKI et al. 1999). Mehrere Autoren berichten, dass sich die Virulenz von Feldpopulationen unterschiedlicher Herkünfte signifikant voneinander unterscheidet (BUCZACKI et al. 1975, DIXON 1980, JONES et al. 1982).

Bislang wurde nicht überprüft, ob mit dieser Variabilität auch Unterschiede in der Wärmeverträglichkeit unterschiedlicher Herkünfte des Erregers verbunden sind. Hinweise auf potenzielle Unterschiede liefern Ergebnisse von Rotteversuchen, in denen die Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* in weiten Spannen angegeben wird. BOLLEN et al. (1989) beschreiben, dass 85 % der Proben von *P. brassicae* innerhalb einer Woche abgetötet werden, wenn die Rottetemperatur für drei Tage 55 °C erreicht. Eine besonders geringe Wärmeverträglichkeit stellten LOPEZ-REAL und FOSTER (1985), BÖHM et al. (2000), CHRISTENSEN et al. (2002) und NOBLE et al. (2002) fest, die eine Abtötung bei 52 bis 55 °C in weniger als einem Tag beobachteten. BOLLEN (1985) stellte fest, dass zwei von drei Proben durch eine 30-minütige Bebrütung mit 55 °C im Wasserbad inaktiviert werden, während eine gleichlange Behandlung mit 60 °C zur Abtötung aller Proben führt. Eine noch geringere Wärmeverträglichkeit beschrieben HORIUCHI et al. (1983), die eine Inaktivierung des Erregers bei 45 °C innerhalb von einem Tag ermittelt haben und RYCKE-BOER et al. (2002), die bei der Vergärung beobachtet haben, dass bereits die 10 Stunden dauernde Materialerwärmung von 34 auf 48 °C eine letale Wirkung hatte. Nach Angaben von YLIMÄKI et al. (1983) und BRUNS et al. (1993) erfordert die Abtötung von *P. brassi-*

cae eine Einwirkung von 60 bis 70 °C über einen Zeitraum von mehr als sieben Tagen. BRUNS und GOTTSCHALL (1988) beschreiben widersprüchliche Ergebnisse zur Abtötung von *P. brassicae*. Sie stellten eine vollständige Inaktivierung des Erregers im Randbereich einer Kompostmiete fest und ein Überleben im stärker erwärmten Kern derselben Miete. Außerdem beobachteten sie, wie an ein und derselben Stelle einer Kompostmiete Erregerproben von *P. brassicae* nach siebenwöchiger Behandlung abgetötet wurden, während Proben, die noch weitere sieben Wochen gerottet wurden, infektiös blieben. Sie erklären diese Widersprüchlichkeiten mit inhomogenen Verhältnissen innerhalb der Miete (trockene Nester) oder Schwächen des Nachweisverfahrens im niedrigen Infektionsbereich. Bezüglich der Ungenauigkeit des Biotestes fordern sie eine methodische Weiterentwicklung des Testsystems, um eine stärkere Homogenisierung des Erregermaterials zu bewirken. In diesem Zusammenhang schlagen sie vor, dass die Infektionsstärke von Einlegeproben durch die Verwendung von Sporensuspensionen vereinheitlicht werden sollte. Eine Beeinflussung des Testsystems durch mikrobielle Rotteeinflüsse und toxische Substanzen wird von ihnen, ebenso wie von KNOLL et al. (1980), aufgrund der besonderen Tenazität² des Erregers ausgeschlossen. Diese Einschätzung wird durch Beobachtungen von BOLLEN et al. (1989) unterstützt, die unter dem mikrobiellen Einfluss einer 27-wöchigen Rotte bei weniger als 30 °C keine Beeinträchtigung der Infektiösität von *P. brassicae* festgestellt haben.

4.1.2 Begründung der Versuchsplanung I

Da die Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* in der Literatur sehr widersprüchlich dargestellt und häufig nur als gering beschrieben wird, wurde die Wärmeverträglichkeit des Erregers durch Laborversuche exakt analysiert. Anhand der Untersuchungen sollte bewertet werden, ob und ggf. unter welchen Voraussetzungen der Erreger, der aufgrund seiner unbestrittenen Rotteresistenz, aber möglicherweise falsch eingeschätzten Grundwärmeverträglichkeit als Indikator bei Hygieneuntersuchungen verwendet wird, verlässliche Ergebnisse liefern kann. Zur Berücksichtigung von möglichen Rassenunterschieden wurden dabei unterschiedliche Herkünfte des Erregers untersucht. Die Bebrütung der Proben wurde unter standardisierten Bedingungen im Wasserbad durchgeführt, da mit Ausnahme der Versuche von MARZINISZYN (1994) und NOBLE et al. (2004) alle Daten zur Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* auf Basis von Rotteversuchen mit schwankenden Temperaturprofilen abgeleitet wurden. Da auch die bislang unter Laborbedingungen durchgeführten Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen zu widersprüchlichen Ergebnissen geführt haben, wurde besonderer Wert auf eine exakte und definierte Wärmeeinwirkung gelegt, die insbesondere durch die submerse Behandlung der Proben im Wasserbad und eine absolute Konstanthaltung der Feuchtigkeit der Proben erreicht wurde (s. Methoden S. 13ff).

Mit den Untersuchungen sollten widersprüchliche Angaben zur Widerstandsfähigkeit von *P. brassicae* geklärt werden, um die Aussagekraft von Hygieneuntersuchungen gemäß BioAbfV, bei denen der Erreger als Indikator verwendet wird, bewerten zu können und das von KNOLL et al. (1980) für die Gesamtmüllkompostierung entwickelte und von BRUNS et al. (1994) an die Bioabfallkompostierung angepasste Testsystem ggf. zu optimieren. Als

² Widerstandsfähigkeit gegenüber diversen Umweltbedingungen

Optimierungsmöglichkeiten wurde anvisiert, Qualitätsansprüche (Mindestwärmeverträglichkeit) für Erregermaterial, das für Hygieneuntersuchungen verwendet werden soll, zu formulieren. Diese sind im Verordnungstext der BioAbfV derzeit nicht enthalten.

4.2 Untersuchungsergebnisse zur Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae*

4.2.1 Wärmeverträglichkeit von unterschiedlichen Proben aus Lagerbeständen

In Abb. 1 werden die Ergebnisse einer Wärmebehandlung mit schnell ansteigender Temperatur (1 °C je 30 Min.) dargestellt, bei dem acht Erregerproben aus Lagerbeständen in einem gemeinsamen Versuch schrittweise bis auf eine Temperatur von 50 °C erwärmt wurden. Als Gesamtergebnis der Untersuchungsreihe kann festgestellt werden, dass die acht untersuchten Proben sich in ihrer Wärmeverträglichkeit deutlich voneinander unterscheiden. Bei der Betrachtung des Inaktivierungsverlaufes, der durch die zunehmende Erwärmung der Proben bewirkt wurde, lassen sich vier verschiedene Reaktionsmuster erkennen. In einem Extrem sind Proben zu beobachten, die durch eine mittelstarke Ausgangsinfektiösität gekennzeichnet sind und die durch eine 6,5 Stunden dauernde Erwärmung auf 50 °C keine signifikante Abtötung erfahren (Proben 3 und 4). Im anderen Extrem werden Proben mit einer hohen Ausgangsinfektiösität bereits durch eine nur 2,5 Stunden dauernde Erwärmung auf 42 °C stark beeinträchtigt und spätestens durch eine Erwärmung auf 46 °C vollständig abgetötet (Proben 5 und 7). Die restlichen Proben nehmen eine Mittelstellung ein. Davon verliert ein Teil dieser Proben im Verlauf der Bebrütung kontinuierlich an Infektiösität und wird bei Temperaturen von weniger als 50 °C vollständig abgetötet (Proben 1 und 6). Die Proben der letzten Gruppe erfahren zunächst eine mitunter extreme Inaktivierung. Sie behalten aber bis zur höchsten Temperaturstufe eine geringe Restinfektiösität.

Bei der Betrachtung des Endergebnisses der Bebrütung können die untersuchten Proben in zwei Kategorien eingeteilt werden. Die eine Hälfte der Proben muss als schwach wärmeverträglich eingestuft werden, da sie spätestens bei 48 °C vollständig abgetötet werden. Ihre Wärmeverträglichkeit weicht stark von der aufgrund von Literaturangaben angenommenen Wärmeverträglichkeit des Erregers ab, die dazu geführt hat, *P. brassicae* als Testorganismus für Hygieneuntersuchungen gemäß BioAbfV vorgeschlagen wurde. Somit ist die Hälfte der untersuchten Proben im Hinblick auf Hygieneuntersuchungen als ungeeignet einzustufen. Die andere Hälfte der Proben wird durch eine schnelle Temperaturerhöhung auf 50 °C nicht vollständig inaktiviert und behält mit Ausnahme der Probe 8 eine Restinfektiösität, die über dem Grenzwert der BioAbfV von 0,5 Indexpunkten liegt.

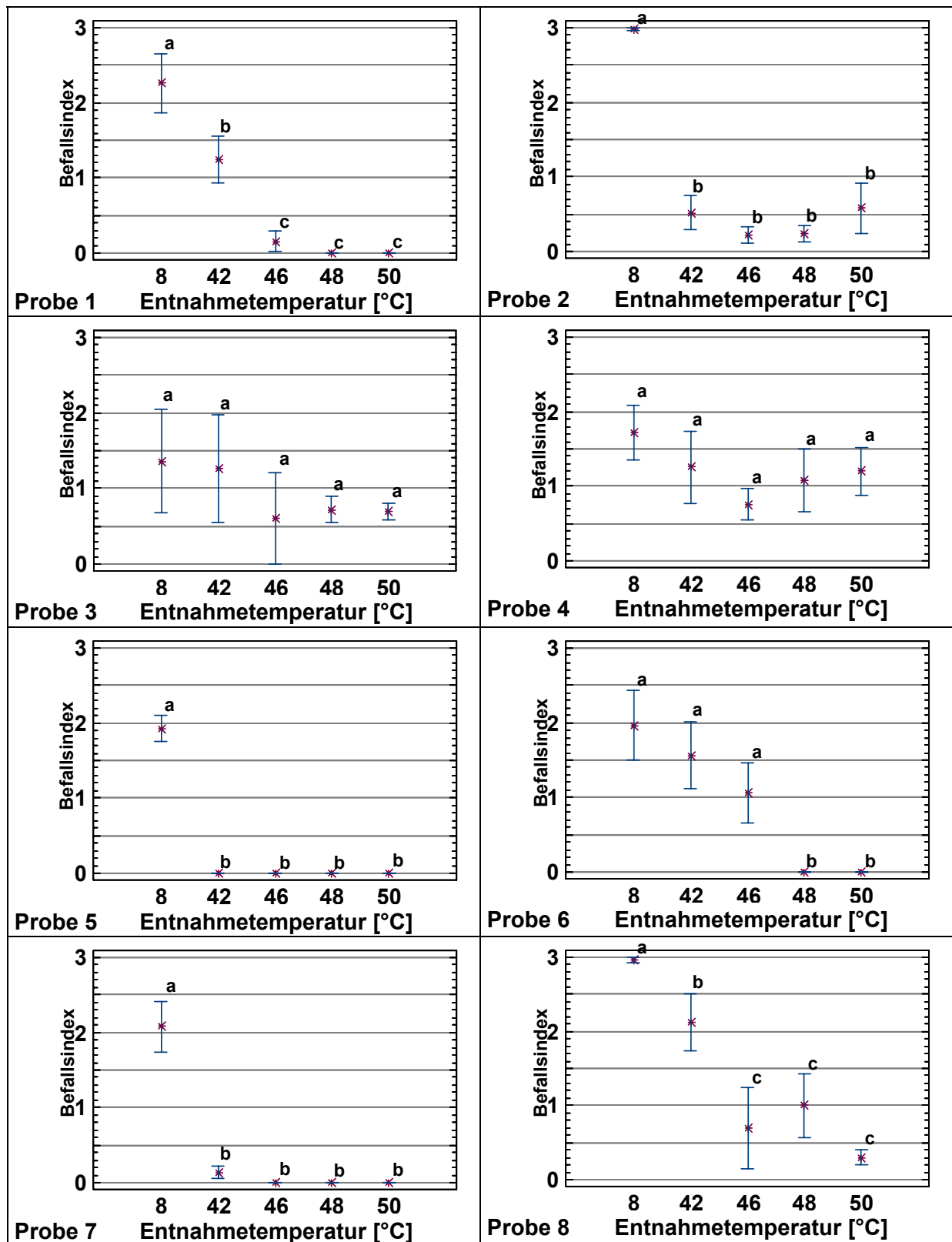


Abb. 1: Vergleich der Wärmeverträglichkeiten verschiedener Proben des Erregers *P. brassicae* aus Lagerbeständen gemessen an der Infektiösität zu verschiedenen Stadien der Behandlung (Index nach Buczacki)

Wärmebehandlung mit schnell steigender Temperatur (+1 °C/0,5 h.); 15 g gemörserte Galle, TS des Trägersubstrats = 70 %, n = 5; unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede einer einfaktoriellen Varianzanalyse (LSD-Test; $p \leq 0,05$), Streuungsbalken kennzeichnen individuelle Streuung; 8°C = Grundinfektiösität (Kühlschrankvariante)

Der Wert der wärmeverträglicheren Proben als Indikator für Hygieneuntersuchungen ist durch weitere Untersuchungen zu bestimmen. Dabei gilt es auch, die Streuung der Ergebnisse kritisch zu beobachten. In der vorliegenden Untersuchungsreihe sind auf allen Temperaturstufen und insbesondere bei den wärmeverträglicheren Proben extreme Streuungen zu beobachten. Eine hohe Ergebnisstreuung bedeutet, dass Einzelergebnisse mit einem hohen Zufälligkeitsfaktor behaftet sind. Zufälligkeiten können bei einem Testverfahren, das verallgemeinerbare und reproduzierbare Ergebnisse liefern soll, nicht akzeptiert werden.

Die gemeinsame Darstellung aller Daten im Box-Plot-Diagramm (Abb. 2) zeigt, dass die durchschnittliche Wärmeverträglichkeit der acht untersuchten Proben deutlich geringer ist als auf Basis der Literaturlauswertung angenommen werden konnte. Schon durch eine nur zwei Stunden dauernde Erwärmung auf 42 °C wird die Infektiösität von *P. brassicae* deutlich herabgesetzt, wodurch bei 50 % der Proben (Kerbe der Box-Plots) die Infektiösität auf $\leq 0,6$ Indexpunkte sinkt. Durch eine weitere Temperaturerhöhung auf 48 °C verliert bereits die Hälfte der Proben ihre Infektiösität vollständig (Median = 0) und 75 % der Proben verursachen Krankheitsgrade von $\leq 0,5$ Indexpunkten. Das arithmetische Mittel wird mit fortschreitender Inaktivierung durch einzelne stark infizierende Proben so stark beeinflusst, dass der Grenzwert der BioAbfV gegen Ende des Bebrütungsversuches nur knapp unterschritten wird.

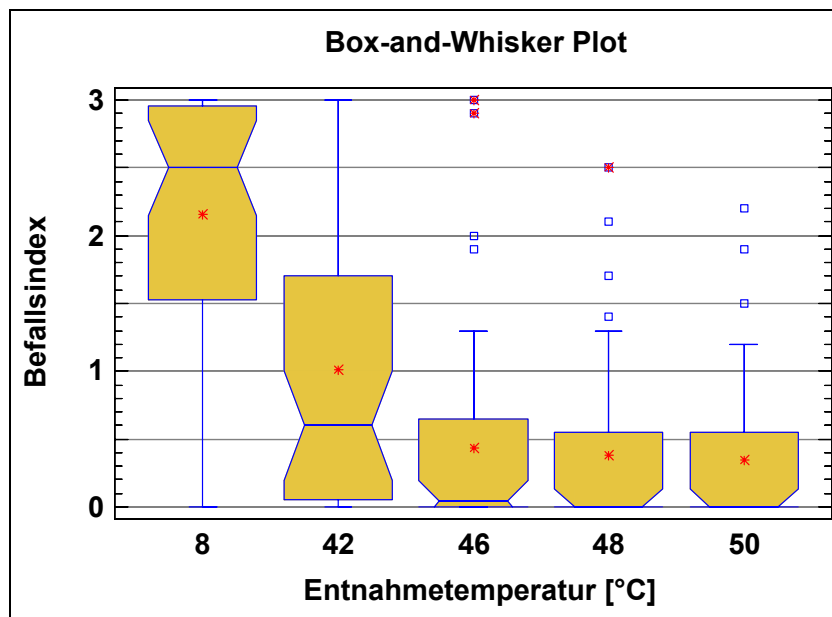


Abb. 2: Beeinflussung der Infektiösität von *P. brassicae* durch Bebrütung im Temperatursteigerungsversuch, gesamter Datensatz von 8 Proben, $n = 40$

Wärmebehandlung mit schnell steigender Temperatur (+1 °C/0,5 h.); 15 g gemörserte Galle, TS des Trägersubstrats = 70 %, $n = 40$; rote Sterne kennzeichnen arithmetisches Mittel, Kerbe der Box-Plots kennzeichnet Median, Rechtecke mit rotem Kreuz kennzeichnen Ausreißer (Abstand vom 25 bzw. 75 % Quantil ≥ 3 Interquantilabstände); 8°C = Grundinfektiösität (Kühlschrankvariante)

Durch die offenkundig gewordene Heterogenität des Erregermaterials und die in vielen Fällen nur geringe Wärmeverträglichkeit des Erregers sollten Ergänzungen an der BioAbfV

gefordert werden, in denen Qualitätsanforderungen an die Mindestwärmeverträglichkeit und Homogenität des Testerregers formuliert werden. Ohne diese Präzisierungen kann der Erreger aufgrund seiner Variabilität keine zuverlässige Indikatorfunktion erfüllen.

Als Grundlage für die Formulierung von Qualitätsansprüchen und zur Optimierung des Testsystems wurden weiterführende Untersuchungen durchgeführt. Eine Fragestellung (Kapitel 4.2.2) beschäftigte sich mit der Suche nach Erregermaterial, das über die von YLI-MÄKI et al. (1983) und BRUNS et al. (1993) beschriebene hohe Wärmeverträglichkeit verfügt. Bei der Beantwortung der Fragestellung sollten Erkenntnisse gesammelt werden, unter welchen Bedingungen dieses Material gewonnen werden kann. Mit dem Ziel, die Aussagegenauigkeit und Zuverlässigkeit des Testsystems zu verbessern, wurden in einem zweiten Forschungsansatz (Kapitel 4.2.3) Untersuchungen zur Steigerung der Homogenität des Erregermaterials durchgeführt. Dabei sollte überprüft werden, ob durch Aufbereitung von Gallenmaterial ein einheitlich und reproduzierbar reagierendes Ausgangsmaterial für Hygieneuntersuchungen gewonnen werden kann.

4.2.2 Ursachen für die heteroge Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae*

Bei der Suche nach wärmeverträglichem Infektionsmaterial wurden von unterschiedlichen Kohlanbauflächen Proben des Erregers *P. brassicae* gewonnen und hinsichtlich ihrer Wärmeverträglichkeit untersucht (s. Seite 15). Da die Krankheit aufgrund der Lebensweise des Erregers in Abhängigkeit von der Bodentemperatur und Bodenfeuchtigkeit nur sporadisch ausbricht, ist die Verfügbarkeit von natürlich entwickelten Beständen nur begrenzt. Der untersuchte Probensatz wurde 1997 gewonnen. Um Hinweise auf potenzielle Faktoren zu gewinnen, durch die die Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* bestimmt wird, wurden Proben mit unterschiedlichen Eigenschaften gewonnen (Tab. 12).

Tab. 12: Berücksichtigte Charakteristika der untersuchten Proben

Berücksichtigte Charakteristika	Potenzieller Einflussfaktor auf die Heterogenität
geografische Probenherkunft	Einfluss unterschiedlicher Rassenspektren auf die Infektiosität und Wärmeverträglichkeit
Wirtspflanze	Einfluss spezieller Beziehungen zwischen Pathogen und Wirtspflanze auf die Entwicklung des Erregers
Reifestadien	Einfluss der Sporenausreifung; Dickwandigkeit und TS-Gehalt der Dauersporen

Da *P. brassicae* während seiner Einwicklung und Ausreifung unterschiedliche Vermehrungszyklen und Entwicklungsstadien durchläuft, ist insbesondere ein Einfluss des Reifegrades auf die Wärmeresistenz zu vermuten. Dickwandige Dauersporen, die dem obligat biotroph lebenden Erreger ein jahrzehntelanges Überdauern im Boden ermöglichen, werden dabei erst im letzten Entwicklungsstadium des Erregers ausgebildet. Da insbesondere bei vollständig ausgereiften und gealterten Sporen eine besondere Wärmeverträglichkeit zu vermuten ist, wurden Bodenproben von aktuell infizierten Kohlanbauflächen gesammelt, auf denen schon über längere Zeit ein regelmäßiger Kohlherniebefall stattgefunden hat, wodurch eine große Wahrscheinlichkeit gegeben war, gealterte Dauersporen gewin-

nen zu können. Im Einzelnen wurden folgende Reifestadien bei der Probengewinnung berücksichtigt:

- festes, unzersetztes Gallenmaterial, das noch keine Dauersporen in den Boden freigesetzt hat;
- zerfallenes, eingetrocknetes Gallenmaterial;
- infektiöser Boden mit zersetztem Gallenmaterial, das die Dauersporen bereits vollständig freigesetzt hat.

Zur Bewertung der Wärmeverträglichkeit wurden die Proben bei 50 °C über einen Zeitraum von sieben Tagen bebrütet. Wie die in Tab. 13 aufgeführten Ergebnisse der Untersuchungsreihe zeigen, verfügen alle 12 im Jahr 1997 und die beiden im Jahr 1994 gewonnenen Proben über eine schwache Wärmeverträglichkeit. Gleichzeitig ist die Grundinfektiösität aller Proben als sehr hoch zu bewerten. Unbehandelte Proben verursachten ausnahmslos den höchstmöglichen Infektionsgrad von drei Indexpunkten. Bereits nach eintägiger Bebrütung mit 50 °C hatten alle Proben ihre Infektiösität vollständig verloren. Anders als die 1994 und 1997 gewonnenen Proben, wurde die aus Lagerbeständen stammende Probe 3 des Jahres 1993, die bereits im Rahmen des ersten Probenscreenings eine erhöhte Wärmeverträglichkeit angezeigt hat (Kapitel 4.2.1), nicht vollständig abgetötet. Im Gegensatz dazu hat die ebenfalls zu den wärmeverträglicheren Proben zählende Probe 2 des ersten Screenings im zweiten Screening eine vollständige Inaktivierung erfahren.

Auf Grundlage der Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe kann insgesamt festgestellt werden, dass neben einer Mehrzahl von Proben mit geringer Widerstandsfähigkeit einzelne wenige Proben über eine erhöhte Wärmeverträglichkeit verfügen können. Die gewonnenen Ergebnisse liefern keine Hinweise darauf, unter welchen Bedingungen Erregermaterial von *P. brassicae* mit derart hoher Wärmeverträglichkeit gewonnen werden kann, wie von YLIMÄKI (1983), BRUNS et al. (1993) und MARCINISZYN (1994) beschrieben wurde. Die Faktoren Wirtspflanze und Reifestadium können im Hinblick auf die Erlangung einer besonders hohen Wärmeverträglichkeit als nicht entscheidend eingestuft werden, da in der Kombination Blumenkohl/festes und breiiges Gallengewebe sowohl eine schwache als auch eine erhöhte Wärmeverträglichkeit zu beobachten sind. Obwohl auf keinem der 1997 beprobten Standorte Proben mit erhöhter Wärmeverträglichkeit gefunden wurden, kann wegen der nur einmal durchgeführten Beprobung nicht gänzlich ausgeschlossen werden, dass durch Beprobung anderer Standorte anders reagierende Proben gefunden werden. Durch das breit angelegte Probenscreening wird die Wahrscheinlichkeit, hochwärmeverträgliche Proben zu finden, jedoch als gering eingeschätzt. Die Ergebnisse der wärmeverträglichen Probe 3 bedürfen einer genaueren Betrachtung, da die Inaktivierung von einem normalen Inaktivierungsmuster abweicht. Erwartungsgemäß hätten die Proben eine sukzessive Verringerung ihrer Infektiösität mit zunehmender Behandlungsdauer zeigen müssen. Wie die in Abb. 3 detailliert dargestellten Ergebnisse veranschaulichen, waren jedoch die weniger lang behandelten Proben abgetötet, während drei von vier der am längsten behandelten Proben die Bebrütung unter Einbuße ihrer Infektiösität überlebten. Ihre Infektiösität lag im Mittel bei 0,9 Indexpunkten, ist jedoch insgesamt als sehr heterogen zu bewerten, da die Einzelwerte der vier Wiederholungen über einen Bereich von 0 bis 1,3 Indexpunkten streuten.

Tab. 13: Erkrankungsgrad (Index nach Buczacki) von Sarepta-Senfpflanzen (*Brassicae juncea*), Sorte „Vittasso“ in Abhängigkeit von der Dauer einer Wärmebehandlung verschiedener Infektionsmaterialien mit 50 °C, n = 4
15 g gemörserte Galle, TS des Trägersubstrats = 70 %

Standort	Ernte-jahr	Kultur	Probe	Beschreibung des Reifestadiums	Behandlungsdauer [Tage]			
					0	1	3	7
Lohfelden Nordhessen	1994	Spitzkohl	1	Festes Gallengewebe	3,0	0,0	0,0	0,0
		Rotkohl	2	Festes u. breiiges Gallengewebe	3,0	0,0	0,0	0,0
Unbekannt	1993	Weißkohl	3	Festes u. breiiges Gallengewebe	3,0	0,0	0,0	0,9
Cuxhaven Standort A Niedersachsen	1997	Weißkohl	9	Festes u. breiiges Gallengewebe	3,0	0,0	0,0	0,0
			10	Zersetztes Gallengewebe	3,0	0,0	0,0	0,0
			11	Infizierter Boden	3,0	0,0	0,0	0,0
Cuxhaven Standort B Niedersachsen	1997	Weißkohl	12	Festes u. breiiges Gallengewebe	3,0	0,0	0,0	0,0
			13	Zersetztes Gallengewebe	3,0	0,0	0,0	0,0
		Rotkohl	14	Festes u. breiiges Gallengewebe	3,0	0,0	0,0	0,0
			15	Zersetztes Gallengewebe	3,0	0,0	0,0	0,0
Oldenburg Niedersachsen	1997	Wirsing	16	Festes u. breiiges Gallengewebe	3,0	0,0	0,0	0,0
			17	Zersetztes Gallengewebe	3,0	0,0	0,0	0,0
Neu-Eicheberg Nordhessen	1997	Weißkohl	18	Festes u. breiiges Gallengewebe	3,0	0,0	0,0	0,0
		Rotkohl	19	Zersetztes Gallengewebe	3,0	0,0	0,0	0,0
			20	Boden mit Gallenrückständen	3,0	0,0	0,0	0,0

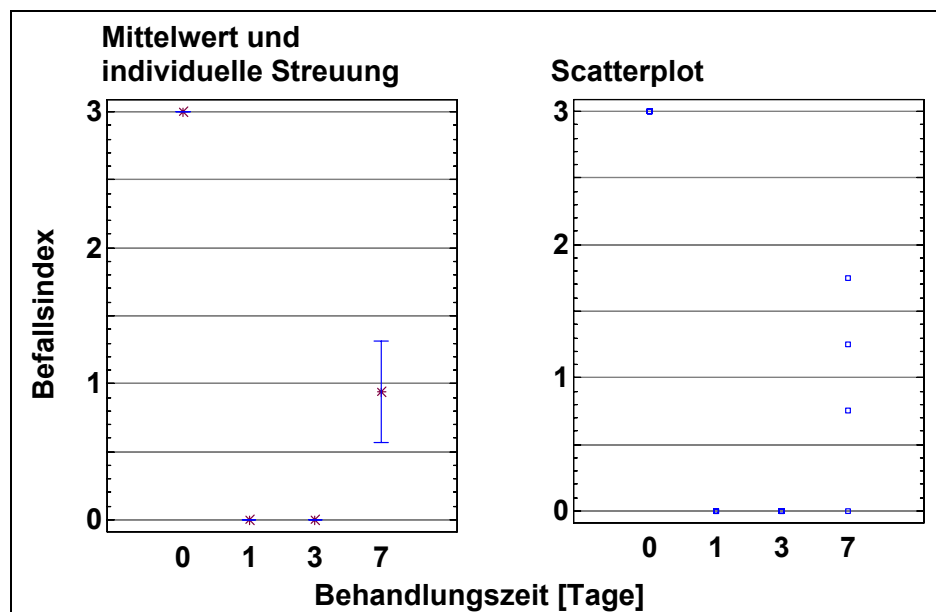


Abb. 3: Erkrankungsgrad (Index nach Buczacki) von Sarepta Senf mit *P. brassicae* (Probe 3) in Abhängigkeit von der Bebrütungszeit der Erregerproben bei 50 °C
15 g gemörserte Galle, TS des Trägersubstrats = 70 %, n = 4, Herkunft unbekannt, Wirtspflanze Weißkohl

Insgesamt kann für das zweite Probenscreening resümiert werden, dass aufgrund der schwachen Wärmeverträglichkeit oder der unzuverlässigen Reaktion keine der 15 getesteten Proben für Hygieneuntersuchungen empfohlen werden kann. Mit 14 Proben muss die überwiegende Mehrzahl der getesteten Proben als wenig wärmeverträglich eingestuft werden. Bei einer Verwendung solcher Proben im Rahmen von Hygieneuntersuchungen können keine Rückschlüsse auf eine erfolgreiche Hygienisierung gezogen werden, da viele Pathogene über eine höhere Wärmeverträglichkeit verfügen. Auch die Verwendung der einzigen Probe, die als wärmeverträglich einzustufen ist, kann nicht empfohlen werden. Aufgrund der Heterogenität und der im Verlauf der Wärmebehandlung nicht erwartungsgemäßen Reaktion der Probe, lässt die Qualität des Probenmaterials keine reproduzierbaren Ergebnisse erwarten.

4.2.3 Versuch zur Steigerung der Homogenität von Erregerproben durch Verwendung von Dauersporensuspensionen mit definierter Sporendichte

Aufgrund der nicht konstanten Ergebnisse, die Probe drei im Rahmen des ersten Probenscreenings gezeigt hat (Abb. 1), wurde in einer weiteren Untersuchungsreihe überprüft, ob durch eine Homogenisierung und Standardisierung des Erregermaterials die Aussagekraft und Aussagegenauigkeit gesteigert werden kann.

Nach MATTUSCH et al. (1988) ist die Infektionswahrscheinlichkeit bei gleichen Infektionsbedingungen (Bodentemperatur, Bodenfeuchtigkeit, pH-Wert, Wirtspflanze etc.) von der Konzentration der Dauersporen abhängig. Im Rahmen der oben dargestellten Versuchsreihen wurde wie in allen in der Literatur beschriebenen Rotte- und Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen die Erregermenge über das Gewicht des verwendeten Gallenmaterials definiert. Da durch das Gewicht einer Probe die Sporendichte nicht exakt definiert ist (HORIUCHI und HORI 1980), könnten hierdurch eventuell Infektionsunterschiede bedingt worden sein. Die mittlere Sporendichte je Gramm Gallenmaterial wird nach HORIUCHI und HORI (1980) mit etwa 10^8 bis 10^9 Sporen angegeben. Durch die Herstellung von Erregerproben mit definierter Sporenkonzentration sollte überprüft werden, ob durch eine Standardisierung der Erregerdichte die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse verbessert und die Ergebnisstreuung verringert werden kann. Zur Bestimmung der Infektiösität in Abhängigkeit von der Erregerdichte wurde der Kohlherniebefall von Senfpflanzen bei unterschiedlichen Sporenkonzentrationen im Rahmen einer Verdünnungsreihe bewertet (Meth. s. Seite 17).

In einer parallel durchgeführten Untersuchungsreihe wurde zusätzlich der Wärmeeinfluss von 50 °C auf die Infektiösität der unterschiedlich konzentrierten Proben beobachtet und der Einfluss der Wärmebehandlung und auf die Homogenität der Ergebnisse gemessen. Durch einen Vergleich der Ergebnisse der Verdünnungsreihe mit denen des Bebrütungsversuches sollte der Umfang der wärmebedingten Sporenabtötung, wodurch ebenfalls eine Verringerung(Verdünnung) infektiöser Sporen bewirkt wird, abgeschätzt werden.

Die in Abb. 4 dargestellten Ergebnisse der Verdünnungsreihe zeigen, dass die Infektiösität von *P. brassicae* mit abnehmender Sporenkonzentration die erwartete Verringerung erfährt. Dabei liegen das arithmetische Mittel und der Median bis zu einer Verdünnung auf 10^5 Sporen je Liter eng beieinander. Die Ergebnisse der nächsten Verdünnungsstufe (10^4

Sporen/Liter) sind durch eine extrem große Streuung gekennzeichnet. Während die Hälfte der Proben nicht mehr infizierte, streuten die Ergebnisse der anderen vier Proben bis fast ans obere Ende der Skala. Aufgrund dieser schiefen Verteilung weichen das arithmetische Mittel (Index = 0,48) und der Median (Index = 0,07) in diesem Konzentrationsbereich deutlich voneinander ab. Bei einer Konzentration von 10^3 Sporen pro Liter wurde die Nachweisgrenze unterschritten. Dieser Wert entspricht Angaben von MATTUSCH et al. (1988), die erst ab einer Konzentration von 10^3 Sporen pro Liter erste leichte Infektionen beobachtet haben.

Im Gegensatz zu Verdünnungsreihen mit Viren (KLECZKOWSKI 1968) geht die Verringerung der Infektiösität von *P. brassicae* nicht mit einer Verringerung der Ergebnisstreuung einher. Wie in Abb. 4 dargestellt ist, steigt die absolute Streuung mit zunehmender Verdünnung von 0,44 bei 10^8 Sporen pro Liter auf 0,92 bei 10^4 Sporen pro Liter. Gleichzeitig wächst die relative Streuung von 16,0 % auf 192,2 %. Dementsprechend muss bei der wärmebedingten Abtötung von *P. brassicae*, die letztendlich ebenfalls einer Verringerung lebensfähiger Sporen entspricht, mit einer hohen Ergebnisstreuung gerechnet werden.

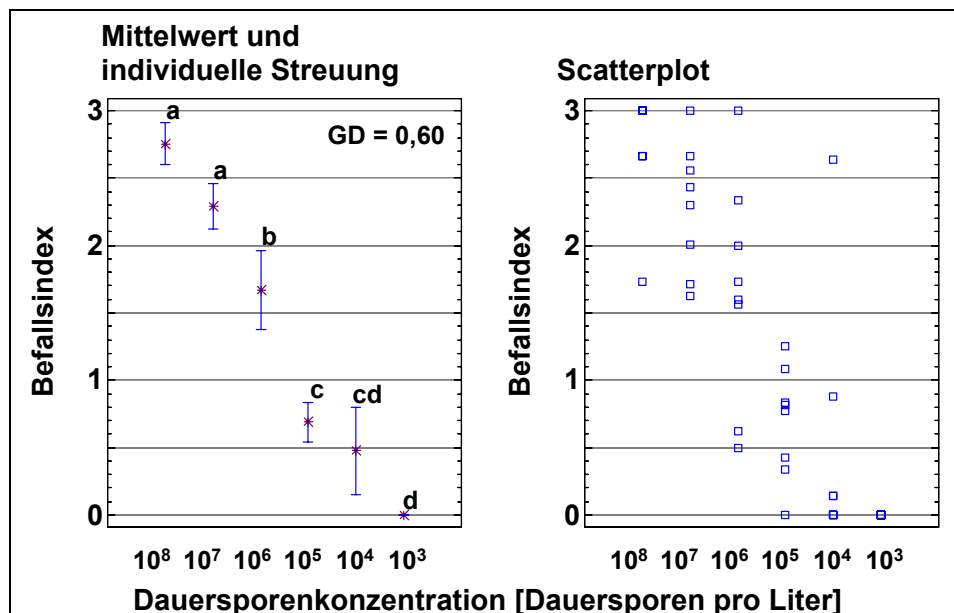


Abb. 4: Grundinfektiösität des Erregers *P. brassicae* in Abhängigkeit von der Dauersporenkonzentration, n = 8

Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede einer einfaktoriellen Varianzanalyse (LSD-Test; $p \leq 0,05$), Streuungsbalken kennzeichnen individuelle Streuung, GD = Grenzdifferenz, Rechtecke mit rotem Kreuz kennzeichnen Ausreißer (Abstand vom 25 bzw. 75 % Quantil ≥ 3 Interquantilabstände)

Auf Basis der vorliegenden Untersuchungen sind im Bereich des Grenzwertes der Bio-AbfV, der 0,5 Indexpunkte beträgt, die Aussagekraft und die Zuverlässigkeit von Testergebnissen aufgrund der extrem hohen Streuung äußerst gering. Bei einem durchschnittlichen Befallsgrad von 0,5 Indexpunkten, der in der vorliegenden Untersuchung im Konzentrationsbereich von 10^4 bis 10^5 Sporen pro Liter bewirkt wird, streuen die Einzelergebnisse von 0 bis maximal 2,6 Indexpunkte (s. Scatterplot). Die Schwelle für sichere Infektionen, die nach ROBERTS et al. (1993) eine Infektionswahrscheinlichkeit von 95 % der getesteten Pflanzen voraussetzt, wurde bei einer Konzentration von 10^5 Sporen pro Liter er-

reicht. In diesem Konzentrationsbereich wurde bei den Nachweispflanzen ein durchschnittlicher Erkrankungsgrad von 0,69 Indexpunkten gemessen. Nach STANIASZEK et al. (2001) liegt die Mindestkonzentration für einen sicheren Nachweis von *P. brassicae* im Biotest mit 10^6 Sporen pro Liter Boden um eine Potenzstufe höher als in der vorgestellten Untersuchungsreihe. Hier wurde die Infektion von 95 % der Pflanzen eventuell schon bei einer Konzentration von 10^5 Sporen pro Liter erreicht, weil die Streuung der Ergebnisse relativ gering war. Die im Scatterplot-Diagramm dargestellten Daten veranschaulichen, wie empfindlich der Mittelwert im Bereich der unsicheren Infektionen mit *P. brassicae* reagiert. Lediglich durch einen Extremwert wird der Grenzwert in der Konzentrationsstufe 10^4 Sporen pro Liter fast erreicht.

Die in Tab. 14 dargestellten Ergebnisse des Bebrütungsversuches bei 50 °C zeigen, dass durch die Herstellung von Proben mit definierter Sporenkonzentration die beabsichtigte Homogenisierung nicht erreicht wird.

Tab. 14: Infektiösität von Dauersporensuspensionen des Erregers *P. brassicae* (eingemischt in Einheitserde) in Abhängigkeit von der Bebrütungsdauer bei 50 °C und der Dauersporenkonzentration

Erkrankungsgrad von Sarepta Senf ‚Vittasso‘ nach Buczacki, Trägersubstrats = 70 % TS, n = 8

		Konzentrationsstufen [Dauersporen/Liter Substrat]			
Bebrütungsdauer		10^5	10^6	10^7	10^8
Kontrolle		0,69	1,67	2,29	2,76
6	Std.	0	0	0,12	0
12	Std.	0,04	0	0	0
18	Std.	0	0,13	0	0
24	Std.	0	0	0	0
2	Tage	0,04	0	0	0
3	Tage	0,02	0	0	0,11
4	Tage	0	0	0	0
5	Tage	0	0	0	0
6	Tage	0	0	0	0

Bereits nach sechs Stunden war der eigentliche Inaktivierungsprozess, unabhängig von der Ausgangskonzentration der Proben, abgeschlossen. Dieses Ergebnis bestätigt die zuvor gewonnene Erkenntnis, dass der Erreger im Bereich von 50 °C bereits innerhalb kürzester Zeit weitestgehend inaktiviert wird. Die nach PRECHT et al. (1955) zu erwartende Abhängigkeit zwischen der Erregerdichte und Wärmeverträglichkeit von Proben konnte durch die schnelle Inaktivierung zu Versuchsbeginn nicht festgestellt werden. Die sporadischen Infektionen, die von einzelnen Proben bis zu einer Behandlungszeit von drei Tagen zu beobachten sind, können als weiteres Indiz für die Heterogenität des Erregermaterials gewertet werden. Auf Grundlage der Untersuchungsreihe mit definierten Sporenkonzentrationen kann mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden, dass die in vorangegangenen Untersuchungen festgestellte Heterogenität durch unterschiedliche Sporenkonzentrationen der verwendeten Proben verursacht wurde. Da selbst bei einer

geringen Konzentration von 10^5 Sporen pro Liter noch nach dreitägiger Bebrütung geringe Infektionen verursacht wurden, kann vermutet werden, dass eine sehr geringe Anzahl von wärmeverträglichen Dauersporen für diese Infektionen verantwortlich ist. Diese Sporen scheinen sehr ungleichmäßig verteilt zu sein, wobei es unplausibel erscheint, dass durch eine Steigerung der Sporendichte die Infektionswahrscheinlichkeit bei längeren Behandlungszeiten (> 6 Std.) nicht zunimmt.

Insgesamt liefern die Ergebnisse der Versuchsreihe einen weiteren Beleg für die Variabilität der Wärmeverträglichkeit des Erregers. Sie bestätigen ebenfalls, dass die Hauptinaktivierung des Erregers keine besonders hohen Temperatursprüche stellt. Gemessen an der Variante mit der höchsten Konzentration wurde die Infektiosität aller Proben bei 50 °C innerhalb weniger als sechs Stunden um mehr als vier Zehnerpotenzen verringert (vgl. Abb. 4) und auf Werte reduziert, die deutlich niedriger liegen als der von der BioAbfV zum Hygienennachweis erforderlich Grenzwert. Da gelegentliche Infektionen selbst in Proben mit geringer Sporendichte bis zu einer Behandlungsdauer von drei Tagen zu beobachten waren, wird vermutet, dass bereits eine sehr geringe Anzahl an besonders widerstandsfähigen Sporen für sporadische Infektionen verantwortlich ist. Diese sind die auch nach längeren Wärmebehandlungen noch infektiös. Ihre Verteilung scheint sehr ungleichmäßig zu sein, und das Vorkommen in höheren Konzentration, was auch nach längeren Wärmebehandlungen zu stärkeren Erkrankungen führen könnte, ist möglicherweise nur selten anzutreffen.

4.2.4 Einfluss des TS-Gehaltes auf die Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae*

Wie in Kapitel 5 dargestellt wird, besitzen hartschalige Kleesamen eine besonders hohe Wärmeverträglichkeit, da die Hartschaligkeit ihre Wasseraufnahmefähigkeit behindert. Da von Samen bekannt ist, dass ihre Wärmeverträglichkeit mit zunehmendem TS-Gehalt der Samen steigt (ELLIS und ROBERTS 1980a, POLLMANN 1995, ELLIS et al. 1986), könnten ähnliche Wirkungen möglicherweise auch die Widerstandsfähigkeit von Dauersporen erhöhen. Um zu überprüfen, ob die gelegentlich zu beobachtende hohe Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* vielleicht durch einen Anteil an besonders trockenen Dauersporen bewirkt wurde, wurde in einer Versuchsreihe die Widerstandsfähigkeit des Erregers unter besonders trockenen Bedingungen überprüft. Hierzu wurde Erregermaterial bei 30 °C langsam auf TS-Gehalte von 70 bis 95 % getrocknet.

Die Versuchsreihen mit sehr trockenem Erregermaterial, das zu je 25 g (TS) aus Gallenmaterial und infiziertem Boden zusammengesetzt war, zeigte, dass die Wärmeverträglichkeit des Erregers unter sehr trockenen Bedingungen deutlich zunimmt (Tab. 15). Eine nennenswerte Erhöhung seiner Widerstandsfähigkeit erlangt der Erreger jedoch erst im Bereich von mehr als 90 % TS-Gehalt. Eine mehrtägige Bebrütung mit mehr als 50 °C haben nur Proben mit einem TS-Gehalt von 95 % überlebt. Da eine starke Entfeuchtung des auf der Bodenoberfläche befindlichen Gallenmaterials bei intensiver Sonneneinstrahlung nicht auszuschließen ist, könnte eine sporadisch auftretende erhöhte Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* durch besonders geringe TS-Gehalte von Dauersporen verursacht werden. Unter der Voraussetzung eines gehemmten Feuchtigkeitsaustausches mit dem Umgebungsmaterial könnte die variable Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* somit durch unterschiedlich trockene Dauersporen bedingt sein.

Tab. 15: Infektiösität von getrockneten Erregerproben des Erregers *P. brassicae* in Abhängigkeit vom TS-Gehalt des Erregermaterials und der maximalen Bebrütungstemperatur

je 25 g TS Gallenmaterial und infizierter Boden, Erkrankungsgrad nach Buczacki, Temperatursteigerung = +2 °C/0,5 Tage, Anfangstemperatur = 38 °C, n = 3

	Maximale Bebrütungstemperatur				
TS-Gehalt	42 °C	46 °C	50 °C	54 °C	58 °C
95 %	3,00	2,78	2,74	0,92	0
90 %	3,00	2,73	0	0	0
80 %	3,00	0,04	0	0	0
70 %	3,00	0	0	0	0

4.3 Untersuchungsergebnisse zur Wärmeverträglichkeit phytopathogener Pilze

Neben der einheitlichen und prognostizierbaren Reaktion (Homogenität) auf eine Wärmeeinwirkung ist für die Qualität eines Indikators vor allem dessen Wärmeverträglichkeit in Relation zur Wärmeverträglichkeit anderer Pathogene von entscheidender Bedeutung. Zur Einordnung der Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* und als Orientierung für alternative Indikatororganismen wurde die maximale Wärmeverträglichkeit von sechs weiteren phytopathogenen Erregern ermittelt. Für ein erstes Screening wurde das Behandlungsverfahren mit stufenweise langsam steigender Temperatureinwirkung (+2 °C/0,5 Tage) angewendet. Es erlaubt einen direkten Vergleich der zeitgleich behandelten Erreger und einen indirekten Vergleich mit der unter Punkt 4.2.4 ermittelten Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae*.

Bei der Auswahl der getesteten Phytopathogene wurden insbesondere Fusarien beachtet, denen eine besondere Wärmeverträglichkeit zugesprochen wird. Bei 55 °C wird als erforderliche Abtötungsdauer eine Zeit von vier Tagen (SUAREZ et al. 2003) bis zu 21 Tagen (BOLLEN 1985b) angegeben. Die Angaben von BOLLEN (1985b) sind aufgrund schwankender Temperaturen und ungenauer Temperaturgenauigkeit (± 10 °C) jedoch als wenig präzise einzuschätzen. Von dieser Gattung wurden vier verschiedene Subspezies (Abb. 5) getestet, da ebenfalls Untersuchungen von BOLLEN (1985b) darauf hindeuten, dass sich die Subspezies hinsichtlich ihrer Wärmeverträglichkeit unterscheiden könnten.

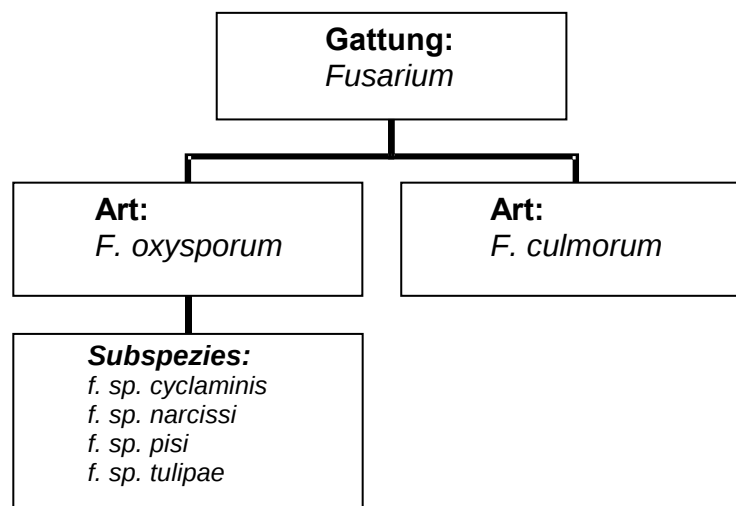


Abb. 5: Verwandtschaftsbeziehung der untersuchten Fusarien

Die Ergebnisse der Untersuchungsreihe bestätigen sowohl die besondere Wärmeverträglichkeit von *F. oxysporum* als auch die Unterschiede zwischen den einzelnen Subspezies der Gattung *F. oxysporum*. Die höchste Wärmeverträglichkeit besaß *F. oxysporum* f. sp. *narcissi*. Die Abtötung des Pilzes erfordert bei einer stufenweisen Temperaturerhöhung von +2° C je 0,5 Tage einen Temperaturanstieg auf 54 °C. Da der TS-Gehalt des Erregers während der Behandlung sehr gering war, weil für die Untersuchung ausgestanzte Agar-scheiben (Ø 8 mm) von ausgereiften Reinkulturen verwendet wurden, lassen die oben gezeigten Versuchsergebnisse vermuten, dass für die Abtötung des Pilzes unter trockeneren Verhältnissen eine noch höhere Wärmezufuhr erforderlich sein wird. Im Vergleich dazu erfolgte die Abtötung von trockenen (70 % TS) bis sehr trockenen Proben des Pilzes *P. brassicae* deutlich früher als die von *F. oxysporum* f. sp. *narcissi* unter feuchten Bedingungen. Auch die Wärmeverträglichkeit der anderen Subspezies des Pilzes *F. oxysporum* zeigten unter feuchten Bedingungen eine höhere Wärmeverträglichkeit als *P. brassicae* bei 70 % TS-Gehalt. Die Inaktivierung von *F. oxysporum* f. sp. *pisi* und *F. oxysporum* f. sp. *tulipae* erfolgte auf der gleichen Temperaturstufe wie *P. brassicae* unter sehr trockenen Bedingungen (90 % TS-Gehalt).

Die Gattung *F. culmorum* verfügt über keine besondere Wärmeverträglichkeit. Mit einer Abtötung auf der 42 °C-Temperaturstufe ist die Widerstandsfähigkeit des Pilzes als ebenso schwach zu beurteilen wie die des Pilzes *S. sclerotiorum*. Beide Pilze sind als wenig wärmeverträglich einzustufen. Trotzdem ist ihre Wärmeverträglichkeit höher einzuordnen als die der wenig wärmeverträglichen Proben von *P. brassicae* (Abb. 1, Probe 5).

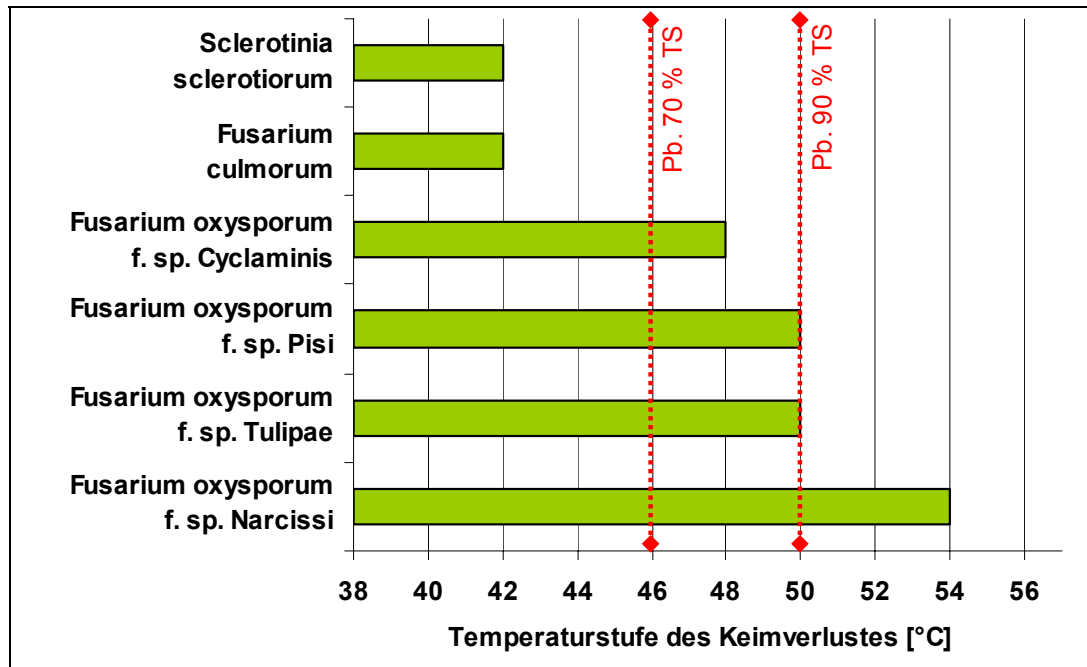


Abb. 6: Abtötungszeitpunkte von Phytopathogenen im Vergleich zu unterschiedlich trockenem Gallenmaterial von *P. brassicae* bei Bebrütung mit stufenweise ansteigender Temperatur

Temperatursteigerung = +2°C/0,5 Tage; Anfangstemperatur = 38 °C

4.4 Bewertung der Untersuchungsergebnisse I

Dem Erreger *P. brassicae* werden in der Literatur eine hohe Rotteresistenz und eine gute Wärmeverträglichkeit zugesprochen. Der Erreger erlangt seine Widerstandsfähigkeit durch die Bildung von Dauersporen, die er zur Überwinterung bzw. zur Überbrückung von Zeiträumen, in denen keine Wirtspflanzen für seine Entwicklung zur Verfügung stehen, ausbildet. Im Dauersporenstadium besitzt der Erreger eine hohe saprophytische³ Widerstandsfähigkeit. Durch diesen Schutz vor mikrobiellen Abbauvorgängen im Boden kann *P. brassicae* fast 20 Jahre im Boden überdauern (BUCZACKI 1974, WALLENHAMMAR 1996). Die Ausbildung von Dauersporen schützt den Erreger auch vor mikrobiellen Abbauprozessen der Kompostierung. Nach BOLLEN et al. (1989) erfolgt die Abtötung des Erregers bei der Kompostierung primär über den Einfluss der Wärme, da er festgestellt hat, dass die Infektiösität von *P. brassicae* durch eine 27-wöchige Rotte mit einer Temperatur von weniger als 30 °C nicht beeinträchtigt wird. Aufgrund dieser saprophytischen Widerstandsfähigkeit wird *P. brassicae* bei Hygieneuntersuchungen gemäß BioAbfV als Indikator für die wärmebedingte Abtötung von Phytopathogenen verwendet. Anhand seines Verhaltens (Überleben/Absterben) soll die wärmebedingte Abtötung anderer Phytopathogene angezeigt werden. Dies setzt voraus, dass *P. brassicae* über eine höhere Wärmeverträglichkeit verfügt als Pathogene, deren Abtötung angezeigt werden soll.

Widersprüchliche und in weiten Spannen schwankende Literaturangaben zur Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae*, die die Indikatorfunktion des Erregers stark infrage stellen, waren Anlass für Untersuchungen, in denen die Wärmeverträglichkeit des Erregers unter Betrachtung unterschiedlicher Einflussfaktoren überprüft wurde. Dabei sollte geklärt werden, ob die nicht einheitlichen Angaben zur Wärmeverträglichkeit möglicherweise aus einer nicht exakten Interpretation des Wärmeeinflusses resultieren. Bedenken resultierten aus der Tatsache, dass viele Angaben zur Wärmeverträglichkeit von Rotteversuchen abgeleitet worden sind. Diese Versuche sind zur Beschreibung exakter Temperatur-Zeit-Beziehung, die zur Abtötung von Pathogenen führen, nicht optimal, da

- ein zu weitmaschiges Beprobungsintervall häufig keine Bestimmung des exakten Abtötungszeitpunktes ermöglicht hat;
- durch schwankende Temperaturverläufe die tatsächliche Höhe der Wärmeeinwirkung nicht exakt erfasst werden konnte;
- ein grob gerastertes Temperaturmessprogramm, was sowohl die räumliche Temperaturerfassung in der Miete (Anzahl Messstellen und Nähe zur Einlegeprobe) als auch die zeitliche Temperaturerfassung (Anzahl Messungen pro Tag) anbetrifft, keine hinreichend exakten Daten bereit stellt.

Wobei jedoch auch Ergebnisse von stärker standardisierten Laborversuchen (MARCINISZYN 1984, RYCKEBOER et al. 2002, NOBLE et al. 2004) kein einheitliches Ergebnis geliefert haben.

³ Saprophyten = Von organischem Substrat lebende Pilze und Bakterien

4.4.1 Bewertung der Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae*

Zur genauen Beschreibung der zur Abtötung von *P. brassicae* erforderlichen Temperatur-Zeit-Beziehung wurden aus oben genannten Gründen Wasserbadversuche durchgeführt, bei denen die Einflussfaktoren auf die Erregerabtötung (Temperatur, Dauer der Behandlung und TS-Gehalt der Probe) exakt eingestellt und erfasst wurden. Die Versuchsergebnisse zeigen, dass die Wärmeverträglichkeit des Erregers trotz konstanter Versuchsbedingungen nicht exakt zu beschreiben ist und, wie in der Literatur beschrieben, in weiten Spannen schwanken kann. Insgesamt scheint dabei die durchschnittliche Wärmeverträglichkeit des Erregers deutlich geringer zu sein, als bislang angenommen wurde. Anhand der Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen ist davon auszugehen, dass die Mehrzahl der Proben bei 50 °C in weniger als einem Tag vollständig abstirbt, und dass häufig bereits eine Inaktivierung des Erregers innerhalb weniger Stunden bei Temperaturen zwischen 42 und 48 °C stattfindet.

Hochwärmeverträgliche Proben, wie von BRUNS und GOTTSCHALL (1988), MARCINISZYN (1994) und NOBLE et al. (2004) beschrieben, konnten in keiner der 20 untersuchten Proben gefunden werden. NOBLE et al. (2004) haben ebenfalls unter definierten Laborbedingungen nachgewiesen, dass der Erreger im Extremfall eine Behandlungsdauer von sieben Tagen bei 60 °C überleben kann. Sie stellten jedoch gleichzeitig auch eine schnelle Abtötung bei deutlich niedrigeren Temperaturen fest, da andere Proben ihre Infektiösität bereits bei 40 °C in weniger als sieben Tagen oder bei 50 °C in weniger als drei Tagen vollständig eingebüßt hatten. MARCINISZYN (1994) beschreibt, dass eine Probe, die 21 Tage mit 50 °C in einem Substrat mit 70 % TS-Gehalt bebrütet worden war, noch eine geringe Restinfektiösität besaß, während andere Proben bereits nach einem, drei, sieben und 10 Tagen abgetötet waren. Insgesamt bestätigen die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen die sowohl von MARCINISZYN (1994) als auch die von NOBLE et al. (2004) beschriebene Heterogenität des Erregers, dessen Wärmeverträglichkeit in weiten Spannen zu variieren scheint.

Da bei Hygieneuntersuchungen nur ein Grenzwert von 0,5 Indexpunkten zu unterschreiten ist, wird die Aussagekraft des Indikators noch zusätzlich abgeschwächt. Durch die nachgewiesene Heterogenität und die häufig nur geringe Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* liefert der Indikatororganismus im Rahmen von Hygieneuntersuchungen keine zuverlässige Information für die Abtötung wärmeverträglicher Pathogene. Wegen des häufigen Vorkommens von schwach wärmeverträglichen Erregerproben ist eine große Wahrscheinlichkeit gegeben, dass der Grenzwert der BioAbfV allein durch die Mittelwertbildung positiver Befunde von wärmeverträglichen Proben und negativer Befunde von wärmeunverträglichen Proben unterschritten wird.

4.4.2 Möglichkeiten der Gewinnung von wärmeverträglichen Proben

Zur Optimierung des bestehenden Testverfahrens wurden Untersuchungen durchgeführt, um Erkenntnisse zu gewinnen, ob, und wenn ja, unter welchen Bedingungen wärmeverträgliche Proben von *P. brassicae* gewonnen werden können. Aus vielen Untersuchungen, die sich mit dem Vorkommen von *P. brassicae* und der Züchtung resistenter Pflanzen beschäftigen, ist bekannt, dass der Erreger geografisch in verschiedenen Rassen vorkommt

(MACFARLANE 1955, BUCZACKI et al. 1975, JONES et al. 1982, FÄHLING 2003). Da sich diese Rassen in ihrer Pathogenität unterscheiden können (HOLLIDAY 1992, SOME et al. 1996, WALLENHAMMAR 1996), wurden auf unterschiedlichen Standorten Proben gewonnen und hinsichtlich ihrer Wärmeverträglichkeit getestet. Da nach wie vor nicht alle Abschnitte des Lebenszyklus eindeutig geklärt sind (AIST 1977, BUCZACKI 1983, HOLLIDAY 1992) und spezielle Wirt-Parasit-Beziehungen nicht auszuschließen sind, wurden die Proben in unterschiedlichen Reifestadien und von unterschiedlichen Kulturpflanzen gewonnen. Da in keiner der insgesamt 14 untersuchten Proben eine erhöhte Wärmeverträglichkeit gefunden wurde, liefern die Ergebnisse dieser Untersuchungsreihe keinen Hinweis auf Bedingungen, durch die der Erreger eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gewinnt. Auch besonders ausgereifte und mehrere Jahre gealterte Sporen aus bodenhaltigen Proben, die von Flächen mit regelmäßigem Kohlherniebefall stammten, waren als wärmeunverträglich einzustufen. Somit haben sich in der vorliegenden Untersuchung die potenziellen Einflussfaktoren

- geografische Herkunft der Proben,
- Wirtspflanze,
- Alter und Zersetzungsgrad der Gallen

hinsichtlich der Wärmeverträglichkeit des Erregers als nicht entscheidend herausgestellt. Zwar ist nicht auszuschließen, dass durch eine Beprobung weiterer Standorte noch Zusammenhänge zwischen den genannten Einflussgrößen und der Wärmeverträglichkeit erkannt werden, doch kann auf Basis der derzeitigen Erkenntnisse vermutet werden, dass die Wahrscheinlichkeit, wärmeverträgliche Proben zu finden, als sehr gering einzuschätzen ist.

4.4.3 Homogenisierungsmöglichkeiten zur Vereinheitlichung der Wärmeverträglichkeit einzelner Proben

Variable Versuchsergebnisse waren Anlass für einen Versuch, die Homogenität im Hinblick auf die Infektiösität und die Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* zu steigern. Hierzu wurden von der Probe mit der Bezeichnung Pb2 Sporensuspensionen mit definierter Dauersporenkonzentration hergestellt. Das Ergebnis der Versuchsreihe zeigt, dass auch durch exakte Einstellung von Sporenkonzentrationen keine prognostizierbaren Ergebnisse gewonnen werden können. Der überwiegende Anteil der Proben, die für ≥ 6 Stunden mit 50 °C behandelt wurden, hatte die Infektiösität verloren. Trotzdem verursachten einige wenige Proben bis zu einer Behandlungszeit von drei Tagen geringfügige Infektionen. Wie am Ergebnis der Verdünnungsreihe zu erkennen ist, können bereits bei geringen Sporenkonzentrationen (10^4 Sporen/Liter) heftige Infektionen hervorgerufen werden. Hieraus kann möglicherweise der Schluss gezogen werden, dass die Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* durch einen sehr geringen Anteil an hochwärmeverträglichen Dauersporen bestimmt wird. Nach PRECHT et al. (1955) führt eine heterogene Wärmeverträglichkeit von Organismen dazu, dass die Absterbekinetik der Organismen nicht der allgemein üblichen Funktion erster Ordnung folgt. Sie halten eine Koagulation von Zellen für eine Ursache, die inhomogene Wärmeverträglichkeiten bedingen kann. Im Fall von *P. brassicae* ist eine Koagulation von einzelligen Dauersporen denkbar, da sich im Entwicklungsverlauf

des Erregers eine Vielzahl von Dauersporen innerhalb einer zum Plasmodium mutierten Pflanzenzelle bilden, die beim Eintrocknen miteinander verkleben können. Dies könnte eine Erklärung für die unregelmäßige Wärmeverträglichkeit des Erregers sein und die selten zu beobachtenden Fälle erklären, in denen *P. brassicae* nach einer einwöchigen Behandlung mit 60 °C (NOBLE et al. 2004) oder einer dreiwöchigen Behandlung mit 50 °C (MARCINISZYN 1994) noch nicht vollständig abgetötet war, obwohl die Mehrzahl der Proben schon eine eintägige Behandlung mit 50 °C nicht überlebten.

4.4.4 Bewertung der Wärmeverträglichkeit phytopathogener Pilze vor dem Hintergrund des Testsystems der BioAbfV

Als Ergebnis der Untersuchungsreihe mit phytopathogenen Pilzen kann resümiert werden, dass die Wärmeverträglichkeit von *F. oxysporum f. sp. narcissi* die Wärmeverträglichkeit der meisten Proben des Erregers *P. brassicae* übertrifft, jedoch nicht an dessen sporadisch zu beobachtende maximale Wärmeverträglichkeit heranreicht. Somit kann weder an der Inaktivierung von *P. brassicae* auf die Inaktivierung von *F. oxysporum f. sp. Narcissi* geschlossen werden noch umgekehrt. Da viele Proben des Erregers *P. brassicae* jedoch nur über eine geringe Wärmeverträglichkeit verfügen, ist die Gefahr groß, dass im Rahmen von Hygieneuntersuchungen gemäß BioAbfV anhand der Abtötung von *P. brassicae* auf eine ebenfalls erfolgreiche Abtötung von Subspezies des Pilzes *F. oxysporum* geschlossen wird, die nicht den Tatsachen entsprechen muss. Werden extrem wenig wärmeverträgliche Proben von *P. brassicae* für Hygieneuntersuchungen verwendet, ist anhand dessen Reaktion nicht einmal die Abtötung von *F. culmorum* oder *S. sclerotiorum* gesichert nachweisbar. Somit wurden für das bestehende Testsystem Nachweislücken aufgedeckt, die durch Verbesserungen des Nachweissystems geschlossen werden sollten.

4.5 Resümee und Ausblick I

Sowohl die Sichtung der Literaturodaten als auch die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass *P. brassicae* als Indikatororganismus für Hygieneuntersuchungen ungeeignet zu sein scheint. Erstens ist anzunehmen, dass wohl die meisten Proben des Erregers über eine nur durchschnittliche Wärmeverträglichkeit verfügen, die eine Indikatorfunktion des Erregers nicht begründet. Zweitens hat sich bestätigt, dass die Wärmeverträglichkeit des Erregers als sehr heterogen zu bewerten ist, weshalb hierüber sehr unterschiedliche Angaben in der Literatur zu finden sind. Drittens lieferten die Ergebnisse von 20 verschiedenen Proben keinen Hinweis darauf, unter welchen Rahmenbedingungen hochwärmeverträgliches Erregermaterial gewonnen werden kann, das sich als Indikator für Hygieneuntersuchungen eignen würde. Es konnten keine Erkenntnisse gewonnen werden, die genutzt werden könnten, um das bestehende Testsystem zu optimieren. Die Wahrscheinlichkeit, dass hochwärmeverträgliches Erregermaterial mit homogener Wärmeverträglichkeit gewonnen werden kann, muss als sehr gering eingeschätzt werden.

Da alle durchgeführten Ansätze zur Optimierung des Testsystems nicht erfolgreich verlaufen sind, wird vorgeschlagen, den Testorganismus *P. brassicae* aus dem derzeitigen Untersuchungsprogramm der BioAbfV herauszunehmen. An seiner Stelle sollte ein besse-

res und eindeutig reagierendes Nachweissystem für die primär wärmebedingte Abtötung von Phytopathogenen ausfindig gemacht und in das Hygieneuntersuchungsprogramm integriert werden.

Für die Optimierung des Hygienisierungsnachweises bei der Kompostierung können zwei Strategien verfolgt werden. Einerseits könnte für die Untersuchung ein alternativer Testorganismus verwendet werden, der über eine ausreichende Wärmetoleranz verfügt, homogen reagiert und eindeutig nachweisbar ist. Die Frage, ob dies durch Verwendung von Unkraut- oder Tomatensamen möglich ist, deren Wärmetoleranz durch Einstellung des Wassergehaltes der Samen auf ein gewünschtes Niveau angehoben werden kann, wird in den Kapiteln 5 und 6 diskutiert. Andererseits könnte die wärmebedingte Abtötung durch exakte Temperaturmessungen bewertet werden. Bislang besteht jedoch keine Möglichkeit, die hygienisierende Wirkung von schwankenden Temperaturen, die für Rotteprozesse charakteristisch sind, zu bilanzieren. Die Möglichkeiten der Auswertung von Temperaturdaten zur Bewertung des Hygienisierungserfolges werden zu einem späteren Zeitpunkt in Kapitel 8 bewertet.

5 Wärmeverträglichkeit von Unkrautsamen

Zum Nachweis, dass Unkrautsamen während des Rotteprozesses abgetötet werden, hat POLLMANN (1995) ein Testsystem entwickelt, das in die BioAbfV übernommen wurde. Bei dem Testsystem werden Tomatensamen der Sorte *St. Pierre* als Indikator für die Abtötung von anderen Samen verwendet. Im Rahmen von Hygieneuntersuchungen soll anhand der Abtötung von Tomatensamen auf die Abtötung von Unkrautsamen geschlossen werden. Dies setzt voraus, dass Unkräuter über eine geringere Widerstandsfähigkeit verfügen als Tomatensamen.

5.1 Einführung in die Thematik und Begründung der Versuchsplanung II

Die besondere Eignung von Tomatensamen begründet POLLMANN anhand von Literaturangaben, in denen die besonders gute Lagerfähigkeit von Tomatensamen beschrieben wird (PRIESTLEY et al. 1985, ROOS und DAVIDSON 1992), und Ergebnissen eigener Untersuchungen, in denen er die Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen mit der von fünf unterschiedlichen Gemüsesamen (Gurke, Kürbis, Melone, Paprika und Zucchini) und Sonnenblumensamen verglichen hat. In diesen Versuchen haben Tomatensamen die größte Wärmeverträglichkeit gezeigt. In einer älteren Studie hat GLASSER (1953) die Wärme- und Rotteresistenz verschiedener Ackerunkräuter bestimmt und dabei für Tomatensamen eine nur durchschnittliche Wärmeverträglichkeit festgestellt. Im Hinblick auf die Indikatorfunktion im Rahmen von Hygieneuntersuchungen ist ein Vergleich mit weiteren Unkrautsamen von Bedeutung, da Vergleiche bezüglich der Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen und Unkrautsamen bislang nur in wenigen Untersuchungen durchgeführt worden sind.

Da die größten Mengen an Unkrautsamen aus privaten Gärten und öffentlichen Grünanlagen stammen, wurde die Wärmeverträglichkeit von Gartenunkräutern im Rahmen einer eigenen Untersuchungsreihe überprüft. Da Tomatensamen über eine gute Widerstandsfähigkeit gegenüber mikrobiellen Abbauvorgängen verfügen (MENKE und GROSSMANN 1971, ERKENBERG 1985, CHYTIL 1986, HARTMANN et al. 2004), sind bei der Kompostierung insbesondere Unkräuter von Bedeutung, die aufgrund einer besonderen Rotteresistenz eine erhöhte Überlebenschance während der Rotte besitzen. Deshalb wurde die Untersuchung an Samen vorgenommen, die bereits einen einjährigen Rotteprozess bei geringer Temperatur (Eigenkompostierung) überstanden und dadurch ihre Rotteresistenz unter Beweis gestellt hatten. (Kap. 3.2.4.1, S. 19).

5.2 Wärmeverträglichkeit von rotteresistenten Unkrautsamen

Rotteresistente Unkrautsamen wurden in ausgereiftem Eigenkompost vermutet und gefunden, da sich bei diesem Rotteverfahren häufig Temperaturen entwickeln, die für Samen subletal sind. Die Feinfraktion (< 8 mm) des untersuchten Kompostes beinhaltete nach einjähriger Ausreifung 230 Samen pro Liter (Abb. 8). Der größte Anteil der keimfähigen Samen stammte von dikotylen (zweikeimblättrigen) Pflanzen. Das Spektrum umfasste mindestens 19 verschiedene Arten, wovon 18 Arten anhand ihrer Keim- und Laubblätter

eindeutig identifiziert werden konnten. Etwa ein Viertel der Samen stammte von Poaceen (Gräsern), deren Artenspektrum nicht bestimmt wurde.

Zur Bewertung der Wärmeverträglichkeit dieser Samen wurde der samenhaltige Kompost mit langsam steigender Temperaturführung ($+2\text{ °C}/0,5\text{ Tage}$) bebrütet (Abb. 7). Wie die in Abb. 8 zusammengefassten Ergebnisse des Bebrütungsversuches zeigen, besitzen Poaceen eine geringere Wärmeverträglichkeit als Dikotyle. Bei den Dikotylen sind große artenspezifische Unterschiede festzustellen. Viele Arten verlieren ihre Keimfähigkeit im gleichen Temperaturbereich wie die Poaceen. Mindestens zwei Arten sind jedoch durch eine deutlich höhere Wärmeverträglichkeit gekennzeichnet.

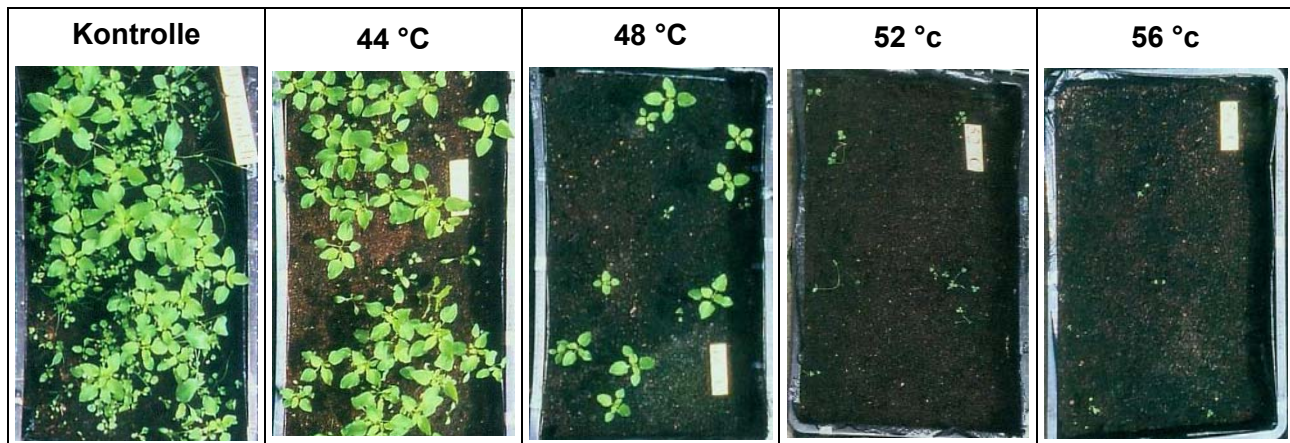


Abb. 7: Einfluss einer stufenweise steigenden Bebrütungstemperatur auf die Keimrate von Unkrautsamen

Trägersubstrat = Eigenkompost (70 % TS-Gehalt); Temperatursteigerung = $+2\text{ °C}/0,5\text{ Tage}$; Anfangstemperatur = 38 °C

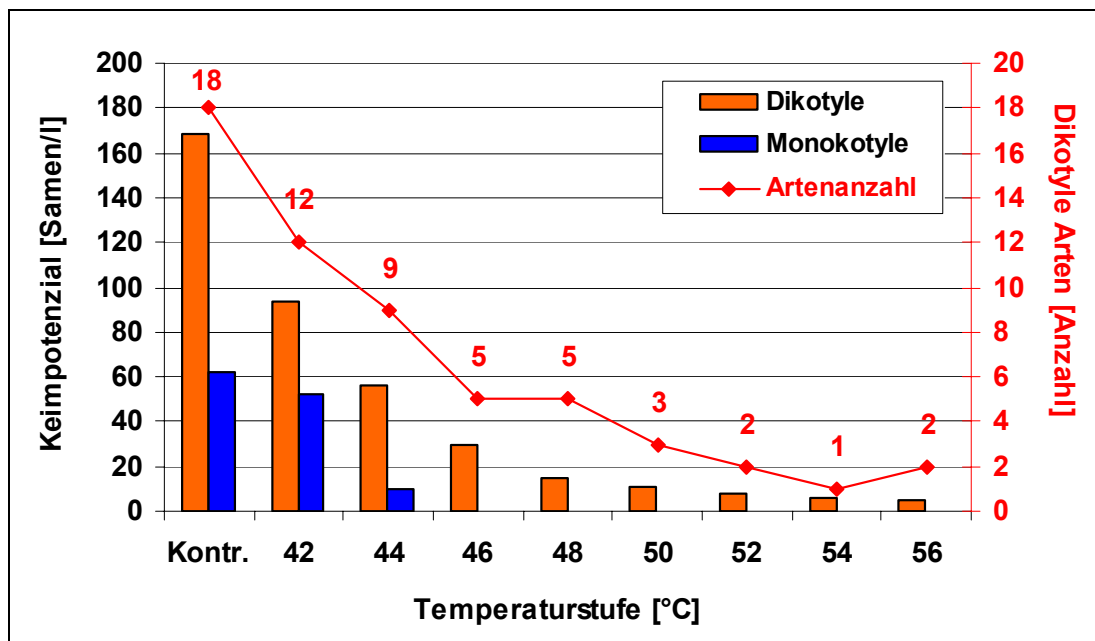


Abb. 8: Keimverlust von monokotylen und dikotylen Unkrautsamen durch stufenweise steigende Bebrütungstemperatur

Trägersubstrat = Eigenkompost (70 % TS-Gehalt); Temperatursteigerung = $+2\text{ °C}/0,5\text{ Tage}$; Anfangstemperatur = 38 °C ; $n = 1$

In Abb. 9 werden die artspezifischen Abtötungszeitpunkte der beobachteten Unkrautsamen in Beziehung zur Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen gesetzt. Wie die Grafik verdeutlicht, verfügten die meisten der im Kompost enthaltenen Unkrautsamen über eine geringere Wärmeverträglichkeit als Tomatensamen. Lediglich die Samen von zwei Unkrautarten übertrafen die Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen. Während Tomatensamen bei einer Temperatursteigerung von $+2\text{ °C}$ pro 0,5 Tage ihre Keimfähigkeit bei 56 °C verloren haben, konnten bis zu diesem Zeitpunkt nicht alle Samen von *Trifolium repens* (Klee) abgetötet werden. Auch Samen einer zweiten dikotylen Art (sonstige Dikotyle), die nicht bestimmt werden konnte, haben ihre Keimfähigkeit bis zur höchsten Temperaturstufe (56 °C) des Bebrütungsversuches nicht vollständig eingebüßt. Da die unbestimmte Art keinen Unkräutern zugeordnet werden konnte, wird vermutet, dass die Samen von Gartenblumen stammten. Eine nur etwas geringere Wärmeverträglichkeit als Tomatensamen zeigten Samen von *Chenopodium polyspermum* (Vielsamiger Gänsefuß).

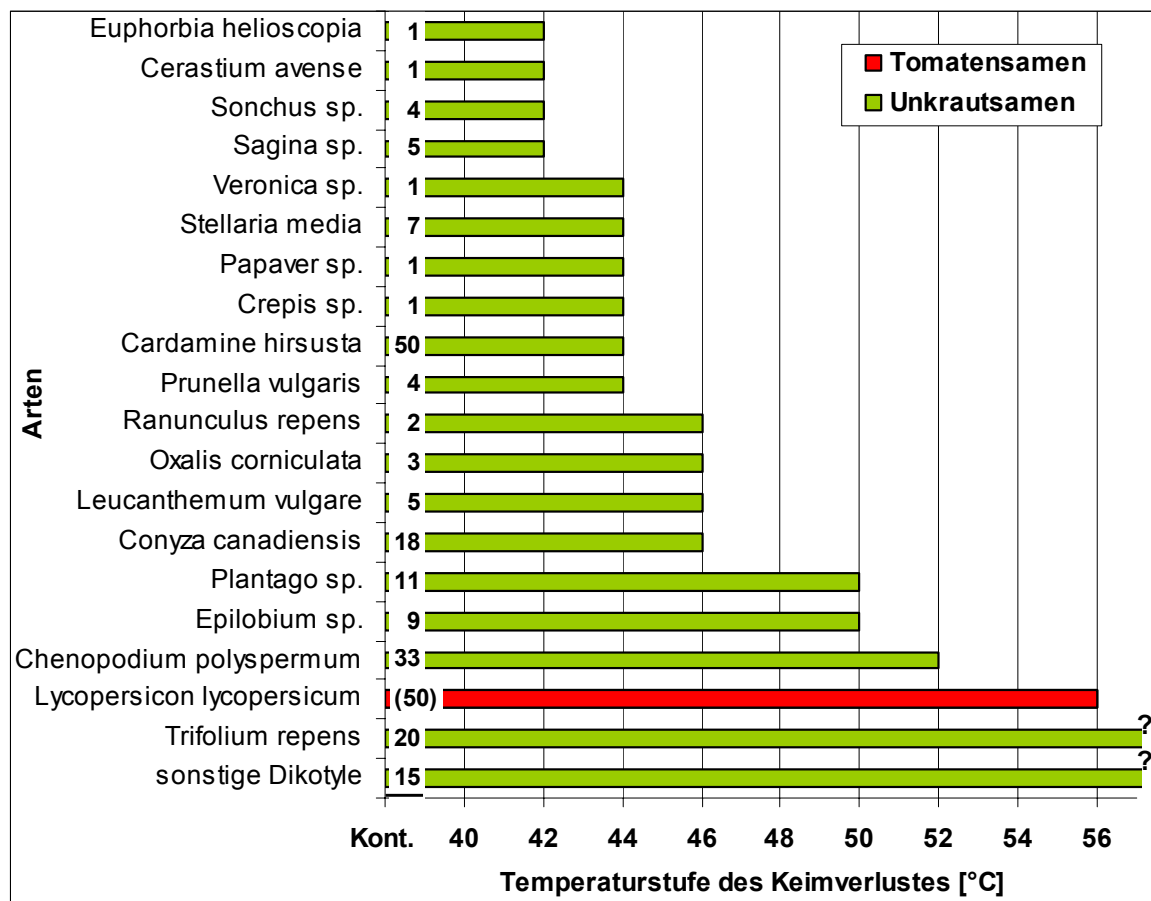


Abb. 9: Abtötungszeitpunkte von dikotylen Unkrautsamen im Vergleich zu Tomatensamen bei Bebrütung mit stufenweise ansteigender Temperatur

Ziffern = max. Anzahl keimfähiger Samen je Liter Kompost, Tomatensamen wurden eingemischt; Trägersubstrat = Eigenkompost (70 % TS-Gehalt); Temperatursteigerung = $+2\text{ °C}/0,5$ Tage; Anfangstemperatur = 38 °C ; $n = 1$

5.3 Wärmeverträglichkeit von Kleesamen (*Trifolium* sp.)

Aufgrund der hohen Wärmeverträglichkeit, die Kleesamen beim Screening von rotteresisistenten Samen unter Beweis gestellt haben, wurden weiterführende Untersuchungen an Kleesamen vorgenommen. Mit der Untersuchungsreihe sollte festgestellt werden, ob zertifiziertes Saatgut von Klee eine bessere Indikatoreigenschaft besitzt als die bislang verwendeten Tomatensamen.

Das Ergebnis der Untersuchung, bei der fünf Kleesubspezies gemeinsam mit Tomatensamen und kleesamenhaltigem Eigenkompost einer stufenweise steigenden Temperatur (+2 °C/Tag) ausgesetzt worden sind, ist in Tab. 16 dargestellt.

Tab. 16: Maximale Wärmeverträglichkeit von Klee-Subspezies und Tomatensamen bei einer Bebrütung mit stufenweiser Temperaturerhöhung

Trägersubstrat = sterilisierter Eigenkompost (70 % TS-Gehalt); Temperatursteigerung = +2°C je Tag; Anfangstemperatur = 38 °C

Subspezies	Sorte	Temperaturstufe des Keimverlustes
Weißklee (<i>Trifolium repens</i>)	Angeliter Milka	42 °C
Rotklee (<i>Trifolium pratense</i>)	Temara	42 °C
Persischer Klee <i>Trifolium (resupinatum)</i>	Felix	42 °C
Inkanatklee (<i>Trifolium incarnatum</i>)	Opolska	42 °C
Alexandrinerklee (<i>Trifolium alexandrinum</i>)	Alex	42 °C
Schwedenklee (<i>Trifolium hybridum</i>)	Adonis	42 °C
Tomatensamen (<i>Lycopersicon lycopersicum</i>)	Saint Pierre	52 °C
Weißklee aus Eigenkompost (<i>Trifolium repens</i>)	Wildform	> 56 °C

Es hat sich gezeigt, dass Samen von zertifiziertem Kleesaatgut, anders als kompostbürtige Kleesamen, sehr empfindlich auf Wärme reagieren. Da alle getesteten Kleearten ihre Keimfähigkeit bereits bei geringer Wärmezufuhr (Temperaturanstieg auf 42 °C) verloren, ist die Wärmeverträglichkeit von zertifiziertem Kleesaatgut deutlich geringer einzuschätzen als die von Tomatensamen der Sorte 'St. Pierre'. Kleesamen stellen somit keine Indikatoralternative zu Tomatensamen dar, da der Keimverlust von Tomaten eine deutlich höhere Wärmezufuhr erforderlich macht. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen war hierzu ein Temperaturanstieg auf 52 °C erforderlich. Eine höhere Wärmeverträglichkeit konnte wiederum bei den kompostbürtigen Kleesamen festgestellt werden, die ihre Keimfähigkeit bei 56 °C noch nicht eingebüßt hatten.

Im Gegensatz zu allen bislang beobachteten Samen, bei denen im Verlauf von Bebrütungsuntersuchungen ein sukzessiver Verlust an Keimfähigkeit und eine Verlangsamung der Keimgeschwindigkeit zu beobachten war, reagierten kompostbürtige Kleesamen bis zu einer Temperatur von 56 °C völlig gegensätzlich. Sowohl ihre Keimfähigkeit als auch ihre Keimgeschwindigkeit stieg unter den Rahmenbedingungen des Versuchsansatzes kontinuierlich an. Als Grund für dieses Phänomen muss wahrscheinlich die Hartschaligkeit der im Kompost enthaltenen Kleesamen angeführt werden, die eine Wasseraufnahme der

Samen verhindert oder zumindest stark verzögert. Hierdurch gewinnen sie wahrscheinlich eine stark gesteigerte Wärmeverträglichkeit. Die in Abb. 10 dargestellte Förderung der Keimrate bei zunehmender Wärmeeinwirkung kann als Hinweis auf die wärmebedingte Schädigung der harten Samenschale gewertet werden, die eine Verbesserung der Wasseraufnahme bewirkt haben könnte. Die These wird durch das Keimverhalten der Samen auf der 56 °C-Stufe unterstützt, bei der die meisten Keime sich bereits innerhalb der ersten vier Wochen entwickelt haben, was auf eine zügige Wasseraufnahme schließen lässt. Die vermeintlich geringe Keimrate der unbehandelten Kleesamen liegt wahrscheinlich darin begründet, dass selbst der 10-wöchige Beobachtungszeitraum noch viel zu kurz war, um die tatsächliche Anzahl keimfähiger Samen bestimmen zu können.

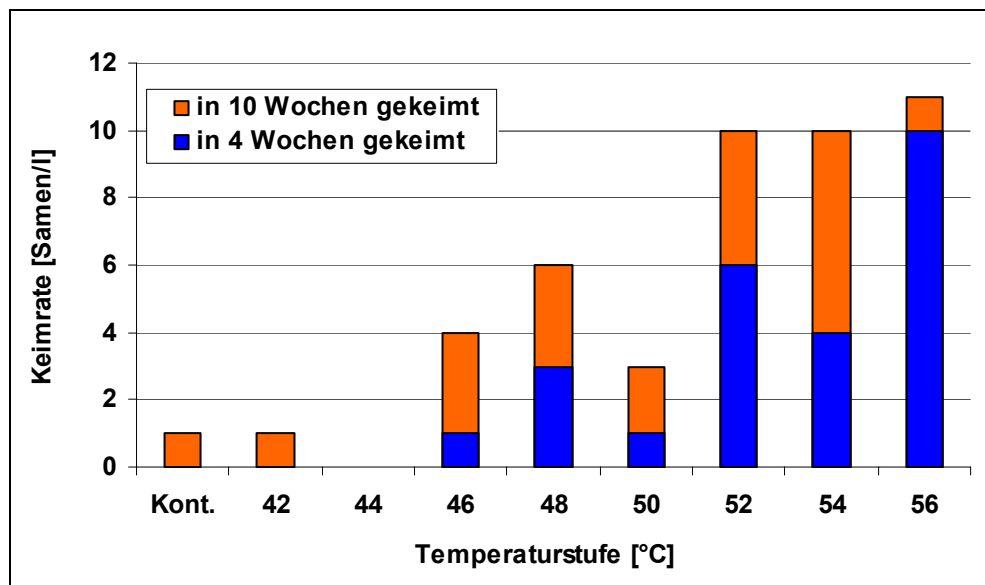


Abb. 10: Keimrate von kompostbürtigen Kleesamen auf unterschiedlichen Temperaturstufen eines Bebrütungsversuches mit progressiv steigender Temperatur

Trägersubstrat = Eigenkompost (70 % TS-Gehalt); Temperatursteigerung = +2°C/Tag; Anfangstemperatur = 38 °C

Die relativ sensible Reaktion von zertifiziertem Kleesaatgut kann ebenfalls mit der Samenhärte begründet werden. In diesem Fall ist die Weichschaligkeit, die ein wichtiges Zuchtziel bei der Sortenentwicklung darstellt, als Grund für die rasche Wasseraufnahme und die damit verbundene Wärmeempfindlichkeit anzuführen.

5.4 Bewertung der Untersuchungsergebnisse II

Die Untersuchungsreihe mit Unkrautsamen hat gezeigt, dass die Wärme- und Rottereseiztenz der meisten Unkräutern niedriger einzuschätzen ist als die von Tomatensamen. Die wärmebedingte Abtötung einiger Unkräuter kann jedoch an der Reaktion von Tomatensamen nicht sicher abgeleitet werden, was die Aussagekraft des auf Tomatensamen aufbauenden Testsystems der BioAbfV zumindest teilweise infrage stellt. Eine weitere Einschränkung muss auf Basis der Untersuchungsergebnisse von SCHRADER et al. (2003) vorgenommen werden. Sie haben gezeigt, dass die Widerstandsfähigkeit von Tomatensamen unter dem Einfluss sekundärer Inaktivierungsfaktoren deutlich verringert werden kann. Bei der mesophilen Vergärung (35 - 37 °C) verloren sie ihre Keimfähigkeit bereits

nach einer Behandlungszeit von einer halben Woche. Nach POLLMANN (1995) erfordert die gleiche Wirkung einen Zeitraum von zwei Wochen, wenn die Inaktivierung bei einer Temperatur von 40 °C ausschließlich durch den Einfluss der Wärme erfolgt. Durch sekundäre Einflüsse kann sich die Rangfolge der Widerstandsfähigkeit verändern. Samen des Gänsefußes (*Chenopodium*) haben ihre Keimfähigkeit bei der mesophilen Vergärung erst nach drei Wochen und somit wesentlich später verloren als Tomatensamen, obwohl sie unter dem reinen Einfluss der Wärme deutlich schneller abgetötet werden als Tomatensamen (Abb. 9). Bei der thermophilen Vergärung (52 - 55 °C) reagierten beide Samen gleich empfindlich. Das Beispiel verdeutlicht, dass auch Samen, denen grundsätzlich eine hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber mikrobiellen Abbauprozessen zugesprochen wird, unter speziellen Bedingungen der Vergärung unerwartet schnell abgetötet werden können, was möglicherweise mit dem besonderen Einfluss der Feuchtigkeit verbunden ist.

Eine differenzierte Bewertung der Wärmeverträglichkeit muss bei Kleesamen vorgenommen werden, die aufgrund ihrer Hartschaligkeit in ihrer Wasseraufnahme behindert sind. Während Samen in feuchter Umgebung infolge eines natürlichen Keimvorganges einquellen, wodurch ihre Wärmeverträglichkeit deutlich verringert wird (POLLMANN 1995), bleibt die Wärmeverträglichkeit von hartschaligen, nicht quellenden Samen erhalten. Kleesamen können jedoch nicht als Indikatoralternative vorgeschlagen werden, da zertifiziertes Kleesaatgut auf Weichschaligkeit gezüchtet wird. Ihre Wärmeverträglichkeit ist deutlich geringer als die der meisten im Kompost gefundenen Unkräuter. Die im Kompost gefundenen Kleesamen, die über eine erhöhte Wärmeverträglichkeit verfügten, stammten wahrscheinlich von Rasenflächen und wurden mit dem Rasenschnitt in den Kompost eingetragen. Rasen ist eine Dauerkultur, in der sich Klee wild ausbreiten kann. Wahrscheinlich verliert sich bei einem Teil der Samen durch wiederholtes Aussamen die angezüchtete Weichschaligkeit. Infolge eines natürlichen Evolutionsprozesses kann dabei die für einige Leguminosenarten arttypische Hartschaligkeit wieder zunehmen.

Die besondere Widerstandsfähigkeit, die hartschalige Kleesamen besitzen, kann eventuell als Erklärungsmodell für die besondere Widerstandsfähigkeit von *P. brassicae* dienen. Genauso wie züchterisch nicht bearbeitete Kleesamen, die zu einem geringen Anteil hartschalige und somit wärmeverträglichere Samen ausbilden, könnten sich auch die Hüllen der Dauersporen des Erregers hinsichtlich ihrer Wasserdurchlässigkeit unterscheiden. Die Hartschaligkeit bei Kleesamen hat zur Folge, dass die Samen nicht im Folgejahr, sondern über einen Zeitraum von mehreren Jahren auskeimen. Auch von *P. brassicae* ist bekannt, dass der Zeitraum, in dem der Erreger auskeimt, mehrere Jahre beträgt, da nicht alle Dauersporen gleichzeitig ihr Dormanzstadium verlieren. Somit wird möglicherweise die heterogene Widerstandsfähigkeit in beiden Fällen durch eine vergleichbare Ursache bedingt, die mit der Wasserundurchlässigkeit der Samen- bzw. Dauersporenschale zusammenhängen könnte.

5.5 Resümee und Ausblick II

In der prozesszugänglichen Behandlungsform, in der Tomatensamen in Gazesäckchen verpackt als Indikator für Hygieneuntersuchungen gemäß BioAbfV zu verwenden sind, kann am Keimverlust der Samen die Abtötung der meisten Unkrautsamen und auch der

meisten Phytopathogene angezeigt werden. Der Nachweis einer Abtötung von besonders wärmeverträglichen Samen und Pathogenen ist jedoch nicht möglich, da die Tomatensamen aufgrund der vorgeschriebenen Behandlungsform Wasser aufnehmen, was mit einer Reduktion ihrer Wärmeverträglichkeit verbunden ist.

Im Folgenden soll der Frage nachgegangen werden, ob anhand der Reaktion von Tomatensamen mit geringer Samenfeuchtigkeit (konditionierte Tomatensamen) der Nachweis erbracht werden kann, dass besonders wärmeverträgliche Unkrautsamen und Pathogene abgetötet werden. Die Fragestellung ist von besonderem Interesse, da Tomatensamen sehr homogen reagieren (POLLMANN 1996). Hierdurch ist eine exakt definierte Reaktion auf eine Wärmebehandlung zu erwarten, wodurch bei Hygieneuntersuchungen verlässliche und reproduzierbare Ergebnisse erwartet werden können.

6 Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen mit geringem Samenfeuchtegehalt – Potenzial für Hygieneuntersuchungen

6.1 Einführung in die Thematik und Begründung der Versuchsplanung III

Nachdem die Untersuchungen zur Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* ergeben haben, dass der Pilz aufgrund seiner heterogenen und häufig nur schwachen Wärmeverträglichkeit nicht als Indikatororganismus für Hygieneuntersuchungen geeignet ist, wurden zwei alternative Bewertungsmöglichkeiten des Hygienennachweises angestrebt. Beide Strategien bauen auf der Erkenntnis auf, dass die Wärmeverträglichkeit von Samen vom Samenfeuchtegehalt (SFG) abhängig ist und mit abnehmender Feuchtigkeit der Samen steigt (ELLIS und ROBERTS 1980a,b, POLLMANN 1996). Im Hinblick auf Hygieneprüfsysteme sollten Samen auch die Voraussetzung erfüllen können, dass sie bei definiertem SFG homogen und reproduzierbar auf eine Wärmebehandlung reagieren und somit verlässliche Informationen liefern.

Die in diesem Kapitel untersuchte Nachweismethode folgt dem Indikatororganismenprinzip, bei dem anhand der Abtötung eines hochwärmeverträglichen Indikators auf die Abtötung von Organismen mit geringerer Wärmeverträglichkeit geschlossen wird. Bei dieser Methode wird der Indikator dem Prinzip der BioAbfV folgend den schwankenden Temperaturen des Rotteprozesses ausgesetzt. Die Reaktion des Indikators soll anzeigen, ob durch die Summe der Wärmeauswirkung eine Hygienisierung erreicht wurde oder nicht. Zur Entwicklung des Testsystems wurde auf Untersuchungsergebnissen von POLLMANN (1996) aufgebaut, der die Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen im Bereich von 15 bis 50 % SFG detailliert untersucht hat. Nach POLLMANN (1996) werden Tomatensamen mit 15 % SFG bei 50 °C erst nach acht Tagen vollständig abgetötet. Es war zu vermuten, dass die Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen bei noch geringerer Feuchtigkeit so stark erhöht werden kann, dass sie als Indikator für einen wärmebedingten Hygienisierungsprozess verwendet werden können. Zur Überprüfung der These wurde im Rahmen dieser Arbeit die bislang noch nicht ermittelte Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen im Bereich von 6,5 - 15 % SFG durchgeführt.

6.2 Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen mit geringem SFG

Die Ergebnisse der zur Ergänzung der bestehenden Datenbasis durchgeführten Bebrütungsversuche mit Tomatensamen sind in Abb. 11 dargestellt. Die Annahme, dass die Wärmeverträglichkeit der Samen bei geringerem SFG deutlich erhöht werden kann, konnte anhand der durchgeführten Untersuchungen bestätigt werden. Durch eine Verringerung des SFG von 15 auf 7,5 % konnte die erforderliche Abtötungsdauer um etwa das Fünffache gesteigert werden. Somit war für einen vollständigen Keimfähigkeitsverlust der Tomatensamen bei einem SFG von 7,5 % eine Behandlungsdauer von etwa 33 Tagen bei 50 °C erforderlich, während Samen mit einem SFG von 15 % bereits innerhalb einer Woche abgetötet wurden. Entsprechend kann durch die gesteigerte Wärmeverträglichkeit anhand des Keimverlustes von Tomatensamen mit 7,5 % SFG die wärmebedingte Abtötung von

Unkrautsamen und besonders wärmeverträglichen Pathogenen, inklusive der von hochwärmeverträglichen Proben von *P. brassicae*, nachgewiesen werden.

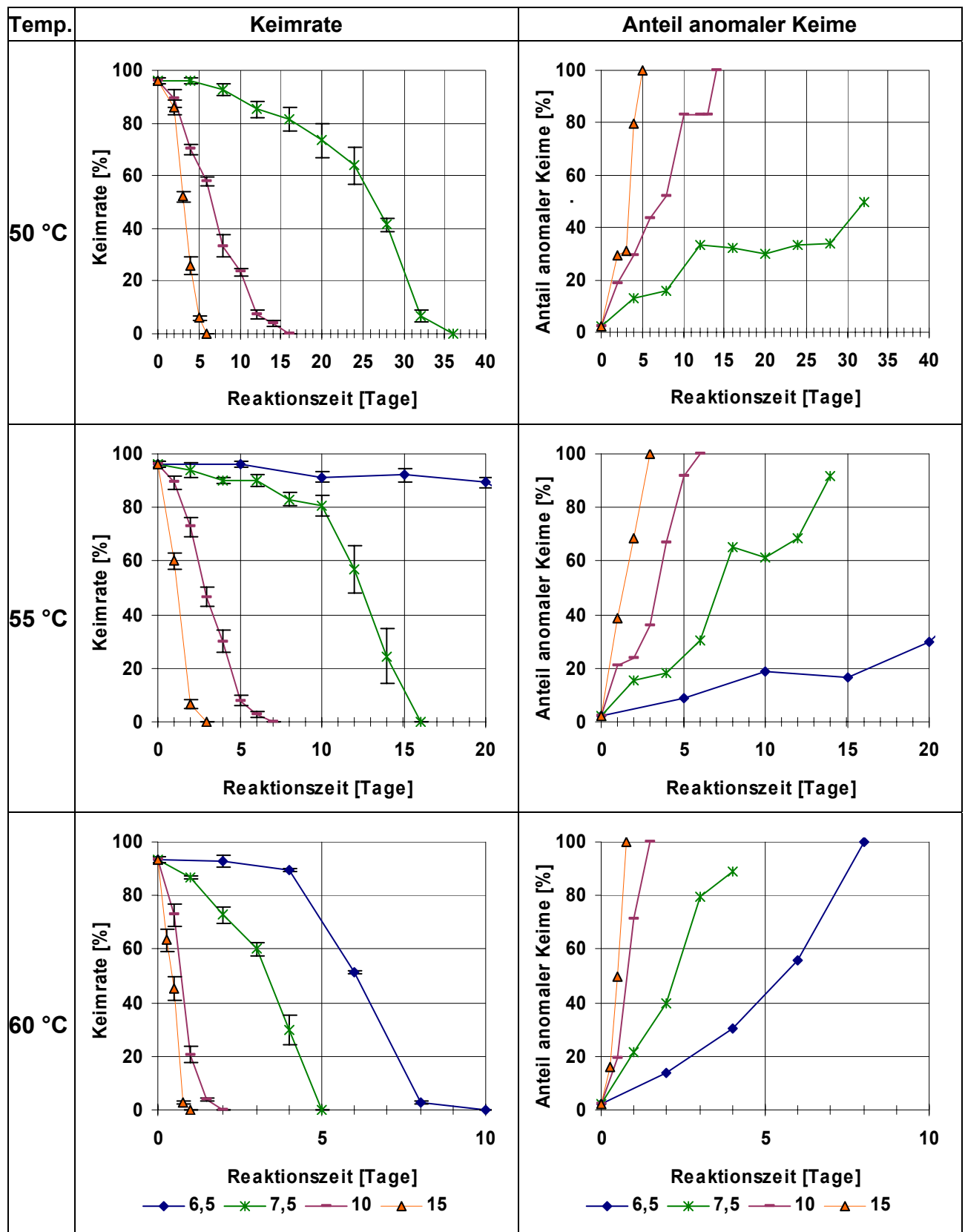


Abb. 11: Keimfähigkeit von Tomatensamen und Anteil anomal entwickelter Keime in Abhängigkeit von der Bebrütungstemperatur, der Bebrütungsdauer und dem SFG
Streuungs Balken kennzeichnen individuelle Streuung (s)

Für die Zuverlässigkeit bzw. Berechenbarkeit des geprüften Testsystems spricht der erwartungsgemäße Verlauf der Abtötungskurven, die den Keimfähigkeitsverlust der Samen im Verlauf der Wärmebehandlung beschreiben. Mit zunehmender Behandlungsdauer wurde ein sukzessiver Keimfähigkeitsverlust bewirkt, ohne dass Kurvenunregelmäßigkeiten zu beobachten waren. Nach POLLMANN (1996) zeigen die Kurven, die die Keimrate im Verlauf der Wärmebehandlung darstellen, einen negativ sigmoiden Verlauf. Bei den in Abb. 11 dargestellten Kurven ist diese Form nicht so deutlich zu erkennen. Die im Vergleich zu den zitierten Untersuchungen relativ steile Annäherung der Kurven an die Abszisse kann eventuell darauf hinweisen, dass durch die langsame Trocknung und Befuchtung der Samen im Exsikkator eine homogenere Einstellung des SFG erreicht wurde, wodurch eine gleichmäßigere Abtötung der Samen bedingt sein könnte. Die Hauptabtötungsphase, in der die Keimrate schnell von ca. 80 % auf < 20 % verringert wurde, ist durch eine große Streuung der Ergebnisse gekennzeichnet. Eine erhöhte Streuung war auch bei Versuchen mit längeren Behandlungszeiten zu beobachten. Möglicherweise wurde die stärkere Streuung durch geringfügige Veränderungen des SFG im Verlauf der Wärmebehandlung verursacht, während der SFG bei kurzen Verweilzeiten wahrscheinlich sehr konstant war.

Insgesamt kann bei Verwendung von Tomatensamen eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse und dadurch eine verlässliche Indikation des Hygienisierungserfolges erwartet werden. Dabei ist ein konstanter SFG der Proben während der Untersuchung durch Verwendung von wasserdampfundurchlässigen Behältnissen aus Glas und/oder Metall sicherzustellen, damit sich die eingestellte Wärmeverträglichkeit der Samen nicht verändert.

Anhand des in Abb. 11 (rechts) dargestellten Anteils anomaler Keimlinge kann die zunehmende Schädigung der Samen im Verlauf der Wärmebehandlung, die letztendlich zum Keimverlust führt, erkannt werden. Bei einem normalen Keimling muss ein größerer Teil des Samens intakt sein als bei einem anomalen Keimling. Als anomale Keimlinge gelten solche, die zwar ausgetrieben sind, aber entweder keine Wurzeln oder keinen Spross ausgebildet haben. Die zunehmende Schädigung der Samen verlief parallel zur Abnahme ihrer Vitalität, die an der Keimgeschwindigkeit abgelesen werden kann. Während extrem gealterte Samen unter optimalen Keimbedingungen erst in der 4. Woche des Keimtestes auskeimten, wurden von unbehandelten Samen sowohl die Keimwurzel als auch die Keimblätter größtenteils bereits innerhalb einer Woche vollständig entwickelt (nicht grafisch dargestellt). Entsprechend sind Keimfähigkeitsuntersuchungen auf eine Mindestdauer von vier Wochen auszulegen und zeitlich auszudehnen, wenn innerhalb der vierten Woche Keimaktivitäten zu beobachten sind.

6.3 Bewertung der Untersuchungsergebnisse III

6.3.1 Potenzieller Wert der Untersuchungsergebnisse für das Hygienebewertungssystem der BioAbfV

Durch die Untersuchungen zur Wärmeverträglichkeit von relativ trockenen Tomatensamen in einem SFG-Bereich von 6,5 bis 15,0 % konnte die bereits vorhandene Datenbasis von POLLMANN (1996) ergänzt werden. Auf Grundlage der erweiterten Datenbasis kann ein

alternativer Ansatz zur Bewertung des Hygienisierungsvorganges bei der Kompostierung vorgeschlagen werden. Dabei könnten Tomatensamen mit geringem SFG unter Beibehaltung des bestehenden Testsystems der BioAbfV als alternativer Indikator verwendet werden. Konditionierte Tomatensamen könnten gleichzeitig die Indikatoreigenschaft von *P. brassicae*, *S. senftenberg*_{W 775} und unkonditionierten Tomatensamen übernehmen und diese ersetzen. Durch die Einstellung des Wassergehaltes (Konditionierung) können die Samen auf eine Wärmeverträglichkeit eingestellt werden, die deutlich höher ist als die Wärmeverträglichkeit der bisherigen Indikatororganismen. Unter der Voraussetzung, dass eine gleichmäßige Einstellung des Wassergehaltes gemäß der im Methodenteil beschriebenen Exsikkatormethode vorgenommen wird, liefert der neu vorgeschlagene Indikator gut reproduzierbare Ergebnisse mit geringer Streuung. Aufgrund der homogenen Reaktion kann an der Reaktion konditionierter Tomatensamen auf die wärmebedingte Abtötung von Pathogenen und Unkrautsamen geschlossen werden. Die einzustellende Höhe der Wärmeverträglichkeit bzw. Feuchtigkeit der Tomatensamen kann durch Auswertung von Literaturdaten vorgenommen werden. Gemessen an den Daten von MARCINISZYN (1994), die für *P. brassicae* bei 50 °C eine zur Abtötung erforderliche Behandlungsdauer von drei Wochen ermittelt hat, ist ein SFG zwischen 7,5 und 10 % einzustellen, damit die Tomatensamen eine gleich hohe Wärmeverträglichkeit gewinnen. Nach Angaben von YILIMÄKI et al. (1983) und BRUNS et al. (1993) zur Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae*, die zur Abtötung bei 60 °C eine Behandlungsdauer von einer Woche für erforderlich halten, wären die Samen gemäß den in Abb. 11 dargestellten Ergebnissen auf 6,5 bis 7,5 % Feuchtigkeit einzustellen.

6.3.2 Grundsätzliche Eignung von konditionierten Tomatensamen zur Indikation einer abgesicherten Hygienisierung

Die Verwendung von konditionierten Tomatensamen anstelle des derzeitigen Indikators *P. brassicae* bietet im Rahmen des aktuellen Testsystems der BioAbfV zwei Verbesserungen. Die wesentliche Optimierung besteht darin, dass konditionierte Tomatensamen im Gegensatz zu *P. brassicae* aufgrund ihrer genau definierten Wärmeverträglichkeit verlässlich anzeigen können, ob die Prozesstemperatur für eine allgemeine Hygienisierung ausgereicht hat. Zweitens bleiben spezifische Inaktivierungsfaktoren unberücksichtigt, wodurch die Reproduzierbarkeit und Sicherheit von Untersuchungsergebnissen gesteigert werden kann.

Trotz der experimentell bewiesenen Vorteile, über die konditionierte Tomatensamen gegenüber dem derzeitigen Testsystem verfügen, muss die Frage diskutiert werden, ob anhand der Abtötung von konditionierten Tomatensamen verallgemeinerbare Aussagen getroffen werden können. Da die Vielzahl von Pathogenen und Unkrautsamen, die im Rotteausgangsmaterial enthalten sein kann, es unmöglich macht, die Abtötung aller Organismen zu untersuchen, ist es erforderlich, den Hygienisierungsprozess durch Anwendung eines Analogieschlussverfahrens zu bewerten. Hierbei wird durch die Abtötung von Stellvertretern (Indikatororganismen) auf die Abtötung vergleichbarer Organismen geschlossen (Tab. 17).

Tab. 17: Indikatoren und Nachweisgruppen bei der direkten Prozessprüfung der BioAbfV

Indikator gemäß BioAbfV	Nachweisgruppe	vorgeschlagene Alternative
<i>Plasmodiophora brassicae</i>	phytopathogene Pilze	konditionierte Tomatensamen
Tabak-Mosaik-Virus	phytopathogene Viren	-
Tomatensamen	Unkrautsamen	konditionierte Tomatensamen
<i>Salmonella senftenberg</i> _{W 775}	humanpathogene Erreger	konditionierte Tomatensamen

Die Aufgabe, die konditionierte Tomatensamen in einem solchen Testsystem erfüllen können, soll im Folgenden bewertet werden. Für Unkrautsamen ist die Verwendung von konditionierten Tomatensamen als Indikator nicht infrage zu stellen, da unkonditionierte Tomatensamen bereits stellvertretend für diese Gruppe als Indikator verwendet werden. Durch die Konditionierung wird lediglich Widerstandsfähigkeit des bisherigen Indikators gesteigert, wodurch das bisherige Testverfahren noch mehr Sicherheit gewinnen würde. Für die Gruppe der phytopathogenen Pilze und somit für eine Substitution des bisherigen Indikators kann zum einen die saprophytische Widerstandsfähigkeit von *P. brassicae* angeführt werden, die bewirkt, dass der Erreger ebenso wie konditionierte Tomatensamen primär durch die Temperaturwirkung abgetötet wird. Zum anderen kann die Substitution jedoch auch durch verwandtschaftliche Beziehungen begründet werden. Anhand der systematischen Einordnung der Organismen ist zu erkennen, dass *P. brassicae* nicht näher mit der Gruppe der Pilze verwandt ist als Tomatensamen (Tab. 18). *P. brassicae* gehört zur Gruppe der Protisten (Einzeller), die am Ende einer sehr langen unabhängigen Entwicklungsgeschichte stehen und lange Zeit stärker dem Tierreich als dem Pflanzenreich zugeordnet wurden. Tomatensamen sind wie phytopathogene Pilze mehrzellige Organismen, die nach der alten Nomenklatur, die nicht zwischen Pflanzen und Pilzen unterschieden hat, sogar in wesentlich näherem Verwandtschaftsverhältnis zueinander stehen als Protisten und Pilze (STRASBURGER 1998). Somit erscheint ein Analogieschlussverfahren, bei dem von der Abtötung von Tomatensamen auf die Abtötung phytopathogener Pilze geschlossen wird, mindestens genauso legitim zu sein wie beim derzeitigen Indikator *P. brassicae*.

Die Substitution des Indikators *S. senftenberg*_{W 775}, dessen Verwendung aufgrund seiner Humanpathogenität nicht unbedenklich ist, kann mit der relativ geringen Wärmeverträglichkeit des Bakteriums begründet werden (GOLUEKE 1982, BREITENFELDT et al. 1998). Nach BREITENFELDT et al. (1998) werden Salmonellen bei 55 °C in weniger als sechs Stunden inaktiviert. Da nach POLLMAN (1996) Tomatensamen mit einem SFG von 35 % bei dieser Temperatur ihre Keimfähigkeit erst nach 18 Stunden (Tab. 19) verlieren, übertreffen sie somit die Wärmeverträglichkeit der Salmonellen deutlich, insbesondere da für ein Testsystem wesentlich trockenere Samen vorgeschlagen werden. Zur gleichen Einschätzung gelangt STRAUCH (1986). Er vertritt die Meinung, dass bei Nachweis der Klärschlammmentseuchung die Abtötung von Salmonellen grundsätzlich durch die Abtötung von Tomatensamen angezeigt werden kann. Diese Aussage besitzt ein besonderes Gewicht, da im Rahmen der Klärschlammbehandlung aufgrund des hohen Wassergehaltes des Substrats ein maximaler SFG der Tomatensamen und somit eine besonders geringe Wärmeverträglichkeit der Samen anzunehmen ist. Für die Substitution von *S. senftenberg*

spricht auch die Nachweislücke des derzeitigen Testsystems, die daraus resultiert, dass einige humanpathogene Bakterien (z. B. *Escherichia coli*) über eine höhere Wärmeverträglichkeit verfügen als der Indikator (BREITENFELDT et al.1998). Diese Nachweislücke könnte durch die Verwendung konditionierter und in ihrer Wärmeverträglichkeit gesteigerter Tomatensamen geschlossen werden.

Tab. 18: Relevante Phytopathogene nach NOBLE et al. (2004) und deren systematische Zuordnung zu Indikatororganismen der BioAbfV

Unterstrichen = Indikatororganismen gemäß BioAbfV: *P. brassicae* und Tomatensamen

lebende Organismen	1. BAKTERIEN <i>Xanthomonas campestris</i>
	2. ARCHAEEN
	3. EUKARYOTEN
	3.1 Protisten 3.1.1 Algen 3.1.2 Schleimpilze <u><i>Plasmodiophora brassicae</i></u> 3.1.3 Protozoen
	3.2 Pilze 3.2.1 Algenpilze (Oomycota) <i>Phytophthora nicotianae</i> <i>Phytium ultimum</i> 3.2.2 Jochpilze (Zygomycota) 3.2.3 Arbuskuläre Mykorrhizapilze (Glomeromycota) 3.2.4 Schlauchpilze (Ascomycota) <i>Microdochium nivale</i> <i>Fusarium Oxysporum</i> <i>Thielaviopsis basicola</i> 3.2.5 Basidienpilze (Basidiomycota) <i>Rhizictonia solani</i>
	3.3 Pflanzen 3.3.1 Grünalgen (Chlorophyta) 3.2.2 Landpflanzen (Embryophyta) <u>Tomaten</u>
	3.4 Tiere

6.3.3 Bewertung des Einflusses spezifischer Abtötungsfaktoren auf Indikatororganismen

Insgesamt erscheinen Analogieschlüsse, die auf dem alleinigen Nachweis einer wärmebedingten Hygienisierung beruhen, besonders gerechtfertigt zu sein, da solche Untersuchungsergebnisse nicht durch spezifische Abtötungsfaktoren beeinflusst werden, die für einzelne Organismen sehr unterschiedliche Wirkungen besitzen können und deshalb nicht verallgemeinert werden können. Die Lebensbedingungen einzelner Organismen können beispielsweise im Hinblick auf den pH-Wert oder die Widerstandsfähigkeit gegenüber mikrobiellen Abbauvorgängen sehr konträr sein, weshalb die Wirkung spezifischer Ein-

flüsse auf Indikatoren zu Ergebnisverfälschungen führen kann. Im Gegensatz dazu ist die Temperaturwirkung auf die Abtötung von Organismen für Lebewesen und Viren sehr ähnlich. Durch den Einfluss der Wärme wird insbesondere die Sekundär- und Tertiärstruktur von Proteinen irreversibel geschädigt. Bei Lebewesen werden Enzyme und Hormone inaktiviert und zerstört (BAKER 1962). Viele Stoffwechselfunktionen, die an Eiweißstrukturen geknüpft sind, können nicht mehr ausgeführt werden (PRECHT et al. 1955). Das Genom der Organismen sowie deren Plasma und Zellmembrane werden geschädigt. Hierdurch wird das Entwicklungs- und Reproduktionsvermögen (Wachstum und Fortpflanzung) der Organismen zunächst beeinträchtigt und letztendlich gestoppt (SCHLEGEL 1992). In den Versuchen mit Tomatensamen konnte der letale Wärmeeinfluss daran erkannt werden, dass unter dem Einfluss zunehmender Wärme zunächst eine Keimverzögerung, dann eine Zunahme anomaler Keimlinge und zum Schluss die Abtötung der Samen beobachtet wurde (Abb. 11).

6.3.4 Flexibilität des vorgeschlagenen Testsystems

Ein weiterer Vorteil, den ein Testsystem mit konditionierten Tomatensamen besitzen würde, wäre die Flexibilität bzw. Anpassungsfähigkeit des Testsystems. Durch die Einstellung des SFG kann die Methode flexibel an die Anforderungen angepasst werden, die sich von den Wärmeverträglichkeiten relevanter Pathogene und Unkrautsamen ableiten. Durch Variation des SFG der Tomatensamen kann grundsätzlich an der methodischen Vorgehensweise des Testverfahrens festgehalten werden, auch wenn die Hygienisierungsanforderungen durch zukünftige Erkenntnisse ggf. erhöht werden müssen. Entsprechend konditionierte Tomatensamen könnten bis auf das Tabak-Mosaik-Virus, dessen thermale Inaktivierungsansprüche nach NOBLE et al. (2004) weit höher sind als die der anderen Pathogene, alle bisherigen Indikatororganismen ersetzen. Die spezielle Bedeutung der Inaktivierung des Tabak-Mosaik-Virus wird im Kapitel 8 gesondert betrachtet.

Das Testsystem mit konditionierten Tomatensamen setzt voraus, dass die Samen während der Untersuchung die eingestellte Feuchtigkeit nicht verändern. Dies macht die Verwendung von wasser- und wasserdampfundurchlässigen Behältern erforderlich. In den durchgeführten Untersuchungsreihen haben sich Glasbehälter mit Metalldeckeln bewährt. Kunststoffampullen haben sich als nicht geeignet erwiesen, da aufgrund ihrer Wasserdampfdurchlässigkeit die Feuchtigkeit der Samen nicht konstant gehalten werden konnte.

6.4 Resümee und Ausblick III

Trotz der aufgezeigten Optimierungen wird ein Testsystem, das mit Indikatororganismen arbeitet, zwei wesentliche Nachteile behalten. Erstens können direkte Prozessprüfungen aufgrund des erheblichen Aufwandes nur sporadisch durchgeführt werden. Deshalb sieht die BioAbfV nur zwei Untersuchungsgänge vor, die bei der Inbetriebnahme von Kompostwerken durchzuführen sind. Aufgrund der Variabilität, mit der biotechnologische Prozesse ablaufen und dadurch die Rottetemperaturen beeinflussen, bieten zwei Untersuchungsgänge keine ausreichend abgesicherten Ergebnisse, wie Untersuchungen von MARTENS (2004) gezeigt haben. Diese Einschätzung wird auch von CHRISTENSEN et al. (2001) geteilt. Zweitens bekommt der Anwender von Kompost auch bei einer Erhöhung des Un-

tersuchungsumfanges keine konkreten Informationen über den Hygienezustand seines Kompostes, da Untersuchungsergebnisse zu spät zur Verfügung stehen. Das vorgeschlagene Testsystem mit konditionierten Tomatensamen verringert zwar den Nachweiszeitraum um etwa zwei Wochen. Aufgrund des Nachweiszeitraumes von drei bis vier Wochen liegen Ergebnisse jedoch erst zu einem Zeitpunkt vor, zu dem der Kompost i. d. R. bereits vermarktet ist. Für den Anwender von Kompost wäre jedoch ein chargenspezifischer Hygienennachweis wünschenswert, dessen Ergebnisse bereits zum Zeitpunkt der Kompostvermarktung verfügbar sind, damit er Informationen über den Kompost erhält, den er verwenden will. Derartige Informationen sind mit Bioindikatoren nicht möglich, da die Nachweisverfahren zu viel Zeit beanspruchen.

Deshalb ist im Hinblick auf die Häufigkeit, mit der Hygienennachweise mit vertretbarem Aufwand geführt werden können und im Hinblick auf die Schnelligkeit mit der Hygieneinformationen bereitgestellt werden können, eine direkte Bewertung der Hygienisierung auf Basis von Temperaturdaten wünschenswert. Die in Abb. 11 dargestellten Zusammenhänge lieferten Hinweise darauf, dass die vom SFG abhängige Abtötungsdauer von Tomatensamen berechnet werden kann, da für Tomatensamen

- der von BIGELOW (1921) für Bakterien und der von PRICE (1933) für das Tabak-Mosaik-Virus beschriebene logarithmische Zusammenhang zwischen der Höhe der Behandlungstemperatur und der Abtötungsgeschwindigkeit Gültigkeit zu haben scheint;
- der von ELLIS und ROBERTS (1980a, b) beschriebene logarithmische Zusammenhang zwischen dem SFG und der Abtötungsgeschwindigkeit ebenfalls gültig zu sein scheint.

Die in Abb. 11 dargestellten Ergebnisse zeigen, dass eine Temperaturerhöhung um 5 °C von 50 auf 55 °C in etwa eine Halbierung der Abtötungsdauer bewirkte, während sich durch eine Temperaturerhöhung um 5 °C von 55 auf 60 °C die Abtötungsdauer auf etwa ein Drittel verringerte. Bezüglich des Einflusses des SFG ist zu erkennen, dass eine Verringerung des SFG um 5 %-Punkte von 15 auf 10 % SFG eine Verdoppelung der Abtötungsdauer bewirkt. Für eine weitere Verdoppelung der Abtötungsdauer war lediglich eine Verringerung des SFG um 2,5 %-Punkte von 10 auf 7,5 % SFG erforderlich.

Die Gültigkeit der genannten mathematischen Zusammenhänge, die eine Berechnung der Abtötungsdauer von Tomatensamen auf Basis von Temperaturdaten ermöglichen würde, soll im folgenden Kapitel diskutiert werden. Dabei soll die Frage beantwortet werden, ob die Abtötungsdauer bei Tomatensamen in Abhängigkeit vom SFG auf Basis von Temperaturdaten exakt genug prognostiziert werden kann, und ob ein solches Prognosemodell somit verlässliche Aussagen zur wärmebedingten Komposthygienisierung möglich macht.

7 Bestimmung der Komposthygienisierung auf Basis von Temperaturdaten - Hygienisierungsgleichung

7.1 Einführung in die Thematik und Formulierung der Zielsetzung IV

Bislang war es nicht möglich, den Beitrag von schwankenden, für einen Rotteprozess aber typischen Temperaturkurven zur wärmebedingten Abtötung exakt zu beziffern. Deshalb wird zurzeit gefordert, dass Mindesttemperaturen eingehalten werden, die eine Hygienisierung wahrscheinlich machen. Gemäß BioAbfV (ANONYM 1998a) muss für einen indirekten Hygienienachweis durch Temperaturaufzeichnungen nachgewiesen werden, dass bei der offenen Mietenkompostierung die Rottetemperatur über einen Zeitraum von 14 Tagen 55 °C oder für sieben Tage 65 °C erreicht hat. Für geschlossene Anlagen sind 60 °C über einen Zeitraum von sieben Tagen einzuhalten.

Die genannten Temperaturanforderungen stellen ein undifferenziertes Bewertungssystem dar, das dem logarithmischen Zusammenhang, der zwischen der Höhe der Temperatur und der Abtötungsdauer besteht (BIGELOW 1921, GILBERT 2001), nicht gerecht wird. Nach ELLIS und ROBERTS (1980a, b) besteht zwischen dem TS-Gehalt und der Überlebensdauer von Samen ein weiterer logarithmischer Zusammenhang. Da dieser Zusammenhang, mit dem die Widerstandsfähigkeit der Samen durch Veränderung des SFG beeinflusst werden kann, mathematischen Gesetzmäßigkeiten folgt, kann er zur Entwicklung eines Prognosemodells für den Nachweis der Hygienisierung auf Basis von Temperaturdaten genutzt werden. Auf Grundlage dieser Zusammenhänge wurde die Arbeitshypothese aufgestellt, dass sich die Abtötungsdauer von Tomatensamen durch eine Funktionsgleichung berechnen lässt, die durch die beiden Einflussgrößen Temperatur und SFG bestimmt wird. Durch die Ermittlung einer solchen Funktionsgleichung sollten folgende, aufeinander aufbauende Ziele bei der Hygienebewertung von Kompost erreicht werden:

1. **Prinzip der differenzierten Temperaturdatenauswertung:** Auswertung nicht konstanter Temperaturen zur Prognose der Abtötungszeitpunkte von Tomatensamen in Abhängigkeit von der Feuchtigkeit der Samen. Hierbei sollte die unterschiedlich stark letale Wirkung der Wärme in Abhängigkeit von der Höhe der Temperatur, abgestuft in Schritten von 1 °C, berücksichtigt werden.
2. **Prinzip der direkten Prozessprüfung durch Indikatororganismen:** Die Berechnung des SFG von Tomatensamen, bei dem die Samen bei gleicher Wärmeeinwirkung zum gleichen Zeitpunkt abgetötet werden wie Pathogene und Unkrautsamen, deren Abtötung im Rahmen der Hygieneüberwachung nachgewiesen werden soll. Hierdurch wird das Ziel verfolgt, den Hygienisierungserfolg an der Reaktion von definiert feuchten Tomatensamen abzuleiten, deren Wärmeverträglichkeit exakt der gleichen Wärmeverträglichkeit von Organismen entspricht, deren Abtötung angezeigt werden soll (Indikatorprinzip).
3. **Kombination der Ansätze von direkten und indirekten Prozessprüfungen:** Die Berechnung der Hygienisierung von Kompost auf Basis von Temperaturdaten mit Hilfe einer für Tomatensamen gültigen Funktionsgleichung (Hygienisierungsgleichung). Dabei sollen die Anforderungen an die Hygienisierung als Bestandteil

(Term) der Hygienisierungsgleichung gemäß dem Indikatorprinzip (Punkt 2) an der Wärmeverträglichkeit der widerstandsfähigsten Pathogene und Unkrautsamen abgeleitet werden.

7.2 Keimverluste von Tomatensamen in Abhängigkeit von der Behandlungstemperatur, der Behandlungsdauer und der Samenfeuchte

Durch die Zusammenstellung der unter gleichen Versuchsbedingungen gewonnenen Daten der eigenen und der von POLLMANN (1996) durchgeführten Untersuchungen stand eine breite Datenbasis zur Beschreibung der mathematischen Zusammenhänge, die zwischen der Abtötungsdauer, der Höhe der Temperatur und dem SFG bestehen, zur Verfügung. Zur Berechnung der Zusammenhänge wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt. Die in Tab. 19 aufgeführten Daten zeigen, dass die Datenbasis mit 6,5 bis 50 % SFG fast den gesamten Feuchtigkeitsbereich abdeckt, den Tomatensamen besitzen können. 50 % SFG stellt den maximalen Wassergehalt dar, der beim Quellen von Tomatensamen erreicht werden kann. Höhere Wassergehalte werden erst mit dem Beginn der vegetativen Phase erreicht, in der die Keimwurzel und der Spross ausgebildet werden. Auf der anderen Seite kann bei einem SFG, der je nach Samenart zwischen 2 und 6,2 % anzusiedeln ist, ein Schwellenwert erreicht werden, bei dessen Unterschreitung die Lebensfähigkeit von Samen im Allgemeinen häufig nicht weiter gesteigert werden kann (ELLIS et al. 1998). Spezielle Aussagen zu Tomatensamen lagen nicht vor, da diese in den Studien von ELLIS et al. (1988, 1989 und 1990) nicht untersucht worden sind. Um die Berechnung der Regressionsgleichung zur Bestimmung der Abtötungspunkte von Tomatensamen nicht negativ durch eine nicht auszuschließende Kurvenanomalie bei extrem trockenen Samen zu beeinflussen, wurde die Untersuchung auf einen SFG von 6,5 % begrenzt. Auch bezüglich des Temperaturbereiches, der von 40 bis 70 °C reicht, deckte die vorhandene Datenbasis den für Rotteprozesse und die Hygienisierung wichtigen Bereich ab.

Tab. 19: Abtötungsdauer [Tage] von Tomatensamen in Abhängigkeit von der Temperatur und dem SFG

Mit ^P gekennzeichnete Werte stammen von POLLMANN (1996), mit ^I gekennzeichnete Werte wurden im Rahmen dieser Untersuchung erhoben

SFG [%]	Temperatur [°C]				
	40	50	55	60	70
6,5				8,5 ^I	
7,5		33,0 ^I	16,0 ^I	5,0 ^I	
8					1,0 ^P
10		16,0 ^I	7,0 ^I	2,0 ^I	
15	45,0 ^P	7,5 ^{I/P}	3,0 ^{I/P}	1,25 ^{I/P}	
25	20,0 ^P	3,5 ^P	1,25 ^P	0,5 ^P	
35	16,0 ^P	2,0 ^P	0,75 ^P	0,21 ^P	
50				0,125 ^P	

Auf Basis der in Tab. 19 aufgeführten Daten konnten zwei Regressionsgleichungen ermittelt werden, mit denen der dreidimensionale Zusammenhang zwischen der Behandlungs-

temperatur, dem SFG und der Behandlungsdauer auf die Abtötung von Tomatensamen beschrieben werden kann. Hierzu reichte in der einfachsten Form eine Funktionsgleichung mit drei Berechnungsgliedern (Gleichung 4). Die Gleichung beinhaltet die beiden logarithmischen Terme, die zwischen der Abtötungsdauer und den beiden Einflussgrößen SFG und Temperatur gemäß den oben zitierten Literaturquellen zu vermuten waren. Die Aussagegenauigkeit der Gleichung ist bei einem Bestimmtheitsmaß (R^2) von 0,977 als relativ hoch zu bewerten. Das nahe bei 1,0 liegende Bestimmtheitsmaß und die in Abb. 12 dargestellten Ergebnisse der Regressionsanalyse belegen, dass die berechneten Werte die empirisch erhobenen Werte gut abbilden. Durch die Hinzunahme eines vierten Terms (Gleichung 5), mit dem der Temperatureinfluss differenzierter berechnet wird, konnten noch exaktere Übereinstimmungen zwischen den empirisch ermittelten und den berechneten Werten erreicht werden. Hierdurch konnte das Bestimmtheitsmaß auf 0,989 gesteigert werden (Abb. 13).

Gleichung 4: Dreigliedrige Gleichung zur Definition der Abtötungsdauer von Tomatensamen in Abhängigkeit vom SFG [%] und der Behandlungstemperatur [°C]

$$\text{Abtötungsdauer [Tage]} = e^{\left(a + \frac{b}{\ln \text{SFG [\%]}} + \frac{c}{\ln \text{Temp [°C]}} \right)}$$

$a = -36,22$; $b = 12,99$; $c = 130,01$

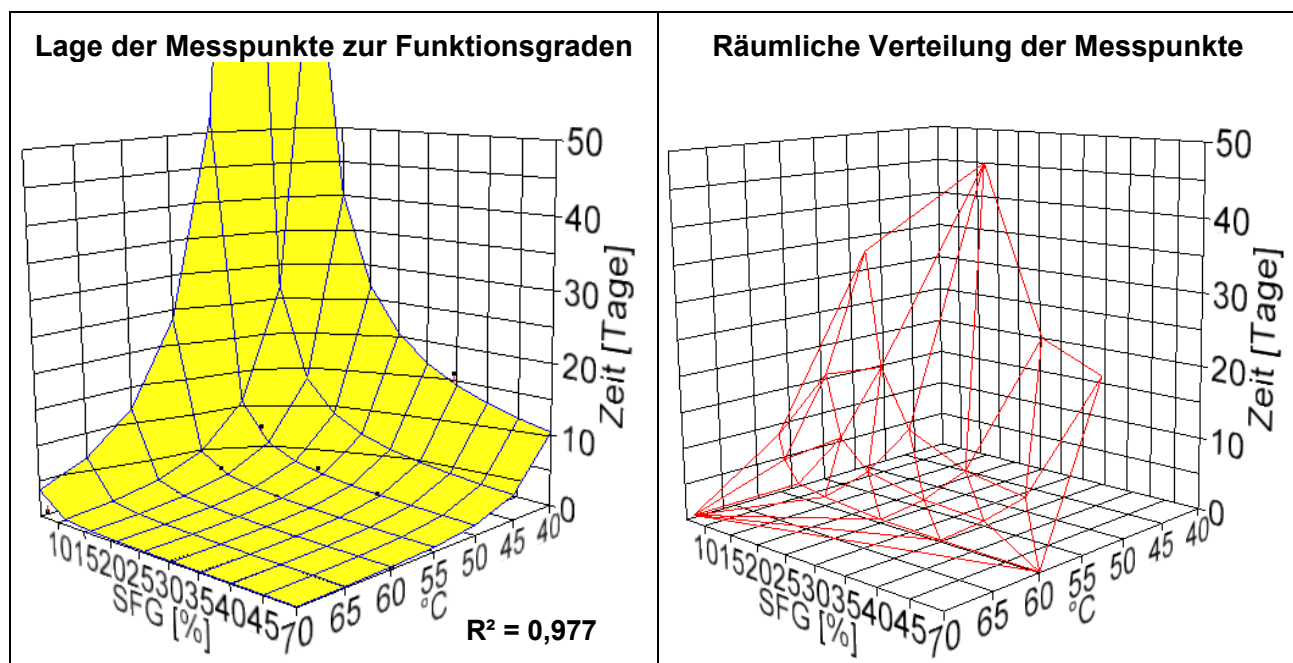


Abb. 12: Empirische und gemäß Gleichung 4 berechnete Abtötungsdauer [Tage] in Abhängigkeit vom SFG [% H₂O] und der Behandlungstemperatur [°C]

Punkte = empirisch ermittelte Abtötungsdauer, dreidimensionale Fläche = rechnerische Abtötungsdauer; rotes Netz kennzeichnet Anteil der berechneten Fläche, der durch empirische Messwerte abgedeckt ist

Gleichung 5: Viergliedrige Gleichung zur Definition der Abtötungsdauer von Tomaten-samen in Abhängigkeit vom SFG [%] und der Behandlungstemperatur [°C]

$$\text{Abtötungsdauer [Tage]} = e^{\left(a + \frac{b}{\ln \text{SFG [\%]}} + \frac{c}{\ln \text{Temp [°C]}} + \frac{d \cdot \ln \text{Temp [°C]}}{\text{Temp [°C]}} \right)}$$

$a = -251,84$; $b = 12,25$; $c = 1413,65$; $d = -1432,52$

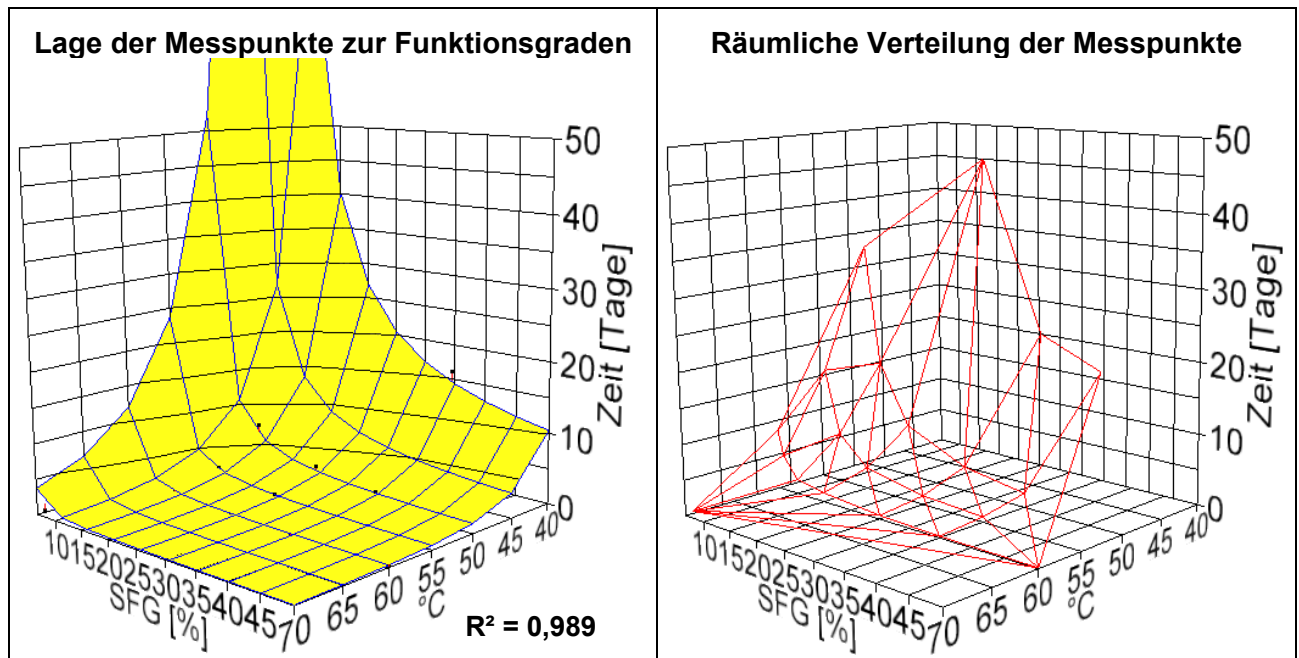


Abb. 13: Empirische und gemäß Gleichung 5 berechnete Abtötungsdauer [Tage] in Abhängigkeit vom SFG [% H₂O] und der Behandlungstemperatur [°C]

Punkte = empirisch ermittelte Abtötungsdauer, dreidimensionale Fläche = rechnerische Abtötungsdauer; rotes Netz kennzeichnet Anteil der berechneten Fläche, der durch empirische Messwerte abgedeckt ist

Die exaktere Bewertung des Temperatureinflusses bewirkt, dass die durchschnittliche absolute Abweichung zwischen gemessenen und berechneten Werten von 0,923 auf 0,518 Tage verringert wird (Tab. 20). Bei Anwendung der Gleichung 4 ist die errechnete Abtötungsdauer im Vergleich zu empirischen Daten bei niedrigen Temperaturen zu kurz und bei hohen Temperaturen zu lang. Durch den zusätzlichen Temperaturterm (Gleichung 5) kann die Prognosegenauigkeit gegenüber der einfacheren Gleichung deutlich gesteigert werden.

Tab. 20: Vergleich der empirisch ermittelten Abtötungsdauer von Tomatensamen mit Prognoseergebnissen gemäß Gleichung 4 und Gleichung 5

SFG [%]	Temp. [°C]	Abtötungs-dauer [Tage]	Prognose Gleichung 4 [Tage]	Prognose Gleichung 5 [Tage]	Abweichung Gleichung 4 [Tage]	Abweichung Gleichung 5 [Tage]
15	40	45,00	45,65	44,42	0,65	-0,58
25	40	20,00	21,32	21,66	1,32	1,66
35	40	16,00	14,55	15,11	-1,45	-0,89
7,5	50	33,00	31,84	33,79	-1,16	0,79
10	50	16,00	14,23	15,81	-1,77	-0,19
15	50	7,50	6,11	7,12	-1,39	-0,38
25	50	3,50	2,86	3,47	-0,64	-0,03
35	50	2,00	1,95	2,42	-0,05	0,42
7,5	55	16,00	14,45	13,91	-1,55	-2,09
10	55	7,00	6,45	6,50	-0,55	-0,50
15	55	3,00	2,77	2,93	-0,23	-0,07
25	55	1,25	1,30	1,43	0,05	0,18
35	55	0,75	0,88	1,00	0,13	0,25
6,5	60	8,50	11,87	9,22	3,37	0,72
7,5	60	5,00	7,25	5,79	2,25	0,79
10	60	2,00	3,24	2,71	1,24	0,71
15	60	1,25	1,39	1,22	0,14	-0,03
25	60	0,50	0,65	0,60	0,15	0,10
35	60	0,21	0,44	0,42	0,23	0,21
50	60	0,10	0,32	0,30	0,19	0,18
8	70	1,00	1,88	0,86	0,88	-0,14
mittlere absolute Abweichung					0,923	0,518

7.3 Prognostizierung der Abtötungsdauer von Tomatensamen bei nicht konstanten Temperaturen

Der Kompostierungsprozess ist durch schwankende Temperaturen gekennzeichnet. Dementsprechend ist die wärmebedingte Hygienisierung eines solchen Prozesses das Ergebnis dieser wechselnden Temperatureinflüsse, wobei mit den Temperaturänderungen auch Änderungen der Geschwindigkeiten einhergehen, mit der der Hygienisierungsprozess abläuft (Hygienisierungsgeschwindigkeit). Zur Überprüfung der Genauigkeit, mit der ein Abtötungszeitpunkt von Tomatensamen bei nicht konstanter Temperatureinwirkung prognostiziert werden kann, wurde eine Versuchsreihe durchgeführt, bei der Tomatensamen im Bereich von 5,5 bis 30 % SFG mit stufenweise steigender Bebrütungstemperatur von + 2 °C je 0,5 Tage behandelt wurden.

Für die Prognose von Abtötungszeitpunkten wurde bei einer Temperatur von > 40 °C ein mit zunehmender Behandlungszeit kontinuierlich fortschreitender Hygienisierungsprozess angenommen. Reparatureffekte, durch die vorgeschädigte Samen ihre Keimfähigkeit zurückgewinnen können, konnten beim gewählten Versuchsansatz unberücksichtigt bleiben, da die hierfür erforderlichen enzymatischen Prozesse nur bei hohem SFG (gequollenen Samen) und bei Temperaturen von weniger als 40 °C zum Tragen kommen (ROBERTS 1972, COOLBEAR et al. 1984, PRIESTLEY 1986).

Als Grundlage für die Prognose der in Abhängigkeit vom SFG der Samen zu erwartenden Abtötungsdauer wurde für jede Temperaturstufe der Inaktivierungsgrad ($\text{IGr}_{\text{Temp.,SFG}}$) errechnet, der in Abhängigkeit von SFG durch eine einstündige Wärmeeinwirkung erreicht wird. (Gleichung 6). Der Inaktivierungsgrad ist ein theoretischer Wert eines zeitlich linearen Abtötungsmodells, der angibt, wie viel Prozent der erforderlichen Abtötungsdauer innerhalb einer Stunde erreicht wird.

Gleichung 6: Definition des Inaktivierungsgrades (IGr) einer einstündigen Wärmebehandlung in Abhängigkeit von der Behandlungstemperatur und dem SFG

$$\text{IGr}_{\text{Temp.,SFG}} \left[\frac{\%}{\text{h}} \right] = \frac{100 [\%]}{\text{Abtötungsdauer}_{\text{Temp.,SFG}} [\text{h}]}$$

Bei dem gewählten Versuchsansatz des Temperatursteigerungsversuches wird auf jeder Temperaturstufe ein spezifischer Hygienisierungsbeitrag geleistet, wobei der jeweilige Inaktivierungsgrad von Temperaturstufe zu Temperaturstufe zunimmt. Zur Berechnung des nach jeder Temperatursteigerung erreichten kumulativen Inaktivierungsgrades (kum.IGr.) wurden die auf jeder Temperaturstufe zuvor erzielten Einzelbeiträge addiert (Gleichung 7). Die prognostizierte Abtötungsdauer wird bei einem kumulativen Inaktivierungsgrad von 100 % erreicht.

Gleichung 7: Berechnung des kumulativen Inaktivierungsgrades (kum.IGr) einer Wärmebehandlung mit stufenweise steigender Bebrütungstemperatur (+ 2 °C je 0,5 Tage)

$$\text{kum.IGr}_{+2^{\circ}\text{C}/12\text{h}} [\%] = \frac{\text{IGr}_{\text{Temp.1}} [\%] + \text{IGr}_{\text{Temp.2}} [\%] + \dots + \text{IGr}_{\text{Temp.z}} [\%]}{[\text{h}]} \cdot \frac{12 [\text{h}]}{[\text{d}]}$$

Um zu überprüfen, ob durch den zusätzlichen Temperaturterm der Gleichung 5 auch bei nicht konstanten Temperaturen eine exaktere Prognosegenauigkeit erreicht wird, wurden die den Ergebnissen beider Gleichungen mit den empirisch ermittelten Daten verglichen.

Die Ergebnisse der empirisch ermittelten Keimfähigkeitsverluste, die durch stufenweise gesteigerte Wärmeeinwirkung von +2 °C/0,5 Tage bei unterschiedlich feuchten Tomatensamen verursacht wurden, bestätigen, dass Gleichung 5 deutlich exaktere Prognoseergebnisse liefert als Gleichung 4 (Abb. 14). Bei Anwendung von Gleichung 4 bestätigt sich die oben beschriebene Beobachtung, dass die Abtötung bei niedriger Temperatur zu früh und die bei hoher Temperatur zu spät prognostiziert wird. Dementsprechend berechnet die einfacher aufgebaute Gleichung für die Abtötung von feuchten Samen (30 % SFG) eine zu kurze und bei trockenen Samen (≤ 10 % SFG), die erst auf höheren Temperaturstufen ihre Keimfähigkeit verlieren, eine zu lange Abtötungsdauer.

Gleichung 5 hat sich bei allen Feuchtigkeitsstufen als sehr gutes Prognoseinstrument erwiesen. Durch die Berücksichtigung eines zweiten Temperaturterms konnten die Zeitpunkte des Keimverlustes über den gesamten Bereich der untersuchten Samenfeuchtigkeit (5,5 - 30 % SFG) sehr genau prognostiziert werden.

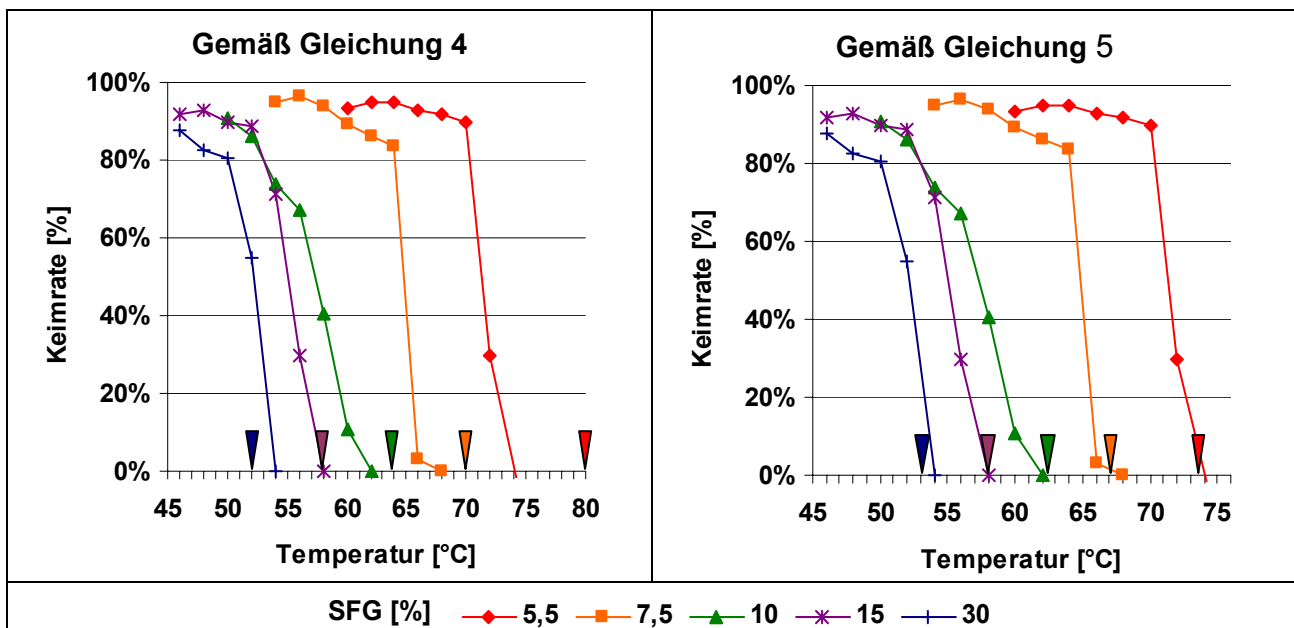


Abb. 14: Prognostizierter und gemessener Verlust der Keimfähigkeit von Tomatensamen in Abhängigkeit vom SFG [%]

der Linienfarbe entsprechende Pfeile kennzeichnen Prognoseergebnis des jeweiligen SFG; Temperatursteigerung = +2°C/0,5 Tage, Anfangstemperatur = 38 °C

Die Übereinstimmung von empirisch ermittelten und prognostizierten Ergebnissen zeigt, dass Gleichung 5 genutzt werden kann, um den Verlust der Keimfähigkeit von Tomatensamen auch bei kontinuierlich steigender Temperatureinwirkung zu berechnen. Die Übereinstimmung der Ergebnisse belegt, dass die gemäß der oben gezeigten Gleichung berechneten Inaktivierungsbeiträge der einzelnen Temperaturstufen, zu einem kumulativen Inaktivierungsgrad addiert werden können. Darüber hinaus belegen die Übereinstimmungen, die im Bereich von 60 bis 75 °C zu beobachten sind, dass die Gleichung auch bei höheren Temperaturen angewendet werden kann, obwohl zur Ableitung der Gleichung primär Daten im Temperaturbereich von 40 bis 60 °C herangezogen worden sind (s. Tab. 19 und Abb. 13). Diese Übereinstimmung ist besonders im Hinblick auf die Kompostierung wichtig, da sich während der Intensivrottephase häufig Temperaturen in dieser Größenordnung entwickeln (MARTENS 2004). Im Hinblick auf die wechselnden Temperaturen des Rotteprozesses sollte durch weitere Untersuchungen überprüft werden, mit welcher Genauigkeit der auf Gleichung 5 basierende kumulative Inaktivierungsgrad bei abwechselnd steigenden und sinkenden Temperaturen berechnet werden kann.

7.4 Entwicklung neuer Methoden zur Bewertung der Hygienisierung

7.4.1 Methodische Vorgehensweise bei der Definition der Wärmeverträglichkeit von Indikatororganismen für Hygieneuntersuchungen

Nachdem gezeigt werden konnte, dass die Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen durch Einstellung des SFG (Konditionierung) auf ein gewünschtes Niveau eingestellt werden kann, musste die Frage beantwortet werden, bei welchem SFG eine erfolgreiche Hygienisierung angezeigt werden kann. Unabhängig davon, ob die Bewertung der Hygienisierung unter Verwendung von konditionierten Tomatensamen als Prüfkörper für direkte

Prozessprüfungen gemäß BioAbfV (s. Kapitel 6) oder anhand von Temperaturdaten erfolgen soll, ist der SFG von Tomatensamen zu bestimmen, bei dem die Samen genau die Wärmeverträglichkeit besitzen wie Organismen, deren Abtötung nachgewiesen werden soll. Dieser Zustand wird im Folgenden $SFG_{\text{äquivalent}}$ bezeichnet. Zur Berechnung eines $SFG_{\text{äquivalent}}$ können exakt definierte Temperatur-Zeit-Beziehungen verwendet werden, die nachweislich zu einer sicheren Abtötung eines relevanten Pathogens oder zum Keimverlust von Samen einer Unkrautart führen.

Zur Veranschaulichung des Prinzips wird im Folgenden die Abtötungsdauer von wärmeverträglichen Proben des Erregers *P. brassicae* betrachtet, die bei einer Temperatur von 50 °C sieben bis 10 Tagen beträgt (s. Kapitel 4). Dem Prinzip der Nachweismethode mit Indikatororganismen folgend, bei dem die Abtötung weniger widerstandsfähiger Organismen durch die Abtötung widerstandsfähigerer Organismen angezeigt wird, gilt es, die Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen durch Einstellung des SFG an die Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* anzugleichen. Der Zustand, bei dem Tomatensamen zum gleichen Zeitpunkt abgetötet werden wie der Erreger *P. brassicae*, wird im Folgenden als SFG mit äquivalenter Wärmeverträglichkeit ($SFG_{\text{äquivalent}/P.br.}$) bezeichnet. Gemäß den in Tab. 19 dargestellten Ergebnissen aus empirischen Versuchen ist für das betrachtete Beispiel ein SFG zwischen 10 und 15 % einzustellen. Eine exakte Bestimmung des einzustellenden SFG wurde durch Umstellung der oben dargestellten Funktionsgleichung (Gleichung 5) vorgenommen. Das Ergebnis der Umstellung ist in Gleichung 8 dargestellt.

Gleichung 8: Bestimmung des $SFG_{\text{äquivalent}}$ für bekannte Temperatur-Zeit-Beziehungen

$$SFG_{\text{äquivalent}} [\%] = e^{\left(\frac{b}{\ln \text{ Abtötungsdauer [Tage]} - a - \frac{c}{\ln \text{ Temp } [^{\circ}\text{C}]} - \frac{d * \ln \text{ Temp } [^{\circ}\text{C}]}{\text{Temp } [^{\circ}\text{C}]} \right)}$$

$a = -251,84; b = 12,25; c = 1413,65; d = -1432,52$

Der Zusammenhang zwischen der Inaktivierungsdauer bei 50 °C und dem SFG von Tomatensamen ist in Abb. 15 dargestellt. Für das angeführte Beispiel errechnet sich für die wärmeverträglichste Probe von *P. brassicae*, die im Rahmen der eigenen Untersuchungen gefunden wurde, ein $SFG_{\text{äquivalent}/P.br.}$ von 12,4 %. Die überwiegende Anzahl der untersuchten Proben des Erregers *P. brassicae* verfügte über eine geringere Wärmeverträglichkeit als vollkommen eingequollene Tomatensamen, deren SFG bei maximal 50 % liegt. Sie werden somit selbst von Tomatensamen mit einer geringst möglichen Wärmeverträglichkeit dominiert.

Zur Absicherung von berechneten $SFG_{\text{äquivalenten}}$ wäre eine Bestätigung auf Grundlage zusätzlicher Temperatur-Zeit-Beziehungen wünschenswert. Aufgrund der heterogenen und nicht prognostizierbaren Reaktion von *P. brassicae* kann der Beweis, dass sich sowohl von höheren als auch von tieferen Temperaturen das gleiche $SFG_{\text{äquivalent}}$ ableitet, nicht geführt werden. Aufgrund der nicht exakt zu definierenden Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* kann die Abtötung des Erregers anhand der Reaktion von Tomatensamen mit 12,4 % SFG nicht mit absoluter Sicherheit abgeleitet werden, da das Vorkommen von

noch wärmeverträglicheren Proben des Erregers nicht gänzlich ausgeschlossen werden kann. Ein verbleibendes Restrisiko bei der grundsätzlichen Übertragbarkeit von Daten, die Indikatororganismen liefern, ist jedoch kein neues Problem. Auch bei den derzeit verwendeten Testorganismen bleibt eine Unsicherheit bei der Verallgemeinerung der Ergebnisse, die aus inhomogenen Reaktionen der Indikatororganismen resultieren.

Verglichen mit der Inaktivierungsdauer von *P. brassicae*, die bei 50 °C über einen Zeitraum von mehr als neun Tagen variiert (Abb. 15), kann die wärmebedingte Hygienisierung am Verhalten von konditionierten Tomatensamen, deren Abtötungsdauer präzise definiert ist, insgesamt betrachtet wesentlich genauer und somit zuverlässiger bewertet werden als dies anhand der Reaktion des derzeit vorgeschriebenen Testorganismus der BioAbfV möglich ist. Der Hygienienachweis mit konditionierten Tomatensamen erfolgt durch zwei aufeinander folgende Analogieschlüsse. In der ersten Schlussfolgerung wird durch die Abtötung der Samen auf eine Abtötung von *P. brassicae* in seiner widerstandsfähigsten Form geschlossen. Gemäß der derzeitigen Regelung der BioAbfV wird dies in der zweiten Schlussfolgerung als Nachweis für die Abtötung anderer Pathogene betrachtet.

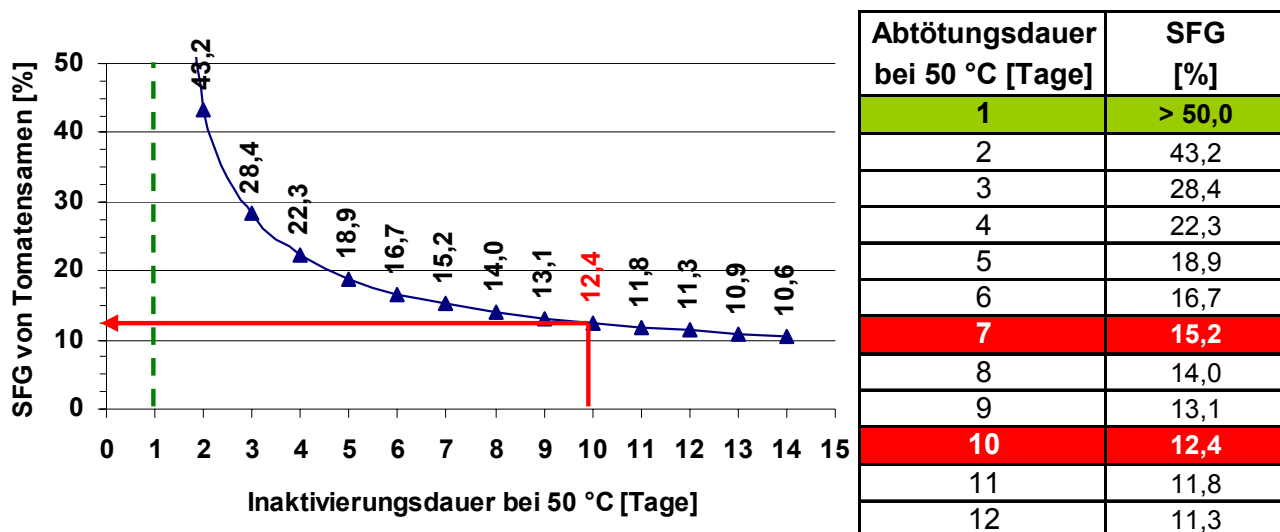


Abb. 15: Anpassung des SFG_{äquivalent} von Tomatensamen an die bei 50 °C festgestellte Wärmeverträglichkeit von unterschiedlichen Proben des Erregers *P. brassicae*
 Rot (Kasten/Linie) kennzeichnet die selten beobachtete Abtötungsdauer und entsprechende SFG_{äquivalente} von *P. brassicae*; Grün (Kasten/Linie) kennzeichnet die häufig beobachtete Abtötungsdauer und entsprechendes SFG_{äquivalent} von *P. brassicae*

7.4.2 Anwendung der Hygienisierungsungleichung zur Bewertung der wärmebedingten Hygienisierung auf Grundlage von Temperaturdaten

Da sich die Abtötungsdauer von konditionierten Tomatensamen durch Verwendung einer Funktionsgleichung exakt prognostizieren lässt, ermöglicht die Auswertung von zuverlässig ermittelten Rottetemperaturen die Berechnung der wärmebedingten Hygienisierung. Die Berechnung des Hygienisierungsgrades von Kompost erfolgt in drei Schritten. Im ersten Schritt werden Temperaturdaten analysiert und dabei in ihre Bestandteile zerlegt. Als Produkt liefert die Datenanalyse ein Temperaturhistogramm, das die Häufigkeitsverteilung

von Temperaturstufen (Anzahl Stunden je Temperaturstufe) darstellt. Im zweiten Schritt werden die einzelnen Hygienisierungsbeiträge jeder Temperaturstufe berechnet. Gemäß Gleichung 9 berechnet sich die Höhe des temperaturabhängigen Hygienisierungsbeitrages ($\text{HyBtr}_{\text{Temperaturstufe}}$) aus dem Produkt der Stundenanzahl (Dauer der Einwirkung) und der Hygienisierungsleistung der jeweiligen Temperaturstufe ($\text{HyL}_{\text{Temperaturstufe}}$). Die Hygienisierungsleistung einer Temperaturstufe wird definiert als Prozentsatz der Hygienisierung, der durch eine einstündige Einwirkung erreicht wird (Gleichung 10). Die Hygienisierungsleistung steigt, wie aus Gleichung 5 (S. 65) ersichtlich ist, mit linear steigender Temperatur exponentiell an.

Gleichung 9: Definition des Hygienisierungsbeitrages einer Temperaturstufe

$$\text{HyBtr}_{\text{Temperaturstufe}} [\%] = \text{HyL}_{\text{Temperaturstufe}} \left[\frac{\%}{\text{h}} \right] * \sum h_{\text{Temperaturstufe}}$$

Gleichung 10: Definition der Hygienisierungsleistung einer Temperaturstufe

$$\text{HyL}_{\text{Temperaturstufe}} \left[\frac{\%}{\text{h}} \right] = \frac{1}{\text{Hygienisierungsdauer}_{\text{Temperaturstufe}} [\text{h}]} * 100 [\%]$$

Im dritten Schritt werden die spezifischen Hygienisierungsbeiträge der einzelnen Temperaturstufen zum Gesamtergebnis, dem kumulativen Hygienisierungsgrad (kum.HyGr) eines Rotteabschnittes addiert (Gleichung 11).

Gleichung 11: Berechnung des kumulativen Hygienisierungsbeitrages eines Rotteabschnittes

$$\text{kum. HyBtr}_{\text{Rotteabschnitt}} [\%] = \text{HyBtr}_{38^\circ\text{C}} [\%] + \text{HyBtr}_{39^\circ\text{C}} [\%] + \dots \text{HyBtr}_z [\%]$$

Diese Berechnung folgt dem in Gleichung 7 beschriebenen und durch empirische Untersuchungen bestätigten Prinzip der Berechnung des kumulativen Inaktivierungsgrades, das zur Prognose von Abtötungszeitpunkten im Rahmen der Temperatursteigerungsversuche verwendet wurde. Da bei Temperaturen von weniger als 38 °C keine relevanten Hygienisierungsbeiträge für die wärmebedingte Hygienisierung beigesteuert werden, können Temperaturstufen < 38 °C unberücksichtigt bleiben. Die kleinste Einheit eines Rotteabschnittes ist der Zeitraum zwischen zwei Umsetzterminen, bei denen das Material unterschiedlicher Rottezonon neu gemischt wird. Diese Einheit wurde im Hinblick auf eine differenzierte Betrachtung des Hygienisierungserfolges unter Berücksichtigung der räumlichen Temperaturverteilung innerhalb von Kompostmieten gewählt (Kap. 7.4.3), da in unterschiedlichen Rottezonon unterschiedlich gute Hygienisierungserfolge zu erwarten sind.

Da mit dem mathematischen Ansatz berechnet wird, ob Tomatensamen einer bestimmten Feuchtigkeitsstufe durch eine gemessene Temperatureinwirkung abgetötet würden, muss vorab das $\text{SFG}_{\text{äquivalent}}$ definiert werden, das die Anforderungen festlegt, die zum Hygienienachweis als zweckmäßig erachtet werden. Die Hygienisierungsanforderungen können, wie im voran gegangenen Kapitel beschrieben, von bekannten Temperatur-Zeit-Beziehungen abgeleitet werden. Zur Erläuterung der methodischen Vorgehensweise wird beispiel-

haft mit einem $SFG_{\text{äquivalent}}$ von 12,4 % gerechnet. Das gewählte $SFG_{\text{äquivalent}}$ stellt einen Bezug zum bisherigen Indikatororganismus *P. brassicae* her, wobei die gewählte Wärmeverträglichkeit von der Proben abgeleitet wurde, die im Rahmen der im Kapitel 4 dargestellten Untersuchungsreihen die größte Wärmeverträglichkeit gezeigt hat (siehe Abb. 15).

Der exponentielle Zusammenhang, der zwischen der spezifischen Hygienisierungsleistung und der Höhe der Temperatur besteht, wird in Abb. 16 verdeutlicht.

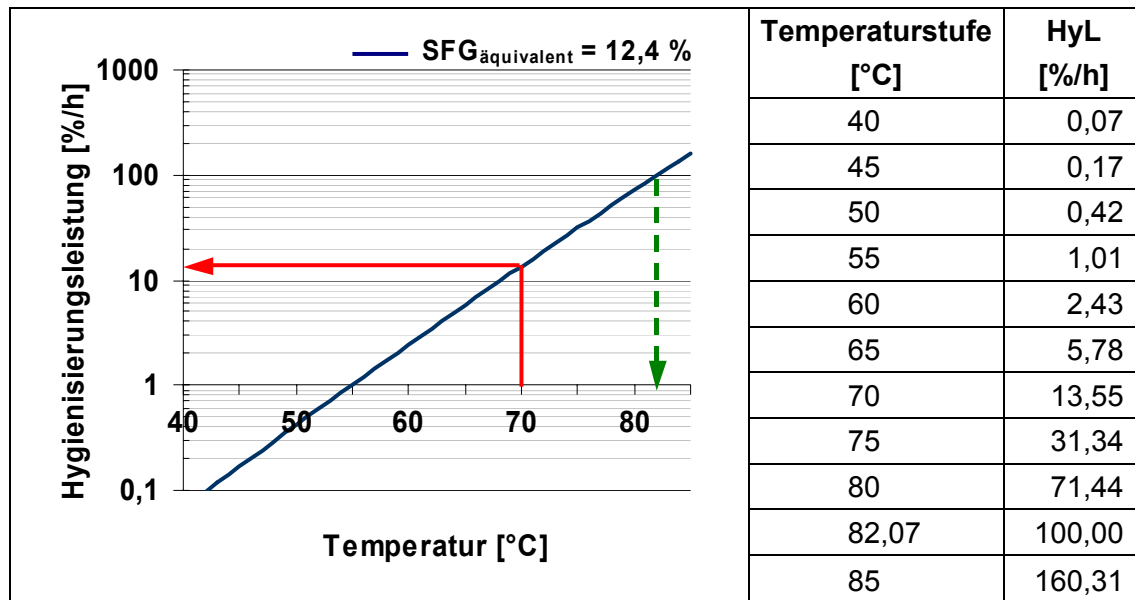


Abb. 16: Hygienisierungsleistung (HyL) unterschiedlicher Temperaturen [%/h] für Tomatensamen mit 12,4 % SFG

rote Linie = Hygienisierungsleistung einer einstündigen Behandlung mit 70 °C (Pasteurisierungsstufe); grüne gestrichelte Linie kennzeichnet erforderliche Temperatur für eine Abtötung in einer Stunde

An der abgebildeten Funktionsgeraden, die für eine $SFG_{\text{äquivalent}}$ von 12,4 % gilt, kann abgelesen werden, dass eine Temperatur von 82 °C erforderlich ist, damit wärmeverträgliche Proben von *P. brassicae* innerhalb einer Stunde abgetötet werden. Eine einstündige Pasteurisierung mit 70 °C, die gemäß den Vorschriften der BioAbfV bei der Bioabfallvergärung als eine Möglichkeit des Hygienienachweises angewendet werden kann, reicht im angeführten Beispiel nicht für eine Hygienisierung aus. Bei 70 °C beträgt die Hygienisierungsleistung 13,5 % pro Stunde. Hieraus errechnet sich eine erforderliche Hygienisierungsdauer von 7,4 Stunden (Gleichung 12). Im Analogieschluss ist deshalb davon auszugehen, dass wärmeverträgliche Proben von *P. brassicae* die gemäß BioAbfV vorgesehene Pasteurisierungsstufe überleben werden.

Gleichung 12: Berechnung der temperaturspezifischen Abtötungsdauer

$$\text{Abtötungsdauer Temperaturstufe [d]} = \frac{100 [\%]}{\text{HyL}_{\text{Temperaturstufe}} \left[\frac{\%}{\text{h}} \right] * 24 \left[\frac{\text{h}}{\text{d}} \right]}$$

Aufgrund der inhomogenen Wärmeverteilung innerhalb von Kompostmieten sind zur exakten Bewertung der Hygienisierung in Abb. 17 dargestellten Temperaturprofile der cha-

rakteristischen Mietenbereiche Basis, Kern und Rand differenziert zu bewerten. Eine entsprechende Auswertung der Ergebnisse der Temperaturdaten einer Tafelmiete des ersten Rotteabschnittes ist in Abb. 18 dargestellt. Die Abbildungen auf der linken Seite enthalten das Ergebnis der Temperaturdatenanalyse in Form von Temperaturhistogrammen. Die Histogramme auf der rechten Seite enthalten die spezifischen Hygienisierungsbeiträge der einzelnen Temperaturstufen, die sich gemäß Gleichung 10 für die Abtötung von Tomatensamen mit 12,4 % SFG ($\text{SFG}_{\text{äquivalent}/P.br.}$) errechnen und die kumulativen Hygienisierungsbeiträge der einzelnen Rottezonen, die sich gemäß Gleichung 11 errechnen.

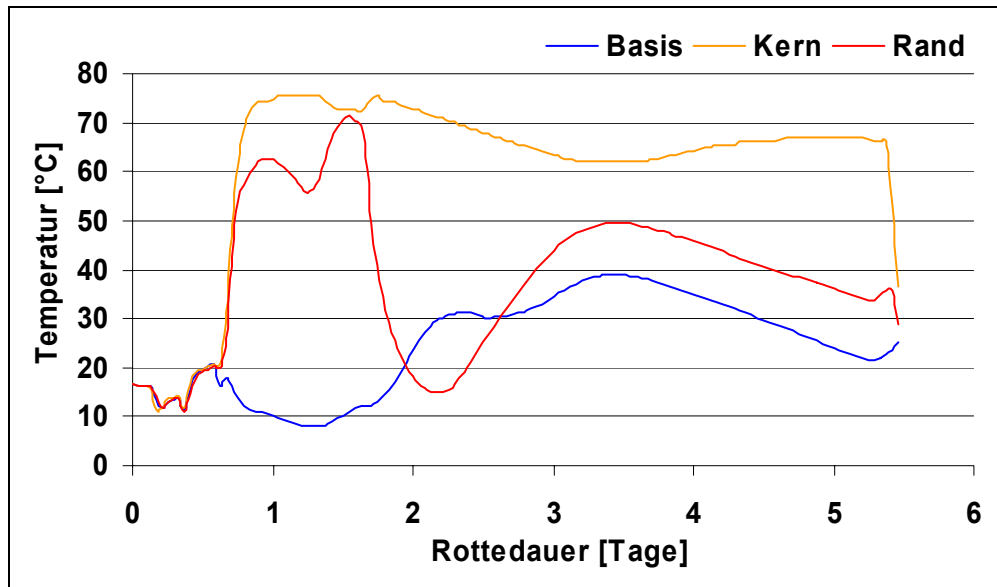


Abb. 17: Temperaturdaten der ersten Rottephase einer Tafelmiete

Das temperaturbasierte Bewertungsverfahren zeigt, dass die Wärmeentwicklung im ersten Rotteabschnitt im Kern- und Randbereich der Miete ausgereicht hat, um Tomatensamen mit 12,4 % SFG abzutöten. Im Analogieschluss ist in diesen Mietenzenen von einer Abtötung des Erregers *P. brassicae* und aller anderen Erreger und Unkrautsamen auszugehen, die bei 50 °C in weniger als 10 Tagen abgetötet werden. Aufgrund der durchweg hohen Temperatur, die im Mittel 60,8 °C betrug, errechnet sich für den Kernbereich der Miete ein kumulativer Hygienisierungsgrad von 1.372 %. Die Höhe des Hygienisierungsgrades kann zur Abschätzung der Aussagesicherheit verwendet werden und bedeutet, dass die vorab definierte Mindestanforderung um das 13,7-fache übertroffen wurde. Im Randbereich der Miete werden die Hygienisierungsanforderungen trotz einer geringen Durchschnittstemperatur von 38,5 °C aufgrund eines am zweiten Tag zu beobachtenden Wärmepeaks knapp eingehalten. Im Basisbereich der Miete hat sich kaum eine hygienisierungswirksame Temperatur gebildet. Bei einem Hygienisierungsgrad von 0,65 % ist davon auszugehen, dass für Tomatensamen mit 12,4 % SFG im Basisbereich innerhalb des ersten Rotteabschnittes noch keine messbare Abtötung erreicht wurde.

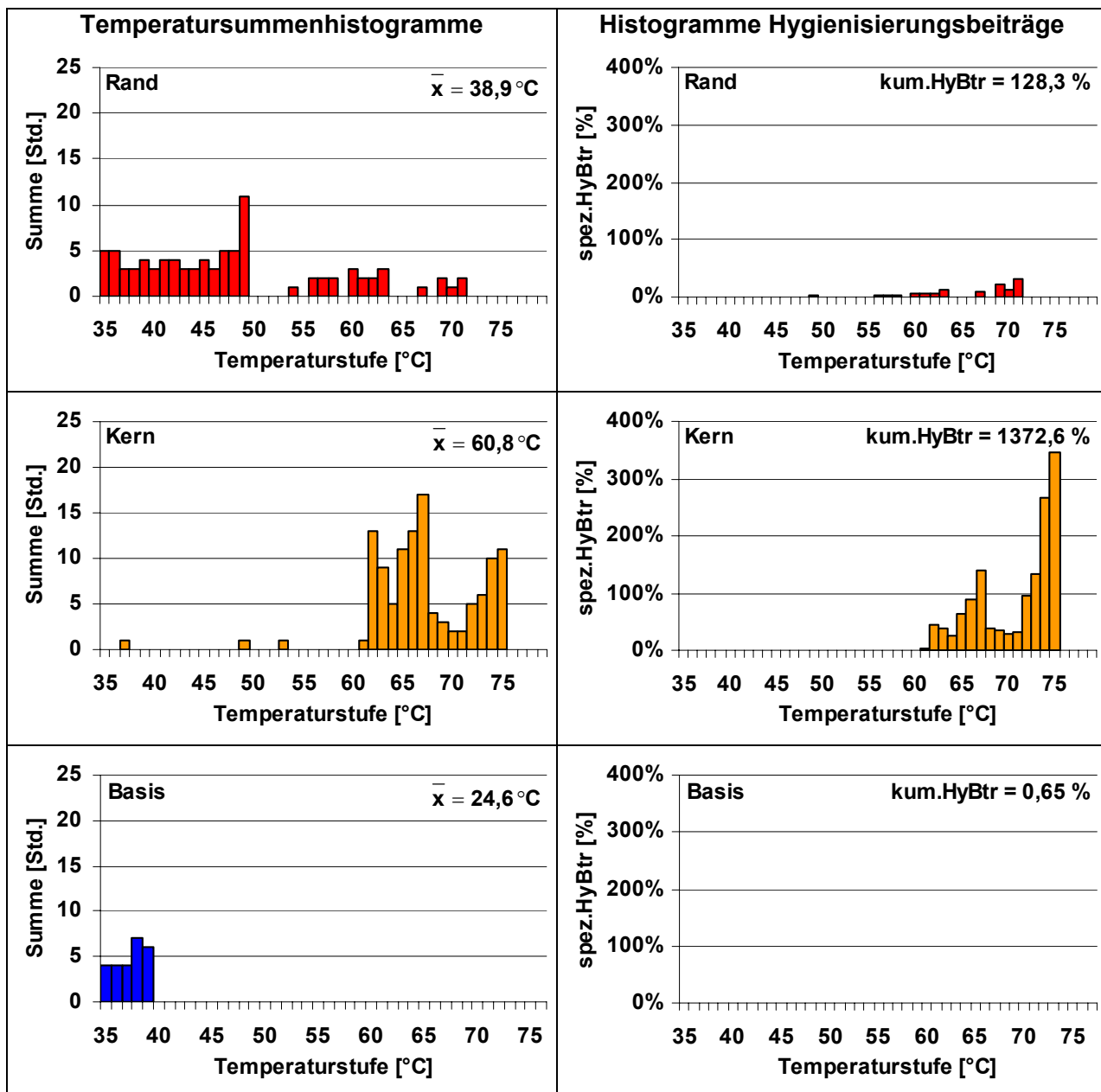


Abb. 18: Auswertung der Temperaturdaten einer Tafelmiete und Berechnung der innerhalb des ersten Rotteabschnittes erreichten kumulativen Hygienisierungsbeiträge (kum.HyBtr) getrennt nach Mietenbereichen; für $\text{SFG}_{\text{äquivalent/P.br.}} = 12,4 \%$

7.4.3 Exemplarische Anwendung der Hygienisierungsgleichung zur Bewertung der wärmebedingten Hygienisierung eines Rotteprozesses

Zur weiteren Beurteilung des Hygienisierungsprozesses im Basisbereich der Miete bietet der rechnerische Ansatz zwei Möglichkeiten. Entsprechend der derzeitigen Methode der direkten Prozessprüfung gemäß BioAbfV, bei der Indikatororganismen in charakteristische Mietenbereiche eingelegt werden und während des gesamten Rottezeitraums dort bleiben, kann der Gesamthygienisierungsgrad im Basisbereich durch Verrechnung aller bis zum Ende des Rotteprozesses dort gewonnenen Temperaturdaten ermittelt werden. Durch den Verzicht auf Indikatororganismen, der durch die Auswertung von Temperaturdaten ermöglicht wird, kann jedoch eine differenziertere Betrachtung vorgenommen werden, bei der

das Durchmischen der Miete durch das Umsetzen einbezogen wird. Durch die Methode der Datenverarbeitung kann ein der Realität entsprechender Wechsel des Rottegutes von einem in ein anderes Mietensegment simuliert werden. Die Wahrscheinlichkeit, mit der Pathogene und Unkrautsamen beim Umsetzen in stärker erwärmte Mietenbereiche gelangen, kann somit bei der Berechnung des Hygienisierungserfolges auf Basis von Temperaturdaten berücksichtigt werden. Bei einer Überprüfung von drei Rottezonen mit vierfacher Probenwiederholung errechnen sich für das Verfahren der Mietenkompostierung, das bei einer durchschnittlichen Rottezeit von 12 Wochen i. d. R. fünf Umsetzvorgänge vorsieht, insgesamt 2.916 zu überprüfende Kombinationen (Gleichung 13). Diese Komplexität stellt für eine EDV-gestützte Auswertung von Temperaturdaten kein Problem dar, kann aber durch Einlegeproben nicht annähernd bewältigt werden.

Gleichung 13: Mögliche Kombinationen der Probendurchmischung während der Rotte

$$\text{Anzahl Kombinationsmöglichkeiten} = \text{Anzahl Rottezonen}^{\text{Anzahl Umsetzvorgänge} + 1} \cdot n$$

Ausgehend vom Volumen der Mietensegmente und einer zufälligen Neuverteilung des Rottegutes durch das Umsetzen kann die Wahrscheinlichkeit berechnet werden, mit der Rottegut von einem Segment in ein anderes gelangt. Durch Addition der Hygienisierungsbeiträge, die in den einzelnen Mietenzonen im Verlauf der zweiten Rottephase zusätzlich zum bereits vorher erreichten Hygienisierungsgrad beigesteuert werden, kann anhand der Temperaturdatenauswertung eine sehr differenzierte Berechnung des Hygienisierungsgrades vorgenommen werden. Zur Beschreibung der Vorgehensweise wird der weitere Hygienisierungsprozess des ursprünglich aus dem Basisbereich stammenden Rottematerials beispielhaft erläutert. Die Berechnung basiert auf einer angenommenen Volumenverteilung von 25/55/20 % (Rand/Kern/Basis) und Hygienisierungsbeiträgen innerhalb der unterschiedlichen Rottezonen für die zweite Rottephase, die sich aus dem in Abb. 19 dargestellten Temperaturverlauf errechnen und 53,4 % im Rand, 151,2 % im Kern sowie 26,2 % im Basisbereich betragen.

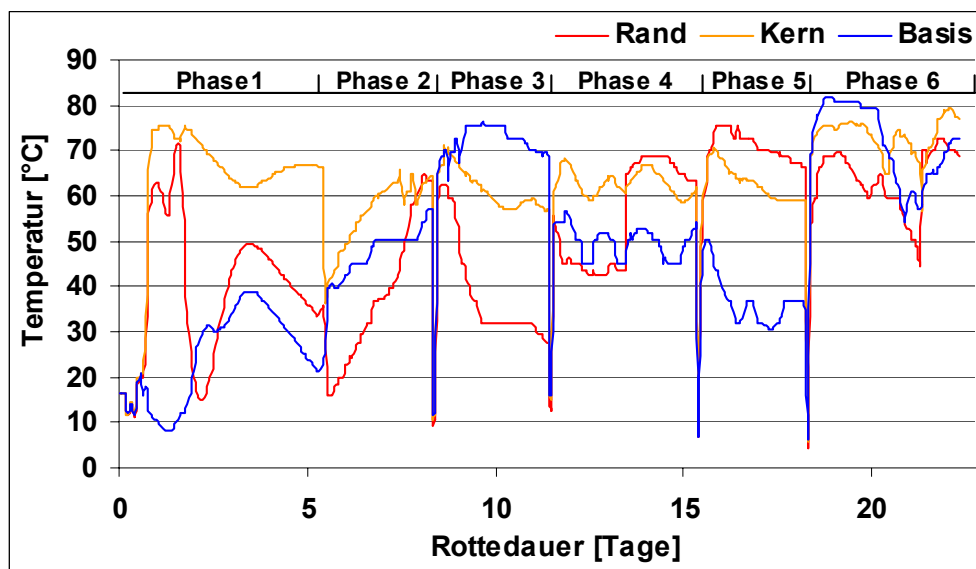


Abb. 19: Temperaturverlauf während der Intensivrotte einer Tafelmietenkompostierung

Der kumulative Hygienisierungsgrad (kum.HyGr) errechnet sich, ausgehend von den Hygienisierungsbeiträgen des ersten Rotteabschnittes, durch Addition der Hygienisierungsbeiträge, die während der zweiten Rottephase innerhalb der unterschiedlichen Rottezonen hinzukommen. In Gleichung 14 wird der Rechenansatz beispielhaft für die Mietenbasis dargestellt.

Gleichung 14: Kalkulation der Gesamthygienisierungsgrade für Rottegut des Basisbereiches (Phase 1) zum Ende der zweiten Rottephase

$$\text{kum.HyGr}_{\text{Basis}} [\%] = \text{kum.HyBtr}_{\text{Basis (Phase1)}} [\%] + \text{kum.HyBtr}_{\text{Rand/Kern/Basis (Phase2)}} [\%]$$

Der weitere Hygienisierungsprozess ist in Abb. 20 dargestellt. Durch das Umsetzen und die anschließende Hygienisierung im Kernbereich wird mehr als die Hälfte des ursprünglich aus dem Basisbereich stammenden und noch nicht hygienisierten Rottegutes während des zweiten Rotteabschnittes vollständig hygienisiert. Das noch nicht vollständig hygienisierte Mietenvolumen wird dadurch von 20 % auf 9 % reduziert.

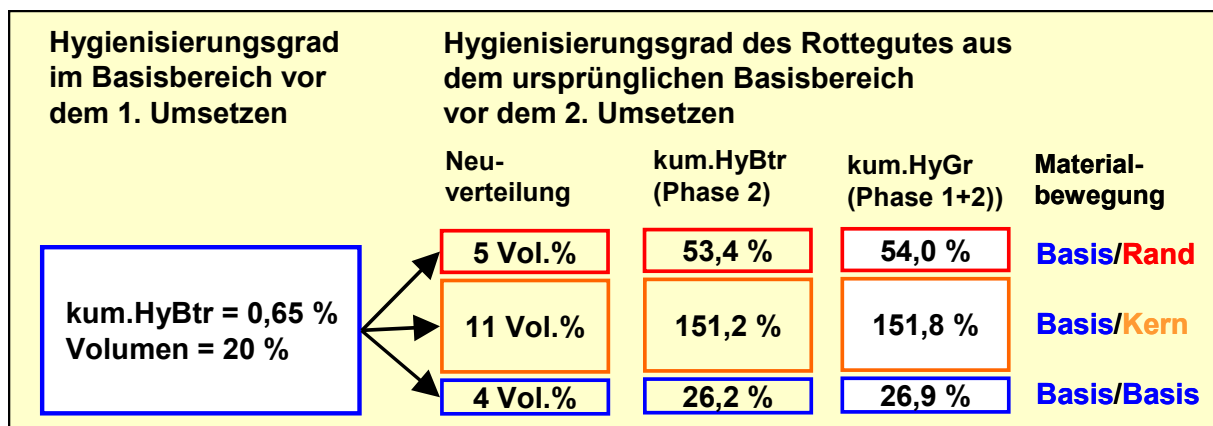


Abb. 20: Berechnung des gesamten Hygienisierungsgrades (ges.HyGr) von zwei Rotteabschnitten für $\text{SFG}_{\text{äquivalent}} = 12,4 \%$; beispielhaft für originäres Rottematerial des Basisbereiches

Gleichzeitig erhöht sich der kumulative Hygienisierungsgrad des Rottegutes, das nach dem Umsetzen im Basisbereich verbleibt, auf 26,9 %. Für Rottegut, das von der Basis in den Randbereich gemischt wird, errechnet sich zum Ende des zweiten Rotteabschnittes ein gesamter Hygienisierungsgrad von 54,0 %.

Die Gesamtbewertung der innerhalb der Intensivrottephase erreichten Hygienisierung auf Basis eines $\text{SFG}_{\text{äquivalent}/P.br.}$ für *P. brassicae* wird in Tab. 21 und Tab. 22 dargestellt. Der Tabelleninhalt liefert das Ergebnis einer Auswertungsmatrix, die zur Verrechnung von Temperaturdaten erarbeitet wurde. Im Tabellenkopf (Zeilen 1 - 4) wird über veränderbare Auswahlparameter der Maßstab definiert, der an die wärmebedingte Hygienisierung angelegt werden soll. Im Fallbeispiel werden zwei Varianten betrachtet. Neben dem schon angeführten Beispiel ($\text{SFG}_{\text{äquivalent}/P.br.} = 12,4 \%$) wird in einer zweiten Betrachtung ein $\text{SFG}_{\text{äquivalent}}$ von 7,06 % verwendet. In der zweiten Betrachtung wird überprüft, ob die hygienisierende Wirkung einer einwöchigen Wärmebehandlung mit 60 °C erreicht wird. Diese Anforderung ist gemäß den Vorgaben der BioAbfV bei geschlossenen Anlagen ein-

zuhalten. Die kumulativen Hygienisierungsbeiträge, die innerhalb der einzelnen Rotteabschnitte in den drei Rottezonen erbracht worden sind, werden in den Zeilen 5 - 8 dargestellt. In Zeile 9 werden für jeden Rotteabschnitt die Werte mit dem geringsten Hygienisierungsbeitrag herausgefiltert. Der Hygienisierungsprozess ist erfolgreich, sobald die Addition der Minimumwerte einen Wert von $\geq 100\%$ ergibt (Zeile 20). Differenzierte Angaben zur weiteren Hygienisierung der ursprünglichen Mietenbereiche der ersten Rottephase weisen die Zeilen 10 - 19 aus.

Wie die Auswertungsmatrix in Tab. 21 zeigt, berechnet sich eine vollständige Hygienisierung am Ende des vierten Rotteabschnitts, wenn hierfür als Maßstab die zur Abtötung von *P. brassicae* erforderliche Wärmeeinwirkung herangezogen wird. Von allen Rotteabschnitten besaß der sechste Abschnitt den größten Hygienisierungsbeitrag. Die in allen Mietenbereichen hohen Temperaturen, die sich in dieser Rottephase eingestellt haben (Abb. 19), hätten ausgereicht, um die Hygienisierung nachzuweisen. Für die gesamte Rottezeit wurde für Rottegut, das die geringste Erwärmung erfahren hat, eine 8,4-fache Hygienisierung (836 %) erreicht (Zeile 20 der Tabelle). Die Betrachtung des Minimumergebnisses zeigt, dass im vorliegenden Fall selbst bei einer Worst-Case-Betrachtung eine sichere Hygienisierung stattgefunden hat.

Die in Tab. 22 dargestellte Auswertungsalternative bemisst den Hygienisierungserfolg an den Anforderungen, die die BioAbfV an die indirekte Prozesskontrolle für geschlossene Kompostanlagen stellt. Die Verordnung besagt, dass für einen möglichst zusammenhängenden Zeitraum von sieben Tagen im gesamten Rottekörper eine Temperatur von $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ erreicht werden muss (ANONYM 1998a). Die Anforderung wird im exakten Wortlaut der Verordnung in der Praxis nicht eingehalten (MARTENS, 2004), was auch die in Abb. 19 gezeigten Temperaturkurven verdeutlichen. Das Ergebnis der Auswertung, dem ein $\text{SFG}_{\text{ä}}$ -äquivalent von 7,06 % zugrunde liegt, zeigt, dass der erreichte Hygienisierungsgrad die Anforderungen der BioAbfV um das 2,1-fache übertrifft, ohne den Verordnungsanforderungen dem Wortlaut folgend gerecht zu werden. Somit bietet das vorgestellte Hygienebewertungsmodell eine weitere Option, mit der die Temperaturdaten im Hinblick auf die indirekte Prozessprüfung differenziert bewertet werden können.

Tab. 21: Gesamtbewertung der Hygienisierung einer Tafelmiete nach Abschluss einer 22-tägigen Intensivrottephase gemessen an der maximalen Wärmeverträglichkeit von *P. brassicae* - SFG_{äquivalent}/P.br. = 12,42

Auswahlparameter						
1	Temperatur-Zeitbeziehung			Volumen der Rottezon		
2	Temperaturauswahl	50 °C		Rand	Kern	Basis
3	Abtötungsdauer	10 Tage		25%	55%	20%
4	SFG-Äquivalent	12,42 %				
kumulativer Hygienisierungsbeitrag pro Rotteabschnitt in %						
5	Mietenbereich	Rotteabschnitt				
		1	2	3	4	5
6	Rand	128%	53%	33%	391%	1139%
7	Kern	1373%	151%	297%	407%	316%
8	Basis	1%	26%	1539%	44%	3%
9	Minimum	1%	26%	33%	44%	3%
gesamter Hygienisierungsgrad in %						
10	Mietenbereich	Rotteabschnitt				
		1	2	3	4	5
11	nur Rand	128%	182%	215%	606%	1745%
12	Rand1 + Min Abschnitte 2-6	128%	154%	188%	232%	235%
13	Vol. d. geringsten Hygienisierung		5,0%	1,3%	0,25%	0,05%
14	nur Kern	1373%	1524%	1821%	2228%	2544%
15	Kern1 + Min Abschnitte 2-6	1373%	1399%	1432%	1476%	1479%
16	Vol. d. geringsten Hygienisierung		11,0%	2,8%	0,55%	0,11%
17	nur Basis	1%	27%	1566%	1610%	1613%
18	Basis1 + Min Abschnitte 2-6	1%	27%	60%	104%	107%
19	Vol. d. geringsten Hygienisierung		4,0%	1,0%	0,20%	0,04%
20	Minimum	1%	27%	60%	104%	107%
Rottedauer je Rotteabschnitt						
21	Rotteabschnitt	1	2	3	4	5
22	Rottedauer	5,5	2,8	3,0	3,9	2,9

Legende

Rottezone mit geringster Hygienisierungsleistung des Rottezykluses

kennzeichnet Phasen erfolgreiche Hygienisierung

kennzeichnet Phasen unvollständige Hygienisierung



Tab. 22: Gesamtbewertung der Hygienisierung einer Tafelmiete nach Abschluss einer 22-tägigen Intensivrottephase gemessen an den Anforderungen der BioAbfV für die Reaktorkompostierung - $SFG_{\text{äquivalent}}$ für 7 Tage $\geq 60^\circ\text{C} = 7,06$

Auswahlparameter						
1	Temperatur-Zeitbeziehung			Volumen der Rottezon		
2	Temperaturauswahl	60	°C	Rand	Kern	Basis
3	Abtötungsdauer	7	Tage	25%	55%	20%
4	SFG-Äquivalent	7,06	%			
kumulativer Hygienisierungsbeitrag pro Rotteabschnitt in %						
5	Mietenbereich	Rotteabschnitt				
		1	2	3	4	5
6	Rand	31%	13%	8%	96%	279%
7	Kern	336%	37%	73%	100%	77%
8	Basis	0%	6%	377%	11%	1%
9	Minimum	0%	6%	8%	11%	1%
gesamter Hygienisierungsgrad in %						
10	Mietenbereich	Rotteabschnitt				
		1	2	3	4	5
11	nur Rand	31%	44%	53%	148%	427%
12	Rand1 + Min Abschnitte 2-6	31%	38%	46%	57%	58%
13	Vol. d. geringsten Hygienisierung		5,0%	1,3%	0,25%	0,05%
14	nur Kern	336%	373%	446%	545%	623%
15	Kern1 + Min Abschnitte 2-6	336%	342%	350%	361%	362%
16	Vol. d. geringsten Hygienisierung		11,0%	2,8%	0,55%	0,11%
17	nur Basis	0%	7%	383%	394%	395%
18	Basis1 + Min Abschnitte 2-6	0%	7%	15%	25%	26%
19	Vol. d. geringsten Hygienisierung		4,0%	1,0%	0,20%	0,04%
20	Minimum	0%	7%	15%	25%	26%
Rottezeit je Rotteabschnitt						
21	Rotteabschnitt	1	2	3	4	5
22	Rottezeit	5,5	2,8	3,0	3,9	2,9

Legende

Rottezone mit geringster Hygienisierungsleistung des Rottezykluses

kennzeichnet Phasen erfolgreiche Hygienisierung

kennzeichnet Phasen unvollständige Hygienisierung



7.4.4 $SFG_{\text{äquivalent}}$ als Maßstab für Hygienisierungsanforderungen

Zum Nachweis einer wärmebedingten Hygienisierung werden in Europa und über die europäischen Grenzen hinaus sehr unterschiedliche Temperatur-Zeit-Beziehungen vorge-schrieben, die im Verlauf der Rotte einzuhalten sind. Die Anforderungen können durch die Berechnung der jeweiligen $SFG_{\text{äquivalente}}$ auf einer einheitlichen Skala abgebildet werden,

wodurch die Höhe der einzelnen Anforderungen vergleichbar werden (Tab. 23). Die Umrechnung verdeutlicht, dass zwischen den Anforderungen der einzelnen Staaten große Unterschiede bestehen. Bei der deutschen Regelung, die in Abhängigkeit vom Behandlungsverfahren fünf unterschiedliche Temperatur-Zeit-Beziehungen vorsieht, werden auch in Abhängigkeit vom Behandlungsverfahren sehr unterschiedliche Anforderungen definiert. Am $SFG_{\text{äquivalent}}$ gemessen, werden besonders geringe Anforderungen an die Pasteurisierungsstufe von Vergärungsanlagen gestellt. Auch die alternativ anwendbaren Anforderungen der offenen Mietenkompostierung unterscheiden sich qualitativ erheblich voneinander. Die Hygienisierungsleistung, die innerhalb einer Woche bei 65 °C erreicht wird, ist deutlich höher als die, die innerhalb von zwei Wochen bei 55 °C erreicht wird. Rechnerisch wird bei 65 °C nach 2,48 Tagen das gleiche Hygienisierungsniveau erreicht wie bei einer zweiwöchigen Behandlung mit 55 °C. Diese Diskrepanz ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die Hygienisierungsanforderungen von unterschiedlichen, in der Literatur beschriebenen Temperatur-Zeit-Beziehungen abgeleitet worden sind, die bislang nicht direkt miteinander vergleichbar waren.

Tab. 23: Vergleich der einzuhaltenden Hygienisierungstemperaturen in Europa, USA und Australien nach HOGG et al. (2002) anhand des $SFG_{\text{äquivalent}}$

Land	Temp _{Min} [°C]	Dauer [Tage]	Bemerkung	$SFG_{\text{äquivalent}}$ [%]
Australien	55	3*3	Mieten, mind. zweimal umsetzen	8,76
Belgien	60	4		8,54
Dänemark	55	14		7,48
Deutschland	65	7	offene Mieten	5,57
	55	20	Verweilzeit bei der Vergärung	6,69
	60	7	Geschlossene Anlagen	7,06
	55	14	offene Mieten	7,48
	70	¹ / ₂₄	Pasteurisierung bei Vergärung	72,01
Frankreich	60	4		8,54
Italien	55	3		14,80
Kanada	55	3		14,80
Niederlande	55	4		12,61
UK	60	6*2	Mieten, mind. fünfmal umsetzen	6,05
	55	15	Mieten, mind. fünfmal umsetzen	7,32
USA	55	5	geschlossene Anlagen	11,27

Auf Grundlage des $SFG_{\text{äquivalent}}$, mit dessen Hilfe die Ergebnisse unterschiedlicher Versuchsansätze auf eine gemeinsame Skala abgebildet werden können, ist die Definition von Temperaturanforderungen bei der Kompostierung auf Basis unterschiedlicher Datenquellen möglich. Voraussetzung ist, dass

- die Temperaturhöhe und die Dauer der Einwirkung exakt definiert sind;
- die Erreger in ihrer widerstandsfähigsten Form (Dauerstadium) behandelt werden;
- die TS-Verhältnisse sich an der Praxis der Kompostierung orientieren.

Da die meisten Untersuchungen unter den schwankenden, häufig nicht exakt protokollierten Temperatureinflüssen von Rotteprozessen durchgeführt wurden, können nur wenige der bis heute durchgeführten Untersuchungen verwertet werden. Anhaltspunkte zur Definition von Temperaturanforderungen liefern Untersuchungsergebnisse von GLASSER (1953), BOLLEN (1985) und NOBLE et al. (2004), die die Abtötung unterschiedlicher Pathogene und Unkrautsamen unter definierten Temperaturbedingungen ermittelt haben (Tab. 25 - Tab. 27). Die Studien besitzen jedoch den Nachteil, dass die Abtötungsdauer nicht exakt genug definiert ist. Insbesondere bei GLASSER (1983) erscheint das Beprobungsintervall von fünf Tagen zu weit gesteckt, um exakte Berechnungen durchführen zu können.

Auch widersprüchliche Aussagen zur Wärmeverträglichkeit einzelner Pathogene sind zu beobachten und erschweren dadurch die Festlegung von Anforderungen an die wärmebedingte Hygienisierung. Vor allem unterscheiden sich die Untersuchungsergebnisse von GLASSER (1953) und BOLLEN (1986) teilweise deutlich voneinander. Während bei den von BOLLEN untersuchten Pathogenen häufig geringe Temperaturansprüche an die Inaktivierung ermittelt wurden, stellt GLASSER deutlich höhere Ansprüche an die Abtötung von Pathogenen fest.

Im Fall von *Synchytrium endobioticum* liegen die Angaben beider Autoren am weitesten auseinander. Die Abweichungen können methodisch bedingt sein, da GLASSER nur die Lebensfähigkeit der Sporen durch Anwendung der Einfärbemethode bestimmt hat, während BOLLEN die Infektiösität der behandelten Proben mit Hilfe von Nachweispflanzen getestet hat. Eine starke Variabilität des Erregers, der eng mit *P. brassicae* verwandt ist, könnte jedoch ebenfalls der Grund für die unterschiedlichen Untersuchungsergebnisse sein.

Unterschiede sind auch zwischen den Studien von BOLLEN und NOBLE et al. (2004) im Fall von *Fusarium oxysporum* ssp. zu sehen. NOBLE et al., die zum Nachweis des Pilzes ein Selektivmedium verwendet haben, schätzen die Wärmeverträglichkeit höher ein als BOLLEN, der mit Nachweispflanzen gearbeitet hat. Möglicherweise deuten die Differenzen darauf hin, dass bei der Bewertung der Hygienisierung zwischen der Abtötung und dem Verlust der Infektiösität differenziert werden kann.

P. brassicae wurde von allen Autoren untersucht. Die Angaben zur Wärmeverträglichkeit des Erregers streuen ebenfalls in weiten Spannen. Im Fall von *P. brassicae* muss ein erheblicher Teil dieser Streuung sowohl aufgrund der oben dargestellten eigenen Ergebnisse als auch auf Basis der von NOBLE et al. (2004) beschriebenen Ergebnisse der Variabilität des Pilzes zugerechnet werden. Auch NOBLE et al. haben bei gleichbehandelten Proben sehr unterschiedlich Wärmeverträglichkeiten festgestellt. Die Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit, die Vorschriften der BioAbfV zu ändern.

Tab. 24: Vergleich der von BOLLEN (1985) ermittelten Wärmeverträglichkeiten unterschiedlicher Phytopathogene durch Berechnung des SFG_{äquivalent}

Pathogen	Abtötungs- temperatur [°C]	Behandlungs- dauer [Std.]	SFG _{äquivalent} [%]
<i>Olpidium brassicae.</i>	62,5	0,5	> 100
<i>Plasmodiophora brassicae</i>	60,0	0,5	> 100
<i>Synchytrium endobioticum</i>	60,0	0,5	> 100
<i>Phytophthora capsici</i>	50,0	0,5	> 100
<i>Phytium aphanidermatum</i>	52,5	0,5	> 100
<i>Colletotrichum coccodes</i>	50,0	0,5	> 100
<i>Cylindrocarpon destructans</i>	47,5	0,5	> 100
<i>Fusarium avenaceum</i>	60,0	0,5	> 100
<i>Fusarium oxysporum</i> ssp. - f.sp. dianthi - f.sp. gladioli - f.sp. lycopersici	65,0 65,0 60,0 60,5	0,5	> 100
<i>Fusarium rodolens</i> ssp.	57,5	0,5	> 100
<i>Fusarium solani</i>	50,0	0,5	> 100
<i>Phomopsis sclerotoides</i>	50,0	0,5	> 100
<i>Verticillium dahliae</i>	47,5	0,5	> 100

Tab. 25: Vergleich der von GLASSER (1953) ermittelten Wärmeverträglichkeiten unterschiedlicher Phytopathogene durch Berechnung des SFG_{äquivalent}

Pathogen	Behandlungs- temperatur [°C]	Behandlungs- dauer [Tage]	Lebendige Sporen [%]	SFG _{äquivalent} [%]
<i>Claviceps purpurea</i>	60	10	5	5,33 - 6,35
	60	20	0	
<i>Plasmodiophora brassicae</i>	50	20	5	7,88 - 9,07
	60	5	0	
<i>Synchytrium endobioticum</i>	50	20	5	7,88 - 9,07
	60	5	0	
<i>Heterodera schachtii</i>	40	10	0	56,77

Tab. 26: Vergleich der von NOBLE et al. (2004) ermittelten Wärmeverträglichkeiten unterschiedlicher Phytopathogene durch Berechnung des SFG_{äquivalent}

Pathogen	Behandlungs- temperatur [°C]	Behandlungs- dauer [Tage]	Lebendige Sporen [%]	SFG _{äquivalent} [%]
<i>Salmonella spp.</i>	55	< 0,042		> 100
<i>Rhizoctonia solani</i>	50	1		> 100
<i>Thielaviopsis basicola</i>	40	7	0	> 97,24
<i>Verticillium dahliae</i>	40	7	67,6	25,42 - 97,24
	46	7	0	
<i>Fusarium oxysporum</i> <i>f.sp. radicis-lycopersici</i>	40	7	55,6	25,42 - 97,24
	46	7	0	
<i>Phytium ultimum</i>	46	7	5 %	25,42 - 28,44
	50	3	0	
<i>Fusarium oxysporum</i> <i>f.sp. lycopersici</i>	46	7	0,06 %	12,42 - 25,42
	52	7	0	
<i>Microdochium nivale</i>	46	7	2,2 %	12,42 - 25,42
	52	7	0	
<i>Phytophthora nicotianae</i>	52	7	0,05	7,92 - 12,42
	58	7	0	
<i>Plasmodiophora brassicae</i>	50	1	0 ¹⁾	> 100
	50	7	0 ²⁾	15,16
	60	7	25 ³⁾	< 7,06
<i>Tabak-Mosaik-Virus</i>	70	7	ja	3,56 - 4,64
	80	7	0	

¹⁾ kurze Abtötungsdauer; ²⁾ mittlere Abtötungsdauer;

³⁾ lange Abtötungsdauer (selten zu beobachten)

Beim Vergleich der von GLASSER (1953) ermittelten Wärmeverträglichkeit von gequollenen Unkrautsamen und der von POLLMANN (1996) ermittelten Wärmeverträglichkeit von gequollenen Tomatensamen muss die relative Wärmeverträglichkeit der Tomatensamen, anders als vielfach in der Literatur beschrieben, nur als mittelmäßig betrachtet werden (Tab. 27). Auch in diesem Fall ermöglichen die Vorschläge zur Novellierung der BioAbfV durch Verwendung von konditionierten Tomatensamen als Indikatororganismus oder durch Anwendung des Temperaturprognosemodells eine verbesserte und verlässlichere Indikation der Hygienisierung.

Tab. 27: Bewertung der von GLASSER (1953) ermittelten Wärmeverträglichkeit von eingequollenen Unkrautsamen gemäß SFG_{äquivalent}

Unkrautart	Behandlungs-temp. [°C]	Behandlungsdauer [Tage]	Restkeimfähigkeit [%]	SFG _{äquivalent} [%]
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	40	5	0	> 100
<i>Geranium dissectum</i>				
<i>Papaver rhoeas</i>				
<i>Veronica persica</i>				
<i>Anthemis arvensis</i>	40	10	0	56,8 - 100
<i>Chenopodium album</i>				
Tomatensamen ¹⁾	40	15	0	35,3 - 56,8
<i>Scleranthus annuus</i>				
<i>Spergula arvensis</i>				
<i>Sinapis arvensis</i>				
<i>Alopecurus myosuroides</i>				
<i>Polygonum persicaria</i>	40 plus 45	15 plus 5	0	20,6 - 35,3
<i>Saponaria officinalis</i>				
<i>Matricaria maritima</i>				
<i>Raphanus raphanistrum</i>				
<i>Galium aparine</i>				
<i>Centaurea cyanus</i>	40 plus 45	15 plus 5	2	18,8 ²⁾ - 20,6
<i>Stellaria media</i>			10	
<i>Trifolium repens</i>			39	
<i>Avena fatua</i>	45	5	39	

¹⁾ nach POLLMANN 1996; ²⁾ Abtötung nachfünftägiger Behandlung mit 50 °C

Die ausgewerteten Ergebnisse der genannten Autoren deuten darauf hin, dass mit einem SFG_{äquivalent} von 7 bis 8 % höhere Temperaturansprüche nachzuweisen sind, als zur Abtötung der meisten bislang untersuchten Pathogene und Unkrautsamen erforderlich ist. Somit erscheinen die Temperaturanforderungen, die von vielen Nationen an den Rotteprozess gestellt werden, relativ gut mit den Ansprüchen an die Hygienisierung übereinzustimmen. Hiervon ausgenommen werden muss lediglich der Nachweis der Inaktivierung des Tabak-Mosaik-Virus, der eine besonders hohe Wärmeverträglichkeit besitzt. Mit einem SFG_{äquivalent} von 3,5 bis 4,5 % ist zu erwarten, dass die Virusabtötung auf Basis von Temperaturdaten häufig nicht nachweisbar sein wird. Derart hohe Temperaturansprüche sind nur bei guter Erwärmung der Mieten in Kombination mit langen Rottezeiten zu erreichen. Bei Intensivrotteverfahren und bei der Produktion von Frischkompost muss davon ausgegangen werden, dass der alleinige Wärmeeinfluss nicht ausreicht, um den Nachweis einer erfolgreichen TMV-Inaktivierung zu erbringen.

7.5 Bewertung der Untersuchungsergebnisse IV

Auf Basis von Daten zur Abtötung von Tomatensamen, die von POLLMANN (1996) und im Rahmen dieser Arbeit erhoben worden sind, konnte eine Funktionsgleichung ermittelt werden, mit deren Hilfe der Abtötungsdauer von Tomatensamen in Abhängigkeit vom SFG anhand von Temperaturdaten berechnet werden kann. Durch die Ermittlung der Funktionsgleichung wurden die Grundlagen geschaffen, die es ermöglichen, die gesamte Abtötungswirkung von schwankenden Temperaturdaten auf konditionierte Tomatensamen zu berechnen. Durch die Möglichkeit, den Einfluss der Wärme eines Rotteprozesses auf die Abtötung von Tomatensamen mit Hilfe der Funktionsgleichung berechnen zu können, wurde die Voraussetzung geschaffen, ganz auf die Einlage von Indikatororganismen zu verzichten und den Hygienisierungsgrad von Kompost durch eine Auswertung von Temperaturdaten zu bestimmen. Die Zuverlässigkeit des Bewertungsansatzes soll im folgenden Absatz diskutiert werden.

7.5.1 Allgemeingültigkeit von Hygienisierungsfaktoren

Die herausragende Bedeutung, die der Einfluss der Wärme auf die Hygienisierung besitzt, ist unstrittig. In vielen Anwendungsgebieten, insbesondere bei der Lebensmittelherstellung und im Bereich der Medizin, wird der Temperaturfaktor zur Abtötung von Pathogenen genutzt (PRECHT 1955). Bei der Kompostierung wird die Hygienisierung durch sekundäre Einflussgrößen unterstützt. In diesem Zusammenhang ist in erster Linie die mikrobielle Inaktivierung zu nennen (BOLLEN 1993). Mehrere Untersuchungen haben die Suppression bodenbürtiger Pathogene im Boden durch Kompostdüngung beschrieben (CHUNG et al. 1988, BRUNS 1998). Vergleichbare Prozesse, die immer erregerspezifisch zu betrachten sind, sind auch während der Kompostierung anzunehmen. Zusätzliche mikrobielle Inaktivierungsprozesse können bewirken, dass die Abtötung im Einzelfall zu einem früheren Zeitpunkt erreicht wird, als dies bei alleiniger Betrachtung der Temperaturwirkung der Fall ist. Da der Hygienisierungsbeitrag von spezifischen Wirkungen jedoch von der mikrobiellen Besiedlung der Mieten und der mikrobiellen Aktivität abhängt, sind aufgrund variabler Einflussfaktoren je nach

- Zusammensetzung des Rottematerials;
- Wasserhaushalt der Mieten;
- Sauerstoffhaushalt der Mieten

sehr schwankende und bislang nicht kalkulierbare Beiträge zu erwarten. Aus diesen Gründen werden spezifische Hygienisierungsbeiträge nach Auffassung des Verfassers als sekundäre Hygienisierungsbeiträge betrachtet, die bei der allgemeinen Bewertung des Hygienisierungsprozesses unberücksichtigt bleiben sollten. Nicht nur die Reproduzierbarkeit der Wirkung muss aufgrund wechselnder Rottebedingungen in Frage gestellt werden, auch unterschiedlich starke Einflüsse auf einzelne Pathogene und Unkrautsamen sind zu vermuten, wodurch eine Verallgemeinerung von spezifischen Hygienisierungsfaktoren nicht legitim ist.

Das derzeitige Testverfahren der direkten Prozessprüfung gemäß BioAbfV erlaubt durch die prozessoffene Behandlung der Indikatororganismen die Einbeziehung des Einflusses

spezifischer Inaktivierungsfaktoren. Die daraus resultierende Problematik, dass im Rahmen der Anlagenvalidierung Hygienisierungserfolge aufgrund spezifischer Einflussgrößen zufällig erfolgen, wird durch die Anzahl und die Auswahl der Indikatororganismen begrenzt. Dabei erfüllt *P. brassicae* die Aufgabe eines Indikators für die wärmebedingte Inaktivierung, da dem Erreger aufgrund seiner hohen saprophytischen Widerstandsfähigkeit eine hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber sekundären Inaktivierungsfaktoren zugesprochen wird. Diese Aufgabe kann der Indikator jedoch aufgrund seiner heterogenen Wärmeverträglichkeit (Kap. 4) nicht zuverlässig übernehmen.

Vor dem Hintergrund, dass sekundäre Hygienisierungsfaktoren den allgemeinen Hygienisierungsprozess bei der Kompostierung unterstützen, gewinnen die Ergebnisse von Hygieneuntersuchungen, die sich auf eine temperaturbasierten Nachweismethode stützen, einen besonderen Sicherheitsfaktor. Im Zusammenwirken aller Hygienisierungsfaktoren kann die Hygienisierung durch die Wirkung zusätzlicher, nicht berücksichtigter Einflüsse nur zu einem früheren, aber nie zu einem späteren Zeitpunkt erreicht werden als dem, der von ausschließlich temperaturbeeinflussten Indikatoren angezeigt wird.

7.5.2 Aussagegenauigkeit von Temperaturdaten zur Bewertung des Hygienisierungsprozesses

Die chargenspezifische Bewertung der Hygienisierung und die Verfügbarkeit von Hygienisierungsangaben zu einem Zeitpunkt vor der Vermarktung von Kompost sind nur durch die Auswertung von Temperaturdaten möglich. Nachweisverfahren auf Basis von Bioindikatoren beanspruchen zu viel Zeit. Die Grundvoraussetzung für einen Hygienienachweis auf Basis von Temperaturdaten wurde durch die Ermittlung einer Hygienisierungsgleichung geschaffen, mit deren Hilfe die Abtötungsdauer von Tomatensamen in Abhängigkeit ihres SFG und der auf sie einwirkenden Temperatur berechnet werden kann (Gleichung 5, Seite 65). Die Hygienisierungsgleichung basiert auf einem Datengerüst, das die unterschiedlichen Abtötungszeiträume von Tomatensamen im Temperaturbereich zwischen 40 und 70 °C und Feuchtigkeitsgehalten zwischen 6,5 und 50 % SFG umfasst. Für die im Rahmen einer dreidimensionalen Regressionsanalyse ermittelte Gleichung errechnet sich ein sehr hoher Korrelationskoeffizient von 0,989. Die Ermittlung der Hygienisierungsgleichung ermöglicht die Entwicklung eines Prognosemodells, mit dessen Hilfe auf Basis von Temperaturdaten bestimmt werden kann, ob der Temperaturverlauf eines Rotteprozesses ausgereicht hat, um bestimmte Hygienisierungsgrade zu erreichen. Die angestrebten Hygienisierungsanforderungen können über das verwendete $SFG_{\text{äquivalent}}$ gesteuert werden. Die Wahl der rechnerisch anzusetzenden Feuchtigkeitsstufe ($SFG_{\text{äquivalent}}$) sollte sich nach der Wärmeverträglichkeit der Pathogene und Unkrautsamen zu richten, deren Abtötung im Rahmen des Untersuchungsganges nachgewiesen werden soll. Das hierbei zugrunde gelegte Prinzip entspricht demjenigen, das bei Verwendung von konditionierten Tomatensamen als Indikatororganismus im vorangehenden Kapitel vorgeschlagen wurde. Auf Basis der Hygienisierungsgleichung kann das Hygienienachweisverfahren auf Basis einer exakten Temperaturmessung erfolgen. Bei einer automatischen Temperaturmessung kann somit eine chargengenaue Bewertung der Hygienisierung realisiert werden. Es setzt jedoch voraus, dass die Anlagen für den Routinebetrieb mit einer geeigneten, aber bereits

entwickelten Messtechnik und einer noch zu entwickelnden Auswertungssoftware ausgestattet werden.

Zur Bewertung der Aussagegenauigkeit der Gleichung bei nicht konstanter Temperatur wurden rechnerisch und empirisch ermittelte Abtötungszeitpunkte aus Temperatursteigerungsversuchen miteinander verglichen (Abb. 14, Seite 68). Die Übereinstimmungen sind für alle untersuchten Feuchtigkeitsstufen sehr gut, wobei die Untersuchungsreihe einen Feuchtigkeitsbereich von 5,5 bis 30 % SFG abdeckt. Der Wärmeverträglichkeitsbereich, der von Tomatensamen durch diesen Feuchtigkeitsbereich abgedeckt wird, ist für Hygieneuntersuchungen besonders relevant, da hierdurch die Widerstandsfähigkeit der wärmeverträglichsten Pathogene und Unkrautsamen abgedeckt wird (Tab. 23 - Tab. 27). Darüber hinaus können Gründe für die Anwendung der Hygienisierungsgleichung auch an den verwendeten Termen der Gleichung abgeleitet werden. Die in der Gleichung zusammengeführten Terme wurden im Einzelnen bereits in der Literatur beschrieben (BIGELOW 1921, PRICE 1933, ELLIS und ROBERTS 1980a, b). Von besonderer Bedeutung erscheint dabei die Tatsache, dass die wärmebedingte Abtötung von Tomatensamen dem gleichen logarithmischen Muster folgt, das bereits für Viren und Bakterien beschrieben wurde. Das logarithmische Muster der temperaturabhängigen Abtötung deckt somit eine Bandbreite ab, die von den Samen (eukaryotische Mehrzeller) über die Bakterien (prokaryotische Einzeller) bis zu den Viren reicht, die taxonomisch betrachtet einem eigenständigen Reich zugeordnet werden und nicht zu den Lebewesen zählen.

Wie im Kapitel 7.4 am Beispiel von *P. brassicae* veranschaulicht wurde, erfordert die Anwendung des Prognosemodells die Festlegung eines Maßstabes, mit dem die Mindestanforderungen an den Hygienisierungsprozess definiert werden. Dieser Maßstab entspricht dem SFG von Tomatensamen, mit dem eine wärmebedingte Hygienisierung von Pathogenen und Unkrautsamen sicher angezeigt werden kann. Zur Kalibrierung können bekannte Temperatur-Zeit-Beziehungen verwendet werden, die zur gesicherten Abtötung besonders widerstandsfähiger Pathogene und Unkrautsamen führen. Die Berechnung dieses Zustandes gleicher Wärmeverträglichkeit, für den der Begriff $SFG_{\text{äquivalent}}$ eingeführt wurde, ermöglicht Gleichung 8 (Seite 69). Die Qualität der derzeit verfügbaren Datenbasis, die auch zur Festlegung der in der BioAbfV definierten Indikatororganismen verwendet wurde, sollte durch weitere Untersuchungen verbessert werden. Die vorhandene Datenbasis ist mit dem Manko behaftet, dass die temperaturspezifische Abtötungsdauer vieler Organismen bislang nicht präzise beschrieben oder in einem Milieu ermittelt wurden, das für die Kompostierung nicht relevant ist (z. B. in Flüssigkeit). Im Hinblick auf die Kompostierung erscheinen Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen in Substraten mit 70 % TS-Gehalt zweckmäßig, da hierdurch praxisnahe und zugleich suboptimale Rottebedingungen bei der Wärmeverträglichkeitsbestimmung simuliert werden.

Derzeit kann die Kalibrierung des Prognosemodells, worunter die Ableitung der zu verwendenden Einflussgröße $SFG_{\text{äquivalent}}$ zu verstehen ist, nur punktuell vorgenommen werden, da bislang für die Abtötungsdauer von relevanten Pathogenen und Unkrautsamen i. d. R. nur eine Temperatur-Zeit-Beziehung beschrieben ist. Zur besseren Absicherung des Parameters $SFG_{\text{äquivalent}}$ wäre eine Kalibrierung an drei Punkten wünschenswert. Dabei sollten die Kalibrierungspunkte die Abtötungsdauer bei geringer (50 °C), mittlerer (60 °C) und hoher Rottetemperatur (70 °C) exakt beschreiben. Für den Fall, dass sich aus den drei

Kalibrierungspunkten unterschiedliche Werte für das $SFG_{\text{äquivalent}}$ errechnen, sollte aus Sicherheitsgründen der kleinste Wert für das Prognosemodell verwendet werden, da die Zunahme der Wärmeverträglichkeit mit abnehmenden Werten für das $SFG_{\text{äquivalent}}$ korreliert. Durch unterschiedliche Werte für das $SFG_{\text{äquivalent}}$ im Rahmen einer Mehrpunktkalibrierung, die nicht auf Messungenauigkeiten bei der Bestimmung der Abtötungsdauer oder auf Inhomogenitäten der getesteten Organismen zurückgeführt werden können, wird die Funktionsfähigkeit des Prognosemodells nicht grundsätzlich infrage gestellt, da die Möglichkeit besteht, die Hygienisierungsgleichung durch ein zusätzliches Korrekturterm zu ergänzen. Dabei bestünde die Aufgabe des Korrekturterms darin, die sich in Abhängigkeit vom Temperaturniveau unterscheidenden Werte für das $SFG_{\text{äquivalent}}$ mit Hilfe einer zusätzlichen mathematischen Funktion miteinander zu verknüpfen.

Die letztgenannten Beziehungen konnten im Rahmen dieser Arbeit nicht überprüft werden, da die hierzu erforderliche Datenbasis noch zu erarbeiten ist. Es wird jedoch zur Absicherung des Rechenmodells empfohlen, die skizzierte Dreipunktkalibrierung unter Verwendung eines homogen reagierenden Pathogens vorzunehmen, um die Genauigkeit des Rechenmodells kontrollieren bzw. den Fehlerbereich berechnen zu können. Als Testpathogen würden sich beispielsweise Sklerotien des Pilzes *Sclerotinia sclerotiorum* eignen. In den Sklerotien des Pilzes könnten exakte Wassergehalte eingestellt werden, was eine homogene Reaktion des Pilzes auf die Wärmeverträglichkeit und somit eine geringe Ergebnisstreuung erwarten lässt. Eine geringe Streuung der Ergebnisse dieser Versuche ist die Voraussetzung zur Bezifferung der Fehlerquelle des vorgeschlagenen Rechenmodells.

Obwohl mit den skizzierten Untersuchungen eine bessere Absicherung der Zuverlässigkeit des vorgeschlagenen Hygienebewertungsmodells erreicht würde, erscheint die Anwendung des Prognosemodells bereits auf dem derzeitigen Wissensstand gerechtfertigt zu sein, da das derzeitige Testsystem der BioAbfV mit noch stärkeren Unsicherheiten behaftet ist und die Festlegung der Indikatororganismen der BioAbfV auch ohne Durchführung einer Mehrpunktkalibrierung vorgenommen wurde. Insgesamt erscheint das auf Temperaturdaten basierende Prognosemodell bereits zum jetzigen Stand der Forschung als deutlich zuverlässiger zu sein als das derzeitige Prüfsystem der BioAbfV, das insbesondere durch die heterogene Reaktion von *P. brassicae* und die im Vergleich zu anderen Pathogenen insgesamt als nur mittelmäßige Wärmeverträglichkeit von unkonditionierten Tomatensamen und *Salmonella senftenberg*_{W 775} keine verlässlichen und allgemeingültigen Aussagen zur Hygienisierung ermöglicht.

7.5.3 Bewertung eines temperaturbasierten Hygienebewertungssystems im Hinblick auf die Kompostproduktion und -vermarktung

Wie in den Kapiteln 7.4.2 bis 7.4.4 hergeleitet wurde, können Temperaturdaten, die in charakteristischen Zonen des Rottekörpers gemessen werden, genutzt werden, um den Grad der Hygienisierung zu quantifizieren. Hierdurch wird eine Möglichkeit geschaffen, die Sicherheit abzuschätzen, mit der eine Hygienisierung erreicht wird. Im angeführten Beispiel lag der Hygienisierungsgrad unter Zugrundelegung eines $SFG_{\text{äquivalent}}$ von 12,4 % und bei Betrachtung der am wenigsten stark erwärmten Mietenbereiche um das 8,3-fache höher als zur Abtötung wärmeverträglicher Proben des Erregers *P. brassicae* erforderlich gewesen wäre. Unter Zugrundelegung schärferer Hygienisierungsanforderungen konnte für ein

$SFG_{\text{äquivalent}}$ von 7,06 % im Minimum eine 2,1-fache Hygienisierung ermittelt werden. Derartige Angaben können bei der Vermarktung von Kompost genutzt werden, um das Vertrauen der Kunden zu gewinnen. Wie das angeführte Beispiel verdeutlicht, können die Anforderungen an die Hygienisierung über die Wahl des Parameters $SFG_{\text{äquivalent}}$ gesteuert und jederzeit an sich verändernde Anforderungen angepasst werden. Abb. 15 (Seite 69) veranschaulicht den Zusammenhang, der gemäß Gleichung 8 zwischen dem Steuerungsparameter $SFG_{\text{äquivalent}}$ und den Temperatur-Zeit-Beziehungen von widerstandsfähigen Pathogenen und Unkrautsamen besteht und zur Anpassung genutzt werden kann.

Eine Sichtung von Literaturdaten hat ergeben, dass trotz einer Vielzahl von bislang durchgeführten Untersuchungen an Kompostmieten, in denen das Verhalten von Pathogenen und Unkrautsamen während der Kompostierung bewertet wurde, nur in wenigen Laboruntersuchungen die genauen Temperatur-Zeit-Beziehungen ermittelt worden sind, die zur wärmebedingten Abtötung erforderlich sind (siehe auch NOBLE und ROBERTS 2003). Auf Grundlage der auswertbaren Datenbasis ergibt sich für die Einflussgröße $SFG_{\text{äquivalent}}$ ein Wert zwischen 7,0 bis 8,0 % SFG, mit dem die Berechnung des Hygienisierungsgrades von Kompostmieten auf Basis von Temperaturdaten erfolgen kann. Zur Bestätigung oder zur Anpassung des vorgeschlagenen $SFG_{\text{äquivalent}}$ sollte die vorhandene Datenbasis durch weitere Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen ergänzt werden.

Hierbei kann auch die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Methode der Temperatursteigerungsversuche (+2 °C je 0,5 Tage) angewendet werden (Kap. 3.1.2, Seite 11). Durch die Temperatursteigerungsmethode können exakte Abtötungszeitpunkte mit geringerem Probenaufwand ermitteln werden, als dies bei isothermen Bebrütungsversuchen möglich ist. Die auf Basis von Temperatursteigerungsversuchen gewonnenen Daten können ebenso gut wie die Ergebnisse isothermer Versuche zur Berechnung des Parameters $SFG_{\text{äquivalent}}$ verwendet werden. Da die Abtötungsgeschwindigkeit von der Feuchtigkeit der Pathogene und Unkrautsamen abhängig ist, sollten die Organismen auch bei der Wärmeverträglichkeitsbestimmung im Rahmen von Temperatursteigerungsversuchen nach Möglichkeit in sterilen Substraten mit 70 % TS-Gehalt behandelt werden, um hierdurch die Abtötung unter suboptimalen Feuchtigkeitsverhältnissen von Rotteprozessen zu bewerten. In den vorgestellten Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen wurde hierzu sterilisierte Einheitserde verwendet, um kompostähnliche Wasserhaltekapazitäten zu simulieren.

Die technische Entwicklung bei der Temperaturmessung ermöglicht in Kombination mit der drahtlosen Übertragung von Daten und der schnellen Auswertung großer Datenmengen per EDV eine aktuelle Verfügbarkeit von chargenspezifischen Angaben zum Hygienisierungsfortschritt. Hierdurch besteht nicht nur die Möglichkeit, Fertigkomposte zum Zeitpunkt der Vermarktung mit dem entsprechenden Hygienisierungsgrad auszuweisen, wodurch das Vertrauen der Kompostanwender in das Produkt Kompost gesteigert werden kann. Aktuelle Angaben zum Hygienisierungsfortschritt können darüber hinaus genutzt werden, um den Hygienisierungsprozess zu steuern. So könnte beispielsweise eine noch nicht ganz erreichte Hygienisierung durch Verlängerung des Rotteprozesses erreicht werden. Andersherum könnte unter der Voraussetzung, dass keine anderen Qualitätsparameter dagegen sprechen, der Rotteprozess nach erreichter Hygienisierung beendet werden.

Die relativ einfach durchzuführende Methode der Temperaturdatenauswertung stellt eine deutliche Weiterentwicklung des derzeitigen Prüfsystems dar, dessen Vertrauenswürdigkeit nicht nur durch Unsicherheiten beeinträchtigt ist, die im Zusammenhang mit der zweifelhaften Wärmeverträglichkeit von Indikatororganismen zu sehen ist. Aufgrund des erheblichen Aufwands, der mit der Durchführung von direkten Prozessprüfungen verbunden ist, ist ebenfalls als kritisch zu bewerten, dass nur wenige Anlagen diese Prüfung durchgeführt haben. Viele Anlagen haben eine Anerkennung der hygienisierenden Leistungsfähigkeit über den Weg der Konformitätsprüfung beantragt und erhalten, wobei die Grundlage der Anerkennung die positiv bestandene Inbetriebnahmeprüfung einer baumustergleichen Anlagen darstellte. Das Anerkennungsverfahren ist problematisch, da die individuelle Betriebsführung und Rottesteuerung, die einen wesentlichen Einfluss auf den Rotteprozess besitzen, im Anerkennungsverfahren unzureichend berücksichtigt bleiben. In diesem Zusammenhang hat MARTENS (2004) festgestellt, dass eine Baumustergleichheit nicht zwangsläufig mit einer Synchronität von Prozessabläufen einhergeht. Aus diesem Grund sind auch bei baumustergleichen Anlagen unterschiedliche Hygienisierungsleistungen zu erwarten. Ferner wurden Differenzen zwischen dem Betriebsablauf während der Prozessprüfung und im Routinebetrieb der Anlagen festgestellt, wodurch die Aussagekraft von Inbetriebnahmeprüfungen zusätzlich infrage gestellt werden muss.

7.5.4 Ansatz zur Harmonisierung unterschiedlicher Anforderungen an Temperatur-Zeit-Vorgaben bei der Bioabfallkompostierung in Europa

Temperatur-Zeit-Vorgaben werden in vielen europäischen Staaten als Methode der indirekten Prozessprüfung zum Nachweis der Hygienisierung bei der Bioabfallkompostierung vorgeschrieben. Wie die in Tab. 23 (Seite 80) gezeigte Zusammenstellung veranschaulicht, werden sehr unterschiedliche Anforderungen definiert. In allen Fällen handelt es sich um sehr starre Systeme. In keinem Fall wird berücksichtigt, dass die Hygienisierungsdauer mit steigender Temperatur exponentiell abnimmt. Über den Vergleich der einzelnen Vorgaben anhand des Parameters $SFG_{\text{äquivalent}}$ wird deutlich, dass die verschiedenen Regelungen sehr unterschiedliche Anforderungen an die Hygienisierung bedeuten. Über den Parameter des $SFG_{\text{äquivalent}}$ könnten einheitliche Anforderungen definiert werden, die an den Erfordernissen zur Inaktivierung relevanter Pathogene und Unkrautsamen abgeleitet werden können.

Konsequenterweise sollten die starren Temperatur-Zeit-Vorgaben durch ein flexibles Bewertungssystem ersetzt werden, das dem logarithmischen Zusammenhang zwischen der Abtötungsgeschwindigkeit und der Rottetemperatur Rechnung trägt. Erstens könnte dabei auch der Hygienisierungsbeitrag von Temperaturen angerechnet werden, die unterhalb der derzeit festgelegten Mindesttemperaturen liegen. Zweitens kann für Temperaturen oberhalb der Mindesttemperatur die erhöhte Hygienisierungswirkung berücksichtigt werden. Durch Anwendung des vorgeschlagenen Hygienebewertungssystems auf Basis der Hygienisierungsgleichung könnten die Ansätze der indirekten Prozessprüfung, die auf Indikatororganismen gestützt wird, und der direkten Prozessprüfung, die die Einhaltung von Mindesttemperaturen vorschreibt, zu einer gemeinsamen Anforderung vereint werden

7.6 Resümee und Ausblick IV

Trotz der noch vorgeschlagen Nachuntersuchungen, bei denen insbesondere die Prognosegenauigkeit der Hygienisierungs-gleichung bei schwankenden Temperaturen überprüft werden sollte, können begründete Argumente angeführt werden, die dafür sprechen, das vorgeschlagene Hygieneprüf-system schon auf dem erreichten Entwicklungsstand in die Praxis umzusetzen.

Für die Anwendung der neue entwickelten Methode spricht, dass

- die ermittelte Hygienisierungsgleichung auf bekannte und für verschiedene lebende Organismen und Viren nachgewiesene Gesetzmäßigkeiten aufbaut, was eine Verallgemeinerung der Gleichung sehr wahrscheinlich erscheinen lässt.
- der Wärmeeinfluss der wesentlichste und ein allgemein anerkannter Hygienisierungsfaktor ist.
- zusätzliche Hygienisierungsfaktoren des Rotteprozesses, die über die Temperaturmessung nicht miterfasst werden, die Aussagesicherheit eines temperaturgestützten Hygienebewertungsmodells nur erhöhen, aber nicht einschränken können.
- das bestehende System der direkten Prozessprüfung aufgrund der gezeigten Unzuverlässigkeit der Indikatororganismen keine abgesicherten Ergebnisse liefert.
- der Hygienisierungsgrad des vorgeschlagenen Modells sich an der prognostizierten Reaktion eines derzeit schon verwendeten Indikators bemisst, dessen Wärmeverträglichkeit jedoch im Prognosemodell deutlich höher ist als im Untersuchungsgang der direkten Prozessprüfung, da sich der Hygienisierungserfolg der neu entwickelten Methode an der Abtötung von Samen bemisst, die aufgrund ihres geringeren SFG eine höhere Widerstandsfähigkeit aufweisen.
- die Anforderungen an die wärmebedingte Abtötung durch Laborversuche exakt definiert werden können, indem die zur Abtötung von Pathogenen und Unkrautsamen erforderlichen Temperatur-Zeit-Beziehungen ermittelt werden.
- die Nachweismethode an neue Anforderungen (höhere Temperaturansprüche) angepasst werden kann, ohne die Untersuchungsmethodik oder Messtechnik verändern zu müssen.
- das vorgeschlagene Testsystem mit geringem Aufwand durchgeführt werden kann, da es auf etablierte Messtechniken zurückgreift.
- mit Hilfe des vorgeschlagenen Testsystems aufgrund der einfachen Messmethodik Serienuntersuchungen durchgeführt werden können, mit der eine Bewertung jeder einzelnen Kompostcharge vorgenommen werden kann.
- die Erhebung und Dokumentation von Rottetemperaturen eine bereits in der Bio-AbfV verankerte Vorschrift ist und deshalb keinen besonderen Mehraufwand erfordert.

- das Ergebnis des Hygienenachweises durch EDV-Einsatz bereits zum Zeitpunkt der Kompostvermarktung vorgelegt werden kann und somit hilft, die Kompostvermarktung zu unterstützen.
- die Informationen während der Rotte bereits genutzt werden können, um die Hygienisierung durch Beeinflussung des Rotteprozesses zu steuern.

Für einige wenige besonders wärmeverträglicher Pathogene wird es jedoch schwierig bzw. unmöglich sein, deren Abtötung auf Basis von Temperaturdaten nachzuweisen. Entsprechend den von NOBLE et al. (2004) gemachten Angaben zur Wärmeverträglichkeit des Tabak-Mosaik-Virus errechnet sich ein Maßstab von 3,5 bis 4,5 % $SFG_{\text{äquivalent/TMV}}$, der an einen temperaturbasierten Hygienisierungsnachweis anzulegen wäre. Derartig hohe Anforderungen können nur erreicht werden, wenn im gesamten Rottegut überproportional hohe Temperaturen erreicht werden und sich die thermophile Phase über einen Zeitraum von mehreren Wochen erstreckt. Da bei Intensivrotteverfahren und bei der Bioabfallvergärung zu erwarten ist, dass die wärmebedingte Inaktivierung des TMV nicht nachgewiesen werden kann, wird im folgenden Kapitel ein alternatives Bewertungssystem zum speziellen Nachweis der TMV-Inaktivierung betrachtet.

8 Bedeutung des aeroben mikrobiellen Abbaus zur Inaktivierung des Tabak-Mosaik-Virus

8.1 Einführung in die Thematik und Formulierung der Zielsetzung V

In Zusammenhang mit der TMV-Inaktivierung, die als Spezialfall zu betrachten ist, stellt sich zunächst die Frage des Gefährdungspotenzials, das von einer nicht sicheren Virusinaktivierung ausgehen kann.

Einerseits sind Viren keine lebenden Organismen, wodurch ihnen eine besonders hohe Wärmeverträglichkeit zugesprochen wird (PRISE 1933, BARTELS 1956, HERMANN et al. 1994, HOITINK und FAHY 1986, RYCKEBOER et al. 2002). Andererseits können die meisten Viren nur durch Vektoren übertragen werden. Die von lebenden Vektoren (Insekten und Milben) übertragenen Viren sind im Hinblick auf die Kompostierung nicht von Bedeutung, da die Vektoren den Rotteprozess nicht überleben. Zu beachten sind Vektoren, die innerhalb ihres Lebenszyklus Ruhestadien ausbilden (Nematoden und Pilze), wodurch sie vorübergehend eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gewinnen. Untersuchungen haben gezeigt, dass ihre Wärmeverträglichkeit ebenfalls als gering einzustufen ist (MENKE und GROSSMANN 1971, TURNER et al. 1983, BOLLEN et al. 1989, RYCKEBOER et al. 2002, NOBLE und ROBERTS 2004). Deshalb sind bei der Hygienisierung von Kompost nur mechanisch übertragbare Viren von Bedeutung, die passiv über Verletzungen der Pflanzen in ihre Wirte gelangen können.

8.1.1 Wärme- und Rotteverträglichkeit des TMV

Die größte Überlebenschance wird dem Tabak-Mosaik-Virus (TMV) zugeschrieben (NOBLE und ROBERTS 2004). Die hohe Wärmeverträglichkeit und die Inaktivierung des TMV bei hoher Temperatur, die insbesondere im Zusammenhang mit der Bodendämpfung von Bedeutung ist, wurden in einer Studie von PRICE (1933) untersucht. PRICE ermittelte für virushaltigen Pflanzensaft als wärmebedingte Abtötungspunkte 92 bis 94 °C bei 10-minütiger bzw. 95 bis 96 °C bei einminütiger Einwirkzeit. In verdünntem Pflanzensaft (1 : 20) erforderte die Abtötung bei 85 °C eine Stunde, bei 80 °C 13 Stunden und bei 75 °C schon drei Tage. Die wärmebedingte Inaktivierung des TMV erfordert nach Angaben von NOBLE et al. (2004) eine einwöchige Behandlung mit 70 bis 80 °C.

Derart hohe Temperaturansprüche sind bei der Kompostierung schwer zu erfüllen. Messungen zur Wärmeverteilung innerhalb von Rottekörpern, die beispielsweise von SCHUCHARDT (1990) bei der Mietenkompostierung und LYON et al. (2000) bei der Zeilenkompostierung dokumentiert wurden, verdeutlichen, dass die Temperaturentwicklung im Randbereich der Miete hierfür zu gering ist. Dies gilt insbesondere für den Winterbetrieb bei der Kompostierung in offenen Mieten und in eingehausten Mieten mit Druckbelüftung. Dazu kommt, dass Temperaturen, die für die TMV-Inaktivierung von Bedeutung sind, bei der Kompostierung nicht angestrebt werden. Bei Temperaturen von mehr als 60 °C wird der Abbau der organischen Substanz beeinträchtigt (HAUG 1993, KROGMANN 1994, GRABBE 1996), was sich negativ auf die Durchsatzleistung der Anlagen auswirken würde. Noch weniger ist eine wärmebedingte TMV-Inaktivierung bei der Bioabfallvergärung zu erwar-

ten, da diese selbst bei thermophiler Betriebsweise bei maximal 55 bis 60 °C erfolgt. Gleichzeitig ist die Dauer der Nachrotte der Gärrückstände mit einer durchschnittlichen Behandlungszeit ein bis zwei Wochen zu kurz und läuft aufgrund des geringen Selbsterwärmungspotenzials des anaerob vorbehandelten Substrates bei zu geringen Temperaturen ab.

Eine Lösung der Problematik könnte in der Betrachtung der mikrobiellen Inaktivierung des Virus liegen. Verschiedene Studien weisen darauf hin, dass aerobe mikrobielle Einflüsse eine Inaktivierung des TMV bewirken können (BARTEL 1955 und 1956, AVGELIS und MANIOS 1989, BOLLEN und VÖLKER 1996, RYCKEBOER et al. 2002). Zur Abschätzung des Inaktivierungspotenzials wurden Rotteversuche durchgeführt, in denen der Umfang der TMV-Inaktivierung in Abhängigkeit von der Rottezeit überprüft werden sollte. Aufbauend auf den gewonnen Ergebnissen sollten Strategien entwickelt werden, mit denen eine alternative Bewertung der TMV-Inaktivierung vorgenommen werden kann.

8.1.2 Methodische Ansätze zur Bewertung der Virulenz des TMV

Die genaue Beschreibung der Inaktivierung setzte die Anwendung einer Untersuchungsmethode voraus, mit der der Virulenzverlust des TMV in Abhängigkeit von der Behandlungsintensität und der Behandlungsdauer genau beschrieben wird. Die Virulenz des TMV wird durch Auftragen einer Virussuspension auf Tabakblätter der Sorte *Nicotiana glutinosa* L. bestimmt. Die Pflanze verhindert das Eindringen des Virus, in dem sie das Blattgewebe an den Stellen absterben lässt, an denen das Virus versucht, in die Pflanze einzudringen. Die Virulenz des TMV kann durch diese Resistenzreaktion an der Anzahl der gebildeten Blattverkrustungen (Läsionen) bewertet werden. Die Bewertung der Virulenz kann entweder an der absoluten Anzahl gebildeter Läsionen bewertet werden, wie es in der BioAbfV vorgesehen ist, oder anhand der relativen Anzahl an Läsionen, die eine Probe im Vergleich zu einem unbehandelten Standart entwickelt (Halbblattmethode).

Die Bemessung der Virulenz anhand von absoluten Werten ist mit dem Nachteil behaftet, dass die Anzahl der auf einem Blatt gebildeten Läsionen sehr variabel ist. Nach MATTHEWS (2002) variiert die Läsionsbildung in Abhängigkeit von den Anzuchtbedingungen bei der Produktion der Nachweispflanzen sowie den Temperatur- und Lichtbedingungen während der Läsionsausbildung. Daneben sind in Abhängigkeit von der Art und Intensität der Applikation sowie der Größe der Blätter weitere Unterschiede zu erwarten (SAMUEL und BALD 1933). Hierdurch besteht die Gefahr, dass durch Verwendung von unempfindlich reagierenden Pflanzen mit kleinen Blättern, auf denen nur wenige Läsionen gebildet werden, der Hygienisierungserfolg überschätzt wird. Anders herum wird der Hygienisierungserfolg bei Verwendung großer und empfindlich reagierender Blätter unterschätzt.

Die oben genannten Nachteile können durch Anwendung der von WALKEY (1991) beschriebenen Halbblattmethode und der Berechnung der relativen Infektiösität vermieden werden (Gleichung 3, S. 24). Bei Anwendung der Halbblattmethode wird die Anzahl an Läsionen von einer zu prüfenden Probe ins Verhältnis gesetzt zur Anzahl an Läsionen, die von einer unbehandelten Kontrolle gebildet werden. Da Proben und Kontrollen jeweils auf die gegenüberliegenden Blatthälften desselben Blattes appliziert werden, wirken sich die oben genannten Störungen neutral auf das Ergebnis aus, da sich individuelle Empfindlich-

keiten der Pflanzen gleich stark auf Proben und Kontrollen auswirken. In der vorliegenden Untersuchung wurde deshalb die Halbblattmethode verwendet.

Um die Ergebnisse der gewählten Untersuchungsmethode an den Anforderungen der BioAbfV messen zu können, in der die maximal zulässige Virulenz von TMV mit einem absoluten Wert definiert wird, sollte ein relativer Grenzwert für die Halbblattmethode hergeleitet werden, der den bestehenden Anforderungen der BioAbfV entspricht.

8.2 Untersuchungsergebnisse zur Bestimmung der Virulenz des TMV

8.2.1 Herleitung eines relativen Grenzwertes für Ergebnisse der Halbblattmethode

Die BioAbfV sieht die Bewertung anhand eines absoluten Bewertungsmaßstabes vor und fordert, dass zur Einhaltung der Hygieneanforderungen im Rahmen der direkten Prozessprüfung auf zwei Blatthälften maximal acht Läsionen gebildet werden dürfen. Dabei müssen die beiden zu addierenden Blatthälften von zwei unterschiedlichen Pflanzen stammen (ANONYM 1998a). Der Grenzwert bezieht sich auf den Mittelwert aller Probenwiederholungen einer Prüfzone. Als Prüfzonen werden die charakteristischen Bereiche eines Rottekörpers (z. B. Basis, Rand oder Kern) bezeichnet (ANONYM 1996).

Zum Vergleich der Aussagegenauigkeit, die in Abhängigkeit von der verwendeten Bewertungsmethode erreicht wird, wurden die Kontrollblätter von 10 Versuchen ausgewertet. Als Berechnungsgrundlage standen insgesamt 432 Beobachtungswerte zur Verfügung. In Tab. 28 die extreme Variabilität der durch Kontrolllösungen verursachten Anzahl an Läsionen dokumentiert, die im Extrem zwischen 17 und 649 variiert. Die große Differenz zwischen den extremen Werten veranschaulicht die Problematik, die bei der Formulierung eines Grenzwertes auf der Basis der absoluten Anzahl von Läsionen besteht. Die in großen Spannweiten streuenden Werte, die innerhalb von Versuchsreihen an den Minimum- und Maximumwerten und zwischen den Versuchen an den unterschiedlichen Mittelwerten abgelesen werden können, stellen einen Grenzwert, der sich an der absoluten Anzahl gebildeter Läsionen bemisst, aufgrund dessen durch Zufälligkeiten beeinflussten Aussagekraft stark infrage.

Zur Berechnung eines Grenzwertes für die Halbblattmethode, der dem derzeit gültigen Absolutwert der BioAbfV entspricht, wurde die durchschnittlich auf zwei Blatthälften gebildete Anzahl an Läsionen von unbehandelten Kontrolllösungen bestimmt und gemäß Gleichung 15 in Beziehung zum derzeit gültigen Grenzwert der BioAbfV gesetzt.

Auf Grundlage einer Datenbasis von 10 Untersuchungsreihen, die die Auswertung von 864 mit Kontrolllösungen behandelten Blatthälften umfasst, errechnet sich eine durchschnittliche Anzahl von 233,6 Läsionen, die auf zwei Blatthälften gebildet wurden. Da zwischen den Untersuchungsreihen Unterschiede hinsichtlich der Anzahl der ausgewerteten Blätter bestehen (Tab. 28), basiert die Berechnung der mittleren Anzahl Läsionen $n_{\text{Kontrolle}}$ auf den Mittelwerten der einzelnen Versuche (Gleichung 16). Aus der mittleren Anzahl an Läsionen, die sich auf zwei Blatthälften durch die Applikation von unbehandelten TMV-Suspensionen bilden, errechnet sich gemäß Gleichung 15 ein Grenzwert für die relative Infektiösität von 3,4 %.

Tab. 28: Variabilität der durch TMV-haltige Kontrollsuspensionen auf zwei Blatthälften verursachten Läsionen und Darstellung eines den Anforderungen der BioAbfV entsprechenden relativen Grenzwertes für die Halbblattmethode

Berechnung der Versuchsmittelwerte durch Kruskal-Wallis Test (Mittelwert = Median)

Versuch	$\bar{x}$	min	max	s	n
A	69,0	31	150	5,53	30
B	335,7	145	475	12,67	36
C	339,1	206	508	13,41	36
D	387,8	199	514	11,11	42
E	108,9	41	221	6,49	42
F	76,8	17	212	9,47	21
G	215,5	98	374	21,79	12
H	252,8	107	478	28,90	12
I	154,4	76	366	17,15	21
L	395,8	102	649	10,46	180
$\bar{x}_{A-L}$	233,6	17	649		432
Grenzwert_{relative Infektiösität} = 3,4 %					

Gleichung 15: Ableitung des Grenzwertes für die relative Infektiösität am bestehenden Grenzwert der BioAbfV

$$\text{Grenzwert}_{\text{relative Infektiösität}} [\%] = \frac{\text{Grenzwert}_{\text{BioAbfV}} [\text{Läsionen Probe}]}{\bar{x} \text{ Anzahl Läsionen Kontrolle}} * 100$$

Gleichung 16: Berechnung der durchschnittlichen Anzahl an Läsionen auf Basis gleichbehandelter Proben

$$\bar{x} \text{ Anzahl Läsionen Kontrolle} = \frac{\bar{x} \text{ Läs Kont V1} + \bar{x} \text{ Läs Kont V2} + \dots + \bar{x} \text{ Läs Kont V10}}{\text{Anzahl Versuche}}$$

8.2.2 Bewertung der Ergebnisse der Halbblattmethode anhand von Verdünnungsreihen

Zur Quantifizierung des prozentualen Umfangs der TMV-Inaktivierung, die durch die Unterschreitung des vorgeschlagenen Grenzwertes erreicht wird, und zur Abschätzung der Ergebnisstreuung, die mit abnehmender Viruskonzentration zu erwarten ist, wurde das Infektionsverhalten von verdünnten TMV-Suspensionen überprüft. Durch die Virusverdünnung wird eine Abnahme der Konzentration an infektiösen Viren erreicht, die auch bei der Virusinaktivierung während der Rotte zu erwarten ist. Zur Bezifferung der Virusinaktivierung wurde die relative Läsionsbildungsrate von Verdünnungsstufen mit logarithmisch abnehmender Viruskonzentration im Vergleich zur unverdünnten Stammlösung bestimmt. Die Stammlösung wurde gemäß den Vorgaben der BioAbfV unter Verwendung von 10 g

virushaltigen Tabakblättern *Nicotiana tabacum* L. der Sorte 'Samsun' und 30 ml Phosphatpufferlösung (ANONYM 1998a) hergestellt.

Die in Abb. 21 dargestellten Ergebnisse der Verdünnungsreihen zeigen, wie die relative Infektiösität mit zunehmender Verdünnung erwartungsgemäß abgenommen hat. Gleichzeitig war eine Verringerung der Streuung zu beobachten, diese positiv mit der Höhe der relativen Infektiösität korrelierte. Den gleichen Zusammenhang hat VETTEN (1977) bei Untersuchungen zur virushemmenden Wirkung von Pflanzenextrakten beobachtet. Dieser positiv korrelierte Zusammenhang, der zwischen dem Mittelwert der relativen Infektiösität und der Ergebnisstreuung besteht, war bei der statistischen Auswertung aller Inaktivierungsversuche zu berücksichtigen, bei denen eine Reduktion der TMV-Konzentrationen über mehrere Zehnerpotenzen bewirkt wurde. Die Datensätze solcher Versuche besaßen inhomogene Varianzen, die zur statistischen Auswertung durch Transformation der Daten beseitigt wurden. Zur Bildung homogener Varianzen, als Voraussetzung für einen varianzanalytischen Mittelwertvergleich, wurden die Daten der Verdünnungsreihe über eine von KLECZKOWSKI (1968) vorgeschlagene Transformation in der Form $\log(x + c)$ verrechnet. Da der Logarithmus von vollständig inaktivierten Proben (Wert = 0) nicht definiert ist, wurden die Originaldaten vor dem Logarithmieren, wie von VETTEN (1977) vorgeschlagen, mit der Konstanten $c = 1$ verrechnet.

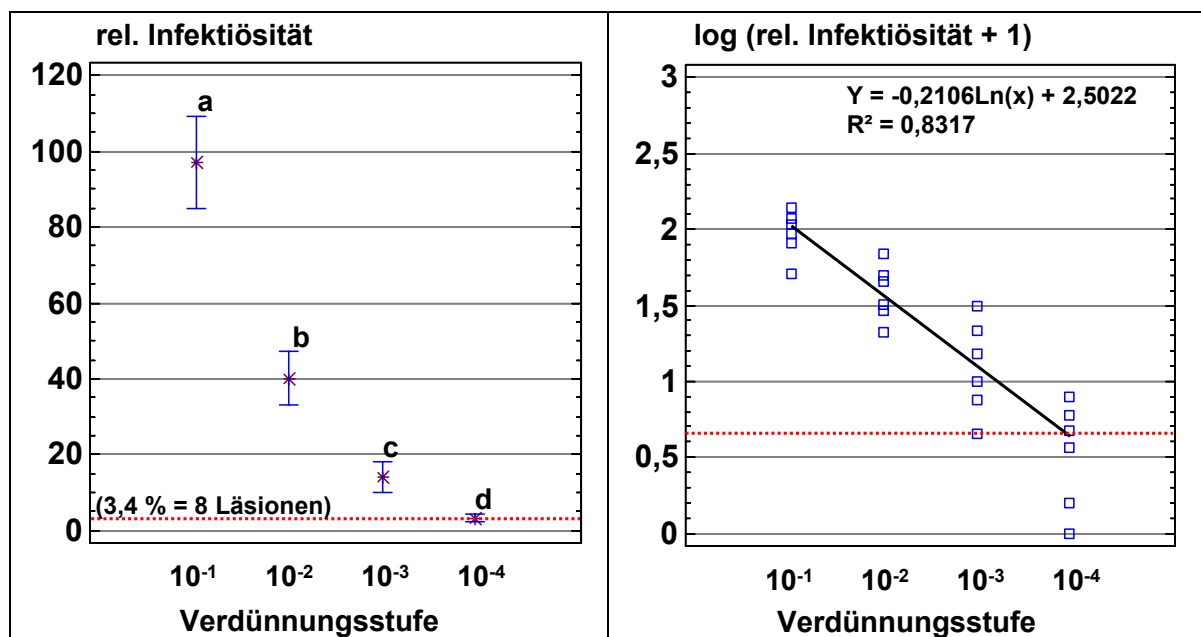


Abb. 21: Relative Infektiösität der TMV-Kontrollsuspension gemäß BioAbfV in Abhängigkeit von der Verdünnung

Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen unterschiedliche Mittelwerte (LSD-Test; $p < 0,01$); Streuungsbalken kennzeichnen individuelle Streuung der Mittelwerte; Punkte in rechter Abbildung markieren $\log + 1$ transformierte Beobachtungswerte

Die statistische Datenauswertung der Verdünnungsreihe zeigt, dass sich die einzelnen Verdünnungsstufen auf höchstem Signifikanzniveau ($p < 0,01$) voneinander unterscheiden. Die Verringerung der relativen Infektiösität verlief jedoch nicht linear mit der Verdünnung der Viruskonzentration. Wie in der rechten Grafik der Abb. 21 gezeigt wird, ist ein

doppeltlogarithmischer Zusammenhang zwischen der relativen Infektiösität des TMV und der Viruskonzentration zu erkennen. Das Ergebnis der Versuchsreihe bestätigt eine Beobachtung, die von HOLMES (1929) und SAMUEL und BALD (1933) bei der Betrachtung der absoluten Infektiösität des TMV gemacht wurde, als sie die Grundlagen für die Entwicklung der Halbblattmethode geschaffen haben. Für eine Unterschreitung des Grenzwertes für die relative Infektiösität von 3,4 % war eine Verringerung der Viruskonzentration auf 0,01 % der Ausgangskonzentration erforderlich. Somit ist der tatsächliche Umfang der TMV-Inaktivierung bei Einhaltung des Grenzwertes deutlich stärker als der zu unterschreitende Wert von 3,4 % vermuten lässt. Gleichwohl würde eine vollständige Inaktivierung des Virus nach SAMUEL und BALD (1933) eine weitere Verdünnung der TMV-Suspension um zwei Potenzstufen (10^{-6}) erfordern.

8.3 Wärmeverträglichkeit des TMV

Die Literaturdaten zur Wärmeverträglichkeit des TMV unter Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnissen, die bei der Kompostierung von Bedeutung sind, wurden durch Laborversuche überprüft. Zeitgleich haben NOBLE et al. (2004) Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen mit TMV durchgeführt, die bei der Diskussion der im Folgenden vorgestellten Ergebnisse mit berücksichtigt werden. Im Hinblick auf die Hygienisierung von Kompost werden Temperaturen zwischen 50 und 70 °C und Feuchtigkeiten von 30 bis 55 % als relevant erachtet (ZACHÄUS 1995), da diese Bedingungen bei der großtechnischen Kompostierung angestrebt werden und über einen längeren Zeitraum erreicht und aufrecht erhalten werden können. Deshalb wurden zur Bewertung der Wärmeverträglichkeit des TMV im Rahmen der vorliegenden Arbeit isotherme Bebrütungsversuche durchgeführt, die sich an den genannten Praxisbedingungen orientiert haben (50, 60 und 70 °C). Als Inokulum wurden in Anlehnung an die Vorschriften der BioAbfV zur Durchführung von Hygieneuntersuchungen 10 g virushaltige Tabakblätter verwendet. Die Wärmebehandlung erfolgte in zwei Feuchtigkeitsstufen (50 und 70 % TS-Gehalt des Trägersubstrats) und umfasste eine maximale Dauer von drei Wochen. Zur Bewertung des Einflusses der Wärme auf die Virulenz des TMV wurde die relative Infektiösität der behandelten Proben gemäß der oben beschriebenen Halbblattmethode bestimmt.

Die in Abb. 22 dargestellten Ergebnisse der Untersuchungsreihen bestätigen die von NOBLE et al. (2004) beschriebene Wärmeverträglichkeit des TMV, für dessen Inaktivierung deutlich höhere Temperaturen erforderlich sind als für die Abtötung von lebenden Organismen. Im Rahmen der eigenen Untersuchung wurde bei einer Temperatur von 50 °C keine signifikante Herabsetzung der Infektiösität des TMV festgestellt. Erst bei einer Bebrütungstemperatur von 60 °C wirkte sich der Einfluss der Wärme signifikant auf die Infektiösität des Virus aus. Für eine vollständige Inaktivierung reicht die Behandlungsdauer von drei Wochen jedoch noch nicht aus. Weder der in der BioAbfV definierte Grenzwert von acht Läsionen, noch der berechnete Äquivalenzwert von 3,4 % relativer Infektiösität wurden innerhalb dieser Zeit erreicht. Hierzu war eine mindestens einwöchige Behandlung mit 70 °C erforderlich. Wie die in Abb. 23 (3. Spalte) gezeigten Einzelergebnisse der 12 Beobachtungen zeigen, wurde der Äquivalenzwert nach siebentägiger Bebrütung mit 70 °C von einigen Proben unterschritten. Im Mittel lag die Infektiösität jedoch mit 4,3 % noch knapp oberhalb des Grenzwertes. Obwohl eine vollständige Inaktivierung auch bei

70 °C nicht innerhalb von drei Wochen erreicht wird, hatte die Mehrzahl der Proben ab einer Behandlungsdauer von zwei Wochen ihre Infektiösität vollständig eingebüßt. Nach zwei Wochen waren nur noch vier von 12 Proben schwach infektiös. Nach dreiwöchiger Behandlung hatte sich die Anzahl der gering infektiösen Proben auf zwei verringert.

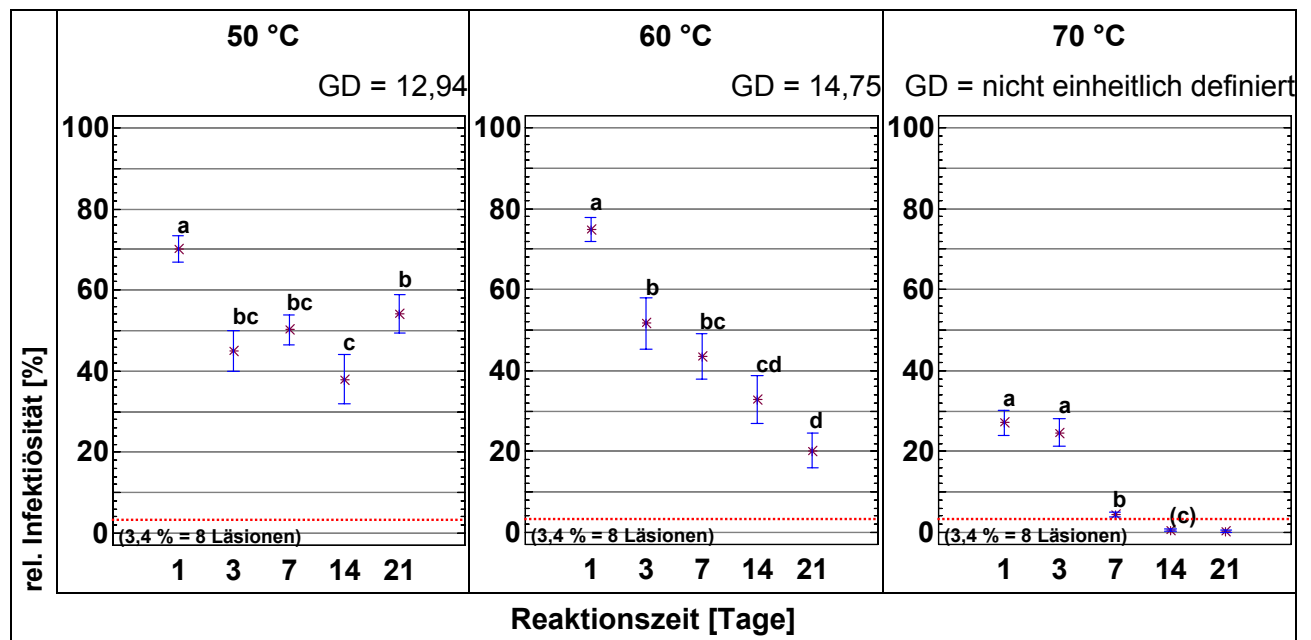


Abb. 22: Wärmeeinfluss (50, 60 u. 70 °C) auf die relative Infektiösität des TMV

Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Mittelwertsunterschiede (LSD-Test; $p < 0,05$) Streuungsbalken kennzeichnen individuelle Streuung; Daten der 70 °C-Variante aufgrund inhomogener Varianzen transformiert ($\ln(x+10)$), 1-7 Tage durch Varianzanalyse und 7/14 Tage durch t-Test verglichen

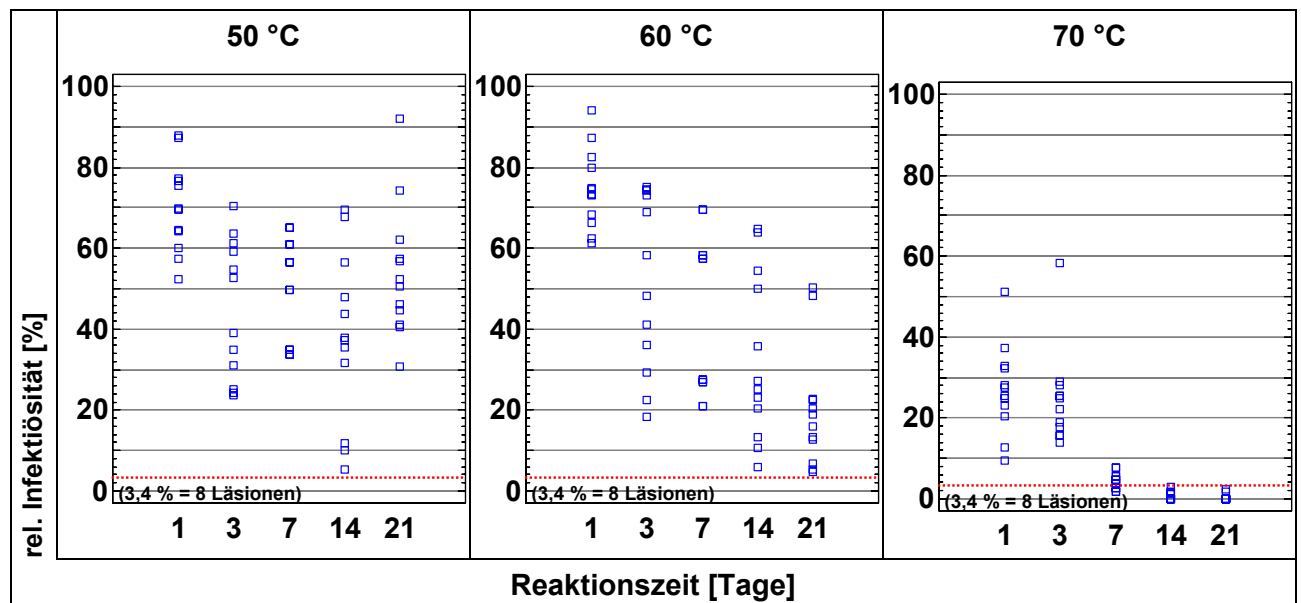


Abb. 23: Wärmeeinfluss (50, 60 u. 70 °C) auf die relative Infektiösität einzelner Proben des TMV

Wie die in Abb. 24 dargestellten Versuchsergebnisse belegen, wirkte sich der TS-Gehalt des Trägersubstrats nicht signifikant auf die Inaktivierung des TMV aus. Zumindest im be-

obachteten Temperaturbereich von 50 bis 70 °C war zwischen den beiden Feuchtigkeitsstufen, mit denen der relevante Bereich der Rotte abgedeckt wurde, kein signifikanter Unterschied festzustellen.

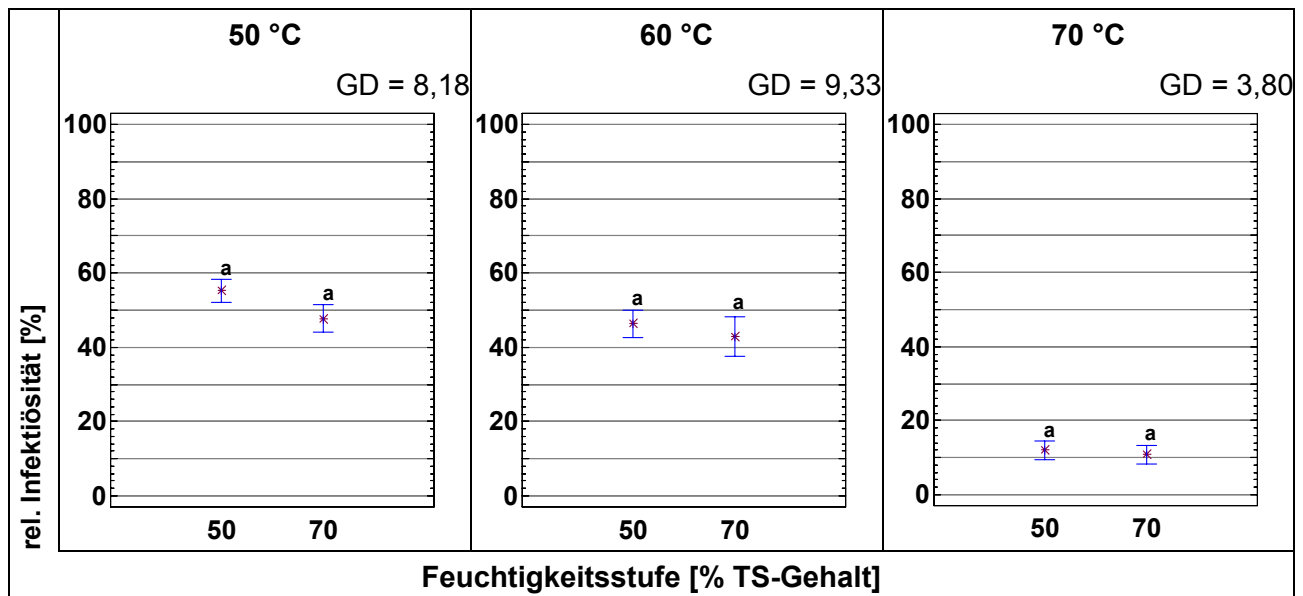


Abb. 24: Einfluss der Substratfeuchtigkeit auf die relative Infektiösität des TMV bei verschiedenen Behandlungstemperaturen

Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Mittelwertsunterschiede (LSD-Test; $p < 0,05$) Streuungsbalken kennzeichnen individuelle Streuung

Die Ergebnisse der Versuchsreihen zeigen, dass die von der BioAbfV gestellten Anforderungen an den indirekten Hygienisierungsnachweis nicht ausreichen, um die Inaktivierung des TMV sicherzustellen. Die BioAbfV fordert die Einhaltung von

- 55 °C für zwei Wochen oder 65 °C für eine Woche (offene Mietenkompostierung);
- 60 °C für eine Woche (geschlossene Rotteanlagen).

Unter diesen Temperatur-Zeit-Beziehungen kann die TMV-Inaktivierung aufgrund der hohen Wärmeverträglichkeit des Virus nur erreicht werden, wenn die Inaktivierung durch zusätzliche Einflüsse unterstützt wird. Der von BARTEL (1955, 1956) und RYCKEBOER et al. (2002) als bedeutsam erachtete mikrobielle Einfluss bei der Inaktivierung des TMV wird im Folgenden anhand von Daten aus temperaturgesteuerten Rotteversuchen bewertet.

8.4 Rotteverträglichkeit des TMV

Zur Bewertung des mikrobiellen Einflusses auf die TMV-Inaktivierung wurden temperaturgesteuerte Rotteversuche durchgeführt, deren Temperaturprofile, insbesondere die Temperaturverhältnisse von weniger stark erwärmten Zonen von Kompostmieten, widerspiegeln, in denen keine wärmebedingte TMV-Inaktivierung erwartet werden kann. Zur Differenzierung zwischen dem Einfluss der Wärme und dem mikrobiellen Einfluss der Rotte wurden virushaltige Tabakblätter parallel prozessoffen (dem mikrobiellen Abbau zugänglich) in Gazesäckchen und in geschlossenen Gläsern behandelt. Dabei wurde das Infektionsmaterial in der Variante „geschlossene Gläser“ vor den mikrobiellen Einflüssen des

aeroben Stoffwechsels geschützt. Um darüber hinaus auch einen Vergleich mit den Ergebnissen der oben dargestellten Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen anstellen zu können, wurden zwei Versuche bei einer Rottetemperatur von 50 °C durchgeführt (in Abb. 25 mit A und B gekennzeichnet). Inaktivierende Einflüsse können in diesem Temperaturbereich eindeutig dem Rotteprozess zugeschrieben werden, da sich die alleinige Temperaturwirkung von 50 °C im Laborversuch nicht signifikant auf die Inaktivierung des TMV ausgewirkt hat. In zwei weiteren Versuchen (C und D) wurde eine Temperatur von 55 °C angestrebt, um zu überprüfen, ob geringfügige Temperaturunterschiede bzw. Schwankungen einen signifikanten Einfluss auf die Virenabtötung besitzen. Eine Überschreitung der 60 °C-Marke, ab der ein signifikanter Einfluss der Wärme auf die Virenabtötung beobachtet worden ist, wurde durch die Steuerung der Rottetemperatur vermieden.

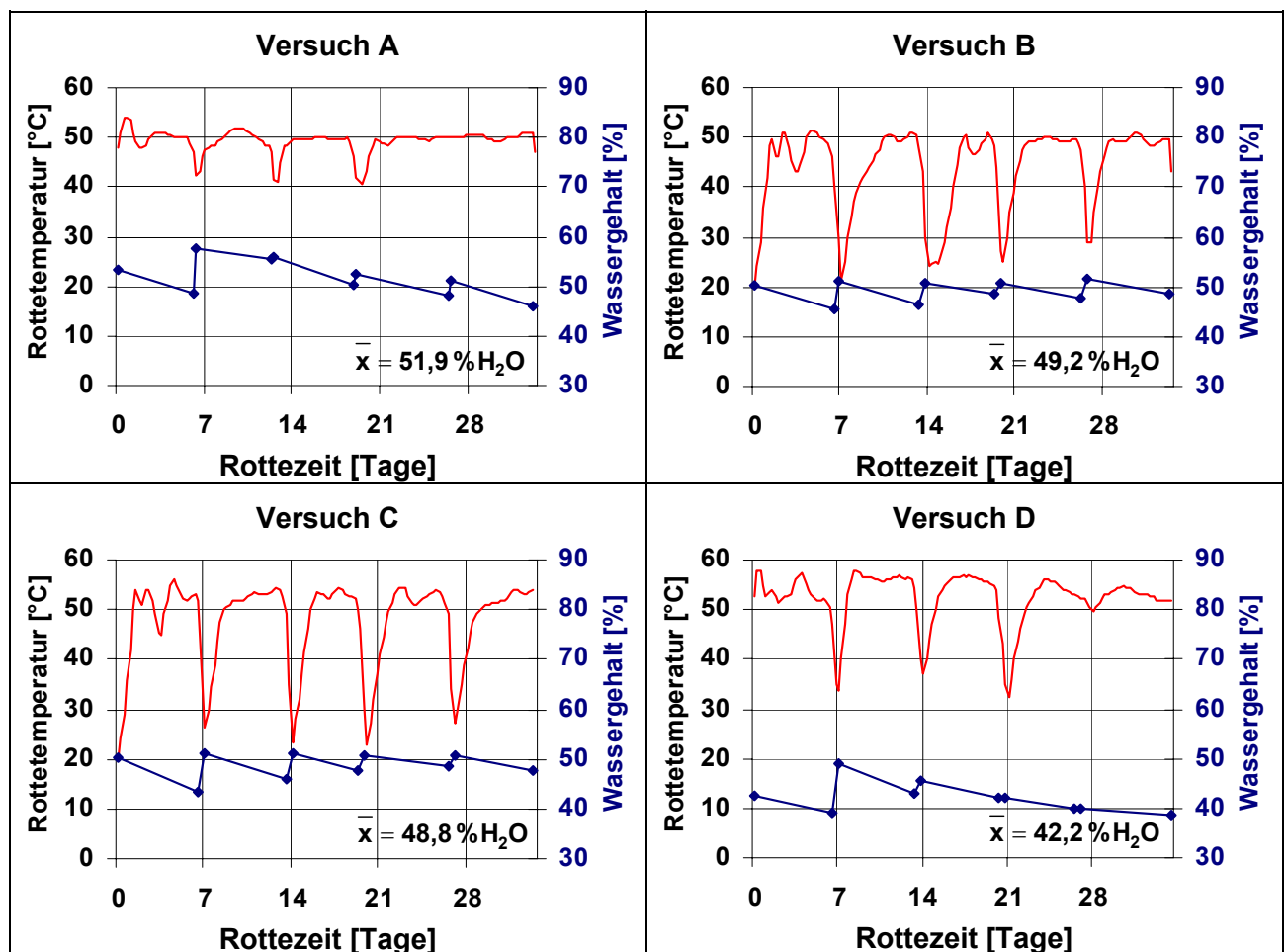


Abb. 25: Temperaturverläufe und Feuchtigkeitsgehalte der Rotteversuche mit einer Solltemperatur von 50 °C (A, B) bzw. 55 °C (C, D)

Die in Abb. 25 und Abb. 26 dargestellte Auswertung der Temperaturdaten zeigt, dass die Solltemperatur in allen Versuchen nur geringfügig überschritten wurde. Im Versuch A wurde die Zielvorgabe von 50 °C bei einer Durchschnittstemperatur von 49,3 °C und einer Maximaltemperatur von 54 °C sehr gut eingehalten. Der Modalwert des Temperaturhistogramms trifft exakt die anvisierte Temperatur von 50 °C. Im Versuch B fand eine langsamere Selbsterwärmung des Rottegutes statt, wodurch sich das Erreichen der Solltemperatur nach dem Umsetzen verzögerte. Dementsprechend lag die Durchschnittstemperatur

mit 44,1 °C deutlich unter der Solltemperatur. In den Versuchen C und D lag die Rottemperatur überwiegend im Bereich zwischen 52 und 56 °C. Die anvisierte Zieltemperatur von 55 °C wurde am besten im Versuch D erreicht.

Wie die ebenfalls in Abb. 25 dargestellten Feuchtigkeitsverhältnisse im Rottegut erkennen lassen, konnten mit einem Wassergehalt im Bereich von 50 % günstige Bedingungen für den aeroben Stoffwechsel sichergestellt werden.

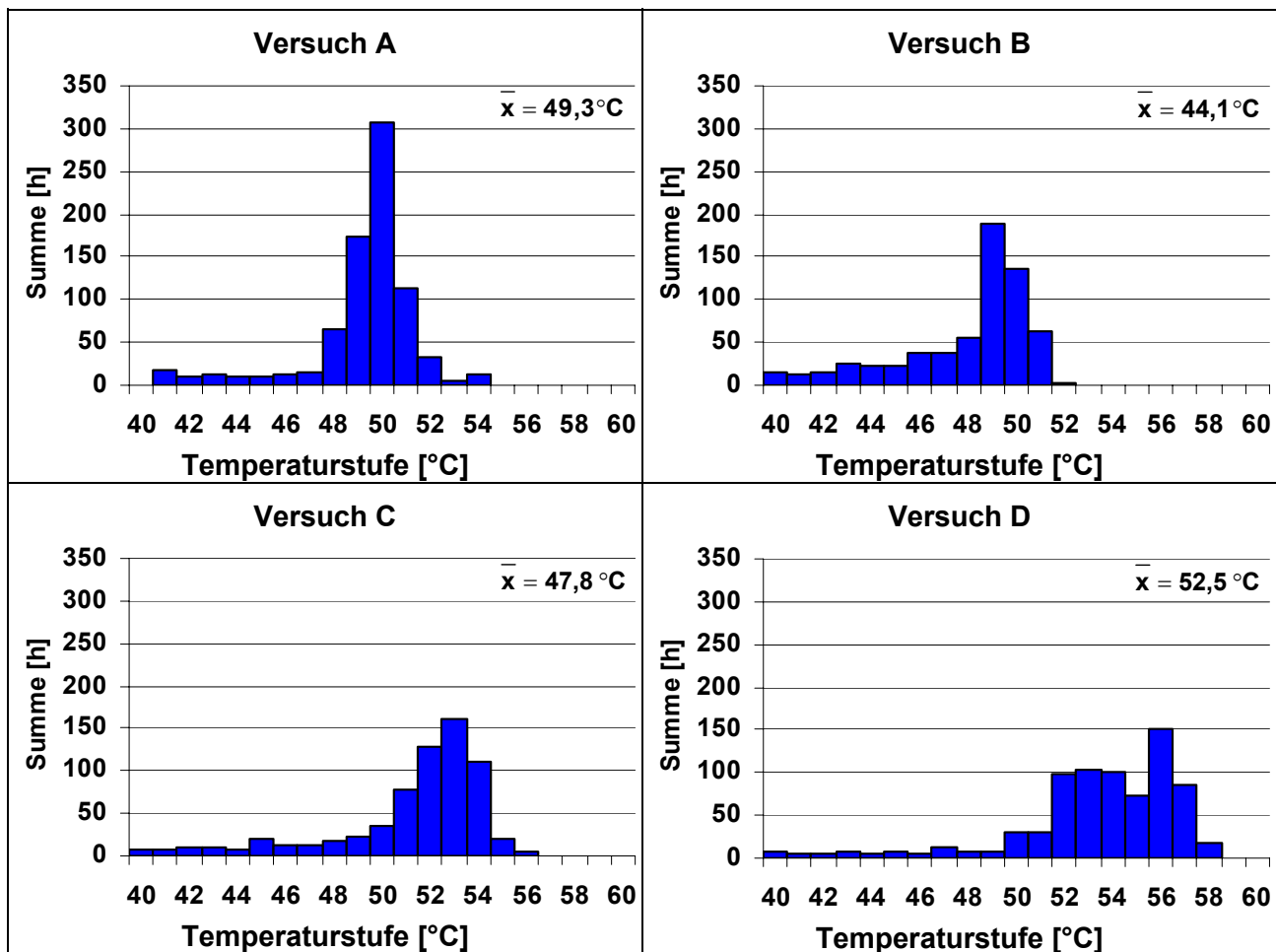


Abb. 26: Temperaturhistogramme und Durchschnittstemperaturen der Versuche A – D

Die statistische Auswertung der Rotteversuche belegt die These, dass die Inaktivierung des TMV maßgeblich durch den Einfluss des Rotteprozesses gefördert wird (Abb. 27, Spalte a). Durch die prozessoffene Behandlung des Virus in Gasesäckchen wurde die Infektiösität deutlich stärker und schneller reduziert als in der Glas-Variante, die das Virus vor den Einflüssen des aeroben Rotteprozesses geschützt hat. In den Versuchen B bis D war bereits nach einer einwöchigen Behandlung in Gasesäckchen der gleiche Inaktivierungsgrad festzustellen wie nach einer fünföchigen Behandlung im Glas. Bei einer Rottemperatur von ca. 50 °C wurde die Infektiösität des TMV vor allem durch den zusätzlichen mikrobiellen Einfluss des Rotteprozesses auf 2,8 bis 13,3 % ($\bar{x} = 6,3$ %) seines Ausgangswertes verringert. Nach fünf Wochen Rottezeit lag die Infektiösität nur noch bei 2,9 % des Ausgangswertes. Da im Mittel der vier Versuchsreihen 7,25 Läsionen auf zwei Blatthälften gezählt wurden, zeigen die Versuche, dass sowohl der Grenzwert der BioAbfV

als auch der äquivalente Grenzwert für die relative Infektiösität durch den zusätzlichen Einfluss des aeroben Rotteprozesses bei einer Temperatur von 50 °C innerhalb von fünf Wochen erreicht werden kann. Ohne diesen zusätzlichen Einfluss (Glasvariante) lag die Infektiösität nach fünf Wochen Rottezeit um eine Zehnerpotenz höher (Abb. 28) und somit in weitem Abstand zum Grenzwert, der an den Forderungen der BioAbfV gemessen, zu unterschreiten wäre.

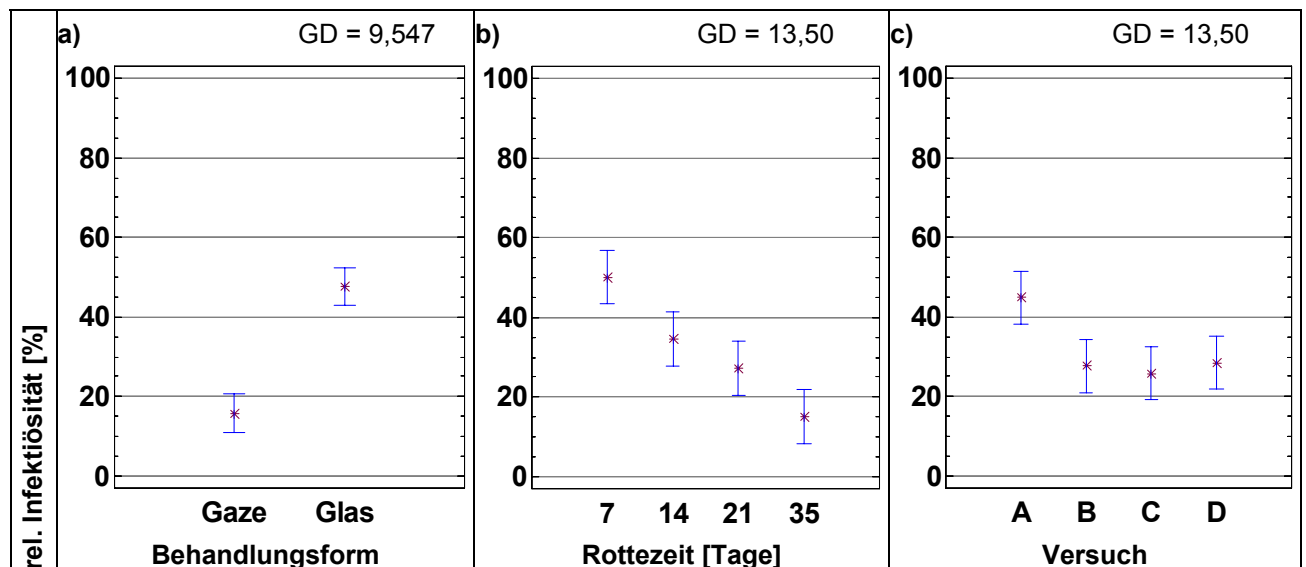


Abb. 27: Bewertung der Einflussfaktoren auf die relative Infektiösität des TMV während der Rotte auf Basis einer mehrfaktoriellen Varianzanalyse

Gaze = aerob, dem Rotteprozess ausgesetzte Proben, Glas = anaerob, dem Rotteprozess nicht ausgesetzt; Streuungsbalken kennzeichnen Grenzdifferenz (LSD-Test; $p < 0,001$)

Die Betrachtung der Virusinaktivierung in Abhängigkeit von der Rottezeit zeigt, dass sich der Zeitfaktor unter den gegebenen Temperaturbedingungen signifikant auf die Infektiösität des Virus auswirkt (Abb. 27, Spalte b). Im Gegensatz zu dem oben dargestellten Wärmebehandlungsversuch bei 50 °C, bei dem zwischen dem ersten und dem 21. Tag der Wärmebehandlung kein Inaktivierungsfortschritt zu beobachten war, bewirkte der zusätzliche Einfluss des Rotteprozesses eine kontinuierliche Inaktivierung. Die differenzierte Betrachtung der Gaze- und Glasvariante belegt, dass der signifikante Einfluss der Reaktionszeit primär auf die Inaktivierung der in Gasesäckchen behandelten Proben zurückzuführen ist (Abb. 28). Bei der Behandlung im Glas war die Infektiösität der Proben, die während den ersten drei Entnahmetermen (erste bis dritte Woche) entnommen wurden, nicht signifikant voneinander zu unterscheiden. Dies bestätigt das Ergebnis des Bebrütungsversuches mit 50 °C, bei dem im gleichen Zeitraum unter dem ausschließlichen Einfluss der Wärme ebenfalls kein Inaktivierungsfortschritt des TMV festgestellt wurde (Abb. 22).

Die Ergebnissen der Rotteversuche A bis D, bei denen die relative Infektiösität durch eine Behandlung in Gasesäckchen in drei Wochen auf deutlich weniger als 15 % Restinfektiösität verringert wurde, deuten darauf hin, dass eine ausschließlich wärmebedingte Inaktivierung des TMV eine etwa 10 bis 15 °C höhere Temperatur erfordern würde, um eine vergleichbare Wirkung zu erzielen. Bei einer ausschließlichen Wärmeeinwirkung mit 60 °C betrug die relative Infektiösität des Virus nach 3 Wochen noch 20 % (Abb. 22) und wurde

somit weniger stark reduziert als durch eine kombinierte Wirkung von mikrobiellem Abbau und einer Wärme von etwa 50 °C (Abb. 26).

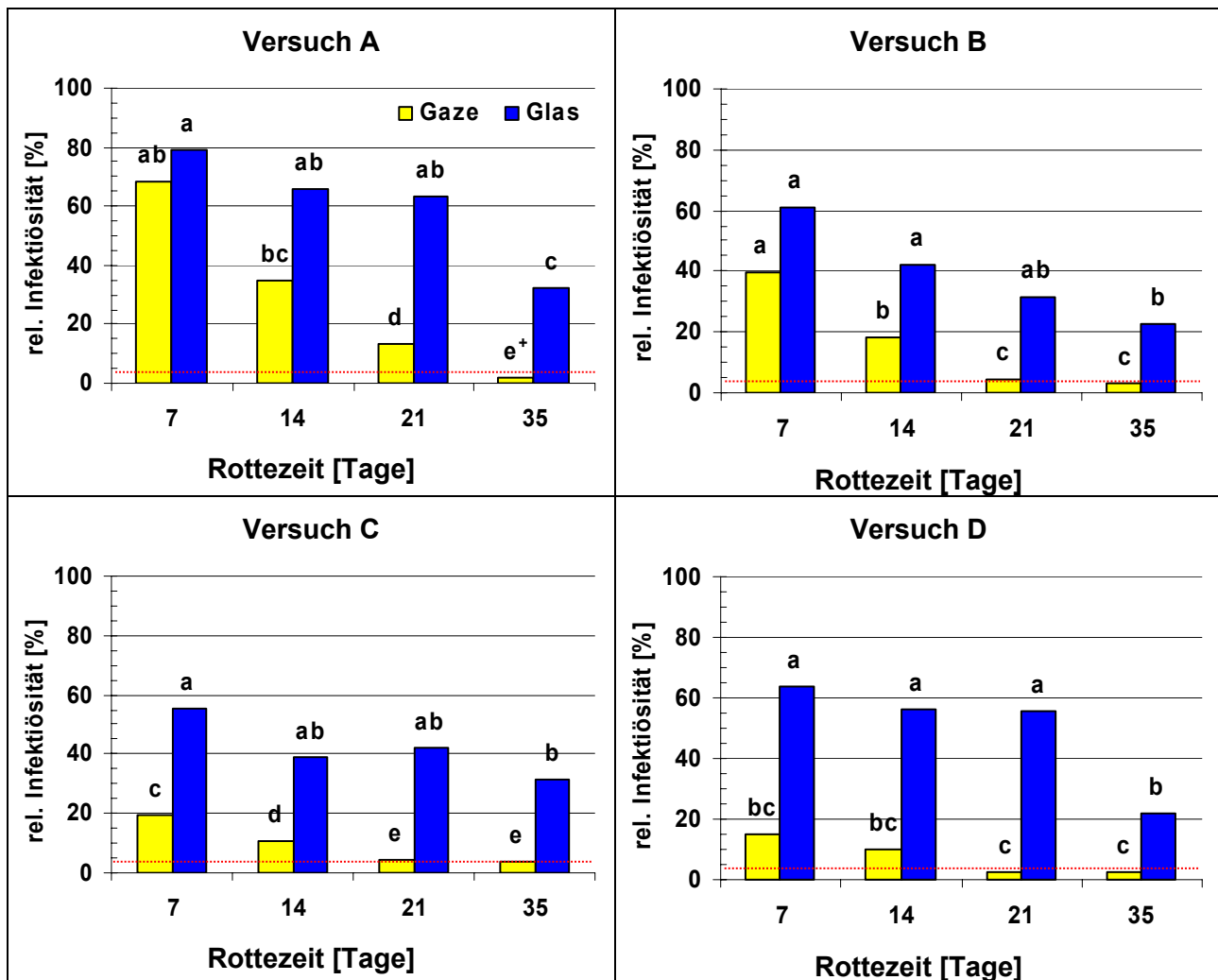


Abb. 28: Beeinflussung der Infektiösität des TMV durch Wärme- und Rotteeinflüsse in Abhängigkeit von der Rottedauer

Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede (LSD-Test; $p < 0,05$); mit + gekennzeichnete Proben erfüllen Anforderungen der BioAbfV (≤ 8 Läsionen); rote Linie kennzeichnet äquivalenten Grenzwert für relative Infektiösität

Da der Rotteprozess kein klassisch biotechnologischer Prozess ist, der einheitlich und exakt reproduzierbar funktioniert, stellt sich die Frage, wie einheitlich die Wirkung von sich ähnelnden Rotteprozessen auf die Inaktivierung des TMV zu beurteilen ist. Eine statistische Verrechnung der Inaktivierungsergebnisse, die über den gesamten Verlauf der vier Rotteversuche gewonnen wurden, zeigt, dass zwischen den Versuchen geringe, aber signifikante Unterschiede bestehen (Abb. 27, Spalte c). Die im Versuch A festgestellte Inaktivierung unterscheidet sich von den drei anderen Versuchen, deren Inaktivierungsverlauf und -ergebnis als ähnlich zu betrachten ist. Wie die in Abb. 29 dargestellte Auswertung des Inaktivierungsgrades zu verschiedenen Stadien des Versuches zeigt, unterscheidet sich Versuch A von den anderen Versuchen lediglich im Verlauf des Hygienisierungsprozesses der in Gasesäckchen behandelten Proben.

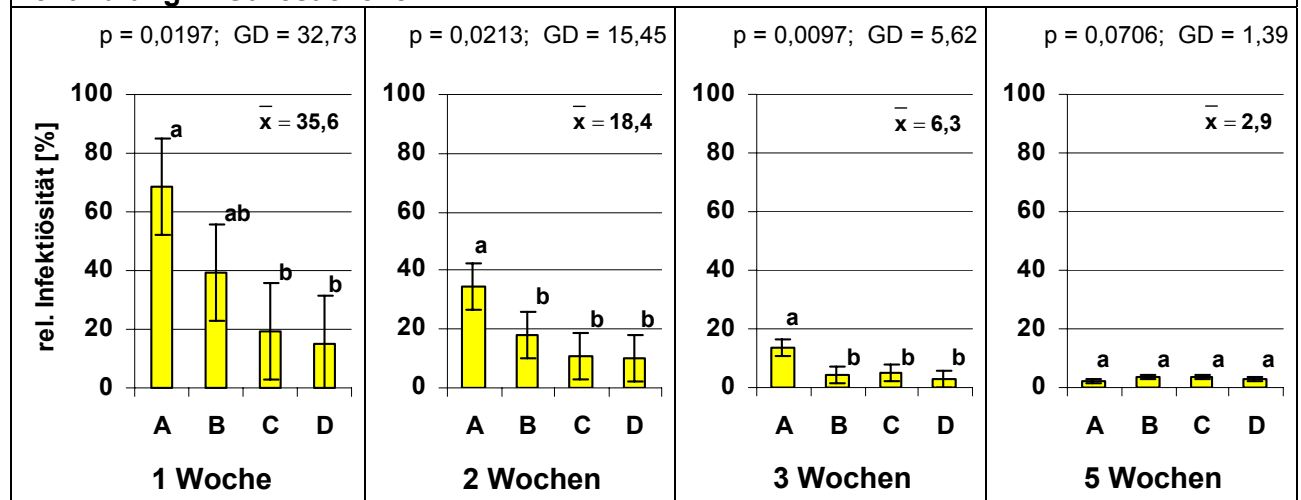
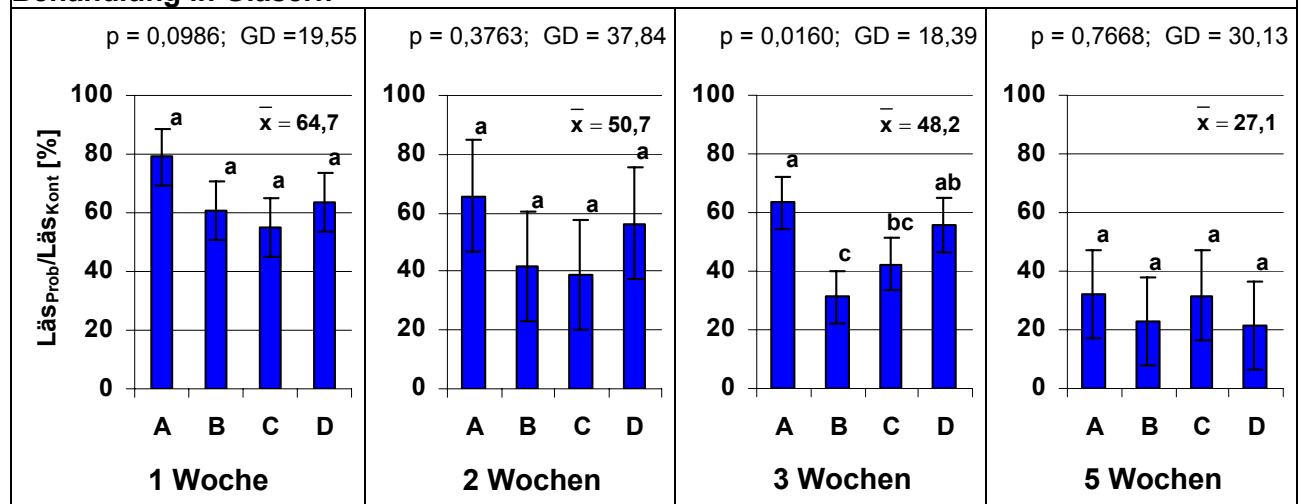
Behandlung in Gazesäckchen**Behandlung in Gläsern**

Abb. 29: Einfluss der Reaktionszeit auf die Infektiösität des TMV in Abhängigkeit vom mikrobiellen Einfluss des aeroben Rotteprozesses.

Gaze = aerob, dem Rotteprozess ausgesetzte Proben, Glas = anaerob, dem Rotteprozess nicht ausgesetzt; Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede (LSD-Test; $p < 0,05$)

Im Versuch A war zu Versuchsbeginn eine verzögerte Hygienisierung zu beobachten. Der Unterschied konnte jedoch im weiteren Verlauf der Rotte ausgeglichen werden, so dass im Endergebnis die Virusinaktivierung nach fünfwöchiger Rottezeit wiederum als gleich zu bewerten ist. Als einzige Begründung für die zunächst geringere Hygienisierung in Versuch A, die sich von den physikalischen Rotteparametern ableiten ließe (Abb. 25 und Abb. 26), kann der relativ hohe Wassergehalt zu Versuchsbeginn angeführt werden. Der Temperaturfaktor liefert keine Begründung, da Versuch A eine Mittelstellung aller Versuche einnimmt. Ob Mikroorganismen, die an der Inaktivierung des TMV beteiligt sind, eventuell unter trockeneren Bedingungen effektiver sind oder sich stärker vermehren, kann nicht abschließend beurteilt werden. Die Beobachtung kann jedoch als Ansatz für weiterführende Untersuchungen genutzt werden.

Aufbauend auf den Erkenntnissen der beschriebenen Untersuchungsreihe wurde die Inaktivierung des TMV im Rahmen einer siebenwöchigen Rotte bei 45 °C und 40 % Substrat-

feuchtigkeit analysiert (Abb. 30). Die Bewertung der TMV-Inaktivierung bei deutlich geringeren Temperaturen als für die Hygienisierung von Kompost vorgesehen ist, und unter Feuchtigkeitsverhältnissen, die in der letzten Rottephase (Reifephase) angestrebt werden, kann insbesondere für die Hygienisierung während der Ausreifungsphase von Kompost von Bedeutung sein.

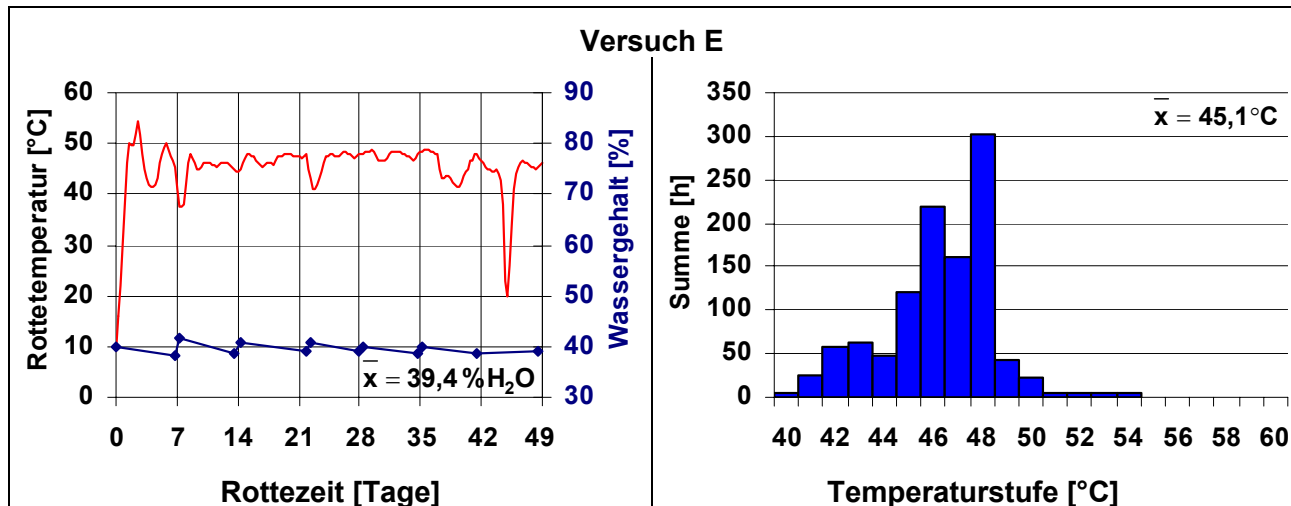


Abb. 30: Temperaturverlauf, Feuchtigkeitsgehalte und Temperaturverteilung des Rotteversuches im unteren thermophilen Bereich

Auch unter relativ trockenen Bedingungen und bei Temperaturen auf der Grenze zwischen dem mesophilen und thermophilen Bereich wurde eine gute TMV-Inaktivierung beobachtet (Abb. 31). Der Verlauf der Inaktivierung ist mit den Ergebnissen von Versuch A zu vergleichen. Nach einer vergleichsweise geringen Abnahme der Infektiösität innerhalb der ersten drei Rottezeiten war eine kontinuierlich zunehmende Inaktivierung des TMV bis zur fünften Woche festzustellen. Sowohl der Grenzwert der BioAbfV als auch der äquivalente Grenzwert für die relative Infektiösität konnte am Ende einer fünföchigen Rotte sicher unterschritten werden. Eine Verlängerung der Rotte um weitere zwei Wochen ergab keine signifikante Verbesserung des Ergebnisses. Eine vollständige Inaktivierung des TMV wurde unter den geprüften Gegebenheiten nicht erreicht.

Die Vermutung, dass das TMV unter relativ trockenen Bedingungen eine stärkere Inaktivierung erfährt, kann anhand der Ergebnisse des Versuches E nicht bestätigt werden. Vielmehr hat sich gezeigt, dass das Virus auch bei wechselnden Rottebedingungen im Bereich von 45 bis 55 °C und bei Feuchtigkeiten zwischen 40 und 50 % sehr konstant reagiert und seine Infektiösität innerhalb von fünf Wochen Rottezeit soweit reduziert werden kann, dass der Grenzwert der BioAbfV bzw. das Grenzwertäquivalent für die relative Inaktivierung sicher unterschritten wird.

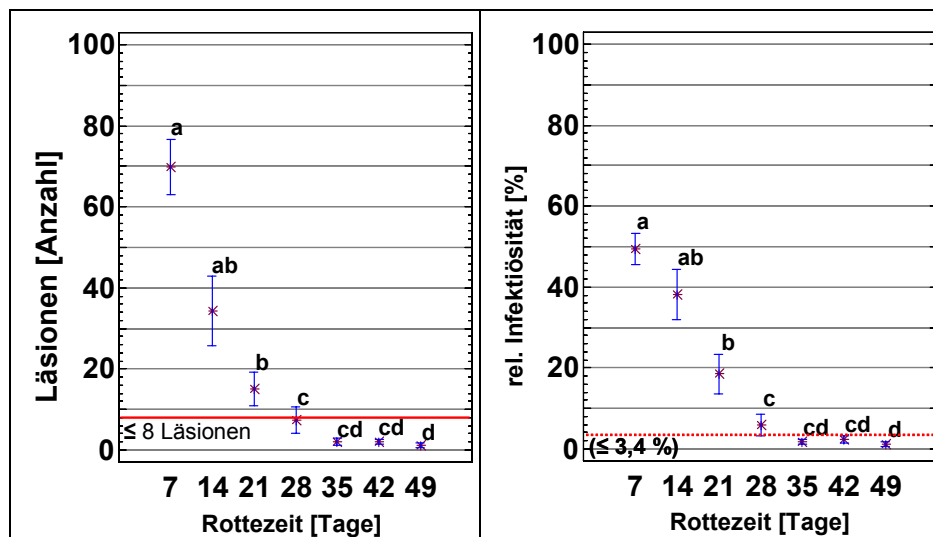


Abb. 31: TMV-Inaktivierung eines siebenwöchigen Rotteprozesses bei 45 °C und 40 % Feuchtigkeit (Versuch E)

rote Linie = Grenzwert ≤ 8 Läsionen; rot gestrichelte Linie = Grenzwertäquivalent für die Betrachtung der relativen Infektiösität = 3,4 %; Streuungsbalken kennzeichnen individuelle Streuung gleich behandelter Proben (n=6); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede der $\ln(x+10)$ transformierten Daten (LSD-Test; $p < 0,05$)

Aufgrund der guten TMV-Inaktivierung bei geringer Temperatur besteht die Möglichkeit, dass auch nach Abschluss des eigentlichen Rotteprozesses eine weitere Inaktivierung des Virus stattfindet, wenn der aufbereitete Kompost vor der Ausbringung zwischengelagert wird. Eine sichere Nachweismöglichkeit der TMV-Inaktivierung über die Dauer der aeroben Behandlung (Zeitfaktor), die in weiteren Untersuchungen zu bestätigen ist, würde die Möglichkeit bieten, die Phase der Zwischenlagerung von Kompost bei der Hygienebewertung mit zu berücksichtigen. Dies könnte insbesondere für die Vergärung bzw. die Hygienisierung von Gärrückständen interessant sein, die im Zuge der Nachrotte nur noch eine mäßige Erwärmung erfahren. In diesem Zusammenhang gilt es auch zu beachten, dass eine der Vergärung vorgeschaltete Hygienisierungsstufe, bei der das Gärmaterial für eine Stunde auf 70 °C erwärmt wird, keine TMV-Inaktivierung bewirken kann.

Zur Bewertung der hygienisierenden Wirkung der mikrobiellen Aktivität während der Nachrotte bei Temperaturen, die bis in den unteren mesophilen Bereich reichen, wurde die Inaktivierung des TMV durch eine bis zu drei Monate dauernde Einlage von virushaltigen Tabakblättern in ausgereiftem Kompost überprüft. Als reaktionsarmes Substrat wurde das Material von zwei einjährigen Eigenkomposten verwendet. Die Einlage der Virusproben erfolgte im Rand- und Kernbereich der Mieten.

In Abb. 32 und Abb. 33 werden die Temperaturverläufe und die Temperaturprofile der Einlegezonen dargestellt. Insgesamt war die Temperatur im Versuch F höher als im Versuch G. Wie zu erwarten, wurden die Kernbereiche der Mieten stärker erwärmt als die Randbereiche. In beiden Versuchen war nur zu Versuchsbeginn eine kurzfristige Erwärmung zu beobachten, bei der im Kern für wenige Stunden eine maximale Temperatur von 59 °C erreicht wurde. Derartige Temperaturentwicklungen sind auch im Kompostlager zu beobachten, wenn das Rottegut durch die Bewegung bei der Konfektionierung intensiv belüftet wird, wodurch die mikrobiologischen Abbauvorgänge kurzfristig gefördert werden.

Aufgrund des fortgeschrittenen Abbaus der leicht abbaubaren organischen Substanz sanken die Temperaturen schnell wieder in den mesophilen Bereich. Im Randbereich war nur eine geringfügige initiale Selbsterwärmung zu beobachten. Dort lagen die Temperaturen durchweg im mesophilen Bereich.

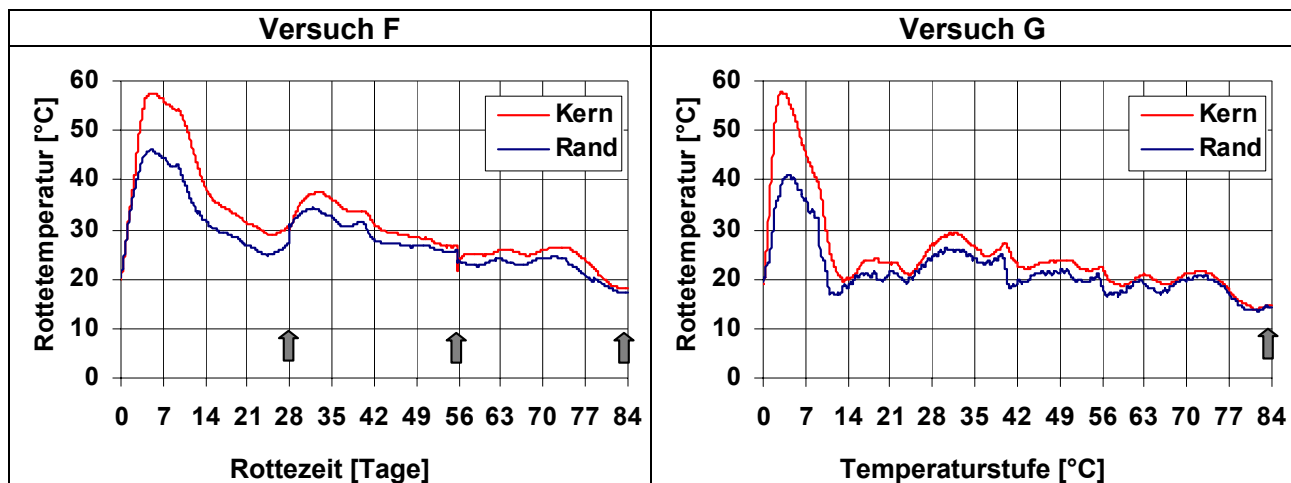


Abb. 32: Temperaturverlauf der Nachrotteversuche von ausgereiftem Eigenkompost
Pfeile kennzeichnen Umsetztermine und Zeitpunkte der Probenentnahme

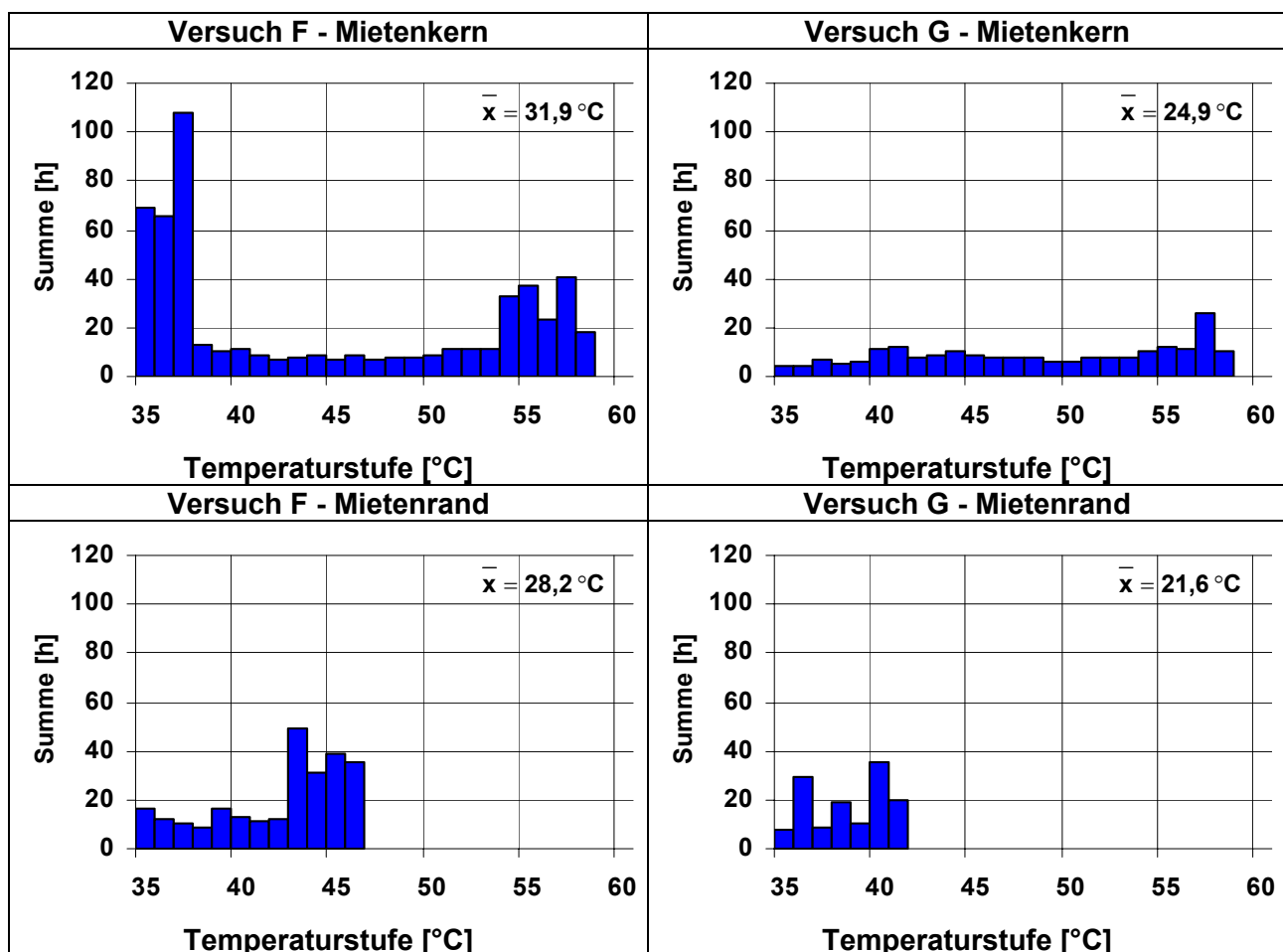


Abb. 33: Temperaturprofile der Einlegezonen des TMV bei der Behandlung in ausgereiftem Eigenkompost

Die Versuchsergebnisse (Abb. 34) bestätigen die Vermutung, dass die Infektiösität des TMV auch im Anschluss an die Hauptrotte durch die mikrobiellen Prozesse, die bei ausgereiftem Kompost im mesophilen Temperaturbereich stattfinden, noch signifikant verringert werden kann. Unabhängig davon, ob die Proben vorübergehend thermophilen Bedingungen ausgesetzt werden (Kernbereich) oder nicht (Randbereich), bewirkte der Nachrotteprozess eine derart starke Verringerung der Infektiösität des TMV, dass bereits nach vier Wochen der Grenzwert der BioAbfV unterschritten wurde. Im Folgenden war eine weitere Abnahme auf Werte festzustellen, die kaum vom Nullwert zu unterscheiden sind. Eine vollständige Inaktivierung wurde jedoch trotz der starken Inaktivierung innerhalb des ersten Monats auch innerhalb von drei Monaten nicht erreicht.

Die Ergebnisse der Eigenkompostierung bestätigen die Ergebnisse der Modellkompostierung, die darauf hindeuten, dass der zeitliche Verlauf der mikrobiellen Inaktivierung des TMV unterhalb von 55 °C nicht signifikant durch den Temperaturfaktor beeinflusst wird. Zwischen dem mesophilen (Eigenkompostierung) und dem unteren thermophilen Bereich (temperaturgesteuerte Rotteversuche) sind keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der TMV-Inaktivierung zu beobachten.

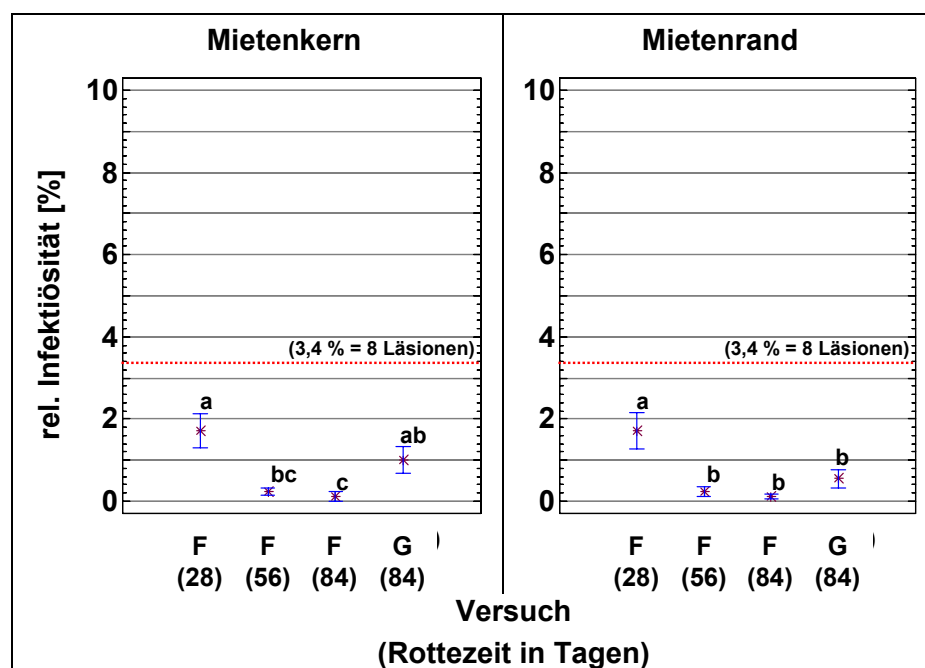


Abb. 34: TMV-Inaktivierung durch 12-wöchige Nachrotte von Eigenkompost

rot gestrichelte Linie = Grenzwertäquivalent für die Betrachtung der relativen Infektiösität; Streuungsbalken kennzeichnen individuelle Streuung gleich behandelter Proben (n=3); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede der Mittelwerte (LSD-Test; $p < 0,05$)

8.5 Diskussion der Ergebnisse der Versuchsreihen mit dem TMV

8.5.1 Bewertung der in der BioAbfV vorgeschriebenen Nachweismethode für das TMV

Die in der BioAbfV beschriebene Nachweismethode für das TMV und der für die Methode beschriebene Grenzwert zur Einhaltung der Hygienevorschriften von ≤ 8 Läsionen sind nicht konsequent aufeinander abgestimmt. Einerseits wird die Anwendung der Halbblattmethode vorgeschrieben, bei der auf einem Blatt eine Hälfte mit der zu prüfenden Probe und die andere mit einer hochinfektiösen Kontrollprobe zu behandeln ist. Andererseits bleibt das Ergebnis der Kontrollprobe bei der späteren Entscheidung, ob Grenzwerte eingehalten werden oder nicht, unberücksichtigt. Was mit der vorgeschriebenen Applikation von Kontrollsuspensionen für ein Ziel verfolgt wird, kann nicht nachvollzogen werden. Darüber hinaus birgt die Vorschrift die Gefahr, dass die Blatthälften, die mit den zu untersuchenden Proben behandelt werden, durch das Applizieren einer hochinfektiösen Kontrolllösung auf die gegenüberliegenden Blatthälften negativ beeinflusst werden. Außerdem ist mit der Applikation der Kontrolllösungen, die 50 % der zu behandelnden Blattfläche ausmacht, ein überflüssiger Arbeitsaufwand vorgeschrieben, da die produzierten Ergebnisse der Behandlung nicht verwertet werden.

Wie die in Punkt 8.2.1 dargestellte Auswertung von über 850 mit Kontrolllösungen behandelten Blatthälften zeigt, erscheint die vorgeschriebene Applikationsweise der Halbblattmethode trotz des damit verbundenen Aufwandes zweckmäßig zu sein, da die Läsionsbildungsrate einzelner Blätter sehr stark variiert. Aufgrund der großen individuellen Unterschiede, mit denen Blätter auf eindringende Viren reagieren, sollte ein Nachweisverfahren angewendet werden, das durch diese Variabilität nicht beeinflusst wird. Die Halbblattmethode bietet diese Möglichkeit, wenn die Ergebnisse der behandelten Proben mit denen der Kontrollsuspension zu einem Relativwert verrechnet werden. Indem die Anzahl an Läsionen, die von einer Probe gebildet wird, ins Verhältnis zur Anzahl an Läsionen gesetzt wird, die eine unbehandelten Kontrolllösung auf der gegenüberliegenden Blatthälfte verursacht, können Fehlerquellen ausgeglichen, die aus der unterschiedlich starken Symptomausprägungen einzelner Nachweispflanzen resultieren. Die alternativ vorgeschlagene Bewertungsmethode erfordert die Definition eines neuen Grenzwertes für die relative Infektiösität. Bei 234 Läsionen, die durchschnittlich gebildet werden, errechnet sich ein Grenzwert für die relative Infektiösität in Höhe von 3,4 %. Da die Datenbasis zur Berechnung dieses äquivalenten Grenzwertes mit über 850 ausgewerteten Blatthälften hinreichend groß ist, wird vorgeschlagen, den absoluten Grenzwert von ≤ 8 Läsionen durch den hergeleiteten Grenzwert von $\leq 3,4$ % zu ersetzen. Wie die Ergebnisse von Verdünnungsreihen zeigen, wird die ursprüngliche Viruskonzentration von 10 g Tabakblättern bei einer Einhaltung des Grenzwertes auf 0,01 % der Ausgangskonzentration verringert.

8.5.2 Bewertung der Tenazität des TMV im Hinblick auf die Hygienisierung von Kompost

Das TMV ist durch eine sehr hohe Wärmeverträglichkeit gekennzeichnet, verfügt aber nur über eine vergleichsweise geringe Rotteresistenz. Im Gegensatz zu anderen phytopatho-

genen Organismen ist der Nachweis einer ausschließlich wärmebedingten Inaktivierung des Virus bei der Kompostierung schwierig, da hierzu Temperaturen von mindestens 70 °C über einen Zeitraum von 14 Tagen im gesamten Rottekörper erforderlich sind. Diese Temperaturanforderung, die zur TMV-Inaktivierung erreicht werden muss, liegt deutlich über den Temperaturgrenzen, die von der BioAbfV zum indirekten Nachweis der Hygienisierung vorgeschrieben werden.

Für den unteren thermophilen Temperaturbereich (45 - 55 °C) und im mesophilen Temperaturbereich (25 - 45 °C) wurde durch Versuche festgestellt, dass der Grenzwert der BioAbfV durch eine fünfwöchige aerobe Behandlung sicher unterschritten werden kann. Wenn sich die Ergebnisse zur TMV-Inaktivierung, die im Rahmen der Nachrotte von ausgereiftem Eigenkompost beobachtet wurden, auf größere Haufwerke übertragen lassen, dann könnte der gesamte Zeitraum der Zwischenlagerung von fertigem Kompost bis hin zum frühesten Zeitpunkt, an dem eine mechanische Übertragung der Viren aus dem Kompost auf Wirtspflanzen des TMV stattfinden kann, mit in die Bewertung der Hygienisierung einbezogen werden. Dies erscheint vor allem vor dem Hintergrund der bislang ungelösten Problematik, einen geeigneten Hygienienachweis für Vergärungsanlagen zu erbringen, von Bedeutung zu sein. Nach KNIE et al. (2001) findet bei der Vergärung keine hinreichende TMV-Inaktivierung statt. Auch die Pasteurisierung gemäß BioAbfV bewirkt keine nennenswerte Inaktivierung. Zur Bewertung des Beitrages, den die Zwischenlagerung von Komposten und von nachkompostierten Gärrückständen hinsichtlich der TMV-Inaktivierung leisten kann, sind jedoch weiterführende Untersuchungen unter Verwendung von Fertigkompost und Gärresten erforderlich. Die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse, die auf der Einlage von Proben des TMV in ausgereiftem Eigenkompost basieren, geben einen deutlichen Hinweis auf einen wahrscheinlich stattfindenden Hygienisierungsprozess während der aeroben Kompostlagerung. Substratunterschiede, die sich wiederum auf die mikrobielle Besiedelung von Komposten auswirken könnten, machen gezielte Nachuntersuchungen erforderlich, in denen auch der Einfluss des Sauerstoffhaushaltes während der Kompostlagerung beobachtet werden sollte.

Bei der Bewertung von Intensivrottesystemen mit kurzen Rottezeiten ist zu berücksichtigen, dass die rasche TMV-Inaktivierung, die in einem Versuch festzustellen war, nicht zu reproduzieren war. In diesem Zusammenhang wird die Sicherheit einer bestandenen Inbetriebnahmeprüfung von Anlagen, die mit Rottezeiten von weniger als zwei oder drei Wochen arbeiten, auf Grundlage von nur zwei Untersuchungsgängen als nicht ausreichend hoch bewertet. Dies betrifft primär die Anlagen der Baumusterkategorie 1 und 3, Boxen-, Tunnel- und Zeilenkompostierung (ANONYM 2003). Eine Anerkennung solcher Anlagen über die Baumustergleichheit birgt weitere Risiken, da die Hygienisierung innerhalb kürzester Rottezeiten eine optimale Prozesskontrolle und Prozesssteuerung voraussetzt und deshalb nicht zuletzt vom Betriebspersonal der Anlage abhängt.

Im Rahmen der Arbeit konnte die TMV-Inaktivierung unter Rottebedingungen im oberen und im extremen thermophilen Bereich nicht bearbeitet werden. Bereits in früheren Untersuchungen wurde ein logarithmischer Zusammenhang zwischen der Höhe der Temperatur und der Dauer der TMV-Inaktivierung festgestellt (PRICE 1933). Entsprechend nimmt die wärmebedingte Inaktivierung mit steigender Temperatur zu. Da sich eine Temperaturverschiebung in den hohen thermophilen Bereich auch auf die Mikroorganismengesellschaft

auswirkt, muss der Rotteeinfluss auf die TMV-Inaktivierung für höhere Temperaturen noch bewertet werden. Die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Versuchsergebnisse belegen zwar, dass die Inaktivierungsleistung bei Temperaturen zwischen 25 und 55 °C nicht signifikant durch die Höhe der Temperatur beeinflusst wird, sie können jedoch nicht ohne Nachweis auf höhere Temperaturbereiche übertragen werden. Da die Mikroorganismenvielfalt mit zunehmender Temperatur stark abnimmt, ist nicht auszuschließen, dass durch die Verringerung der Mikroorganismenvielfalt die mikrobielle Inaktivierung des TMV entscheidend beeinträchtigt wird.

8.5.3 Anwendungsaufgaben für Komposte mit unsicherer Inaktivierung des TMV

Da nach Untersuchungen von CHEO (1980) eine wirksame TMV-Inaktivierung im Boden stattfindet und Versuche zur Flächenkompostierung von IDELMANN et al. (1998) ergeben haben, dass der TMV-Grenzwert der BioAbfV im Boden innerhalb von vier Monaten unterschritten wird, könnte eine anwendungsbeschränkte Applikation für Komposte mit unsicherer TMV-Inaktivierung eventuell eine Lösung darstellen. Vorausgesetzt, dass für die anderen Erreger eine Hygienisierung nachgewiesen werden kann, könnte eine Kompostdüngung zu Fruchtfolgegliedern, die nicht vom TMV befallen werden, akzeptiert werden. Da mit Getreide, Mais und Raps die meistangebaute Kulturen nicht durch das TMV geschädigt werden, besteht eine ausreichend große Möglichkeit, derartige Komposte landwirtschaftlich zu nutzen. Zum Nachweis, dass die skizzierte Nutzungsmöglichkeit von Komposten mit unsicherer TMV-Inaktivierung eine sichere Form der Kompostanwendung darstellt, sollte in weiterführenden Untersuchungen der TMV-Abbau im Boden näher untersucht werden. Für eine ausreichend sichere Datenbasis sollte die TMV-Inaktivierung in Abhängigkeit vom Applikationszeitpunkt (Jahreszeit) und in Abhängigkeit von der Bodenart untersucht werden.

8.6 Resümee V

Die Inaktivierung des TMV stellt aufgrund der besonders hohen Wärmeverträglichkeit des Virus einen Sonderfall dar, der bei der Hygienisierung von Kompost und dessen Nachweis unter Umständen gesondert zu betrachten ist. In Fällen, in denen die wärmebedingte TMV-Inaktivierung nicht gesichert ist, kann die vergleichsweise geringe Rotteresistenz für einen Inaktivierungsnachweis genutzt werden. In diesem Zusammenhang kann einerseits mit Hilfe einer direkten Prozessprüfung exemplarisch unter Beweis gestellt werden, dass ein Behandlungsverfahren geeignet ist, TMV zu inaktivieren. Andererseits deuten die vorgelegten Untersuchungsergebnisse darauf hin, dass auch die Dauer des aeroben mikrobiellen Einflusses möglicherweise als Bewertungskriterium herangezogen werden kann. Für allgemein hygienisierte Komposte, bei denen lediglich die TMV-Inaktivierung unsicher ist, kann auch eine auf den Entwicklungszyklus von TMV abgestimmte Anwendungsbeschränkung eine Lösung sein. Insgesamt sollte die Frage der TMV-Inaktivierung durch weitere Untersuchungen noch differenzierter betrachtet werden.

9 Zusammenfassung und Fazit

9.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Mit der getrennten Sammlung von Bio- und Grünabfällen werden auch Krankheitserreger und Unkrautsamen erfasst, die vor der Ausbringung des Kompostes sicher abgetötet werden müssen (ANONYM 1998a). Insbesondere bodenbürtige Krankheitserreger, die über eine geringe Ausbreitungsmöglichkeit verfügen, könnten durch die Ausbringung von nicht hygienisiertem Kompost eine neue Ausbreitungsmöglichkeit bekommen. Da bodenbürtige Krankheitserreger durch chemische Pflanzenschutzmaßnahmen nicht zu bekämpfen sind, ist bei der Komposthygienisierung auf deren Abtötung besonderes Augenmerk zu richten.

In diesem Kontext sollte die Wirksamkeit des Hygieneprüfsystems der BioAbfV, das den Hygienisierungserfolg anhand der Abtötung von Indikatororganismen bewertet, geprüft und weiterentwickelt werden. Hierzu wurde die Wärmeverträglichkeit des Indikators *P. brassicae* im Vergleich zu anderen Pathogenen und Unkrautsamen bestimmt, da die wärmebedingte Abtötung der mit Abstand wichtigste Hygienisierungsfaktor bei der Kompostierung ist. Im Rahmen der Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen wurden die Wechselwirkungen der Abtötungsfaktoren Behandlungstemperatur, Behandlungsdauer und Substratfeuchtigkeit bzw. Samenfeuchtigkeit im Fall der Tomatensamenversuche überprüft. Zur Probenummantelung wurden sterile Substrate mit 70 % TS-Gehalt verwendet, mit denen im Hinblick auf die Kompostierung suboptimale Feuchtigkeitsverhältnisse einer Kompostmiete simuliert werden sollten.

Es konnte nachgewiesen werden, dass die Wärmeverträglichkeit des Indikatororganismus *P. brassicae*, der im Rahmen des Prüfsystems der BioAbfV aufgrund seiner besonderen Rotteresistenz als Indikator für eine wärmebedingte Inaktivierung dient, zu hoch eingeschätzt wird und sehr heterogen ist. Zur Abtötung der meisten Proben des Erregers wurden im Vergleich zu anderen Pathogenen und Unkrautsamen keine erhöhten Temperaturansprüche festgestellt. Die in wenigen Fällen zu beobachtende hohe Widerstandsfähigkeit einzelner Proben des Erregers konnte nicht genutzt werden, um das Testsystem zu optimieren, da sowohl die Suche nach hochwärmeverträglichem Erregermaterial als auch Bemühungen zur Homogenisierung der Wärmeverträglichkeit des Erregermaterials erfolglos verliefen. Deshalb wird vorgeschlagen, *P. brassicae* bei Hygieneuntersuchungen nicht weiter als Indikatororganismus zu verwenden.

Für den Fall, dass an der bestehenden Untersuchungsmethode der direkten Prozessprüfung festgehalten werden sollte, könnten konditionierte Tomatensamen als Indikatoralternative vorgeschlagen werden. Untersuchungen mit trockenen Tomatensamen (SFG 6,5 - 15 %) haben ergeben, dass die Wärmeverträglichkeit der Samen durch Trocknen auf ein Niveau gehoben werden kann, das dem der widerstandsfähigsten Organismen entspricht. Es konnte beispielhaft gezeigt werden, dass Tomatensamen mit einem SFG von 12,4 % über die gleiche Wärmeverträglichkeit verfügen wie die widerstandsfähigsten Proben von *P. brassicae*. In beiden Fällen erfordert die Abtötung eine 10-tägige Behandlung mit 50 °C. Im Gegensatz zu *P. brassicae* reagierten konditionierte Tomatensamen jedoch sehr einheitlich auf die Wärmebehandlung, weshalb die Zuverlässigkeit der Testergeb-

nisse, die von konditionierten Tomatensamen geliefert werden, als deutlich höher eingestuft wird.

Als alternative Möglichkeit zur Bewertung des Hygienisierungserfolges bei der Kompostherstellung wurde eine Untersuchungsmethode entwickelt, mit der der Hygienisierungserfolg durch eine differenzierte Auswertung von Temperaturdaten ermittelt wird. Die Voraussetzung für ein temperaturbasiertes Bewertungssystem wurde durch die Ermittlung einer Hygienisierungsgleichung geschaffen, die auf Basis von Versuchen mit konditionierten Tomatensamen berechnet wurde. Der Berechnung liegt eine dreidimensionale Regressionsanalyse zugrunde, bei der Daten zur Abtötungsdauer von Tomatensamen in Abhängigkeit von der Temperatur und dem Samenfeuchtegehalt verwendet wurden. Wie anhand von Kontrolluntersuchungen überprüft wurde, ermöglicht die Funktionsgleichung auch bei kontinuierlich steigenden Temperaturen eine sehr verlässliche Berechnung der Abtötungszeitpunkte von Tomatensamen in Abhängigkeit ihres Samenfeuchtegehaltes. Der Korrelationskoeffizient der Funktionsgleichung betrug 0,989. Dies zeigt, dass eine sehr hohe Übereinstimmung zwischen der empirisch ermittelten und der berechneten Abtötungsdauer von konditionierten Tomatensamen besteht.

Es konnte gezeigt werden, dass die Wärmeverträglichkeit von Tomatensamen durch Verringerung des Samenfeuchtegehaltes stufenlos verändert und damit an die Wärmeverträglichkeit von Pathogenen und Unkrautsamen angeglichen werden kann. Diese Anpassungsmöglichkeit wurde in Verbindung mit der Funktionsgleichung genutzt, um den Hygienisierungserfolg auf Basis von Temperaturdaten zu berechnen. Für den Zustand einer gleich hohen Wärmeverträglichkeit von konditionierten Tomatensamen und Pathogenen oder Unkrautsamen wurde der Begriff $SFG_{\text{äquivalent}}$ eingeführt. Der Zustand gleicher Wärmeverträglichkeit dient der Definition von Hygienisierungsanforderungen, die sich an der maximalen Wärmeverträglichkeit der wärmeverträglichsten Pathogene und Unkrautsamen zu orientieren hat, deren Abtötung durch Temperaturmessungen nachgewiesen werden soll. Zum Nachweis der Abtötung von besonders wärmeverträglichen Proben des Erregers *P. brassicae* wurde ein $SFG_{\text{äquivalent}/P.br.}$ von 12,4 % SFG berechnet.

Durch Anwendung der Hygienisierungsgleichungen konnten die Einflüsse der im Basis-, Kern- und Randbereich einer Kompostmiete gemessenen Temperaturen auf die Hygienisierung genau beschrieben werden. Das Ergebnis der Berechnung, dem ein $SFG_{\text{äquivalent}}$ von 7,08 % zugrunde gelegt worden ist, hat eine sichere Hygienisierung angezeigt. Dabei wurden mit dem verwendeten $SFG_{\text{äquivalent}}$ ein Maßstab an die Hygienisierung angelegt, mit dem die Abtötung von Pathogenen und Unkrautsamen nachgewiesen werden konnte, die bei einer Temperatur von 60 °C innerhalb von maximal sieben Tagen abgetötet werden.

Zur Definition von Hygienisierungsansprüchen sollten die Temperaturanforderungen an die Abtötung von Pathogenen und Unkrautsamen durch weitere Untersuchungen präzisiert werden. Hierzu können auch Temperatursteigerungsversuche verwendet werden, deren Methode im Rahmen dieser Arbeit entwickelt wurde, um den Untersuchungsaufwand für Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen zu verringern. Auf Grundlage der in der Literatur genannten Daten errechnet sich zum Nachweis der Abtötung besonders wärmeverträgli-

cher Pathogene eine Anwendungskonstante für die Hygienisierungsgleichung in Höhe von 7,0 bis 8,0 % SFG_{äquivalent}.

Aufgrund der einfachen Messmethodik und den inzwischen vorhandenen Möglichkeiten der drahtlosen Datenübertragung und schnellen Datenauswertung per EDV kann mit Hilfe des temperaturgestützten Prognosemodells eine chargengenaue Bewertung der Komposthygienisierung vorgenommen werden. Die online verfügbaren Informationen können nicht nur für die Kompostvermarktung genutzt werden. Auch eine auf Hygienisierung ausgerichtete Prozesssteuerung ist denkbar und könnte auf Basis der erforschten Grundlagen entwickelt werden. Im Vergleich zur derzeitigen Methode der direkten Prozessprüfung der BioAbfV, die nur zwei exemplarische Untersuchungsgänge je Rottesystem vorsieht, könnte durch das vorgeschlagene Bewertungssystem eine deutlich bessere Hygieneüberwachung vorgenommen werden, die wiederum zur Kompostvermarktung genutzt werden kann, da sie Anwendungssicherheit schafft.

Die Inaktivierung des Tabak-Mosaik-Virus (TMV) wurde einer besonderen Betrachtung unterzogen. Die Ergebnisse von Wärmeverträglichkeitsuntersuchungen haben gezeigt, dass die Ansprüche an die wärmebedingte Abtötung des TMV so hoch sind, dass sie bei der Bioabfallvergärung und bei vielen Rotteverfahren nicht erreicht werden können. Durch Rotteversuche konnte aber belegt werden, dass das TMV durch den aeroben mikrobiellen Einfluss des Rotteprozesses schon bei niedrigen Temperaturen stark inaktiviert wird. Bei Temperaturen zwischen 45 und 55 °C genügte eine Rottezeit von fünf Wochen, um den Grenzwert der BioAbfV sicher einzuhalten.

Die Ergebnisse eines Kompostierungsversuches mit geringer Temperatur (Eigenkompostierung) haben gezeigt, dass das TMV unter aeroben Bedingungen auch bei 25 bis 45 °C effektiv inaktiviert werden kann, so dass auch im Anschluss an den eigentlichen Behandlungsprozess (Rotte und Vergärung) eine weitere Inaktivierung des TMV im Kompostlager erwartet werden kann. Durch den aeroben mikrobiellen Einfluss könnte insbesondere bei Vergärungsanlagen während der aeroben Nachbehandlung der Gärrückstände in Kombination mit der Einhaltung von Karenzzeiten bis zur Kompostausbringung eine hinreichende TMV-Inaktivierung erreicht werden. Die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse sind durch weitere Untersuchungen zu bestätigen, um den Grad der Reproduzierbarkeit der in wenigen Versuchen gewonnenen Ergebnisse exakter zu bestimmen.

Aufgrund des guten Abbaus des TMV im Boden wurde vorgeschlagen, Komposte mit unsicherer TMV-Inaktivierung für eine beschränkte landwirtschaftliche Verwertung zuzulassen, bei der lediglich eine Applikation zu TMV-empfindlichen Kulturen ausgeschlossen wird.

Als weiteres Ergebnis der Untersuchungen mit dem TMV wurde festgestellt, dass sich die Empfindlichkeit der Nachweispflanzen als sehr variabel herausgestellt hat. Dies bedeutet für Hygieneuntersuchungen gemäß BioAbfV, dass hierdurch deutliche Über- und Unterbewertungen des Hygienisierungserfolges bedingt sein können. Die Fehlerquote des Nachweistestes kann durch die Anwendung der Halbblattmethode und die Berechnung der relativen Infektiösität von TMV-Proben deutlich verringert werden. Für die Anwendung der Halbblattmethode wurde vom bestehenden Grenzwert der BioAbfV ein äquivalenter Grenzwert für die Halbblattmethode abgeleitet, der bei einer maximalen Infektiösität von 3,4 % anzusiedeln ist.

9.2 Fazit der Untersuchungen

Da die Bewertung der Hygienisierung von Kompost durch die Auswertung von Temperaturdaten abgesichert erscheint und das derzeitige Bewertungssystem gleichzeitig mit Mängeln behaftet ist, die zu Fehleinschätzungen führen können, sollte die Methode zur Kontrolle der Hygienisierung von Komposten genutzt werden. Hierfür spricht auch der relativ geringe Aufwand, mit dem Temperaturdaten erfasst und ausgewertet werden können, wodurch eine chargengenaue Beurteilung der Hygienisierung einzelner Mieten möglich wird. Selbst eine Rottesteuerung in Hinblick auf das Erreichen von Hygienisierungszielen kann durch die Ausstattung von Kompostwerken mit einer entsprechenden Messtechnik (z. B. Funkthermometer) und einer Datenverarbeitungssoftware, die noch zu entwickeln wäre, erreicht werden.

Die Anforderungen, die an die wärmebedingte Hygienisierung zu stellen sind, können auf Basis von Untersuchungen, die von GLASSER (1953), NOBLE et al. (2004) und im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden, zunächst in einem Bereich festgelegt werden, der zur Abtötung von Tomatensamen mit einem SFG von 7,0 bis 8,0 % führt. Diese Temperaturansprüche liegen deutlich über denen, die zur Abtötung der derzeit verwendeten Indikatororganismen mit Ausnahme des TMV erforderlich sind. Zukünftig sollten die Ansprüche durch weitere Untersuchungen, in denen die Wärmeverträglichkeit von Pathogenen und Unkrautsamen unter suboptimalen Feuchtigkeitsverhältnissen für Kompostmieten (70 % TS-Gehalt) ermittelt wird, überprüft und ggf. angepasst werden.

Die Inaktivierung des TMV ist gesondert zu bewerten. Der Nachweis einer wärmebedingten Hygienisierung ist nur bei Rottesystemen möglich, bei denen eine hohe Mientemperatur über einen langen Rottezeitraum erreicht wird. Aufgrund der besonderen Schwäche des Virus gegenüber den aeroben mikrobiellen Abbauprozessen kann die Inaktivierung auf Basis von Ergebnissen, die im Rahmen dieser Arbeit gewonnen wurden, wahrscheinlich durch Rottezeiten von mehr als fünf Wochen erreicht werden. Zur Absicherung sind weitere Untersuchungen durchzuführen, die insbesondere auch die mikrobielle Inaktivierung des TMV unter thermophilen Bedingungen bewerten. Auch die Geschwindigkeit der TMV-Inaktivierung im Boden, die nach derzeitigem Erkenntnisstand weniger als ein Jahr beansprucht, sollte durch weitere Untersuchungen überprüft werden. Bei einer Bestätigung derart kurzer Inaktivierungszeiträume könnte eine anwendungsbeschränkte Kompostvermarktung für TMV-unempfindliche Kulturen für den Fall vorgeschlagen werden, dass die TMV-Inaktivierung während der Rotte nicht sicher nachgewiesen werden konnte.

10 Literaturverzeichnis

- ANONYM, 1979: Handbuch für die Keimlingsbeurteilung. Internationale Vereinigung für die Prüfung von Saatgut, Zürich
- ANONYM, 1996: Hygiene Baumusterprüfsystem für Kompostierungsanlagen – Kompost-Information 225. BUNDESGÜTEGEMEINSCHAFT KOMPOST e.V. (Hrsg.), Ö-NEL Druck, Köln
- ANONYM, 1998a: Verordnung über die Verwertung von Bioabfällen auf landwirtschaftlich, forstwirtschaftlich und gärtnerisch genutzten Böden (Bioabfallverordnung - Bio-AbfV). Bundesgesetzblatt Jahrgang 1998, Teil 1, Nr. 65
- ANONYM, 1998b: Methodenbuch zur Analyse von Kompost. BUNDESGÜTEGEMEINSCHAFT KOMPOST e.V. (Hrsg.), Verlag Abfall Now e.V., Stuttgart
- ANONYM, 1993: Internationale Vorschrift für die Prüfung von Saatgut. Seed Science and Technology 21, Ergänzungsband Vorschriften
- ANONYM, 2002: Verordnung (EG) Nr.1774/2002 des europäischen Parlaments und des Rates vom 3.Oktober 2002 mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften L 273, 1-95
- ANONYM, 2003: Hygiene Baumusterprüfsystem für Kompostierungsanlagen Kompostierungsanlagen Vergärungsanlagen – Kompost-Information 240. BUNDESGÜTEGEMEINSCHAFT KOMPOST e.V. (Hrsg.), ÖNEL Druck, Köln
- AIST, J.R., 1977: Plasmodiophora brassicae – The organism and life cycle – What we think we know, what we know, and what we need to find out. Proceedings of Woronin + 100 Conference, University of Wisconsin-Madison, 11-15
- BÄCHLE, E., 1992: Untersuchungen zum Einfluss der Kompostierung von Biomüll auf *Tobamovirus* und *Sclerotinia sclerotiorum*. Diplomarbeit, Institut für Phytomedizin, Universität Hohenheim
- BAKER, K.F., 1962: Principles of heat treatment of soil and planting material. Journal of the Australian Institute of Agricultural Science, 28, (2), 118-126
- BARTELS, W., 1955: Der gegenwärtige Stand der Forschung auf dem Gebiet der Inaktivierung pflanzenpathogener Viren, insbesondere des Tabakmosaikvirus. Phytopathologische Zeitschrift, 24, 117-178
- BARTELS, W., 1956: Untersuchungen über die Inaktivierung des Tabakmosaikvirus. Phytopathologische Zeitschrift, 25, 113-152
- BIDLINGMAIER, W., 1992: Das RAL-Gütezeichen für Kompost – die neue Richtlinie der Bundesgütegemeinschaft Kompost. In WIEMER, K und M. KERN: Gütesicherung und Vermarktung von Bioabfallkompost, Verlag M.I.C. Baeza-Verlag, Witzenhausen, 365-408
- BIGELOW, W.D., 1921: The logarithmic nature of thermal death time curves. Journal of In-

- fectious Diseases, 27, 528-536
- BÖHM, R., 2005: Europäische Anforderungen an die Überwachung von Hygieneparametern bei der biologischen Abfallbehandlung. In WIEMER, K und M. KERN: Bio- und Restabfallbehandlung IX, Verlag Witzenhausen Institut, Witzenhausen, 587-595
- BÖHM, R., H. BUCHENAUER, K.H. HELLWALD, A. KNIE, H. LORENZ und W. PHILIPP, 2000: Untersuchungen zur Seuchen- und Phytohygiene in Anaerobanlagen - Statusseminars des BWPLUS. Online-Dokument, Umweltinformationssystem des Landes Baden-Württemberg, XfaWeb-Fachsysteme, <http://www.xfaweb.baden-wuerttemberg.de>
- BÖHM, R. und W. PHILIPP, 2003: Gefährden neue Hygieneanforderungen die Bioabfallverwertung. In FRICKE, K., G. KOSAK, A. MEIER-PLOEGER, T. TURK, R. WALLMANN und H. VOGTMANN (Hrsg.): Die Zukunft der getrennten Bioabfallsammlung. Schriftenreihe des ANS, Heft 44, 319-331
- BOLLEN, G.J., 1985: Lethal temperatures of soil fungi. In Ecology and management of soilborne plant pathogens - Fourth international Congress of Plant Pathology. Parker C.A., A.D. Rovira, K.J. Moore, P.T. W. Wong, and J.F. Kollmorgen (Hrsg.), The American Phytopathological Society, St. Paul, 191-193.
- BOLLEN, G.J., 1993: Factors involved in inactivation of plant pathogens during composting of crop residues. In Hoitink H.A.J. und H.M. Keener (Hrsg.): Science and engineering of composting. Renaissance Publication, Worthington, Ohio, 301-319
- BOLLEN G.J. und D. VOLKER, 1996: Phytogenic aspects of composting. In DE BERTOLDI M., P. SEQUI, B. LEMMES und T. PAPI (Hrsg.): The Science of Composting. Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK, 233-246.
- BOLLEN, G.J., D. VOLKER und A.P. WINJEN, 1989: Inactivation of soil-borne plant pathogens during small scale composting of crop residues. Netherlands Journal of Plant Pathology, 95, 19-30
- BREITENFELDT, P., W. MARTENS, W. PHILLIPP und R. BÖHM, 1998: Human- und Veterinärhygiene der Bioabfallkompostierung (Teilbereich 1) „Substrathygienische Untersuchung“. In: Deutsche Bundesstiftung Umwelt (Hrsg.): Hygiene der Bioabfallkompostierung (Bd. 9), Zeller Verlag, Osnabrück, 62-89
- BRUNS, C., 1996: Suppressive Effekte von Komposten aus der getrennten Sammlung organischer Abfälle und von Rindermistkompost gegenüber bodenbürtigen Schaderregern – Wirkung und Einflussfaktoren der mikrobiellen Ökologie der Komposte. Dissertation, Fachgebiet Ökologischer Landbau, Universität Kassel, Pahl-Rugenstein Verlag, Bonn
- BRUNS, C. und R. GOTTSCHALL, 1988: Phytohygiene – Untersuchung zur Abtötung von Pflanzenkrankheitserregern bei der Kompostierung von Grünabfall mit hohem Holzanteil. Abschlussbericht einer Studie der Ingenieurgemeinschaft Witzenhausen im Auftrag der Stadt Göttingen (Stadtreinigungsamt)
- BRUNS, C., R. GOTTSCHALL, E. MARCHINISZYN, C. SCHÜLER, W. ZELLER, G. WOLF, und H. VOGTMANN, 1984: Phytohygiene der Kompostierung - Sachstand,

- Prüfmethoden, F- und E- Vorhaben. In BUNDESMINISTERIUM FÜR FORSCHUNG UND TECHNOLOGIE (Hrsg.): BMFT-Statusseminar - Neue Techniken der Kompostierung, Hamburg, 191 - 206,
- BRUNS, C., R. GOTTSCHALL, C. SCHÜLER, H. VOGTMANN, I. UNGER, G. WOLF und W. ZELLER, 1990: Untersuchungen zur Überlebensfähigkeit einiger phytopathologisch bedeutender Schaderreger in Kompostierungsanlagen bei unterschiedlichen Rottebedingungen. Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, 266, 24
- BRUNS, C., R. GOTTSCHALL, W. ZELLER, C. SCHÜLER und H. VOGTMANN, 1993: Survival Rates of plant pathogens during composting of biogenic wastes in commercial composting plants under different decomposition conditions. In PAOLETTI, M.G., W. FOISSNER und D. COLEMAN (Hrsg.): Soil Biota, Nutrient Cycling and Farming Systems. CRC Press, Boca Raton, Florida, 42-51
- BUCZACKI, S.T., 1983: Plasmodiophora – An inter-relationship between biological and practical problems. In BUCZACKI, S.T. (Hrsg.): Zoosporic plant pathogens. Academic Press, London, 161-195
- BUCZACKI, S.T., J.G. OCKENDON und J.G. WHITE, 1974: General studies. Report of the National Vegetable Research Station for 1974, Wellesbourne, 113. Zitiert in WALLENHAMMAR, A-C., 1996: Prevalence of Plasmodiophora brassicae in a spring oilseed rape growing area in central Sweden and factors influencing soil infestation levels. Plant Pathology, 45. 710-719
- BUCZACKI, S.T., H. TOCOPEUS, P. MATTUSCH, T.D. JOHNSTON, G.R. DIXON und L.A. HOBOLTH, 1975: Study of physiologic specialization in Plasmodiophora brassicae: proposals for rationalization through an international approach, Transactions of the British Mycological Society, 65, 295-303,
- BURGE, W.D., 1982: Monitoring pathogen destruction. Biocycle, 23, 48-50
- CHEO, P.C., 1980: Antiviral Factors in Soil. Soil Science Society of America journal, 44, 62-67
- CHRISTENSEN, K.K., E. KRON, und M. CARLSBÆK, 2001: Development of a Nordic system for evaluating the sanitary quality of compost. NORDIC COUNCIL OF MINISTERS (Hrsg.), Kopenhagen
- CHRISTENSEN, K.K., M. CARLSBÆK und E. KRON, 2002 Strategies for evaluating the sanitary quality of composting. Journal of Applied Microbiology, 92, 1143-1158.
- CHUNG, Y.R., H.A.J. HOITING und P.E. LIPPS, 1988: Interactions between organic-matter decomposition level and soilborne disease severity. Agricultural Ecosystems and Environment, 24, 183-193
- CHYTIL, K., 1986: Untersuchungen zur Verschleppung von Ackerunkräutern, insbesondere durch Müllkomposte und Klärschlämme. Veröffentlichungen der Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft, Heft 6 Gumpenstein, Wien

- COVENTRY, E., R. NOBLE, J. M. WHIPPS und A. MEAD, 2002: Control of *Allium* white rot (*Sclerotium cepivorum*) with composted onion waste. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 1037-1045
- CRUTE, I.R., A.R. GRAY, P. CRISP und S.T. BUCZACKI, 1980: Variation in *Plasmodiophora brassicae* and resistance to clubroot. disease in brassicas and allied crops – a critical review. *Plant Breeding Abstracts*, 50, (2), 91-104
- DICK, W.A. und E.L. McCOY, 1993. Enhancing soil fertility by addition of compost. In HOITINK, H. und H. KEENER (Hrsg.): *Science and Engineering of Composting*. Renaissance Publications, Worthington, Ohio, 622-644
- DIXON, G.R., 1980: Variation in *Plasmodiophora brassicae*. *Annals of Applied Biology*, 94, 278-134
- ELLIS, R.H., T. D. HONG und E. H. ROBERTS, 1988: A low-moisture-content-limit to logarithmic relations between seed moisture content and longevity. *Annals of Botany*, 61, 405-408
- ELLIS, R.H., T. D. HONG, und E. H. ROBERTS, 1989: A comparison of the low-moisture-content limit to the logarithmic relation between seed moisture and longevity in twelve species. *Annals of Botany*, 63, 601-611.
- ELLIS, R.H., T. D. HONG, E. H. ROBERTS und K.L. TAO, 1990: Low moisture content limits to relations between seed longevity and moisture. *Annals of Botany*, 65, 493-504
- ELLIS, R.H. und E.H. ROBERTS, 1980: The influence of temperature and moisture on seed viability period in barley (*Hordeum distichum* L.). *Annals of Botany*, 45, 31-37.
- ELLIS, R.H. und E.H. ROBERTS, 1980b: The influence of temperature and moisture on seed viability period in barley (*Hordeum distichum* L.). *Annals of Botany*, 45, 31-37
- ELLIS, R.H. und E.H. ROBERTS, 1981: The quantification of aging and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*, 9, 373-409
- ERKENBERG, A., 1985: Beeinflussung der Keimfähigkeit und Keimpotenz von Unkrautsamen durch die Kompostierung unter besonderer Berücksichtigung der Temperatur. Diplomarbeit, Institut für Bodenwissenschaften, Universität Göttingen
- FÄHLING, M., H. GRAF und J. SIEMENS, 2003: Pathotype Separation of *Plasmodiophora brassicae* by the Host Plant. *Journal of Phytopathology*, 151, 425-430.
- FRICKE, K., H. NIESSEN, H. VOGTMANN und H.O. HANGEN, 1991: Die Bioabfallsammlung und -kompostierung in der Bundesrepublik Deutschland - Situationsanalyse 1991. ARBEITSKREIS FÜR DIE NUTZBARMACHUNG VON SIEDLUNGSABFÄLLEN (Hrsg.), Heft 20
- FRY, P.R. und W.B. TYLOR, 1954: Analysis of virus local lesions experiments. *Annals of Applied Biology*, 41, 664-674
- GERLACH, W. und H. NIRENBERG, 1982: The Genus *Fusarium*, Pictorial Atlas. Mitteilun-

- gen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Heft 209, Berlin, 1-406
- GILBERT, J., 2002: Biological treatment of biodegradable waste - technical aspects. Workshop in Brussels on 8-10 April 2002, Download:
www.europa.eu.int/comm/environment/waste/eventspast/bio_programme.htm
- GLASSER, H., 1953: Die Beeinflussung von Unkrautsamen und Pflanzenkrankheitserregern durch die Pflanzenrotte. Dissertation, Institut für Pflanzenschutz, Universität Stuttgart-Hohenheim
- GOLUEKE, C.G., 1982: When is compost "safe"? - A review of criteria for assessing the destruction of pathogens in composting. *BioCycle*, 23, (2), 28-38
- GRABBE, K. 1996: Grundlagen der Bioprozessprüfung bei der Kompostierung biogener Reststoffe und ihre Relevanz zur Herstellung reproduzierbarer Kompostqualitäten. In WIEMER, K und M. KERN: Biologische Abfallbehandlung III, Verlag M.I.C. Baeza-Verlag, Witzenhausen, 173-214
- HAUG, R.T., 1993: The practical handbook of compost engineering. Luwis Publishers, Boca Raton, Florida
- HARTMANN, E., W.A. BISCHOFF und M. KAUPENJOHANN, 2004: Untersuchung von Klärschlamm auf ausgewählte Schadstoffe und ihr Verhalten bei der landwirtschaftlichen Klärschlammverwertung. Umweltbundesamt, TEXTE des Umweltbundesamtes, Nr. 20/2004
- HERRMANN, I., S. MEISSNERS, E. BÄCHLE, E. RUPP, G. MENKE und F. GROSSMANN, 1994: Impact of the rotting process of biodegradable material of household garbage on the survival of phytopathogenic organisms and of tomato seeds. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz - Journal of Plant Diseases and Protection*, 101, 48-65
- HOGG, D., J. BARTH, E. FAVOINO, M. CENTEMERO, V. CAIMI, F. AMLINGER, W. DEVLIEGHER, W. BRINTON und S. ANTLER , 2002: Comparison of compost standards within the EU, North America and Australasia. The Waste & Resources Action Programme, Oxon, UK. Online-Dokument, www.wrap.org.uk
- HOITINK, H., M. BOEHM und Y. HADAR, 1993: Mechanisms of suppression of soilborne plant pathogens in compost-amended substrates. In HOITINK, H. und H. KEENER (Hrsg.): *Science and Engineering of Composting*. Renaissance Publications, Worthington, Ohio, 601-621
- HOITINK, H.A.J. und A.F. SCHNITTHENNER, 1976: Survival of some pathogenes during composting of hardwood tree bark. *Phytopathology*, 66, 1369-1372
- HOITINK, H.A.J. und P.C. FAHY, 1986: Basis for the control of soilborne plant-pathogens with composts. *Annual Review of Phytopathology*, 24, 93-114
- HOLLIDAY, P., 1992: A dictionary of plant pathology. Cambridge University Press, Cambridge, 243
- HOLMES, F.O., 1929: Local lesions in tobacco mosaic. *Botanical Gazette*, 87, 39-55

- HORIUCHI, S. und M. HORI, 1980: A simple greenhouse technique for obtaining high levels of clubroot incidence. Bulletin of the Chugoku National Agricultural Experiment Station, Series E 17, 33-55
- HORIUCHI, S., M. HORI, S. TAKASHI und K. SHIMIZU, 1983: Factors responsible for the development of clubroot-suppressing effect in soil solarization. Bulletin of the Chugoku National Agricultural Experiment Station, 20, 25-48
- HUANG H.C., C. CHANG und G.C. KOZUB, 1984: Effect of temperature during sclerotial formation, sclerotial dryness, and relative humidity on myceliogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. Canadian Journal of Botany, 76, 494-499
- HURST, C.J., C.P. GERBA und I. CECH, 1980: Effects of Environmental Variables and Soil Characteristics on Virus Survival in Soil. Applied and Environmental Microbiology, 40, (6), 1067-1079
- IDELMANN, M., C. SCHÜLER, C. BRUNS, E. MARCINISZYN, R. GOTTSCHALL, W. WALDOW und G.A. WOLF, 1998: Phytohygiene der Bioabfallkompostierung. In DEUTSCHE BUNDESSTIFTUNG UMWELT (Hrsg.): Hygiene der Bioabfallkompostierung. Zeller Verlag, Osnabrück, 1-59
- JONES, D.R., D. S. INGRAM und G.R. DIXON, 1982: Factors affecting test for differential pathogenicity in populations of *Plasmodiophora brassicae*. Plant Pathology, 31, 229-238
- KEHRES, B., 1994: Bundesweiter Stand der Fremdüberwachung von Kompostanlagen durch die Bundesgütegemeinschaft Kompost e.V.. In WIEMER, K und M. KERN: Verwertung Biologischer Abfälle, M.I.C. Baeza-Verlag, Witzenhausen, 91-98
- KEHRES, B., 1999: Umsetzung der Bioabfallverordnung – BioAbfV – aus Sicht der Bundesgütegemeinschaft Kompost. In WIEMER, K und M. KERN: Bio- und Restabfallbehandlung III, M.I.C. Baeza-Verlag, Witzenhausen, 19-40
- KEHRES, B., 2005: Perspektiven der stofflichen Verwertung von Bioabfällen in Deutschland. In WIEMER, K und M. KERN: Bio- und Restabfallbehandlung IX, Verlag Witzenhausen Institut, Witzenhausen, 575-586
- KIRBY, R. und R. DAVIS, 1990: Survival of dehydrated cells of *Salmonella typhimurium* LT2 at high temperatures. Journal of Applied Bacteriology, 68, 241-246
- KLECZKOWSKI, A., 1968: Experimental design and statistical methods of assay. In K. MARAMOROSCH und H. KOPROWSKI (Hrsg.): Methods of Virology. Academic Press, New York, 616-730
- KNIE A., R. HAUMACHER, W. PHILIPP, W. MARTENS und R. BÖHM, 2001: Untersuchungen zur Seuchen- und Phytohygiene in Anaerobanlagen. Online-Dokument, Umweltinformationssystem des Landes Baden-Württemberg, XfaWeb-Fachsysteme, <http://www.xfaweb.baden-wuerttemberg.de>
- KNOLL, K.H., 1986: Bewertung der Kompostierung in hygienischer Hinsicht. In: KUMPF, W., MAAS, K., STRAUB, H. (Hrsg.): Müll und Abfallbeseitigung, Handbuch über

- die Sammlung, Beseitigung und Verwertung von Abfällen aus Haushaltungen, Gemeinden und Wirtschaft - Müll-Handbuch - , Kennzeichen 5075, 2, 1-12
- KNOLL, K.-H., D. STRAUCH, und H. HOLST, 1980: Standardisierung von Hygieneuntersuchungen für Kompostierungsverfahren. Forschungsbericht 79-10302403, Umweltforschungsplan des BMI, Abfallwirtschaft
- KROGMANN, U., 1994: Kompostierung – Grundlagen zur Einsammlung und Behandlung von Bioabfällen unterschiedlicher Zusammensetzung. Dissertation, Technische Universität Hamburg, Economica Verlag, Bonn
- KUGINUKI Y., H. YOSHIKAWA und M. HIRAI, 1999: Variation in Virulence of *Plasmodiophora brassicae* in Japan Tested with Clubroot-resistant Cultivars of Chinese Cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). European Journal of Plant Pathology, 105, 327-332
- LOPEZ-REAL, J. und M. FOSTER, 1985: Plant pathogen survival during composting of agricultural organic wastes. In GASSER, J.K.R. (Hrsg.): Composting of Agricultural Wastes. Elsevier Applied Science Publishers, London, 291-299
- LYON, P.F., T. BEFFA, J. LOTT FISCHER und M. ARAGNO, 2000: Xylanase activity and thermostratification during the thermogenic phase of industrial composting in aerated trenches. Waste Management Research, 18, 174-183
- MACFARLANE, I., 1955: Variation in *Plasmodiophora brassicae* cae Woron. Annals of Applied Biology, 39, 239-256
- MARCINISZYN, E. 1994: Phytohygiene in der Kompostierung – Nachweis und Tenazität von *Plasmodiophora brassicae*. Diplomarbeit am Fachbereich 11, Universität Kassel
- MARCINISZYN, E. und R. GOTTSCHALL, 1995: Phytohygienic aspects of biowaste composting. In: BIDLINGMAIER, W und R. STEGMANN (Hrsg.): Proceedings of the International Symposium "Biological waste management - a wasted chance?", Bochum, S. 45, 1-12
- MARCINISZYN, E. und R. GOTTSCHALL, 1998: Test bestanden – Phytohygienische Prozessprüfungen können zur Beurteilung der Hygieneleistung von Kompostierungsabläufen eingesetzt werden. Müllmagazin, 11 (3), 22-26
- MARTENS, J., 2004: Die indirekte Prozessprüfung als Nachweismethode der hygienischen Unbedenklichkeit von Bioabfallkomposten. Manuskripte zur Abfallwirtschaft (BIDLINGMAIER, W und M. KRANERT (Hrsg.), Band 7, Rombos-Verlag, Berlin
- MATTHEWS, R.E.F., 2002: Plant virology – 4. Auflage. Academic Press, San Diego,
- MATTUSCH, P., 1980: Problematik und Stand der Kohlherniebekämpfung. Rheinische Monatszeitschrift für Gemüse, Obst, Schnittblumen, 68 (3), 138-140
- MATTUSCH, P., T. BOTZ und W. HILGENBERG, 1988: Untersuchungen zur Kontamination von Rohtorfen und gärtnerischen Anzuchterden mit dem Erreger der Kohlhernie, *Plasmodiophora brassicae*. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Heft 240

- MENKE, G. und F. GROSSMANN, 1971: Einfluß der Schnellkompostierung von Müll auf Erreger der Pflanzenkrankheiten. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 78, 75-84
- NOBLE, R., P.W. JONES, E. COVENTRY, S.R. ROBERTS, M. MARTIN und C. ALABOU-VETTE, 2004: Investigation of the Effect of the Composting Process on Particular Plant, Animal and Human Pathogens known to be of Concern for High Quality End-Uses. The Waste & Resources Action Programme, Oxon, UK. Online-Dokument, www.wrap.org.uk
- NOBLE, R. und S.J. ROBERS, 2003: A review of the literature on eradication of plant pathogens and nematodes during composting. The Waste & Resources Action Programme, Oxon, UK. Online-Dokument, www.wrap.org.uk
- NOBLE, R. und S.J. ROBERS, 2004: Eradication of plant pathogens and nematodes during composting. Plant Pathology, 53, 548-568
- OESTERLE, B.U., G.U. ROHDE, und K.D. RUDAT, 1963: Die Kompostierung von Siedlungsabfällen unter besonderer Berücksichtigung hygienischer Gesichtspunkte. Städtehygiene, 14 (2), 26-30
- PHILIPP, W. und BÖHM, R., 1997: Hygieneanforderungen an Verfahren der Bioabfallvergärung. In WIEMER, K und M. KERN: Bio- und Restabfallbehandlung, M.I.C. Baeza-Verlag, Witzenhausen, 313-344
- POLETSCHNY, H., 1989: Anwendung von Komposten. In LUFA BONN und LWK RHEINLAND (Hrsg.): Kompost und Landwirtschaft. Rheinischer Landwirtschafts-Verlag, Bonn, 47-60
- POLLMANN, B., 1996: Tomatensamen als Testorganismen bei der Bioabfallkompostierung – Labor und Kompostierungsversuche. Dissertation, Fachgebiet Saatgutforschung, Universität Hohenheim, Shaker Verlag, Aachen
- PRATT, R.G., 1992: Sclerotinia. In: SINGLETON, L.L., J.D. MIHAIL, und C.M. RUSH (Hrsg.), Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. American Phytopathological Society Press, St. Paul, S.74-78
- PRECHT, H., J. CHRISTOPHERSON und H. HENSEL, 1955: Temperatur und Leben, Springer-Verlag, Berlin
- PRICE, W.C., 1933: The thermal death rate of Tobacco mosaic virus. Phytopathology, 23, 749-769
- PRIESTLEY, D.A., V.I. CULLINAN und J. WOLFE, 1985: Differences in seed longevity at the species level. Plant, Cell and Environment, 8, 557–562
- ROBERTS, S. J., K. PHELPS, J.D. TAYLOR und M.S. RIDOUT, 1993: Design and interpretation of seed health assays. In SHEPPARD, J.W. (Hrsg.): First International Seed Testing Association Plant Disease Committee Symposium on Seed Health Testing 9-12 August 1993. Agriculture Canada Central Seed Laboratory, Ottawa (Canada), 115-125

- ROOS, E.E. und D.A. DAVIDSON, 1992: Record longevities of vegetable seeds in storage. HortScience, 27, 393-396
- RYCKEBOER, J., S. COPS und J. COOSEMANS, 2002: The fate of plant pathogens and seeds during backyard composting of vegetable, fruit and garden wastes. In INSAM, H., N. RIDDECH und S. KLAMMER (Hrsg.): Microbiology of Composting. Springer-Verlag, Berlin, 527-537
- SAMUEL, G. und J.G. BALD, 1933: On the use of the primary lesions in quantitative work with two plant viruses. Annals of applied biology, 20, 70-99
- SCHLEGEL, H.G., 1992: Allgemeine Mikrobiologie. 7. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart
- SCHUCHARDT, F., 1990: Entwicklung eines neuartigen Mietenumsatzgerätes - Kompostmat 3.37. Institut für Technologie Entwicklung eines neuartigen Mietenumsatzgerätes - Kompostmat-3.37. Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, Institut für Technologie (Hrsg.), Braunschweig, Institutsbericht M 162
- SCHRADER, S., H. OECHSNER, C. PEKRUN und W. CLAUPEIN, 2003: Einfluss des Biogasprozesses auf die Keimfähigkeit von Samen. Landtechnik, 58 (2), 90-91
- SCHÜLER, C., M. IDELMANN, F. WALDOW und G.A. WOLF, 1996: Phytohygiene der Bioabfallkompostierung - Ergebnisse des DBU-Vorhabens (Projekt 01766). In STEGMANN, R. (Hrsg.): Neue Techniken der Kompostierung - Dokumentation des 2. BMBF-Statusseminares. Hamburger Berichte, 11, Economia Verlag, 201-219
- SHING, U.P., R.B. SINGH und S. GUPTA, 1985: Effect of temperature on sclerotial germination, growth and sclerotia formation in *Sclerotinia sclerotiorum*. Journal of Plant Diseases and Protection, 3, 281-287
- SOME, A., M.J. MANZANARES, F. LAURENS, F. BARON, G. THOMAS und F. ROUXEL, 1996: Variation in virulence on *Brassica napus* L. amongst *Plasmodiophora brassicae* collections from France and derived single-spore isolates. Plant Pathology, 45, 432-439
- SPIESS, H., 1999: Probleme bei der Erzeugung von Saatgut im ökologischen Landbau am Beispiel von Getreide. In BIOLOGISCHEN BUNDESANSTALT FÜR LAND UND FORSTWIRTSCHAFT (Hrsg.): Berichte aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft - Pflanzenschutz im ökologischen Landbau - Probleme und Lösungsansätze, Heft 50, 64-70
- STANIASZEK, M., J. ROBAK und W. MARCZEWSKI, 2001: Detection of *Plasmodiophora brassicae* Wor. by bioassay and nested PCR methods. Vegetable Crops Research Bulletin, Skierniewice (Polen), 54, 131-136
- STRASBURGER, E. (Begr.) (1998): Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. 34. Auflage, G. Fischer Verlag, Stuttgart
- STRAUCH, D. und G. MENKE, 1992: Die Relevanz der Hygienediskussion bei der Sammlung und Kompostierung von Bioabfällen. In WIEMER, K und M. KERN (Hrsg.):

- Gütesicherung und Vermarktung von Bioabfallkompost. M.I.C. Baeza-Verlag, Witzhausen, 259-286
- SUAREZ-ESTRELLA, F., M.C. VARGAS-GARCIA, M.A. ELORRIETA, M.J. LOPEZ und J. M.ORENO, 2003: Temperature effect on *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* survival during horticultural waste composting. *Journal of Applied Microbiology* 94, 475-82
- TURNER, J., D.A. STAFFORD, und D.E. HUGHES, 1983: The reduction of three plant pathogens (*Fusarium*, *Corynebacterium* and *Globodera*) in anaerobic digesters. *Agricultural Wastes*, 6, 1-11
- WALKEY, D.G.A., 1991: *Applies plant virology - Second edition*. Chapman and Hall, London, 1991
- VETTEN, H.J., 1977: Virushemmende Prinzipien in der Rebe (*Vitis Vinifera* L.) und Versuche zu deren Ausschaltung bei der mechanischen Übertragung von Rebenviren. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelm-Universität, Bonn
- VOGTMANN, H., G. QUANTE, G. PLAKOLM und B. HURNI, 1979: Die Reduktion der Keimfähigkeit von Unkrautsamen und Hygienisierungseffekte durch die Belüftung von Gülle. *Schweizerische landwirtschaftliche Monatshefte*, 28, 225-234
- VOGTMANN, H., K. FRICKE, B. KEHRES und T. TURK, 1989: Bioabfall-Kompostierung - Kompostierung biogener Abfallstoffe aus der getrennten Sammlung organischer Haushalts- und Gartenabfälle im Modell Witzhausen. HESSISCHES MINISTERIUM FÜR UMWELT UND REAKTORSICHERHEIT (Hrsg.), Eigenverlag
- WALLENHAMMAR, A.C., 1996: Prevalence of *Plasmodiophora brassicae* in a spring oil-seed rape growing area in central Sweden and factors influencing soil infestation levels. *Plant Pathology*, 45, 710-719
- WHITTAKER, R.H., 1969: New concepts of Kingdoms of Organisms. *Science*, 163, 150-160
- YLIMÄKI, P., A. TOIVIAINEN, H. KOLLIO und E. TIKANMÄKI, 1983: Survival of some plant pathogens during industrial scale composting of wastes from a food processing plant. *Annales Agriculturae Fenniae*, 22, 77-85
- YUEN, G.Y. und R.D. RAABE, 1984: Effects of small-scale aerobic composting on survival of some fungal plant pathogens. *Plant Disease*, 68, 134-136
- ZACHÄUS, D., 1995: Grundlagen der Kompostierung. In THOMÉ-KOZMIENSKY, K.J. (Hrsg.): *Biologische Abfallbehandlung*. EF-Verlag für Energie und Umwelt, Berlin, 215-230

In der Schriftenreihe des Fachgebietes Abfalltechnik sind bisher erschienen:

Thermische Abfallbehandlung

- Band 2 2. Fachtagung Thermische Abfallbehandlung
Entwicklung von Technik und Kosten in einer Kreislaufwirtschaft
Hrsg.: Prof.-Dr.-Ing. A. I. Urban, Prof. Dr.-Ing. B. Bilitewski,
Prof. Dr.-Ing. M. Faulstich
Kassel 1997, ISBN 3-88122-892-6
- Band 5 5. Fachtagung Thermische Abfallbehandlung
Zukunft in Deutschland und Europa
Hrsg.: Prof.-Dr.-Ing. A. I. Urban, Prof. Dr.-Ing. B. Bilitewski,
Prof. Dr.-Ing. M. Faulstich
Kassel 2000, ISBN 3-89792-003-6
- Band 8 8. Fachtagung Thermische Abfallbehandlung
Hrsg.: Prof.-Dr.-Ing. A. I. Urban, Prof. Dr.-Ing. B. Bilitewski,
Prof. Dr.-Ing. M. Faulstich
Berlin 2003, ISBN 3-937022-01-5,
- Band 9 9. Fachtagung Thermische Abfallbehandlung
Hrsg.: Prof.-Dr.-Ing. A. I. Urban, Prof. Dr.-Ing. B. Bilitewski,
Prof. Dr.-Ing. M. Faulstich
Berlin 2004, ISBN 3-937022-02-3
- Band 11 11. Fachtagung Thermische Abfallbehandlung
Hrsg.: Prof.-Dr.-Ing. A. I. Urban, Prof. Dr.-Ing. B. Bilitewski,
Prof. Dr.-Ing. M. Faulstich
Kassel 2006, ISBN 3-89958-198-9

Dissertationen

- Band 1 Konsequenzen für die thermische Restabfallbehandlung verursacht
durch die TASI und das KrW/AbfG
M. Friedel, Kassel 2001, ISBN 3-89792-057-3
- Band 2 Angepasste Abfallentsorgung für Schwellen- und Entwicklungsländer
A. Mohamad, Kassel 2002, ISBN 3-937022-00-7
- Band 5 Untersuchungen zur Bestimmung des Verbrennungsverhaltens von
festen Abfallstoffen
H. Seeger, Kassel 2005, ISBN 3-89958-144-X

UNIK-AT

- Band 3 Verwertung von Baustellenabfällen, Fachtagung
Hrsg.: Prof.-Dr.-Ing. A. I. Urban, Dipl.-Ing. I. Hetz-Yousseau
Kassel 2005, ISBN 3-937722-03-1
- Band 4 Optimierung der Abfall-Logistik, Kassler Abfall-Logistik-Tage
Hrsg.: Prof. Dr.-Ing. A. I. Urban, Dipl.-Ing. G. Halm, Dipl.-Ing. M. Weber
Kassel 2005, ISBN 3-89958-145-8