

db

Bibliotheek  
Proefstation  
Naaldwijk

A  
3  
C  
13

PROEFSTATION VOOR DE GROENTEN- EN FRUITTEELT ONDER GLAS,  
te NAALDWIJK.

Proeven in verband met het overgaan van het tomatenmozaiekvirus met zaad,  
1944 t/m 1947.

door:

Mej. J. Camfferman.

Naaldwijk, 1951.

2243162

(1  
3  
13

523:53 "10 44/1947"

Proefstation voor de Groente- en Fruitteelt onder glas te Naaldwijk.

PROEVEN IN VERBAND MET HET OVERGAAN VAN HET TOMAATMOZAIKvirus MET ZAAD,  
1944 TOT EN MET 1947,

door Mej. J. Camfferman.

Inleiding.

Het was reeds bekend, dat het tomatenmozaiekvirus niet in het zaad overgaat, doch slechts in het aan het zaad vastzittend, ingedroogd vruchtvlees aanwezig kan zijn.

Er werd nu naar een ontsmettingsmiddel gezocht, waardoor dit om het zaad aanwezige mozaiekvirus gedood zou worden.

Proef 1944.

Hiertoe werd in de zomer van 1944 zaad gewonnen van mozaiekzieke planten. Een gedeelte van dit zaad liet men gedurende + 6 dagen gisten; een ander gedeelte werd direct na het verwijderen uit de vrucht schoongemaakt en gedroogd.

Met dit zaad werd 6 October 1944 een proef ingezet, waarbij de volgende behandelingen plaats vonden:

- a. ongegist zaad, onbehandeld.
- b. ongegist zaad, ontsmet in Virurex (verdunning 1:1).
- c. ongegist zaad, ontsmet in tri-Na-fosfaat + groene zeep.
- d. gegist zaad, onbehandeld.
- e. gegist zaad, ontsmet met tri-Na-fosfaat + groene zeep.

Voor elke behandeling werden 300 zaadjes afgeteld. De ontsmetting geschiedde door de afgetelde zaadjes gedurende een half uur in een kokertje van koper-gaas onder te dompelen in de genoemde ontsmettingsvloeistoffen. Hierna werden ze schoongespoeld met leidingwater en een nacht te drogen gelegd.

7 October is uitgezaaid in gestoomde kweekgrond en ontsmette bakjes. 16 October waren de meeste plantjes opgekomen.

Tot 28 November werd gecontroleerd op verschijnselen, welke op virusziekte konden wijzen. Van elk der partijtjes ongegist onbehandeld, ongegist Virurex en gegist onbehandeld werd 1 verdacht plantje uitgewreven op Datura, doch in geen enkel geval werden "local lesions" verkregen.

Hierna zijn de planten opgeruimd. Tijdens de proef zijn, vanaf het opkomen, telkens plantjes verspeend en geïnoculeerd met virus, teneinde over ziek materiaal als vergelijkingsobject te kunnen beschikken.

Het eerste partijtje werd 18 October geïnoculeerd. Dit werd 3x herhaald met tussenpozen van 7 tot 10 dagen. Voor de resultaten, zie men bijlage 1. Waar vermeld staat, dat de planten mozaiekziek zijn, wordt in alle gevallen smalbladigheid en misvorming bedoeld. In later stadium geven dergelijke planten een normaal mozaiekbeeld te zien. Wanneer sap van dergelijke planten op *Datura* wordt gebracht, reageert deze met de vorming van "local lesions".

Uit deze gegevens zijn geen resultaten te halen, doordat het tomaatmozaiekvirus in het geheel niet met het zaad overging.

#### Proef 1945.

In 1945 werd getracht aan laatstgenoemd bezwaar tegemoet te komen door bij het opnieuw nemen van een dergelijke proef het ongegistte zaad van te voren in virushoudend sap te drenken.

2 Augustus werden 1000 zaadjes afgeteld en gedurende 24 uur ondergedompeld in een 1:10 verdunning van sap van mozaiekzieke planten.

De helft van deze zaadjes werd na enkele dagen drogen, gedurende 30 minuten in een oplossing van tri-Na-phosfaat met groene zeep gehouden. Hierna werden de zaadjes schoongespoeld en gedroogd.

13 Augustus werden in 10 kistjes elk 100 zaadjes gelegd; 5 kistjes ontsmet, 5 kistjes controle. Natuurlijk werden ontsmette kweekbakjes en gestoomde grond gebruikt.

Na het opkomen, op + 21 Augustus, werden de plantjes 13 en 14 September verspeend. Nergens waren verdachte plantjes te zien en deze kwamen ook niet te voorschijn. 31 September zijn de planten weggedaan.

Ook nu werden van het opkomen af regelmatig enkele plantjes geïnoculeerd met virus op het blad. Vier keer vonden deze inoculaties plaats, doch wellicht is de eerste keer met een lage concentratie van het inoculum gewerkt.

Infectiedatum	Contrôle datum	Gezond	Mozaiék	Diversen
28 Augustus	11 September	5	2	3
4 September	18 September	0	9	1
11 September	25 September	0	9	1
18 September	31 September	1	8	1

In het jongste stadium slaagden de inoculaties althans het minste. Een andere mogelijkheid is, dat het heel jonge kiemplantje minder vatbaar is of geen duidelijk ziektebeeld vertoont.

De opzet van de proef is dus mislukt. Zelfs opzettelijk uitwendig met virus

besmet zaad heeft geen viruszieke planten opgeleverd. Het contact van het jonge kiemplantje met het uitwendig op het zaad aanwezige virus is daarvoor blijkbaar te gering geweest. Misschien, dat in de winter bij minder gunstige groeiomstandigheden en daardoor grotere vatbaarheid van de kiemplantjes de overgang van het virus met het zaad beter zal gelukken, temeer waar dan door een minder sterke uitdroging en oxydatie het virus misschien minder snel geïnactiveerd zal worden.

### Proef 1947.

Hierbij is getracht de invloed van de zoutzuurbehandeling bij het winnen van tomaatzaad op het virus in het aanhechtende vruchtvlees na te gaan.

Daar het bij vorige proeven niet gelukt is een behoorlijke overgang van het virus met het zaad te verkrijgen, is allereerst een proef genomen met sap van mozaiekzieke planten.

Dit werd op verschillende wijzen met HCl behandeld, waarbij is nagegaan in hoeverre het virus werd geïnactiveerd.

- a. alleen zoutzuur.
- b. zoutzuur en vervolgens geneutraliseerd met KOH.
- c. zoutzuur en vervolgens geneutraliseerd met  $K_3PO_4$ .
- d. onbehandeld sap.

Het neutraliseren geschiedde om de verbranding van de indicator planten i.c. Datura planten tegen te gaan en bovendien om te zien of eventueel slechts een tijdelijke inactivatie van het infectievermogen optreedt dan wel een werkelijke vernietiging van het virus.

Bij het winnen van tomatenzaad wordt  $14 \text{ cm}^3$  sterk zoutzuur per l pulp toegevoegd, d.i.  $1.4 \text{ cm}^3$  per  $100 \text{ cm}^3$  pulp. Mozaiekziek plantenmateriaal werd uitgeperst en de verkregen  $20 \text{ cm}^3$  aangevuld tot  $120 \text{ cm}^3$ . Na goed mengen werd hiervan  $20 \text{ cm}^3$  afgepipetteerd als controle. Bij de overgebleven  $100 \text{ cm}^3$  verdund sap werd  $1.4 \text{ cm}^3$  12 N zoutzuur toegevoegd. Dit bleef zo gedurende een half uur staan. Hierna werd in 3 erlenmeyers elk  $25 \text{ cm}^3$  gepipetteerd. Eén erlenmeyer werd teruggetitreerd met KOH op phenolphthaline. Hiervoor was  $16,38 \text{ cm}^3$  0.3 N KOH nodig. Het plantensap was dus vrijwel neutraal. In totaal bevatte deze erlenmeyer nu bijna  $43 \text{ cm}^3$  vocht.

De 2e erlenmeyer diende geneutraliseerd te worden met  $K_3PO_4$ . Voor  $0,35 \text{ cc}$  12 N =  $25 \text{ cm}^3$  0,168 N zuur is  $25 \times 0,168 \times 71 \text{ mg}$  is  $298,2 \text{ mg}$   $K_3PO_4$  nodig. Er werd echter  $450 \text{ mg}$  toegevoegd, als gevolg van een rekenfout.

Hierna werd volgens recept uitgewreven op Datura, dus  $1/20 \text{ cm}^3$  per blad met carborundum no 400. Elk object werd op 5 bladeren uitgewreven. De aantallen

"local" lesions", die op elk blad verschenen, staan vermeld in bijlage 2.

Men ziet, dat de neutralisatie van het zoutzuur een goede voorzorgsmaatregel was, daar de bladeren, behandeld met het niet geneutraliseerde sap geheel verschrompeld zijn. Het gebeurt wel eens vaker, dat bladeren, die wat "hardhandig" zijn ingewreven verschrompelen. Dan zijn meestal in het dode bladweefsel de gevormde local lesions nog goed te onderscheiden. Dit was echter bij deze proef absoluut niet het geval. Na titratie met KOH waren nog enkele local lesions aanwezig, terwijl het inoculum door de KOH sterker verdund moet zijn geweest. In de betreffende erlenmeyer was 43 i.p.v. 25 cm<sup>3</sup> aanwezig.

Bij de neutralisatie met K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> werd slecht 1 local lesion gevormd. Deze stof is ook vaak het hoofdbestanddeel van de handontsmettingsvloeistof voor het mozaiekvirus, waarbij het doel juist is een hoge pH te verkrijgen, waarvoor het mozaiekvirus zeer gevoelig is. De betere resultaten na neutralisatie met K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> zouden kunnen zijn veroorzaakt door :

1. het feit, dat te veel K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> werd toegevoegd, waardoor een te hoge pH is verkregen.
2. langere inwerkingsduur van het zoutzuur, omdat eerst de titratie met KOH plaats vond, daarna de K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> neutralisatie.

Dat bij de zoutzuur alleen geen local lesions gevonden werden, kan natuurlijk veroorzaakt zijn door:

- a. de zeer snelle verbranding van het Datura-blad na de inoculatie.
- b. de langere inwerkingsduur van het zoutzuur (1½ uur).

Uit deze proef kan dus nog niet definitief geconcludeerd worden in hoeverre het eventueel aanwezige virus in het aanhangend vruchtvlees in infectievermogen achteruit zal gaan na een zoutzuur behandeling. Wel zal hierdoor het vruchtvlees veel beter van het zaad worden verwijderd.

#### Conclusie.

1. Het is zeer moeilijk via het zaad besmetting van tomatenplanten met mozaiek te verkrijgen.
2. Daardoor was het niet mogelijk de uitwerking van zaadontsmettingsmiddelen op het overgaan van het virus met het zaad rechtstreeks vast te stellen.
3. Het is niet onwaarschijnlijk, dat door de moderne wijze van zaadwinning door middel van een zoutzuur behandeling, de kans op virusoverbrenging met het zaad wordt verminderd.

Mej. J. Camfferman.

Proefstation voor de Groente-  
en Fruitteelt onder glas te Naaldwijk.

19-6-'51

C.M.

Contrôle van de inoculaties zaadontsmettingsproef.

Infectie	1 <sup>o</sup> contrôle		2 <sup>o</sup> contrôle	
18/10	10/11	8 gezond 42 mozaiek	23/1 '45	4 gezond 46 mozaiek
28/10	20/11	3 gezond 7 mozaiek	23/1 '45	3 gezond 7 mozaiek
3/11	28/11	6 gezond 4 mozaiek	23/1 '45	2 gezond 8 mozaiek
14/11	11/12	5 gezond 5 mozaiek	23/1 '45	1 gezond 9 mozaiek

Invloed van zoutzuur behandeling op het tomaatmozaiekvirus.

Behandeling	1 <sup>0</sup>	2 <sup>0</sup>	3 <sup>0</sup>	4 <sup>0</sup>	5 <sup>0</sup> blad.
Onbehandeld	200	80	75	200	100
Alleen HCl	Bladeren verschrompeld, In het dode weefsel geen local lesions te zien.				
HCl + KOH	2	0	3	1	0
HCl + K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	1	0	0	0	0