

CB

Bibliotheek
Proefstation
Naaldwijk

A
3
R
85

BIBLIOTHEEK
PROEFSTATION VOOR TUINBOUW
ONDER GLAS TE NAALDWIJK

PROEFSTATION VOOR TUINBOUW ONDER GLAS TE NAALDWIJK

Onderzoek naar de werking van gammastralen ten aanzien van het
komkommerbontvirus en het tabakmozaïekvirus in steenwolmatten.

W.Th. Runia

Naaldwijk, december 1985.

Project D 15

Intern verslag no. 16

2242275

Onderzoek naar de werking van gammastralen ten aanzien van het komkommerbontvirus en het tabaksmozaiekvirus in steenwolmatten.

Inleiding

In een inventarisatiestudie over de toepassingsmogelijkheden van gammadoorstraling van tuinbouwprodukten, is een kostprijsberekening opgemaakt met als uitgangspunt voor het ontsmetten van steenwolmatten een doorstralingsdosis van 250 krad. Bij deze dosis worden aaltjes, onkruiden, bacteriën en schimmels, volgens onderzoek, gedood.

Voor een groot deel van het steenwolareaal is het echter noodzakelijk dat dit materiaal tevens tegen virus wordt ontsmet. Volgens opgave is voor het elimineren van virus een dosis van 5Mrad noodzakelijk. Een doorstralingsdosis van 5 Mrad betekent echter een kostprijs voor de ontsmetting die 20 x zo hoog is als de kostprijs voor een behandeling met 250 krad. Momenteel is dit economisch gezien onaantrekkelijk ten opzichte van de kosten van andere ontsmettingsmethoden.

In dit onderzoek is nagegaan welke dosis gammastraling werkelijk noodzakelijk is voor de bestrijding van enkele virussen in steenwolmatten.

Materiaal en methoden

Steenwolmatten werden behandeld met gammastraling op het bedrijf van Gammaster B.V. te Ede.

De stralingsduur van de diverse doses is globaal als volgt: 100 krad - 1 uur, 250 krad - 2½ uur, 1 Mrad - 8 uur en 5 Mrad - 2 x 7 uur.
1 Mrad = 1000 krad.

In dit onderzoek werden 2 virussen betrokken, namelijk het komkommerbontvirus en het tabaksmozaiekvirus (Gero-stam). Het komkommerbontvirus werd in ongezuiverde vorm toegepast en het tabaksmozaiekvirus in gezuiverde vorm. Het virussap werd in een verdunning van 1 - 1000 verdund met leidingwater. Steenwolmatten werden kunstmatig besmet met één van beide virussen door een verdunde virussuspensie toe te voegen aan de steenwolmat.

De hoeveelheden suspensie per mat zullen in de afzonderlijke experimenten worden vermeld, evenals de afmetingen en de gewichten van de steenwolmatten.

Op natuurlijke wijze besmette steenwolmatten bevatten wortels van het gewas dat erop is geteeld, in deze wortels bevindt zich het virus. Aan deze matten werd, na de behandeling met gammastraling, 3.5 liter leidingwater per meter mat toegevoegd, waarna 1 dag later het vocht uit de mat werd geperst voor de terugtoetsing.

Ook de kunstmatig besmette matten werden uitgeperst, waarna het persvocht op toetsplanten werd gebracht door met een watje het door carborundum (SiC) licht beschadigde bladoppervlak, te inoculeren.

Onder besmettelijkheid wordt verstaan het aantal planten met virussymptomen op het totale aantal geïnoculeerde planten.

1. De werking van gammastraling ten aanzien van het komkommerbontvirus.

Experiment 1.1.

Per behandeling werd 1 steenwolmat van 100x20x7 cm doorstraald. Deze mat heeft een inhoud van 14 liter en het gewicht van de nieuwe steenwolmat is ca. 1000 gram. De natuurlijke besmette steenwolmat woog bij dezelfde afmeting 1150 gram. De kunstmatige besmetting met het komkommerbontvirus werd gerealiseerd door aan elke mat 7 liter verdunde virussuspensie toe te voegen zodat het vochtpercentage 50 volumeprocenten bedroeg.

Op 25-10-1984 werd de terugtoetsing naar komkommer (Sporu) uitgevoerd van de kunstmatig besmette matten en op 26 oktober van de natuurlijk besmette matten. Op 7-12-1984 werd de proef beëindigd. De behandelingsdoses, alsmede de resultaten van dit experiment staan vermeld in tabel 1.1.

Experiment 1.2.

Bij de natuurlijke besmette matten werd per behandeling een halve meter mat met de afmeting van 50x20x7 cm gebruikt. De inhoud van deze afmeting mat was 7 liter en het gewicht ca. 650 gram. Bij de kunstmatig besmette matten was de afmeting per behandeling 50x20x7.5 cm. hetgeen neerkomt op een inhoud van 7.5 liter. Bij de doorstralingsdoses van 750 en 1000 krad werden blokken van 25x20x7.5 cm. gebruikt. Het drooggewicht is per meter nieuwe steenwolmat bij deze afmetingen ca. 1100 gram. De kunstmatige besmetting werd op dezelfde manier tot stand gebracht als in experiment 1.1.

De terugtoetsing naar komkommer (Sporu) werd uitgevoerd op 12-4-1985.

Het experiment werd beëindigd op 13-5-1985.

De behandelingsdoses en de resultaten staan vermeld in tabel 1.2.

Tabel 1.1. De werking van gammastraling ten aanzien van het komkommerbontvirus.

behande- lings dosis	Steenwolmatten besmet met het komkommerbontvirus					
	op natuurlijke wijze besmet			kunstmatig besmet.		
	data eerste virus- symptomen	besmette- lijkheid	gemiddelde incubatie periode in dagen	data eerste virus- symptomen	besmette- lijkheid	gemiddelde incubatie- periode in dagen
0 krad	12/11 1+, 13/11 2+, 19/11 3+, 23/11 1+	7/10	22	12/11 10+	10/10	17
100 krad	19/11 2+, 23/11 2+, 30/11 1+	5/10	28	12/11 8+, 23/11 1+	9/9	18
250 krad	13/11 1+, 19/11 2+, 23/11 5+, 30/11 1+	9/10	27			
1000 krad	-	0/10	-	-	0/10	-
5000 krad	-	0/10	-	-	0/10	-

Tabel 1.2. De werking van gammastraling ten aanzien van het komkommerbontvirus.

behande- lings dosis	Steenwolmatten besmet met het komkommerbontvirus					
	op natuurlijke wijze besmet			kunstmatig besmet.		
	data eerste virus- symptomen	besmette- lijkheid	gemiddelde incubatie periode in dagen	data eerste virus- symptomen	besmette- lijkheid	gemiddelde incubatie- periode in dagen
0 krad	-	0/10	-	26/4 8+, 29/4 2+	10/10	15
250 krad	2/5 1+	1/10	20	29/4 2+	2/10	17
500 krad	-	0/10	-	6/5 1+	1/10	24
750 krad	-	0/10	-	-	0/10	-
1000 krad	6/5 2+	2/10	24	-	0/10	-

Uit tabel 1.1. blijkt dat bij de terugtoetsing van natuurlijk besmette matten de doses 1000 en 5000 krad voldoende zijn om het virus te elimineren. Gezien het grillige karakter van de terugtoetsing blijft het echter de vraag of de aanwezigheid van virusdeeltjes wel in alle gevallen is aangetoond. Immers bij onbehandeld wordt slechts 70 % aantasting vastgesteld, terwijl na een behandeling met 250 krad het aantastingspercentage 90 % is. De incubatieperiode is bij de behandelingen langer dan bij onbehandeld. Bij de kunstmatig besmette matten is het verloop wel regelmatig. Het aantal behandelingen is echter beperkt en het verschil in doses groot, zodat nog niet duidelijk is welke dosis noodzakelijk is om het virus te elimineren. De incubatieperiode is gelijk.

Tabel 1.2. geeft aan dat de terugtoetsing van natuurlijk besmette matten zeer onregelmatig verloopt. In de onbehandelde matten wordt geen virus aangetoond, terwijl bij de hoogste dosis een aantastingspercentage van 20 % wordt waargenomen. Het uitpersen van de matten is kennelijk een onbetrouwbare methode om het virus in deze matten aan te tonen. Beter is waarschijnlijk de wortelresten uit de mat te halen en fijn te malen met wat vocht, waarna inoculatie kan plaatsvinden. Bij de kunstmatig besmette matten is het beeld wel regelmatig. Het aantastingspercentage loopt geleidelijk terug naar 0 %, hetgeen wordt gerealiseerd bij 750 krad. De incubatieperiode wordt langer naarmate de doorstralingsdosis toeneemt. De dosis die noodzakelijk is om virus te elimineren is bij kunstmatig besmette matten lager dan voor matten uit de praktijk, die op natuurlijke wijze besmet zijn met het komkommerbontvirus; respectievelijk 750 krad en meer dan 1000 krad.

2. De werking van gammastraling ten aanzien van het tabakmozaiekvirus (TMV)

Experiment 2.1.

Per behandeling werd 1 steenwolmat van 100x20x7 cm. doorstraald. Inhoud : 14 liter, gewicht ca. 1000 gram. De kunstmatige besmetting met het tabaksmozaiekvirus werd uitgevoerd door aan elke mat 3,5 liter virussuspensie toe te voegen, zodat het vochtpercentage 25 vol. % bedroeg. Op 17-10-1984 werd de terugtoetsing uitgevoerd naar *Nicotianae glutinosa*-planten, die op 25-10-1984 werden beoordeeld. De overige gegevens en de resultaten staan vermeld in tabel 2.1.

Experiment 2.2.

Bij de natuurlijk besmette (matten paprika - TMV) werd per behandeling een halve meter mat met de afmeting van 50x15x7.5 cm. gebruikt. De inhoud van deze stukken steenwolmat was 5.6 liter en het gewicht ca. 2000 gram. Bij de kunstmatig besmette matten was de afmeting per behandeling 50x20x7.5 cm., hetgeen neerkomt op een inhoud van 7,5 liter. Bij de doses 750 en 1000 krad werden blokken van 25x20x7.5 cm. gebruikt. Gewicht per meter mat ca. 1100 gram. De kunstmatige besmetting werd op dezelfde manier tot stand gebracht als in experiment 2.1. De terugtoetsing naar *N. glutinosa* werd op 19-4-1985 uitgevoerd en op 3-5-1985 werd dit experiment beëindigd. Tabel 2.2. geeft de doses gammastraling weer, alsmede de resultaten.

Tabel 2.1. De werking van gammastraling ten aanzien van het tabaksmozaiekvirus.

Behandelingsdosis	Steenwolmatten kunstmatig besmet met het tabaksmozaiekvirus.	
	data eerste virussymptomen	besmettelijkheid
0 krad	22/10 10 +	10/10
250 krad	22/10 10 +	10/10
1000 krad	-	0/10
5000 kradd	-	0/10

Tabel 2.2. De werking van gammastraling ten aanzien van het tabaksmozaiekvirus.

Behandelingsdosis	Steenwolmatten besmet met het tabaksmozaiekvirus.		
	op natuurlijke wijze besmet besmettelijkheid	kunstmatig besmet data eerste virussymptomen	besmettelijkheid
0	0/10	26/4 10 +	10/10
250	0/10	26/4 3 +	3/10
500	0/10	-	0/10
750	0/10	-	0/10
1000	0/10	-	0/10

Uit tabel 2.1. blijkt dat bij een kunstmatige besmetting met TMV na een behandeling met 250 krad, het aantastingspercentage nog 100 % is, terwijl na een behandeling met 1000 krad geen virus meer wordt aangetoond. In experiment 2.2. zijn ook behandelingen met 500 en 750 krad uitgevoerd en blijkt dat na een doorstraling met 500 krad al geen virus meer wordt aangetoond. Het aantastingspercentage is na een behandeling met 250 krad nog slechts 30% en het aantal lokale vlekken per cm² zieke plant is eveneens sterk gedaald, namelijk van 41 vlekken per 100 cm² bij onbehandeld naar 6 vlekken per 100 cm² na een behandeling met 250 krad. In de natuurlijke besmette matten met paprika - TMV kon in geen enkele situatie virus worden aangetoond, ook niet in de onbehandelde matten. Het wortelstelsel van de paprika's was in deze matten pas zeer beperkt ontwikkeld waardoor mogelijk de virusconcentratie te laag geweest is om met de gevolgde methode aan te tonen. Zoals ook bij het komkommerbontvirus werd geconstateerd, zou het beter geweest zijn om de wortels uit de steenwolmatten te halen na de doorstraling, ze fijn te malen om vervolgens planten met deze suspensie te inoculeren.

Conclusie

In kunstmatig besmette steenwolmatten is het virus in de vorm van een verdunde suspensie in de mat gegoten. Voor het elimineren van dit virus, in de vorm van het tabaksmozaiekvirus, was een dosis van 500 krad gammastraling voldoende en voor het komkommerbontvirus 750 krad. Bij de op natuurlijke wijze besmet geraakte matten is de situatie heel anders. Dit virus zit in de wortelrestanten in de steenwolmat en is veel moeilijker te doorstralen. Een dosis van 1000 krad bleek onvoldoende om het komkommerbontvirus uit te schakelen. Volgens opgave was 5000 krad noodzakelijk voor een virusontsmetting. Dit zal voor de praktijksituatie inderdaad het geval zijn, omdat daar alleen sprake is van natuurlijke besmette matten. De terugtoetsing vanuit deze matten verliep onregelmatig. Het fijnmalen van de wortelresten uit de mat lijkt noodzakelijk voor een betrouwbare terugtoetsing. De incubatieperiode van het virus bij komkommer wordt langer naarmate de dosis gammastraling toeneemt.