NIBIO
NORSK INSTITUTT FOR BIOØKONOMI

Validering på overlevelse av gul potetcyste nematode PCN under kompostering av potetavfall hos Maarud i laboratorieskala og storskala ranker 2021 Delrapport 3

NIBIO RAPPORT |VOL 8|NR 78 | 2022

Ove Bergersen, Marit Skuterud Vennatrø og Elling Ødegaard
Divisjon for miljø og naturressurser og plantehelse, NIBIO

TITTEL/TITLE

Validering på overlevelse av gul potetcyste nematode PCN under kompostering av slam og potetavfall hos Maarud i laboratorieskala og storskala ranker 2021. Delrapport 3

FORFATTER(E)/AUTHOR(S)

Ove Bergersen, Marit Skuterud Vennatrø & Elling Ødegaard

DATO/DATE:	RAPPORT NR	TILGJENGELIGHET/AVAILABILITY:	PROSJEKTNR./PROJECT NO.:	SAKSNR./ARCHIVE NO.:
30.05.2022	8/78/2022	Åpen	52114	20/01251

ISBN:	ISSN:	ANTALL SIDER	ANTALL VEDLEGG
978-82-17-03088-1	2464-1162	25	

OPPDRAGSGIVER/EMPLOYER:	KONTAKTPERSON/CONTACT PERSON:
Maarud Disenå	Elling Ødegaard

STIKKORD/KEYWORDS:	FAGOMRÅDE/FIELD OF WORK:
Kompostering, rankekompostering Overlevelse av gul PCN *Globodera rostochiensis*	Kompostering Nematoder

SUMMARY:

Various composting experiments with sludge starch and potato waste from Maarud have been conducted to look at the survival of yellow potato cyst nematode (PCN) *Globodera rostochiensis* during composting. The experiments have been conducted both on a laboratory scale and in larger piles outdoors

Experiment 1: The results showed that yellow PCN cysts composted in thermos along with sludge and potato waste loses the ability to infect almond potato plants if they are exposed above 50°C for 3-5 days.

Experiment 2: No living larvae and eggs from the cysts were found in the material by microscope analysis after composting in a large pile for 26 days. Temperatures were measured from 60 - 69°C at 0.5 m, 1.0 m, and 1.5 m depth in the pile.

Experiment 3: No living fertile larvae were found in the material composted with temperatures above 27 days >55°C, >60 °C (21 days) and 65°C (10 days). The cysts became exposure to root extract from the potato to start hatching. Control cysts showed a different number of scratched larvae.

All analyses based on different mix samples from 16 compost batches produced between 2020 and 2021 have been analysed for PCN cysts and showed negative responses. This ensures that the compost is safe for further use.

SUMMARY

Ulike komposterings forsøk med slam stivelse og potetavfall fra Maarud er gjennomført for å se på overlevelse av gul potetcystenematode (PCN) *Globodera rostochiensis under* kompostering. Forsøkene er utført både i laboratorieskala og i større ranker utendørs.

NIBIO
NORSK INSTITUTT FOR BIOØKONOMI

Forsøk 1: Resultatene viste at gul PCN cyster kompostert i termos sammen med slam og potet avfall mister evnen til å infisere mandel potetplanter hvis de eksponeres over 50 °C i 3-5 døgn.

Forsøk 2: Det ble ikke funnet levende larver og egg fra cyster i materialet ved mikroskopanalyse etter kompostering i stor ranke i 26 dager. Temperaturer ble målt fra 60 - 69°C ved 0.5 m, 1.0 m og 1.5 m dybde i ranken.

Forsøk 3: Det ble ikke funnet levende fertile larver i materialet kompostert med temperaturer over 27 døgn >55°C, >60 °C (21 døgn) og 65°C (10 døgn). Cystene ble eksponering for rot ekstrakt fra potet for å starte klekking. Kontrollcystene viste ulikt antall klekte larver etter 6 uker.

Alle analyser basert på ulike bland prøver fra 16 kompostbatcher produsert mellom 2020 og 2021 er analysert for PCN cyster og viste negative svar. Dette sikrer at komposten er trygg for videre bruk.

LAND/COUNTRY:	Norway
FYLKE/COUNTY:	Innlandet
KOMMUNE/MUNICIPALITY:	
STED/LOKALITET:	Disenå

GODKJENT /APPROVED	**PROSJEKTLEDER /PROJECT LEADER**
Trond Muehlum	Ole Bergersen
NAVN/NAME	**NAVN/NAME**

Innhold

1 Introduksjon 6
1.1 Bakgrunn 6
2 Materiale og metoder 8
2.1 Forsøk 1 Småskala i laboratoriet 8
2.2 Forsøk 2 i storskala i forsøksranke hos Maarud 11
2.3 Forsøk 3 Simulering av temperaturer fra storrankeforsøk i varmeskap for å destruere gul PCN 13
3 Resultater og diskusjon 14
3.1 Resultater fra forsøk 1, småskala i laboratoriet 14
3.2 Resultater fra forsøk 2 i kompostranke hos Maarud 17
3.3 Resultater fra forsøk 3, simulering av temperaturer fra storranke forsøk i varmeskap for å destruere gul PCN. 19
3.4 Analyser av PCN cyster i siktet kompost produsert i 2020 og 2021 22
4 Konklusjoner 24
Litteraturreferanser 25

Forord

Prosjektet har hatt et meget godt samarbeide mellom fabrikksjef Elling Ødegaard, ansvarlig sjef for renseanlegget Arild Hansen og de ansatte Mats S. Mastad og Tony M. Krosli som har utført alt praktisk arbeid fra start til slutt. NIBIO ønsker rette en stor takk for et godt samarbeid i prosjektperioden. Prosjektet har også hatt nyttig og viktig samarbeide med NIBIO divisjon plantehelse ved forskerne Marit Skuterud Vennatrø og Solveig Haukeland som har utført alt arbeide med PCN

Rapporten er kvalitetssikret av seniorforsker Trond Mæhlum.

Ove Bergersen

Ås, 27 mai 2022

1 Introduksjon

1.1 Bakgrunn

Potetcystenematoder (PCN) *Globodera rostochiensis* (gul PCN) og *Globodera pallida* (hvit PCN) forårsaker betydelig skade i dyrking av poteter. Begge artene er anerkjent som karakter organismer av flere regionale plantevernorganisasjoner, inkludert European Plant Protection. Organization (EPPO), og er utsatt for fytosanitære tiltak for å forhindre introduksjon og spredning (Anon. 1992). Avfallsbehandling fra potetindustrien kan gi en viss risiko for at PCN går inn i behandlingsanlegg for slam og organisk husholdningsavfall. Behandlings metoder for avfall som for eksempel komposteringsprosessen bør derfor sikre at sluttproduktet ikke er en bærer av smittende PCN. PCN lever og reproduserer i planter av familien *Solanaeace*. Ved midtsommer er nematodehunnene synlige som hvite, krem eller gule kuleformede kropper (0,5 mm i diameter) som stikker ut fra røttene. Med tiden dør hunnene og forvandles til brune cyster som inneholder opptil 500 egg. Eggene i cysten kan overleve i jord i opptil 30 år (Turner, 1996) og de klekkes når de stimuleres av klekkefaktorer som er til stede i roteksudatene fra vertsplanter.

Det er motstridende rapporter om dødelig temperatur for PCN-inaktivering. *Heterodera rostochiensis* (syn. *Globodera rostochiensis*) overlever mindre enn en time når den er nedsenket i vannbad varmere enn 47 °C (Wallace, 1963) eller mindre enn 3 minutter i 60°C ved damp (Van Loenen et al., 2003). Egg og nyklekte larver i fuktede cyster rapporteres å bli drept ved temperaturer på 58-59 °C i 30 minutter (Evans, 1991). For å drepe egg og nyklekte larver i tørre cyster, er det nødvendig med temperaturer på 90 °C i mer enn 30 minutter eller 65-70 ° C i opptil 24 timer (Lindhardt, 1959; Stone og Webley, 1975). Rapporter om effekten av komposteringsprosessen på PCN er få og noen resultater er inkonsekvente. Jensen (1992) fant ingen overlevelse av PCN etter en uke kompostering av organisk husholdningsavfall. Alle komposteringssoner hadde da vært utsatt for temperaturer på minst 50 °C.

Goeffeng et al. (1978) studerte reproduksjonssuksessen til PCN plassert i kompostranker under norske vinterforhold. Tilfeller av reproduksjon ble observert etter eksponering for 8 ukers kompostering med temperaturer over 50 °C i 8 uker. Usikkerheten er hvor god temperaturen er i slike ranker over tid. Det er behov for mer informasjon om sikre komposteringsrutiner for skadeliggjøring av PCN. Svært få studier har blitt gjort på effekten av ulike komposteringsforhold på overlevelse og reproduktiv kondisjon av PCN.

For å øke kunnskapen på dette området satte Landbrukstilsynet i gang en gransking om reaktor kompostering av matavfall kunne drepe levende (*Globodera rostochiensis)* lagt inn i nylonposer på klekking og reproduksjon av. Bøen et al. (2006) fant at overlevelse av egg og cyster, målt ved klekking ble redusert med 99,9% allerede etter 8 dagers kompostering. Etter 29 dager ble ingen klekking av cyster ble påvist. Forsøket viste imidlertid at noen få egg som ble eksponert for temperaturer over 60°C klekket etter 15 dager i rot ekstrakt. Maksimal temperatur og termofil eksponering kan ikke forklare klekkingen av PCN alene, slik at andre faktorer er mulig involvert og forårsaker klekking av egg. Resultatene viste at PCN ikke klarte å reprodusere etter 8 dagers kompostering med temperaturer som nådde 50° C (Bøen et al. 2006). Følger av dette, 8 dagers kompostering hvor PCN materialet var eksponert for minimum 50°C over en periode kan foreslåes å ha tilfredsstillende metode i å sanere PCN (Bøen et al. 2006).

Undersøke om gul PCN (*Globodera rostochiensis*) overlever komposeringsprosessen hos Maarud, samt fastslå infeksjonspotensialet til larver som eventuelt overlever varmebehandling under kompostering.

Aktiviteter i prosjektet:

1. Småskala laboratorieforsøk (termos) for å undersøke overlevelse til PCN under kontrollerte temperaturforhold, med påfølgende potteforsøk for å finne infeksjonspotensialet til larver som overlevde temperatureksponeringen.
2. Storskala rankekompostering for å undersøke overlevelse til PCN i driftssystemet til Maarud. Fulgt opp med temperatur forsøk i kompost mix som simulerer temperaturene fra storranke. Cystene ble eksponert i rot ekstrakt fra potet i 6 uker for å se evt. klekking av fertile larver og som overlevde temperatureksponeringen.
3. Potetavfall, lagunestivelse og slam fra Maaruds renseanlegg er analysert for PCN cyster etter endt kompostering og sikting

2 Materiale og metoder

Forsøk 1 ble utført i laboratorium Dewar termoser (Vasskog et al. 2009), mens forsøk 2 ble utført ved rankekompostering hos Maarud. I begge forsøkene ble det brukt cyster med gul PCN fra populasjoner som er oppformert hos NIBIO. Ved sistnevnte forsøk ble høyere og lengre temperaturer oppnådd.

Egne separate PCN analyser av ferdig kompost er utført på flere kompostprøver gjennom hele prosjektet.

Ekstraksjon av PCN cyster fra kompost:

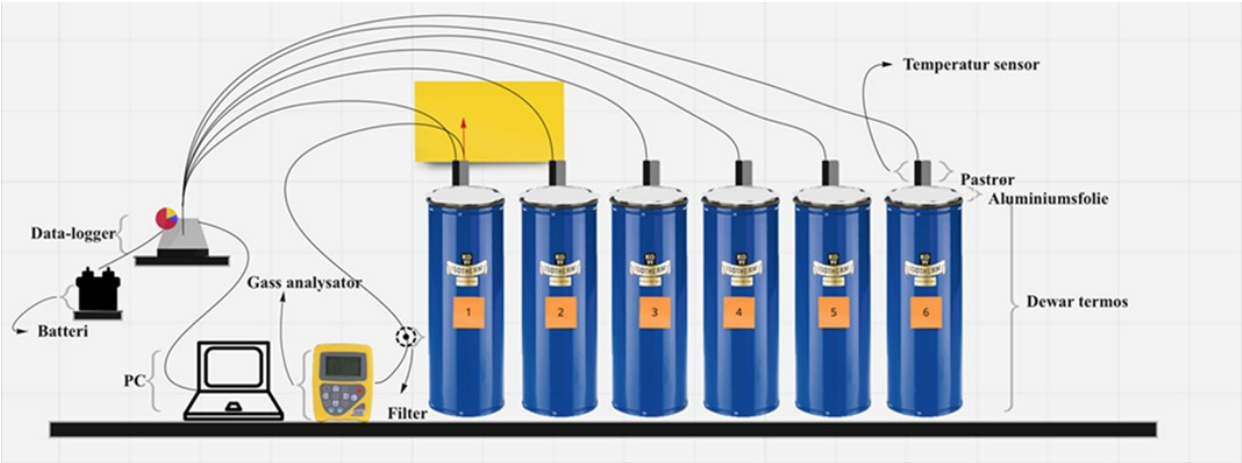
- Komposten ble ekstrahert iht. til EPPO protokollen PM 7/119. Utstyret ble vasket grundig mellom hver prøve.

2.1 Forsøk 1 Småskala i laboratoriet

Termosforsøket

Kompostering ble utført i 2 liters Dewar termoser. Ferdigblandet varm kompost (slam og potetavfall) ble hentet fra ranke på Maarud, og innblandet ferskt slam og lagunestivelse for å oppnå temperaturer over 60°C inne i termosene. Smitteenheter 6 stk med gul PCN ble klargjort hos NIBIO. Populasjonen som ble valgt ut til forsøket ble på forhånd kontrollert for levedyktighet (Figur 2). Hver smitteenhet bestod av en nylonpose med 20 cyster (Figur 2). I hver termos ble det lagt inn 2 smitteenheter med gul PCN (*Globodera rostochiensis*), en enhet for undersøkelse av overlevelse og en enhet for undersøkelse av infeksjonspotensialet. I termosene ble både gjennomsnitts- og maksimal temperatur loggført slik at man til enhver tid kunne følge temperaturen smitteenhetene ble eksponert for.

Prosessen i termosene ble stoppet etter ulike temperaturforløp (°C/tid). Etter endt forsøk ble alle smitteenhetene, og deler av kompostmaterialet fra termosene, levert til nematodelaboratoriet hos NIBIO.



Figur 1 Temperatur utvikling og utvikling av respirasjon ble utført i Dewar termoser (Vasskog et al.2009) hvor avfall blandet med kompost mix ble tilsatt PCN i lukkede nylonposer. Ulike termoser ble stoppet underveis slik at ulike temperaturperioder kunne gi oss svar på overlevelse av PCN.

Figur 2 **Potetcystenematode juvenil (larve) topp, gule kuleformede cyster (hunner) på potens rotsystem midten. Foto: Erling Fløistad, NIBIO. Cystene ble undersøkt for viabilitet før forsøket (venstre nede). Bildet nede til høyre viser poser med PCN før kompostering i termosforsøk Foto: Marit Skuterud Vennatrø, NIBIO**

Analyser for å undersøke overlevelse av gul PCN

Forsøk 1:

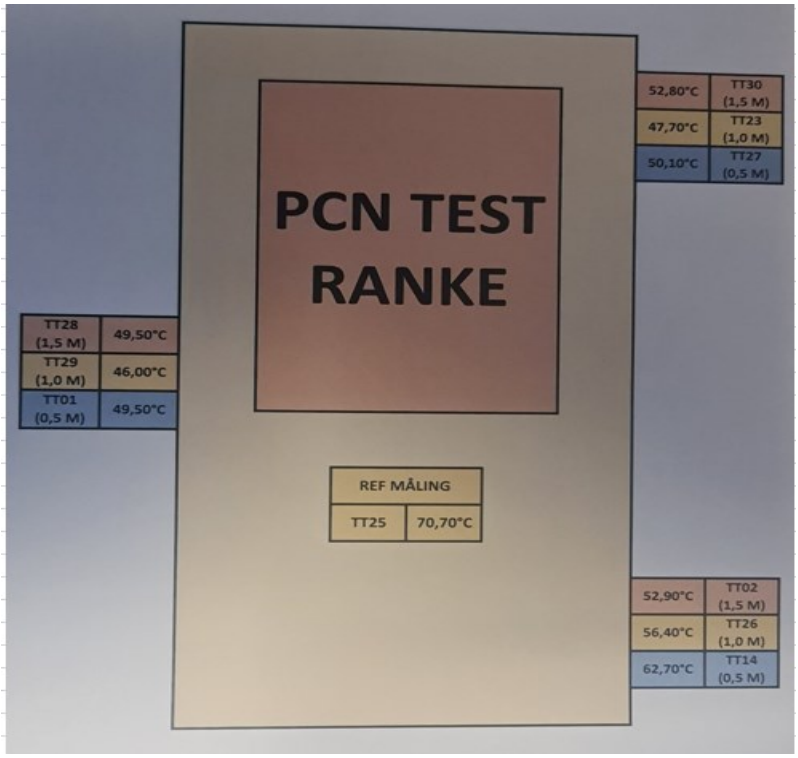
2 smitte-enheter per termos (20 cyster) (1 gjentak/termos per temperatur).

- 1 smitteenhet fra hver termos ble undersøkt for overlevelse. Alle de 20 cystene er undersøkt. Det ble det funnet levende larver i termos 3, 4 og 5. Disse ble vurdert til å være påvirket av temperatur, og var deformerte. Vi kan ikke si noe om infeksjonspotensialet bare ved å se på larvene i lupe, derfor ønsket vi å teste infeksjonspotensialet ved å sette poteter sammen med cyster.
- Derfor ble 1 smitteenhet fra hver termos lagt i potte, i sandjord, sammen med mottakelig settepotet (mandel). Etter 3 mnd ble det ikke funnet cyster i noen av pottene.
- I tillegg ble deler av innholdet i termosene også undersøkt for larver. Dette ble gjort på samme måte som infeksjonsforsøket. Det ble ikke funnet cyster i disse pottene.
- Cystene i smitteenhetene fra pottene ble ikke undersøkes for innhold etter infeksjonsforsøket, årsaken til det er at det er dannelse av nye cyster som er interessant.

2.2 Forsøk 2 i storskala i forsøksranke hos Maarud

Forsøk (2) ble utført på storanke hos Maarud for å undersøke overlevelse av cyster av gul PCN med levende egg/larver. God resept hvor struktur, slam lagunestivelse og potetavfall er forvarmet til 40 °C ble blandet med varm kompost fra aktive ranker. Ranken var ca. 80m^3, 10 m lang og ca. 2,5 m høy. Poser med PCN cyster ble lagt sammen med temperatur sensorer ved tre områder på ranken illustrert under.

Innhold	**Ant. Skuffer**				
	Resept fra Ranke 24	**m3**			
Høggeflis	**9**	**22,5**	**27,3**	**Struktur %:**	**30,3**
Bark (Gran 50%/ Furu 50%)	**1**	**2,5**	**3,0**		
Slam (nytt 55%/ gammelt 45%)	**6**	**15**	**18,2**	**Råstoff %:**	**33,3**
Potetmix	**2,5**	**6,25**	**7,6**		
Chips avfall		**0**	**0,0**		
Stivelse	**2,5**	**6,25**	**7,6**		
Varm Kompost fra R31	**6**	**15**	**18,2**	**Tidl. R. %:**	**36,4**
Fra	**6**	**15**	**18,18**		
Total	**33**	**82,5**			



Etter hvert som ranken ble bygget opp ble smitteenheter (med 20 cyster) beskyttet i nettingposer plassert i 3 ulike dybder ved ca. 1 m i høyde inne i ranken tre ulike steder/gjentak, totalt 9 x 2 smitteenheter se (Figur 3). I dette tilfelle ble avfallet kompostert på over 60 - 70°C og med betydelig lengre eksponeringstid i 26 dager. Dette ble utført under kontrollerte forhold i egen avgrenset isolert ranke som ble destruert ved brenning etterpå.

Figur 3 **Illustrasjon og info på testranke hos Maarud hvor cyster av levende PCN ble plassert på tre ulike steder ca. 1m i høyde sammen med tre temperaturfølere i tre ulike dybder fra ytterside til innside av ranken (0,5m 1,0m og 1,5m). Oppstart temperatur vist er målt etter 1 time (Foto Elling Ødegaard, Maarud)**

Forsøk 2:

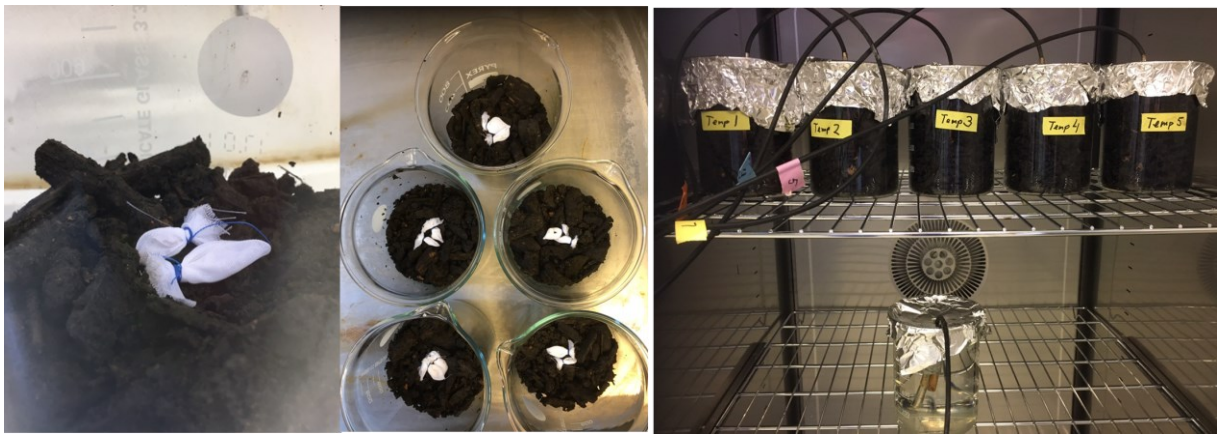
Etter kompostering ble alle 9 smitteenhetene undersøkt for overlevelse:

2 smitteenheter per nettingpose (tot. 9 pose gir 3 gjentak per dybde i ranker).

- 1 smitteenhet fra hver nettingpose ble undersøkt for overlevelse. Alle 20 cyster er undersøkt. Det ble ikke funnet levende innhold i noen av smitteenhetene.

2.3 Forsøk 3 Simulering av temperaturer fra storrankeforsøk i varmeskap for å destruere gul PCN

Avfall miks fra Maarud ble blandet godt tilsatt ekstra struktur fylt i 5 begerglass à 1 L. 2 parallelle nylonposer med 2 smitteenheter (20 cyster i hver) som var fuktet, ble lagt ved 0,5 L og deretter pakket inn med kompost over. Begerglassene ble forseglet med sølvpapir og temperatursensorer ble plassert i nærheten av PCN-posene og satt i varmeskap ved ulike temperaturer; 37°C 1 døgn, 40°C 1 døgn 50°C 1 døgn, 55°C 2 døgn, 60°C 3 døgn, 65°C 10 døgn, 60°C 5 døgn og 55°C 5 døgn. PCN-cystene hadde en varmebehandling i 20-22 døgn >60°C og 10 døgn >65 °C og ble fuktet jevnlig (se illustrasjon under).



Forsøk 3

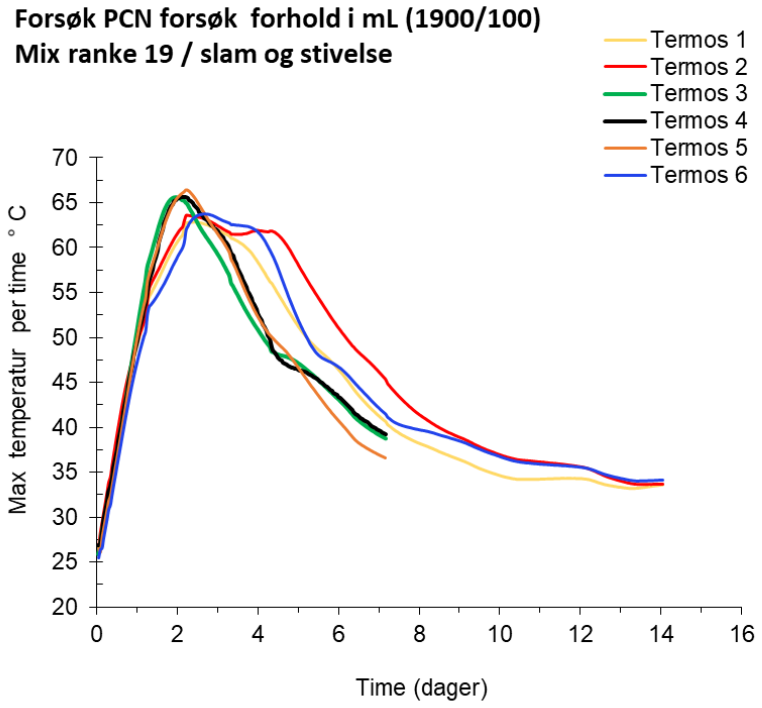
Etter varmebehandling ble begerglassene levert NIBIO Plantehelse for analyse på overlevelse og klekking av fertile larver. Metode etter EPPO protokollen PM 7/119.

- Nylonposer med 10 cyster i 5 ulike gjentak ble eksponert i ferskt rot ekstrakt fra spirende potet ukentlig i 6 uker, for å initiere klekking av mulig overlevende larver.
- Både 5 enheter komposterte cyster og 5 enheter kontroll cyster ble mikroskopert hver uke.
- Antall klekte fertile larver ble talt opp, se beskrivelse i mer detalj (Vennatrø, et al. NIBIO rapport 8, 88 2022).

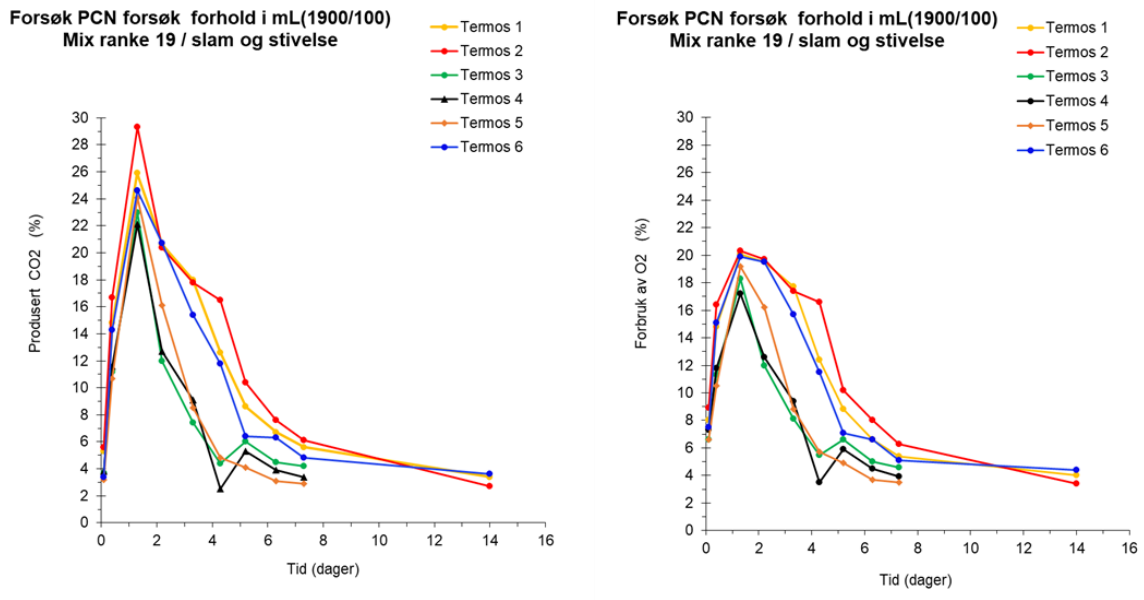
3 Resultater og diskusjon

3.1 Resultater fra forsøk 1, småskala i laboratoriet

Alle termoser viste rask temperaturstigning fra 25°C til 65°C. I slike forsøk vet man aldri på forhånd om noen termoser går bedre enn de øvrige. I dette forsøket viste det seg at termos 1,2 og 6 og holdt temperaturen høy lengre enn termos 3,4 og 5. Termos 3,4 og 5 viste raskere temperaturfall, og ble stoppet etter dag 7, mens termos 1, 2 og 6 fortsatte til dag 14 (Figur 4). Dette ble utført for å evt. kunne se forskjeller i overlevelse på tid og temperatureksponering som smitteenhetene med PCN fikk i hver termos.



Figur 4 **Maks temperatur målt i sentrum av massen fra Dewar termoser målt i 7 og 14 dager i de ulike forsøksreaktorer.**



Figur 5 **Mikrobiologisk respirasjon målt i % produsert CO2 (venstre) og forbruk av O2 (høyre) side inne i porevolumet fra hver kompost termos dag 7 og 14.**

Forsøket har vist høy mikrobiologisk respirasjon målt som utviklet CO2 og forbruk av O2 de første dagene (Figur 5). Videre ser en også at komposteringen i termos 1,2 og 6 hadde noe høyere biologisk aktivitet og over lengre tid enn 3, 4 og 5 hvor den sank raskere etterfulgt av noe lavere temperaturutvikling. Tabell 1 viser temperaturberegning i antall timer hvor cystene ble eksponert i hver termos. Kompost med cyster fra termos 1,2 og 6 ble eksponert for temperaturer >50 °C over 100 timer, >55°C i 80-90 timer og > 60 °C i 50 -70 timer. Til sammenligning ble komposten med cyster i termos 3, 4 og 5 eksponert >50 °C i 70-80 timer, >55°C i 50-60 timer og >60 °C i 40 timer (Tabell 1).

Slike temperatursvingninger gjør livsgrunnlaget for uønskede organismene i avfallet dårlig, og jo oftere temperaturen svinger jo lettere dør de. I tillegg vil avfallsgasser og pH forandring gi dårlige livsbetingelser under kompostering for organismer som ikke trives i disse miljø. De organismene som trives øker i antall (termofile bakterier ofte dominert av *Bacillus sp* som er aerobe), danner sporer når temperaturen blir for høy, men kvikner til når den avtar til omkring 55-60 grader. I oppstarten ved den kritiske temperaturen 45°C og oppover, formerer de seg raskt hvis ikke avfallet er for surt. Hvis det ikke benyttes rikelig med strukturmateriale vil surt avfall hemme disse organismer (Bergersen et al. 2009). Derfor er riktig blandingsforhold mellom nok struktur og sure i råvarene Maarud behandler, essensielt for å lykkes med god trygg behandling under rankekompostering sommer og vinter. Igjennom sesongen 2020 og 2021 har vi erfart at gode resepter gir kompostranker med høye temperaturer.

Tabell 1 **Resultat av mikroskopering og overlevelse av gul PCN og beregnet temperatur intervaller og antall døgn gul PCN cystene har blitt eksponert.**

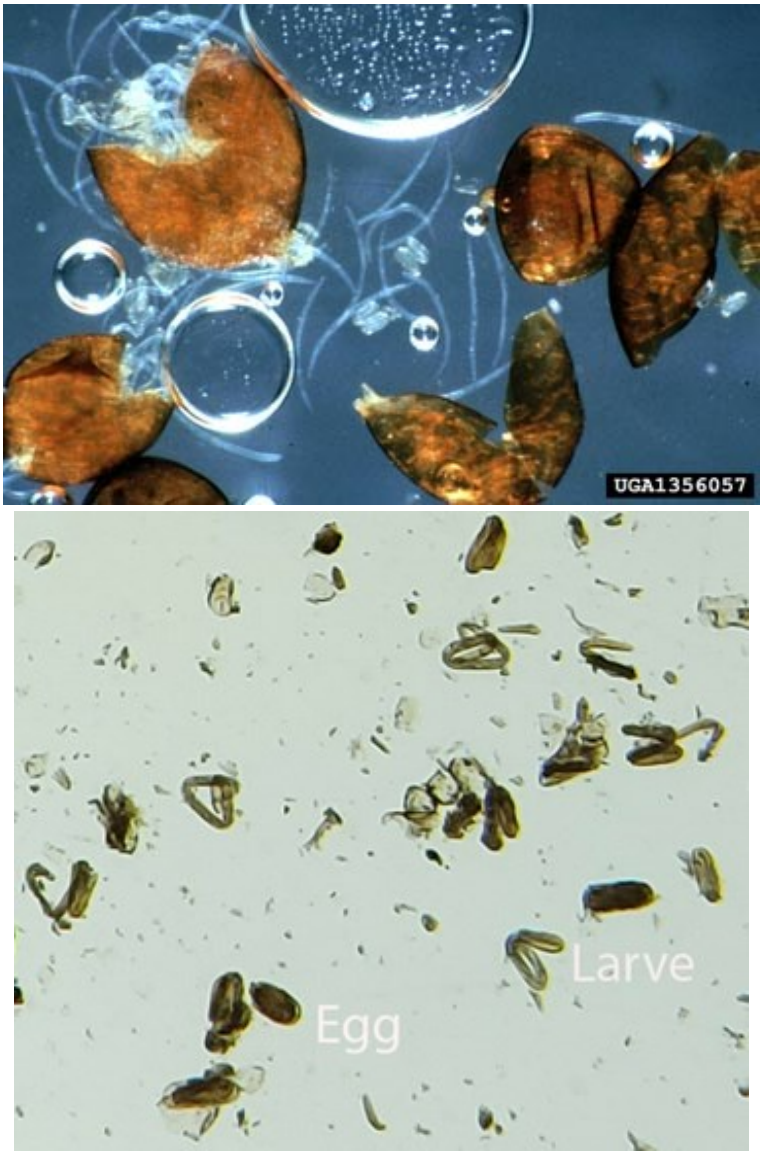
Resultatet fra komposteringsforsøk 1			Eksponeringstid i °C (per døgn)		
20 cyster per termos (6 smitteenheter)	Overlevelse av larver fra cyster i termos	Overlevelse av egg og larver i kompost fra termos	> 50 °C	> 55 °C	> 60 °C
Termos 1	0 levende larver	0	4,2	3,2	1,9
Termos 2	0 levende larver	0	5,0	4,0	3,0
Termos 3	3 levende m/ deformerte larver	0	3,1	2,3	1,6
Termos 4	7 levende m/ deformerte larver	0	3,3	2,6	1,8
Termos 5	3 levende m/ deformerte larver	0	3,4	2,5	1,8
Termos 6	0 levende larver	0	4,1	3,2	2,3

Tabell 2 **Resultat av mikroskopering og overlevelse av egg og larver av gul PCN etter temperatur intervaller og antall døgn cystene har blitt eksponert. Reproduksjonsevne og antall cyster på potetrøtter fra kontroller.**

Døde larver og egg etter eksponering pr. døgn og temp.	Ingen reproduksjons evne og dannelse av cyster på røtter av potet	Kontroll 502 cyster i 4 kontroller
		40
4-5 døgn over 50 °C		79
3-4 døgn over 55 °C	3-5 døgn over 50 °C	69
2-3 døgn over 60 °C		26

I termos 1, 2 og 6 ble det ikke funnet levende larver. I termos 3, 4 og 5 ble det funnet levende larver, som var svært preget av varmebehandlingen. Beregnet eksponeringstid på temperaturer over 50 °C (4-5 døgn), 55 °C (3-4 døgn) og 60 °C (2-3 døgn) er illustrert i tabell 1.

I infeksjonsforsøket ble det ikke funnet nye cyster på røtter av mandelpotet i pottene tilsatt kompost og fra termosene, og heller ikke i pottene med smitteenheter (varmebehandlet 20 cyster). Resultatet etter infeksjonsforsøket viste dermed ingen evne til reproduksjon etter 3 mnd. (Tabell 2). Til sammenligning viste resultatene fra potter med kontroll (potet eksponert for ubehandlede cyster) at det ble dannet 26-79 cyster på mandelpotet i løpet 3 måneder i vekst rom (Tabell 2).



Figur 6 **Bildet over viser cyster med levende egg og larver, mens bildet under viser døde egg og larver etter kompostering i rankeforsøket. Døde egg og larver blir mørke i farge. Larvene retter seg ikke ut når de kommer ut av egget, og vil ofte bli liggende i en trekant/pyramideform etter varmebehandling under kompostering. Foto: Christopher Hogger og Marit Skuterud Vennatrø, NIBIO.**

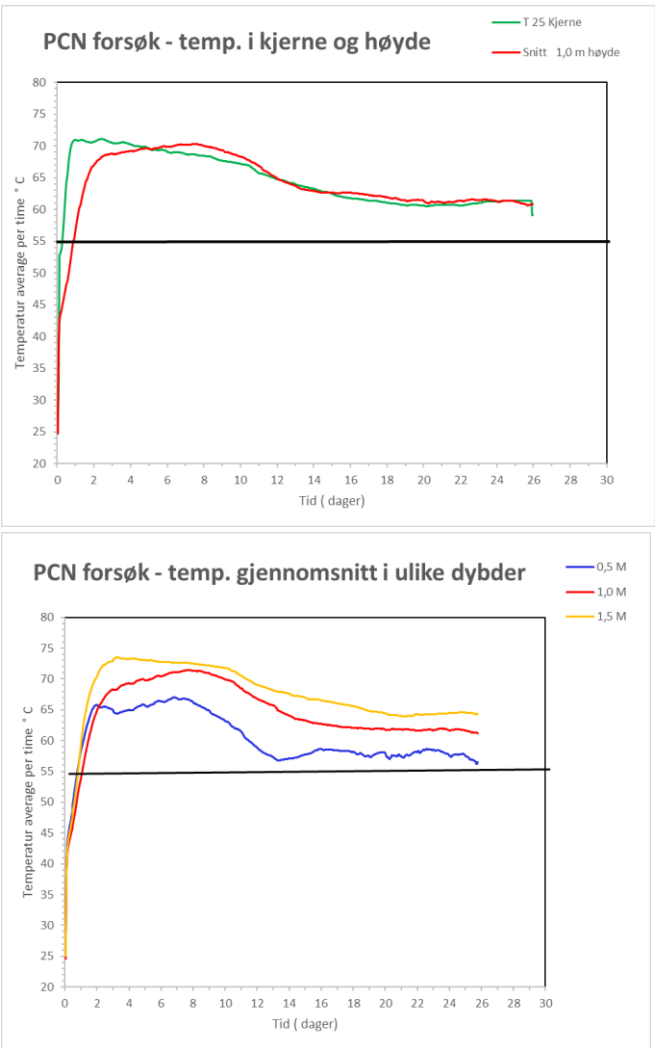
3.2 Resultater fra forsøk 2 i kompostranke hos Maarud

De ulike temperaturspyd plassert 3 ulike steder på ranken viste alle høye temperaturer mer enn 55°C i en periode på 26 dager (Figur 7 og 8). I 26 dager lå temperaturen i gjennomsnitt 60 - 69 °C ved 0.5, 1.0 og 1.5 meters dyp. Maks temperaturen ble beregnet til 69°C på 0,5 m dyp, 72-73°C ved 1 m inn i ranken og 72-75°C 1,5 m inn i ranken (Tabell 2). Median temperaturen beregnet var 59-60°C ved 0,5 m dyp, 64-65 °C ved 1,0 m dyp og 66-69 °C ved 1,5 m dyp.

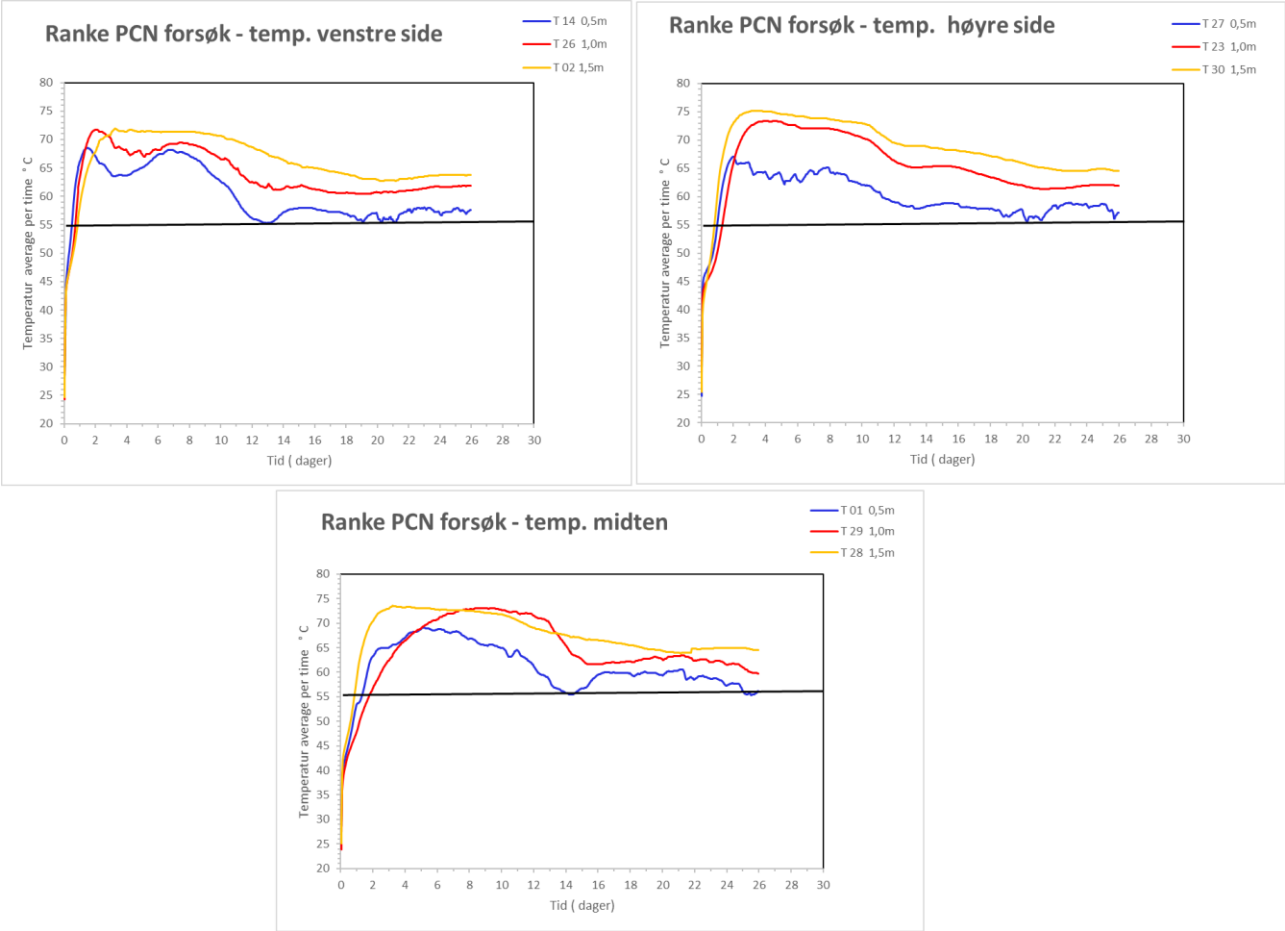
Ingen levende egg eller larver fra PCN cystene ble påvist ved analyse i mikroskop for overlevelse i de 9 poser (9 smitteenheter á 20 cyster) plassert i forsøksranken på ulike steder og dyp (Figur 6 og Tabell 3). Alle cystene ble undersøkt.

Tabell 3 Resultat av overlevelse (gul PCN) ved mikroskopering og eksponerings temperaturer i °C i 26 døgn. De gul PCN cystene (20 stk.) har blitt plassert ved ulike dyp fra overflaten (1,5m, 1,0m og 0,5m) i midten av kompostranke.

Analyser & sensorer	Sensor 14 0.5m	Sensor 26 1.0m	Sensor 02 1.5m	Sensor 01 0.5m	Sensor 29 1.0m	Sensor 28 1.5m	Sensor 27 0.5m	Sensor 23 1.0m	Sensor 30 1.5m
Resultat eksponering etter 26 dager									
Antall friske egg	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Antall levende larver	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eksponering i 26 dager maks. temp.	68,5	71,7	71,9	69,0	73,1	73,6	67,0	73,4	75,2
Eksponering i 26 dager gjennomsnitt temp.	60,1	63,6	66,2	60,9	64,5	67,5	59,8	65,4	68,6



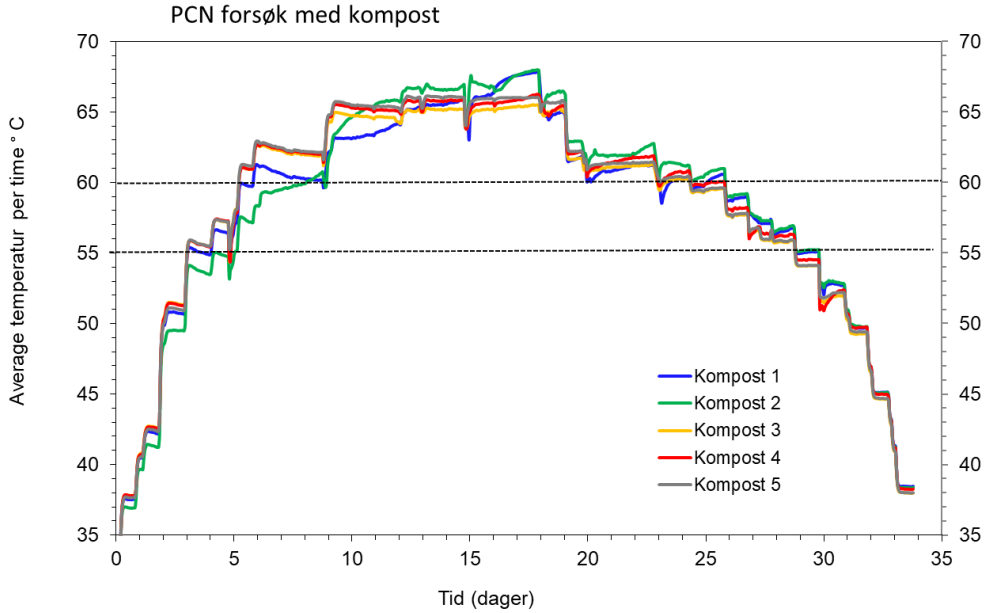
Figur 7 Temperaturer målt i kjernen av ranken og gjennomsnitt av 9 sensorer plassert ca. 1m opp fra bunnen av ranken (venstre), Gjennomsnitt fra 3 sensorer ved ulike dyp (1.5, 1.0 og 0.5 meter) i kompost ranken (høyre).

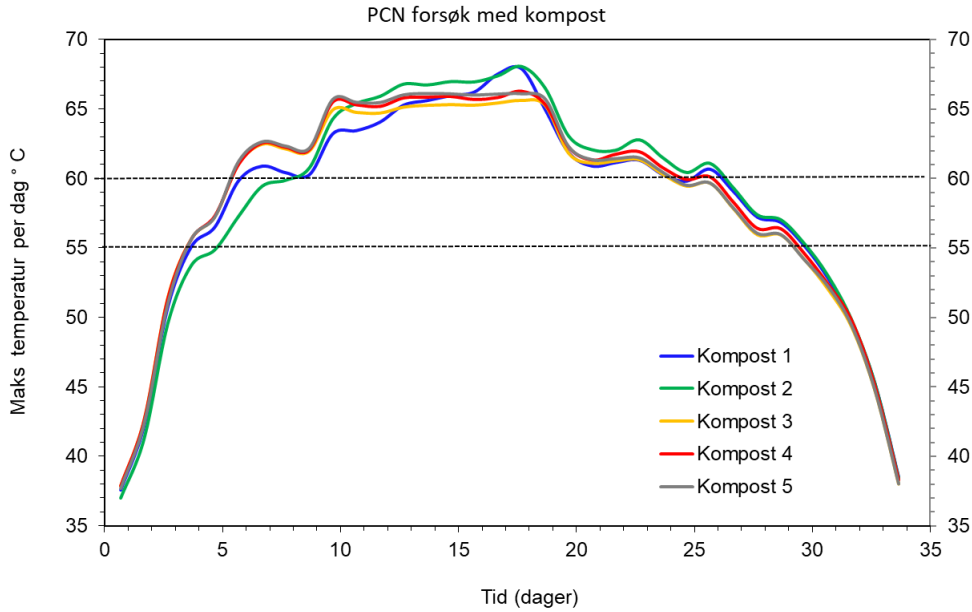


Figur 8 Temperaturer målt i 26 dager fra sensorer plassert ved ulike dyp (1.5, 1.0 og 0.5 meter) på midten, venstre og høyre side av kompost ranken. Ved hver sensor ble i alt 9 poser (enheter) med cyster av gul PCN plassert.

3.3 Resultater fra forsøk 3, simulering av temperaturer fra storranke forsøk i varmeskap for å destruere gul PCN.

Forsøket gikk i totalt 34 dager ved ulike temperaturer; 26-27 døgn over 55°C, 20-22 døgn over 60°C og 8-10 dager over 65°C (Figur 9 og tabell 4). I praksis vil 21 av de 27 døgn være over 60 grader og 10 døgn over 65°C. Cystene med mange hundre egg har blitt påvirket av høye temperaturer over flere dager. Maks temperatur på over 68°C ble oppnådd i kompost 1 og 2 selv om de hang noe etter i starten (Figur 9).





Figur 9 PCN cyster inkubert i kompost mix fra ranke 66 på Maarud. Gjennomsnittstemperatur per time i de ulike kompost prøver (over) og maks temperatur per dag (under). Alle dropp i kurven over skyldes tilsetting av vann for å holde komposten og cystene fuktige i den varmeste perioden 55, 60 og 65 °C. Skaptemperaturen lå ca. 2°C under målt kompost temperatur.

Tabell 4 Resultat av ulike temperatur eksponeringer i 5 kompostprøver per døgn. Temperaturene følger en simulert temperatur kurve og antall døgn i store ranker hos Maarud.

Analyser temp. & sensorer	Sensor 1 Kompost 1	Sensor 2 Kompost 2	Sensor 3 Kompost 3	Sensor 4 Kompost 4	Sensor 5 Kompost 5
Eksponering i antall døgn > 50°C	30	30	30	30	30
Eksponering i antall døgn > 55°C	27	25	26	27	26
Eksponering i antall døgn > 60°C	22	20	21	21	21
Eksponering i antall døgn > 65°C	8	10	10	10	10

I tabell 5 illustreres overlevelse og klekking av eventuelle fertile larver fra cystene eksponert for temperaturer vist i figur 9 og tabell 4. I kompostprøvene ble det ikke påvist klekking av fertile larver etter 6 uker eksponering i potetekstrakt. I kontrollene varierte antall fertile larver fra 4 og 7 i kontroll enhet 4 og 3 til 3917 i kontroll enhet 2 og beregnet gjennomsnitt 1090, beskrevet i mer detalj (Vennatrø, et al. NIBIO rapport 8, 88. 2022). Det ble også påvist døde larver og egg i kontrollene.

Tabell 5 Resultat av påviste fertile larver av gul PCN etter ulike temperatur eksponeringer i 5 kompostprøver. Temperaturene følger og er simulert kurven og antall døgn i stor ranker hos Maarud. Kontroll enhetene 5 (stk.) uten varmebehandling viser friske cyster som har klekket i rot ekstraktet markert med røde tall til høyre.

Overlevelse / klekking av fertile larver i rotekstrak fra potet	Eksponeringstid						Totalt antall etter 6 uker
	Uke 1	Uke 2	Uke 3	Uke 4	Uke 5	Uke 6	
Kompost miks 1	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	0
Kontroll 1							115
Kompost miks 2	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	0
Kontroll 2							3917
Kompost miks 3	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	0
Kontroll 3							7
Kompost miks 4	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	0
Kontroll 4							4
Kompost miks 5	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	0
Kontroll 5							1408
Gjennomsnitt							1090

3.4 Analyser av PCN cyster i siktet kompost produsert i 2020 og 2021

Maarud har nå siktet flere tusen kubikk med kompost. Disse er merket og kan etterspores. Prøver fra alle kompostranker produsert fra september 2020 til september 2021 er sendt til analyse for evt. påvise cyster av (PCN). Alle prøver viste negative svar (Tabell 6). I alle disse ranker er det loggført temperaturer godt over 60 °C i 20 dager eller mer og ved 2-3 vendinger, slik at kantsoner og bunnmateriale får temperaturer over 55 °C i aktive ranker, både på uren rød sone, men også i ettermodningsranker på gul sone. Det ble heller ikke påvist *Salmonella* i noen av prøvene.

Tabell 6. Analyser av kompost prøver fra ranke 6 og 7 er tørket og siktet hos NIBIO*. Disse er hentet fra overflate og sentrum av rankene (vår 2021). I tillegg ble nye (bland prøver 9 stk.) av siktet kompost fra ranker på gul sone produsert i 2020 og 2021 analysert for PCN hos NIBIO, plantehelse.

PARAMETER		Kompost ranke 6 & 7 siktet *	Kompost ranke 24 siktet	Kompost ranke 10 siktet	Kompost ranke 8, 9 , 13, 18,19 & 20 siktet	Kompost ranke 12, 16,& 17 siktet
Analysert		**24.04.2021**	**28.09.2021**	**28.09.2021**	**28.09.2021**	**28.09.2021**
Salmonella	25g	ikke påvist	ikke påvist	ikke påvist	ikke påvist	ikke påvist
Potetcyste nematoder PCN		Negativ ikke påvist	Negativ ikke påvist	Negativ ikke påvist	Negativ ikke påvist	Negativ ikke påvist

PARAMETER		Kompost ranke 26 & 27 siktet	Kompost ranke 30 siktet	Kompost ranke 32 siktet	Kompost ranke 33 siktet	Kompost ranke 35 siktet
Analysert		**28.09.2021**	**29.09.2021**	**29.09.2021**	**29.09.2021**	**29.09.2021**
Salmonella	25g	ikke påvist	ikke påvist	ikke påvist	ikke påvist	ikke påvist
Potetcyste nematoder PCN		Negativ ikke påvist	Negativ ikke påvist	Negativ ikke påvist	Negativ ikke påvist	Negativ ikke påvist

Disse ulike ranker ble slått sammen til nye siktede kompost batcher 1-4. PCN analyser ble også utført på bland prøver av de 4 kompost batcher slått sammen på ren grønn sone. Alle disse viste negativt resultat og ingen påviste cyster av (PCN) ble påvist (Tabell 7). Tabell 7 viser også analyser på *Salmonella* og TKB hos Eurofins AS (jan. 2022). Uønskede patogene mikroorganismer ble heller ikke påvist.

Tabell 7 Nye analyser av bakterier og cyster av PCN i de ulike kompostbatcher etter sikting januar 2022.

Organisme	Enhet	Batch 1	Batch 2	Batch 3	Batch 4
Cyster av PCN		neg. Ikke påvist	neg. Ikke påvist	neg. Ikke påvist	neg. Ikke påvist
Salmonella	per 25 g	ikke påvist	ikke påvist	ikke påvist	ikke påvist
Termostabile (TKB)	MPN/g	81	<20	<20	<20

Batch 1: (Ranke 6, 7 & 10)
Batch 2: (Ranke 8,9,12,13,16,17,18,19,20)
Batch 3: (Ranke 24,26,27,30 & 35)
Batch 4: (Ranke 32 & 33)

4 Konklusjoner

Ulike komposteringsforsøk er utført for å se på overlevelse av gul potetcystenematode (PCN). Temperatureksponering over 50°C i mer enn 5 døgn ser ut til å skade larver i å infisere potetrøtter. Resultater viste at gul PCN cyster kompostert i 6 termoser sammen med slam og potetavfall mister evnen til å infisere mandel potetplanter hvis de eksponeres over 50 °C i 3-5 døgn.

Det ble ikke funne levende egg eller larver fra cyster, ved mikroskopanalyse etter kompostering i storranke i 26 dager med temperaturer fra 60 - 69°C ved 0.5 m, 1.0 m og 1.5 m dyp i ranken. Dette viser at en god kompostranke med høye temperaturer i senter og ut mot overflaten vil kunne inaktivere PCN cyster. Simulering av temperaturene fra ranken ble utført i etterkant i kompost fra Maarud, for å belyse evt. klekking av larver fra PCN cyster. Høye temperaturer og lengre døgn eksponering viste ingen funn av levende fertile larver i 5 ulike enheter fra cyster kompostert ved temperaturer >55 (27 døgn), >60 (21 døgn) og 65°C (10 døgn) etter eksponering i rot ekstrakt fra potet i 6 uker. Kontrollene viste flere klekking av ulikt antall fertile larver i 5 enheter. Det ble også påvist døde larver og egg i kontrollene.

Alle analyser i ulike bland prøver fra 16 kompost ranker produsert mellom 2020 og 2021 analysert for PCN cyster viste negative svar, noe som trygger komposten for videre bruk.

Litteraturreferanser

Anonymous. 1992. Data Sheets on Quarantine Pests. *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. In: Smith, I.M., McNamara, D.G., Scott, P.R. & Harris, K.M. (Eds.) Quarantine Pests for Europe. CAB International, Wallingford, Oxon UK. pp:375-385

Bergersen, O., Bøen, A., and Sørheim, R. 2009. Strategies to reduce short-chain organic acids and synchronously establish high-rate composting in acidic household waste. *Bioresource Technology. 100. s 521-526*

Bøen A., Hammeraas B., Magnusson C., Aasen R. 2006. Fate of the potato cyst nematode Globodera rostochiensis during composting. Compost science & utilization 14:142-146.

EPPO (2013). PM 7/119 (1) Nematode extraction. file:///C:/Users/MaVe/Downloads/pm7-119-1-en%20(4).pdf, EPPO

Goeffeng, G., J. Øydvin, B. Hammeraas and A. Løwe. 1978. Overlevelse av PCN *Globodera rostochiensis* (Woll.) under frilandskompostering av kommunalt avfall. *In: Kongsvingerundersøkelsene K3*. Meld. 11, Ås, Norway. 14 p.

Jensen, B. 1992. Kompostering af have- og husholdningsaffald, inaktivering af plantepatogener og kompostens sygdomshæmmende egenskaber. Hovedoppgave. Den kongelige veterinær- og landbohøjskole, Copenhagen, Denmark. 106 p.

Lindhardt, K. 1959. Kartoffelål – en samlet oversigt. *Statens Plantetilsyn, København: 1-52*.

Vennatrø, M.S. og Haukeland S. 2022. Kompostering av potetavfall fra Maarud -Klekkeforsøk for å undersøke overlevelse av potetcystenematode i kompost (NIBIO rapport 8 (88) 2022).

Stone, L.E. and D.P. Webley. 1975. The effect of heat on the hatch of potato cyst eelworms. *Plant pathology*, 24:74-76

Turner, S. J. 1996. Population declines of potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis, G. pallida*) in field soils in Northern Ireland. *Annals of Applied Biology,* 129:315-322

Van Loenen, M.C.A., Y. Turbett, C.E. Mullins, N.E.H. Feilden, M.J. Wilson, C. Leifert, W.E. Seel. 2003. Low temperature-short duration steaming of soil kills soil-borne pathogens, nematode pests and weeds. *European Journal of plant pathology*, 109 (9): 993-1002 2003

Vasskog, T., Bergersen, O., Anderssen, T., Jensen, E., & Eggen, T. 2009. Depletion of selective serotonin reuptake inhibitors during sewage sludge composting. *Waste Manag, 29*(11), 2808-2815. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.06.010

VKM, Rafoss T, Magnusson C, Sletten A, Wendell M, Sundheim L, Brodal G, Ergon Å, Solheim H, Tronsmo AM. 2018. Assessment of quarantine pest dispersal in waste from potato and root vegetable packing plants in Norway. Opinion of the Panel on Plant Health of the Norwegian Scientific Committee for Food and Environment. VKM report 2018:15, ISBN: 978-82-8259-312-0, ISSN: 2535-4019. Norwegian Scientific Committee for Food and Environment (VKM), Oslo, Norway.

Wallace, H.R. 1963. *The biology of plant-parasitic nematodes*. Edw. Arnold Ltd, London, pp. 63-69.

NIBIO
NORSK INSTITUTT FOR BIOØKONOMI

Norsk institutt for bioøkonomi (NIBIO) ble opprettet 1. juli 2015 som en fusjon av Bioforsk, Norsk institutt for landbruksøkonomisk forskning (NILF) og Norsk institutt for skog og landskap.

Bioøkonomi baserer seg på utnyttelse og forvaltning av biologiske ressurser fra jord og hav, fremfor en fossil økonomi som er basert på kull, olje og gass. NIBIO skal være nasjonalt ledende for utvikling av kunnskap om bioøkonomi.

Gjennom forskning og kunnskapsproduksjon skal instituttet bidra til matsikkerhet, bærekraftig ressursforvaltning, innovasjon og verdiskaping innenfor verdikjedene for mat, skog og andre biobaserte næringer. Instituttet skal levere forskning, forvaltningsstøtte og kunnskap til bruk i nasjonal beredskap, forvaltning, næringsliv og samfunnet for øvrig.

NIBIO er eid av Landbruks- og matdepartementet som et forvaltningsorgan med særskilte fullmakter og eget styre. Hovedkontoret er på Ås. Instituttet har flere regionale enheter og et avdelingskontor i Oslo.

Forsidefoto: Elling Ødegaard, Maarud

nibio.no