

**ARBEITSGEMEINSCHAFT FÜR LEBENSMITTEL-  
VETERINÄR- UND AGRARWESEN**



**„Vom Lebensmittel zum Genussmittel - was essen wir morgen?“**



**Tagungsbericht 2010**

# **BERICHT**

ALVA – Jahrestagung 2010

**„Vom Lebensmittel zum Genussmittel – was essen wir morgen?“**

31. Mai – 1. Juni 2010

Tagungsort:

Bildungshaus Schloss Puchberg

A- 4600 Wels, Puchberg 1

Tel: +43-(0)7242 47537

Fax: +43-(0) 7242 47537 - 55

<http://www.bildungshaus-puchberg.at>

# Untersuchungen zum phytosanitären Risiko von Reststoffen der anaeroben Vergärung pflanzlicher Substrate in Biogasanlagen

## *Investigation of the phytosanitary risk arising from pathogen contaminated plant issue after the anaerobic fermentation in biogas plants*

Jakob Müller\*, Stefan Müller, Tanja Scharnhorst, Martina Bandte,  
Monika Goßmann und Carmen Büttner

### **Einleitung**

In Deutschland werden derzeit etwa 4800 Biogasanlagen betrieben. Ihre Anzahl stieg in den letzten 10 Jahren um das Fünffache. In den sogenannten NaWaRo (Nachwachsende Rohstoffe)-Anlagen werden im Gegensatz zu den Bioabfall-Vergärungsanlagen in der Regel Monochargen wie beispielsweise Maissilage, Grassilage, Ganzpflanzensilage, Getreide und Getreidekorn definierter Herkunft eingesetzt. Für diese Kulturarten spezifische und widerstandsfähige Krankheiten und Schädlinge können möglicherweise über das Gärrestgut in den Boden gelangen und dann die Folgekulturen erneut infizieren. Besondere Bedeutung kommt diesem Aspekt zu da a) beim Anbau nachwachsender Rohstoffe der Einsatz chemischer Pflanzenschutzmittel niedriger ist und neben einem häufig niedrigeren Ertragsniveau in einer höheren Besiedlung mit Phytopathogenen resultiert und b) nur wenige Kulturpflanzenarten in einer NaWaRo-Biogasanlage eingesetzt werden, so dass sich ein hoher Infektionsdruck relativ schnell aufbauen könnte.

Im Rahmen eines Verbundvorhabens wird derzeit ein Screening zur Inaktivierbarkeit von ausgewählten Phytopathogenen vorgenommen, um das Verbreitungsrisiko dieser Erreger durch den vermehrten Einsatz von Nachwachsenden Rohstoffen und Gülle in Biogasanlagen mit nachfolgender Ausbringung der Gärreste auf landwirtschaftlich genutzte Flächen abschätzen zu können.

Für die quantitativ bedeutendsten Substrate für die NaWaRo-Biogasanlagen – Mais- Getreide, Rüben und Hirse - wurden substratspezifische Krankheitserreger ausgewählt, die nach einer unzureichenden Hygienisierung und Ausbringung von Gärresten auf Acker- und Weideflächen ihre Wirtspflanzen vom Boden aus wieder infizieren können. Dazu zählen die pilzlichen Erreger *Fusarium proliferatum*, *F. verticillioides*, *Alternaria alternata*, *Rhizoctonia solani* und *Sclerotinia sclerotiorum*. Darüber hinaus wurde die Kartoffel in die Untersuchungen einbezogen, da sie gegenüber einer Vielzahl von Schadorganismen anfällig ist. Dazu gehören mit dem Kartoffelkrebs (*Synchytrium endobioticum*) und der bakteriellen Ringfäule der Kartoffel (*Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*) zwei Quarantäneerreger, die sich bei der Kompostierung gemäß der BioAbfV als ausgesprochen widerstandsfähig erwiesen haben. Dieses vergleichsweise hohe Risikopotential rechtfertigt die Einbeziehung der Kartoffel in die Untersuchungen, wenngleich sie als NaWaRo keine wirtschaftliche Bedeutung hat.

Die vorgestellten Untersuchungen stellen am Beispiel von *Fusarium* spp. und *Rhizoctonia solani* deren Inaktivierung bei einer kontinuierlichen mesophilen Vergärung der pflanzlichen Substrate in Laborfermentern vor. Dabei wurde insbesondere der Einfluss des Ausgangssubstrates, unterschiedlicher Expositionszeiten und Dauer der Gärrestlagerung auf die Inaktivierung der Krankheitserreger geprüft.

### **Material und Methoden**

Hirsepflanzen Sorte „Super Sile“ wurden im Gewächshaus angezogen und 28 Tage vor der Einschleusung in den Fermentationsprozess mit 0,5 µl Konidienlösung/Pflanze ( $34 \times 10^6$  Sporen ml<sup>-1</sup> für *F. proliferatum* und  $1,8 \times 10^7$  Sporen ml<sup>-1</sup> für *F. verticillioides*) infiziert. Zur Herstellung von siliertem Material wurden die Pflanzen 14 Tage vor der Silierung mit 0,5 µl Konidienlösung/Pflanze ( $3,2 \times 10^7$  Sporen ml<sup>-1</sup> für *Fusarium proliferatum*-Suspension und  $2,4 \times 10^7$  Sporen ml<sup>-1</sup> für die *Fusarium verticillioides*) infiziert. Die Silierung erfolgte in Weckgläsern (Nutzinhalt 150 ml) 60 Tage vor der geplanten Verwendung. Dazu wurde das Pflanzenmaterial zerkleinert, in die Glasgefäße gestampft und ohne Zusatz von Silierhilfsstoffen möglichst luftdicht verschlossen und bei 20°C gelagert. Zur Kontamination der Kartoffeln mit *Rhizoctonia solani* wurden jeweils fünf pilzbewachsene Agrarstücke mit einem Durchmesser von 0,5 cm auf halbierte Kartoffeln aufgelegt und anschließend in einer Feuchten Kam-

mer 28 Tage bei 25°C inkubiert. Vor der Überführung von Aliquoten in die Probenträger wurden die Agarstücke entfernt.

Das infizierte Pflanzenmaterial wurde über Probenträger in den Prozess (mesophil, 37°C) eingebracht. Die zylindrischen Träger aus Polypropylen haben zwei Öffnungen, die mit einer PTFE-Membran (Porengröße 1 µm, Omnipore, Millipore, Schwalbach/Ts.) verschlossen werden. Entsprechend der Prozesssteuerung von 30 kg Trockenmasse (TM) x m<sup>-3</sup> und dem Trägervolumen wurden 0,477 g TM/Probenträger verwendet.

Die Inkubationszeit der Probenträger im Laborfermenter (10 l Nutzinhalt) betrug 6, 24 sowie 138 h. Als Lagerzeiten für die Gärreste wurden 0 d, 28 d und 6 Monate gewählt.

Der Nachweis der Pathogene wurde vor sowie nach der Einschleusung und ggf. Gärrestlagerung vorgenommen. Bei der Einbringung von Silage war der Pathogennachweis zudem vor und nach dem Silierprozess vorzunehmen. Der Nachweis erfolgte durch Auslegen von 15 Aliquoten des Pflanzenmaterials bzw. 25 Aliquoten des Gärrestes/Probenträger auf ein Nährmedium (Spezieller Nährstoffarmer Agar) und lichtmikroskopischer Auswertung nach einer Inkubationszeit von 14 Tagen. Die Bonitur und Identifizierung der Erreger erfolgte auf Grund morphologischer Charakteristika.

### Ergebnisse und Diskussion

Die anaerobe Vergärung des Pflanzenmaterials im Laborfermenter führte für die ausgewählten pilzlichen Pathogene (*Fusarium proliferatum*, *F. verticillioides* und *Rhizoctonia solani*) bei einer Inkubationszeit der Probenträger für 138 h zu deren vollständiger Inaktivierung.

Während *R. solani*, eingebracht über kontaminierte Kartoffelknollen, schon innerhalb der ersten sechs Stunden sicher inaktiviert werden kann, zeigten sich bei *Fusarium* spp., eingebracht über infizierte Hirse, Unterschiede in der zur Inaktivierung erforderlichen Inkubationszeit hinsichtlich der Erregerart, dem Prozessierungsgrad des Pflanzenmaterials sowie der Dauer der Gärrestlagerung. So weist *F. verticillioides* im Substrat Hirse nach 24 Stunden nur noch eine sehr geringe Vermehrungsfähigkeit mehr auf, während dieses bei *F. proliferatum* erst nach 138 Stunden zu beobachten ist (Abb. 1).

Die Gärrestlagerung führt zu einer weiteren Reduzierung der Vermehrungsfähigkeit. Ein direkter Vergleich der Proben ist möglich, da sie jeweils aus dem gleichen Fermentationsprozess stammen und zur selben Zeit entnommen wurden. So führt eine vierwöchige Gärrestlagerung unter Verwendung des Wirt-Pathogen Systems Hirse-*F. verticillioides* ebenso wie bei Hirse-*F. proliferatum* zu einer vollständigen Inaktivierung des jeweiligen Erregers bei nur 6-stündiger Inkubationszeit im Prozess (Abb. 1).

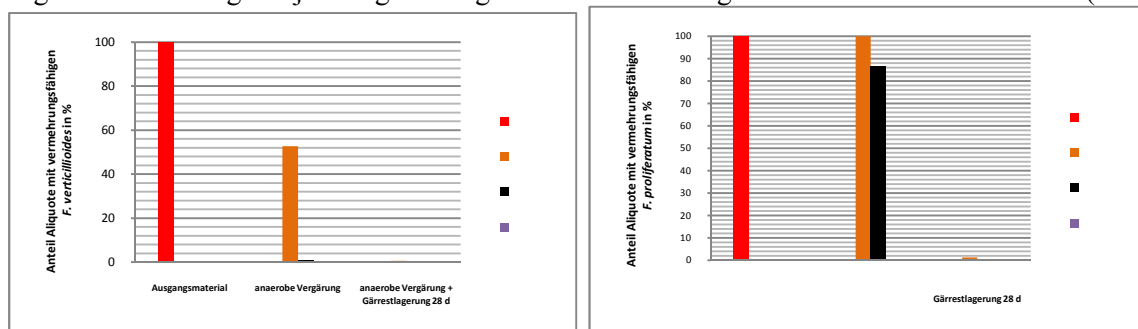


Abbildung. 1: Anteil Aliquote mit vermehrungsfähigen *F. verticillioides* (links) und *F. proliferatum* (rechts) nach einer Inkubation von 6, 24 bzw. 138 Stunden in Laborfermentern bei anaerober Vergärung bei 37°C und einer Raumbelastung von 30 kg TM Hirse/m<sup>3</sup> in Abhängigkeit von einer vierwöchigen Gärrestlagerung. Es wurden jeweils 25 Aliquote aus den sechs Probenträgern/Inkubationszeit und Lagerzeit (0 bzw. 28 d) entnommen (d.h. 150 Aliquote/Inkubationszeit/Lagerzeit).

Bei Verwendung von infiziertem siliertem Pflanzenmaterial werden wie am Beispiel Hirse-*F. proliferatum* deutlich zu erkennen (Abb. 2) wesentlich geringere Inkubationszeiten zur vollständigen Inaktivierung des mykotoxinbildenden pilzlichen Krankheitserregers benötigt. Vermutlich werden während des Silierprozesses pflanzliche Zellstrukturen abgebaut, so dass der Krankheitserreger während der Vergärung im Vergleich zu frischem Pflanzenmaterial wesentlich schneller inaktiviert werden kann.

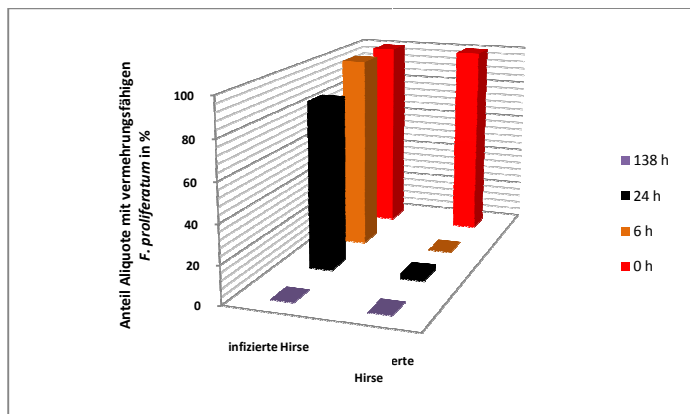


Abbildung 2:

**Anteil Aliquote mit vermehrungsfähigen *F. proliferatum* nach einer Inkubation von 6, 24 bzw. 138 Stunden in Laborfermentern bei anaerober Vergärung bei 37°C und einer Raumbelastung von 30 kg TM Hirse/m<sup>3</sup> in Abhängigkeit von einer vierwöchigen Gärrestlagerung. Es wurden jeweils 25 Aliquote aus den sechs Probenrägern/Inkubationszeit und Lagerzeit (0 bzw. 28 d) entnommen (d.h. 150 Aliquote/Inkubationszeit/Lagerzeit).**

## Zusammenfassung

Im Rahmen eines Screenings zur Inaktivierbarkeit von ausgewählten Phytopathogenen wurden Probenräger mit infiziertem Pflanzenmaterial in Laborfermenter (10 l Gärraum, mesophile Prozessführung) eingebracht. Die hier vorgestellten Ergebnisse beziehen sich dabei auf *Fusarium* spp. infizierte Hirse und *Rhizoctonia solani* infizierte Kartoffelknollen.

Die anaerobe Vergärung des Pflanzenmaterials im Laborfermenter führte bei einer Inkubationszeit der Probenräger für längstens 138 h zu einer vollständigen Inaktivierung der in den Prozess eingebrachten Phytopathogene. Für *R. solani* ist die phytohygienische Unbedenklichkeit der Gärrückstände schon nach einer Inkubationszeit von 6 Stunden gewährleistet. Für *Fusarium* spp. infizierte Hirse ist die benötigte Inkubationszeit abhängig von der Erregerart, dem Prozessierungsgrad des Ausgangsmaterials (frisch, siliert) sowie der Dauer der geplanten Gärrestlagerung.

Die bisher erzielten Ergebnisse müssen in Praxisbiogasanlagen validiert werden bevor Mindestanforderungen an Technik und Betrieb von Biogasanlagen, welche für die eingesetzten Substrate und deren spezifische Schadorganismen die phytohygienische Unbedenklichkeit der Gärrückstände gewährleisten, formuliert werden können.

## Abstract

In the context of a screening on the inactivation of selected plant pathogens sample carriers with infected plant material were processed in biogas fermenters (10 l capacity, mesophilic processing). The results presented apply on *Fusarium* spp. infected sorghum and *Rhizoctonia solani* infected potato tubers.

The anaerobic fermentation of the infected plant material in laboratory biogas facilities lead to a definite inactivation of the introduced pathogens after an incubation time of 138 h at the latest. In regard to *R. solani* the phytohygienic unsuspectiousness will be warranted after an incubation time of only 6 hours. The required time for *Fusarium* spp. infected sorghum varies dependant on pathogen species, processing of plant substrat (fresh, ensile) and the intended storage of the digestate.

The results gained so far have to be validated in practical operating biogas plants prior minimum standards on the technique and operation of biogas plants can be phrased to ensure substrate and pathogen specific phytohygienic unsuspectiousness for digestates.

## Adressen der Autoren

Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Department für Nutzpflanzen- und Tierwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, c/o Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Königin-Luise-Straße 19, D-14195 Berlin

\* Ansprechpartner: Jakob Müller, jakob.mueller@agrar.hu-berlin.de