

L.B.O. no. 69

LABORATORIUM VOOR
BLAASMEDELLENONDERZOEK
LISSE - NEDERLAND

PRIJS F 4.10

**MEDEDELINGEN VAN DE
LANDBOUWHOGESCHOOL
TE WAGENINGEN (NEDERLAND)**

**ONDER REDACTIE VAN EEN COMMISSIE
UIT DE SENAAAT
SECRETARIS Prof. Dr E. BROUWER**

**DEEL 49
VERHANDELING 4**

**GRONDBEGINSELEN
DER PLANTENVIROLOGIE**

DOOR

Prof. Dr T. H. THUNG

H. VEENMAN & ZONEN - WAGENINGEN - 1949



AMBROSIUS BOSSCHAERT, Stilleven met viruszieke tulpen (1619).
Rijksmuseum Amsterdam.

LABORATORIUM VOOR
BLOEMBOLLENONDERZOEK
LISSE — NEDERLAND

GRONDBEGINSELEN DER PLANTENVIROLOGIE

DOOR

L.B.O. no. 69

Prof. Dr T. H. THUNG

HOGLERAAR AAN DE UNIVERSITEIT VAN INDONESIA
ADVISEUR VAN DE SECRETARIS VAN STAAT VOOR LANDBOUW EN VISSERIJ

MET MEDEWERKING VAN HET
LABORATORIUM VOOR MYCOLOGIE EN AARDAPPELONDERZOEK
TE WAGENINGEN
EN HET
LABORATORIUM VOOR BLOEMBOLLENONDERZOEK TE LISSE



*Mededelingen van de Landbouwhogeschool
Deel 49 — Verhandeling 4*

H. VEENMAN & ZONEN — WAGENINGEN — 1949

STATIONER
MORNING
LONDON

THE PHANTOM

1850

1850

THE PHANTOM
A NOVEL
IN THREE VOLUMES
BY
JAMES H. BROWN
LONDON
1850



1850

GRONDBEGINSELEN DER PLANTENVIROLOGIE

DOOR

Prof. Dr T. H. THUNG

HOOGLERAAR AAN DE UNIVERSITEIT VAN INDONESIA
ADVISEUR VAN DE SECRETARIS VAN STAAT VOOR LANDBOUW EN VISSERIJ

(Ingezonden 1 October 1948)

Met medewerking van het
Laboratorium voor Mycologie en Aardappelonderzoek te Wageningen
en het
Laboratorium voor Bloembollenonderzoek te Lisse

INHOUD ¹⁾

Voorwoord	29	(5)
Inleiding	30	(6)
I. Het virus	31	(7)
A. Het wezen van de smetstof	31	(7)
B. Methoden van onderzoek	36	(12)
§ 1. Algemene methoden	36	(12)
§ 2. De serologie	39	(15)
§ 3. De zuivering van het virus	42	(18)
§ 4. De electronenmicroscopie	48	(24)
C. Enkele resultaten van het moderne onderzoek	50	(26)
II. De virusziekten	54	(30)
A. Algemene beschouwingen	54	(30)
§ 1. De symptomen	55	(31)
§ 2. De infectie	57	(33)
§ 3. Smetstoffen	57	(33)
§ 4. Variabiliteit der symptomen en toets assortiment	58	(34)
§ 5. Mutatie	62	(38)
§ 6. Het scheiden der virusziekten	65	(41)
§ 7. Combinaties van ziekten	66	(42)
B. Methoden van onderzoek	67	(43)
§ 1. De sapinoculatie	68	(44)
§ 2. De enting en de oculatie	70	(46)
§ 3. De overbrenging door middel van insecten	72	(48)

¹⁾ De nummers tussen haakjes verwijzen naar de paginering onder aan de bladzijden.

C. Besmetting uitgaande van de grond	77	(53)
D. Premuniteit en antagonisme	78	(54)
E. Classificatie	84	(60)
III. Smetstof en plant	92	(68)
A. De synthese van het virus	92	(68)
B. Het transport van de smetstof	102	(78)
C. De besmettelijkheid	105	(81)
IV. Epidemiologie	109	(85)
V. De inactivering van viren	110	(86)
VI. De bestrijding der virusziekten	115	(91)
A. Algemene beschouwing over de bestrijding	115	(91)
§ 1. Verspreiding door insecten	116	(92)
§ 2. Infectiebronnen	116	(92)
§ 3. Resistente, tolerante en overgevoelige rassen	118	(94)
§ 4. Premunisering	119	(95)
§ 5. Gezond zaaizaad en pootgoed	120	(96)
B. Speciale bestrijdingsschema's	120	(96)
§ 1. De bestrijding der virusziekten in tabaksaanplantingen	120	(96)
§ 2. De bestrijding der virusziekten bij de aardappel	122	(98)
VII. De behandelde virusziekten	124	(100)
Classificatie van virusziekten bij de Vorstenlandse tabak	132	(108)
Literatuur	133	(109)
Register	149	(126)

VOORWOORD

Bij beschikking van de Minister van Landbouw, Visserij en Voedselvoorziening werd in 1946 aan schrijver dezes tijdens zijn verblijf in Nederland opdracht verstrekt om colleges te geven over Tropische Plantenziekten aan de Landbouwhogeschool te Wageningen. Een deel der ingevolge hiervan gegeven colleges werd gewijld aan virusvraagstukken. Op verzoek van de Hoogleraar voor Plantenziekten, Prof. Dr H. M. QUANJER en enkele der toehoorders zijn de gedoeerde beschouwingen uitgewerkt.

Enkele bladzijden der hier behandelde stof zijn ontleend aan 's schrijvers aantekeningen, die in 1939 gebezigd werden voor het samenstellen van een meer uitgebreid werk, getiteld: „De virusziekten der Vorstenlandsche Tabak”, dat geschreven werd in opdracht van het Proefstation voor Vorstenlandse tabak te Klatèn, Java, waaraan schrijver van 1929 tot en met 1939 verbonden was. De tekst van dit werk, dat voorzien was van vele foto's en gekleurde platen, werd aan genoemd proefstation aangeboden, terwijl van de gekleurde platen cliché's bij de Firma DE BUSSY te Amsterdam werden vervaardigd. Wegens de omstandigheden op Java zijn deze tekst en foto's niet gepubliceerd en ook niet beschikbaar.

In 1946-1947 vertoefde de schrijver in Nederland met een studieopdracht van het Algemeen Proefstation voor de Landbouw te Buitenzorg. Ingevolge deze opdracht werden methoden van virusonderzoek in Nederland en in Engeland bestudeerd. Deze bladzijden zijn dan ook mede bedoeld als een verslag van de uitgevoerde opdracht. Op deze plaats spreekt schrijver zijn erkentelijkheid uit jegens het Algemeen Proefstation voor het in hem gestelde vertrouwen.

Aan Prof. Dr H. M. QUANJER zij dank betuigd voor zijn vele waardevolle suggesties, evenals aan Prof. Dr E. VAN SLOGTEREN voor de gastvrijheid genoten op het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek te Lisse, waar de virusserologie kon worden bestudeerd.

Aan de Hoofd-Directeur van het Rijksmuseum te Amsterdam is de schrijver bijzondere erkentelijkheid verschuldigd voor de welwillende toestemming de schilderij van AMBROSIUS BOSSCHAERT te reproduceren.

Aan Dr L. ALGERA, voormalig assistent aan het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek en aan Ir J. P. H. VAN DER WANT, gestationneerd aan het Laboratorium voor Mycologie en Aardappelonderzoek te Wageningen, is schrijver erkentelijkheid verschuldigd voor de waardevolle medewerking bij het nemen van gemeenschappelijke proeven, terwijl laatstgenoemde tevens een groot aandeel heeft gehad in het tot stand komen van de redactie van dit werk tijdens 's schrijvers verblijf in Indonesië. Voorts zij dank betuigd aan Prof. Dr P. J. S. CRAMER te Utrecht, Dr H. J. DE FLUITER en Ir P. A. BLIJNDORP, beiden te Wageningen, voor de gedachtenuitwisseling bij het samenstellen van dit werkje.

INLEIDING

Zowel uit wetenschappelijk als uit economisch oogpunt zijn de virusziekten van de planten in de laatste decennia in betekenis toegenomen. Op wetenschappelijk gebied is door het bestuderen van deze ziekten en van haar veroorzakers een terrein geopend, dat biologie, biochemie, biophysica en epidemiologie doorkruist, maar toch een zelfstandige beoefening vereist. De economische betekenis der plantenviren is voornamelijk ten gevolge van het steeds intensiever wordend verkeer toegenomen. De virusziekten toch zijn in het algemeen veel infectieuzer dan de door bacteriën en fungi teweeggebrachte ziekten; door de handel in planten en plantaardige producten en ook door cultuurmaatregelen, door de werktuigen der werkers en door dieren worden zij verspreid.

De uiteenlopende gebieden, die de studie dezer ziekten omvat, tot een beknopt geheel samen te vatten, is het doel van dit werk. Het beoogt zowel een leerboek als een handboek te zijn. Ten behoeve van het eerste is het beknopt gehouden, maar voor het laatste worden voldoende details gegeven om een handleiding te kunnen vormen voor een zelfstandige beoefening van studieonderdelen, zoals sapzuivering en besmettingsproeven. Aangezien de studie der plantenviren en -virusziekten naar schatting van COOK (1947) reeds het formidabele aantal van meer dan tienduizend artikelen opleverde, bestrijken de volgende bladzijden slechts een fractie van de tegenwoordige kennis van deze materie, waarbij noodzakelijk een sterk subjectief element in de keuze van de behandelde onderwerpen naar voren komt. Terwijl voldoende is uitgeweid over het wezen van het virus, de premunitie, de verspreiding van de smetstof in de plant en de classificatie, zijn fysieke en wiskundige gegevens slechts summier behandeld. Voorop staat echter de bedoeling een afgesloten eenheid te vormen van de onderscheidene studiegebieden en een leer der plantenviren en plantenvirusziekten op te stellen. Hiervoor is taalkundig het woord „virologie” verantwoord. Dit woord is gebruikt door LEVADITI (1945) in de titel van zijn werk: „Précis de virologie médicale”, waarmee blijkens zijn voorwoord bedoeld wordt de tegenwoordige kennis van „les ultra-virus filtrables et infravisibles”.

Het boven reeds gebruikte woord „viren”, is volgens QUANJER (1942) het meest aangewezen voor het meervoud van „virus” in de Nederlandse taal. Meervoudsvorm bestaat niet in het latijn. „Vires” is onjuist, daar het krachten betekent, „viri” betekent „mannen”. In Nederland en Duitsland gebruikt men „viren”, in Engeland en Amerika „viruses” (DOERR en HALLAUER). Door DOERR (1944, p. 59, noot) wordt het woord „vira” als meervoudsvorm als het meest acceptabel voorgesteld; het bezwaar van enkele onderzoekers tegen het woord „viren”, dat het een Germanisme zou zijn, wordt door de meeste Nederlandse phytopathologen niet gedeeld, terwijl het woord „virussen” minder in het gehoor ligt.

Tegen het gebruik van het woord „virosoen” voor virusziekten worden geen bezwaren ingebracht.

Voor gegevens van laboratorium-technische aard en gedetailleerde beschrijvingen van speciale virusziekten, wordt verwezen naar de bekende handboeken, die in de literatuurlijst zijn opgenomen. Vele ziektebenamingen vooral afkomstig van Angelsaksische en Indonesische landen worden onvertaald weergegeven, wanneer de overeenkomstige Nederlandse benamingen niet voldoende zijn ingeburgerd.

I. HET VIRUS

„Speculations and theories of this kind are of more value when they lead to progress, and, if there is any truth in the view put forward, nature has presented us with a whole series of forms of life passing by fine gradations from a complete organism capable of independent existence down to the irreducible minimum required to transmit the characters of the species. Intensive study in such a series cannot fail to give fundamental information regarding vital processes of supreme interest alike to the biochemist as to all biologists. If the theory is wholly incorrect work on these lines will not be wasted, for it is abundantly evident that a proper understanding of virus diseases and viruses is essential for the future well-being of mankind.”

Sir Patrick P. Laidlaw in: „Virus diseases and Viruses”, Cambridge University Press 1938, p. 51.

A. HET WEZEN VAN DE SMETSTOF

De klassieke definitie van „virus” was: „een filtreerbare smetstof”, waarbij van de door deze smetstoffen veroorzaakte ziekten vooral het besmettelijk karakter naar voren werd gebracht. De Franse medische literatuur spreekt van „ultra-virus filtrables et infravisibles” (LEVADITI, 1945) daarbij vasthoudend aan het begrip „virus” als smetstof in het algemeen. De Angelsaksische woorden „virus” en „viruses” komen geheel overeen met de Nederlandse „virus” en „viren”. Het „infravisible” karakter is hierbij in het midden gelaten.

IWANOWSKI (1892) was de eerste, die aantoonde, dat de smetstof van de mozaiekziekte van de tabak filters kan passeren, welke bacteriën tegenhouden. De heersende mening was, dat de ziekteverwekker een bacterie moest zijn kleiner dan de toen bekende micro-organismen. De naam mozaiekziekte is te danken aan ADOLF MAYER (1886), die ook de besmettelijkheid van de ziekte bewees. De afwisselende licht- en donkergroene vlekken der zieke tabaksbladeren hebben de naam mozaiek geïnspireerd, die thans zo zeer is ingeburgerd, dat de naam „mozaiekziekten” als synoniem wordt gebruikt voor virusziekten en dat HEALD (1926) het tegenwoordige tijdvak van de phytopathologische geschiedenis de „mosaic age” noemt.

De definitie van virusziekten als „besmettelijke ziekten veroorzaakt door een filtreerbare smetstof” gaat volledig op bijv. voor de mozaiekziekte van de tabak, maar in haar algemeenheid is ze niet juist. Immers er zijn vele virusziekten, die niet met het sap overgaan, d.w.z. het sap, dat verkregen wordt uit de zieke plant en waarin de smetstof als aanwezig mag worden verondersteld, veroorzaakt in deze gevallen bij kunstmatige inbrenging in een gezonde plant, geen ziekte. De besmettelijkheid wordt hierbij o.a. bewezen door enting, nl. door een zieke top met een gezonde plant te doen vergroeien; de later aan de gezonde plant uitkomende loten vertonen dan de ziekte. In dit geval kan dus het bewijs van de filtreerbaarheid van de smetstof niet geleverd worden. Daartegenover is bekend, dat de verwekker van de virusziekte „curly top” bij de suikerbiet, die uitsluitend

door de cicade *Eutettix tenellus* BAKER wordt overgebracht en niet door sap is over te brengen, wel filtreerbaar is. Immers cicaden, die van gefiltreerd sap van zieke bieten hebben gezogen, kunnen de ziekte op gezonde bieten overdragen (SEVERIN en SWEZY, 1928).

Een tweede bedenking kan tegen bovengenoemde definitie worden ingebracht op grond van het feit, dat het criterium „filtreerbaar” in de bacteriologie als verlaten moet worden beschouwd; immers het is gebleken, dat ziekteverwekkers bij mens, dier en plant, die niet tot de viren behoren, wat aard en gedrag betreft, nauwe filters kunnen passeren (DOERR, 1927), zoals verschillende Spirochaeten, verschillende voor planten pathogene bacteriën (ARP, 1935) en bepaalde stadia van bekende micro-organismen zoals o.a. van *Bac. mycoides* (OESTERLE en STAHL, 1929). Electricische lading, duur en temperatuur der filtratie, de aanwezigheid van eiwitten etc., kunnen op de filtreerbaarheid invloed uitoefenen.

Bij de formulering „filtreerbare smetstoffen” is meer of minder bewust gedacht aan zeer kleine, met de gewone microscoop niet zichtbaar te maken, levende wezens, een hypothese, die nog door velen gehuldigd wordt voor de bacteriophagen. Daarnaast zijn er ook anderen, die de phaag als een product van de levende bacteriën beschouwen (DEN DOORN DE JONG, 1931). De algemene aspecten dezer groep evenals de meest gangbare methoden van filtratie zijn uitvoerig behandeld in het samenvattend werk „Filterable Viruses” door een reeks van deskundigen (AMOSS, BRONFENBRENNER, CARREL, COWDRY, GLASER, GOODPASTURE, KUNKEL, MUDD, OLITSKY en RIVERS, 1928).

Deze opvatting van levende submicroscopische organismen dekt niet die van BEYERINCK (1898), geformuleerd als *Contagium vivum fluidum*. BEYERINCK herhaalde in 1898 de filtratie-proeven met tabaksmozaïekvirus van IWANOWSKI en was de eerste, die een beter begrip van de aard van de smetstof verkreeg. Al moge niet in alle punten duidelijk zijn wat hij met zijn omschrijving bedoeld heeft, toch is het zeker, dat hij de niet corpusculaire aard van de smetstof heeft willen aanstippen.

In de tijd, toen onder invloed van KOCH's en PASTEUR's grote ontdekkingen de overheersende gedachte was, dat alle zeer kleine ziekte-veroorzakers microben waren, was BEYERINCK's opvatting wel zeer origineel. Ook in gevallen, dat men de ziekteverwekkers niet kon isoleren, maar wel filtreren, bleef de gedachte aan sub-microscopische organismen, te selectief voor de toen gebruikte voedingsbodems, bestaan. Allengs werden meer ziekten beschreven, die als verwant aan de mozaïekziekte moesten worden beschouwd, zoals het mond- en klauwzeer van het vee, welks verwekker het eerst door LÖFFLER en FROSC (1898) werd gefiltreerd, vele „krul”-ziekten van de aardappel, gele koorts, pokken, mazelen, hondsdolheid enz. Een groep van ziekten ging zich aftekenen, die men aan filtreerbare agentia toeschreef. De naam virusziekten kwam hiervoor in gebruik. In tegenstelling met de gedachte aan levende organismen als ziekteverwekkers is reeds spoedig een andere opvatting opgekomen, nl. dat een afwijkende enzym- of fermentwerkzaamheid voor de ziekteverschijnselen aansprakelijk moest worden gesteld. WOODS (1899) bracht dit het eerst naar voren in verband met de aanwezigheid van zetmeelophoppingen in mozaïekzieke tabaksbladeren. Hij schreef de mozaïekverschijnselen toe aan abnormale activiteit van oxyderende enzymen, waardoor de werking van de diastase zou worden verzwakt. Dit zou de ophoping van het zetmeel ten gevolge hebben. Verder zou omzetting van chlorophyl in

xanthophyl plaats vinden, waardoor de lichtere vlekken in het mozaiekziek blad zouden zijn te verklaren.

HUNGER (1905) beschouwde het virus als een toxine, dat in de tabaksplant altijd bij het metabolisme in de cellen zou ontstaan, maar in normale gevallen geen invloed zou uitoefenen. Bij verhoogde stofwisseling zou het zich ophopen en storingen veroorzaken.

FREIBERG (1917) kwam tot de conclusie, dat het infectieuze agens van de mozaiekziekte een enzym moest zijn, waarvan de vermeerdering op physiologische wijze door de plant bewerkt zou worden.

De zetmeelophoping in de bladeren van bladrolzieke aardappel-planten heeft eveneens aanleiding gegeven tot studies, die enzymatische storingen naar voren brachten (ESMARCH, 1919, NEGER, 1919). THUNG (1928) is hiertegen opgekomen door zijn physiologische onderzoek van gezonde en bladrolzieke bladeren en is tot de conclusie gekomen, dat de zetmeelophoping is te wijten aan een storing van het afvoermechanisme.

De bovengenoemde oudere onderzoekers, die òf het enzymatische òf het toxische karakter van het virus hebben naar voren gebracht, hebben een belangrijke kant van het onderwerp belicht, nl. de mogelijkheid van het niet levend zijn van het ziekte-agens.

DOERR (in DOERR en HALLAUER, 1938, p. 12) legt in het begrip „virus” de associatie vast van „das Unbekannte oder – besser gesagt – das nicht oder nicht genau bestimmte Contagium”. Het probleem van het al of niet levend zijn van het virus blijft tot heden toe onopgelost en kent aan beide zijden aanhangers. Tegen de neiging van verschillende onderzoekers om dit probleem buiten beschouwing te laten, wat DOERR (1938, p. 21) als „Abstinenzpolitik” betitelt, heeft hij juist extra de nadruk gelegd op de noodzaak van het onderzoek naar het levensprobleem: „Hinter dem Worte „Leben” steckt ein Problem ersten Ranges, welches seine wissenschaftliche Durchdringung zu allen Zeiten gebieterisch gefordert hat und in Hinkunft fordern wird, gleichgültig, ob man es mit seinem bisherigen Namen nennen will oder nicht.”

Tegen wat PIRIE (1937) schreef: „Untill a valid definition has been framed it seems prudent to avoid the use of the word „life” in any discussion about borderline systems and to refrain from saying that certain observations on a system have proved that it is or is not „alive””, stelt DOERR de opvatting: „Die prinzipiell wichtigen Tatsachen, welche die Virusforschung zutage gefördert hat, schlieszen vielmehr die Verpflichtung in sich, ihre Beziehungen zum Lebensproblem kritisch zu untersuchen, so weit als dies im gegenwärtigen Zeitpunkt möglich ist, und festzustellen, wo sich und ob sich neue Ausblicke eröffnen haben”.

Voor een groot deel der Angelsaksische onderzoekers der dierlijke viren is het meest aannemelijke standpunt, dat de viren „degraded bacteria” zijn, welke haar ingewikkeldheid, wat betreft bouw en biochemische functies, hebben verloren in het langdurig proces van steeds intensievere parasitaire aanpassing. Op het congres van de „Society for general Microbiology” te Leeds in Juli 1946 werd als centraal punt van beschouwing genomen: „Heterogenesis and the origin of viruses”. Verschillende hypothesen werden gelanceerd over het ontstaan der viren. Zo zou „some self-replicating cytoplasmic constituent of a complex cell, such as a plasmagene, may become capable of multiplying when transferred to a new environment such as another cell and acquire an individuality of its own. Such an

agent, being complex, would presumably tend to vary; and being variable and self-replicating would become subject to the laws of natural selection and acquire the status of an independent organism" (NATURE, 158 : 406-407, 1946). De opvatting van deze onderzoekers is op het volgende gebaseerd. Wanneer men de parasieten (bacteriën en viren) naar hun grootte rangschikt en daarbij hun eigenschappen nagaat, dan merkt men, dat met het kleiner worden der afmeting en de vereenvoudiging der structuur en der chemische samenstelling een steeds geringer vermogen om zelfstandig te leven gepaard gaat. De hoogst georganiseerde parasieten zijn het best uitgerust om uit een heteroog milieu bouwstoffen voor eigen samenstelling te synthetiseren, terwijl parasieten, die slechts uit enkele moleculen bestaan, het meest uitgesproken parasitisme vertonen. Tot de grote parasieten rekent LAIDLAW (1938) na de bekende bacteriën het vaccinia-virus (150 m μ), tot de tussenliggende *Stomatitis vesiculosa* (de smetstof van de blaarvormende mondsteking (85 m μ) en tot de kleinste de mond- en klauwzeersmetstof (10 m μ). Wat betreft de viren komt LAIDLAW tot de conclusie „Divorced from the particular cells which they can infect, the structures we postulate would be inert and in a state of suspended animation". Zij zijn aangewezen op de gastheer cel, die door haar enzymatische werkzaamheid de mogelijkheden voor de viren schept tot vermenigvuldiging. Deze viren „live a borrowed life", zoals LAIDLAW dit suggestief uitdrukt.

De theorie van de verworden bacteriën kon, wat betreft de grote viren, door velen op genoemd congres worden aanvaard, maar een moeilijkheid leverde de kwestie van de bacteriophagen of, zoals ze thans worden genoemd, van de bacteriële viren. De vraag is waar deze wel van afgeleid zouden kunnen zijn. Als antwoord hierop sprak BURNET (1946) de hypothese uit, dat zij directe afstammelingen zouden kunnen zijn van precellulaire stadia in de evolutie der levende vormen. Nadat de eerste bacteriën zouden zijn ontstaan, zouden deze precellulaire wezens alleen kunnen voortbestaan als parasieten van de pas ontstane bacteriën. Voor deze Angelsaksische onderzoekers is de meest logische opvatting „Virus as organism" (BURNET, 1946) te beschouwen. De chemische analyses hebben trouwens voor de grote viren dezelfde substanties vastgesteld als voor bacteriën. De gemiddelde analyses van een twintigtal viren zijn volgens STANLEY, KNIGHT en DE MERRE (1945): C : 4,8%, H : 7%, N : 15%, S : 0,2 – 2,2% en P : 0,07 – 4,8%. Voor de eenvoudige viren worden slechts proteïne en nucleïne-zuur als bestanddelen opgegeven; voor de iets meer gecompliceerde: proteïne, nucleïne-zuur, lipoiden en glucosiden. Voor de meest gecompliceerde is de opvatting om ze als organismen te beschouwen in overeenstemming met D'HÉRELLE'S voorstelling van het wezen van de bacteriophage. Deze onderzoeker stelt als criteria voor leven: het vermogen zich in een heteroog milieu te kunnen vermenigvuldigen en het vermogen zich te kunnen aanpassen („Le pouvoir d'assimilation en milieu hétérogène et le pouvoir d'adaption" (1923); „L'autonomie, la variabilité des caractères, la possibilité d'adaption" (1930)).

Alhoewel deze criteria bij plantenviren opgaan (THUNG, 1931) heeft het chemisch onderzoek der laatste jaren de opvatting ondersteund, dat althans een deel der viren levenloze stoffen zouden kunnen zijn. De onderzoekingen van STANLEY (1935), BAWDEN, PIRIE, BERNAL en FANKUCHEN (1936), BAWDEN en PIRIE (1937, 1938), MARKHAM en SMITH (1946) en anderen o.a. met tabaks-, tomaat- en komkommermozaïeksoorten hebben aangetoond, dat in de betreffende planten-

sappen bijzondere eiwitsubstanties zijn te vinden, die niet in gezonde planten voorkomen. Na vroegere pogingen van o.a. MULVANIA (1926), VINSON en PETRE (1929, 1931) om de mozaieksmetstof chemisch te zuiveren, heeft STANLEY (1935, 1936, 1937) een eiwit afgescheiden met hoog moleculairgewicht in een toestand, die hij als kristallijn beschouwde, wat achteraf niet geheel juist is gebleken. Een dergelijk kristalliseerbaar eiwit is 100 maal zo infectieus als het plantenextract, dat als uitgangsmateriaal diende. Het behoudt dit infectievermogen na 10 keer omkristalliseren. Verschillende plantensoorten als bijv. tabak, tomaat, phlox, die in serologische constitutie verschillen, leveren na infectie met tabaksmozaiek hetzelfde virus-eiwit. Dit blijkt hieruit, dat de uit genoemde plantensoorten afgescheiden virus-eiwitten een gelijke thermostabiliteit, resistentie tegen chemicaliën en tegen langdurige bewaring, evenals een gelijke chemische samenstelling bezitten.

Gezuiverde viren kunnen reeds in minimale dosering bij gezonde planten besmetting veroorzaken. Alleen is merkwaardig, dat de filtreerbaarheid bij de geïsoleerde producten, zelfs als zij zich in verdunde oplossing bevinden, niet terug is te vinden. In plantsappen moeten zij dan ook in meer elementaire vorm aanwezig zijn; waarschijnlijk is de uitkristallisering op te vatten als een polymerisatie. In onbehandeld sap passeert de smetstof van het tabaksmozaiek membranen met een poriëngrootte van 53 $m\mu$ diameter, terwijl zij in gezuiverde toestand niet door membranen gefiltreerd kan worden met poriën van 450 $m\mu$ diameter.

Verschillende aardappelmozaieksoorten leveren bij sapzuivering amorphe stoffen op, terwijl de „bushy stunt”-ziekte van de tomaat veroorzaakt wordt door een virus, dat, uitgekristalliseerd bij 0–2 °C, een echte kristalvorm bezit. Op de sapzuivering en op de bij de electronen-microscopie geconstateerde vormen der onderzochte viren komen wij in aparte paragrafen uitvoeriger terug.

Vele vragen komen thans op betreffende de vermenigvuldiging dezer eiwitsubstanties in de geïnfecteerde planten en het gedrag van de besmette plantencellen. Op overzichtelijke wijze zijn deze punten behandeld door J. HENDERSON SMITH in zijn artikel „Some recent developments in virus research” (1938).

Voor de voorstanders van de theorie der levenloze stoffen wordt het thans gemakkelijk om aan de geïsoleerde en uitgekristalliseerde smetstoffen de kwaliteiten van leven te ontzeggen, doch: „ook als men de overtuiging heeft, dat het tabaksvirusproteïne, de bacteriophage, enz. inderdaad „dode” stoffen zijn, dan dient toch tevens bedacht te worden, dat zij hunne merkwaardige, uiterlijk op levensverschijnselen sprekend gelijkende activiteit alleen openbaren, wanneer zij in aanraking en in wisselwerking zijn met levende cellen en met levende organismen. Zonder deze zijn zij tot niets in staat, waardoor zij zouden blijken zich van andere molecuulsoorten te onderscheiden. En zo blijft dan de grenslijn, die de „doode” van de „levende” materie scheidt, voor ons ook nu nog even ondefinieerbaar en onoverschrijdbaar, als zij tot dusverre immer is geweest”, aldus schrijft JAEGER (1938).

Volgens BAWDEN (1946) is nog geen 5% der bekende plantenviren gezuiverd; volgens PIRIE (1945) „no virus preparation has yet been made that can be looked on as pure in an ideal sense. Such a preparation has been defined as containing particles identical in size and chemical composition and each carrying the full unmodified activity of the starting material”. En: „In conclusion, it may be permissible to point out that no rigid distinction has been, or perhaps can be drawn between those systems conveniently referred to as „living” and „non-

living" and that no observation has so far been made on plant viruses which has any bearing whatsoever on this metaphysical or semantic problem".

Ten slotte zij nog aangehaald een uitspraak van BAWDEN (1945): „Living or nonliving is a controversy that has centered on viruses for many years, and it still continues. It has few immediate practical bearings but always arouses great interest. The answer of the virus worker will probably depend on the medium in which he studies his viruses, for in the test tube their properties are those of protein molecules, whereas in the infected plant or animal their behaviour is that of living organisms.”

B. METHODEN VAN ONDERZOEK

§ 1. Algemene methoden

Methoden, bij welke de levende plant het middelpunt vormt, komen in het volgend hoofdstuk aan de orde; methoden, waarbij wordt uitgegaan van het virus, dat uit de plant is afgescheiden, vormen de inhoud van dit hoofdstuk.

Na de filtratie, aan het einde van de vorige eeuw, met behulp van filterkaarsen van porcelein en infusoriënaarde, is filtratie toegepast met collodiummembranen (zgn. ultrafiltraties); daarna zijn chemische en physische bepalingen aan viren uitgevoerd, waarop de electrophorese- en ultracentrifugetechniek volgden. Thans zijn ook serologische en electronen-microscopische onderzoekingen in zwang gekomen.

Voor de ultrafiltratie worden membranen gebruikt, die in colloïdale toestand verkeren, d.w.z. de deeltjes van de disperse phase zijn van ultramicroscopische afmetingen, vandaar de naam ultrafiltratie. De genoemde deeltjes vormen als het ware het netwerk van een zeef, terwijl de ruimten tussen de deeltjes overeenkomen met de poriën van de zeef. Het hangt dus van de grootte van deze poriën af, welke stoffen nog wel en welke niet meer worden doorgelaten.

Collodium (nitro-cellulose) bleek een zeer geschikt materiaal voor deze filters te zijn, omdat daarmee, bij juiste keuze van de omstandigheden, waaronder zij werden gevormd, poriën van elke gewenste afmeting binnen een bereik van 3μ tot 10μ te verkrijgen zijn. Langs verschillende wegen konden deze afmetingen worden bepaald. Bij dit calibreren bleek, dat in hoge mate voldaan kon worden aan de eis, dat de poriën in één en dezelfde membraan alle ongeveer gelijke afmetingen moeten hebben. Deze techniek is voornamelijk door ELFORD (1938) ontwikkeld.

Met gebruikmaking van een serie membranen, elk met een verschillende gemiddelde poriëndiameter, kan men de grootte van de te meten deeltjes benaderen. Men filtreert daartoe b.v. een virusoplossing achtereenvolgens door een aantal filters met afnemende poriëngrootte en bepaalt bij welke geen virus meer in het filtraat is aan te tonen. Het is echter niet juist te menen, dat de afmetingen van het virusdeeltje liggen tussen die van de poriën, die het virus niet meer doorlaten en die van de poriën van het voorafgaande filter. Allerlei factoren zoals hydratatie en vorm der deeltjes en de toegepaste druk spelen hier mede een rol. Uit metingen is gebleken, dat, al naar de poriënwijdte, een deeltje in het algemeen slechts 0,4-1,0 maal zo groot is als de porie waardoor het net niet meer wordt doorgelaten.

De electrophorese berust op de elektrische lading der virusdeeltjes. Stuurt men een elektrische stroom door een electrolytoplossing, dan bewegen de positief geladen ionen zich naar de negatieve pool en de negatieve ionen naar de positieve pool (electrolyse). Indien de deeltjes van colloïdale afmeting zijn en een elektrische

lading dragen (wat in de regel bij viren het geval is), dan zal bij aanleggen van een elektrische spanning aan de beide electroden eveneens zulk een verplaatsing der deeltjes optreden. Dit verschijnsel, dat aanvankelijk kataphorese werd genoemd, omdat het voor de eerste maal werd waargenomen bij deeltjes, die zich naar de kathode verplaatsten, wordt tegenwoordig aangeduid met de meer algemene naam electrophorese.

De snelheid der deeltjes is, behalve van het potentiaalverval in de vloeistof, afhankelijk van de grootte der lading. Deze lading wordt op haar beurt weer door verschillende factoren bepaald. In de eerste plaats door de aard van het deeltje zelf. Grote moleculen als die van eiwit en virus dragen een groot aantal ladingen, zowel positieve als negatieve. De lading van het deeltje in zijn geheel wordt bepaald door de algebraïsche som der ladingen. Aantal en teken van deze ladingen vertonen samenhang met de chemische samenstelling der moleculen of deeltjes. Toch oefent ook het milieu invloed uit op de lading, vooral de pH van het milieu. Bij toenemende H-ionen-concentratie (afnemende pH) neemt het deeltje H-ionen op en zijn positieve lading neemt toe; bij afnemende H-ionen-concentratie (toenemende pH) heeft het omgekeerde plaats. Dit kan zover gaan, dat de oorspronkelijk positief gedachte lading van teken omkeert en negatief wordt. Hiertussen moet dus een toestand zijn, waarin de totale lading nul is. De pH, waarbij deze toestand intreedt, noemt men het iso-electrische punt. Het spreekt vanzelf, dat bij dit punt geen electrophorese plaats heeft. Hoe verder de pH verwijderd is van het iso-electrische punt, des te sneller zal de verplaatsing zijn.

Daar, zoals werd opgemerkt, de chemische aard van het deeltje aantal en teken der ladingen bepaalt, zal de bepaling van het iso-electrische punt en de bewegelijkheid met behulp van de electrophorese een hulpmiddel kunnen zijn om iets meer te weten te komen van de chemische structuur van een virusdeeltje.

Inderdaad bleken verschillende onderzochte viren een verschillend iso-electrisch punt en verschillende bewegelijkheid te bezitten. Aan PFANKUCH, KAUSCHE en STUBBE (1940) gelukte het zelfs om verschillende rassen van hetzelfde virus, nl. door Röntgen- en γ -stralen opgewekte mutanten van het tabaksmozaïekvirus, met de electrophorese-methode van elkaar te onderscheiden.

De techniek der bepalingen is vrij eenvoudig, wanneer men te doen heeft met gekleurde of microscopisch zichtbare deeltjes. Moeilijker is zij als de deeltjes ongekleurd of van submicroscopische afmeting zijn of in moleculair disperse toestand verkeren. Dank zij dikwijls zeer ingenieuze optische methoden is men er in geslaagd ook hun verplaatsingssnelheid met grote nauwkeurigheid te meten.

De centrifuge is thans een onmisbaar apparaat voor het virusonderzoek; ze intensificeert het verschijnsel van bezinking onder invloed van de zwaartekracht. Hoewel het sedimenteren voor het bepalen van de grootte van deeltjes in suspensies belangrijk is, gaat dit te langzaam voor deeltjes kleiner dan $0,1 \mu$. Voor moleculair-disperse deeltjes is een grote kracht nodig ter bereiking van sedimentatie. De ultracentrifuge van SVEDBERG ontwikkelt een centrifugale kracht, die de zwaartekracht 500.000 maal overtreffen kan. Hoe groter het aantal toeren bedraagt en hoe verder het object van het middelpunt verwijderd is, des te groter de kracht is. Men kan de snelheid van sedimentatie der onderscheiden fracties meten, waarbij voor ieder virus de karakteristieke sedimentatie-constante wordt bepaald. Deze constante wordt gedefinieerd als de sedimentatie-snelheid in cm per sec onder invloed van een kracht van 1 dyne in een milieu, dat de dichtheid en visco-

siteit heeft van water van 20 °C. Uit de sedimentatiesnelheid wordt het moleculairgewicht berekend. Een andere bepaling van het m.g. geschiedt langs statische weg, nl. uit het na zekere tijd bij een bepaalde rotatiesnelheid intredend evenwicht, het sedimentatie-evenwicht. Deze evenwichtsinstelling vereist langere tijd en mag niet bij een te hoog toerental uitgevoerd worden, omdat anders de concentratie aan de bodem te groot wordt. In de veronderstelling, dat alle deeltjes dezelfde grootte hebben, worden de berekeningen uitgevoerd. Voor verdere gegevens betreffende de grootte der deeltjes, wordt verwezen naar PAULI en VALKÓ (1933), die ook een lijstje geven van het m.g., de sedimentatieconstante, het dissymmetriegetal (waaruit het al of niet kogelrond zijn der deeltjes blijkt) en de moleculaire radius van enkele eiwitten. Zo wordt van eialbumine het m.g. opgegeven van 34500, dat als eenheid van m.g. voor de andere eiwitten wordt opgevat. De sedimentatieconstante bedraagt $3,54 \times 10^{-13}$, het dissymmetriegetal is 1,00 (zodat het als kogelrond wordt beschouwd) en de moleculaire radius 2,17 μ . Voor haemoglobine zijn deze getallen respectievelijk $68000 = 1,97 \times$ m.g. van eialbumine; $4,37 \times 10^{-13}$; 1,25, een dissymmetriegetal, dat doet concluderen, dat haemoglobine niet kogelrond is, zodat geen moleculaire radius is op te geven. Van serumalbumine zijn deze getallen $67500 = 1,96 \times 34500$; $4,21 \times 10^{-13}$ en 1,29, dus eveneens niet kogelrond. Voor STANLEY's gezuiverd tabaksmozaïekvirus hebben ERIKSSON-QUENSEL en SVEDBERG volgens opgave van ELFORD (1938, p. 211) met een centrifuge-methode gevonden, dat het niet homogeen is wat betreft m.g. en dat de deeltjes niet rond zijn. Het m.g. moet tussen 15.000.000 en 20.000.000 liggen en de sedimentatieconstante 235×10^{-13} /sec/dyne bij pH 6-8. Een andere opgave van ELFORD naar gegevens van WYCKOFF geeft een sedimentatieconstante van 174×10^{-13} en een diameter van 30 μ .

Bij de opgave van de sedimentatieconstanten wordt telkens de factor 10^{-13} /sec/dyne opgegeven, welke bij verdere gegevens achterwege wordt gelaten, aangezien deze factor de Svedberg-eenheid is, waarin de sedimentatieconstanten worden uitgedrukt.

Nadere gegevens over de afmetingen en de vorm van het mozaïekvirus worden later verstrekt aan de hand van uitkomsten verkregen volgens andere methoden.

Thans zij nog slechts vermeld, dat verschillende bepalingen van de grootte van viruspartikeltjes volgens de ultracentrifuge- en ultrafiltratie-methoden niet te ver uiteenwijkende resultaten hebben opgeleverd, wat uit bijgaand lijstje kan blijken (naar ELFORD, 1938):

	Diameter der deeltjes in μ , bepaald door	
	ultrafiltratie	ultracentrifugeren
pokkenvirus	150	180
kanarie-pokkenvirus	150	120
herpesvirus	125	160
influenzavirus	100	90
hoenderpestvirus	75	88
Rous-sarcoomvirus	75	65
bacteriophage coli „WLL”	60	70
bacteriophage megatherium (DE JONG)	35	35
haemocyanine (<i>Helix</i>)	23	24
tabaksmozaïekvirus	15	30
mond- en klauwzeervirus	10	20

§ 2. *De serologie*

De serologie, toegepast bij het onderzoek der plantenviren, beoogt de diagnostiek van bepaalde virusziekten, zoals ze reeds langer bij de diagnostiek der bacteriële ziekten in de humane en veterinaire pathologie in gebruik is. Zij berust op de eigenschap van het bloed om afweerstoffen te vormen tegen sommige in het dierlijk lichaam ingespoten stoffen. Een organisme of een preparaat, dat in staat is in het bloed van het dier antistoffen tegen zichzelf te vormen, wordt „antigeen” genoemd. Dit kan een bacterie, een eiwit of ander lichaam zijn. Met de antistoffen („antibodies” of antilichamen) kan een zichtbare reactie *in vitro* bij toevoeging van het antigeen ontstaan. Daarnaast kunnen bepaalde lichamen met deze antibodies een reactie vertonen, zonder in staat te zijn in het dier antibodies te doen ontstaan, zij worden „haptenen” genoemd. Voor de theorie van deze processen moge verwezen worden naar het werk van TOPLEY en WILSON (1937). Bij het plantenvirus-onderzoek is het nog slechts voor een beperkt aantal viren gelukt antisera te bereiden.

In Nederland wordt in het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek te Lisse onder leiding van VAN SLOGTEREN de serologie toegepast voor het onderzoek van virusziekten bij de bolgewassen. Van de daarbij opgedane routine is gebruik gemaakt voor de diagnostiek van enkele virusziekten van de suikerbiet en de aardappel. Zo wordt thans op grote schaal de al of niet aanwezigheid van het X-virus voor de keuringen te velde van pootaardappelen nagegaan. Uitvoerige gegevens over de gebezigde methoden zijn in publicaties van VAN SLOGTEREN (1943, 1945) en BOOY, DE BRUIJN OUBOTER, CREMER en VAN SLOGTEREN (1944) te vinden, terwijl ook door BAWDEN (1943) details zijn vermeld over serologie in verband met virusonderzoek. Verder worden ervaringen op dit gebied medegedeeld door PURDY BEALE (1929, 1931, 1934) en CHESTER (1934, 1935, 1936).

De in Lisse gebezigde methoden zijn de volgende: het uitgeperste sap van bepaalde viruszieke planten wordt door centrifugeren van vaste deeltjes bevrijd en daarna in een oorader van het konijn gebracht. Behalve intraveneus kan ook intraperitoneaal worden ingespoten. In gevallen, waarbij verdere zuivering doelt is, wordt voor het inspuiten virus gebruikt, dat zo zuiver mogelijk is. Het konijn ondervindt dan het minste nadeel, aangezien verschillende normale plantbestanddelen schadelijk voor het dier zijn. Bovendien worden met zuivere viren geen antilichamen gevormd tegen andere in het plantensap aanwezige bestanddelen. Volgens BAWDEN (1943) kan men met zeer zuiver virus sterke antisera verkrijgen bij een enkele inspuiting van 1 mg. Normaal wordt een serie inspuitingen toegepast om de 3 à 4 dagen met hoeveelheden, die oplopen van 2 tot 8 cm³ sap. Bij intraperitoneale inspuiting heeft men meer herhalingen nodig dan bij intraveneuze. De meest stabiele en geconcentreerde viren produceren het best antilichamen; dit is bijv. het geval met tabaksmozaiek en met X-virus.

Door af en toe druppels bloed uit het konijneoor af te tappen kan gecontroleerd worden of het antiserum een voldoende hoge titer heeft bereikt, d.w.z. of er in voldoende mate antilichamen in het bloed zijn gevormd. Van deze druppels, die, ten einde het begin van stolling der rode bloedlichaampjes te verkrijgen, enige tijd bij kamertemperatuur in kleine buisjes worden gehouden, wordt het

serum door afcentrifugeren der bloedlichaampjes gewonnen en door microreactie onderzocht op de aanwezigheid van antilichamen. Wanneer het serum blijkt een voldoende hoge titer te hebben verkregen, wordt het dier verbloed, waarbij het bloed in een glazen buis wordt opgevangen en de eerste uren bij kamertemperatuur bewaard. Het serum scheidt zich nu af van de rode bloedlichaampjes; voor de volledige afscheiding wordt de buis met het bloed nog een nacht in de ijskast bij $\pm 2^{\circ}\text{C}$ bewaard. Daarna wordt het serum afgegoten; afcentrifugeren geeft geen sterkere afscheiding van het serum uit de bloedkoek. Bij toediening van niet gezuiverde viren worden in het bloed ook antilichamen gevormd tegen in het plantensap nog aanwezige normale bestanddelen. In dit geval dient het verkregen antiserum ontdaan te worden van deze antilichamen door er 2 tot 5 maal de hoeveelheid normaal plantensap aan toe te voegen. Dit mengsel wordt 2 uur bij 37° gezet en gedurende de nacht bij 0° bewaard. Het gevormde precipitaat, bestaande uit de verbinding van de normale sapbestanddelen met de overeenkomstige antilichamen, wordt afgecentrifugeerd.

Voor de eigenlijke reactie, nl. het aantonen van een bepaald virus in het te onderzoeken plantensap, onderscheidt men *a.* de precipitatie-reactie, *b.* de agglutinatie-reactie, *c.* de complement-bindingsreactie. Naast deze reacties kent men voor de diagnostiek nog *d.* de anaphylaxis.

a. Bij de precipitatie-reactie wordt het in het sap opgeloste virus neergeslagen door de voor het virus specifieke antilichamen van het serum, waaruit van te voren door behandeling met gezond sap de „gezonde” antilichamen zijn verwijderd. Het precipitaat kan met het blote oog en ook microscopisch worden waargenomen. Bij de macroscopische methode mengt men het te onderzoeken sap, dat door afcentrifugeren bevrijd is van chloroplasten en andere grotere bestanddelen, en het antiserum in de regel in nauwe buisjes, plaatst deze in een waterbad bij 37°C en controleert na enige tijd (15, 30 of 60 minuten) of zich vlokken hebben gevormd (fig. 1). Bij de microscopische methode wordt een druppel sap met een druppel antiserum samengebracht op een dekglasje. Na mengen der beide druppels wordt het dekglasje omgekeerd op een glazen ringetje gelegd, dat op een objectglas is vastgekit. Een weinig vaseline zorgt voor een luchtdichte afsluiting tussen dekglasje en ring. De hangende druppel wordt nu bij 37°C in een thermostaat gezet en na 15, 30 of 60 minuten microscopisch op het al of niet aanwezig zijn van kleine vlokjes onderzocht. Deze vlokjes zijn het duidelijkst zichtbaar bij donkerveld-belichting, daar zij dan sterk oplichten. De microscopische methode heeft op de macroscopische voor, dat zij gevoeliger is. Bij beide methoden moeten de nodige contrôles ter vergelijking worden ingezet, nl. gezond sap met antiserum, ziek sap met anti-gezond serum en ziek sap met 0,85 % NaCl. Dit laatste is nodig, omdat alle sap-verdunningen met 0,85 % NaCl-oplossing zijn geschied.

Bij het toepassen van de precipitatie-reactie dient men te bedenken, dat ook bij aanwezigheid van antigeen en antilichaam, niet steeds een precipitaat ontstaat. Voor het ontstaan van een precipitaat moet de onderlinge verhouding in hoeveelheid antigeen en antilichamen binnen bepaalde grenzen blijven. Zo treedt er geen precipitatie op als de hoeveelheid antigeen zeer veel groter is dan de hoeveelheid antilichaam (pro-zône-effect) of zeer veel kleiner. Dit wil niet zeggen, dat antigeen en antilichaam niet met elkaar reageren, maar het reactie-product geeft geen aanleiding tot de vorming van een precipitaat.



Fig. 1. De drie linkse buisjes bevatten resp. 0,1, 0,05 en 0,025 mg „bushy stunt“-virus; de drie rechtse buisjes dezelfde hoeveelheden tabaksmozaïekvirus; in het midden een buisje ter contrôle met physiologische zoutoplossing zonder virus. Het „bushy stunt“-virus geeft met zijn homologe antiserum een dicht, granulair precipitaat. Het tabaksmozaïekvirus geeft met zijn homologe antiserum een vlokkelig precipitaat (F. C. Bawden en N. W. Pirie, Brit. J. Exp. Path. 19: 251, 1938).

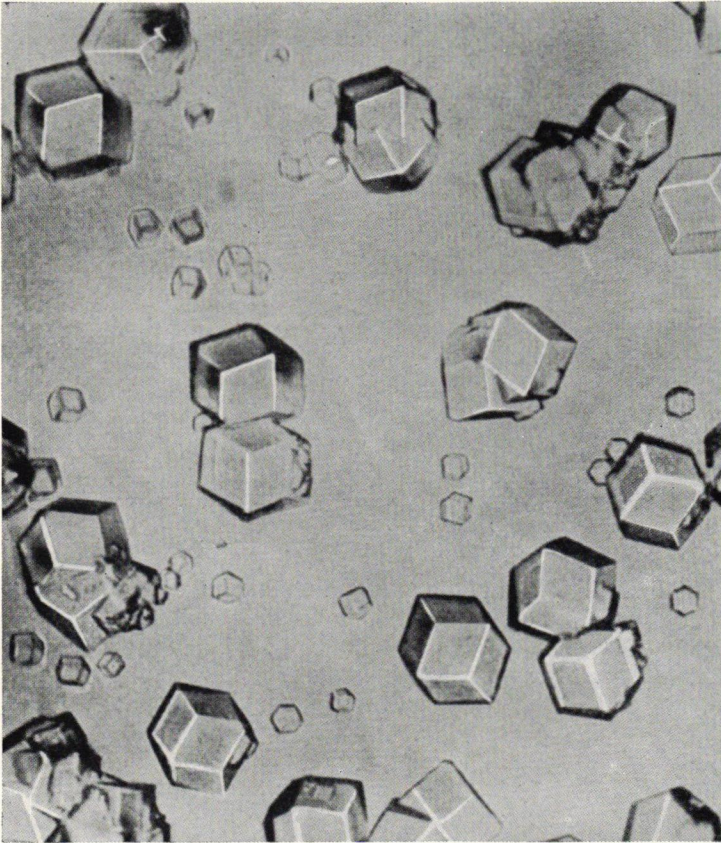


Fig. 4. Dodecaheders van het „bushy stunt“-virus van de tomaat, ontstaan door langzame precipitatie met ammoniumsulfaat in de koude. Het preparaat werd twee keer gekristalliseerd. De grote kristallen werden bij de eerste kristallisatie verkregen; de kleinere bij de tweede (F. C. Bawden en N. W. Pirie, Brit. J. Exp. Path. 19: 251, 1938).

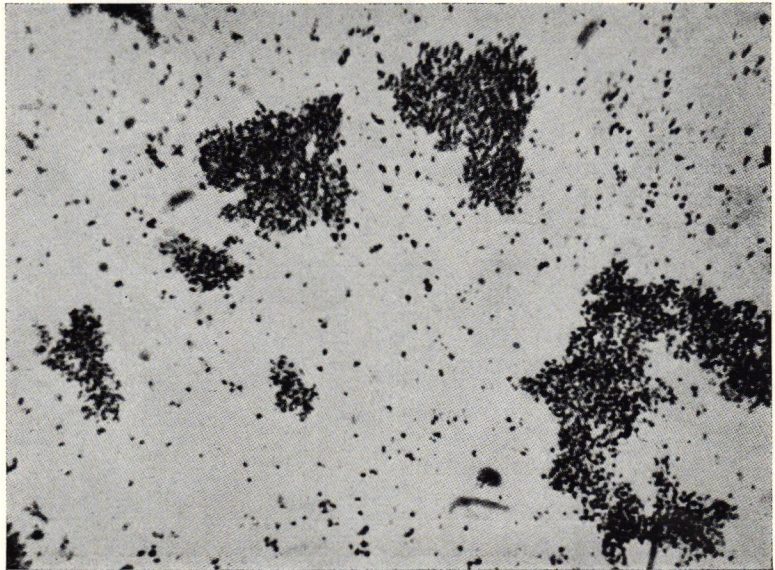
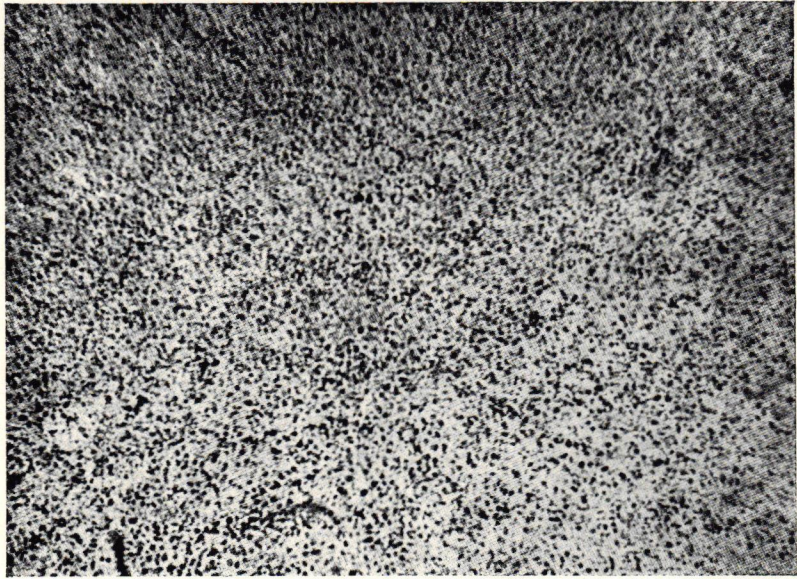


Fig. 2. Agglutinatie-reactie, microscopisch beeld.
A. Verzadigd anti-X-serum met sap van gezonde aardappel, ras Alpha.
B. Verzadigd anti-X-serum met sap van X-viruszieke aardappel, ras Alpha
(E. van Slogteren, Med. N.A.K. 2: 7, 1945).

Het uitblijven van een reactie met ziek sap kan dus het gevolg zijn van het pro-zône-effect. Indien dit de reden is, zal na verdunning van het sap wèl een precipitaat moeten ontstaan.

In het volgende zal nog worden meegedeeld, dat de wijze van precipitatie een aanduiding is voor de vorm van het virus. Een compact granulair precipitaat wijst op korte of ronde virusdeeltjes, terwijl een vlokkig precipitaat door langgerekte of staafvormige virusdeeltjes wordt veroorzaakt.

b. Bij de agglutinatie-reactie wordt gebruik gemaakt van het feit, dat de in het sap gesuspendeerde plantenbestanddelen, zoals chloroplasten, na toevoegen van antiserum samenballen, indien aan deze bestanddelen virusdeeltjes zijn vastgehecht. Op een object-glas wordt een weinig plantensap vermengd met antiserum. Hiervoor moet ongecentrifugeerd sap worden gebruikt, waarin zich de chloroplasten nog bevinden. Na zeer korte tijd vormen zich, bij aanwezigheid van virus, klonten, die uit een groot aantal aan elkaar gehechte chloroplasten bestaan. Deze zijn bij zwakke vergroting onder de microscoop duidelijk zichtbaar (zie fig. 2); dikwijls is een microscoop niet nodig, daar zij ook reeds met het blote oog waarneembaar zijn. Ook hier zijn de onder *a* genoemde contrôles nodig.

c. De complement-bindings-reactie. Deze maakt gebruik van een indicator, nl. rode schapenbloedlichaampjes. Deze blijven onveranderd wanneer de reactie, nl. de binding van antigeen (het te onderzoeken virus) en antilichaam, positief uitvalt. Bij negatieve reactie treedt lysis op van rode bloedlichaampjes. Bij inspuiting van een konijn met rode bloedlichaampjes van een schaap worden in het serum haemolysinen tegen deze lichaampjes gevormd, nl. bestanddelen, die rode schapenbloedlichaampjes ontleden indien er vrij complement bij aanwezig is. Dit is een thermolabiel bestanddeel van het normaal serum. Van dit vrije complement wordt het antiserum van het ingespoten konijn bevrijd door verhitting bij 56 °C. Treedt bij een mengsel van antischapenserum en rode schapenbloedlichaampjes lysis op, dan is dit een teken, dat vrij complement aanwezig is. Geen lysis betekent dus, dat geen vrij complement aanwezig is, de vloeistof blijft onveranderd van kleur. Dit mengsel van rode schapenbloedlichaampjes plus het haemolysinen bevattend antiserum doch zonder complement wordt het haemolytisch systeem genoemd. Wanneer een antigeen, in het onderhavige geval het te diagnosticeren virus, en de betreffende antilichamen samenbinding geven, dus een positieve reactie, wordt het daaraan toegevoegd complement (nl. vers cavia-serum) aan het gevormde antilichaam-antigeen complex gebonden, en geheel opgebruikt bij toepassing der juiste verhoudingen. Het later er bij gebracht haemolytisch systeem zal geen verandering vertonen, nl. geen lysis. Is dit echter wel het geval, dan betekent dit, dat het gezochte antigeen (virus) niet in de onderzochte vloeistof aanwezig is.

d. De anaphylaxis is het verschijnsel dat cavia's ingespoten met kleine hoeveelheden van een bepaald virus, overgevoelig worden voor dit eiwit. Een acht weken later volgende inspuiting, met hetzelfde virus, veroorzaakt bij de dieren een shock. Blijft deze shock achterwege dan is dit een bewijs, dat het later ingebrachte virus of eiwit niet overeenkomt met het voor de sensibilisatie gebezigde.

Te Lisse zijn thans antisera verkregen tegen de viren van de volgende ziekten: gebroken tulpen, bonte irissen, het grijs, het bruin en het zilver van de narcis, de vergelingsziekte van de biet, de mozaiekziekte van de tabak en tegen de viren X, Y en A van de aardappel.

Behalve voor de diagnostiek is de serologie ook van belang voor het nagaan van de verwantschap tussen verschillende viren. Viren van verschillende herkomst, die op een gemeenschappelijk antiserum reageren, zijn als ze niet identiek zijn, aan elkaar verwant. Hierop komen wij nog nader terug.

§ 3. De zuivering van het virus

Voor verschillende onderzoeken kan het van belang zijn met zo zuiver mogelijke viren te werken; dit is het geval voor het verkrijgen van antiserum en voor het maken van foto's met de electronenmicroscop. Verder slagen in enkele gevallen inoculatieproeven beter, wanneer met gezuiverd sap wordt gewerkt.

Enkele in Holland gebezigde methoden zijn door ALGERA, THUNG en VAN DER WANT (1947) reeds beschreven. Deze komen in het volgende weer ter sprake.

Van het uitgeperste sap van zieke plantendelen dienen allereerst bestanddelen, als normale eiwitten en kleurstoffen, zoveel mogelijk verwijderd te worden. Planten, gegroeid in kassen gedurende de wintermaanden, zijn het beste uitgangsmateriaal, omdat ze weinig van deze bestanddelen bevatten.

Dit verwijderen kan geschieden door het perssap gedurende tien minuten op 60 °C te verhitten, waarbij ongewenste elementen coaguleren en door afcentrifugeren afgescheiden kunnen worden van het virus, dat in oplossing blijft. Wanneer het virus deze verhitting niet verdraagt, kan door toevoeging van 30 cm³ van een 4% Na₂HPO₄-oplossing per 100 cm³ perssap hetzelfde bereikt worden. Om het X-virus van de aardappel af te zonderen gaat men uit van met dit virus besmette tabaksplanten, daar de concentratie hierin groter is dan in aardappelplanten. BAWDEN en PIRIE (1938) passen eerst bevroering van het perssap toe, na ontdooiing voegen zij 15 gram Na₂HPO₄ per liter sap toe. Na het centrifugeren bij ongeveer drieduizend omwentelingen per minuut, wordt de heldere bovenstaande vloeistof afgescheiden. Het X-virus wordt hierin neergeslagen door toevoeging van 18,5 g (NH₄)₂SO₄ per 100 cm³ vloeistof of door aanzuring van de vloeistof tot pH = 4,5. Het neerslag wordt afgecentrifugeerd en opgelost in water tot een volumen, dat 1/10 van het oorspronkelijke bedraagt. Met NaOH wordt de oplossing geneutraliseerd en door centrifugeren van onzuiverheden bevrijd tot ze helder is.

Bij de zuivering van het tabaksmozaiekvirus wordt per 100 cm³ van chlorophyl en andere normale plantestoffen bevrijd perssap, 25 g (NH₄)₂SO₄ bij kleine hoeveelheden tegelijk toegevoegd, wat overeenkomt met 1/3 verzadiging. Door voortdurend roeren wordt het sulfaat in oplossing gebracht, waarna het virus zich gaat afscheiden. Door afcentrifugeren en weer oplossen van dit materiaal kan men de bewerking enige malen herhalen. De afscheiding van het tabaksmozaiekvirus kan ook bewerkstelligd worden door de virusoplossing aan te zuren tot pH = 3,5 met verdund zout- of azijnzuur; als indicator kan bijv. broomphenolblauw dienst doen, waarbij men telkens één druppel van de vloeistof na geleidelijke toevoeging van het zuur apart onderzoekt. Het mozaiekvirus scheidt zich af bij aanwezigheid van restanten van (NH₄)₂SO₄. Bij bovengenoemde bewerkingen kan men steeds

de aanwezigheid van het mozaiek- of het X-virus controleren door de vloeistof op stromingsdubbelbreking te onderzoeken.

Het principe van genoemde voorbeelden van viruszuivering is, dat deze viren in neutraal milieu door toevoeging van $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ neergeslagen worden. De hoeveelheid van dit sulfaat hangt af van het virus, de pH van de oplossing, de zuiverheid en de temperatuur. Over het algemeen voegt men $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ aan de virushoudende vloeistof toe tot de concentratie $\frac{1}{3}$ tot $\frac{1}{4}$ van de verzadiging bedraagt. Deze verzadiging is bij 20°C 75 gram per 100 cm^3 .

Uitvlokking van het virus wordt eveneens verkregen bij het iso-electrisch punt van het virus-eiwit. In het bovenstaande is gebleken, dat dit punt voor het tabaks-mozaiekvirus ligt bij $\text{pH} = 3,5$ en voor het aardappel X-virus bij $\text{pH} = 4,5$.

Na herhaald uitzouten kan men het tabaksmozaiekvirus verder zuiveren door dialyse. Men neemt daartoe het viruseiwit in een weinig water op en dialyseert in cellophaanhulzen: tweemaal een etmaal ten opzichte van leidingwater en nog eens tweemaal een etmaal ten opzichte van gedestilleerd water. Aldus worden de zoutresten verwijderd. Het virus is dan als raphiden waar te nemen. Het door uitzouten met $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ en door aanzuring tot $\text{pH} = 4,5$ gezuiverde X-virus van de aardappel geeft een preparaat dat, hoewel dubbelbreking bij stroming vertonende, door onzuiverheden bruin gekleurd is. Langs twee wegen kunnen de ongewenste bestanddelen verwijderd worden, nl. door destructie ervan door trypsine of door het virus te sedimenteren in een centrifuge met hoog toerental. De eerste behandeling geschiedt met 0,05 % trypsine bij $\text{pH} = 7,5$ en 38°C gedurende 90 minuten. Een deel (ongeveer $\frac{1}{3}$) van het viruseiwit wordt hierdoor wel is waar ontleed, doch de onzuiverheden worden praktisch geheel afgebroken, zodat de oplossing thans kleurloos wordt. De verdere behandeling geschiedt weer door neerslaan met $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ en aanzuring. Het aldus verkregen virus bevindt zich in parakristallijne vorm, waarmee men wil aangeven, dat de deeltjes niet regelmatig in drie dimensies zijn opgebouwd; bij echte kristallen is dit wel het geval. Men neemt aan, dat de eiwitmoleculen in de naaldvormige deeltjes van het tabaksmozaiekvirus alleen in dwarse doorsnede regelmatig in rechthoekig verband zijn gerangschikt. In lengterichting is de rangschikking van deze moleculen echter onregelmatig (fig. 3).

Als tweede methode om ongewenste bestanddelen te verwijderen, werd het afcentrifugeren van het virus genoemd. Men kan dit bereiken door het preparaat van het X-virus gedurende drie uren te centrifugeren in een veld van 16.000 maal de zwaartekracht, hetgeen overeenkomt met een snelheid van

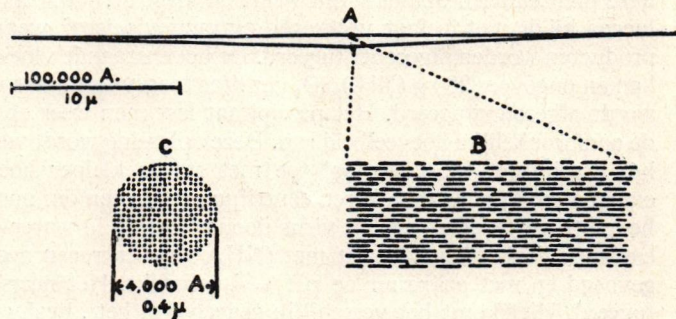


Fig. 3. Schematische voorstelling van de parakristallen van het tabaksmozaiekvirus. A. Typisch parakristal. B. Lengtedoorsnede. C. Dwarse doorsnede (J. D. Bernal en I. Fankuchen, *Nature* 139: 923, 1937).

ongeveer 12000 toeren per minuut. Bij deze veldsterkte wordt echter slechts $\frac{1}{3}$ tot $\frac{1}{5}$ deel van het virus gesedimenteerd. Doelmatiger is het derhalve hiervoor een ultracentrifuge met een veel krachtiger veld te gebruiken. Het sediment wordt weer in water opgelost, waarna men bruin materiaal verwijdert door deze oplossing te centrifugeren bij 3000 toeren per minuut. Door deze bewerking van afwisselend centrifugeren bij hoog en bij laag toerental te herhalen kan een kleurloos viruspreparaat worden verkregen.

Door PFANKUCH en KAUSCHE (1938) is bij de eerste zuivering van het perssap van met X-virus besmette tabaksplanten chloroform toegepast, nl. door het perssap met de dubbele hoeveelheid water te verdunnen en daarna bij kamertemperatuur gedurende 20 minuten zeer krachtig te roeren met $\frac{1}{7}$ volume chloroform. Hierbij moet men er op letten, dat geen lucht door de vloeistof wordt geroerd en dat de vloeistof niet schuimt, om contact van het virus met de zuurstof van de lucht zoveel mogelijk te voorkomen. De door de chloroform gecoaguleerde bestanddelen worden vervolgens direct afgecentrifugeerd gedurende 20 minuten bij 3000 toeren per minuut en de bovenstaande vloeistof gedurende minstens 15 uur in een koelkast even boven het vriespunt bewaard. Daarna wordt nogmaals bij 3000 toeren per minuut gecentrifugeerd en de heldere vloeistof afgeschonken. Hieraan wordt het halve volumen koude verzadigde $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -oplossing toegevoegd. Het ontstane neerslag wordt na een half uur afgecentrifugeerd en opgelost in $\frac{1}{30}$ m fosfaatbuffer pH = 7. Het neerslaan met $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ en het weer oplossen in fosfaatbuffer wordt nog eens herhaald, waardoor bevredigende zuivering wordt bereikt. Door dialyse in cellophaan worden de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -restanten verwijderd. De bij deze behandeling ontstane vlokken kunnen door centrifugeren verwijderd worden. Uit deze oplossing wordt ongeveer $\frac{1}{3}$ van het aanwezige virus neergeslagen door gedurende drie uren bij 15000 toeren per minuut te centrifugeren. Het gesedimenteerde virus kan in gedestilleerd water worden opgelost of in $\frac{1}{10}$ m fosfaatbuffer pH = 7.

Het „bushy stunt”-virus van de tomaat kan in zuiver kristallijne vorm afscheiden worden (BAWDEN en PIRIE, 1943). Omdat dit virus bij verhitting inactiviteit ontleed wordt, voegt men voor elke 100 cm³ perssap van zieke tomatenplanten 30 cm³ van een 4 % oplossing van Na_2HPO_4 aan de persrest toe, waarna men deze plantendelen opnieuw fijn wrijft en uitperst. Het eerste perssap voegt men hierna bij de met fosfaat verkregen extractievloeistof, waarna de gecoaguleerde producten worden afgecentrifugeerd. De bovenstaande vloeistof wordt afgeschonken en ongeveer 280 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ per liter toegevoegd. Het virus slaat nu neer en wordt afgecentrifugeerd. Het precipitaat lost men weer op in water tot $\frac{1}{10}$ van de oorspronkelijke hoeveelheid sap. Deze oplossing wordt weer gecentrifugeerd en het precipitaat tot tweemaal toe met steeds kleiner hoeveelheden water geëxtraheerd. Deze laatste keren centrifugeren dienen om nog aanwezige onzuiverheden te verwijderen en het virus door oplossing in water op te nemen. De drie extractievloeistoffen van het met $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ verkregen neerslag worden samengevoegd en met azijnzuur op pH = 4 gebracht. Het neerslag wordt afgecentrifugeerd. Hier komt het verschil in gedrag van het „bushy stunt”-virus met het tabaksmozaiekvirus naar voren, nl. het eerste virus blijft bij deze pH in oplossing. Aan de aldus gezuiverde virusoplossing wordt zeer langzaam $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ toegevoegd, tot een troebeling ontstaat, die door roering niet meer verdwijnt. Een amorph precipitaat, dat het meeste virus bevat, zal na enkele uren bij kamer-

temperatuur zijn gevormd. Door centrifugeren kan men dit van de vloeistof scheiden. Het precipitaat wordt twee à drie keer geëxtraheerd met een oplossing van acetaatbuffer, zodanig dat het volumen van de drie extracten samen ongeveer $\frac{1}{100}$ van de oorspronkelijke hoeveelheid sap vormt. Bij kamertemperatuur voegt men vervolgens druppelsgewijs verzadigde $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -oplossing toe, totdat een opalescentie optreedt, wat het begin van de afzetting van virus betekent. Bij 0 tot 2 °C wordt deze vloeistof echter weer helder, want het merkwaardige is, dat het amorphe „bushy stunt”-virusneerslag meer oplost in water bij 0–2 °C dan bij kamertemperatuur. Door te centrifugeren bij 0–2 °C (bijv. in kleine buisjes binnen grotere met smeltend ijs) worden onoplosbare delen afgecentrifugeerd, terwijl het virus in oplossing blijft. Dit centrifugeren geschiedt bij 2000 toeren per minuut gedurende 1 kwartier. De bovenstaande vloeistof wordt nu afgeschonken en bij 0–2 °C gehouden. Na enkele uren begint het „bushy stunt”-virus uit te kristalliseren. Mocht dit niet snel genoeg gebeuren, dan kan men dit forceren door enige druppels $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -oplossing aan de vloeistof toe te voegen. De kristallen zijn rhombische dodekaheders (fig. 4). Bij kamertemperatuur verkrijgt men van de moederoplossingen amorphe virus-precipitaten.

Voor het verkrijgen van deze kristallen hebben wij in de practijk deze bewerking in zoverre bekort, dat na het neerslaan der onzuiverheden door aanzuring tot pH = 4, waarbij het virus in oplossing blijft, aan de afgeschonken vloeistof druppelsgewijs verzadigde $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -oplossing wordt toegevoegd tot een zwakke troebeling ontstaat, waarna de virushoudende vloeistof in smeltend ijs wordt geplaatst. Na enige tijd verdwijnt de troebeling weer en gaat het virus zich langzaam in kristallijne toestand afscheiden. Binnen 48 uur is de hierbij bereikbare kristallisatie voltooid.

Door ons is het meest gewerkt op het gebied van het zuiveren van tabaksmozaiek I. Aan de bovenbeschreven methoden van zuivering van dit virus kan nog als aanvulling toegevoegd worden, dat de afbraak van de eiwitten, andere dan het viruseiwit, mogelijk is door toevoeging van trypsine, zoals dat bij de zuivering van het X-virus is beschreven. Meestal wordt in dit geval bij het perssap trypsine tot een concentratie van 0,1 % gevoegd en gedurende 10 uur bij 37 °C bij pH = 7 geïncubeerd. Het mozaiekvirus, dat veel resistenter is tegen trypsine dan het X-virus, wordt niet aangetast, hoewel deze behandeling toch enig verlies van infectievermogen ten gevolge heeft.

BAWDEN en PIRIE (1946) hebben na het uitspersen van de zieke tabakspflanzen enzymen uit de slakkenmaag gebruikt om in de persrest de plantenvezels te destrueren, ten einde het tussen de plantenvezels aanwezige virus vrij te maken. De enzymen van de slakkenmaag breken nl. het virus niet af. In excrementen van slakken, gevoed met mozaiekzieke tabakspflanzen wordt dan ook zeer veel virus teruggevonden. Met de behandeling van slakken-enzymen is het gelukt tot 10 % van de totale droge stof van de plant aan virus vrij te krijgen.

Naast het eerder vermelde principe van het uitzouten van virus met $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, gaat het in het bovenstaande dus ook om het principe van het neerslaan van het tabaksmozaiekvirus bij een pH van ongeveer 3,4 (tussen 3 en 4) bij aanwezigheid van zouten, terwijl als derde principe nog gereleveerd dient te worden, dat de smetstof neerslaat bij centrifugeren met een snelheid van 40–50.000 toeren per minuut.

PRICE (1945) zuiverde het „southern bean”-mozaïekvirus door gebruik te maken van alcohol. Na aanvankelijke precipitatie met $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ en daarna oplossing in water wordt 30 % alcohol toegevoegd. Hierin is het virus oplosbaar maar bepaalde verontreinigingen niet. Na afcentrifugeren van deze verontreinigingen kon de virusoplossing weer met $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ worden behandeld. Het ontstane virusneerslag werd in water opgelost, uit welke oplossing de smetstof door ultracentrifugeren kon worden geprecipiteerd en wel in kristallijne vorm.

Ook het „turnip yellow mosaic”-virus is in kristallijne vorm te verkrijgen (MARKHAM en SMITH, 1946). Bladeren van met dit virus besmette Chinese kool worden fijn gemalen en uitgeperst. Het sap wordt door centrifugeren bevrijd van grove deeltjes en daarna met $\frac{1}{3}$ volumen 97 % alcohol gemengd. Er ontstaat een coagulatieproduct, dat het virus bevat. Na bezinking gedurende enige uren wordt de ge-coaguleerde massa afgecentrifugeerd, de licht gekleurde vloeistof afgeschonken en het groene neerslag uitgetrokken met $\frac{1}{2}$ % NaCl-oplossing; de hoeveelheid benodigde oplossing is ongeveer $\frac{1}{3}$ tot $\frac{1}{2}$ van het oorspronkelijk sap. Daarna worden de onopgeloste bijproducten afgecentrifugeerd. Door toevoeging van $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ tot $\frac{1}{3}$ verzadiging aan de afgeschonken vloeistof wordt het virus neergeslagen. Het vormt kleine kristalletjes. Na enige tijd is de precipitatie van de smetstof volledig; de kristallen kunnen door afcentrifugeren gewonnen en door verder extraheren in water bevrijd worden van onoplosbare bijproducten. Het virus kan weer worden uitgekristalliseerd door nogmaals $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ toe te voegen, nl. verzadigde $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -oplossing in een half volumen van de virusoplossing. De aldus verkregen hoeveelheid virus is ongeveer 170 mg per 1 liter plantensap. De kristallen zijn zeer klein, isotropisch en schijnen octaheders te zijn. Zij geven in water een kleurloze opaliserende vloeistof.

Bijzondere vermelding verdient nog de zuivering van het zgn. „tobacco necrosis”-virus door BAWDEN en PIRIE (1942). Uit het werk van deze onderzoekers is gebleken van welke betekenis de viruszuivering tevens voor het vaststellen van de graad van verwantschap tussen bepaalde viren kan zijn. Dit moge duidelijk worden uit het onderstaande. „Tobacco necrosis” werd in 1935 door SMITH en BALD beschreven. Deze ziekte vertoonde twee kenmerken, waardoor zij zich onderscheidde van andere tot nu toe bekende virusziekten. Ten eerste is er geen waardplant van bekend, waarop ze „spreid-symptomen” veroorzaakt. Op tabak en boon ontstaan slechts de zgn. „local lesions”, nl. necrotische plekjes op de geïnoculeerde bladeren, terwijl de niet geïnoculeerde plantendelen volkomen ziektevrij blijven. Ten tweede kan het virus voorkomen in het wortelstelsel van planten, die niet de minste ziekteverschijnselen vertonen. Door PIRIE *et al.* werden in 1938 gezuiverde preparaten van dit virus verkregen, waarbij de ervaring werd opgedaan, dat steeds twee fracties konden worden geïsoleerd: een kristallijne in de vorm van dunne ruitvormige plaatjes en een amorphe.

Later werd door BAWDEN en PIRIE (1946) het onderzoek voortgezet met vier soorten materiaal afkomstig van verschillende oorsprong, nl. één van wortels van schijnbaar gezonde aardappel, een tweede van wortels van schijnbaar gezonde tabak, een derde van gedroogd, necrotisch bonenblad afkomstig van Princeton (U.S.A.), terwijl een vierde uit de reeds te Rothamsted onderzochte virusstam bestond. Ter isolering van de viren in zuivere toestand werd van „local lesions”, gebruik gemaakt. Deze methode lijkt veel op die, welke in de bacteriologie wordt toegepast, waarbij men een verdunde bacterie-suspensie op een voedings-

bodem in een Petrischaal uitgiet en daarna in de broedstroof weg zet. Men neemt dan aan, dat iedere kolonie, die na verloop van tijd is ontstaan, afkomstig is van één enkele bacterie. Aldus is het mogelijk verschillende soorten van bacteriën van elkaar te scheiden. Ook komt de methode overeen met het vervaardigen van mono-spore-isolaties in de mycologie, een werkwijze, die o.a. dient om verschillende physiologische rassen van een bepaalde schimmel van elkaar te scheiden. Een verdunde suspensie van het „tobacco necrosis”-virus werd op een bonenblad gebracht. Na enkele dagen ontstonden hierop de kenmerkende „local lesions”, necrotische vlekken, waarvan er een aseptisch werd uitgesneden. Wordt zo'n vlek in water gebracht, dan kan men hiermee een blad van een gezonde tabaks- of bonenplant inoculeren; de symptomen, die daarop ontstaan worden dan zeer waarschijnlijk alle door één virusstam veroorzaakt. De door BAWDEN en PIRIE gebezigde zuiveringsmethode bij hun onderzoek over het „tobacco necrosis” is in het kort als volgt. Tabaksbladeren worden 6 à 8 dagen na de inoculatie, als de locale necrose zich goed heeft ontwikkeld, verzameld en gemalen. De gemalen massa wordt, na eventueel eerst bevroren te zijn geweest, door dunne, dichtgeweven stof uitgeperst, waarna men aan de uitgeperste massa per liter perssap 250 cm^3 4 % Na_2HPO_4 -oplossing toevoegt. Daarna wordt de massa weer gemalen en uitgeperst. De twee persvloeistoffen worden gemengd en aan het mengsel onder goed roeren het halve volumen aan 90 % alcohol toegevoegd. Het groene neerslag wordt afgecentrifugeerd en verwijderd. De afgeschonken vloeistof zuurt men nu aan met 2N HCl tot $\text{pH} = 4,5$ of 4. Het neerslag, dat daarbij ontstaat, wordt ook afgecentrifugeerd en verwijderd. Per liter heldere vloeistof voegt men 2 liter 95 % alcohol toe. Het mengsel wordt gedurende een uur nu en dan geroerd, waarna men het nog een uur laat staan om het gevormde neerslag te laten bezinken. Vervolgens decanteert men de meeste vloeistof, waarna men het neerslag in een half uur afcentrifugeert met een omwentelingssnelheid van 3500 toeren per minuut. In dit neerslag bevindt zich het virus. Men extraheert het met een drie-percentige oplossing van $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ in 0,5 % azijnzuur. Doorgaans is drie maal extraheren voldoende om al het virus in oplossing te brengen. Men verkrijgt een heldere bruine vloeistof, waaraan per 100 cm^3 30 tot 60 cm^3 verzadigde $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -oplossing wordt toegevoegd. Het virus gaat zich nu afscheiden; na 5 tot 24 uur staan bij kamertemperatuur wordt de vloeistof minstens 45 minuten bij 3500 toeren per minuut gecentrifugeerd. Het neerslag wordt daarna enkele malen met water uitgetrokken; men verkrijgt een kleurloze, zwak opaliserende vloeistof.

Met deze methode gaat een deel van het virus verloren, terwijl soms ook het infectievermogen vermindert. Bij de zuivering kan voorts ook gebruik worden gemaakt van de eigenschap, dat deze viren bij 0°C oplosbaarder zijn in verdunde $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -oplossing dan bij kamertemperatuur. Hun gedrag is in dit opzicht gelijk aan dat van het „bushy stunt”-virus. Men voegt dan bij kamertemperatuur bij de gedeeltelijk gezuiverde virus-oplossing druppelsgewijs een verzadigde $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -oplossing toe tot de eerste verschijnselen van opalescentie optreden. Daarna laat men de vloeistof enkele uren bij 0°C staan, gedurende welke tijd het virus weer oplost, doch bepaalde verontreinigingen niet. Door centrifugeren bij 0°C kan men deze van het virus scheiden. Voegt men vervolgens meer verzadigde $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ toe, dan gaat het virus zich weer uit de oplossing afscheiden. De verschillende virusstammen, die het verschijnsel van „tobacco necrosis” veroorzaken, werden aldus in kristallijne of amorphe toestand verkregen. De herkomst van

aardappel gaf ruitvormige, dunne plaatjes. Diverse, oorspronkelijk van tabak afkomstige viren, gaven verschillen te zien. Twee hiervan geleken in hun gedrag zo sterk op elkaar, dat ze waarschijnlijk identiek waren: uit oplossing met pH kleiner dan 5 werden deze viren verkregen in regelmatige laminae van een meer of minder cirkelvormige gedaante (fig. 5). Tussen pH = 5 tot 7 ontstaan gewoonlijk bipyramiden (fig. 6), dodecaheders en diverse typen van tweelingkristallen. Een derde van tabak afkomstige isolatie gaf echter uitsluitend hexagonale prisma's, die soms stompe, soms gepunte einden vertoonden. Een isolatie afkomstig van Princeton gaf een neerslag, dat uit zeer kleine op bacteriën gelijkende deeltjes bestond. Kristallen werden niet waargenomen, ook niet als het virus zeer langzaam werd geprecipiteerd. Ten slotte werd van een isolatie afkomstig uit Rothamsted slechts amorph materiaal verkregen. Een mengsel van twee vormen van het „tobacco necrosis”-virus gaf twee kristalvormen te zien (fig. 7).*

Deze gezuiverde preparaten zijn door BAWDEN en PIRIE (1946) ook serologisch onderzocht, waarbij bleek, dat enkele van deze viren, zowel gezuiverd als ongezuiverd, slechts reageren met hun antisera. Daar de serologische methode ons een inzicht kan geven in de graad van verwantschap tussen verschillende viren kan geconcludeerd worden, dat enkele van deze „tobacco necrosis”-viren niet tot dezelfde groep behoren. Het betreft in die gevallen dus geen stammen van één virus, doch volkomen verschillende viren. Gebleken is, dat die serologisch verschillende viren ook in verschillende vorm uitkristalliseren. Het onderzoek heeft dus tevens verklaard, waarom PIRIE *et al.* in 1938 twee fracties isoleerden: de betreffende cultuur bevatte niet één virus, doch twee viren, die, hoewel gelijk in symptomen op tabak, belangrijk verschillen in: 1e de wijze, waarop zij in gezuiverde toestand optreden; 2e in hun serologische reactie.

Men heeft dus bij „tobacco necrosis” een geval, waarin verschillende viren identieke symptomen veroorzaken.

Door dit onderzoek is tevens aangetoond, dat virusclassificaties gebaseerd op symptomen alleen, op een onjuiste basis berusten.

§ 4. De electronenmicroscopie

De eerste, die inzag, dat een bundel electronen door een combinatie van axiaal-symmetrische magnetische en elektrische velden op dezelfde wijze wordt afgebogen als een lichtbundel door een lenzenstelsel, is BUSCH (1926) geweest. Toch duurde het nog tot 1934 vóór een electronenmicroscop het eerst op biologische objecten werd toegepast (MARTON, 1934).

Het virusonderzoek met de electronenmicroscop dateert van 1939 (KAUSCHE, PFANKUCH en RUSKA) en heeft pas de laatste jaren een wijde vlucht genomen. Het heeft thans bevestiging gebracht van de vondsten der andere methoden en nieuwe gegevens verstrekt.

Van de uitgebreide literatuur over de principes van deze microscopie en over de verschillende typen van de electronenmicroscop moge wat betreft handboeken genoemd worden dat van ZWORYKIN, MORTON, RAMBERG, HILLIER en VANCE en voorts de artikelen van LE POOLE (1947), VAN DORSTEN, OOSTERKAMP en LE POOLE (1947) en LE RÜTTE (1947).

Gebruik makende van het golfkarakter van bewegende electronen, waarvan de golflengte belangrijk kleiner is dan die van het zichtbare en ultraviolette licht,

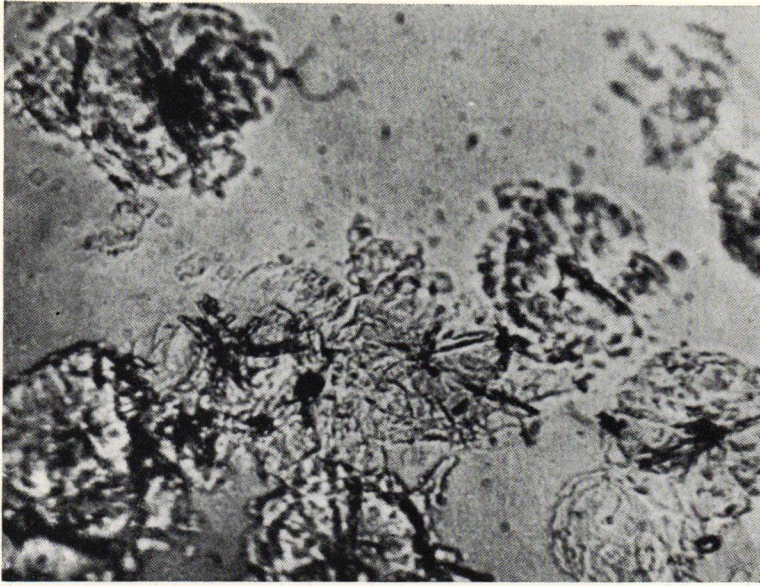


Fig. 5. Kristallen van een „tobacco necrosis”-virus in de vorm van ronde laminae. Een andere kristalvorm van dit zelfde virus is afgebeeld in fig. 6 (F. C. Bawden, *Plant viruses and virus diseases*, p. 150, 1943).

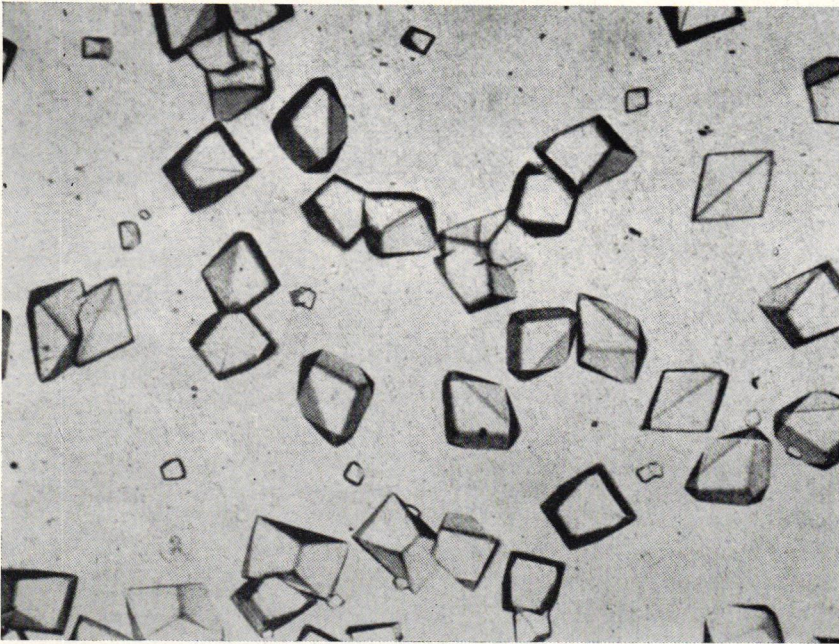


Fig. 6. Kristallen in de vorm van bi-pyramiden van het zelfde virus als afgebeeld in fig. 5. De bi-pyramiden zijn dubbelbrekend (F. C. Bawden, *Plant viruses and virus diseases*, p. 151, 1943).

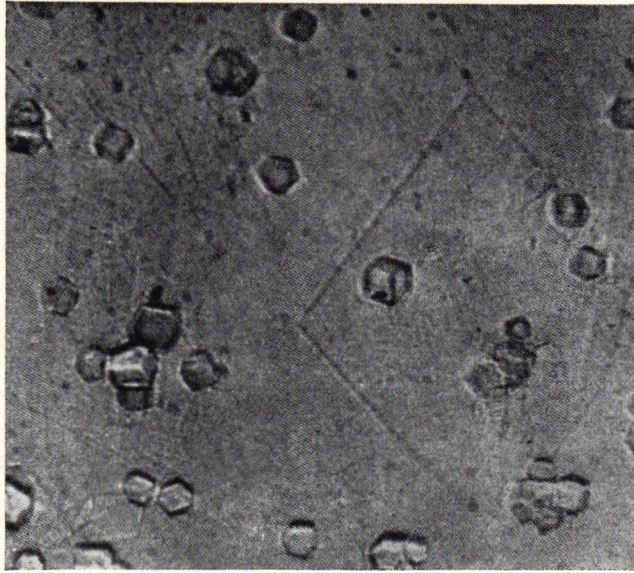


Fig. 7. Kristallen van een mengsel van „tobacco necrosis”-viren, verkregen uit wortels van een besmette tabaksplant. Plaatjes en dodecaheders komen samen voor (F. C. Bawden, *Plant viruses and virus diseases*, p. 149, 1943)



Fig. 9. Electronenfoto van de staafvormige deeltjes van het ratelvirus van de tabak („shadowcasted” met goud) (J. P. H. van der Want en A. Rozendaal, *Tijdschr. Pl.-ziekten* 54 : 137, 1948).

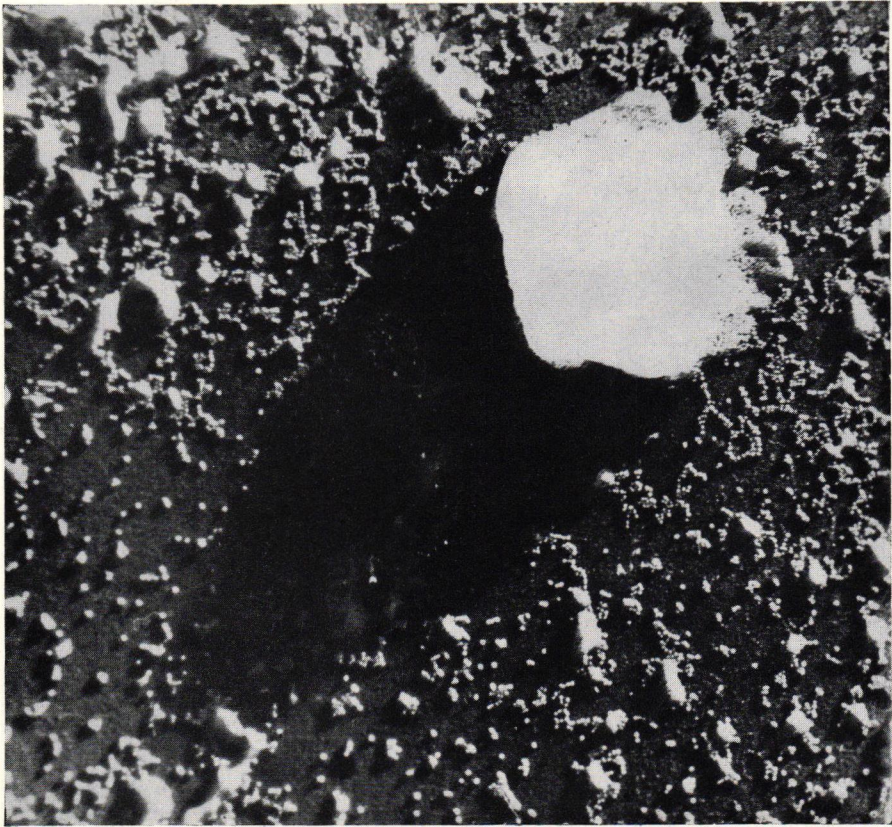


Fig. 10. Electronenfoto van de bolvormige deeltjes van het „bushy stunt“-virus van de tomaat („shadowcasted“ met goud). Naast kleine en grote aggregaten van virusdeeltjes zijn alleenliggende deeltjes waarneembaar. (Opname: T. H. Thung en Wouter van Iterson, vervaardigd met de electronenmicroscop van de Technisch Physische Dienst T.N.O. en T.H., afd. Electronenmicroscopie te Delft)

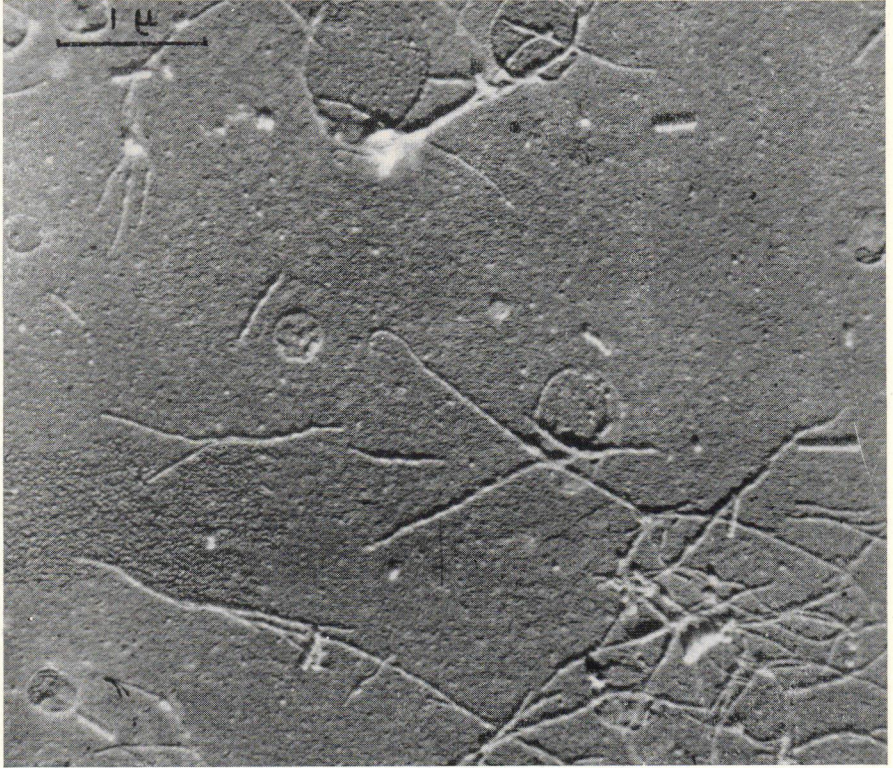


Fig. 11. Electronfoto van aggregaten van de draadvormige deeltjes van het X-virus van de aardappel; enkele staafvormige deeltjes van het stengelbontvirus zijn ook zichtbaar („shadowcasted” met goud). (J. P. H. van der Want en A. Rozendaal. Tijdschr. Pl. ziekten 54 : 136, 1948.)

zijn electronenmicroscopen met een groot oplossend vermogen gebouwd, in staat voorwerpen van de grootte van enkele tientallen $m\mu$ af te beelden. Het oplossend of scheidend vermogen geeft de minimum afstand aan, waarop twee punten van elkaar moeten liggen om nog gescheiden van elkaar te kunnen worden waargenomen. Indien de afstand tussen deze twee punten kleiner is dan de grootte van de golflengte van het gebezigde licht, dan worden de stralen van dit licht te sterk afgebogen, zodat ze aan de andere zijde van het object over een brede hoek worden verstrooid, ten gevolge waarvan ze de lens niet of nagenoeg niet bereiken; de bedoelde afstand wordt dan niet weergegeven. De grens van het oplossend vermogen is op de helft van de betreffende golflengte te stellen, dus voor het zichtbare licht van 200 tot 400 $m\mu$; voor het ultraviolette licht kunnen wij dit stellen op ongeveer 100 $m\mu$.

De golflengte van de electronen is afhankelijk van hun snelheid, welke snelheid bepaald wordt door het potentiaalverschil tussen kathode en anode. Hoe groter de snelheid, des te kleiner de golflengte. Electronen met een energie van 150 kV hebben een golflengte van $\pm 0,003 m\mu$ (LE POOLE, 1947). Hierdoor is een mogelijkheid geopend om een scheidend vermogen te bereiken, dat ± 100.000 maal groter is dan dat van ultraviolet licht. In de praktijk heeft men bij een versnellingsspanning van 150 kV een scheidend vermogen kunnen bereiken van 1,5 à 3 $m\mu$.

De electronenmicroscop is op principieel dezelfde wijze ingericht als de lichtmicroscop. Zoals bij deze laatste de lichtstralen door lenzen worden geconvergeerd, worden bij de electronenmicroscop de electronenstralen geconvergeerd door sterke magnetische of electrostatische velden en spreekt men hier naar analogie van de lichtmicroscop van de condensorenls en de objectieflens. In plaats van te spreken van oculair kan men hier beter spreken van projectielens daar het licht niet direct zichtbaar is; de stralen worden geprojecteerd op een fluorescerend scherm. Ter plaatse waar de electronen dit scherm treffen, neemt men een oplichten waar (zie fig.8). Daar de fotografische plaat wèl gevoelig is voor de electronen kan fotografische opname plaats vinden. De electronen verlaten de kathode met de gewenste energie (meestal 50 of 100 kV), passeren een cirkelvormig doorboorde anode en verlaten de versnellingsbuis als een bundel met constante snelheid. Deze stralengang moet in vacuüm verlopen om botsingen met de luchtmoleculen te voorkomen. Hierdoor

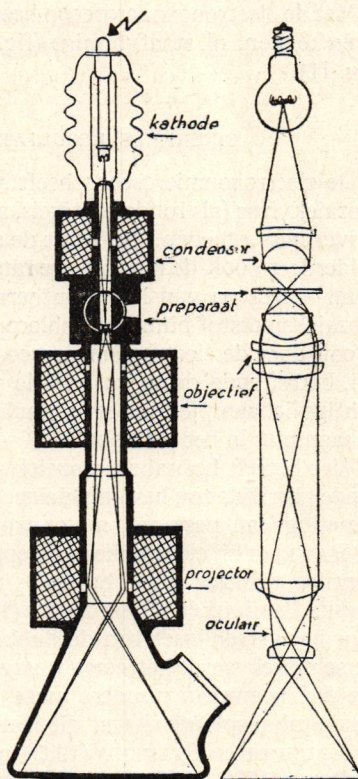


Fig. 8. Schematische voorstelling van de electronenmicroscop in vergelijking met de lichtmicroscop (W. A. le Rütte, A.O. no 161, 1947).

komt het te bestuderen object eveneens in vacuüm, waardoor structuurveranderingen niet uitgesloten zijn.

Om meer tekening in de waarnemingsbeelden te verkrijgen, wordt gebruik gemaakt van het reliëf der diverse onderdelen van het object, en wel door „shadowcasten”. Vóór het opnemen worden de objecten eerst in een speciale ruimte in vacuüm met een metaallaag bestoven, welke bestuiving van uit een schuine hoek van een verdampingspunt uitgaat. Hierdoor wordt een schaduw-effect tot stand gebracht. Het gebruikte metaal is meestal goud, dat door gloeiing tot verdamping wordt gebracht, waardoor gouddeeltjes in een molecuulair-fijne laag tegen en op de verhogingen in het object worden afgezet. Een nadeel van goud is het coaguleren wanneer de electronenbundel een te hoge intensiteit heeft; hierdoor komen in de goudlaag kunstmatige vertekeningen, die met de objecten niets te maken hebben, maar die een verkeerde indruk van deze objecten kunnen opwekken. Zo neemt men bij de staafjes van tabaksmozaiek een parelsnoerachtig voorkomen waar, waardoor de indruk wordt gewekt, als zouden de staafjes uit korte deeltjes bestaan.

Met de electronenmicroscop heeft men tot nu toe drie vormen van virusdeeltjes leren kennen, nl. staafvormige (fig. 9), bolvormige (fig. 10) en meer draadvormige (fig. 11).

C. ENKELE RESULTATEN VAN HET MODERNE ONDERZOEK

De electronenmicroscop heeft verduidelijkt, dat de vorm van het tabaks-mozaiekvirus (als ronde partikels, als korte of lange staafjes) afhankelijk is van de zuiveringsmethoden. Hij heeft de specificiteit van agglutinatie met antisera opgehelderd; zo ook de regelmatige rangschikking van de moleculen van het „bushy stunt”-virus en van het „southern bean”-mozaiekvirus. Het voorkomen van de mozaieksmetstof binnen de chloroplasten, reeds bewezen door andere methoden, is ook door de electronenmicroscop aangetoond. Nieuwe vondsten zijn gedaan o.a. betreffende de vorm van de phaag van *Escherichia coli* als spermatozoidachtige lichaampjes met een granulaire tekening in het kopgedeelte en de granulaire lichaampjes in het pokkenvirus.

Wat betreft het tabaksmozaiekvirus: de oorspronkelijke opvatting, dat het uit ronde partikels zou bestaan kleiner dan $50\text{ m}\mu$, omdat het virus poriën van deze afmeting kan passeren, moest worden gewijzigd. In 1933 kwamen TAKAHASHI en RAWLINS bij electrophorese-bepalingen tot de conclusie, dat het virus uit staafvormige deeltjes moet bestaan; tot dezelfde conclusie zijn daarop BAWDEN, PIRIE, BERNAL en FANKUCHEN (1936) en LAUFFER en STANLEY (1938) gekomen door het verschijnsel van de dubbele breking bij stroming in gezuiverd sap. Dit verschijnsel werd het eerst waargenomen door TAKAHASHI en RAWLINS (1933), die dit, hoewel in mindere mate, ook meenden te constateren bij sap van gezonde tabaksplanten; wat dit laatste betreft, konden BAWDEN en PIRIE (1937) en LAUFFER en STANLEY (1933) geen bevestiging vinden. Verder zijn BAWDEN en PIRIE (1937, 1945) tot de opvatting gekomen, dat tijdens het zuiveren lineaire aggregatie van de virus-deeltjes plaats vindt, waardoor uiteenlopende lengten kunnen ontstaan, nl. van beneden de $300\text{ m}\mu$ tot over de $1400\text{ m}\mu$. Door het onderzoek met de electronenmicroscop is inderdaad bevestigd, dat bepaalde stadia van de smetstof de staafvorm bezitten, waarbij volgens STANLEY en ANDERSON

(1941) de afmetingen $15\text{ m}\mu$ bij $280\text{ m}\mu$ zouden zijn. De juistheid van het getal 280 wordt door FRAMPTON (1942), RAWLINS (1944) en anderen betwijfeld. Naar aanleiding van nadere analyses der door STANLEY met de electronenmicroscop opgenomen foto's bleken de eerder als lange staafjes beschouwde virus-deeltjes aggregaten te zijn van kortere, onregelmatige stukken; veel kortere stukjes, zelfs van $37\text{ m}\mu$, kunnen worden waargenomen. Volgens CROOK en SHEFFIELD (1946) kunnen daarnaast, afhankelijk van de gebezigde zuiveringsmethode, ronde partikels en zeer lange staafjes tot zelfs $1400\text{ m}\mu$ worden geconstateerd, wat een bevestiging is van de opvattingen van BAWDEN en PIRIE (1945). De mening is thans: „Sap from minced leaves probably has little or nothing in common with any fluid that exists in intact cells” (BAWDEN en PIRIE, 1945). WYCKOFF (1947) vond in bevroren materiaal van tabaksmozaiek met „shadowcasted” electronenfoto's een dusdanige laagsgewijze rangschikking van moleculaire partikels, dat ze filmpjes vormen. Deze filmpjes gelijken op die van bindweefsel en ander materiaal, dat uit langgerekte cellen bestaat. Ze scheuren en rollen op, op dezelfde wijze.

De proeven van BAWDEN en PIRIE (1945, 1946) en van BAWDEN en KASSANIS (1945) hebben deze auteurs tot de opvatting gebracht, dat de virussmetstoffen kort na de inoculatie geabsorbeerd worden door of gebonden aan bepaalde onoplosbare celcomponenten en dat zij pas vrij in het celvocht komen, nadat zij tot vermeerdering zijn gekomen. Een zieke plant heeft dan ook behalve met het perssap vrijkomende smetstoffen belangrijke hoeveelheden van dezelfde smetstof in onoplosbare toestand; alleen na speciale behandelingen, bijv. door toevoeging van enzymen, zoals dat uit de slakkenmaag, aan het persresidu, zijn de onoplosbare smetstoffbestanddelen vrij te krijgen. Het infectievermogen echter is meestal niet gelijk aan dat van de eerste partij.

Verder staat het vast, dat het mozaiekvirus bij het uitpersen in het sap als geaggregeerde partikels vrij komt. Bij een methode, waardoor deze aggregatie tot het minimum is beperkt, blijken volgens PIRIE (1945) de partikels niet homogeen te zijn; zij kunnen door partiële ultracentrifugeringen in gedeelten worden gescheiden, die uiteenlopende eigenschappen bezitten. Fracties kunnen hierbij worden afgescheiden, die geheel of gedeeltelijk tot de bekende geaggregeerde staafjes kunnen worden omgezet, terwijl zij oorspronkelijk geen duidelijke anisotropie vertonen. Het normale tabakssap bevat stoffen met krachtig aggregerende eigenschappen.

De langzaamst sedimenterende gedeelten echter bevatten tot 40 % materiaal, dat niet tot aggregatie aanleiding geeft, vertonen geen stromingsdubbelbreking, hebben serologische overeenkomst met somatische antigenen en bezitten slechts een zwak infectievermogen. Somatische of O-antigenen zijn in de bacteriologie bekend als te zijn gebonden aan het bacterielichaam en geven een compacte granulaire agglutinatie, terwijl de flagellaire of H-antigenen gebonden zijn aan de zweepdraden en met het antiserum een vlokkige agglutinatie vertonen. Naar aanleiding hiervan wordt een compacte granulaire precipitatie bij het virusonderzoek beschouwd als een aanwijzing, dat het betreffend virus uit korte of meer ronde partikels bestaat, terwijl een vlokkige precipitatie een virus aantoont, bestaande uit langgerekte of staafjesvormige partikels. Over het verschil van agglutinatie en precipitatie is in de paragraaf over de serologie het een en ander medegedeeld. De snelst sedimenterende fracties bevatten vrijwel uitsluitend virusnucleoproteïne, vertonen stromingsdubbelbreking en geven een serologische overeenkomst met antigenen van het flagellaire type.

De eerstgenoemde fracties zijn onstabiel en gaan voor een deel gemakkelijk over in vormen, die in eigenschappen overeenkomen met de laatstgenoemde fracties.

Men meent nu, dat het oorspronkelijke virus niet langgerekt is, zelfs mogelijk bolvormig, en dat het in de plant gecombineerd met ander materiaal voorkomt. Bij het loslaten van dit laatste materiaal komt bindingsaffiniteit vrij, waardoor korte deeltjes aggregeren tot de lange, die door verschillende auteurs met de electronenmicroscopie zijn waargenomen. Het mindere infectievermogen van de korte deeltjes ligt waarschijnlijk aan het gebonden zijn aan ander materiaal. Immers het enige criterium van het al of niet infectieus zijn van smetstofdeeltjes bestaat in het meer of minder snel zich kunnen vermeerderen of vermeerderd worden. Het is denkbaar, dat het gekoppelde niet-virus-materiaal remmend op deze vermeerdering werkt. De activiteit van de mozaïekviren gaat ook verloren door de staafjes in kleinere deeltjes te laten breken in een basisch milieu van $\text{pH} = 11,7$, maar deze activiteit wordt verhoogd door de staafjes in kleinere te breken door bevroering en later ontdooing in neutraal milieu. Ditzelfde effect wordt volgens KAUSCHE en STUBBE (1938) ook bereikt door bestraling met Röntgen- en γ -stralen. De algemene indruk is wel, dat in een neutraal milieu de infectieusiteit groter is naarmate de virusdeeltjes korter zijn, althans wanneer ze afkomstig zijn van lange staafjes.

Volgens LUISE HOLZAPFEL (1941) zijn de grenzen der virusactiviteit van tabaksmozaïek $\text{pH} = 2,6-9,5$. Bij $\text{pH} = 9,8$ worden door het virusproteïne twee componenten gevormd met sedimentatieconstanten 185 en 125, terwijl bij $\text{pH} = 11,7$ de reeds eerder gemelde kleinere stukjes worden verkregen. De betreffende sedimentatieconstanten zijn 8,1 en 3,8. De smetstof wordt irreversibel geïnactiveerd. Bij electrophorese blijkt de kathode-vloeistof weinig infectieus te zijn, terwijl de anode-vloeistof wel veertig maal zo infectieus is.

Echter hebben SIGURGEIRSSON en STANLEY (1947) medegedeeld, dat bij ongeveer $\text{pH} = 11,3$ geen breking tot kleinere deeltjes plaats vindt. Hun electronenfoto vertoont hoofdzakelijk samenklontering, alhoewel enkele korte en ronde partikeltjes te zien zijn. De gezuiverde preparaten vertonen overwegend staafjes van $280 \text{ m}\mu$ lengte, die bij lang staan tot lange draden aggregeren met verminderde besmettelijkheid. Door roeren van de suspensie worden ze weer tot de oorspronkelijke lengte en de oorspronkelijke besmettelijkheid teruggebracht.

LORING, LAUFFER en STANLEY (1938) komen tot de conclusie, dat uit sap behandeld met zuren, zouten en alcohol lineaire aggregaties van mozaïekdeeltjes worden afgescheiden, maar dat niet geaggregeerde smetstofpartikels vrij komen bij het ultracentrifugeren van uitgeperst sap. OSTER (1947) heeft gezuiverd virus door geluidsgolven (9000 trillingen per sec) tot kortere staafjes stuk getrild. Vele staafjes breken eerst in tweeën, later nogmaals; men vindt in de „shadow-casted” electronenfoto's practisch geen staafjes tussen 140 en $280 \text{ m}\mu$. Chemisch verandert het virus door deze behandeling niet, maar slaat, waarschijnlijk door groter oppervlak, meer antilichamen neer (MALKIEL, 1947). De besmettelijkheid daalt in dezelfde mate als het aantal deeltjes van $280 \text{ m}\mu$ afneemt. Volgens OSTER is dit een bewijs van STANLEY's opvatting, dat tabaksmozaïekvirus uit deeltjes van $280 \text{ m}\mu$ bestaat. Het getrilde virus kan weer tot langere deeltjes aggregeren, maar hierdoor stijgt de besmettelijkheid niet. Eerdere studies betreffende de invloed van ultrasonore golven zijn gepubliceerd door TAKAHASHI en CHRISTENSEN (1934) en STANLEY (1934).

Zo komen wij voor het tabaksmozaiek tot verschillende mogelijkheden wat betreft de wijze van optreden, nl. als x-bodies, als myxomyceet-achtige lichamen, als plaatjes zoals in haarcellen, als korreltjes, als staafjes en als lange draden.

De vraag is geopperd: kan men door electronenmicroscopisch onderzoek aanwijzen waar de smetstof zich vermeerderd of wordt vermeerderd in de cel? Daar het virus een fosforhoudend nucleoproteïne is, heeft men gedacht, dat het tot synthese komt in lichamen van het celplasma, die een overeenkomstige chemische samenstelling bezitten.

KAUSCHE en RUSKA (1940) menen door opnamen met de electronenmicroscop van stukgemaakte chloroplasten van zieke planten te hebben bewezen, dat de virusdeeltjes in de chloroplasten tot vermeerdering komen. Ze hebben een foto gepubliceerd van een rij grana, die door chloroplast-substantie aan elkaar zijn gebonden en die staafjesvormige partikels naar buiten stekend te zien geven. Deze zijn dan de mozaieksmetstof. Ze hebben ook een proef genomen door vloeistof met gave chloroplasten afkomstig van mozaiekzieke tabaksplanten te inoculeren in *Datura stramonium*. Hier kregen ze geen besmetting. Werden de chloroplasten stuk gemaakt, dan verkregen ze een zeer infectieuze vloeistof. Dit destrueren der chloroplasten gebeurde door „differential Zentrifugieren”. De lange staafjes beschouwen deze auteurs als de oorspronkelijke vorm van de mozaiekdeeltjes. De staafjesvorm kan echter ook toegeschreven worden aan de wijze van behandeling. Elke behandeling opent de mogelijkheid tot aggregatie. Voor ons blijft de vraag hoe het mogelijk is gave chloroplasten te verkrijgen zonder infectie-materiaal, aangezien wij uit eigen ervaring weten, dat bij zuivering met de chloroplasten steeds fragmenten van deze lichamen en van het celplasma worden meegevoerd. Een beschrijving van de behandelingsmethode is door KAUSCHE en RUSKA niet gegeven. Door ALGERA, BEYER, VAN ITERSON, KARSTENS en THUNG (1947) zijn op de volgende wijze chloroplasten van de tulp vrij geprepareerd. De bladeren worden in een vleesmolen gemalen. Tijdens deze bewerking wordt zoveel van een $\frac{1}{10}$ molaire Na_2CO_3 -oplossing bijgedruppeld, dat de pH van de fijn gemalen bladeren ongeveer 6,0 wordt. Na filteren door kaasdoek wordt 5 min. gecentrifugeerd bij 3000 toeren per min. Het donkergroene sediment wordt voorzichtig geschud en gesuspenderd in 10 % saccharose-oplossing. Door herhaalde malen centrifugeren bij zeer laag toerental en opnieuw suspenderen in 10% saccharose wordt een zuivere oplossing van intacte chloroplasten verkregen.

Deze methode toegepast op tabaksbladeren levert vrijwel uitsluitend beschadigde chloroplasten op.

Bij het bekijken van losgeprepareerde chloroplasten en grana van mozaiekzieke tabaksbladeren, hebben zij onder de electronenmicroscop vaak grana geconstateerd met mozaiekvirus-staafjes eraan, doch een bewijs, dat deze staafjes in de grana zijn gevormd is er niet mee geleverd, aangezien deze staafjes ook toevalligerwijze bij de grana kunnen zijn gekomen onder het maken der preparaten.

Een enkel woord zij nog gewijd aan het verschijnsel van dubbele breking bij stroming en aan het vormen van vloeibare kristallen, dat vooral door de Angelsaksische onderzoekers bij het mozaiekvirus is bestudeerd. Eén der eigenschappen van het gezuiverde tabaksmozaiekvirus is de volgende: in geconcentreerde oplossing (minstens 4% droge stof in minder goed gezuiverde preparaten of minstens 1,8 % in de zuiverste preparaten) gebracht geeft het na lange tijd staan twee lagen, nl. een onderste, welke spontaan dubbelbrekend is en een bovenlaag, welke dub-

belbreking bij stroming vertoont. BAWDEN *et al.* (1936) reproducieren de lichtende baan van een goudvis zwemmende in een verdunde oplossing van mozaiekvirus. (fig. 12). Wanneer de vloeistof in stilstand is, wordt tussen twee gekruiste Nicols geen licht doorgelaten, maar door de stroming door de zwemmende vis worden de mozaiekstaafjes min of meer parallel georienteerd, waardoor de vloeistof op de betreffende plaatsen dubbelbrekend wordt.

Het gaat om het volgende: wanneer men een enkel kristal om één der assen tussen twee gekruiste Nicols 360° draait, zal bij vier posities ervan geen licht door de laatste Nicol worden doorgelaten. Deze vier posities staan in rechte hoeken ten opzichte van elkaar en hierbij staat één van de doorlatende vlakken van het kristal parallel aan het vlak van polarisatie van de eerste Nicol. Tussen deze zgn. uitdovingsposities van het kristal wordt wel licht door de laatste Nicol doorgelaten. Indien men een preparaat, dat een grote hoeveelheid kristallen bevat, welke zonder enige orde zijn geplaatst, ook een draaiing van 360° laat maken tussen de Nicols, krijgt men altijd licht door de twee Nicols, omdat de uitdovingsposities der individuele kristallen telkens anders zijn. Amorphe stoffen zijn niet dubbelbrekend, ook niet kristallen van het cubische systeem, maar wel alle andere kristallen en ook lichamen, waarvan de moleculen op een bepaalde wijze regelmatig zijn gerangschikt. Zo zijn vezelachtige lichamen, zoals cellulose, haar en spieren dubbelbrekend, hoewel zij geen kristallen zijn. Vloeistoffen zijn in het algemeen als amorphe massa's te beschouwen en daarom ook niet dubbelbrekend. Maar vloeistoffen, die in rust wel dubbelbrekend zijn en dus de eigenschap van een kristal vertonen, worden vloeibare kristallen genoemd, waarbij het begrip vloeibaar niet zozeer slaat op de vloeistof-toestand als wel op de onvastheid van de structuur. De eerder behandelde parakristallen zijn dan ook tot de vloeibare kristallen te rekenen.

Het gaat bij het mozaiekvirus om de rangschikking der staafjes. In de onderlaag liggen de staafjes zo compact, dat ze gedwongen worden zich te rangschikken als lucifers in een doosje. Dit is bij mozaiekvirusstaafjes, die uiteenlopende lengten bezitten min of meer het geval, zodat zij tussen gekruiste Nicols gedeeltelijk uitdovingsposities vertonen (fig. 13). In zoverre zijn zij met vloeibare kristallen te vergelijken. De onderlaag bestaat uit zulke kristallen. Voor meer physische gegevens wordt verwezen naar het handboek van BAWDEN (1943).

Echte kristallen worden door tabaksmozaiekvirus in gezuiverde vloeistoffen in tegenstelling met het virus in plantencellen niet gevormd. Wel gebeurt dit volgens KAUSCHE (1939) in vloeistoffen door het samenbrengen van het gezuiverde en geconcentreerde virus met extracten van mozaiekzieke planten, waaruit het bladgroen is verwijderd.

II. DE VIRUSZIEKTEN

A. ALGEMENE BESCHOUWINGEN

Steeds meer komt men tot de overtuiging, dat vrijwel alle planten, misschien met uitzondering der Gymnospermen, Pteridophyten en Bryophyten, waarin zij nog niet gevonden zijn, door één of meer virusziekten worden aangetast, hoewel er nog streken zijn, die vrij zijn van bepaalde virusziekten, welke elders voorkomen. Zo schijnt Amerika onder meer nog vrij te zijn van de „streak”, de „Fiji”- en de „sereh”-ziekten van het suikerriet, terwijl op Java nog geen „Fiji”-ziekte voorkomt.

Op een enkele uitzondering na betekenen de virusziekten altijd een verlies aan kwantiteit en kwaliteit der opbrengsten. Een uitzondering vormen de infectieuze bontheid van bepaalde sierplanten, terwijl de gebroken kleuren der tulpen, de rijkdom der schitterende kleuren kunnen verhogen. Reeds in vroegere eeuwen werden tulpen met prachtige kleurpatronen zeer gewaardeerd; men ziet ze op schilderijen van oude meesters. Op de titelplaat is een schilderij van AMBROSIUS BOSSCHAERT uit 1619 gereproduceerd, waarop dergelijke tulpen zijn afgebeeld. Doch thans wordt aan de verbreiding van deze variëteiten paal en perk gesteld nu bekend is geworden, dat ze producten zijn van besmettelijke ziekten, die op andere tulpen overgebracht, nadelig kunnen worden; vooral daar de verspreiding van deze ziekten zo gemakkelijk kan geschieden door bladluizen. Het is mogelijk, dat de op de titelplaat afgebeelde anjelier ook virusverschijnselen vertoont. Men zie voor het anjelierenmozaiek CREAGER (1943).

Een andere uitzondering is de virusziekte van lichte Rode Star en lichte Industrie, die deze aardappels behoedt voor meer nadelige infecties. Dit wordt nog uitvoeriger behandeld.

Bij de bestudering der virusziekten bij gewassen let men vrijwel uitsluitend op de besmettelijkheid en de symptomen. De bestudering van het pathogeen zelf blijft meestal achterwege of wordt overgelaten aan de biochemicus. De phytopatholoog komt meestal via de negatieve kant tot de diagnose, nl.: de ziekte wordt niet veroorzaakt door bacteriën, schimmels, myxomyceten of protozoën en ook niet door physiologische oorzaken. De habitus van de zieke plant kan vaak de eerste aanwijzing geven, dat de ziekte door een virus wordt veroorzaakt.

Doch voor een diepgaande, alomvattende bestudering der plantenvirologie is een samenwerking geboden van phytopatholoog, biochemicus en biophysicus.

§ 1. De symptomen

De symptomen, die *uitwendig* zijn waar te nemen op wortels, stengels, bladeren, bloemen en vruchten zijn:

1. een meer of minder sterke plaatselijke of algehele chlorose;
2. zetmeelophoping;
3. vergroeiing, misvorming, woekering, tumor-vorming, bladafval;
4. necrotische vlekken en strepen;
5. groeistagnatie.

Deze symptomen komen bij de meeste virusziekten slechts te voorschijn bij die organen, die op het moment van infectie nog niet volgroeid zijn.

Tot de uitéénlopende verschijnselen behoren: de heksenbezemvorming, zoals bij de aardnoot, de bladrol bij de aardappelplant, de mozaiektekening op de bladeren bij talrijke gewassen, de vergeling van de bladeren bij de suikerbiet, de necrotische strepen op de stengels en de nerven van de boon bij de stippestreepziekte, de „sereh” bij het suikerriet, de geelrand bij de bladeren van de aardbei, het varenblad bij de tomaat en het netelblad bij de zwarte bes. Het varenblad is een sterke versmalling van de bladschijf, terwijl het netelblad een reductie is van het aantal zijnerven en tanden. Van de talrijke andere uitwendige symptomen noemen we nog de gebroken kleur van de tulp, de gezwollen scheuten van de cacao, de afgeplatte takken van de appel, de scheurende bladeren bij de ratelziekte van de tabak, tumoren op de stengels en wortels van de witte honigklaver (*Melilotus alba*).

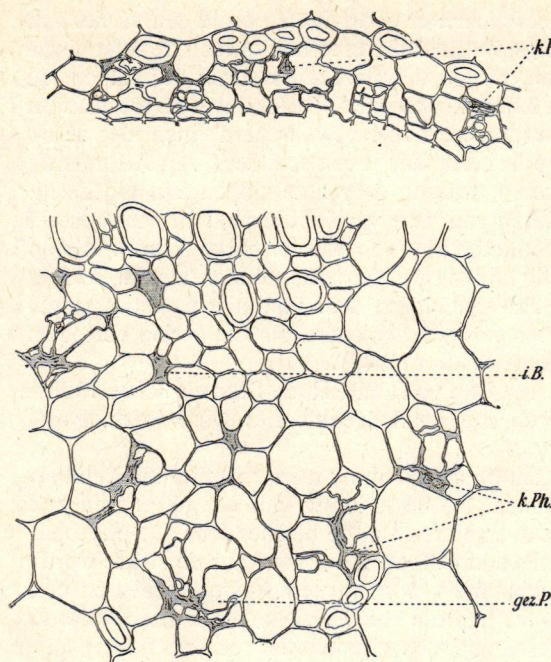


Fig. 14. Necrotische phloëmostrengen in de stengel van een bladrolzieke aardappelplant (ras Paul Krüger). Boven: extraxylair phloëem; onder: intraxylair phloëem. K. Ph. = necrotische phloëmostrengen; i.B. = bruine verkleuringen, die niet in verband staan met de ziekte; gez. P. = samengedrukte parenchymcellen (H.M. Quanjier, Med. R.H.L.T.B. School 6, Tafel VII, 1913).

Tot de *inwendige* symptomen behoren de gedeformeerde bladgroenkorrels in de gele gedeelten van het mozaiek-blad, die daarbij bleek zijn en kleiner dan normaal. De broze, vergeelde bladeren van de vergelingszieke biet bezitten sterk opgezwollen bladgroenkorrels, die ten slotte in elkaar schrompelen (KLINKENBERG, 1945). Bij de bladrolziekte van de aardappelplant treedt phloëmnecrose op (QUANJER, 1913). De phloëmostrengen verschrompelen zodanig, dat de wanden en lumina van de afzonderlijke zeefvaten en begeleidende cellen niet meer zijn te onderscheiden (zie fig. 14). Het zieke phloëem is bovendien geel gekleurd. Het wordt, met phloroglucine en zoutzuur, rood gekleurd, hetgeen er op wijst dat het verhouit is.

Zeer hevige phloëmnecrose treedt op bij de bietenplanten, lijdende aan de „curly top”-ziekte, die in Californië voorkomt (ESAU, 1933). Hierbij sterven zelfs phloëmparenchym-

cellen af, hetgeen bij bladrolzieke aardappelplanten niet geconstateerd kan worden.

QUANJER (1934) vond bij de vergelingsziekte van de biet aanzienlijk zwakkere symptomen in het phloëem. De inhoud van de begeleidende cellen en zeefvaten begint in de zieke planten geel te kleuren; daarna worden ook de wanden van deze phloëmelementen geel, terwijl ze tevens opzwellen. Ten slotte tekenen de afwijkende cellen en vaten zich af als donkergele partijen. Echter vertonen niet alle phloëmvaten en begeleidende cellen dit vergommingsverschijnsel in even sterke mate. Sommige blijven er normaal uitzien. KLINKENBERG (1945) constateerde, dat deze gomvorming pas optreedt als de afvoer van de assimilaten reeds is gestremd geworden.

Bij „topnecrose” van de aardappel wordt een necrose aangetroffen, die van het intraxylair phloëem op het omliggend parenchym overgaat. Vooral in de toppen der stengels treedt dit verschijnsel sterk op; vandaar de betreffende naam. De ziekte wordt bij sommige aardappelrassen door het X-virus veroorzaakt (QUANJER, 1931).

Stippelstreep bij de aardappel gaat gepaard met meer oppervlakkige necrose, die in het mesophyl van de bladeren begint en doorloopt door het schorsparenchym van nerven, bladstelen en stengels zonder de vaatbundels aan te tasten (QUANJER, 1931).

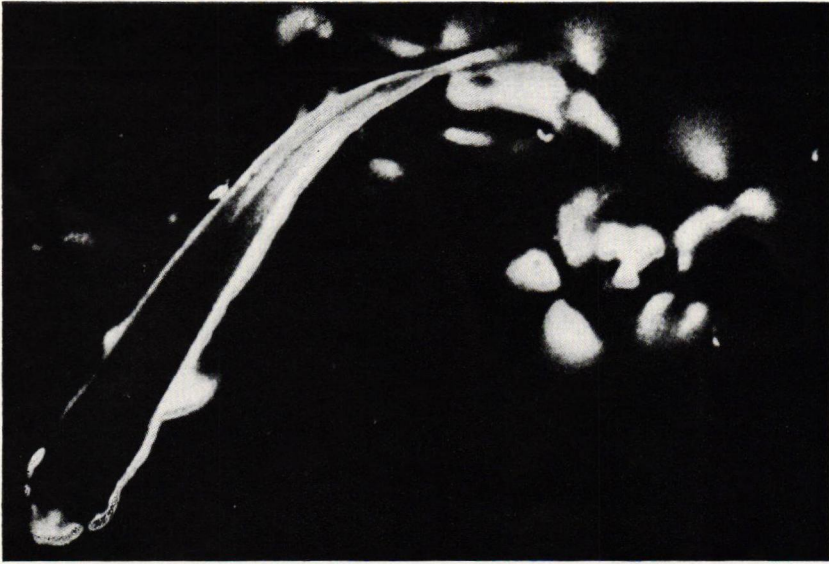


Fig. 12. Dubbelbreking door stroming. De gang van een goudvis, zwemmende in een verdunde oplossing van tabaksmozaïekvirus, geplaatst tussen gekruiste Nicols (F. C. Bawden, N. W. Pirie, J. D. Bernal en I. Fankuchen, Nature 138: 1051, 1936).

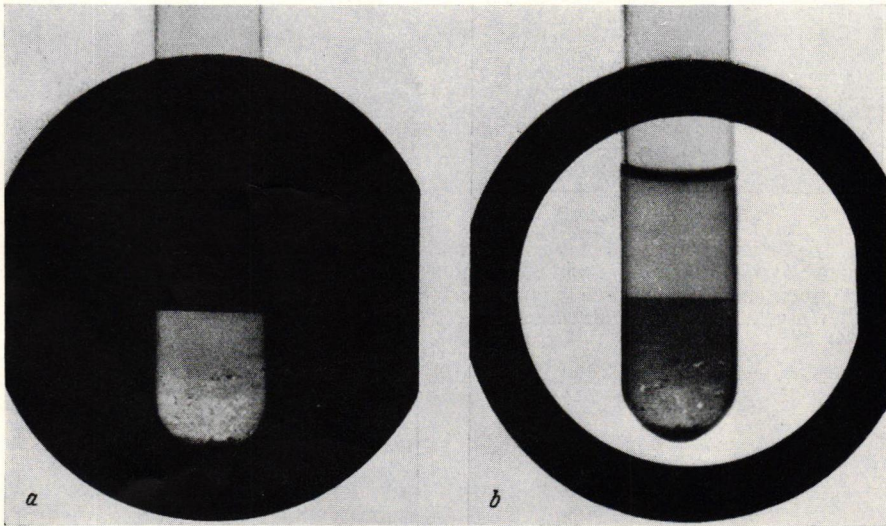


Fig. 13. Buisje met een geconcentreerde tabaksmozaïekvirusoplossing, die zich in twee lagen heeft gescheiden. Links: tussen gekruiste polaroid-platen; rechts: tussen evenwijdige polaroid-platen. De benedenste laag is spontaan dubbelbrekend; de bovenste laag is dit niet. Beide lagen vertonen dubbelbreking bij stroming (M. A. Lauffer en W. M. Stanley, J. Biol. Chem. 123: 507, 1938).



Fig. 15. De invloed van de temperatuur op het tot uiting komen van de mozaieksymptomen bij tabak. Links: blad van een plant, geplaatst bij gemiddeld 32 °C en geïnoculeerd met groen en wit mozaiekvirus. Rechts: blad van een plant, geplaatst bij gemiddeld 25 °C en geïnoculeerd met dezelfde viren.

Bij sommige virusziekten treden ongewone lichaampjes binnen de cellen op; het eerst heeft IWANOWSKI (1892) hierop gewezen; hij heeft bij tabak amorphe lichaampjes met vacuolen en kristallijne lichamen ontdekt; ze zijn vooral in de epidermis- en haarcellen te vinden.

§ 2. De infectie

De infectie verbreidt zich *meestal* door de gehele plant, d.w.z. ook die delen van de plant dragen de smetstof in zich, die de ziekte-symptomen niet vertonen, dus ook de vóór de infectie reeds volgroeide organen.

Het Engelse woord „systemic” is typerend voor de algemene verbreiding van de ziekteverwekker door de gehele plant. In het Nederlands is het woord „spreid-symptomen” door QUANJER (1942) ingevoerd, als tegenstelling tot „locale symptomen”. Een uitzondering op de algehele doordringing van de plant door de smetstof vormt meestal het embryonale weefsel der zaden; de ziekte gaat meestal niet op de uit zaad voortgekomen jonge planten over. De hiermede samenhangende problemen zullen nog nader worden behandeld.

§ 3. Smetstoffen

Refererend aan het reeds in Hoofdstuk I behandelde, worden in verband met de plant de eigenschappen der smetstoffen slechts categorisch aangeduid, voor zover ze dienstig kunnen zijn voor de diagnostiek van de ziekte. Het viruskarakter hiervan blijkt uit de volgende kenmerken van de ziekteverwekkers:

1. zij kunnen zich alleen vermenigvuldigen in levende planten (zij zijn obligaat of biotroop parasitisch);
2. zij zijn in de meeste gevallen, waarin infecties met sap mogelijk zijn, filtreerbaar door filters, die bacteriën tegenhouden (een geval van niet-passering van zulke filters vermeldt PRIODE (1928) van de „ringspot”-smetstof van tabak);
3. zij zijn in het plantensap met de gewone microscoop niet zichtbaar; met de ultra-microscoop kunnen bij sommige smetstof-bevattende plantensappen na filtratie speciale lichamen waargenomen worden, die met de electronen-microscoop in haar moleculaire structuur te bestuderen zijn;
4. zij hebben bij sommige ziekten („curly top” van de suikerbiet en „aster yellows”) een zgn. circulatie-tijd door te maken in het lichaam van bepaalde insecten;
5. zij hebben in sommige gevallen (tabaksmozaieksoorten) grote resistentie tegen chemicaliën en tegen verhitting, en kunnen jaren in gedroogd materiaal virulent blijven;
6. zij gaan bij geslachtelijke vermenigvuldiging meestal niet op de nakomelingen over (uitzonderingen vormen o.a. het virus 1 van de boon (*Phaseolus*) (REDDICK en STEWART, 1919), een virus van de erwt (DICKSON, 1922), een virus van de sla (*Lactuca*) (K. M. SMITH, 1937) en een virus van lupine (MASTENBROEK, 1942); bij een mozaiekziekte van de tomaat is ook zaad-overgang geconstateerd, wanneer het zaad spoedig na het winnen uitgezaaid wordt (VAN KOOT, 1939));
7. zij zijn in minimale doseringen infectieus; bij enkele tabaksmozaieksoorten zelfs tot 1 : 1.000.000.

Reactie van 7 *Nicotiana* spp. op tabaksmozaiekvirus bij verschillende temperaturen, volgens McKinney en Clayton (1945)

	Temperatuur			
	16,6 °C	22,5 °C	36,2 °C	38,8 °C
<i>N. glutinosa</i> L. ¹⁾	Locale necrotische vlekken	Locale necrotische vlekken	„Vein clearing”, diffuse chlorose en mozaiek	„vein clearing”, mozaiek
<i>N. rustica</i> var. <i>brasilia</i> SCHRANK	Locale necrotische vlekken	Locale necrotische vlekken, secundaire necrose	Locale chlorotische vlekken, „vein clearing”, mozaiek	Locale chlorotische vlekken, „vein clearing”, mozaiek
<i>N. alata</i> LINK et OTTO ²⁾	Locale necrotische vlekken	Locale necrotische vlekken, secundaire necrose	Locale chlorotische vlekken, „vein clearing”, mozaiek
<i>N. sanderae</i> W. WATTS ²⁾	Locale necrotische vlekken	Locale necrotische vlekken, secundaire necrose	Locale chlorotische vlekken, „vein clearing”, mozaiek
<i>N. maritima</i> H.-M. WHEELER ²⁾	Locale necrotische vlekken	Locale chlorotische vlekken, secundaire necrose	Locale chlorotische vlekken, „vein clearing”, mozaiek
<i>N. benthamiana</i> DOMIN	Locale verkleuringen („scalds”) en necrotische vlekken, milde secundaire necrose	Locale verkleuringen („scalds”), secundaire necrose	Locale chlorotische vlekken, secundaire necrose	Locale necrose en chlorotische vlekken, „vein clearing”, mozaiek
<i>N. repanda</i> LEHM	Locale necrotische vlekken, milde secundaire necrose	Locale necrotische vlekken, milde secundaire necrose	Locale chlorotische vlekken, secundaire necrose	Locale chlorotische vlekken ³⁾

¹⁾ Aanvullende proeven met *N. glutinosa* tonen aan, dat mozaiek gewoonlijk optreedt als de temperatuur op ongeveer 33,5 °C wordt gehouden, doch secundaire necrose treedt op tussen 29,5° en 32 °C.

²⁾ Een deel van de getoetste planten vertoonde alleen mozaiekverschijnselen.

³⁾ Twee planten ontwikkelden secundaire necrose, 3 planten waren vrij van secundaire symptomen. Overeenkomstige resultaten werden in een andere proef verkregen bij 41 °C.

(Noot van de schrijver: Onder „secundaire” symptomen worden blijkbaar spreidsymptomen verstaan.)

Uit een oogpunt van determinatie moeten plantenviren op één lijn gesteld worden met de viren, die bij mens en dier bepaalde ziekten veroorzaken; voorbeelden hiervan zijn: mazelen, roodvonk, trachoom, influenza, herpes, mond- en klauwzeer, hondsdoelheid, kippensarcoom. Ook de bacteriophagen zijn als viren te beschouwen. Zij alle behoren tot de zgn. „filtreerbare” smetstoffen, welke benaming echter, om reeds eerder aangegeven redenen, verouderd is.

Het opvallende van de virusziekten der planten is meestal de gewijzigde totale habitus. Aangezien bodem- en klimaatsinvloeden vaak verschijnselen kunnen te voorschijn roepen, die aan virusziekten doen denken, zoals bij de tabakspant de bodemziekte „hanepoot” of „tjakar”, kan de waarnemer niet uitsluitend afgaan op het „klinische beeld”, maar moet de bovengenoemde criteria aanleggen om zeker te zijn van het viruskarakter der ziekte.

§ 4. Variabiliteit der symptomen en toetsortiment

Aangezien de ziektesymptomen de resultante zijn van de werkzaamheid van de plant en die van de smetstof is het begrijpelijk, dat – wat betreft de plant – zowel variëteitsverschillen als groeiomstandigheden van invloed zijn op het tot stand komen dezer symptomen en – wat aangaat de smetstof – mogelijke eigenschapswijzigingen een rol in deze kunnen spelen. De gecultiveerde tabak vertoont bij aantasting door het mozaïekvirus andere symptomen dan de variëteit Ambalema (NOLLA, 1935). De eerste vertoont de bekende nuancering van donker- en lichtgroen, terwijl de laatste zeer zwakke of nagenoeg geen tekeningen laat zien. Bij de aardappel lopen de verschijnselen van de virusziekten bij de verschillende variëteiten eveneens zeer uit één. Zo vertoont Alpha bij bladrolziekte zeer hevige rolling, terwijl Eigenheimer in zeer zwakke mate dit beeld geeft. Bij stippestreepziekte krijgt Alpha de kenmerkende verschijnselen, Bevelander krinkel, Eigenheimer mozaïek en Zeeuwse Blauwe in het geheel geen symptomen (VERHOEVEN, 1946). Betreffende het Y-virus deelt BAWDEN (1943) mee, dat bij de variëteiten Majestic en President 3 fasen in het tot uiting komen van de ziekteverschijnselen zijn te constateren. Een paar dagen na de infectie ontstaan locale symptomen, nl. necrotische vlekjes op de geïnoculeerde bladeren; na ongeveer een maand treden spreidsymptomen op, nl. verkleuringen en krinkeling der na de infectie nieuw gevormde bladeren met necrose aan de onderkant der hoofdnerfen en de daaraan grenzende stengelgedeelten, gepaard met enige rolling van de lagere bladeren. De nabouw geeft minder necrose te zien, maar krijgt een dwergachtig en gekrinkelde voorkomen. Arran Victory daarentegen geeft bij de eerst geïnfecteerde planten en in de nabouw één ziektebeeld, nl. krinkel, nagenoeg geen necrose en geen rolling. Op de geïnoculeerde bladeren treden geen symptomen op. De Majestic- en President-planten hebben in de nabouw een zekere aanpassing aan de ziekte kunnen vinden. De smetstof zelf is niet veranderd, aangezien infectie met de uit de nabouw gehaalde smetstof op gezonde planten van genoemde aardappelvariëteiten weer de beginreacties te voorschijn roept.

De erwtenrassen Lincoln en Perfection demonstreren ook verschillende reacties ten opzichte van enkele erwtenviren; terwijl het eerste met bepaalde ziekteverschijnselen op deze viren reageert, is de laatste er immuun voor (AINSWORTH, 1940). K. M. SMITH (1929) vond andere symptomen van aardappelmozaïek bij „Virginia” dan bij „White Burley”-tabakspanten, nadat beide soorten door middel van een naald geïnfecteerd waren.

Bij andere species kan men weer geheel andere ziektebeelden verkrijgen. In plaats van mozaiekverschijnselen veroorzaakt het tabaksmozaiekvirus bij lagere temperatuur bij *Nicotiana rustica* en bij *N. glutinosa* de reeds eerder vermelde scherpe necrose-vlekjes op de geïnoculeerde bladeren. Bij *N. glutinosa* blijven dan doorgaans de symptomen hiertoe beperkt; bij *N. rustica* reageren echter na verloop van tijd ook de topbladeren met necrotische verschijnselen, terwijl de gehele plant sterk in groei achterblijft.

Aangaande de omstandigheden, die op het vormen van ziektesymptomen invloed kunnen uitoefenen, zijn te noemen: temperatuur, belichting, bodem- en luchtvochtigheid en bemesting. Bepaalde temperaturen kunnen de ziektebeelden meer of minder hevig doen optreden en zelfs doen verdwijnen. Belangwekkende onderzoekingen betreffende de invloed van de temperatuur op de aard van de ziekteverschijnselen, veroorzaakt door het gewone tabaksmozaiekvirus bij verschillende *Nicotiana species* zijn verricht door MCKINNEY en CLAYTON (1945). Hun waarnemingen vatten zij samen in een tabel, die hier wordt overgenomen.

Uit deze gegevens blijkt zeer duidelijk, dat het optreden van necrose vnl. plaats heeft bij lagere temperaturen.

Een ander voorbeeld over de invloed van de temperatuur op de aard der symptomen is te vinden bij TJALLINGH (1944), die in Nederland onderzoek verricht over een mozaiekziekte van de augurk. Hij vond bij de augurk twee soorten van ziekteverschijnselen, nl. een verwelking en een mozaiektekening, die, naar hem bleek, door hetzelfde virus veroorzaakt worden. Of de plant verwelkingsymptomen, dan wel mozaiekverschijnselen zal vertonen na inoculatie met het virus is, naar TJALLINGH kon uitmaken, uitsluitend afhankelijk van het weer in een bepaalde kritieke periode, die slechts enkele dagen duurt en ongeveer veertien dagen na de besmetting begint. Is het weer in deze periode helder en warm (met temperatuur boven 25 °C), dan treden mozaiekverschijnselen op; is het weer daarentegen donker en koel (met temperatuur beneden 25 °C), dan komen de verwelkingsverschijnselen te voorschijn. De temperatuur op de dagen vóór of na de kritieke periode heeft verder geen invloed op de aard van de symptomen.

Fig. 15 geeft een indruk van de invloed van de temperatuur op de ziektesymptomen, veroorzaakt door mozaiekviren bij tabak. De afgebeelde bladeren zijn beide geïnfecteerd met een groen en een wit mozaiekvirus, door THUNG geclassificeerd als A II en A VIa (zie pag. 90 [66]). De symptomen vormen een mengbeeld. Het linkerblad is afkomstig van een plant, die steeds in de kas bij hoge temperatuur (gemiddeld 32 °C) heeft gestaan. Het rechterblad is afkomstig van een plant, die buiten bij lagere temperatuur (gemiddeld 25 °C) is gegroeid.

Uitgebreide studies zijn verschenen over het optreden van symptomen van virusziekten bij onderscheidene temperaturen; COOK (1947) heeft lijsten kunnen samenstellen van de optimumtemperatuur voor de ontwikkeling der ziektesymptomen en van de temperaturen, waarbij maskering optreedt. Van deze lijsten vermelden wij slechts een enkele. Tabaksmozaiek treedt naar opgave van JOHNSON (1921) optimaal op bij 28–31 °C en komt gemaskeerd voor bij 36–37 °C (JOHNSON, 1922). DICKSON (1922) geeft voor beide temperaturen iets lagere waarden, nl. 21,5–27 °C en 32,5 °C, terwijl GRAINGER (1939) ook een maskering vermeldt bij lage temperatuur, nl. 10 °C. Als optimumtemperaturen geeft deze auteur 18–28 °C op. BLODGETT (1927) vond weer een maskering bij 15–18 °C. Dergelijke uiteenlopende cijfers kunnen waarschijnlijk door verschil in de omstandigheden, waarbij de

waarnemingen zijn verricht, als daar zijn veld- of kasplanten, ouderdom en variëteit der planten, verklaard worden.

Van aardappelmozaiek wordt in COOK's lijst opgegeven, dat volgens JOHNSON (1922) de optimumtemperatuur ligt bij 14–18 °C en maskering optreedt bij 20–24 °C. SMITH (1929) geeft als optimumtemperatuur op 16–18 °C, terwijl GOSS (1924) en TOMPKINS (1925) voor maskeringstemperatuur respectievelijk 21,5 °C en 24 °C vonden.

Met betrekking tot de invloed van de belichting op het ontstaan van de symptomen bij de virusziekten is het bekend, dat witbonte sierplanten (zoals *Abutilon striatum* var. *Thompsonii*), die deze bontheid danken aan een virus, op donkere plaatsen minder witte partijen op hun bladeren vertonen dan op een lichte standplaats. Het is zelfs gelukt door beschaduwing en verwijdering van de bonte bladeren de genoemde *Abutilon* van deze bontheid te genezen (BAUR, 1906; HERTSCH, 1928).

BAWDEN en ROBERTS (1947) hebben daarentegen kunnen vaststellen, dat beschaduwing de vatbaarheid van tabak voor het „tobacco necrosis”-virus en van tomaat voor het „bushy stunt”-virus belangrijk vergroot. Tabaksplanten, 's zomers op een beschaduwde plaats geïnoculeerd met het „tobacco necrosis”-virus vertonen heviger symptomen dan die, welke op een onbeschaduwde plaats met een virusoplossing van gelijke sterkte worden behandeld. Hetzelfde geldt voor tomatenplanten t.o.v. het „bushy stunt”-virus. Uit dit onderzoek blijkt, dat het reeds bekende verschijnsel van het heviger reageren van tabak en tomaat resp. op „tobacco necrosis” en „bushy stunt” gedurende de wintermaanden een gevolg is van de geringere lichtintensiteit in dat jaargetijde. In mindere mate werden soortgelijke verschijnselen geconstateerd bij tabak en tomaat, besmet met het gewone tabaksmozaiekvirus en het daaraan verwante virus van het tomaten auctubamozaiek.

Als voorbeeld van de invloed van de luchtvochtigheid op het tot uiting komen der ziektesymptomen kan vermeld worden, dat in 1947 in Nederland werd opgemerkt, dat mozaiekzieke tomatenplanten in kassen met lage luchtvochtigheid, necrose-verschijnselen op de bladeren en de vruchtstelen vertoonden, hetgeen in kassen met hogere luchtvochtigheid niet voorkwam (volgens mededeling van Ir IJ. VAN KOOT aan schrijver).

De invloed van bemesting op het optreden van virusziekten behoort tot de eerste problemen, die zijn nagegaan en heeft in latere jaren ook de correlatie naar voren gebracht tussen plantenvoeding en de hoeveelheden nieuw ontstane smetstof (MAYER, 1894, WOODS, 1902, JANSSEN, 1929, QUANJER, 1930, SPENCER, 1937–1942, WOODS en DUBUY, 1941, SELMAN, 1945).

In het algemeen kan men zeggen, dat goed groeiende planten de ziektebeelden sterker tonen dan armoedige en dat bij de eerste meer smetstof is te vinden dan bij de laatste. Overmaat stikstof stimuleert de vermeerdering van het virus zonder dat dit tot een duidelijker ziektebeeld hoeft te leiden. Overmaat fosfor en overmaat kali stimuleren daarentegen de virusvermeerdering niet (SPENCER, 1937). Een en ander hangt samen met het metabolisme van de plant, in het bijzonder de fotosynthese. Dit komt uitvoeriger ter sprake bij het probleem der verhouding tussen smetstof en plant.

Overmaat stikstof heeft bij mozaiekverschijnselen de neiging om overheersend groen in de zieke bladeren te doen ontstaan, waardoor de symptomen niet meer

duidelijk zijn. Selectie op mozaïekresistentie bij granen is volgens MCKINNEY (1946) dan ook het best uit te voeren in velden met stikstofgiften, die juist voldoende zijn.

De invloed van de bodemvochtigheid kan eveneens bekeken worden als een beïnvloeding van het metabolisme van de plant.

Uit deze beschouwingen blijkt duidelijk, dat de uitwendige omstandigheden evenals de aard van de waardplant, van beslissende invloed kunnen zijn op de ziekteverschijnselen. Al naar gelang die factoren zich wijzigen kan het ziektebeeld anders worden, zonder dat evenwel daarbij de eigenschappen van het virus zelf behoeven te veranderen.

De gegeven voorbeelden demonstreren voldoende, dat slechts vergelijkbare resultaten zijn te verkrijgen wanneer men steeds met dezelfde plantenvariëteit werkt onder volkomen beheerste omstandigheden en met even oude planten.

Van het uiteenlopend optreden der ziektebeelden bij verschillende plantenvariëteiten, -species en -genera kan gebruik worden gemaakt om viren te identificeren. Men spreekt dan van het „toets assortiment”.

JOHNSON (1927) heeft voor tabaksviren het volgende toets assortiment gebruikt: *Nicotiana glauca*, *N. glutinosa*, *N. rustica*, *Capsicum annuum*, *Lycopersicum esculentum*, *Physalis pubescens*, *Petunia violacea*, *Hyoscyamus niger*, *Solanum tuberosum* en *Phytolacca decandra*. AINSWORTH (1940) nam als toets assortiment voor viren van Leguminosen: *Pisum sativum*, *Lathyrus odoratus*, *Phaseolus vulgaris*, *Vicia faba*, *Trifolium pratense*, *Trifolium repens*, *Lactuca sativa*, *Lycopersicum esculentum*, *Nicotiana tabacum* en *Cucumis sativus*. Voor viren, die planten uit verschillende families aantasten, zoals dat van het komkommermozaïek en het „spotted wilt” van de tomaat, zal het dienstig zijn toets assortimenten samen te stellen uit planten van uiteenlopende families.

Variëteiten van een plantensoort die verschillend reageren, kunnen in bepaalde gevallen als toetsplanten dienst doen.

Soms slaagt men er in voor een virus toetsplanten te vinden, die voor de bestudering bepaalde voordelen bieden boven de plant, waar men het virus oorspronkelijk op aantrof. Zo reageert *Physalis angulata* ongeveer tien dagen na de inoculatie via bladluizen zeer scherp op het bladrolvirus van de aardappelplant met chlorose en rolling van de bladeren en achterblijven in groei (HOVEY en BONDE, 1948). De aardappelplant reageert daarentegen in het algemeen veel langzamer, terwijl de symptomen soms minder duidelijk zijn. Bovendien neemt *Physalis angulata* veel minder ruimte in dan een aardappelplant, hetgeen voor experimenten van veel betekenis kan zijn.

§ 5. Mutatie

In bovengeschetste gevallen, waarbij de invloed van de variëteitsverschillen en de groeiomstandigheden van de plant op de ziekteverschijnselen naar voren is gebracht, kan men het als bewezen beschouwen, dat de smetstof niet tot wijziging van eigenschappen is gekomen. Na in verschillende variëteiten en bij verschillende temperaturen, belichtingen etc. tot vermeerdering te zijn gekomen en weer geïnoculeerd te zijn in de oorspronkelijke plantenvariëteit, veroorzaakt zij hierbij de voor deze plant kenmerkende verschijnselen. Necrotische plekken van mozaïekzieke tomaatplanten in hete droge kassen leveren een smetstof, die in gezonde

tomaten bij vochtiger lucht gebracht, uitsluitend mozaiekverschijnselen doet ontstaan. Stippelstreepvirus van Eigenheimer met mozaiektekeningen geeft, bij Alpha geïnoculeerd, weer stippelstreepkenmerken.

Alleen wat betreft de hoeveelheden nieuw ontstane smetstof hebben de groeiomstandigheden evenals de diverse variëteiten invloed, zoals dit reeds is medegedeeld. Doch niet altijd blijven de viren constant. SPENCER's opvatting betreffende het ontstaan van een andere vorm van het tabaksmozaiekvirus, afhankelijk van de hoeveelheid voor de plant beschikbare N-voeding, zal op pag. 95 [71] ter sprake komen. In de hieronder volgende gevallen moeten de viren tijdens de vermeerdering een verandering hebben ondergaan.

Van vele viren bestaan *rassen*, die in enkele eigenschappen van elkaar verschillen, bijv. in de symptomen, die ze bij verschillende planten te voorschijn doen komen, in de inactiveringstemperatuur of in de snelheid van verspreiding door de plant. Van sommige dezer rassen is het waarschijnlijk, dat zij door mutatie uit een bepaald ras zijn ontstaan. Volgens K. M. SMITH (1929) kan het X-virus als gevolg van passage door tabak in virulentie worden versterkt en als gevolg van passage door *Datura* worden verzwakt.

Van het virus van de „curly top” van de biet verkreeg CARNSNER (1925) tengevolge van passage door *Chenopodium murale* een smetstof, die mildere symptomen veroorzaakt, welke eigenschap behouden blijft na herhaalde infectie op de biet.

Volgens LACKEY (1932) ontstond weer een virus met de oorspronkelijke pathogeniteit tengevolge van passage door *Stellaria media*. Zonder direct aan mutatie te denken zou men in deze gevallen een zekere flexibiliteit van de smetstof kunnen aannemen. Dit is bijv. door K. M. SMITH (1929) naar voren gebracht bij het optreden van verschillende symptomen bij eenzelfde variëteit tabak na successievelijke inoculatie met „ringspot”: „In conclusion the suggestion is made that passage of the ringspot virus through a succession of plants favourable to its development, does produce an increase in virulence but usually only up to a certain point; when that point is reached the virus tends to return and maintain its original level of intensity.”

In gevallen van definitieve verandering, die zich kan demonstreren in een ander constant ziektebeeld of in andere premunititeitseigenschappen – waarover nader zal worden geschreven – is het juister van mutatie te spreken. Er is dan een ander „ras” ontstaan.

Voorbeelden van mutatie door de smetstof in het stadium van vermenigvuldiging aan hogere temperaturen te onderwerpen, hebben de studies van JOHNSON (1926) en HOLMES (1934) geleverd. JOHNSON hield pas met mozaiek geïnoculeerde tabaksplanten gedurende minstens tien dagen in kamers met een constante temperatuur van 35–37 °C en verkreeg mildere symptomen zonder bladdeformatie bij deze planten. De smetstof behield de eigenschap om mildere symptomen op te wekken ook na herhaalde infectie bij gewone temperaturen. HOLMES hield pas met tabaksmozaiek geïnfecteerde stengelstukken van tomaatplanten gedurende vijftien dagen bij 34,6 °C. Inoculatie met het uit deze stukjes geperste sap gaf necrotische vlekjes op bladeren van *Nicotiana glutinosa*, terwijl de smetstof van deze vlekjes zich op tabak symptomeloos vermeerderde. Deze „masked strain” blijft, ook volgens onze ervaringen op Java, steeds symptomeloos optreden. Recente onderzoekingen van JOHNSON (1947) met zgn. „single-lesion pure-line strains” van het gewone tabaksmozaiekvirus hebben het ontstaan van

nieuwe, doorgaans verzwakte („attenuated”) „strains” bij ongeveer 36 °C bevestigd. Door KÖHLER (1939) werden, eveneens als gevolg van verhitting, zwakkere mutanten gevonden van het sterk virulente X-virus Cs 36 van de aardappel, terwijl KAUSCHE en STUBBE (1939) melding maakten van het ontstaan van mutanten van tabaksmozaïekvirus door Röntgenbestraling.

Bij infectie met gewoon mozaïek constateert men wel eens het optreden van een enkele, scherp omgrensde, gele vlek te midden der bekende mozaïektekeningen. Het sap van zo'n vlek geeft bij gezonde planten een geel mozaïek. Zo isoleerden MCKINNEY (1929) en JENSEN (1933, 1936, 1937) van dergelijke gele vlekken geheel nieuwe „strains” van mozaïek. Voor de hand liggend is de gedachte, dat hierbij mutatie van het gewone mozaïek is opgetreden.

Men kan, in tegenstelling tot deze gedachte, de opvatting huldigen met een mengsel te maken te hebben, waaruit onder speciale omstandigheden één der viren op de voorgrond zou komen; hierdoor zou dan slechts in schijn een mutatie zijn opgetreden.

K. M. SMITH (1929) heeft aangetoond, dat inoculatie van tabak met „crinkle”-virus van aardappels door middel van een naald andere symptomen doet ontstaan dan natuurlijke infectie door bladluizen. De kunstmatige overbrenging doet necrotische plekken ontstaan; de ziekte neemt in virulentie toe als gevolg van herhaalde passage door tabak. Inoculatie van aardappel met het sterk virulente virus doet heftige „crinkle” en „leaf-drop streak” ontstaan bij een aardappelvariëteit, die vóór de tabakspassages geen symptomen vertoonde. Op door *Myzus persicae* tot stand gebrachte infectie reageert tabak met vlekken en zwakke groene strepen. Hierna teruggebracht in de aardappelplant, hetzij door de naald, hetzij door *Myzus persicae*, veroorzaakt de smetstof „crinkle” en „leaf-drop streak”. Het „interveinal mosaic” van de aardappelvariëteit President kan via tabak, waarop dan „ringspot” wordt verwerkt, geactiveerd worden tot „streak”.

Het optreden van deze onderscheidene ziektesymptomen na inoculatie volgens verschillende methode, zoals luis en naald, leidt tot de veronderstelling, dat men met een viruscomplex te maken heeft. K. M. SMITH (1929) formuleert dit als volgt: „that there exist in the mosaic and crinkle group, if not many viruses, at least many strains possibly of the same virus of varying degrees of virulence, each of which possesses its own type of symptom and behaviour.”

In gevallen van viruscomplexen zijn onderscheidene methoden toe te passen om de samenstellende viren uit elkaar te halen, welke methoden in de volgende paragraaf nader zullen worden behandeld.

Onlangs heeft JAMES JOHNSON (1947) medegedeeld hoe hij uit het in de natuur voorkomende gewone tabaksmozaïekvirus verschillende „strains” kon isoleren. Deze „strains” waren elk op zichzelf tamelijk standvastig. Echter nam hij waar, dat uit een dergelijke „pure-line strain” verschillende nieuwe „strains” ontstonden, als de ermee besmette planten bij ongeveer 37 °C werden geplaatst. Uit deze proeven is duidelijk gebleken, dat mutatie van een virus mogelijk is.

Belangrijk zijn de proeven, waarbij getracht is virus *in vitro* chemisch te veranderen. Dit is inderdaad gelukt, zonder verlies van activiteit (STANLEY, 1946). Zo is het mogelijk gebleken sulphydrylgroepen uit het tabaksmozaïekvirus te verwijderen of andere, als acetyl-groepen, in het virus in te voeren. In een plant, geïnoculeerd met een dergelijke *in vitro* veranderde smetstof, bleek evenwel het nieuw gevormde virus dezelfde chemische structuur te bezitten als het had vóór

de verandering. Alleen kunnen dergelijke veranderde viren ten opzichte van bepaalde waardplanten een verandering in virulentie hebben ondergaan.

§ 6. *Het scheiden der virusziekten*

Bij de behandeling van de sapzuivering is voor „tobacco necrosis” reeds medegedeeld op welke wijze verschillende viren worden geïsoleerd. Volgens deze methode kon JAMES JOHNSON (1947) verschillende „strains” van het gewone tabaks-mozaïekvirus isoleren, welke „strains” in de natuur gemengd voorkwamen. Hij bracht verdunningen van het mengsel op de bladeren van de bastaard *Nicotiana glutinosa* × *N. tabacum*, waarop de verschillende „strains” alle aanleiding gaven tot het ontstaan van locale necrotische vlekken. Door deze vlekken apart met een kurkboor uit te snijden werden „single-lesion pure-line strains” van het tabaks-mozaïekvirus verkregen.

Systematisch is bij de hieronder beschreven, in de Vorstenlanden bestudeerde virusziekten nagegaan in hoeverre ze te splitsen zijn. Van ieder ziektebeeld worden de onderdelen met een gedesinfecteerd mesje of schaarje uit het blad gesneden of geknipt; uitsluitend de geheel uitgegroeide bladeren worden hiervoor gebruikt. Met de verkregen stukjes worden telkens series van tien planten geïnoculeerd; de na een maand ontstane ziektebeelden worden vergeleken met de oorspronkelijke. Na tien passages kan men zekerheid verkrijgen of de virulentie gelijk blijft. Een te infecteren plant heeft of vormt gemiddeld tien bladeren, die geschikt zijn om het ziektebeeld te vertonen gedurende de eerste maand na de inoculatie. Men kan dus na tien passages door telkens tien planten, het ziektebeeld op duizend bladeren waarnemen. Bij een dusdanige „uitzaai”-methode is er gelegenheid om complexen van smetstoffen, die uit elkaar gehaald moeten worden, te analyseren. Is dit bij duizend bladeren niet gelukt, dan mag men aannemen, dat men met een eenheid te maken heeft, die een constante virulentie bezit. Mocht een smetstof, die als een complex beschouwd wordt, bij de boven beschreven behandeling een hechte binding blijven vertonen en bovendien constant blijven na verschillende verhittingen (60°, 70°, 80°, 90 °C), na bewaring in sap en in gedroogd materiaal, alsook na infectie in de plantenkas bij hogere temperaturen en diffuus licht, dan bestaat nog slechts de mogelijkheid het te splitsen door de wijze van overbrenging te variëren (met sap, met insecten of door enting). Mocht ook dit niet lukken, dan heeft men niet met een complex maar met een eenheid te maken.

JOHNSON (1927) heeft een methode aan de hand gedaan om een combinatie van drie mozaïekziekten, nl. „speckled tobacco mosaic”, „cucumber mosaic” en „mild tobacco mosaic”, uit elkaar te halen. Bij een gedeelte van het plantenextract wordt verhitting tot 75 °C toegepast, waardoor de twee laatste viren geïnactiveerd worden en slechts „speckled mosaic” overblijft, dat eerst bij 90 °C ontleed wordt. In een ander gedeelte van het extract kan het komkommermozaïek inactief worden gemaakt door bewaring gedurende drie dagen *in vitro*. Dan wordt met dit extract, waarin alleen het „mild” en het „speckled” mozaïek overgebleven zijn, *N. glutinosa* geïnfecteerd, die alleen voor het „mild” mozaïek toegankelijk is. Ten slotte wordt uit een derde gedeelte van het extract komkommermozaïek geïsoleerd door infectie van „poke weed” (*Phytolacca decandra*), die uitsluitend voor het virus van deze ziekte vatbaar is. Komkommermozaïek zou men ook van het gewone mozaïek kunnen scheiden door bladluizen te laten zuigen op de door

het complex besmette plant en ze daarna op gezonde planten over te brengen; immers door ISMÉ A. HOGGAN (1933) is vastgesteld, dat *Myzus persicae* slechts komkommermozaïek opneemt en geen tabaksmozaïek.

J. JOHNSON (1947) heeft in zijn reeds genoemde publicatie ook aangegeven, hoe men uit een mengsel van verschillende „strains” van het gewone tabaksmozaïekvirus, de componenten kan afzonderen. Inoculeert men het mengsel, bestaande uit „milde” en „hevige” vormen op *Eryngium aquaticum* L., dan kan op deze plant alleen de „milde” vorm tot vermeerdering komen. Men houdt dus de „strain”, die zwakkere symptomen op tabak veroorzaakt, over. Daarentegen krijgt men alleen de „hevige” vorm van hetzelfde virus als het mengsel op tomaat wordt gebracht, aangezien in deze plant de „milde” vorm niet tot vermeerdering komt, doch verdwijnt.

J. HENDERSON SMITH (1928) kreeg „streak” bij tomaten door infectie met aardappelmozaïek en „geel” tomatenmozaïek. Om uit dit mengsel „geel” tomatenmozaïek terug te krijgen behandelde hij het sap van „streak”-tomaten met 90 % alcohol gedurende één uur; hiertegen is het aardappelmozaïek niet bestand.

Zulke methoden laten ons evenwel in de steek bij viren met dezelfde ontledingspunten, terwijl de scheiding door middel van waardplanten niet mogelijk is bij viren, die dezelfde planten aantasten. Mengsels van gezuiverde viren zijn *in vitro* te scheiden door ze gesepareerd neer te slaan. Door COHEN (1942) is dit door middel van hydrophiele colloïden bestudeerd. Agar, gelatine, Arabische gom, oplosbaar zetmeel, thymusnucleïnezuur en heparine (mucoïtinepolyzwavelzuur) zijn hiervoor gebruikt. Bij viren van verschillende „strains” van tabaksmozaïek, „bushy stunt” en „tobacco necrosis”, waarvan 4 mg was opgelost per cm^3 $\frac{1}{10}$ m fosfaatbuffer met $\text{pH} = 7,1$, heeft hij o.a. gevonden, dat „bushy stunt” en „tobacco necrosis” pas met $2\frac{1}{2}$ % heparine zijn neer te slaan, terwijl tabaksmozaïek en „yellow aucuba” reeds met minder dan $\frac{1}{2}$ % zijn te verwijderen. Met iets meer dan $\frac{1}{2}$ % worden o.a. „masked strain” en „green aucuba” geprecipiteerd; met 1 % heparine geschiedt dit met komkommermozaïek 4 en HOLMES’ „ribgrass”-mozaïek.

§ 7. Combinaties van ziekten

Na premunisatie van een plant kan een virus niet binnendringen, doordat de plant reeds is besmet met een nauw verwant virus. In de nu te noemen gevallen kan een tweede virus echter wel binnendringen in een reeds met een ander virus besmette plant, doch het aldus gevormde viruscomplex veroorzaakt minder hevige of heviger symptomen dan een van de twee viren alleen. Slechts niet aan elkaar verwante viren gedragen zich aldus.

Wanneer in tabak „streak” is gecombineerd met een der mozaïekziekten, komt noch de necrose van de eerste noch de verkleuring van de laatste in sterke mate tot uiting.

Verder kunnen de destructieve gevolgen van de Rotterdam-B-ziekte getemperd worden door de zieke planten met het „gewone” mozaïek te infecteren; de hierna gevormde bladeren zullen onder de dubbele infectie minder te lijden hebben dan onder de Rotterdam-B-ziekte alleen. Op deze wijze kunnen planten, die bijv. uit genetisch oogpunt van groot belang zijn en die door een infectie met de Rotterdam-B-ziekte te gronde zouden zijn gegaan, gered worden en tot bloei

komen. Een plant, geïnfecteerd met het „witte” mozaïek A VIc alleen blijft meer in groei achter dan een plant, die op dezelfde leeftijd, zowel door dit mozaïek als het „gewone” mozaïek is geïnfecteerd (zie fig. 16). Hetzelfde kan worden opgemerkt bij vergelijking van een plant lijdende aan het „witte” mozaïek A VIa en een, die het mengbeeld van dit mozaïek en het „ernstige” mozaïek vertoont.

Uit proeven van F. JOHNSON (1942) is gebleken, dat een ziekte, voorkomend bij klaver, door een complex wordt veroorzaakt. Voordien was steeds aangenomen dat deze ziekte door één virus, het *Trifolium-virus 1*, werd veroorzaakt. JOHNSON kon twee componenten: een „pea-mottle”-virus (dat bij erwt mozaïekverschijnselen veroorzaakt) en een „pea-wilt”-virus (dat bij erwt verwelking geeft) van elkaar scheiden. *Cuscuta campestris* laat van het mengsel slechts het „pea-mottle”-virus passeren, terwijl in *Vigna sinensis* slechts het „pea-wilt”-virus tot vermeerdering komt.

Als voorbeeld van combinaties, die nieuwe symptomen doen ontstaan, zal op pag. 76 [52] en 130 [106] behandeld worden de „rosette”-ziekte van de tabak (SMITH, '46).

Ook bij de aardappel zijn complexe virusziekten bekend, die elders in dit werk ter sprake komen (zie pag. 119 [95]).

B. METHODEN VAN ONDERZOEK

De besmettelijkheid wordt aangetoond:

1. door inoculatie met al of niet gefiltreerd perssap van zieke planten;
2. door enting van een stengeldeel van een zieke plant op een gezonde plant of omgekeerd;
3. door oculatie en in incidentele gevallen door enting met een ziek blad, met stukken van een ziek blad of met stukken van de bast van een houtige plant;
4. door overbrenging met behulp van insecten;
5. door overbrenging via een phanerogame parasiet, zoals *Cuscuta*.

De besmetting met sap, de enting en de insectenoverbrenging worden in aparte paragrafen behandeld. Een enkel woord dient gewijd te worden aan de overbrenging van virusziekten via een phanerogame parasiet. De warkruidsoorten *Cuscuta subinclusa* DUR. et HILG., *C. californica* CHOISY, *C. campestris* YUNCKER en in iets mindere mate ook *C. sandwichiana*, kunnen bepaalde virusziekten van een plant op een andere overbrengen (BENNETT, 1940, F. JOHNSON, 1941, SAKIMURA, 1947, MOOI-BOK, 1949). De overbrenging geschiedt door *Cuscuta* eerst op de zieke plant te laten groeien en met een deel van de stengel op een gezonde te laten overgaan om zodoende een levende verbinding tot stand te brengen. Ook kan men *Cuscuta* eerst laten aanslaan op een zieke plant en daarna daarvan afnemen en overbrengen op de te infecteren plant. De *Cuscuta*-overbrenging is een uitkomst bij het bestuderen van virusziekten, die niet met sap besmettelijk zijn en waarbij enting van de zieke plant met de te besmetten andere soort plant niet mogelijk is. Zo heeft KUNKEL (1943) de heksenbezem („witch's broom”) van de aardappel met *Cuscuta campestris* overgebracht op *Vinca rosea*. Met sap en door enting gelukte dit niet. Met *Vinca rosea*, die hoge temperaturen kan verdragen, heeft KUNKEL warmte-proeven kunnen nemen aangaande de mogelijkheden van genezing. Doch niet alle viren gaan met *Cuscuta* over: de viren van tabaksmozaïek, komkommer-

mozaiek en „bushy stunt” van de tomaat doen dit nl. niet; „spotted wilt” van de tomaat is moeilijk op deze wijze over te brengen. Wat de oorzaak kan zijn van het al of niet slagen bij sommige viren is niet bekend. Het moet samenhangen met het al of niet kunnen aanslaan van de smetstof in *Cuscuta*.

Bij proeven met *Cuscuta* met het „false blossom”-virus van de veenbes moet KUNKEL (1945) wel aannemen, dat de smetstof zich in *Cuscuta* vermeerderd; het blijft nl. gedurende twee jaar in stand in het warkruid. De besmetting kon op 28 verschillende plantenspecies behorende tot tien families worden overgebracht.

§ 1. *De sapinoculatie*

Deze methode ligt het meest voor de hand, wanneer men vermoedt met een virusziekte te maken te hebben. Bij de eerste proeven met tabaksmozaiek is zij reeds toegepast. MAYER (1886) bracht met capillaire buisjes mozaieksap in gezonde planten. Veel eenvoudiger is nog tabaksmozaiek over te brengen door met de vingers langs zieke planten te strijken en er daarna gezonde planten mee aan te raken. Zowel bij de zieke als bij de gezonde planten dienen enige bladcellen of haarcellen beschadigd te worden. Verder kan men door prikken met naalden, die eerst besmet zijn, de ziekte overbrengen. Meestal worden de inoculaties met borstels, met watjes of met staafjes uitgevoerd. Langs deze weg kunnen in het algemeen slechts zeer infectieuze ziekten, zoals de verschillende mozaieksoorten van de tabak, vlot worden overgebracht. Bij minder infectieuze ziekten dienen speciale methoden te worden toegepast. Zo is de besmettelijkheid van de mozaiekziekte van het suikerriet moeilijker aan te tonen. Dit gelukt niet met inwrijven, wel door het inbrengen van ziek sap in vrij grote hoeveelheden in het groeipunt van het te infecteren riet met behulp van een injectiespuit (BRANDES, 1920) en door ziek blad tegen zeer jonge nog opgerolde bladeren aan te drukken en daarna met fijne naalden in schuine richting door dit blad tot in de jonge bladeren te prikken (SEIN, 1930).

Het smeren van smetstof over gezonde bladeren kan ook geschieden met een vinger; dit heeft het voordeel boven de manipulatie met een watje of een spateltje, dat men daarbij allicht voorzichtiger te werk gaat. Het is nl. van belang niet te zware verwondingen te maken. Voor het verkrijgen van zeer fijne verwondingen, hetgeen verhoogde infectie waarborgt, kan men een weinig fijn carborundum (van 360 tot 500 mesh) of celite over de te inoculeren bladoppervlakte strooien en daarna het inoculum zacht inwrijven (RAWLINS en TOMPKINS, 1936). BAWDEN (1946) vermeldt dat deze methode het inoculatie-effect van tabaksmozaiek op *N. glutinosa* tot het honderdvoudige opvoert.

Door deze methode is het mogelijk b.v. virus A van de aardappel op aardappel en geelmozaiekvirus van de paardebloem op dezelfde plant met sap over te brengen, wat zonder carborundum steeds mislukt. Dit mislukken is volgens BAWDEN waarschijnlijk te wijten aan een te lage concentratie van de smetstof en een grote weerstand van de plantencellen. Met carborundum wordt de permeabiliteit van het geïnoculeerde bladoppervlak verhoogd; talloze kleine wondjes ontstaan zonder dat de opperhuidcellen sterk beschadigd worden. Wel gelukt het zonder carborundum aardappelvirus A op tabak en geelmozaiekvirus van de paardebloem op sla over te brengen. Duidelijk wordt hiermede de invloed van verschillende plantensoorten gedemonstreerd. Behalve met carborundum en celite

hebben KALMUS en KASSANIS (1945) overeenkomstige resultaten verkregen met gezuiverde dierlijke beenderkool.

Dat bepaalde virusziekten moeilijk of in het geheel niet met sap zijn over te brengen behoeft niet steeds een gevolg te zijn van een lage concentratie van de smetstof in het perssap van zieke planten. Bepaalde viren moeten nl. in diepere weefsels, zoals het phloëem gebracht worden, wil de inoculatie succes opleveren, bijv. het „curly top”-virus van de biet (BENNETT, 1934). Verder kunnen bij het bereiden van het perssap voor de smetstof nadelige bestanddelen medekomen. Zo gelukt het niet om inoculum van viruszieke aardbeien te verkrijgen; de meegevoerde tanninen slaan het virus neer en inactiveren het. Dit is algemeen het geval met het perssap van *Rosaceae*.

De cellen, die de smetstof in zich krijgen, moeten haar levensfuncties kunnen blijven uitoefenen, wil genoemde smetstof daarin tot vermeerdering komen of vermeerderd kunnen worden. Sterven de cellen af tengevolge van de toegebrachte verwondingen, dan vindt smetstofvermeerdering niet plaats. Schade aan de cellen kan behalve door zware verwonding ook worden toegebracht door met het inoculum meegevoerde normale sabbestanddelen. Hierom verdient het aanbeveling spoedig na het inwrijven met het sap de geïnoculeerde bladeren met stromend water af te spoelen. Het slagen der infecties kan er door verhoogd worden; in elk geval worden de virusdeeltjes er niet door afgewassen. Al eerder is medegedeeld, dat een spoedige binding van deze deeltjes aan protoplasmabestanddelen waarschijnlijk moet worden gepocht.

Bij vele virusziekten is overbrenging met sap nog niet gelukt; de reden hiervan is nog niet opgehelderd.

Boven is melding gemaakt van de concentratie van het virus in het inoculum. Een methode ter bepaling van het aantal smetstofdeeltjes in een bepaald perssap is uitgewerkt door HOLMES (1929). Deze maakt gebruik van het ontstaan van scherpe necrosepuntjes op bladeren van *N. glutinosa* bij inoculatie met tabaks-mozaiekziekten. Het aantal puntjes hangt samen met de verdunning van het sap, waardoor een maat voor de sterkte wordt verkregen. Doch dit aantal hangt ook samen met de ouderdom en de constitutie van het *N. glutinosa*-blad. Voor vergelijking van de sterkte van verschillende sappen moet men dan ook zorgen steeds gelijksoortige bladeren te gebruiken. Om de individuele verschillen te ontlopen past men het best de bladhelftenmethode toe. Door YODEN en BEALE (1934) is een bepalingsmethodiek uitgewerkt, die gebaseerd is op dezelfde principes als die, welke ten grondslag liggen aan de keuze van vakken bij de proefveldtechniek.

In plaats van bladeren van *N. glutinosa* gebruikten SPENCER en PRICE (1943) bladeren van bepaalde bonenvariëteiten (*Phaseolus vulgaris* L.) voor het bepalen van de virusactiviteit, waarbij zij deze methode een wiskundige basis gaven (PRICE en SPENCER, 1943).

Het bereiden van perssap bestaat eenvoudig uit het uitpersen der zieke plantendelen; hiervoor zijn de jonge bladeren het meest geschikt, aangezien deze de meeste smetstof bevatten. Het filtreren of het zuiveren van perssap is alleen nodig voor speciale doeleinden, die in de paragraaf van de viruszuivering reeds zijn medegedeeld.

§ 2. De enting en de oculatie

Indien het onmogelijk is een virusziekte met sap over te brengen, kan enting uitkomst geven. Slechts wanneer de ziekte niet „systemic” is, vindt met enting geen overgang van de smetstof van het zieke stengeldeel op de gezonde plant plaats. De enting is voor verschillende virussoorten een veel intensievere besmettingswijze dan de sapinfectie. Zo veroorzaakt sap van mozaiekzieke tabak op *N. glutinosa* slechts locale symptomen zoals reeds eerder is vermeld. Maar bij enting van *N. glutinosa* met mozaiekzieke scheuten van tabak verspreidt de smetstof zich door de *N. glutinosa*-planten en doet uitgebreide necrotische strepen ontstaan, waaraan de planten ten slotte te gronde gaan (KÖHLER, 1941).

Door VAN SLOGTEREN en DE BRUIJN OUBOTER (1941) is vastgesteld, dat reeds in 1637 over enting ter verkrijging van gebroken tulpen is geschreven. Het betreft een samenspraak tussen twee kwekers, waarin onder meer de volgende mededeling voorkomt: snijdt men twee bollen (waarvan de ene een bol van een gebroken tulp is) van ongeveer gelijke grootte door, plakt de helften van de ene bol tegen die van de andere en plant ze uit, dan „neemt de eene van de andere zijn couleur over ende werdt een bol”. Men was toen echter nog niet tot het inzicht gekomen, dat de schitterende kleurpatronen van gebroken tulpen ziektesymptomen konden zijn.

Ook bij witbontheid van siergewassen is de aard van het verschijnsel veel later bekend geworden dan de methode van vermeerdering. De eerste berichten over het voorkomen van witgeklekte *Abutilon striatum* DICK. var. *Thompsonii* zijn volgens COOK (1947) in de Gardener's Chronicle van 1868 te vinden. Deze was omstreeks die tijd uit tropisch Amerika in Europa ingevoerd. Spoedig was bekend, dat het kleurpatroon niet met zaad overging, hoewel latere onderzoekingen van KEUR (1933) hebben aangetoond, dat in zeldzame gevallen wel overgang met het zaad plaats vindt. Reeds in 1869 deelde LEMOINE mee, dat het hem gelukt was de bontheid van *Abutilon* door enting op normale groene *Abutilon spp.* over te brengen. Hij schrijft: „J'essaye de conserver par des bouturages cette panachure, qui me semble ne pouvoir être attribuée qu'à l'influence de la greffe sur le sujet”. Ook door MORREN (1869) in België werd de *Abutilon*-bontheid door enting overgebracht, terwijl dit volgens LINDEMUTH (1907) omstreeks dezelfde tijd eveneens in Engeland gelukte. Thans zijn deze en vele andere witbonte variëteiten van siergewassen als gevallen van virusziekten onderkend. Zo vonden ORLANDO en SILBERSCHMIDT (1945), dat de bontheid van *Abutilon* in Zuid-Amerika door een Aleurodide wordt overgebracht.

Tot de vroegste mededelingen over entingen bedoeld ter bestudering van de besmettelijkheid, behoren verder die van BOUCHÉ (1871) over een witbontheid van *Evonymus japonicus* en die van E. F. SMITH (1888) over „peach yellows” en later over „peach rosette” (1891). Behalve met enting is bij perzik (met betrekking tot „peach yellows”) en *Abutilon striatum* ook gewerkt met oculatie, nl. het inbrengen van knoppen of ogen van de abnormale planten bij de gezonde. LINDEMUTH (1902) kon de bontheid van *Abutilon striatum* var. *Thompsonii* door enting op vele andere *Malvaceae* overbrengen, terwijl BAUR (1904, 1905, 1906), die infectieuze chlorosen bestudeerde bij *Ligustrum*, *Laburnum*, *Fraxinus*, *Sorbus* en *Ptelea* ook entingen toepaste.

Bij de enting wordt overgebracht een ent of griffel op een onderstam en bij de oculatie („budding”) een latent of slapend oog, dat met een gedeelte van de er bij behorende bast (het schildje) en van het hout (het ziertje) ingeschoven wordt in de bast van de onderstam, welke bast van te voren met een T-snede is open-gemaakt. Het gaat bij deze methoden om een cambiale samengroeiing, die alleen zal slagen bij nauw verwante planten.

Bij aardbeien worden uitlopers tegen elkaar geplakt, nadat hierin contact-tongetjes zijn gesneden (HARRIS, 1932). Deze lopen ten opzichte van elkaar in tegengestelde richting en passen met de wondvlakken tegen elkaar. Bij frambozen gebeurt hetzelfde met jonge scheuten, die met even grote uitgesneden tongen in elkaar passen. Men kan ook spreken van „zogen” („inarching”, „approachgrafting”). Snijdt men de scheuten, die als entmateriaal zullen dienst doen, van de frambozen-plant af, dan kan dit het beste geschieden op enige afstand beneden de plaats waar de tong zal komen, waarmee de ent aan de onderstam zal worden bevestigd. Na het enten plaatst men het stuk, waar de ent is doorgesneden, zolang in een buisje met water tot de ent met de onderstam is vergroeid.

Het „zogen” werd ook door IKENO (1930) toegepast in proeven, waarmee hij aantoonde, dat een bontheid van *Capsicum annum* infectieus is.

NATTRASS (1944) beschrijft het overbrengen van de „woodiness” van passiflora (*Passiflora edulis*) naar andere species van de genera *Passiflora*, *Tacsonia* en *Adenia* door entingen met een enkel ziek blad, waarbij de bladsteel als bij de griffel schuin aan twee kanten afgesneden en ingeplant wordt in een snede in de bast van de te besmetten plant. Reeds na 24 uur kan uit het niet verwelken van de blad-schijf blijken, dat de enting is aangeslagen.

Het hechten van entingen geschiedt met raffia of rubberbanden. Soms is het nodig entwas te gebruiken om snelle indroging van de wonden te voorkomen, terwijl het regelmatig vochtig houden van de plantdelen aanbevelenswaardig kan zijn. Door WALLACE (1945, 1947) zijn bij „psorosis” van *Citrus* als entmateriaal stukjes bast en stukjes bladschijf gebruikt, welke ingeschoven worden in het schorsparenchym van de te infecteren planten na inkeping van de bast. Vervolgens wordt het ingesneden, aanhangend bastgedeelte over het entmateriaal teruggeklapt en vastgebonden. Bij slaging wordt een verbinding geconstateerd tussen ent en boom ten gevolge van het uitgroeien van callusweefsel, uitgaande van het cambium van de boom naar de wondplaatsen van de ent, waardoor deze in leven blijft.

Enting kan bij aardappelknollen geschieden door vers gesneden helften tegen elkaar te plakken voordat de wondvlakken verdroogd zijn. Eenvoudiger is nog het toepassen van de kurkboommethode. Met een cilindrische boor wordt een stuk zonder oog van een zieke knol uitgeboord, terwijl van een gezonde knol met een dunnere boor een iets dunner stuk wordt weggenomen. Het zieke deel wordt dan in de gezonde knol gedrukt.

Indien ziekten van tabak, tomaat en andere *Solanaceae* door stengelenting op de aardappelplant kunnen worden overgebracht, kan men ze in stand houden in de nieuw gevormde aardappelknollen zolang als deze bewaard kunnen worden. Dit is ook het geval met knollen van bataten (*Ipomoea batatas*) (THUNG, 1947).

Behalve met de „kroepoek” en de „krekoh” door GANDRUP (1924) en SCHWEIZER (1925) voor Djember en door THUNG (1932) voor de Vorstenlanden beschreven, is betrekkelijk weinig gebruik gemaakt van enting bij de bestudering van de

tabaksvirusziekten, terwijl toch bij de verwante aardappel, de enting tot de oudste en bekendste methoden behoort (QUANJER, VAN DER LEK en OORTWIJN BOTJES, 1916). Dit is zonder twijfel toe te schrijven aan het feit, dat de eerst bekende ziekten van de tabak zo vlot met sapinoculaties overgaan.

Ten slotte moet nog worden vermeld, dat in de loop der jaren het overbrengen van ziektesymptomen door enting tot criterium van het viruskarakter van nog onbekende ziekten is geworden.

§ 3. De overbrenging door middel van insecten

De eerste waarnemingen, welke de aandacht hebben gevestigd op een mogelijke rol, die insecten zouden kunnen spelen bij het optreden van plantenziekten, werden in Engeland, Japan en Amerika gedaan. In de eerste publicaties hierover werd daarin nog niet de mogelijkheid overwogen, dat deze ziekten wel eens door insecten van een zieke plant op gezonde planten overgebracht zouden kunnen worden. COOK (1947) wijst op een verhandeling van SMEE, die in Engeland in 1846 het sterk optreden waarnam van *Aphis vastator*¹⁾ bij aardappel met „leaf curl”. Het gaat hierbij slechts om de historische waarde, aangezien met deze „leaf curl” zeker niet de op virusgebied zo klassieke bladrolziekte werd bedoeld. Eerst veel latere onderzoekingen hebben uitgemaakt, dat bladrol door verschillende bladluizen wordt verspreid en wel in de eerste plaats door *Myzus persicae* SULZ. dezelfde als *Aphis vastator* (volgens mondelinge mededeling van de Heer D. HILLE RIS LAMBERS).

In Japan werden aan het eind van de negentiende eeuw waarnemingen verricht over het veelvuldig optreden van cicaden bij de dwergziekte van de rijst, terwijl in Amerika in 1908 door TOWNSEND en in 1909 door BALL het vermoeden werd uitgesproken, dat *Eutettix tenellus* BAKER (= *E. tenella* BAKER²⁾) de veroorzaker zou zijn van de „curly top” van de suikerbiet. SHAW (1910) toonde aan, dat deze cicade en niet thrips, bladluizen of mijten de ziekte teweegbrengt, maar hij constateerde daarbij niet, dat het insect van te voren de ziekte van zieke planten moest hebben verkregen. Hij werkte met willekeurig gevangen insecten.

Van de dwergziekte van de rijst werd de „veroorzaker” *Nephotettix apicalis* MOTSCH. var. *cincticeps* UHL. al vroeg aangewezen (TAKAMI, 1901); veel later werd ook een andere vector gevonden, nl. *Deltocephalus dorsalis* MOTSCH. (FUKUSHI, 1937), waardoor een oud vermoeden, nl. van TAKATA in 1895–1896, in verband met dit insect werd bevestigd. Pas in 1906 is vastgesteld, dat *Nephotettix apicalis* de ziekte overbrengt en niet veroorzaakt (COOK, 1947).

Wat betreft het overbrengend karakter van *Eutettix tenellus* moet worden genoemd het werk van BONCQUET en STAHL (1917), waardoor de onkruid-vegetatie als besmettingsbron werd aangewezen. De proeven van STAHL en CARSNER (1918) behoren tot de eerste op dit gebied; zij bewezen, dat nymphen, zoals ze uit de

¹⁾ Deze luis is volgens WILSON-VICKERY: List of Aphididae of the World, 1918, p. 174 door SMEE als *Rhopalosiphum vastator* in 1846 beschreven (volgens schriftelijke mededeling van Dr H. J. DE FLUITER).

²⁾ Volgens schriftelijke mededeling van Dr H. J. DE FLUITER wordt dit insect in de Review of applied entomology steeds vermeld onder de naam van *Eutettix tenellus* BAKER. In de oudere literatuur vindt men het nog vermeld als *E. tenella*. Vermoedelijk heeft BAKER zich bij de naamgeving vergist met het geslacht.



Fig. 16. Linkse tabaksplant besmet met wit mozaiek; de rechtse plant besmet met een mengsel van wit en gewoon mozaiek. De planten zijn even oud.

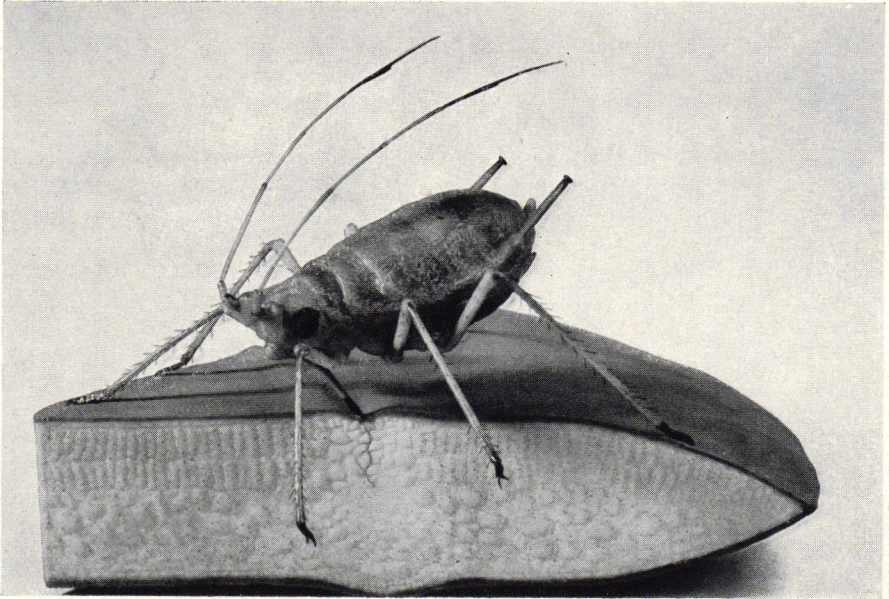


Fig. 17. Afbeelding van een vergroot model van een bladluis (*Myzus persicae* Sulzer). De luis is voorgesteld in de houding, die hij tijdens het zuigen op een blad aanneemt. Het blad is aan de voorzijde doorgesneden om het verloop van de monddelen in de plantenweefsels te demonstreren. Gepubliceerd met toestemming van de „Trustees of the British Museum (Natural History)”.

eieren komen, de ziekte niet produceren. Dit doen ze wel als ze eerst besmet zijn door op zieke planten te zuigen. Deze besmetting gaat bij de meeste vectoren niet op het nageslacht over. Een uitzondering hierop vormt de besmetting van *Nephotettix apicalis* met de smetstof van de dwergzieke rijst. Dit insect kan tot zeven generaties toe infectieus blijven (FUKUSHI, 1933, 1935, 1939). De studies wijzen op de mogelijkheid, dat uit een enkel ei een nageslacht kan worden opgekweekt, waarmee een groot aantal planten kan worden besmet zonder dat de individuen van dit nageslacht via een zieke plant nieuwe besmetting hebben opgedaan. De besmetting moet uitgaan van een besmet moederdier; een besmet vaderdier brengt de besmetting niet op het nageslacht over.

Wat betreft levend gebaard nageslacht is door McCLINTOCK en SMITH (1918) meegedeeld, dat Aphiden geïnfecteerd met mozaiek van spinazie („spinach-blight”) tot de vierde generatie virusdragers zouden kunnen blijven, wat HOGGAN (1933) echter niet heeft kunnen bevestigen.

Waarnemingen betreffende de correlatie van het voorkomen van een bepaalde insectensoort met het optreden van een ziekte, behoeven echter niet altijd een aanwijzing te zijn, dat dit insect de ziekte overbrengt. Zo komt zowel op gezond als op met de gele-strepenziekte besmet suikerriet *Aphis sacchari* ZEHNTER voor. maar de verspreider van deze ziekte is niet deze luis, maar de maisluis, *Aphis maidis* FITCH., die meer verscholen tussen de jongste blaadjes leeft (BRANDES, 1920, WILBRINK, 1922, BRANDES en KLAPHAAK, 1923). De ziekte kan door dit insect niet alleen van suikerriet op suikerriet worden overgebracht, maar ook hiervan op Sorghum en van Sorghum op mais.

Een andere onjuiste conclusie moet door ALLARD (1914) zijn getrokken bij studies over het overbrengen van een mozaiek van de tabaksplant door bladluizen, nl. dat de mozaiekziekte door deze insecten zou worden overgebracht. Door HOGGAN (1934) is bewezen, dat het klassieke tabaksmozaiek niet van tabak op tabak door luizen wordt verspreid. Het komkommermozaiek, dat ook in tabak kan voorkomen, gaat blijkens HOGGAN's proeven via bladluizen gemakkelijk van tabak evenals van andere planten, op tabak over. Het is dus zeer wel mogelijk, dat ALLARD in zijn proeven werkte met tabaksplanten, die zowel met tabaksmozaiek als met komkommermozaiek besmet waren, doch onkundig was van het voorkomen van het tweede virus. Wel brengen Aphiden het klassieke tabaksmozaiek vrij regelmatig van tomaat en *Lycopersicum pimpinellifolium* op tabak over, maar op grond van andere proeven moest HOGGAN toch tot de conclusie komen, dat tabaksmozaiek van andere planten slechts sporadisch door deze insecten naar tabaksaanplantingen wordt overgebracht. In deze proeven werd gewerkt met *Myzus pseudosolani* THEOB., *Macrosiphum solani* KALTENBACH en *Myzus persicae* SULZER. Andere onderzoekers hebben dit niet overbrengen van echt tabaksmozaiek door luis bevestigd en hebben nadere gegevens aan het licht gebracht betreffende het mechanisme van het overbrengen van virusziekten door Aphiden.

Gezien het besmettelijk karakter van virusziekten was het de opvatting, dat het overbrengend insect tijdens het bijten of zuigen op een viruszieke plant de mondelen met virus zou besmetten en daarmee gezonde planten zou infecteren. Wij kunnen deze wijze van besmetting vergelijken met de zuiver mechanische sapoverbrenging. Zij wordt door COOK (1947) mogelijk geacht voor kauwende insecten; echter betwijfelt SMITH (1947) de juistheid hiervan voor de aardvlo *Phyllo-*

treta, waarvan de species *P. cruciferae* en *P. undulata* het geel mozaïek van de raap zouden overbrengen. Deze insecten zouden twee tot drie dagen infectieus blijven en drie planten besmetten na zich 24 uur op elk daarvan te hebben gevoed. Het is mogelijk, dat in dit geval het virus met uitgebraakt speeksel tijdens de voeding op gezonde planten wordt overgebracht. De virus-verspreiding door sprinkhanen, die door SMITH (1947) is waargenomen voor het mozaïek van de sla, moet wel van mechanische aard zijn. Bij de zuigende insecten zijn enige gevallen bekend, waarin het waarschijnlijk is, dat zij langs zuiver mechanische weg virus kunnen overbrengen. Het betreft hier die zuigende insecten, die slechts zeer korte tijd na de voeding op een zieke plant infectieus blijven, o.a. *Aphis gossypii* GLOVER als overbrenger van het komkommermozaïek (DOOLITTLE en WALKER, 1928). Bij de meeste zuigende insecten vindt echter de overdracht van het virus op een minder eenvoudige wijze plaats. Er bestaat dan een betrekking tussen vector en virus, die men biologisch kan noemen. Als regel bestaat hierbij voor elk virus een speciale vector. Echter zijn hierop vele uitzonderingen (STOREY, 1939). De „yellow dwarf”-ziekte van de ui wordt door 53 species van Aphiden overgebracht (DRAKE, TATE en HARRIS, 1933), terwijl de bladluis *Myzus persicae* SULZ. in staat is minstens 21 verschillende viren over te brengen (SMITH, 1937).

De voornaamste vectoren zijn te vinden onder de Rhynchoten; van deze insecten is het orgaan, dat tijdens het zuigen in de plant dringt, een steekapparaat, dat uit de maxillaire en de mandibulaire stiletten bestaat en dat een speekselkanaal en een voedingskanaal bezit. Door het speekselkanaal wordt tijdens het steken speeksel in de wond gebracht; al diepergaande vormt het steekapparaat een kanaal, dat na het terugtrekken der stiletten met behulp van chemische middelen aantoonbaar blijft. Tijdens het indringen van de steekborstels wordt hier om heen de zgn. speekselschede gevormd. Over de functie van deze speekselschede lopen de meningen uiteen. Een der opvattingen is, dat zij steun zou verlenen aan het steekapparaat.

SUKHOV (1943) zoekt de verklaring van het niet-overbrengen van tabaks-mozaïekvirus door *Myzus persicae* in de mogelijkheid, dat het de speekselschede niet zou kunnen penetreren. De door het insect op te nemen stoffen zouden deze wel moeten passeren, aangezien het speeksel uitgescheiden wordt tijdens het indringen van de steekborstels in het plantenweefsel en spoedig coaguleert. Het virus zou echter tot grote partikels aggregeren zodra het met de buitenwand van de speekselschede in aanraking komt.

Aangezien de excrementen van de bladluis hoofdzakelijk uit polysaccheriden bestaan, heerst de mening, dat het insect bij de plant veelal zijn voedsel aan het phloëem: het vervoerorgaan van de assimilaten, onttrekt. De afgescheiden polysacchariden moeten als overvloedig worden beschouwd bij het opnemen van eiwit- en koolhydraten-mengsels. Fig. 17 geeft een afbeelding te zien van het vergrote model van een zuigende bladluis, dat zich in het „British Museum (Natural History)” te Londen bevindt. Hierop is te zien hoe de stiletten doordringen tot in het phloëem.

Het feit, dat het virus langs dezelfde transportbanen als de assimilaten door de plant verspreid wordt, heeft de opvatting doen ontstaan, dat het insect door het onttrekken van voedingsstoffen aan het phloëem de smetstof opneemt. Nieuwere onderzoekingen hebben echter bewezen, dat de overbrenging van virusziekten door bladluizen niet altijd afhankelijk is van de plaats in het plantenweefsel tot

waar het steekapparaat doordringt (ROBERTS, 1940). Alleen met betrekking tot het overbrengen van de vergelingsziekte van de suikerbiet, komt ROBERTS tot de conclusie, dat een groter slagingspercentage wordt verkregen, naarmate het insect, de luis *Myzus persicae* SULZ. meer tot het phloëem is doorgedrongen. Verder heeft STOREY (1938) bewezen, dat overbrenging van mais-„streak” door *Cicadulina mbila* NAUDE alleen geschiedt, als het virus-dragend insect zich lang genoeg op de gezonde plant kan voeden om het phloëem te bereiken. Bij de vergelingsziekte van de biet gaat het, evenals bij de „curly top”-ziekte van het zelfde gewas om het opnemen van het virus; alleen in het phloëem is de smetstof in voldoende concentratie aanwezig (BENNETT, 1934).

Thans komt de vraag, hoe het virus via het insect in de gezonde plant komt.

Het is onwaarschijnlijk, dat het virus slechts tot de maag komt en weer uitgebraakt wordt bij het later weer opnemen van voedsel. Volgens WEBER (1928), zijn zuigkanaal en speekselkanaal zodanig van elkaar gescheiden, dat vocht uit het ene niet direct in het andere kan komen, terwijl gedurende het voeden een stroom van speeksel in de plant vloeit en een stroom van voedingssappen uit de plant door het insect wordt opgezogen. Terugstromen van voedingssappen in de plant is hierbij onmogelijk. Door STOREY (1933) is bewezen, dat bij *Cicadulina mbila* het mais-„streak”-virus zich via het darmstelsel en de lichaamsvloeistof naar de speekselklieren beweegt. Van dit insect bleken twee rassen te bestaan, waarvan het ene wel en het andere niet de besmetting overbrengt. Beide nemen het virus met het voedsel op, maar bij het niet-actieve ras komt het niet in het bloed; wel is het bij beide in de excrementen aan te wijzen. Door met een fijne naald bij het inactieve ras de darmwand door te prikken, komt het virus ook bij deze insecten in het bloed; ze blijken hierna in staat te zijn gezonde planten te infecteren. Het doorprikken kan ook gebeuren voordat het dier zich op de zieke planten voedt. De darmwand van het actieve ras is blijkbaar wel te passeren door de smetstof en die van het inactieve niet. Deze permeabiliteit bleek een erfelijke eigenschap te zijn, die berust op een dominerende factor, gekoppeld aan de geslachtsfactor (STOREY, 1932). Door injectie met sap van zieke planten kunnen bij beide rassen van *Cicadulina mbila* infectieuze insecten worden verkregen. Aangezien de plant niet mechanisch met sap kan worden besmet en de cicade reeds na zich 15 sec. te hebben gevoed zonder in het phloëem te zijn doorgedrongen infectieus kan zijn, moet aangenomen worden, dat de smetstof in het lichaam van het insect een verandering ondergaat, waardoor infectie mogelijk wordt; het is de vraag of dit een vermeerdering is. Wel is het merkwaardig, dat *Peregrinus maidis* ASHM. niet in staat kan worden gebracht „streak” over te brengen, hoewel dit insect met het voeden op de zieke plant wel de smetstof opneemt, zodat het is aan te tonen in de excrementen. Het virus komt bij dit insect niet in het bloed; na het kunstmatig inbrengen in het bloed, wordt het insect nog niet infectieus. Misschien mag dit als een aanwijzing worden beschouwd, dat de smetstof in *Peregrinus maidis* niet tot vermeerdering kan komen. Merkwaardig is ook, dat *Cicadulina mbila*, die kunstmatig infectieus is gemaakt, minder infectievermogen heeft dan de van nature infectieuze. De hypothese van STOREY is, dat de smetstof zich in de darmcellen vermeerdert alvorens deze te passeren. Voor de hand liggend is het om aan te nemen, dat het virus zich in normale darmcellen meer vermeerdert dan in doorgeprikte.

De resultaten van STOREY konden door BENNETT en WALLACE (1938) bij *Eutettix tenellus* voor het „curly top”-virus worden bevestigd.

De ingewikkelde verhouding, die moet bestaan tussen de smetstof en het overbrengend insect, wordt ook gedemonstreerd door *Myzus persicae* SULZ., die, zich op bladrolzieke aardappelplanten gevoed hebbende, pas na twee etmalen gezonde planten kan infecteren; daarna blijft de luis zeer lange tijd infectieus (ELZE, 1927). De verhouding tussen dezelfde luis en het *Hyoscyamus*-virus III en het Y-virus van de aardappel is een andere, want de luis kan in die gevallen direct na opnemng van de smetstoffen uit een zieke plant gezonde planten infecteren; zij verliest dit vermogen echter na enige uren. Het effect van het infecteren van gezonde planten wordt echter verhoogd door de luis vóór het zuigen op de zieke planten eerst te laten vasten (WATSON, 1936, 1938). Onderzoekingen hierover bij verschillende planten en ook met komkommer-virus I en „etch”-virus van de tabak hebben uitgemaakt, dat de beste resultaten, wat betreft het aantal infecties, verkregen worden door de luis minstens een uur te laten vasten, dan ongeveer twee minuten op de zieke plant te laten zuigen en onmiddellijk op achtereenvolgende gezonde planten te brengen. De luis blijft dan langer infectieus dan zonder vasten, maar ook slechts voor een bepaalde tijd. In tegenstelling hiermee blijven de luizen met andere viren, zoals boven is gemeld voor bladrol, nog veel langer, zelfs vaak voor het hele leven infectieus. Dit is o.a. ook het geval met *Myzus persicae* SULZ. en het virus van de vergelingsziekte van de biet en met *Bemisia tabaci* GENNADIUS (= *B. gossypiperda* MISRA et LAMBA) en het krulziektevirus van de katoen. In deze gevallen wordt meestal een meer of minder lange „latente” periode waargenomen, gedurende welke het insect gezonde planten nog niet kan infecteren. Op grond hiervan classificeren WATSON en ROBERTS (1939) de viren in „persistent” en „non-persistent”. De hypothese is, dat een „non-persistent” virus ontleed wordt in het lichaam van het insect (WATSON en ROBERTS, 1940). De virus-ontledende lichaamsvochten zouden uitgescheiden worden tijdens de opnemng van het voedsel. Vastende luizen scheiden deze stoffen niet af; hoe langer de luis gevestigd heeft, hoe beter ze in staat is viren ontleed te verspreiden. Na een korte voeding op zieke planten, maximaal twee minuten, en spoedig daarop op gezonde planten zouden nog geen of niet genoeg inactiverende stoffen uitgescheiden zijn tengevolge waarvan het virus op de gezonde planten in intacte toestand zou worden overgebracht.

Verscheidene viren worden door een enkele insectensoort overgebracht, andere door meer dan een. De *Thrips*-soorten, die de vectoren zijn van het „spotted wilt”-virus van de tomaat, brengen de smetstof alleen over, als ze als larven op zieke planten hebben gezogen (GARDNER en WHIPPLE, 1934). Sommige viren worden alleen dan door luizen overgebracht als zij in gezelschap zijn van een ander virus. De rozetziekte van de tabak wordt veroorzaakt door de gelijktijdige werking van twee viren, die door SMITH (1947) als „veindistorting”- en „mottle”-virus (te vertalen als „krinkel” en „marmer”) zijn geïdentificeerd. Met sap-inoculatie gaat van beide viren slechts het „marmer” over, met *Myzus persicae* gaan beide tegelijk over. „Marmer” alleen, dat met sap van plant op plant kan worden overgebracht, kan door de luis niet worden verspreid zonder de aanwezigheid van „krinkel”.

Een overeenkomstig samengaan van twee viren werd ook bij virus F met virus A van de aardappel geconstateerd (CLINCH, LOUGHNANE en MURPHY, 1936). Over het vermogen van bladluizen om uit een complex te selecteren, vermelden wij een

waarneming van KVICALA (1945). *Myzus ornatus* LAING. kan alleen *Brassica-virus 3* (bloemkool-mozaiekvirus) overbrengen van planten, die een mengsel van dit virus met *Brassica-virus 1* (kool „ringspot”) bevatten. *Myzus persicae* SULZ. en *Brevicoryne brassicae* L. brengen beide tegelijk over.

Voor een overzichtelijke beschouwing van de problemen der insectenoverbrenging tot 1939 wordt verwezen naar een verhandeling van STOREY (1939), terwijl voor nieuwere gegevens het werk van JENSSEN (1946) wordt aanbevolen, dat vooral van belang is voor tropische virusziekten; het behandelt speciaal de in Hawaii optredende virusziekten en vectoren.

C. BESMETTING UITGAANDE VAN DE GROND

Dat grond een reservoir van smetstoffen is, werd voor bacteriën en schimmels reeds vroeg bewezen. Thans is gebleken, dat dit ook het geval is met viren. Vele bacteriophagen zijn uit de grond geïsoleerd. Zo ook phagen van Actinomyceten (WIEBOLS en WIERINGA, 1936 en WIERINGA en WIEBOLS, 1936). Voor tabaksmozaiek hebben reeds MAYER (1886), BEYERINCK (1898) en IWANOWSKI (1903) de grond als infectiebron aangewezen.

Van de volgende plantenviren is besmetting van de grond uit aan te nemen. Het Deliproefstation maakt melding van het optreden van meer primaire infecties van mozaiek in tabak op witte alluviale grond, dan in tabak op daciëtische rode gronden, terwijl de vatbaarheid van de tabak op beide gronden voor contactinfectie met deze ziekte gelijk is. Waarschijnlijk is dit hieraan toe te schrijven, dat de smetstof in de witte alluviale gronden langer dan in de andere actief blijft.

HOGGAN en JOHNSON (1936) schrijven de inactivering van het virus van het tabaksmozaiek in de grond toe aan oxydatie en de activiteit van microorganismen. Doorlatende gronden met gemakkelijke luchttoevoer behouden de besmetting meestal minder lang dan dichte, weinig doorlatende. Zo blijft de smetstof van het echte tabaksmozaiek in zand en zandige gronden in het algemeen korter actief dan in zwaardere gronden of in organisch materiaal. Het virus van de gewone strepenziekte van de tomaat (één of meer stammen van het virus van het tabaksmozaiek) kan in de grond van de warenhuizen terecht komen; bij het planten en begieten van nieuwe tomatenplanten evenals bij de grondbewerking, kan infectie optreden (VAN KOOT, 1939). Van de ratelziekte van de tabak blijft volgens QUANJER (1943) de smetstof in de zaaibedden en volgens ROZENDAAL en VAN DER WANT (1948) ook op de velden over. Dit is ook het geval met de stippelstreepziekte van de boon (HUBBELING, 1942, VAN DER WANT, 1948). Er zijn gronden, waar deze ziekte jaar in jaar uit op hetzelfde perceel optreedt. Voorbeelden hiervan zijn te vinden in de waterrijke veengebieden van Noord- en Zuid-Holland, terwijl de droge zandgronden dit niet vertonen. Van het stengelbont van de aardappel (ROZENDAAL, 1947) kan evenals van de kringerigheid, welke ziekte zeer waarschijnlijk ook door een virus veroorzaakt wordt, grondbesmetting als bezwen worden aangenomen.

Uitvoerige studies van MCKINNEY (1923, 1937, 1946) over de „rosette”- en mozaiekziekten van tarwe, hebben aangetoond, dat er in enkele staten van N.-Amerika gronden zijn, die minstens twee jaar besmet blijven. Zware klei- en leemgronden blijken ook hier meer besmetting te veroorzaken dan zandige gronden. Ziektevrije bodem kan besmet worden door uitstrooien van geïnfecteerde

grond. De grond kan door formaline of stoom ontsmet worden. Door WEBB (1928) is aangetoond, dat bodemtemperaturen van 10° tot 16 °C bij een vochtigheid van 52 percent bevorderlijk zijn voor de infectie.

In 1946 is McKINNEY tot de slotsom gekomen, dat de viren van de tabaks- en tomatenmozaiekziekten de grond van uit plantenresten infecteren en geëlimineerd kunnen worden door deze resten te verwijderen of diep onder te ploegen. De viren van de tarwe- en sla-mozaiekziekten kunnen echter slechts door grondsterilisatie in de bodem onschadelijk worden gemaakt.

VAN KOOT (1939) toonde aan, dat de mozaiekziekte, die in de grond van tomatenkassen kan voorkomen, te bestrijden is door het aanbrengen van een laag zand. Hierdoor wordt verhinderd, dat de besmette grond bij het planten en gieten (opspattende gronddeeltjes!) in aanraking komt met de bovengrondse delen van de tomatenplanten. Blijkbaar kan dit virus de planten alleen aantasten via de bovengrondse delen.

D. PREMUNITEIT EN ANTAGONISME

Het verschijnsel, dat het onderwerp van dit hoofdstuk uitmaakt, is door verschillende auteurs als „acquired immunity” en „cross immunity” beschreven. Onder het eerste verstaan zij de immuniteit, die een plant zou hebben verworven, na infectie met een bepaald virus, ten opzichte van een tweede infectie met hetzelfde virus; onder het tweede, de immuniteit, die een plant ten opzichte van een bepaald virus zou hebben verworven, nadat zij eerst met een ander virus is besmet geworden (zie fig. 18). Het gaat dus in beide gevallen om een immuniteit, die de betreffende plant van nature niet bezit, doch die zij onder invloed van een bepaald virus verkrijgt.

Door QUANJER (1942) is uiteengezet, dat men hier niet te maken heeft met immuniteit, die op de vernietiging van een van te voren binnengedrongen pathogeen berust, zoals men die kent in de humane en veterinaire pathologie, maar met een meer of minder volledige onvatbaarheid van de plant voor een virus, dat identiek is aan of verwant met een virus, dat haar reeds heeft aangetast en dat nog steeds in de plant aanwezig is. De door QUANJER ingevoerde juistere term „premuniteit” is afgeleid van het Franse „prémunition”, gebruikt door SERGENT en PERROT (1935) voor de toestand van een patiënt, die genezen is maar later de infectie nog in zich draagt en in deze toestand onvatbaar is voor een nieuwe infectie. Een „vaccination prémunisante” is een latente infectie met een verzwakte smetstof, die de patiënt geen schade toebrengt.

Door de onderzoekingen van THUNG (1931, 1935), PRICE (1932, 1940), SALAMAN (1933), OORTWIJN BOTJES (1933), KUNKEL (1934), CALDWELL (1935), SADASIVAN (1940), VALLEAU (1941), BAWDEN en KASSANIS (1945), en anderen is bewezen, dat bepaalde viren deze premuniteit ten opzichte van andere viren kunnen doen ontstaan. Hierbij hebben wij onderscheid te maken tussen plaatselijke en algemene („systemic”) premuniteit. De eerste ontstaat op de plaats, die met een bepaald virussap werd bestreken of in de cellen, waarin een bepaalde smetstof van uit andere delen van de plant is binnengedrongen. De algemene premuniteit beschermt de gehele plant.

Nu blijkt uit de onderzoekingen van THUNG (1937, 1938), dat dit premuniserend vermogen bij de verschillende virusziekten niet gelijk is, maar een zekere

gradatie vertoont. Zo kon bijv. een ziekte B premuniteit opwekken ten opzichte van ziekte C, maar niet ten opzichte van ziekte A, terwijl ziekte A premuniteit doet ontstaan, zowel ten opzichte van B als ten opzichte van C; derhalve kan gesproken worden van afdalende sterkten van premuniteit in de volgorde van A, B en C. Wat betreft de mozaïekviren van de tabak is gebleken, dat JOHNSON'S „tobacco mosaic virus" het sterkst is (THUNG, 1939). De met insecten besmettelijke virusziekten blijken in dit opzicht zich essentieel anders te gedragen dan die, welke met sap overgaan. De laatste groep kan ten opzichte van de eerste geen premuniteit teweeg brengen. Bij de ziekten, welke met insecten overgaan, is slechts een enkel geval van verschil in premuniserende kracht bekend (THUNG, 1939).

Het premuniserend vermogen blijft onveranderd bij verschillende omstandigheden, waarin de planten opgroeien, (meer of minder belichting, hoge of lage temperatuur), voor zover de smetstoffen zelf er niet door worden beïnvloed.

Verleent een bepaald virus geen premuniteit ten opzichte van een ander, dat later ingebracht wordt, dan ontstaat na de tweede infectie in de nieuw gevormde bladeren of een mengvorm van de twee of een geleidelijke overheersing van het tweede over het eerste, ten gevolge waarvan ten slotte alleen de ziektebeelden van het tweede zich gaan vertonen.

Wanneer twee smetstoffen in een plant gebracht worden, zijn de volgende reacties mogelijk, afhankelijk van de verschillende sterkte in premuniserend vermogen, van de afstand van inoculatieplaats of -plaatsen ten opzichte van het groepspunt en van de al of niet gelijktijdigheid van inoculatie:

a. het algeheel overheersen van het ene virus over het andere, waardoor slechts één virus na korter of langer tijd in de jonge plantendelen tot vermenigvuldiging komt;

b. het partiël overwegen, waardoor slechts de reactie (bijv. kleur) op één der viren domineert;

c. het vormen van een vaste verhouding tussen de twee viren, waardoor bijv. een constant evenwicht tussen beide ontstaat, wat kan blijken uit het steeds naast elkaar opkomen in gelijke verhouding van de beide ziektepatronen of uit de vorming van een geheel nieuw ziektebeeld;

d. het ontstaan van een willekeurig te regelen evenwicht, waarbij bijv. in de jonge plantendelen driekwart van de bladschijven bezet wordt door het ene virus en een kwart door het andere of omgekeerd of in gelijke verhouding.

De volgende voorbeelden hiervan zijn aan THUNG (1937) ontleend:

a. JOHNSON'S „tobacco mosaic virus" 1 (het „gewoon" mozaïek) overheerst altijd alle andere mozaïekviren. Dit is het best te zien bij onderzoek met „wit" mozaïek, met zijn kenmerkende symptomen. Een plant met dit mozaïek blijft steeds toegankelijk voor het „gewoon" mozaïek, dat een bepaalde tijd na er ook in gebracht te zijn, in de jonge delen het „wit" mozaïek geheel verdringt. Omgekeerd kan „wit" mozaïek niet in een plant komen, welke reeds door het „gewoon" mozaïek is bezet.

b. Het „wit" mozaïek doet in een plant, bezet met het Vorstenlandse „vervormend" mozaïek de witte kleur overheersen; de vervorming van dit laatste blijft voortbestaan. Bij gelijktijdige inoculatie van beide viren of latere inoculatie van het „vervormend" mozaïek komt dit laatste niet tot uiting. Dit moet steeds een

voorsprong hebben om zich gedeeltelijk in de symptomen te kunnen handhaven.

c. Het „wit” en het „ernstig” mozaiek vormen steeds gelijke, duidelijk begrensde partijen naast elkaar, onafhankelijk van plaats of tijd van inoculatie van elk der smetstoffen.

d. Het „wit” mozaiek en HOLMES’ „distorting” mozaiek kunnen in willekeurig te regelen verhouding naast elkaar opkomen. Men kan het éne een voorsprong geven boven het andere in tijd of in plaats ten opzichte van het groeipunt van de plant.

De figuren 19 en 20 illustreren de vier mogelijkheden.

In de volgende Classificatie zijn deze vijf viren naar hun sterkte en die van andere mozaiekviren gerangschikt en genummerd (zie betreffende lijst). Hier zij slechts meegedeeld, dat het thans bedoeld „wit” mozaiek genummerd is met A VIa, terwijl in het volgende ook nog sprake zal zijn van een ander „wit” mozaiek nl. A VIc.

In het voorgaande is verdringing van het ene virus door het andere in het groeipunt van de plant, evenals het premuniserend vermogen van het ene ten opzichte van het andere als een teken van grotere sterkte naar voren gebracht. Het mechanisme van deze verschijnselen dient nader nagegaan te worden. De vier typen van antagonistische actie kan men opvatten als resultaten van een concurrentiestrijd, die de viren met elkaar aanbinden op de plaatsen waar zij tot vermeerdering komen en wel in de eerste plaats in de groeipunten (zie verder). In de uitslag van deze strijd spelen drie mogelijke attributen van de smetstof een rol, nl. sterkte, snelheid en vermeerderingskracht.

BAWDEN (1943) is in zake deze verschijnselen van opvatting, dat „the protective effect is not in preventing the entry of the second strain into infected plants, but merely prevention of its multiplication. The efficiency of one strain in preventing the multiplication of another appears to depend upon its ability to multiply and occupy the plant fully. For tobacco plants infected with tobacco mosaic virus have a higher virus content than those infected with strains causing yellow mosaics, and those infected with potato virus „X” have a higher content than those infected with potato virus „D”.

Volgens deze onderzoeker zal een smetstof, die veel virusdeeltjes in een bladcell doet ontstaan, sterker zijn dan een andere, welke weinig virusdeeltjes verwekt en inderdaad is voor enkele gevallen bewezen, dat het zgn. „virus content” verschillend is.

In haar algemeenheid kan deze „verzadigingstheorie” juist zijn, toch zijn er verschillende gevallen bekend, waarmee zij niet in overeenstemming is te brengen. Zo kan een tabaksplant, die besmet is met „gewoon” mozaiek en volgens BAWDEN daardoor geen „ruimte” meer zou hebben voor andere smetstoffen, wel degelijk een andere smetstof tot vermeerdering brengen bijv. die van de necrose verwekkende Rotterdam-B-ziekte (THUNG, 1938).

Verder kan de graad van tegenwerking – zoals eerder is meegedeeld – afhankelijk zijn van het tijdstip waarop de smetstoffen het groeipunt bereiken. Het evenwicht der symptomen van HOLMES’ „distorting mosaic”-virus en het „witte” mozaiek-virus kan geregeld worden door het ene een voorsprong op het andere te geven. Dit geschiedt door het ene in een veel jonger blad dan het andere te inoculeren. De smetstof, die eenmaal de voorsprong heeft gekregen, blijft in dit geval steeds een dominerende plaats innemen, echter zonder de andere geheel te



Fig. 18. Bladeren van *Nicotiana sylvestris*. Beide bladeren werden geïnoculeerd met aucuba-mozaïekvirus. Het linkse blad was echter zeven weken eerder met een milde groen-mozaïekstam geïnoculeerd. Het aucuba-mozaïekvirus veroorzaakt alleen necrotische vlekjes op het rechtse blad, dat niet van tevoren met de milde groen-mozaïekstam was besmet (L. O. Kunkel, in R. Doerr en C. Hallauer, Handbuch der Virusforschung, Ergänzungsband I, p. 505, 1944).



Fig. 19. A. Een plant met wit mozaïek. B. Een plant met wit mozaïek, later geïnoculeerd met Holmes' „distorting strain”; de onderste bladeren vertonen nog zuiver wit mozaïek. C. Een plant met wit mozaïek, later geïnoculeerd met gewoon mozaïek; de onderste bladeren vertonen nog zuiver wit mozaïek.



Fig. 20. A. De top van een plant met sterke overheersing van Holmes' „distorting strain” over wit mozaïek. B. De top van een plant met belangrijk minder geprononceerd overwicht van Holmes' „distorting strain” over wit mozaïek. C. Een tussenvorm tussen beide mengbeelden A en B.

doen verdwijnen. Nu is HOLMES' „distorting mosaic”-virus blijkens onderzoek gelijktijdige toediening op dezelfde plaats krachtiger in premuniserend vermogen dan het „witte” mozaiekvirus A VIa en zou dus volgens BAWDEN een hoger „virus content” moeten geven; doch dit blijkt dan toch niet zonder meer een „protective effect” tegen het „witte” mozaiek-virus te hebben als de plaats en de tijd daartoe niet gunstig zijn. Deze bedenking komt hierop neer, dat BAWDEN's „verzadigingstheorie” te weinig rekening houdt met de actieve rol, die òf de smetstoffen òf de plantencel bij de ziekteprocessen spelen of speelt.

Een verdere bedenking is de volgende. Volgens BAWDEN wordt een plant volledig bezet met het „gewone” mozaiek en is daarom beschermd tegen „witte” mozaieksoorten, die een minder „virus content” geven. Dus planten met „witte” mozaieksoorten zijn niet volledig bezet; maar ze zijn volgens ons onderzoek immuun tegen een hele reeks andere mozaieksoorten. Waarom kunnen deze niet indringen in cellen, die niet „verzadigd” zijn? SALAMAN (1937) huldigde de opvatting, dat de smetstof, die het eerst in een plantencel komt, hierin de overhand krijgt. „Once a cell is infected with a given virus all affinities as regards that virus are satisfied, and no other strains can obtain attachment. It is a case of first come first served.” Een overeenkomstige gedachte wordt door VALLEAU (1941) uitgesproken, althans ten aanzien van een tweede infectie door hetzelfde virus: „The acquired-immunity assumption is about as follows: A group of cells of a plant invaded by a virus is considered immune from the virus already present, or from a closely related strain of the same virus, because second inoculation does not repeat in the invaded tissue the symptoms characteristic of those usually produced by primary infection with the second virus. Would one expect to be able to produce a second perfect stand of blue-grass by reseeding a lawn that already has a perfect stand of grass? If this could not be done, would the soil be considered to have acquired an immunity from blue-grass? In the writer's opinion the two phenomena are comparable.”

De drie bovengenoemde hypothesen vatten de problemen te eenvoudig op. BAWDEN heeft zijn standpunt in een later met KASSANIS geschreven stuk (1945) verruimd; bij hun studie van de antagonistische acties van „etch”-viren, aardappelvirus Y en *Hyoscyamus*-virus III poneren de auteurs verschillende gevallen: een smetstof verdringt een andere volledig, een smetstof verhindert een andere in zijn vermenigvuldiging en een smetstof komt naast een andere ongehinderd tot normale vermenigvuldiging. Verder wordt ook de veronderstelling geopperd, dat een virus in de plantencel omstandigheden kan doen ontstaan, die een eerder daarin aanwezig virus kunnen inactiveren.

Een studie van PRICE (1943) over het „curly top”-virus van de biet in tabak en tomaat leert, dat het ziektebeeld afhankelijk is van de plaats van besmetting (jonge of oude delen van de plant) en van de wijze, waarop de smetstof er in wordt gebracht (mechanisch of door cicaden).

Ook door THUNG (1947) is bij de studie van virusziekten van *Arachis hypogea* de invloed gedemonstreerd, welke de meer of minder snelle verspreiding op de tot stand koming van de ziektebeelden heeft.

Toch hebben deze studies nog niet aan kunnen tonen in hoeverre verbreidingsnelheid, vermeerderingsnelheid of vermeerderingskracht en sterkte van premunisering onafhankelijke attributen van de smetstof zijn. Om te trachten in deze meer inzicht te krijgen is door THUNG (1947) een schema opgesteld van de moge-

lijke combinaties, waarbij hij uitging van de veronderstelling, dat deze attributen onafhankelijk van elkaar zijn, t.w.:

- a. twee viren hebben gelijke verbreidingsnelheid (equal propagation: P);
- b. twee viren hebben ongelijke verbreidingsnelheid (unequal propagation: p);
- c. twee viren hebben gelijke vermeerderingskracht (equal multiplication: M);
- d. twee viren hebben ongelijke vermeerderingskracht (unequal multiplication: m);
- e. twee viren hebben gelijke premunitieststerkte (equal strength: S);
- f. twee viren hebben ongelijke premunitieststerkte (unequal strength: s).

Bij inoculatie van twee viren in een plant zijn de volgende combinaties mogelijk PMS, PMs, Pms, PmS, pmS, pMs, pMS en pms.

Zijn deze acht gevallen door de keuze van de smetstoffen alle te realiseren, dan hebben wij de meest volledige gegevens over de smetstof en kan het wezen der premunitie beter benaderd worden. Hiervoor dient nader onderzoek nog afgewacht te worden.

Tot nu toe is nog slechts sprake geweest van ziekten, die uitsluitend met sap besmettelijk zijn en bij tabak voorkomen in de vorm van mozaiek en necrose.

Gecompliceerder zijn de antagonistische acties bij viren, die behalve met sap ook met insecten over zijn te brengen of die uitsluitend met insecten worden overgebracht. Deze viren hebben een andere verhouding tot de plant dan de met sap besmettelijke, zoals reeds werd meegedeeld bij de vermelding van het feit, dat de laatste geen premunitie ten opzichte van de eerste verwekken. Zo komt b.v. de gevarieerdheid der antagonistische acties bij viruszieke tulpen tot uiting in de volgende typen van kleurpatronen: gevlamde, geveerde, gevlekte, gespikkelde, wit-gebroken, donker-gebroken en rood-gebroken bloemen, evenals bizarren en bijbloemen. McWHORTER (1935, 1938) neemt bij „commercial Rembrandts” het optreden van twee viren aan (waarvan het ene „colour-removing” en het andere „colour-adding” eigenschappen zou bezitten); zij houden elkaar in evenwicht. Volgens VAN SLOGTEREN en DE BRUIJN OUBOTER (1941) zijn hier bedoeld „roses”, „bizarren” en „bijbloemen”, maar geen Rembrandttulpen; dat er hierbij twee viren in het spel zouden zijn is volgens hen niet afdoende bewezen.

Bij tabaksmozaiekziekten, welke twee verschillende kleurpatronen naast elkaar in het blad vertonen, zijn twee viren van elkaar te scheiden door, uitgaande van de onderscheidene kleurpatronen, inoculaties te verrichten. Deze scheiding is bij de door McWHORTER aangenomen viren niet gelukt (VAN SLOGTEREN en DE BRUIJN OUBOTER, 1941). Infectie van gezonde tulpen met inoculum van een donker-gebroken tulp gaf in de regel hetzelfde ziektebeeld als infectie met inoculum afkomstig van een licht-gebroken tulp. Eveneens ontstond hetzelfde ziektebeeld onverschillig of het inoculum afkomstig was van een licht-gebroken of van een donker-gebroken vlek van dezelfde bloem. Er kwamen echter uitzonderingen voor, waarbij inoculum van een donker-gebroken tulp een donker-gebroken tulp en inoculum van een licht-gebroken tulp een licht-gebroken tulp opleverde.

Er kan dan ook met een grote mate van waarschijnlijkheid worden geconcludeerd, dat er hier geen sprake van twee verschillende viren is. Beter is het te spreken van een meer of mindere virulentie van hetzelfde virus, die, gepaard gaande met de normale variatie in weerstand van het protoplasma van de plant tegen de aantasting door het virus, de verscheidenheid der verschijnselen kan ver-

klaren. Mochten hierdoor nog niet alle verschijnselen te verklaren zijn, dan is het veel waarschijnlijker, dat twee of meer zeer nauw verwante rassen van hetzelfde virus een rol spelen, dan dat wij te maken hebben met twee verschillende viren.

Andere afwijkingen van de normale bloemkleuren, als daar zijn: vlammen, veren, vlekken, spikkels, strepen en deformaties van het bloemblad kunnen wijzen op de werkzaamheid van meer viren of rassen van viren, die al of niet specifiek voor de tulp zijn; zo is door AINSWORTH (1938) van een tulp een virus geïsoleerd, dat waarschijnlijk identiek is met komkommermozaïekvirus 6. Het onderzoek van deze viren is echter nog niet zover, dat de eigenschappen scherper kunnen worden beschreven.

Van de narcis zijn de virus-ziektebeelden in het blad te bestuderen; het mozaïek, het „grijs”, het „bruin”, het „zilver” en de krulziekte zijn hiervan de voorname verschijnselen, die ieder waarschijnlijk door een eigen smetstof worden veroorzaakt (VAN SLOGTEREN en DE BRUIJN OUBOTER, 1941). Althans serologisch is in Lisse reeds een apart antiserum bereid tegen het „grijs”, het „bruin” en het „zilver”. Antagonistische acties zullen ook in de bladeren bestudeerd moeten worden.

PRICE (1940) onderscheidt zowel bij „acquired immunity” als bij „cross immunity” het „chronic-disease”-type en het „carrier”-type. Bij mensen en dieren is het „steriele” type, waarbij het ziekteverwekkend organisme reeds afwezig is, het meest voorkomende; bij planten kent men dit niet.

Uitvoerige studies zijn verschenen over „acquired immunity” bij tabak, die door „ringspot” is aangetast en schijnbaar van de ziekte is hersteld (PRICE, 1932, 1936, 1940, VALLEAU, 1932, 1935, 1941); herhaling der besmetting doet geen symptomen meer te voorschijn komen. Dergelijke premunitetsverschijnselen na herstel of schijnbaar herstel zijn bij meer virusziekten geconstateerd, zoals door BLACK (1938) voor „yellow dwarf” van de aardappel is aangetoond en door OORTWIJN BOTJES (1933) voor „topnecrose” van de aardappel. PRICE (1940) rangschikt deze verschijnselen onder het „carrier”-type. Het herstel treedt bij tabak op in jonge toppen of scheuten, die als eerste symptomen hiervan in plaats van „ringspot” eerst het zogenaamd eikenblad-patroon vertonen en later geen ziekteverschijnselen meer laten zien. Worden deze schijnbaar gezonde delen met „ringspot”-virus geïnoculeerd, dan komen geen ziekte-symptomen hierin op. Wel verschijnen er op deze jonge delen ziektebeelden als ze geïnoculeerd worden met de viren van tabaksmozaïek, komkommermozaïek en andere niet aan het „ringspot” verwante viren. Het „ringspot”-virus is latent nog in deze delen aanwezig. De schijnbaar gezond geworden toppen en scheuten kunnen ook afgesneden en gestekt worden; de daaruit ontstane planten blijven specifieke premunitet vertonen. Door infectie met inoculum van deze planten of door enting op gezonde planten is de aanwezigheid van de smetstof te demonstreren.

VALLEAU (1941) komt tegen de opvatting van herstel op; het achterwege blijven van de bekende „ringspot”-verschijnselen moet als een tweede fase van de ziekte worden opgevat. Studies met zes „strains” van deze ziekte, die vrij willekeurig bij elkaar zijn gezocht, hebben aangetoond, dat de temperatuur invloed heeft op het al of niet verschijnen der diverse ziektebeelden, terwijl pollensteriliteit en verminderde zaadproductie bij de zgn. herstelde planten de ziekte blijven verraden. Tabaksplanten in het stadium van de „ringspot”-tekeningen

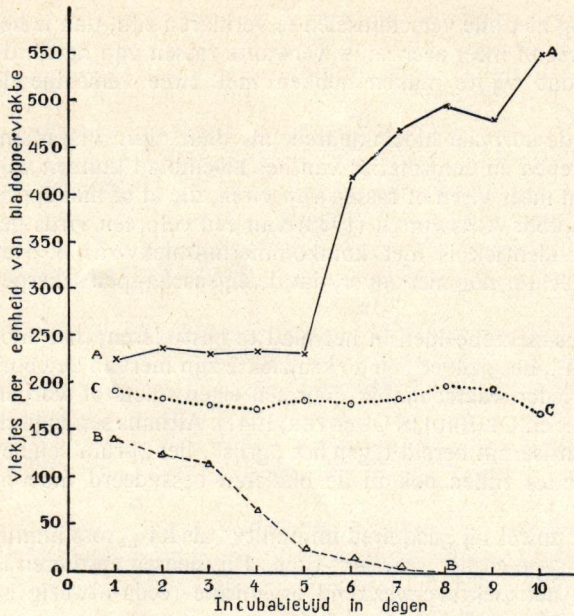


Fig. 21. Grafische voorstelling van de correlatie tussen virusgehalte en premuniteit. Curve A: tabaksmozaiek, virusgehalte van *Nicotiana sylvestris*, bepaald naar het aantal lokale vlekjes op *N. glutinosa*. Curve B: aucubamozaiekvlekjes op *N. sylvestris*, die van tevoren besmet was met tabaksmozaiekvirus. Curve C: aucubamozaiekvlekjes op *N. sylvestris*, die niet van tevoren besmet was met tabaksmozaiek, doch bestreken met water (T. S. Sadasivan, Ann. Appl. Biol. 27: 365, 1940).

sneller tot stand in oude en middelmatig oude bladeren, dan in jonge. Daarentegen heeft bij spreidinfectie, als dus virusdeeltjes van andere delen van de plant komen, de vermeerdering sneller in de jonge bladeren plaats. De verhinderende werking van gewoon mozaiekvirus, m.a.w. de premuniserende werking van het laatste, is evenredig aan de mate, waarin dit toeneemt (zie fig. 21).

Antagonistische actie is ook geconstateerd bij bacteriophagen, die elkaar kunnen tegenwerken bij het parasiteren in bacteriën. Door DELBRÜCK (1945) werd aangetoond, dat slechts het eerste actieve phaagdeeltje, dat aan de wand van een *coli*-bacterie wordt geadsorbeerd, in staat is binnen te dringen en zich intracellulair te vermeerderen. Andere phaag-deeltjes, niet alleen van een andere, maar ook van dezelfde soort, die later worden geadsorbeerd, vermenigvuldigen zich niet.

E. CLASSIFICATIE

Een chaotische toestand is ontstaan door het vrij willekeurig geven van namen, die voor dezelfde ziekte in verschillende streken verschillend luiden, terwijl omgekeerd de vraag open blijft of dezelfde naam elders werkelijk dezelfde ziekte

blijken slechts lokale premuniteit te vertonen; de niet met deze tekeningen bezette bladpartijen blijven toegankelijk voor een tweede inoculatie.

De „ringspot”-ziekte komt nog verder ter sprake bij de behandeling van de verhouding tussen smetstof en plant.

Door SADASIVAN (1940) is het verloop nagegaan van de geleidelijke premunisering van bladeren van tabak en van *Nicotiana sylvestris* door het virus van gewoon mozaiek ten opzichte van dat van „aucuba”-mozaiek en door XG-virus van de aardappel ten opzichte van Xs-virus. Hij komt tot de conclusie, dat deze premunisering geheel wordt beheerst door de hoeveelheid aanwezig premuniserend virus. De vermeerdering van gewoon-mozaiekvirus komt na inoculatie

aanduidt. Om tot een juiste benaming en beschrijving te komen dient een algemeen gangbaar classificatiesysteem te worden ingevoerd. Hiervoor werkt thans „The International Committee on the naming and description of plant virus diseases”. Op de uitwendige ziektesymptomen alleen kan men dan ook niet afgaan bij de vraag of men met dezelfde of met verschillende ziekten te maken heeft; daarvoor beïnvloeden klimaat, groei, soort en ras de symptomen meestal te sterk.

JAMES JOHNSON is de eerste, die een classificatie heeft gegeven; hij beschrijft in zijn „Classification of plant viruses” (1927) de volgende negen virusziekten van tabak:

1. tobacco mosaic (Tobacco virus 1).
2. speckled tobacco mosaic (Tobacco virus 2).
3. mild tobacco mosaic (Tobacco virus 3).
4. spot-necrosis of tobacco (Tobacco virus 4).
5. ring-spot of tobacco (Tobacco virus 5).
6. yellow tobacco mosaic (Tobacco virus 6).
7. medium tobacco mosaic (Tobacco virus 7).
8. bleaching tobacco mosaic (Tobacco virus 8).
9. tomato stem-necrosis (Tobacco virus 9).

Hiernaast geeft hij een beschrijving van ziekteverschijnselen bij de tabakspiant, die veroorzaakt zijn door het virus van het komkommermozaiek (Cucumber virus 1).

Hoewel JOHNSON'S classificatie in de eerste plaats gebaseerd is op ziekteverschijnselen, is bovendien door hem de grondslag gelegd voor de identificatie der ziekteverwekkers zelf. Hij heeft daartoe bepaald de resistentie *in vitro* tegen chemicaliën, tegen bewaring en de maximale temperatuur, waarbij het virus kan bestaan. Voorts heeft hij de ziektesymptomen nagegaan bij andere waardplanten nl. *Nicotiana glauca*, *N. glutinosa*, *N. rustica*, *Capsicum annum*, *Lycopersicum esculentum*, *Physalis pubescens*, *Petunia violacea*, *Hyoscyamus niger*, *Solanum tuberosum* en *Phytolacca decandra* (pokeweed).

Verder heeft ISMÉ A. HOGGAN (1927) cytologische details der geïnfecteerde cellen hieraan toegevoegd. Ter illustratie nemen wij de voorbeelden op pag. 87 [63] over. Zij beschrijft het optreden van karakteristieke amorphe lichaampjes, die „X-bodies” worden genoemd.

In een latere studie hebben JOHNSON en HOGGAN (1935) een tabel opgesteld ter classificatie van planten-virusziekten in het algemeen, waarbij zij als twee grote hoofdgroepen beschouwen: de ziekten, die overgaan met zuigende insecten en die, welke er niet door worden overgebracht. Elke hoofdgroep wordt verdeeld in groepen, die al of niet door kunstmatige inoculatie met sap over te brengen zijn. Verdere principes van indeling zijn het al of niet verspreid worden door Aphiden en het al of niet langer dan zeven dagen virulent blijven *in vitro* bij 22 °C. Kleinere groepen worden onderscheiden naar het al of niet vatbaar zijn van *Rosaceae* en van aardappel en naar de maximale temperatuur, waarbij het virus bestaan kan.

In de „Abstracts of Communications” van het Botanisch Congres van Cambridge van 1930 werden als methoden voor identificatie en differentiatie van plantenvirosen de volgende aanbevolen:

1. Symptomatology.
2. Histology and physiology.

3. Determination of host range.
4. Determination of the mode of transmission and relation between virus and vectors.
5. Determination of influence of environment on diseased host.
6. Cytology (X-bodies).
7. Determination of physical and chemical characteristics of viruses *in vitro* (JAMES JOHNSON-method).

Op dat congres heeft QUANJER (1931) een classificatie van aardappelvirosoen op histologische grondslag bekend gemaakt.

VALLEAU en E. M. JOHNSON (1928) vermelden bij de beschrijving van virosoen, die zowel de tabak als de tomaat aantasten, 5 groepen:

1. de groep van de echte tabaksmozaïeksoorten, die waarschijnlijk alleen de Solanaceëen aantasten;
2. de „etch”-groep, gekarakteriseerd door fijne necrotische lijnen bij een Turkse tabaksoort, waarmee de auteurs hebben geëxperimenteerd;
3. de groep van de komkommermozaïeksoorten;
4. het „veinbanding”-virus;
5. het virus van de door J. JOHNSON als „ringspot” beschreven ziekte, die van ogenschijnlijk gezonde aardappelplanten op tabakplanten is overgebracht.

Dezelfde onderzoekers komen voor de tabak in Kentucky tot een classificatie van vier verschillende soorten van echt tabaksmozaïek naast de ziekten, die met de volgende benamingen worden aangeduid: „ringspot”, „coarse etched”, „puffed”, „etched”, „etched +” en „vein margin”.

E. M. JOHNSON's studie over de virusziekten van de tabak in Kentucky (1930) en KUNKEL's overzicht van de virusziekten bij planten (1928) geven een denkbeeld van verschillende kanten van het virusvraagstuk, die van belang zijn voor de classificatie.

Van de in de laatste jaren bepleite classificaties dienen vermeld te worden die van K. M. SMITH (1937) gebaseerd op de hoofdwaardplanten en die van HOLMES (1939), die viren met Latijnse namen aanduidt.

SMITH nummert de viren naar de chronologische data der door de auteurs gegeven beschrijvingen met als hoofdindeling 51 groepen, ieder met de geslachtsnaam van de plant, waarop de betreffende virusziekte het eerst is beschreven, bijv. *Nicotiana-virus* 1, 2, 3 etc., *Solanum-virus* 1, 2 etc.

Door HOLMES worden de viren gegroepeerd in Divisies, Klassen, Families, Geslachten en Variëteiten. Zo is in deze indeling het tabaksmozaïekvirus ondergebracht in Divisie: *Phytophagi*, Klasse 11: *Spermaphytophagi*, Familie 2: *Marmoraceae*, Geslacht: *Marmor* en genaamd: *Marmor tabaci*, waarvan de door hem vermelde „green-mottling, distorting strain” genoemd wordt: *M. tabaci* var. *vulgare* en de „masked symptom strain”: *M. tabaci* var. *obscurum*. Het tabaks „ringspot”-virus behoort tot de Familie 3: *Annulaceae*, Geslacht: *Annulus* en heet *A. tabaci*; hiervan is bijv. de „yellow-ringspot strain”: *Annulus tabaci* var. *auratus*. Tot het Geslacht *Annulus* wordt ook gerekend: „tobacco streak-disease”-virus en wordt genoemd *Annulus orae*; maar „tobacco necrosis”-virus wordt bij het geslacht *Marmor* ondergebracht en genaamd *M. lethale*. Het aardappel X-virus wordt geclassificeerd als *Marmor dubium* (X als *dubius* beschouwd) var. *vulgare* met verdere variëteiten *annulus*, *flavum*, *obscurum*. Het aardappel Y-virus is als kom-

JOHNSON (1927)

Tobacco Mosaic (Tobacco virus 1) Pl. I, A

Type: ALLARD. U.S.D.A. Bull. 20, 1914.

Host Family: Solanaceae.

Differential Hosts:

On Tobacco, marked mottling, malformation and stunting.

On *N. glutinosa*, stem and leaf necrosis and stunting, no mottling.

On tomato, mottling and stunting, no stem necrosis.

On Pokeweed, no symptoms.

Resistance to Aging *in vitro*: Several years.

Thermal Death-Point: 90 °C 10 minutes.

Resistance to Chemicals: High (60 % alcohol or 1 to 200 HNO₃ does not kill in one day).

HOGGAN (1927)

TABLE 1. Occurrence of cell inclusions in various solanaceous host plants in association with different viruses

Diseases	Virus	Hosts											
		<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>Nicotinia glauca</i>	<i>Nicotinia glutinosa</i>	<i>Capiscum annuum</i>	<i>Lycopersicum esculentum</i>	<i>Physalis pubescens</i>	<i>Physalis franchetti</i>	<i>Petunia violacea</i>	<i>Hyoscyamus niger</i>	<i>Nicantra physaloides</i>	<i>Solanum lachnatum</i>	<i>Solanum minutum</i>
Tobacco mosaic	Tobacco virus 1	++	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+
Cucumber mosaic	Cucumber virus 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Speckled tobacco mosaic	Tobacco virus 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mild tobacco mosaic	Tobacco virus 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Spot necrosis	Tobacco virus 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ring spot	Tobacco virus 5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Yellow tobacco mosaic	Tobacco virus 6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Medium tobacco mosaic	Tobacco virus 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bleaching mosaic	Tobacco virus 8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tomato stem necrosis	Tobacco virus 9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

++ indicates that x-bodies and striate material are both present.

0 indicates no inclusions present.

+ indicates striate material only present.

... niet onderzocht.

kommermozaiek beschouwd en heet *Marmor cucumeris* var. *ypsilon*. Het „para crinkle“-virus van de aardappel (aardappelvirus E van SMITH, 1933) is geïnclassificeerd als *Marmor Angliae*, omdat het in Engeland is beschreven.

Op deze classificaties is onder meer door BAWDEN (1941, 1943) critiek uitgeoefend uit hoofde van het feit, dat zij niet gebaseerd zijn op eigenschappen van de smetstof zelf.

Inderdaad is — ondanks waardevolle gegevens, die deze systemen naar voren hebben gebracht — een vrij willekeurige grondslag er voor gekozen. Evenwel dient bedacht te worden, dat met de tegenwoordige kennis der virologie een voor alle plantenviren consequent te verdedigen basis nog niet is te vinden.

JOHNSON'S classificatie van 1927 slaat alleen op tabak; zijn classificatie van 1935 neemt uiteenlopende grondslagen tegelijk op, terwijl BAWDEN'S groepering op serologische grondslag (1943) slechts een klein aantal viren omvat.

Door QUANJER (QUANJER, ROZENDAAL en THUNG, 1947) is in chronologische volgorde een opsomming gegeven van reeds gebezigde en mogelijk nog te bezigen kenmerken, waarop classificaties zijn opgebouwd of nog zijn op te bouwen. Beschouwd worden:

1. Met betrekking tot de plant:

- a. Symptomen (K. M. SMITH, 1937; HOLMES, 1939; VALLEAU, 1940; HANSEN, 1941);
- b. Anatomische en fysiologische eigenschappen (HOGGAN, 1927; QUANJER, 1931);
- c. Natuurlijke en toetswaardplanten (J. JOHNSON, 1927; K. M. SMITH, 1937).

2. Met betrekking tot de overbrengingswijzen:

- d. Mechanische of insecten-overbrenging (J. JOHNSON, 1935);
- e. Verhouding van insect en smetstof (ELZE, 1931; STOREY, 1939).

3. Met betrekking tot het virus:

- f. Houdbaarheid *in vitro* (J. JOHNSON, 1927);
- g. Inactiveringstemperaturen (J. JOHNSON, 1927).

In de laatste jaren zijn de volgende differentiatie-mogelijkheden opgekomen:

1. Met betrekking tot de plant:

- h. Premuniteit (THUNG, 1935, SALAMAN, 1938).

2. Met betrekking tot de overbrenging door insecten:

- i. Onderscheid tussen „persistent” en „non-persistent”-viren (WATSON en ROBERTS, 1939) (zie pag. 76 [52]).

3. Met betrekking tot het virus:

- j. Physico-chemische eigenschappen van het virus (STANLEY, 1937; BAWDEN, 1943; PIRIE, 1946);
- k. Serologische determinaties (CHESTER, 1936; BAWDEN, 1943; VAN SLOGTEREN, 1943);
- l. Electronenfotografische opname (STANLEY, 1943; BLACK, PRICE en WYCKOFF, 1946).

Deze gegevens overziende blijkt het ook QUANJER niet mogelijk om alle bekende plantenviren in één systeem van classificatie onder te brengen. De volgende voorbeelden demonstreren, waarom een classificatie-methode van de viren van een bepaald plantengenus niet op behoeft te gaan voor die van een ander genus.

1. De *Fragaria*-viren zijn in tegenstelling tot de tabaksviren niet te scheiden in een met sap besmettelijke en een door insecten verspreide groep, omdat geen van de *Fragaria*-viren met sap kan worden overgebracht van wege het hoge tannine-gehalte in het sap van de aardbeiplant.

2. De verwantschap tussen enkele met sap besmettelijke viren (zoals mozaïekviren van tabak en X-viren van aardappel) kan gedemonstreerd worden door de serologische reactie. Deze methode kan niet toegepast worden bij viren, die zich niet met sap laten overbrengen.

Voor zover mogelijk moet getracht worden systemen op te bouwen op de eigenschappen van de smetstof of op de relaties tussen smetstof en plant. Tot op heden wordt echter onze kennis hieromtrent slechts verkregen uit serologisch- en premunitieitsonderzoek. Wat betreft het eerste is – zoals eerder is meegedeeld – door BAWDEN (1943) een groepering opgesteld van een aantal viren van uitéénlopende planten in twaalf groepen. De leden van elke groep vertonen ten opzichte van elkaar serologische verwantschap, maar niet ten opzichte van leden van andere groepen.

Door ROZENDAAL (QUANJER, ROZENDAAL en THUNG, 1947) is een groepering opgesteld van viren van de aardappel op grondslag van premunitieitseigenschappen. De leden van elke groep van ROZENDAAL vertonen premunitieitseigenschappen ten opzichte van elkaar, maar niet ten opzichte van de leden van de andere groepen.

Hoe de leden van elke afzonderlijke groep zich principiëel ten opzichte van elkaar verhouden, wordt in bovengenoemde systemen niet nader uitgewerkt; zij worden van elkaar onderscheiden door uitwendige symptomen.

In het volgende wordt getracht op grond van de studie der tabaksviren wel principiële onderscheidingen vast te leggen bij alle leden der verschillende groepen. Hierbij is gedacht aan een methode voor classificatie of althans identificatie, die aansluit aan hetgeen in de praktijk in dit verband plaats vindt.

Van de virusziekten van de tabakspant is daarom allereerst een hoofd-onderscheiding gemaakt in met sap besmettelijke en niet met sap besmettelijke ziekten. In overeenstemming met wat in de praktijk geschiedt, wordt bij de voor deze indeling benodigde inoculatie-proeven niet met carborundum gewerkt.

De met sap besmettelijke ziekten worden onderscheiden in die, welke door mozaïektekeningen en die, welke door necrose zijn gekenmerkt. Wanneer bij de met sap besmettelijke ziekten ook ziekten worden gevonden, die tevens door insecten worden overgebracht, dan worden ze gebracht bij de met sap besmettelijke. In geval een ziekte naast mozaïektekeningen ook necroseverschijnselen vertoont, dan wordt zij tot de mozaïekgroep gerekend. Bij deze werkwijze dient vanzelfsprekend steeds onder dezelfde omstandigheden en steeds op dezelfde tabaksvariëteit te worden geïnoculeerd.

Bij de identificatie dient vermeden te worden, dat met mengsels wordt gewerkt. Als criterium van enkelvoudige ziekten wordt aangenomen het niet meer te splitsen zijn in eenvoudiger vormen, zoals op pag. 65 [41] reeds is beschreven door uitsnijden en herhaalde overenting. Vertonen de verschillende series der inoculaties na b.v. een maand dezelfde tekeningen, ook na voldoende herhaling, dan mag aangenomen worden, dat de oorspronkelijke ziekte niet te splitsen was. De analyse kan zo nodig worden aangevuld door verhitting (tot 60°, 70°, 80°, 90 °C) en door besmetting via insecten.

Tegen de onderscheiding tussen mozaïek en necrose kan de bedenking worden ingebracht, dat deze alleen van symptomatische aard is. Bij het aardappel Y-virus is deze bedenking van kracht, daar dit bij de eerste inoculatie necrose in bladeren en stengels veroorzaakt, maar bij de nabouw van de knollen der necrotische planten alleen mozaïekverschijnselen doet ontstaan. Hiertegen kan men aanvoeren, dat bij nieuwe besmetting van dit mozaïek bij gezonde planten weer necrose optreedt. Hierdoor kan dus vastgehouden worden aan necrose als een kenmerk van „Y”. Bij tabak gaat de necrose gepaard met andere premunitieits-eigenschappen dan het mozaïek. De ziekten van de necrosgroep, zijn één voor één, wat betreft doordringing in de mozaïekzieke planten, krachtiger dan de mozaïek-ziekten; deze laatste kunnen niet indringen in planten met necrose-symptomen. Hier hebben wij dus met een reële eigenschap te maken.

Een analoog verschil wordt geconstateerd bij de aardappel tussen de Y-virus-ziekte en de „severe etch”-ziekte. Volgens BAWDEN zijn planten besmet met „Y” gevoelig voor infecties met „severe etch”, terwijl de laatste ziekte in staat is de eerste te onderdrukken.

Een verdere bedenking tegen het voorgestelde kan bestaan in het niet principiël gefundeerd zijn van de besmettelijkheid met sap; er kunnen inactiverende stoffen in 't spel zijn zoals tanninen bij de aardbei. Zou het gelukken het virus te zuiveren, dan zou het mogelijk kunnen blijken, dat aardbei-mozaïek met sap kan worden overgebracht. In dit verband dient opgemerkt te worden, dat het negatief resultaat aansluit bij wat in dit geval ook in de praktijk plaats vindt.

Een meer fundamenteel verschil tussen met sap en met insecten over te brengen viren wordt ook daarom waarschijnlijk, omdat de laatste niet door de eerste verdrongen kunnen worden.

Op grond van het bovenstaande heeft THUNG (QUANJER, ROZENDAAL en THUNG, 1947) de in de Vorstenlanden (Java) voorkomende virusziekten van tabak verzameld en geïnoculeerd op de tabaksvariëteit Kanari. Hierop heeft hij nagegaan welke smetstoffen enkelvoudig zijn en combinaties van smetstoffen heeft hij er op ontleed. Hij heeft een hoofdingeling gemaakt in :

A. met sap besmettelijke viren (zonder toepassing van carborundum);

B. niet met sap besmettelijke viren. Deze omvatten de met insecten over te brengen viren en die waarvan het overbrengend insect nog niet bekend is, maar die in elk geval niet met sap overgaan. Viren, welke beide besmettingswijzen hebben, worden onder A geplaatst.

De viren van groep A worden onderverdeeld in twee subgroepen, nl.:

A. de mozaïekgroep, bevattende de viren, die alleen of vrijwel alleen mozaïek veroorzaken.

An. de necrose-subgroep met viren, die uitsluitend necrose teweeg brengen.

Het virus van de mozaïek-subgroep, dat in tabak het sterkst premuniserend werkt, is het gewone tabaksmozaïekvirus, dat in alle landen waar dit gewas verbouwd wordt is te vinden. Het staat bekend als „JOHNSON'S tobacco mosaic I” (JOHNSON, 1927). In ons systeem wordt het genummerd als A I. De viren, die in premuniserend vermogen gradueel minder krachtig zijn, volgen hierop met de nummering: A II, A III, A IV, etc. De viren van de necrose-subgroep worden eveneens genummerd: An I, An II, An III, etc.

Groep B wordt onderscheiden in subgroepen en wel in die, welke door *Bemisia tabaci* GENNADIUS (= *B. gossypiperda* MISRA et LAMBA) worden overgebracht

(Bb) en die, welke door *Myzus persicae* SULZ. worden verspreid (Bm). De viren, die in de subgroepen een gelijk premuniserend vermogen hebben, worden van elkaar onderscheiden door toevoeging van de letters a, b, c etc. Zodoende hebben wij nummeringen als: A I, A II, ... A VIa, A VIb, A VIc, ... An I, An II...; Bb I, Bb IIa, Bb IIc; Bm Ia, Bm IIB.

Voor mogelijke, door andere insecten verspreide tabaksviren, kan een hieraan aansluitende nummering worden toegevoegd.

DOOR ROZENDAAL (QUANJER, ROZENDAAL en THUNG, 1947) is de volgende gedachtengang verdedigd:

De bij de aardappelplant optredende viren kunnen langs premunologische weg in een aantal groepen worden onderverdeeld. Hoewel langs serologische weg in deze ook heel veel is bereikt en wellicht nog te bereiken zal zijn, heeft de toepassing van de premuniteitsreactie het voordeel, dat zij ook daar resultaat heeft gegeven, waar de serologie tot nog toe faalde. Het onderverdelen in overgang met sap en met insecten, heeft zeker zijn grote, vooral praktische waarde, maar kan voor de classificatie nooit van fundamentele betekenis zijn. De symptomatiek op zichzelf voert ook niet altijd tot het juiste groepsverband van de verschillende viren. De door QUANJER en OORTWIJN BOTJES (1929) langs symptomatische en pathologisch-anatomische weg in één groep ondergebrachte topnecrosen A en B, bleken premunologisch niet het minste verband met elkaar te hebben. De in Nederland optredende viren kunnen volgens ROZENDAAL als volgt worden ingedeeld:

I. De X-viren

Hiervan treden vele stammen of vormen op. Ten aanzien van de aardappelrassen verschillen zij zeer in virulentie. Sommige doen geen symptomen ontstaan, andere verwekken min of meer hevige mozaiekverschijnselen, weer andere veroorzaken necrosen. Hoewel de premuniteit vaak niet absoluut is en de wijze van herinoculatie (sapoverbrenging of stengelenting) van grote betekenis is, kan uit de manier van reageren toch steeds besloten worden of wij met X-viren te doen hebben.

II. De A-viren

Langs premunologische weg kon bewezen worden, dat vier verschillende zgn. „mozaiekviren” tot de A-virus-groep behoren. Hoewel door middel van enting „doorbraak” van een A-virus kan plaats vinden, bleek in de natuur (het A-virus gaat met luis over) het ene A-virus te beschermen tegen het andere.

III. De Y-viren

Het in Nederland voorkomende Y-virus komt geheel overeen met het klassieke Y-virus van KENNETH SMITH. Daarnaast is bij uitzondering een wat zwakkere vorm aangetroffen. In hoeverre het door ATANASOFF (1923) en door QUANJER en OORTWIJN BOTJES (1929) beschreven stippelstreepvirus verband houdt met het Y-virus is nog niet geheel uitgemaakt. Van premuniteit is hier veel minder sprake; alleen bij bepaalde aardappelrassen kan worden aangetoond, dat het Y-virus de werking van het stippelstreepvirus in belangrijke mate tegengaat. Het feit, dat dit niet het geval is ten aanzien van de andere viren, (alsmede verschillende andere punten van overeenkomst) wijst op het verband tussen het Y- en stippelstreepvirus. Hoogstwaarschijnlijk hebben wij hier met vormen te doen, die verder van elkaar staan dan de vormen van het klassieke Y-virus zelve.

IV. De *F-viren*

Het aucubabontvirus leek aanvankelijk het eenvoudigste virustype te vertegenwoordigen. Nader onderzoek bracht echter aan het licht, dat van dit virus de meest uiteenlopende vormen voorkomen. De symptomen wijken vaak dermate van de aucubabontverschijnselen af, dat aanvankelijk aan „nieuwe” viren werd gedacht. Door premunitie-reacties kon de verwantschap echter onomstotelijk worden vastgesteld. Daarbij kwam aan het licht, dat twee reeksen van vormen optreden. De ene reeks vertegenwoordigt een aantal vormen, die voor alle onderzochte aardappelrassen een stijgende virulentiegraad aan de dag leggen, terwijl de andere reeks vormen bevat, welke niet alleen totaal afwijken in symptoomuitdrukking, maar tevens alleen ten aanzien van bepaalde aardappelrassen een hoge virulentiegraad vertonen.

V. De *bladrolviren*

Hoewel tot voor kort het bladrolvirus als een eenheid werd beschouwd, is nu komen vast te staan, dat van de bladrolziekte verschillende vormen voorkomen, welke onveranderd met het pootgoed op de nateelt overgaan. Het langs symptomatische weg geconstateerde verband tussen deze ziekten kon door middel van premunitie-reacties worden bevestigd. Te velde bleken de zwakke vormen de planten te beschermen tegen de virulentere; ook bij knol- en stengelentingen kon een premunitie worden vastgesteld, hoewel ook hier, bij toepassing van stengelentingen, „doorbraak” mogelijk is.

III. SMETSTOF EN PLANT

A. DE SYNTHESE VAN HET VIRUS

Het mechanisme van de vermeerdering van de smetstof in de plant vormt het onderwerp van vele studiën; nog steeds zijn de meest essentiële punten hierom trent niet opgehelderd.

Eén der voorwaarden, waaraan moet worden voldaan om een inzicht te verkrijgen in de synthese van het virus, is het verzamelen van kwantitatieve gegevens over de toeneming der virusconcentratie na infectie en over de storingen, die als gevolg van de ziekte in de stofwisseling der plant optreden. Daar het plantenvirus óf uitsluitend óf overwegend uit nucleoproteïde bestaat, ligt het voor de hand om naast de vaststelling van het virusgehalte speciaal aandacht te schenken aan het gedrag der eiwitten en hun bouwstenen.

Volgens MELCHERS en SCHRAMM (1940) neemt, na inoculatie, het gehalte aan mozaïeksmetstof in het sap van een vatbaar tabaksras (Maryland Mammuth) gedurende ongeveer $1\frac{1}{2}$ maand gestadig toe om dan gedurende ongeveer een maand af te nemen. Na 44 dagen bedraagt de virusconcentratie, berekend uit het stikstofgehalte van het perssap, het tienvoudige van het stikstofgehalte van de gezonde controleplanten. Na nog weer 29 dagen is echter de virusconcentratie sterk afgenomen. Het eiwitgehalte van het perssap van niet geïnfecteerde controleplanten blijft vrijwel constant. Het gehalte aan niet-infectieus eiwit neemt bij de viruszieke planten eveneens toe. (Niet vermeld is hoe dit gehalte later wordt.) Bij het resistente ras Ambalema treedt ook een vermeerdering van virus-

stikstof op, die echter aan stikstof slechts het drievoudige uitmaakt van het stikstofgehalte van normaal sap. Daarna treedt ook bij Ambalema een daling in. Het onderscheid van beide rassen wat betreft de resistentie is dus van kwantitatieve aard. Deze virusafnemings bij het gevoelige ras maakt het volgens de schrijvers begrijpelijk, dat de betreffende planten niet te gronde gaan, wat bij *Nicotiana rustica* wel het geval is; nader onderzoek bij deze laatste plant wordt aanbevolen.

De daling der virusconcentratie wordt door deze onderzoekers vergeleken met die, welke een gevolg is van de werking van antilichamen bij de immuniteit in het dierenlichaam, waardoor zij tot de mening komen, dat ook bij mozaiekzieke planten antistoffen in het spel zijn. Aan sap van virusvrije planten wordt een bepaalde hoeveelheid virusproteïne toegevoegd. Een even grote hoeveelheid virusproteïne wordt gevoegd bij een overeenkomstige hoeveelheid sap van een zieke plant, dat door centrifugeren van het virus is bevrijd. Wanneer de werking van de aldus behandelde plantensappen bij inoculatie op bladeren van *Phaseolus vulgaris*¹⁾ onderling wordt vergeleken door het aantal ontstane vlekken te bepalen, blijkt het eerste tweemaal zoveel infectie teweeg te brengen als het tweede. In het tweede zouden na het verwijderen van het virus door centrifugatie, nog een of meer stoffen achtergebleven zijn, die de werking van het later toegevoegde virus tot de helft reduceren. Inderdaad gelukte het om een dusdanige inactiverende stof af te scheiden, die bestand tegen koken bleek te zijn en in butanol oplosbaar was. De auteurs hebben de viruseiwitten door centrifugeren bij 25000 toeren per minuut uit het perssap verkregen, nadat zij dit door bevriezing bij -12°C hadden geklaard. Ook door neerslaan met ammoniumsulfaat hebben zij het virus uit het geklaarde perssap verwijderd. Het gaat hier dus om de toeneming en daarna daling van viruseiwit en de toeneming van niet infectieuze eiwitten in zieke planten en het verband hiervan met het ontstaan van inactiverende stoffen.

Wat betreft dit laatste heeft WALLACE (1939, 1940, 1944) een conclusie menen te mogen trekken uit proeven met „curly top” bij tabak (Turkse variëteit). Hij vond, dat tabaksplanten besmet met dit virus hevige necrotische symptomen te zien geven, doch dat, na verloop van tijd, een aantal van deze besmette planten overgaat tot de vorming van scheuten, die geen of nauwelijks meer symptomen dragen. Het bleek WALLACE evenwel, dat het virus in dergelijke herstellende scheuten nog in dezelfde virulente vorm aanwezig is als op het ogenblik der infectie. Entte hij een dergelijke herstellende scheut op een gezonde tabaksplant, dan ging de onderstam geen hevige symptomen vertonen, doch gaf slechts de milde symptomen te zien van de herstellende ent. Liet hij echter *Eutettix tenellus* BAKER (slechts via dit insect kan het virus worden overgebracht; het gelukt niet planten met sap te besmetten) het virus overbrengen van een herstellende plant op een gezonde, dan ging de laatste wel hevige ziekteverschijnselen vertonen. Uit deze proeven concludeert WALLACE, dat zich in de herstellende planten bepaalde „protective substances” hebben gevormd, die wel door enting tegelijk met het virus op een gezonde tabaksplant kunnen overgaan, doch niet via insecten. Herstel van met „curly top”-virus besmette tomatenplanten trad slechts zeer sporadisch op, in tegenstelling tot wat bij tabak werd waargenomen. Het gelukte evenwel de „protective substances” door enting van een herstellende tabaksscheut

¹⁾ Sommige rassen van *Phaseolus vulgaris* reageren, evenals de bladeren van *Nicotiana glutinosa*, op het tabaksmozaïekvirus met locale necrotische vlekjes.

op tomaat over te brengen en ze bij enting van tomaat op tomaat tot vermeerdering te brengen.

In tegenstelling tot andere plantenvirusziekten, die met betrekking tot herstel en premuniteit werden bestudeerd, is het „curly top”-virus beperkt tot het phloëm en komt het normaal niet in parenchymatische weefsels voor (BENNETT, 1934). WALLACE (1944) merkt op: „The argument is frequently put forth that the wide difference between plant and animal circulatory systems makes it doubtful whether plants can develop a defensive mechanism similar to the antibody formation in animals. In the case of curly top, the virus is restricted to the phloem and thus exists in a uniform medium. If immune reactions occur in the plant virus field, it seems somewhat more probable that they would be found in phloem-restricted viruses. If protective substances are produced in the case of a phloem-restricted virus, they would have to exist and operate only in one type of tissue in order to provide a defense against the virus. On the other hand, with viruses that are not restricted to the phloem, the defense mechanism would be required to operate in all of the different tissues invaded by the virus. Under such conditions, it would seem less likely that effective protection would be attained.”

Het is evenwel merkwaardig, dat ook in dit geval het virus in de herstelde planten niet verdwenen is, doch blijkbaar steeds in dezelfde virulente vorm aanwezig blijft.

WALLACE wijst er op, dat bij de suikerbiet zelf een dergelijk verschijnsel van herstel niet gevonden is.

PRICE (1940) neemt de opvatting van WALLACE niet voetstoots aan en acht het mogelijk, dat de besmettende planten milde en ernstige rassen van het virus zouden kunnen bevatten, die beide langs mechanische weg zouden kunnen worden overgebracht, tengevolge waarvan milde symptomen zouden ontstaan. Biologische overbrenging zou alleen het ernstige virus doen overgaan. Zijn enting met van „ringspot” schijnbaar herstelde planten op gezonde gaven ernstige symptomen te zien. Verder bleek sap van herstelde planten na bevrijding van de smetstof door verhitting, door filtratie en door ultracentrifugatie niet anders op inoculum van „ringspot” te werken dan overeenkomstig behandeld sap van gezonde planten. PRICE kon dus geen antistoffen aantonen, hoewel hij de mogelijkheid open hield, dat met de manipulaties om het sap van smetstoffen te bevrijden ook mogelijke antistoffen verwijderd zouden kunnen worden.

SADASIVAN (1940) kon geen specifieke ten opzichte van aucubamozaiek inactiverende stoffen in gekookt sap van mozaiekzieke tabaksplanten aantonen. Aucubamozaiek-inoculum gaf, gemengd met dit sap, een gelijk aantal vlekken op gezonde tabaksbladeren als een overeenkomstige hoeveelheid inoculum gemengd met sap van gezonde tabak. Wel gaven mengsels van aucubamozaiek-inoculum en ongekookt sap van mozaiekzieke tabaksplanten veel minder vlekken; maar dit zelfde was ook het geval na menging met gezuiverd mozaiekvirus, zodat andere in het sap aanwezige stoffen niet aansprakelijk gesteld konden worden voor de inactivering van het aucubamozaiekvirus. Dezelfde resultaten verkreeg SADASIVAN met twee „strains” van het aardappel X-virus: Xs en Xg. Sap van tabaksplanten, besmet met het Xs-virus veroorzaakt na menging met een bepaalde hoeveelheid sap van tabaksplanten besmet met het Xg-virus op tabaksbladeren aanmerkelijk minder locale necrotische vlekken dan het sap van met Xs-virus besmette tabaksplanten, dat in gelijke mate met water is verdund. Ook hier blijkt een inactiverende invloed van het ene virus op het andere uit te gaan.

Tabaksmozaiekvirus verhindert o.a. in tabak en *Nicotiana sylvestris* de reproductie van aucubamozaiekvirus, evenals XG-smetstof in dezelfde planten de reproductie van Xs-virus tegen gaat. Gemengd *in vitro* geven elkaar in de plant tegenwerkende viren bij inoculatie in gezonde planten geen andere resultaten dan gemengd *in vivo*. Wel is het merkwaardig, dat *in vitro* gemengde viren bij inoculatie van gezonde planten, daarop minder vlekken geven dan nadat men de planten eerst met het beschermend virus bijv. van tabaksmozaiek en een dag daarna met de tweede smetstof, *in casu* aucubamozaiek, inoculeert. Ditzelfde is ook het geval met de inoculatie van virus XG, die een dag later wordt gevolgd door inoculatie met virus Xs. Dan ontstaan meer vlekken van virus Xs dan wanneer ze beide na menging tegelijk worden geïnoculeerd. Dit schrijft SADASIVAN toe aan een „competition for entry points”, welke alleen plaats heeft als twee verwante viren samen in het inoculum voorkomen. Men kan zich voorstellen, dat bij de voorafgaande menging en daarop volgende inoculatie de twee betreffende smetstoffen op dezelfde intreemplaatsen in de plant geïntroduceerd worden en er dan ter plaatse spoediger antagonistische acties ontstaan, dan wanneer het tweede virus bij latere inoculatie op andere plaatsen terecht komt. Bij een tijdsverschil van twintig dagen tussen eerste en tweede infectie komt de tweede smetstof in het geheel niet tot reproductie in de plant; dan zijn alle delen van het betreffende blad door de eerste smetstof bezet.

Aldus is de mening van MELCHERS en SCHRAMM (1940), dat een van mozaiekzieke tabaksplanten afkomstige stof tegen de eigen smetstof inactiverend zou werken, nog niet nader bevestigd. Inactiverende stoffen afkomstig van andere oorsprong worden nog nader besproken.

Wat betreft de toeneming en afnemning van viruseiwit zijn de proeven van SPENCER (1941, 1942) met het tabaksmozaiekvirus belangrijk. Ook deze onderzoeker constateerde wijziging in virusgehalte en bracht de afnemning in verband met de rijping van het blad. In planten met voldoende stikstof blijft het virus in de geïnoculeerde bladeren zowel in hoeveelheid als in activiteit per gewichtseenheid tot de twintigste dag na de infectie toenemen; daarna begint de activiteit te dalen, echter nog niet de hoeveelheid viruseiwit. Een overeenkomstig verloop wordt gevonden in jonge bladeren, die de smetstof van de geïnoculeerde bladeren hebben verkregen. In planten, die geen stikstof kregen na de tiende dag na de inoculatie, treedt spoediger daling in. Ook hier treedt daling van de activiteit eerder in dan die van de hoeveelheid viruseiwit. Toeneming en afnemning van activiteit worden door SPENCER verklaard uit het ontstaan van verschillende soorten virus; het behoeft volgens hem niet verklaard te worden uit het optreden van een inactiverende stof. Hij vond nl. dat tabaksmozaiekvirus, geïsoleerd uit weefsel, dat kort geleden besmet werd, minder actief was dan virus uit weefsel, dat langere tijd geleden besmet was geworden. Bovendien kon hij met behulp van de ultracentrifuge aantonen, dat virus, geïsoleerd twintig dagen na de inoculatie, uit één component, d.w.z. uit deeltjes van ongeveer gelijke lengte, bestond. Daarentegen bestond het virus, geïsoleerd vijf dagen na de inoculatie uit twee componenten: ongeveer $\frac{1}{3}$ van de virusdeeltjes was twee maal zo lang als de overige deeltjes, die in lengte overeenkwamen met de virusdeeltjes, die twintig dagen na de inoculatie geïsoleerd konden worden. SPENCER concludeert hieruit, dat de langere staafjes minder actief zijn dan de kortere.

Dat uit rijpende bladeren afvoer van reservestoffen plaats vindt en hiermee hoeveelheden virus meegaan, mag als waarschijnlijk worden beschouwd.

DAVIS (1929) heeft, evenals BAUR (1906), kunnen bewijzen, dat de infectieuze chlorose in *Abutilon* door vermindering der belichting tot een lager niveau is te brengen en eventueel te verwijderen.

De proef, waarbij geïnfecteerde *Abutilon* continu werd belicht met een intensiteit, welke die van het zonlicht benaderde, had tot resultaat, dat de bladeren, die zich gedurende de eerste tien dagen vormden, donkergroen werden. Ook bij doervallend licht waren deze bladeren niet te onderscheiden van die van normale planten. Echter ontwikkelde de chlorose zich in de volgende bladeren alsof haar oorspronkelijke intensiteit niet verminderd was geworden.

Ook werden proeven genomen over vermindering der daglengte tot vijf, zeven of twaalf uur. Een daglengte van twaalf uur bracht weinig verandering in het beeld der chlorose. Bij een daglengte van vijf of zeven uren daarentegen werden de nieuwe bladeren, die zich vormden, in sommige gevallen geheel groen. In andere gevallen bleven de veranderingen beperkt tot een afnemende in aantal en afmeting der chlorotische plekken.

Eveneens werden planten gedurende een periode van verscheidene dagen tot twee weken aan totale duisternis blootgesteld. Gedurende die tijd vielen alle volwassen bladeren af. De nieuwe bladeren, die zich in het donker vormden en daarna in het licht volwassen werden, vertoonden in het geheel geen chlorose. De bladeren daarentegen, die zich ontwikkelden nadat de planten weer in het licht waren teruggebracht, vertoonden wel chlorotische plekken.

Vermeld zij nog, dat de besmettelijke chlorose van *Evonymus* niet reageerde op de bovenbeschreven variaties in de belichting.

WOODS en DUBUY (1941) hebben afgesneden gezonde tabaksbladeren met twee rassen van het gewone tabaksmozaïek geïnoculeerd en in het donker in een vochtige atmosfeer gehouden. Na verloop van enige tijd konden zij 85 tot 196 mg virusproteïne per 100 g vers blad afscheiden. Dit virus werd opgebouwd ten koste van chromo-proteïne, dat normaliter aanwezig is in het chlorophyl. Door TAKAHASHI (1941) werd ook toeneming van virus, en daarnaast afbraak van het normale eiwit, gevonden in afgesneden bladeren in het donker. De conclusie was dat viruseiwit onaangetast bleef en dat de ademhaling van het blad ten koste van het normale eiwit geschiedde. Ook SPENCER (1941) concludeerde, dat het tabaksmozaïekvirus niet door de proteolytische enzymen van de plant kan worden aangetast. Zelfs een tabaksplant, die sterk stikstofgebrek had, was niet in staat voor de synthese van zijn normale proteïnen, de stikstof, die reeds in viruseiwit was vastgelegd, te gebruiken. Aan de andere kant kon het virus niet toenemen ten koste van de stikstof, die in de normale plantenproteïnen was vastgelegd. Zonder toevoeging van stikstof van buitenaf nam SPENCER nl. geen virusvermeerdering waar. Plant en virus wedijveren dus met elkaar om de door de plant opgenomen stikstof. Het virus vermeerdert zich alleen in deze zin ten koste van de normale eiwitten, dat het een deel van de stikstof verbruikt, dat anders ten goede zou komen aan de synthese van normale eiwitten.

Aangezien bij erfelijk witbonte tabaksbladeren de mozaïeksmetstof ook in de witte partijen tot vermeerdering kan komen (THUNG, 1931) moet aangenomen worden, dat ook in de kleurloze chloroplasten stikstofverbindingen aanwezig zijn, die zowel voor de vorming van chromo-proteïne als voor die van het

virus geschikt zijn. Ook door HOLMES (1934) is aangetoond, dat voor vermeerdering van tabaksmozaïekvirus geen chlorophyl nodig is, evenmin als licht. De virussynthese kan dus voortgang vinden zonder de fotosynthese.

De waarneming van MANIL en GRATIA (1937), dat het tabaksmozaïekvirus zich vermeerderd in *Orobanche minor* (een hogere bladgroenloze plant, die men op de wortels van tabak kan laten parasiteren), wijst eveneens in de richting, dat virus-synthese niet direct met fotosynthese behoeft samen te gaan.

Het virus is het enige eiwit, dat door de plant niet weer tot herbouw van andere materie gebruikt kan worden. De vraag rijst nu hoe de afnemning van de hoeveelheid viruseiwit, zoals die o.a. door MELCHERS en SCHRAMM (1940) in perssap is gevonden, is te verklaren. Het antwoord op deze vraag zal waarschijnlijk moeten luiden: ten dele door binding aan onoplosbare celbestanddelen en ten dele door afvoer naar jonge groeiende delen van de plant.

Voor zover bepalingen van de hoeveelheid virus geschied zijn in perssap, dient bedacht te worden, dat in het persresidu belangrijke hoeveelheden smetstof achterblijven. Daarom hebben MARTIN, BALLS en MCKINNEY (1939) ook extracties gemaakt van het uitgeperste weefsel. Hierbij komen ze tot de conclusie, dat het viruseiwit zich kort na de inoculatie vermeerderd ten koste van het normale proteïne, want de totale hoeveelheid eiwit-N stijgt niet boven die in gezonde planten. Later stijgt het normale eiwit weer tot zijn normale concentratie. Er zijn dan extra stikstofverbindingen, die geheel uit viruseiwit-N bestaan. Dit gebeurt althans bij voor mozaïek gevoelige tabaksvariëteiten; bij ongevoelige krijgt men volgens deze onderzoekers na virusinfectie juist een daling van het totaal N-gehalte. De scheiding tussen virus- en normaal eiwit is geschied door toepassing van trypsine, waarbij aangenomen wordt, dat het eerste niet en het tweede wel door dit enzym wordt aangetast (MARTIN, BALLS en MCKINNEY, 1938). Volgens deze auteurs zou de daling van viruseiwit reeds de tiende dag na de infectie intreden, met gelijktijdige evenredige toeneming van het in de eerste dagen verminderde normale eiwit. SPENCER (1941) concludeert uit zijn proeven, dat als de virusvermeerdering is opgehouden, het virusgehalte in de gehele plant constant blijft. Deze onderzoeker wijst erop, dat MARTIN, BALLS en MCKINNEY en ook anderen het virusgehalte per gram weefsel of per cm³ sap bepalen. Inderdaad vindt ook SPENCER dan na een bepaalde tijd een afnemning van het virusgehalte. Rekent hij echter de dan gevonden cijfers om op de gehele plant, dan vindt hij een constant-blijven van het virusgehalte, nadat dit in het begin tot een bepaalde waarde is toegenomen. De gegevens van MARTIN, BALLS en MCKINNEY zijn onvoldoende om ook hun cijfers op deze wijze om te kunnen rekenen. De door deze onderzoekers geconstateerde daling van het virusgehalte per gewichts- of volume-eenheid is, volgens SPENCER, te verklaren uit een verdunning van het virus bij vorderende groei en dus niet uit een afbraak van het virus. De meest waarschijnlijke verklaring van het uiteenlopende gedrag van beide soorten eiwit is ook hier, dat de synthese van elk der beide eiwitten uitgaat van hetzelfde beschikbare stikstofmateriaal, waardoor deze twee processen elkaar sterk beïnvloeden.

HILLS en MCKINNEY (1942) hebben bij voor mozaïek gevoelige tabak naast een toeneming van het totale stikstofgehalte een vermindering van 30 % chlorophyl en een lagere chlorophyllase-activiteit gevonden; verlaging in oxidase-, peroxidase- en catalase-activiteit werd ook geconstateerd. De voor mozaïek tolerante tabak reageerde bij gunstige stikstofbemesting niet op mozaïek-infectie, althans

wat het totale stikstof-gehalte betrof, vertoonde daarentegen daling van het totale stikstof-gehalte bij stikstof-gebrek. De proeven van deze auteurs zijn genomen bij stikstofarme voeding en bij voeding met voldoende en met rijke stikstofgiften; ze gaven een bevestiging van de opvatting, dat de naast elkaar verlopende eiwitsynthesen van invloed op elkaar zijn.

Door middel van radioactief fosfor hebben ook BORN, LANG en SCHRAMM (1943) kunnen vaststellen, dat beide processen naast elkaar verlopen, dat beide gezien moeten worden als synthese uit eenvoudiger materiaal, en dat de virusopbouw voorrang heeft. Hun proeven werden genomen met jonge door mozaïek besmette tabaksplanten op kunstmatige voedingsbodem die fosfor in radioactieve vorm bevatte. De scheiding van normaal- en viruseiwit geschiedde door ultracentrifugatie.

In zijn bespreking der reeds vermelde proeven van MARTIN, BALLS en MCKINNEY betreffende de synthese van viruseiwit komt DOERR (1944) terug op zijn hypothese van gast- en gastheerverhouding bij de infectie (DOERR, 1942). De veronderstelling dezer onderzoekers, dat bij resistente tabak na mozaïek-infectie de synthese van eiwit zou verminderen en die van viruseiwit zou ophouden, acht hij onwaarschijnlijk, want dezelfde tabak is vatbaar voor andere mozaïek-soorten. Deze komen er in tot vermeerdering. Zijn hypothese is, dat het virus van het gewone tabaksmozaïek door bemoeilijking van de normale eiwitsynthese zijn eigen vermeerdering in de weg staat. Op deze gedachte komen wij nog nader terug.

BAWDEN en PIRIE (1946) sluiten zich aan bij de resultaten van LUGG en BEST (1945) en leggen er de nadruk op, dat „normaal eiwit” in bladeren en zelfs chromo-proteïne nog te wijde begrippen zijn. Naar aanleiding van de analysecijfers van deze laatste onderzoekers betreffende hoeveelheden amide-stikstof, tyrosine, tryptophaan, cystine en methionine in hele bladeren, oplosbaar eiwit en het residu van gezonde en mozaïekzieke planten menen BAWDEN en PIRIE, dat het virus tot vermeerdering komt ten koste van de synthese van die componenten van het „normaal eiwit”, die het rijkst zijn aan tryptophaan. Hiernaast zijn ze van opvatting (zie ook PIRIE's uiteenzetting van 1946), dat het viruseiwit voor een deel sterk gebonden is aan andere lichamen van de cel, oplosbare en onoplosbare. Zo is het onder meer ook gebonden aan chromo-proteïne. Door aanwending van slakkenenzym, kregen ze het meeste virus vrij. Uit tabaksbladeren verkregen BAWDEN en PIRIE, ongeveer één maand na de mozaïekinfectie, een totale virushoeveelheid van 10 % van het droog gewicht van de bladeren. In het licht van deze opvatting is het denkbaar, dat de meergenoemde daling van de hoeveelheid smetstof na een aanvankelijke stijging, te verklaren zou zijn aan het ontsnappen aan de chemische analyse ten gevolge van een latere hechte binding aan andere stoffen, terwijl bij de analyse van het totale stikstofgehalte dit virusgehalte wel meegerekend wordt.

Wat betreft de afvoer uit oudere bladeren naar jongere delen hebben wij ons af te vragen of hierdoor de virus-concentratie in de oudere bladeren zal gaan afnemen. Noodzakelijk is dit niet. Immers tijdens het voortschrijden van de infectie van het ene punt in het blad naar het andere zal vermeerdering plaats vinden en het oorspronkelijke peil van het virusgehalte kan dan gehandhaafd blijven. Dit zou bij ouder-wordende bladeren, gezien de reeds vermelde proeven van DAVIS (1929) niet het geval zijn. SADASIVAN (1940) wijst er op, dat de verplaatsing van de bladtoppen uit naar de bases intensiever is dan in omgekeerde richting en

vindt, dat de smetstof op de plaatsen van inoculatie steeds in hoeveelheid toeneemt, terwijl toch verplaatsing naar elders plaats vindt. Doch zijn waarnemingen lopen tot slechts twintig dagen na de inoculatie, terwijl de daling van de virushoeveelheid, geconstateerd door MELCHERS en SCHRAMM (1940), pas intreedt na $1\frac{1}{2}$ maand.

SADASIVAN komt tot dezelfde mening als SAMUEL (1934), nl. dat de bewegingsstroom van het virus samenhangt met het algemene transport in de plant. Waar de smetstof door dit transport in een nieuw gebied binnenkomt („systemic infection”) volgt vermeerdering en wel, volgens SADASIVAN, gaat deze vermeerdering sneller in jonge bladeren dan in oudere. De direct door inoculatie ingebrachte smetstof vermeerdert zich echter sneller in oudere en middelmatig oude bladeren dan in jonge; in de eerste ontstaat na enige tijd bijna twee maal zoveel smetstof als in de tweede. Dientengevolge zijn de oudere bladeren eerder met virus bezet dan de jonge, hetgeen tot uiting komt in een snellere premuniserende werking bijv. van tabaksmozaiek ten opzichte van aucuba-mozaiek. Deze vermeerdering wordt door toepassing van carborundum bij de inoculatie versneld; de kunstmatige inbrenging van de smetstof wordt vergroot, want het aantal indringingspunten is groter.

Deze waarnemingen kunnen enig licht werpen op de twee naast elkaar verlopende syntheses, nl. die van het viruseiwit en die van het normale eiwit. Het verschil tussen jonge en oude bladeren bestaat in het sterker metabolisme van de eerste ten behoeve van de groei en het aangevoerd krijgen en opnemen van assimilatieproducten van elders, terwijl de uitgegroeide bladeren juist producten afgeven. De snellere vermeerdering in jonge bladeren bij de spreidinfectie kan zeker – althans ten dele – verklaard worden uit de grotere aanvoer van primaire virusdeeltjes van elders gelijktijdig met andere producten.

Brengt men door inoculatie gelijke hoeveelheden primaire virusdeeltjes in oude en jonge bladeren, dan ontstaat een langzamere vermeerdering in het jonge blad. De oorzaak hiervan kan zijn, dat de stofwisseling in het jonge blad meer dan in het oude gericht is op de synthese van normale, voor de opbouw benodigde eiwitten.

Verder kan een rol gespeeld worden door de met de leeftijd zich wijzigende aard en concentratie der stikstofverbindingen, terwijl ten slotte ook nog gevraagd dient te worden naar verschil tussen primaire virusdeeltjes komende uit perssap en komende uit levende bladcellen. Hierop is door BAWDEN en PIRIE (1946) de nadruk gelegd. Zoals eerder is medegedeeld, bestaat er verschil in infectievermogen tussen verschillend behandelde perssappen en tussen smetstoffen afkomstig van sap en van persresidu.

Infectieuziteit is niets anders dan de mate van vermeerdering (of van reproductie). De reproductie op zichzelf heeft verschillende hypothesen naar voren gebracht. Door DOERR (1944) zijn deze systematisch besproken. Enkele opvattingen mogen hier gereleveerd worden. Reeds eerder werd medegedeeld, dat WOODS, HUNGER, FREIBERG, MAYER, e.a. virusziekten beschouwden als een gevolg van abnormale enzymatische processen. De vermeerdering zou dan ook op dezelfde wijze plaats vinden als die der enzymen. Ons inzicht in de enzymenvermeerdering is door het werk van NORTHROP belangrijk verdiept. Hij constateerde, dat de pancreas geen actieve trypsine vormt, maar een inactief voorstadium daarvan, nl. het trypsinogeen. Dit trypsinogeen kan door sporen trypsine in het actieve trypsine worden omgevormd. Ook de virusvermeerdering in de plant kan als een

autocatalytisch proces worden opgevat. Voorwaarde voor deze hypothese is, dat in de plant het inactieve voorstadium van het virus reeds vóór de infectie aanwezig is. BAWDEN (1943) heeft de volgende bezwaren tegen deze voorstelling. In de eerste plaats kan dezelfde plantensoort door talrijke en dikwijls zeer sterk van elkaar verschillende viren geïnfecteerd worden en zou elke plant dus voorstadia van een groot aantal viren moeten bevatten. Ten tweede kan één en hetzelfde virus verschillende en weinig verwante plantensoorten aantasten. Dan moet hetzelfde voorstadium zich in al die plantensoorten bevinden, wat met het oog op het verschil in hun stofwisseling niet waarschijnlijk is. Ten derde heeft men wel uit normaal plantaardig weefsel hoogmoleculaire stoffen afgezonderd, die eventueel als voorstadium zouden kunnen worden beschouwd, maar menging van deze stoffen met tabaksmozaiekvirus heeft de infectieuziteit van het virus niet verhoogd. Ten vierde is gebleken, dat toevoeging van trypsine aan chymotrypsinogeen geen trypsine maar chymotrypsine oplevert en toevoeging van varkenspepsine aan kippenpepsinogeen geen varkens-, maar kippenpepsine. De aard van het virus zou dan niet bepaald worden door het ingebrachte virus, maar door het in de plant aanwezige virus-voorstadium. Het gevormde virus draagt echter hetzelfde karakter als dat, waarmee geïnfecteerd is.

Een gedeeltelijk hiermede overeenkomende gedachte is te vinden bij JANSSEN (1940). Ook hij beschouwt het virus als een product van de stofwisseling van de gastheercel. Echter niet van de normale stofwisseling, maar van een disfunctie van de plasma-processen.

Voor mond- en klauwzeersmetstof is zijn opvatting deze, dat het normale enzym-apparaat, dat in de cellen van het epitheelweefsel keratine-fibrillen produceert door een bijzonder defect tot vorming komt van het mond- en klauwzeervirus. De disfunctie gaat uit van de kern. Deze bevat de thyminose-houdende nucleoproteïden, die de producenten zijn van de ribose-houdende nucleoproteïden van het plasma. Op hun beurt zijn deze de producenten der eigenlijke celbestanddelen (eiwitten, enzymen, koolhydraten, vetten, etc.). Tengevolge van een disfunctie van de kern ontstaat een afwijkende producent van één der celproducten; als verder gevolg wordt een afwijkend product gesynthetiseerd, nl. het virus. In de verdere uitwerking van zijn hypothese wil JANSSEN het schabloonkarakter doen uitkomen van vele celproducten, wat betreft hun chemische opbouw. Hoe de disfunctie ontketend wordt bij het intreden van de infectie is niet bevredigend verklaard. Een van buiten of van een andere cel komend virusdeeltje komt in een jonge of delende cel, waarin de productie van plasma-nucleoproteïden door de kern nog plaats vindt. Het virus-nucleoproteïde bederft daar de uit thymonucleoproteïden bestaande machinefabrieken en de verdere kernmechanismen zodanig, dat in plaats van de normale synthetiserende groep, een abnormale, het virus wordt gevormd. Op deze wijze ontstaat een schijnbaar autokatalytisch proces, dat met de tijd steeds grotere hoeveelheden virus produceert.

Bij de beide genoemde opvattingen wordt aan de gastheer een actieve rol bij de virusvermeerdering toegekend. Deze vormt immers reeds vóór de infectie spontaan het benodigde voorstadium of gaat, na wijziging van zijn stofwisselingsprocessen tengevolge van het ingedrongen virus, over tot de productie van dit virus. BAWDEN (1943) kent aan het virus zelf bij zijn vermeerdering een grotere rol toe. Hij gaat uit van het werk van BERGMANN en NIEMANN (1937), die aantoonde, dat proteinasen, zoals b.v. papaine niet alleen eiwitten kunnen hy-

drolyseren, maar eveneens peptide-achtige verbindingen kunnen synthetiseren. De vorming van de voor de plantensoorten karakteristieke eiwitten is te danken aan de specificiteit der intracellulaire proteinasen. Deze enzymen hebben in de cel veel eiwitfragmenten van verschillende grootte en structuur tot hun beschikking. Deze fragmenten worden onderworpen aan omzettingen door synthese, hydrolyse en vervanging van groepen, waarbij de ene peptidebinding na de andere wordt opgebouwd totdat een eiwit ontstaat. Daar de intracellulaire proteinasen waarschijnlijk zelf eiwitten zijn, heeft er dus synthese plaats van het ene eiwit door het andere. Indien een dergelijke proteinase nu het vermogen bezit om een evenbeeld van zichzelf op te bouwen in plaats van een ander eiwit, dan gedraagt het zich als een virus. Deze door BAWDEN waarschijnlijk geachte wijze van virusproductie leidt tot de conclusie, dat het virus zichzelf vermeerdert en niet als een stofwisselingsproduct van de gastheer opgevat mag worden. Dit type van vermeerdering zou een analogon hebben in de reproductie van de genen. Ook van de genen neemt men aan, dat zij stoffen uit het celmilieu tot zich trekken en daaruit hun evenbeeld opbouwen. Dat overigens een vergelijking tussen gen en virus niet in alle opzichten opgaat wordt door DOERR (1944) duidelijk aangetoond.

KLUIJVER (1937) heeft de verschillende biochemische waarnemingen over viren samengevat en komt tot de conclusie, dat althans de kleinere virussoorten eiwitstoffen zijn met een hoog m.g., welke nucleïne-zuren lossen of vaster gebonden houden. Het vraagstuk van de synthese van deze groep van verbindingen in de cellen van de gastheer behoort tot het probleem van de biosynthese in het algemeen. Biologisch beschouwd is biochemische synthese als levensproces parallel aan groei en aan celvermeerdering. Chemisch beschouwd is dit: het opbouwen uit één enkele organische voedsel-component van honderden en nog eens honderden verbindingen, welke men bij chemische analyse van het celmateriaal aantreft. Zo gezien is het probleem van de bijvorming van virus in een cel van de gastheer slechts een speciaal onderdeel van het alledaags verschijnsel der biosynthese. Het probleem zou dan voor een belangrijk deel terug te brengen zijn tot de vraag: waarom is somtijds dit nucleoproteïde afwijkend geconstitueerd? Passend in deze gedachtengang is het idee om *in vitro* normale eiwitten om te zetten in virus-eiwitten en om viruseiwitten om te zetten in andere viruseiwitten. Zoals eerder is medegedeeld is door STANLEY (1946) een resumé gegeven van dit laatste pogen. Inderdaad is men er in geslaagd om in de chemische structuur van het virus veranderingen te brengen door bepaalde groepen te verwijderen en andere er voor in te lassen. Infectie van planten met dergelijke derivaten van mozaïekvirus heeft tot nu toe weer het oorspronkelijke mozaïek gereproduceerd. De structuurverandering heeft zich niet kunnen doorzetten.

Volgens PIRIE'S overzicht (1946) zijn de gezuiverde viren nog steeds voor een klein percentage gebonden aan normale proteïnen van de plant, die met trypsine zijn te verwijderen. Dit brengt echter modificaties teweeg in het aldus van normale proteïnen bevrijde virus.

Overeenkomstige waarnemingen worden door PIRIE voor een groter aantal viren medegedeeld. Er komt bij zuivering gebonden materiaal mee, dat afkomstig is van de omgeving, waarin het virus is vermeerdert. Influenza-virus afkomstig van het allantoisvocht van het kippenembryo vertoont precipitatie met antiserum, gemaakt tegen normaal allantoisvocht; influenzavirus geprepareerd van

muizenlongen doet dit niet. Omgekeerd precipiteert virus afkomstig van muizenlongen anti-long-serum en niet anti-allantoisvocht-serum.

Hieruit volgt wel de innige verwevenheid van de smetstofproductie met het metabolisme van de cel. Daarbij komt naar voren de inpassing van het mechanisme van de virussyntese in het mechanisme van de synthese van een ander product: het ontstaan van het tryptophaanhoudende virus moet naast en door de synthese van de tryptophaanrijke normale eiwitten plaats vinden. Aldus kan de opvatting verdedigd worden, dat een bepaald virus invloed uitoefent op een bepaald onderdeel van de syntheseprocessen. Alleen die viren, die één en hetzelfde onderdeel beheersen, zullen elkaar tegenwerken en ten opzichte van elkaar premuniserende eigenschappen in de plant opwekken. Viren, die niet op hetzelfde synthese-onderdeel inwerken, zouden dus elkaar of in het geheel niet of slechts indirect beïnvloeden. Deze hypothese moet ook van groot gewicht zijn met betrekking tot de verwantschap van plantenviren. Slechts viren, inwerkende op één en hetzelfde onderdeel van het synthese-proces, zijn verwant en behoren als een natuurlijke systematische eenheid te worden opgevat.

Ten slotte komt de vraag, wat het mechanisme is van de virusreproductie in zgn. herstelde planten. Volgens VALLEAU (1941) is het herstel-stadium van „ring-spot” als een tweede fase van het ziekteproces op te vatten. Bij de acute fase, waarbij „ring-spot”-tekeningen op het blad optreden, zijn de bladpartijen zonder tekening niet premuun tegen een tweede infectie met „ring-spot”, terwijl in de tweede fase het hele symptoomloze blad premuun is. Aangezien, volgens opgave van PRICE (1936), dit laatste blad slechts $\frac{1}{5}$ van de hoeveelheid smetstof van een blad met symptomen bevat, is het hier niet een kwestie van algeheel bezet zijn van het blad door het virus, zodat er geen nieuwe hoeveelheid virus bij in zou kunnen komen. Dit meende BAWDEN (1943) met betrekking tot het premuniserend effect. Ook door SADASIVAN (1940) is dit geconcludeerd naar aanleiding van de door hem opgestelde graphiek („As these observations suggest that the inhibition of aucuba mosaic virus lesions is directly proportional to the concentration of the tobacco mosaic virus in the leaf tissue, regardless of the age of the leaf, it seemed that any method of increasing virus concentration should increase acquired immunity”, p. 364).

Blijkbaar is in de tweede fase van de „ring-spot”-ziekte het mechanisme van het betreffend onderdeel van het syntheseproces reeds ontworicht en gericht op virussyntese onafhankelijk van de reeds aanwezige hoeveelheid virus, terwijl in de eerste fase in de plaatsen zonder ziektesymptomen nog geen disfunctie van dit mechanisme is ingetreden.

Het betrekken van zgn. weefselculturen in het experimenteel onderzoek kan mogelijk in de toekomst van betekenis worden voor het oplossen van vraagstukken aangaande de virussyntese. Voor het aanleggen van deze weefselculturen zij verwezen naar het boek van WHITE (1943).

B. HET TRANSPORT VAN DE SMETSTOF

Een uitgebreide literatuur is hierover verschenen, waarvan een belangrijk deel door CRAFTS (1939) is besproken. Twee uiteenlopende opvattingen zijn hierbij te constateren, nl. de opvatting, dat het virus in de plant samen met de assimilaten wordt verspreid en de mening, dat het onafhankelijk van dit transport tot ver-

spreiding komt. De laatste mening wordt o.a. door CALDWELL naar aanleiding van zijn proeven met tabak en tomaat naar voren gebracht. Onder bepaalde omstandigheden beweegt het virus zich in een richting tegengesteld aan die van de assimilaten. CALDWELL (1931) sneede onder water een blad af van een tomatenplant en plaatste op de nog vastgehechte stomp van de bladsteel een buisje met geklaard sap van een tabaksmozaiekzieke plant. Gedurende de daarop volgende 24 uur werd 1-4 cm³ sap opgezogen. Na de incubatieperiode vertoonde de plant ziekte-symptomen. Deze symptomen bleven echter uit, indien de bladsteelstomp binnen 48 uur na het aanbrengen van het buisje met het zieke sap, werd afgesneden. Daar het virus gedurende die tijd voldoende gelegenheid had gehad om via het xyleem de hoofdstengel te bereiken, concludeert CALDWELL, dat het virus niet in staat is om de xylemvaten te verlaten en de levende cellen van het mesophyl enz. te infecteren. Dit is wel mogelijk indien de xylemvaten door b.v. knippen licht beschadigd worden. Het virus in de vaten is dus „bottled up”. Wij kunnen ons dus moeilijk voorstellen, dat het xyleem een rol speelt bij de infectie.

De verspreiding moet, onder voortdurende vermeerdering der smetstof, plaats vinden in levende elementen. Uit de proeven is gebleken, dat deze verplaatsing zo langzaam is, dat het virus de hoofdstengel na 48 uur nog niet bereikt heeft. Een verspreiding via het phloëm zou dus niet waarschijnlijk zijn.

De proeven waarbij dit laatste nader aangetoond wordt (CALDWELL, 1934) berusten op de volgende overweging. Na infectie van een tomaat- of tabaksplant vertonen de volwassen bladeren geen symptomen. Bij volwassen bladeren, die geen aanvoer van stoffen voor de synthese nodig hebben, beweegt de voedselstroom door het phloëm zich in de richting van de stengel. Indien het juist is, dat het virus zich door het phloëm verspreidt, kan men zich voorstellen, dat in dit geval het virus moeilijk een dergelijk volwassen blad kan bereiken. CALDWELL tracht nu door plaatsing van een volwassen blad in het donker de richting van de voedselstroom om te keren. Uit zijn, op verschillende manieren gevarieerde, proeven is echter gebleken, dat de verspreiding van het virus op dezelfde wijze plaats heeft, onverschillig of de bladeren al of niet verdonkerd zijn. De conclusie moet zijn, dat het virus zich onafhankelijk van de richting van de voedselstroom kan verplaatsen.

Ook GRAINGER (1933) vond een opwaartse virusbeweging gevolgd door een versnelde neerwaartse verspreiding en trekt daaruit een conclusie welke met die van CALDWELL overeenstemt.

In tegenstelling met deze opvattingen zijn die van HOLMES (1932), SAMUEL (1934), BENNETT (1927, 1937, 1938, 1940) e.a. HOLMES, werkende met tabaksmozaiek bij tomaten, vond geen virusbeweging van uit het geïnoculeerd blad gedurende de eerste 3 à 4 dagen na de inoculatie; daarna komt het met de assimilaten tot verspreiding. SAMUEL bevestigt bij dezelfde plant het werk van HOLMES in zoverre, als door hem waargenomen is, dat in de eerste dagen geen vervoer uit het geïnoculeerde blad plaats vindt; daarna werd echter een snelle beweging van de smetstof in de stengel in benedenwaartse richting geconstateerd. Gewoonlijk een dag later gaat de smetstof met gelijke snelheid naar de top van de plant. De aanwezigheid van vruchtrossen, die in ontwikkeling zijn, kan in zoverre verandering in de virusloop brengen, dat het tegelijk met de eerste benedenwaartse loop ook naar boven kan gaan in de trossen, waar het wordt vastgehouden. De vlakbij zijnde bladeren blijven de eerste tijd ongeïnfecteerd.

De eerste proeven van BENNETT (1927) met „curl”-mozaïekvirus bij frambozen hebben de samenhang van het transport van assimilaten met de beweging van de smetstof in de plant waarschijnlijk gemaakt, terwijl BENNETT's latere proeven (1937, 1938, 1940) met „curly top”-virus van de biet, met mozaïekvirus van de biet en met dat van de tabak de gedetailleerde samenhang van smetstof- en assimilaten-transport hebben duidelijk gemaakt.

SAMUEL's waarnemingen betreffende de besmetting van vruchtrossen bij de tomaat worden door het werk van SELMAN (1946) bevestigd; deze vond bij inoculatie van lagere volgroeide bladeren van tomaatplanten met een sterk verdunde virus-suspensie vaak ophoping en localisatie van smetstof in de onderste vruchtrossen. Bij tijdige verwijdering van deze vruchtrossen komt het mozaïekvirus in de topbladeren. Ook deze waarneming spreekt voor de correlatie tussen assimilaten-transport en smetstof-beweging.

CRAFTS (1939) heeft uit de vele gegevens drie essentiële punten naar voren gebracht: 1e De verhouding van de smetstof tot het plantenweefsel is verschillend: er zijn smetstoffen, die in het parenchym en in het vaatbundelweefsel tot vermenigvuldiging komen, zoals tabaksmozaïekvirus, en er zijn andere smetstoffen, die in het phloëm gelocaliseerd zijn, zoals het „curly top”-virus van de suikerbiet.

2e Planten lopen uiteen wat betreft de snelheid van voedseltransport en de reactie ten opzichte van virusinfectie. Zo is het voedsel- en virustransport in tabak betrekkelijk langzaam, terwijl dit in de suikerbiet snel geschiedt. De reactie van de voedsel- en virusbeweging op beschadiging van bladeren is bij deze planten ook uiteenlopend. De tabaksbladeren mobiliseren hun voedselreserves, waarna deze, samen met andere opgeloste stoffen en met virus worden afgevoerd. Hierbij vergeelt het blad en valt af. Bij beschadiging van de bladeren van de suikerbiet trekken deze reservestoffen uit de wortel aan en tegelijk hiermee treedt virus in het blad.

3e Een helderder inzicht in het mechanisme van het voedseltransport is nodig. Misschien kan de studie van de verplaatsing van het virus nog licht werpen op het transportprobleem.

Wat betreft de viren van de mozaïekziekten van de tabak is thans wel met zekerheid aan te nemen, dat in het protoplasma der parenchymcellen evenals in dat der zeefvaten virusreproductie plaats vindt. Passieve verspreiding kan geschieden als gevolg van de stroming van het protoplasma, terwijl de verspreiding van cel tot cel door de plasmodesmen en over grotere afstanden door de zeefvaten plaats heeft. Komt de smetstof in de groeipunten dan vindt bij de „rapid-moving” typen besmetting van alle cellen plaats, bij de „slow-moving”-typen van slechts enkele cellen (JENSEN, 1936). Bij de besmetting der jonge cellen door de „rapid-moving”-typen, worden de symptomen, die later op het blad de ziekte zullen typeren, aangelegd. Door bij de allerjongste bladeren de symptomen van het gewone mozaïek na te gaan, in tekeningen vast te leggen en ze dagelijks te volgen ziet men, dat ze de groei van het blad volgen zonder van patroon te veranderen (fig. 22). Bij een „slow-moving”-type, zoals bijv. bij het „witte” mozaïek A V1c worden meestal slechts enkele cellen besmet; tijdens de groei en ook in volwassen toestand van het blad kan de smetstof van uit deze harden langzaam het verdere bladvlak bezetten, waarschijnlijk daarbij gebruik makend van de voortschrijdende vermenigvuldiging.

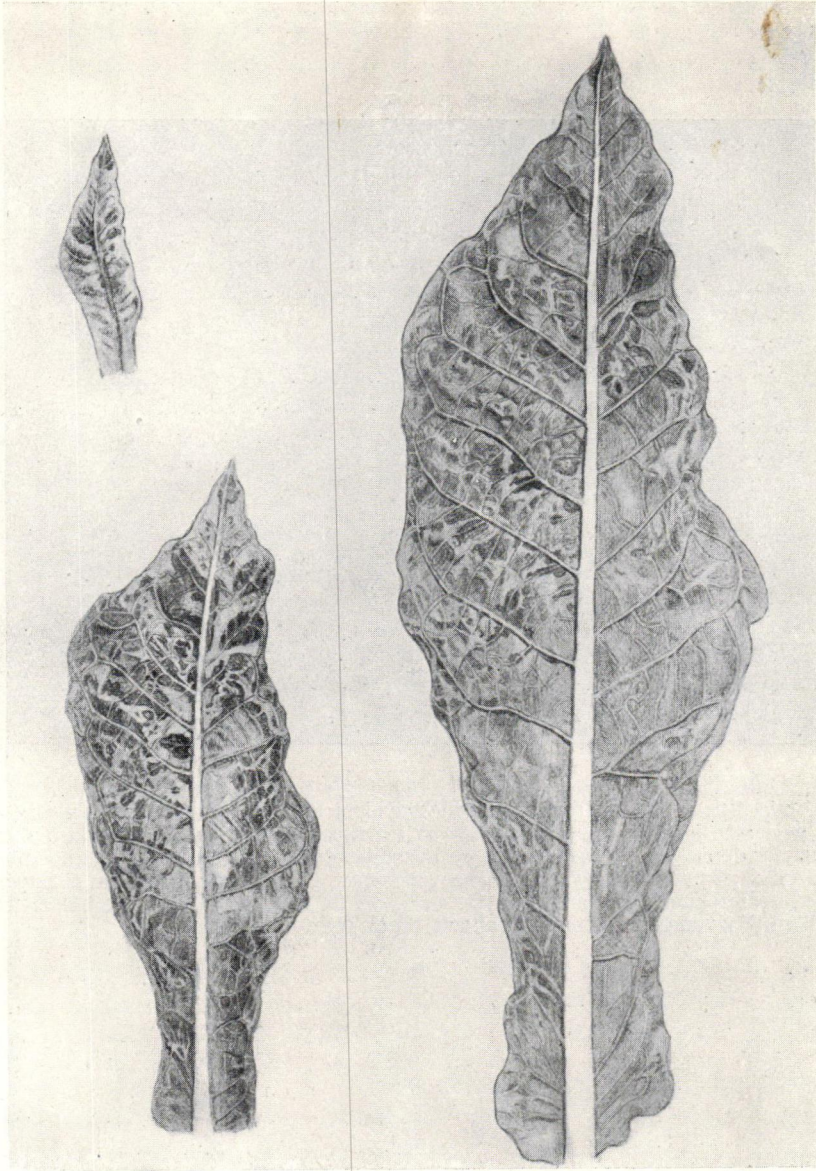


Fig. 22. Blad van een tabakspant, besmet met gewoon tabaksmozaiek, getekend in opeenvolgende stadia van zijn groei. Men merke op, dat de mozaiektekening reeds in het jeugdigste stadium is vastgelegd.



Fig. 23. Linkse helft van onderste bladeren van beide tabaksplanten geïnoculeerd met necrose-mozaiek; rechtse helft van dezelfde bladeren geïnoculeerd met wit mozaik. De met \times gemerkte bladeren waren topbladeren ten tijde van de inoculatie. Linkse plant met linkswindende, rechtse plant met rechtswindende bladstand. Het gemerkte blad van de linkse plant vertoont wit mozaieksymptomen; het gemerkte blad van de andere vertoont necrose-mozaieksymptomen. De aard van de symptomen op deze bladeren is dus afhankelijk van de loop der vaatbundels, die de viren hebben gevolgd.

De vraag komt nu naar voren wat voor de verspreiding van virusmetstoffen door de plant het belangrijkste is, het parenchymatisch weefsel of de transportbanen van het zeefvatenstelsel. De cellen van het parenchym hebben ongetwijfeld een grotere plasmatische werkzaamheid. De volgende proef kan illustreren, dat ook het vaatbundelsysteem een zeer belangrijke factor kan zijn voor de doorleiding der smetstoffen. Tabaksplanten van dezelfde variëteit, dezelfde behandeling en dezelfde grootte, die van elkaar verschillen door linkse en rechtse winding van de bladstand, werden op een bepaald blad zodanig geïnoculeerd, dat twee mozaieksoorten gelijke kansen kregen om de bladsteel binnen te dringen (zie fig. 23). Dit blad werd te dien einde op gelijke afstand van de hoofdnerf aan beide kanten geïnoculeerd, aan de ene kant met het „witte” mozaiek A VIa, en aan de andere kant met het necrose mozaiek of HOLMES' „vervormend” mozaiek. Op het virus, dat van de plaats van inoculatie naar de top een korter afstand af te leggen heeft, reageren de topblaadjes het sterkst. Hieruit volgt, dat de kortste weg door de vaatbundels genomen wordt bij het voortgaan van de infectie.

C. DE BESMETTELIJKHEID

De besmettelijkheid van virusziekten wordt aangetoond door enting, sapinoculatie of door overbrenging via insecten. De mate van besmettelijkheid en de wijze van besmetting komen hierbij tevens tot uiting. Soms kan overgang met zaad, met stuifmeel of via de grond optreden. De wijze, waarop de smetstof van de zieke plant in de gezonde komt, kan duiden op een bepaalde localisatie van de smetstof in weefsels, cellen of celbestanddelen van de plant. Zaadovergang betekent het gebonden zijn aan de eicel of het eicel-plasma, insectenoverbrenging wijst, althans in enkele gevallen, op concentratie van de smetstof in het plooëem.

Een losse binding met de syntheseprocessen in het protoplasma is waarschijnlijk in enkele nu te bespreken gevallen, waarin het echter de vraag is of de beschouwde agentia wel als virus mogen worden opgevat.

Allereerst is er het geval van overgang door sapinoculatie van gevlektheid van gezonde *Lathyrus tingitanus* L. op *Phaseolus vulgaris* L. (JOHNSON, 1942). Sap van gezonde *L. tingitanus* gewreven op *Ph. vulgaris* geeft milde chlorose en lichte verkleuring van de nerven in de nieuw ontwikkelde secundaire bladeren en een algemene groeiremming. Verdere inoculatie met sap van dergelijke *Ph. vulgaris* op gezonde geeft in sommige gevallen – niet altijd – opnieuw overgang; er is echter geen overgang bij hernieuwde inoculatie met sap van de thans ziek geworden *Ph. vulgaris*. JOHNSON beschouwt dit niet als een virusziekte, maar als een allergische reactie, veroorzaakt door een toxisch agens, dat in een lager percentage ook gevonden is bij *Lathyrus pusillus* L., niet bij *Lathyrus hirsutus* L.. De chlorose treedt na inoculatie met dit agens bij enkele bonensoorten wel en bij andere niet op. Het schijnt niet aanwezig te zijn in het zaad van *L. tingitanus* L., maar het ontwikkelt zich in ontkiemende zaden. Het is bestand tegen verhitting in een autoclaaf bij 115 °C gedurende 30 minuten, tegen lang bewaren, tegen bevrozing en tegen maandenlange droging. Het extract verliest echter zijn activiteit bij verdunning met water boven 1 : 25. Het actieve agens is filtreerbaar en dialyseerbaar door osmotische membranen. Aangezien de geïnoculeerde primaire bladeren van de er voor gevoelige boon geen symptomen van infectie vertonen en deze pas te voorschijn komen in de later ontwikkelde jonge bladeren, blijkt de „allergische” werking „systemic” te zijn.

Een overeenkomstig agens is ook te vinden bij een m ozaiekiekte van de tomaat (KRAYBILL en ECKERSON, 1927; KRAYBILL, BREWER, SAMSON en GARDNER, 1929). Naast de smetstof komt ook hier een agens voor, dat bij gezonde planten deformaties in de bladvorm doet ontstaan („fern-leaf”). Doormiddel van filtratie kan het „fern-leaf”-agens van het virus worden gescheiden. Het virus verwekt bij gezonde planten slechts gevlektheid; het andere agens lijkt meer op een toxine. Dit behoudt zijn eigenschappen na verhitting gedurende $2\frac{1}{2}$ uur bij 126°C en vertoont een overeenkomstige „allergische” werking, als het agens, dat in het sap van *Lathyrus tingitanus* voorkomt. In dit geval uit deze werking zich niet in chlorose, doch in deformatie van de bladschijf. Met sap van tomatenplanten, die alleen met het „fern-leaf”-agens zijn besmet en dus „fern-leaf”-symptomen vertonen, zonder mozaiek, kan het „fern-leaf”-verschijnsel in andere, gezonde tomatenplanten niet meer te voorschijn worden geroepen. De mate van besmettelijkheid is dus ook hier zwak. Bovendien blijkt, dat tomatenplanten, die alleen „fern-leaf”-symptomen vertonen, zich na enige maanden herstellen.

Volgens WETTSTEIN en PIRSCHLE (1938) en PIRSCHLE (1939) treedt bij *Petunia nyctaginiiflora* een chlorophyldefect op, dat normaal monohybridisch mendelt, en met enting niet alleen is over te brengen op normale *Petunia*, maar ook op tabak, tomaat en bilzenkruid. De auteurs noemen dit een geval van „Gen-abhängige Wirkstoff”. De werking van deze stof op de plant, die besmet wordt, is afhankelijk „in ihrem Ausmasz mit der Grösze des Spenders”. Hoe meer van de „Wirkstoff” in de plant komt hoe duidelijker chlorose; de stof is met grote waarschijnlijkheid zowel akro- als basipetaal aan te voeren. De indruk is wel, dat ook hier een toxine optreedt met een zwakke mate van besmettelijkheid. Alleen komt er de eigenaardigheid bij, dat de aanwezigheid ervan bij de afwijkende variëteit op een erfelijke factor berust. Er kan dus van een schijnbare tussenvorm gesproken worden tussen de twee eerder vermelde gevallen en de gevallen van besmetting via het zaad. Slechts schijnbaar is de overeenkomst, aangezien bij zaadovergang van virus het eicelplasma en niet het genenbestel betrokken is (IKENO, 1930).

De door JOHNSON (1942) allergisch genoemde werking steunt zijn „viro-plasma”-theorie. Deze betoogt, dat een substantie van het protoplasma of cytoplasma van een plantensoort op de juiste manier geïntroduceerd in de cellen van een andere soort, omstandigheden kan vinden, die haar tot zelfstandige vermeerdering brengen; in de nieuwe omgeving roept zij ziekteverschijnselen te voorschijn, die verder zijn over te brengen. In het onderhavige geval is de besmettelijkheid niet evident genoeg om van een virusziekte te spreken. In het geval beschreven door KRAYBILL en ECKERSON (1927) is de besmettelijkheid zeer gering; hier mag de vraag worden gesteld of het betreffend agens niet is op te vatten als een nevenproduct bij de vermeerdering van het virus. Indien dit bevestigd kan worden, heeft men een nieuw geval voor zich van de invloed van de smetstof op het syntheseproces van de plantencel.

Het staat wel vast, dat het agens van JOHNSON in de boon niet hetzelfde peil bereikt als in *L. tingitanus* L., waar het oorspronkelijk in voorkomt. Waarschijnlijk is het dus in de boon slechts los verbonden met de synthetische processen van de plant. Dit geldt ook voor het agens van KRAYBILL *et al.* bij de tomaat en voor de „Wirkstoff” van WETTSTEIN en PIRSCHLE bij *Petunia*. In tegenstelling hiermee gaat de invloed van de viren, die met het zaad en het stuifmeel worden meegevoerd, veel dieper. Is hier sprake van erfelijkheid?

De begrippen van erfelijkheid en van de dragers daarvan zijn tegenwoordig in discussie. DARLINGTON (1944) onderscheidt drie soorten van erfelijkheidsdragers, nl. de genen in de kern, de plastiden in het cytoplasma en onzichtbare deeltjes van moleculaire grootte-orde, eveneens in het cytoplasma.

De genen van het nucleaire systeem geven door hun accurate verdeling over de dochtercellen aanleiding tot overerving volgens de wetten van MENDEL. De plastiden worden niet zo nauwkeurig over de dochtercellen verdeeld en de overerving volgt in hoofdzaak de moeder. Men spreekt hier van plastogenen. Het moleculaire systeem, de plasmagenen, erft eveneens overwegend via de moeder over. Bij de beide laatste systemen leveren nl. de reciproke kruisingen meestal een verschillende F_1 op.

De plasmagenen zijn ribose-nucleo-proteïden, die zich, dank zij hun nucleïnezuur, kunnen vermeerderen. Een dergelijk plasmageen is vermoedelijk ook de stof uit gekapselde pneumococcon-typen (zgn. S-strains), die ongekapselde typen (zgn. R-strains) in gekapselde kan doen veranderen. Dit verschijnsel werd ontdekt door GRIFFITH (1928). Hij injecteerde muizen met een klein inoculum van een levende R-variant samen met een grote hoeveelheid pneumococcon van de S-variant, die door verhitting gedood waren. Veel van deze muizen stierven aan de pneumococconinfectie en het bleek, dat de pneumococcon, die er zich in ontwikkeld hadden, gekapseld en van hetzelfde type waren als de door verhitting gedode. Er was dus van de gedode pneumococcon een invloed uitgegaan, die de ongekapselde levende pneumococcon in gekapselde deed overgaan. Nadat het aan ALLOWAY (1932, 1933) was gelukt, met een celvrij extract dezelfde transformatie te bewerken, slaagden AVERY, MACLEOD en MCCARTHY (1944) er in de werkzame stof af te scheiden. Het bleek een desoxyribosenucleïnezuur te zijn. Werden hiermee ongekapselde pneumococcon behandeld, dan kon deze stof hieruit later in veel grotere hoeveelheden worden teruggewonnen. In dit opzicht lijkt zij dus veel op een virus, maar daar de geïnduceerde transformatie ook in de volgende generaties behouden blijft en erfelijk is, lijkt ze eveneens op een gen.

Bij chlorophyldefecten wordt de overdracht van virus van cel tot cel bepaald door de verdeling der chloroplasten over de dochtercellen; wordt het virus op dezelfde wijze met de chloroplasten van eikel of stuifmeelkorrel van de ene generatie op de andere overgedragen, dan is zijn gedrag niet van een plasmageen te onderscheiden. CRAMER (manuscript), die deze chlorophyldefecten samenvat onder de naam „a-chromatism”, heeft de wijze van deze overerving nader beschreven.

NELSON en DOWN (1933) maakten een kruising tussen twee bonenvariëteiten: Refugee en Early prolific, beide zeer vatbaar voor mozaïek. Het percentage mozaïek in de F_1 -nakomelingen van gezonde Refugee en mozaïekzieke Early prolific was ongeveer hetzelfde als in F_1 -nakomelingen van viruszieke Refugee en gezonde Early prolific. De mozaïekzieke ouderplant was in alle kruisingen verkregen uit besmet zaad. Deze feiten geven een aanwijzing, dat ongeveer $\frac{1}{4}$ deel van de zaadknoppen en $\frac{1}{4}$ deel van de stuifmeelkorrels geïnfecteerd is met virus. Bij kruisingen tussen Refugee en de zeer resistente variëteit Robust waren ongeveer $\frac{1}{4}$ van de nakomelingen in ernstige mate mozaïekziek.

Andere voorbeelden van overbrenging van mozaïekziekte door stuifmeel worden door REDDICK (1931) medegedeeld. Gezonde planten met pollen van zieke planten bestoven, leveren zieke planten.

Overgang met zaad geschiedt regelmatig bij „ringspot” van tabak (VALLEAU, 1933, 1941), terwijl dezelfde ziekte overgebracht op *Petunia* ook bij deze plant met zaad overgaat (HENDERSON, 1931). Waar dit bij twee verschillende plantengenera plaats vindt moet dit als bewijs worden opgevat dat de betreffende smetstof sterk verweven moet zijn met het mechanisme van de vermenigvuldigingsprocessen.

In mindere mate kan dit gezegd worden van de virusziekten van sla en erwt, die slechts incidenteel overgaan met zaad (K. M. SMITH, 1937, DICKSON, 1922) en van de mozaiekziekte van de tomaat, waarbij overgang met zaad alleen plaats vindt als het kort na het oogsten tot kieming en groei wordt gebracht (WESTERDIJK, 1910).

Uit een onderzoek van VASUDEVA en PAVGI (1945) blijkt, dat een ziekte, veroorzaakt door een „strain” van het *Cucumis-virus* van DOOLITTLE met het zaad van de meloen overgaat. Ook een nieuw virus, voorkomende bij meloen in de Staat New York, gaat, volgens een onderzoek van RADER, FITZPATRICK en HILDEBRAND (1947) met het zaad over.

Door IKENO (1930) is de overgang met zaad en met stuifmeel bestudeerd bij een infectieuze bontbladerigheid van Spaanse peper, *Capsicum annuum*; hij is tot de conclusie gekomen, dat het hier niet om een mendelende erfelijkheid gaat, maar om een overdracht van smetstof via eicel- en pollenplasma. Bij dit laatste moet aangenomen worden, dat het pollenplasma tijdens de bevruchting in de eicel wordt gebracht, wat vaak betwijfeld wordt. Op de overgang met eicelplasma is eerder gewezen als tegenstelling met een aan een gen gebonden overdracht. Uit de proeven van IKENO (1930) kwam naar voren, dat niet alle planten, die door zoogenting (zie pag. 71 [47]) met het virus, dat de bontheid van *Capsicum annuum* veroorzaakt, besmet waren, bonte scheuten ontwikkelden. Een aantal ging nl. voort op het oog normale groene bladeren te vormen. Het zaad van dergelijke planten leverde echter steeds bonte exemplaren op. Wij hebben hier dus het merkwaardige geval, dat het virus zich uiterlijk niet in een plant openbaart, doch wel in de nakomelingschap. Een verklaring voor dit verschijnsel is nog niet gegeven.

Zaadovergang van *Abutilon*-bont komt minder regelmatig voor (KEUR, 1933). In de eerste publicaties over dit bont werd dit niet geconstateerd. Zaailingen uit de kruising *Abutilon thompsonii* (bont) \times *A. mulleri* vertonen voor een deel bontbladerigheid.

De vraag komt op of hier denaturerende stoffen in het spel zijn, die een meer regelmatige overgang met zaad verhinderen. KAUSCHE (1940) verklaart het niet overgaan met zaad van mozaiekziekte bij tabak door het ontstaan van een inactiverende stof in het rijpende zaad tijdens de narijping en de ontkieming aan te nemen. Deze stof is met water te extraheren en is tegen verhitting, zuur en loog bestand. Door alcohol is zij neer te slaan en zij is niet in organische vloeistoffen op te lossen. Ze schijnt tot de aminoalkoholen te behoren. De inactiverende werking zou berusten op een blokkeren van de oppervlakte der viruspartikels, dat hun verdere vermenigvuldiging zou verhinderen. Met water kan uit kiemende zaden van gezonde planten en uit jonge, gezonde tabakskiemplantjes een overeenkomstige stof worden geëxtraheerd. Mogelijk zou langs deze weg een verklaring gevonden kunnen worden voor het feit, dat pas geoogste zaden van mozaiekzieke tomaat een zeker percentage zieke nakomelingen kunnen geven en lang bewaarde zaden niet.

Bij al de besproken voorbeelden van overerving wordt het virus passief van de ene generatie op de andere overgedragen. Het kan echter ook actief in de erfelijkheid van de waardplant ingrijpen. Zo vertonen de chromosomen van *Vicia faba* L., geïnfecteerd met het virus van bonenmozaiek een duidelijk hoger percentage van fragmentatie, translocatie en andere abnormaliteiten. De virusinwerking is vooral sterk in zich delende cellen, dus als de chromosomen tot deling en vermeerdering komen. In het referaat van COUTINHO's artikel (1941) wordt de mogelijkheid geopperd, dat in zich delende cellen een strijd wordt gevoerd om uitgangsmateriaal voor de synthese van virus en van chromosomen. Hierdoor zou de abnormale ontwikkeling van de chromosomen verklaard kunnen worden.

Overgang van de smetstof van de grond uit in de gezonde plant werpt de vraag op of het mechanisme, waarmee de andere bodemstoffen worden opgenomen, hier in het spel is of dat het hier een kwestie is van verwonding. In het eerste geval kunnen conclusies worden getrokken over de verhouding van de smetstof tot het protoplasma van de cel, waarin haar verdere vermeerdering plaats moet vinden. Bij het stengelbontvirus van de aardappel komt daarbij nog de eigenaardigheid, dat het met sap vrij moeilijk van aardappel op aardappel is over te brengen (ROZENDAAL, 1947). Daarentegen gaat het stengelbontvirus, indien de uitwendige omstandigheden daartoe gunstig zijn, gemakkelijk met sap van zieke aardappelplanten over op tabak (ROZENDAAL en VAN DER WANT, 1948).

IV. EPIDEMIOLOGIE

Uit de verspreidingswijze van plantenziekten kan men in vele gevallen conclusies trekken over haar wezen en de mogelijkheid van bestrijding. Zo kon THUNG (1931, 1947) een essentieel verschil constateren in de verspreidingswijze van de krul- en kroepoekziekten ter ene en van de mozaiekziekten van tabak ter andere zijde. De eerste traden gelocaliseerd op bij bebouwde dorpserven, terwijl de laatste zich in de richting van de werklieden verspreidden. De eerste „straalden” blijkbaar uit van de erven; de mozaiekziekten volgden de werkmans. Ook de toeneming in de loop van de tijd gaf aanwijzingen, die voor de studie van de smetstof van belang waren: twee typen konden daarbij onderscheiden worden, nl. een waarbij uitkwam, dat de ziek geworden plant een nieuwe besmettingsbron werd voor de omgevende planten en een ander, waarbij dit niet het geval was. Bij de mozaiekverspreiding was de curve van toeneming een zeer snel oplopende; elke nieuwe zieke plant besmette de omgevende planten. Bij de krul en kroepoek bleven de nieuwe aantallen zieke planten nagenoeg constant. Dit stond in verband met de overbrengende insecten (*Bemisia tabaci* GENNADIUS), die gedurende de waarnemingstijd in aantal vrij beperkt bleven en niet ver van de oorspronkelijke plaatsen wegvlogen. Ter voorkoming van het sneeuwbalachtig optreden der mozaiekziekte is het elimineren der allereerste gevallen van groter belang dan ter voorkoming van het tweede type.

De invloed van klimaats- en weersomstandigheden op de vectoren is slechts voor het tweede type van belang. Dit komt o.a. tot uiting bij de bladrolziekte van de aardappelplant (zie hoofdstuk over de bestrijding).

Hoe groot de betekenis kan zijn van verwijdering van infectiebronnen, zoals maïs en andere Gramineëën, waarvan *Aphis maidis* het mozaiekvirus op suikerriet kan overbrengen, leren wij uit de studies van BRANDES (1920), LEDEBOER (1921) en WILBRINK (1922).

V. DE INACTIVERING VAN VIREN

Studies over het inactiveren van viren *in vitro* zijn o.a. verricht door DUGGAR en ARMSTRONG (1925), JOHNSON (1926, 1938, 1941), JOHNSON en HOGGAN (1937), KLECZKOWSKI (1946). Behalve door hoge temperaturen is inactivering ook geschied door organische en anorganische stoffen. Over inactivering door hoge druk zijn proeven genomen door BASSET *et al.* (1938) en LAUFFER en DOW (1941).

Daarnaast is inactivering in de plant bestudeerd. Ook hierbij is het effect van warmtebehandeling (WILBRINK, 1923; KUNKEL, 1936, 1941, 1942) en chemicaliën (STODDARD, 1942, 1944, 1947) nagegaan.

Het begrip inactivering dient eerst te worden toegelicht, daar het op verschillende eigenschappen van het virus betrekking kan hebben. In de regel gaat men na in welke mate de infectieuziteit tengevolge van de toegepaste behandeling verloren gaat. Maar verlies aan infectieuziteit behoeft nog geen verlies in serologische activiteit te betekenen. Volgens BAWDEN (1943) kunnen er drie typen van reacties worden onderscheiden, die leiden tot verlies van de infectieuziteit.

Het eerste type is reversibel en kan beter worden beschreven als neutralisatie der infectieuziteit dan als inactivering. Het tweede type is minder reversibel, maar behalve verlies aan infectieuziteit zijn er verder slechts geringe veranderingen; de serologische activiteit en de andere karakteristieke fysische en chemische eigenschappen blijven behouden. Het derde type leidt tot denaturatie of afbraak van de virusdeeltjes en tot het verlies van alle eigenschappen.

Welk reactie-type zal optreden hangt niet alleen af van de aard van het virus en van de inactivator, maar is in de regel ook afhankelijk van de inwerkingsduur. Een agens, dat bij het zo stabiele tabaksmozaiekvirus niet verder ingrijpt dan tot het eerste stadium van een omkeerbare inactivering, zal, vooral bij langere inwerkingsduur, bij een minder stabiel virus tot een volledige afbraak kunnen leiden.

Bij de nu volgende bespreking van de invloed van enkele agentia zal eerst het virus *in vitro* worden behandeld. Daarna zal worden nagegaan in hoeverre ook het virus in de levende plant kan worden geïnactiveerd.

Wat de viren *in vitro* betreft, is de invloed ener inactiverende behandeling op gezuiverde viren dikwijls sterker dan op viren in perssap. Blijkbaar werken bepaalde bestanddelen van het sap beschermend op het virus.

Tot de inactivatoren van het eerste type behoren o.a. *Phytolacca*-sap (DUGGAR en ARMSTRONG, 1925), trypsine (LOJKIN en VINSON, 1931) en vele andere stoffen. Karakteristiek is, dat zij onmiddellijk een verlies aan infectieuziteit geven, zonder toeneming van dit verlies bij langer inwerking. Het tabaksmozaiek b.v. wordt niet afgebroken, maar vormt een losse binding met de inactivator en kan daarvan door een passende behandeling (verwarming, verdunning, afbraak van de inactivator) weer worden bevrijd. Het virus krijgt dan zijn oorspronkelijke infectieuziteit grotendeels terug.

Inwerking van trypsine op het aardappel X-virus leidt eveneens tot een plotse dalende infectieuziteit, die aanvankelijk ook reversibel is. Bij langere inwerkingsduur gaat deze daling echter verder, omdat het trypsine als proteolytisch enzym het virus hydrolyseert. Behalve de infectieuziteit verdwijnen nu ook de serologische activiteit, het vermogen tot dubbelbreking enz.. Bij dit virus gaat het eerste reactietype bij langere inwerkingsduur dus over in het derde.

Aan inactivatoren van het eerste reactietype is het dikwijls toe te schrijven, dat infecties met perssap van zieke planten niet slagen. Zo gelukte het aan BAWDEN en KLECZKOWSKI (1945) niet of slechts in geringe mate om infecties te verkrijgen met een oplossing van tabaksmozaïekvirus, waaraan een extract van aardbeibladeren was toegevoegd. Uit de genomen proeven viel af te leiden, dat dit niet werd veroorzaakt door de inwerking van het extract op de geïnoculeerde plant. Het bleek, dat het extract tannine bevatte, welke stof het viruseiwit neersloeg.

De inactiverende invloed van tanninezuur op de infectieuziteit van tabaksmozaïekvirus was reeds door THORNBERRY (1935) vastgesteld. Hij toonde aan, dat het hier ging om een reversibele werking tussen inactivator en virus. Volgens FULTON (1943) hebben wij bij dit type te maken met een reversibele adsorptie.

JOHNSON (1941) onderzocht 41 chemische stoffen, die de infectieuziteit meer of minder sterk verlaagden. Hij slaagde er in bij 28 hiervan de infectieuziteit voor een groter of kleiner deel weer terug te winnen.

Iets dieper grijpt de inactivering bij het tweede type in. Behalve verlies van infectieuziteit bewerkt de inactivator o.a. een sterkere neiging tot denaturatie van het viruseiwit en een opalescent worden van oorspronkelijk heldere oplossingen (STANLEY, 1936). Een dergelijke inactivering wordt, volgens BAWDEN (1943), bewerkt door formaldehyde, salpeterigzuur, waterstofperoxyde en bestraling met ultraviolette en X-stralen. Voorwaarde is, de doseringen niet te sterk te maken, daar dan eveneens de serologische en de overige eigenschappen te zeer worden aangetast. In dat geval is reactivering niet meer mogelijk.

ROSS en STANLEY (1938) inactiverden tabaksmozaïekvirus met 2 % formaldehyde en slaagden er in dit virus door dialyseren bij pH = 3 weer te activeren. De activiteit van gedeeltelijk geïnactiveerd viruseiwit werd door deze dialyse ongeveer vertienvoudigd. Ook was het mogelijk om geheel inactieve preparaten weer merkbaar te activeren. Het formaldehyde greep dieper in dan de tot nu toe behandelde agentia, omdat het virus een aantal aminogroepen en waarschijnlijk ook indolkernen van het tryptophaan verloor.

BAWDEN (1935) inactiverde het aardappel X-virus door een behandeling van één uur met 1 % formaline. Het vermogen om met anti-serum te precipiteren was echter, zelfs nadat de formaline 16 weken had ingewerkt, slechts weinig achteruit gelopen.

STANLEY (1936) behandelde gekristalliseerd tabaksmozaïekvirus behalve met formaldehyde, ook met waterstofperoxyde, salpeterigzuur (als Na-zout) en ultraviolet licht. Het virus was niet meer infectieus maar behield wel, hoewel iets veranderd, zekere karakteristieke serologische en chemische eigenschappen. De verandering bleek o.a. hieruit, dat de geïnactiveerde virusoplossing meer opalescent was en een grotere neiging tot denaturatie vertoonde. Het gehalte aan aminostikstof was na behandeling met waterstofperoxyde en formaldehyde belangrijk lager en na behandeling met salpeterigzuur vrijwel nul geworden.

BAWDEN, PIRIE en SPOONER (1936) behandelden aardappel X-virus met een 1½ % NaNO₂-oplossing, waardoor dit virus, met behoud der serologische eigenschappen, zijn infectieuziteit geheel verloor.

Het effect van bestraling met ultra-violet licht wordt sterk beïnvloed door de aanwezigheid van gekleurde verontreinigingen. Deze absorberen het licht en oefenen daardoor een beschermende werking uit op het virus. Het is daarom aan te bevelen bij proeven slechts een zeer dunne laag te bestralen, b.v. van niet meer dan 1 mm dikte.

DUGGAR en HOLLANDER (1936) vonden, dat de golflengten, die het sterkst inactiverend werken, tevens het sterkst door het virus worden geabsorbeerd. Golflengten groter dan $300\text{ m}\mu$ hebben weinig uitwerking. In de nabijheid van $260\text{ m}\mu$ neemt het effect toe; deze stralen worden sterk door het nucleïnezuur geabsorbeerd. Nog werkzamer zijn de golflengten van ongeveer $220\text{ m}\mu$, die door de eiwitcomponent worden geabsorbeerd. De resistentie van het tabaksmozaïekvirus tegen ultra-violette stralen is volgens DUGGAR en HOLLANDER (1934) veel groter dan die van bacteriën, zelfs dan die van bacteriesporen. Andere viren zijn echter minder resistent.

Door X-stralen wordt het tabaksmozaïekvirus snel geïnactiveerd, maar ook hier blijven, ondanks volkomen vernietiging der infectieuziteit, de serologische activiteit en het vermogen tot dubbelbreking behouden (BAWDEN, 1937).

Van de behandelingen, die tot het derde reactietype leiden is de invloed der temperatuur het meest uitvoerig onderzocht. Als maatstaf gebruikt men in de regel een behandelingsduur van tien minuten. De laagste temperatuur, waarbij onder deze voorwaarde algehele inactivering optreedt, noemt men het „thermale inactiveringspunt”. Dit punt blijkt bij de verschillende viren zeer ver uiteen te liggen. COOK (1947) geeft een uitgebreide tabel van thermale inactiveringspunten. Bij gekristalliseerd tabaksmozaïekvirus is het thermale inactiveringspunt door STANLEY (1935) op 94°C vastgesteld.

De ligging van het thermale inactiveringspunt wordt door allerlei factoren beïnvloed, b.v. de aard van het medium, het gehalte aan vaste stoffen in de oplossing en de concentratie van het virus. Wat dit laatste betreft, geldt de algemene regel, dat het thermale inactiveringspunt lager ligt naarmate de concentratie geringer is. Ook beneden het thermale inactiveringspunt wordt het virus natuurlijk geïnactiveerd, maar de benodigde inwerkingsduur is langer naarmate de temperatuur lager is.

BAWDEN (1943) wijst er op, dat wij ook hier onderscheid moeten maken tussen verlies der infectieuziteit en denaturatie. Bij viren, zoals het tabaksmozaïek en het aardappel X, hangen deze verschijnselen nauw met elkaar samen. Daar de denaturatiesnelheid der eiwitten in het algemeen, en dus ook die der viren, snel toeneemt bij stijgende temperatuur (hoge Q_{10}) zal bij de genoemde viren een kleine temperatuursverhoging in de nabijheid van het inactiveringspunt, de infectieuziteit zeer snel doen dalen. Tegelijk daarmee verdwijnen, als gevolg van de denaturatie, ook de overige eigenschappen als serologische activiteit en dubbelbreking. Als illustratie voor dit gedrag diene een aardappel X-preparaat, dat onverwarmd een infectieuziteit 108 en een serologische titer $1/256$ had. Na tien minuten verhitten bij 59°C waren deze getallen 94 en $1/256$; na tien minuten bij 65°C 2,5 en $1/8$. Bij een zeer geringe temperatuursverhoging liepen zowel infectieuziteit als serologische activiteit zeer snel terug.

Bij andere viren zoals „bushy stunt” van tomaat en tabaksnecrose lopen deze beide verschijnselen niet zo nauw parallel. Bij stijgende temperatuur vermindert de infectieuziteit slechts langzaam en de serologische activiteit blijft aanvankelijk dezelfde. Is eenmaal de temperatuur bereikt, waarbij denaturatie optreedt, dan neemt de serologische activiteit bij stijgende temperatuur snel af en verdwijnt de reeds zeer sterk verminderde infectieuziteit geheel. Zo vertoonde een onverwarmd „bushy stunt”-preparaat een infectieuziteit van 153 en serologische titer van $1/500$; na tien minuten bij 50°C waren deze resp. 79 en $1/500$; bij 80°C 2 en $1/500$ en bij 85°C 0 en 0.

Viren met een hoog thermaal inactiveringspunt kunnen in de regel langer bewaard worden dan die met een laag thermaal inactiveringspunt. Hoe lager de bewaartemperatuur is, des te langer is de houdbaarheid. Ook de samenstelling van het sap of het preparaat is hierbij van belang. Met name de aanwezigheid van oxyderende stoffen verkort de „levens”-duur. SAMUEL en BEST (1936) verhoogden de houdbaarheid met reducerende stoffen, zoals cysteine en natriumsulfiet. Ook werden wel gebruikt $\frac{1}{2}$ % ammoniumsulfide (WOODS en DUBUY, 1941) of $\frac{1}{2}$ % thioureum (DUBUY en WOODS, 1943).

DIJKSTRA en DUBUY (1944) bewaarden viren, die in sap spoedig onwerkzaam worden, door het sap van zieke planten direct na het uitpersen zeer snel, onder afsluiting van de lucht, te drogen. Het uitpersen geschiedde in een koolzuur-atmosfeer, terwijl het virus na het drogen in luchtledige buisjes werd bewaard. Met deze methode konden zij de viren van aardappel Y en aardappel aucubamozaiek (zgn. „Canada streak”) langer dan vier maanden met volledig behoud van de infectieusiteit bewaren. Dit is zeer belangrijk, daar deze viren, bij 15 °C in perssap bewaard, respectievelijk ongeveer 72 en 120 uur hun infectievermogen behouden.

Is voor het snelle drogen, zoals DIJKSTRA en DUBUY toepassen, een apparaat nodig, MCKINNEY (1947) vermeldt, dat hij op zeer eenvoudige wijze verschillende viren, die in sap zeer spoedig inactief worden, kon bewaren door bladeren, waarin zich de betreffende viren bevinden in kleine stukjes te snijden en deze stukjes bij 1° tot 2 °C te drogen boven CaCl₂-kristallen en de gedroogde bladstukjes in vochtichte flessen bij dezelfde temperatuur te bewaren.

MCKINNEY (1947) publiceert o.m. de volgende gegevens:

Virus van	Waardplant	Aantal dagen in gedroogd blad bij 1°-2°C bewaard	Toetsplant	Resultaat ¹⁾
komkommermozaiek	tabak	125	tabak	5/5
komkommermozaiek	suikermais	669	tabak	5/5
„southern celery mosaic”	suikermais	613	tabak	5/5
„ringspot” tabak	tabak	393	tabak	5/5
mozaiek lucerne	komkommer	303	tabak	5/5
aardappel Y	tabak	78	tabak	5/5
aardappel Y	tabak	420	tabak	6/10
„tobacco etch”	tabak	301	tabak	10/10
„mosaic rosette” tarwe	tarwe	290	tarwe	10/38

¹⁾ De tellers geven het aantal geïnfecteerde, de noemers het aantal geïnoculeerde planten aan.

Viren zijn echter in het algemeen weinig bestand tegen droging van virushoudend plantensap aan de lucht. Zelfs het tabaksmozaiekvirus verliest ongeveer de helft van zijn activiteit na drogen. In aan de lucht gedroogde tabaksbladeren kan het echter lang zijn activiteit behouden, zoals blijkt uit het werk van VALLEAU en JOHNSON (1937), die met 2 mozaiekvirusrassen symptomen verkregen, door in 1935 gezonde tabak te infecteren met zieke tabak, die in 1882 geteeld en sindsdien in gedroogde toestand bewaard was. De activiteit was dus na 53 jaren nog niet verdwenen.

Het aardappel X- en tabaksnecrosevirus zijn minder bestendig. Veel hangt, evenals bij het tabaksmozaiekvirus, af van de wijze waarop gedroogd wordt. Een snelle uitdroging, b.v. boven P₂O₅, geeft een veel sterkere inactivering dan een langzame uitdroging.

Bevriezen grijpt het virus veel minder sterk aan, vooral in het sap. In gezuiverde toestand is de inactivering veel sterker. Dit verschil is vermoedelijk toe te schrijven aan de aanwezigheid van zouten, zuren, suikers en colloïdale stoffen, daar het bekend is, dat deze bij bevriezing beschermend op het virus werken.

Het pH-traject, waarin viren bestendig zijn, hangt van de soort af. Het loopt bij het „ringspot”-virus van tabak van 6 tot 8,5, een zeer nauw traject dus. Ruimer is het bij het tabaksmozaïekvirus, nl. van 2 tot 8. De viren zijn in het algemeen voor een basische reactie gevoeliger dan voor een zure. Buiten de vermelde pH-grenzen daalt de activiteit van het virus in de regel snel met af- resp. toenemende pH.

Nog andere dan de reeds genoemde chemicaliën oefenen een, al naar de aard van het virus, meer of minder sterk inactiverende invloed uit. Kaliumpermanganaat werkt sterk oxyderend. Verder zijn o.a. kopersulfaat, kwikchloride, alcohol en zilvernitraat op hun inactiverende werking onderzocht.

Tot nu toe is de inactivering besproken van virus *in vitro*, hetzij in sap, hetzij in gezuiverde toestand. Welke invloed hebben al de besproken agentia op het virus in de plant en is het mogelijk de zieke plant te genezen?

Gezien het feit, dat de viren in het algemeen een veel grotere resistentie tegen de genoemde agentia hebben dan de plantaardige cel, lijkt de kans hierop niet groot, tenzij men met een zeer gevoelig virus te maken heeft. Hier komt nog bij, dat viren intracellulair zijn en het agens dus in de cellen zal moeten treden om zijn werking te kunnen uitoefenen. Dit is niet gemakkelijk uitvoerbaar. Ook ultraviolet licht doordringt niet de gehele plant; dit licht wordt reeds door een zeer dunne weefsellaag geabsorbeerd, vooral als deze kleurstoffen bevat.

Het enige agens waarvan kan worden aangenomen, dat het in de gehele plant doordringt, is warmte. Voorwaarde voor genezing is, dat het thermale inactiveringspunt van het virus lager is dan dat van de plant.

Warmtebehandeling werd het eerst toegepast door WILBRINK (1923). Zij dompelde stekken van suikerriet, die door sereh-ziekte waren aangetast, gedurende een half uur in water van 52–55 °C. Hieruit ontwikkelden zich gezonde planten. DUNCKELMAN e.a. (1946) bestreden de „chlorotic streak” van het suikerriet door onderdompeling in water van 52 °C gedurende een half uur.

KUNKEL (1936) slaagde er door het toepassen van warmte in perzikzaailingen te genezen van „peach yellows”. Een behandeling van enkele minuten bij 50 °C was voldoende. Ook bij 36 °C trad genezing op, mits de behandeling maar lang genoeg duurde. Het bleek, dat het virus in de bovengrondse delen veel eerder geïnactiveerd was dan in de wortels en het onderaardse gedeelte van de stengel. De planten waren dan ook veel gemakkelijker te genezen, wanneer het virus na infectie in de top, nog geen gelegenheid had gehad om in de wortels door te dringen. Werden op dergelijke wijze geïnfecteerde planten op de veertiende dag na de infectie bij 36 °C gezet, dan gaf een behandeling van minstens vier dagen een volkomen genezing. De herstelde planten waren vrij van „yellows” en de nieuw uitgegroeide delen vertoonden geen symptomen meer. Zij waren niet immuun geworden voor een nieuwe infectie met „yellows”.

KUNKEL (1936) kon op deze wijze ook andere perzikziekten genezen, nl. „red suture”, „little peach” en „rosette”. Met het perzikmozaïek lukte het echter niet.

Behalve met perzik werkte KUNKEL (1941) ook met *Vinca rosea* en *Nicotiana rustica*. *Vinca rosea*, aangetast door „aster yellows” werd genezen door de plan-

ten gedurende twee weken te plaatsen in een kamer bij 38–42 °C of door ze gedurende enkele uren onder te dompelen in water van 40–45 °C. *Nicotiana rustica*, geïnfecteerd met „aster yellows” herstelde door een behandeling van drie weken bij 40 °C.

Over de inactivering *in vivo* van het X-virus van de perzik door chemicaliën is door STODDARD (1942, 1944, 1947) gepubliceerd. Hij onderzocht een aantal organische en anorganische verbindingen op hun werking ten opzichte van met X-virus besmette perzikknoppen door deze in waterige oplossingen van de betreffende chemicaliën te brengen en daarna te oculeren op gezonde bomen. Het bleek dat 80% van de knoppen, behandeld met chinhydron, op de gezonde onderstam uitgroeide tot gezonde scheuten, terwijl de onderstam gezond bleef. Andere chemicaliën, als 8-hydroxychinolinesulfaat, hydrochinon, p-nitrophenol en calcium-8-hydrochinolaat, inactiverden het virus ook, doch in mindere mate.

STODDARD (1944, 1947) experimenteerde ook met in potten gecultiveerde perzikzaailingen, die hij door oculatie met de X-ziekte had besmet. Hij sneed het bovenste gedeelte van de stam af en liet verschillende chemicaliën door de wond opzuigen. Hij vond, dat para-aminobenzeensulfonamide en andere sulfon-verbindingen op deze wijze toegepast in een groot aantal gevallen verhinderde, dat de met X-virus geïnoculeerde perzikboompjes ziekteverschijnselen gingen vertonen.

Ook werden de chemicaliën via de wortels in de planten gebracht door de oplossingen eenvoudig op de grond bij de stam te gieten; ook met deze methode werden goede resultaten bereikt.

Behandelde boompjes, die gezond waren gebleven, werden tien maanden later met zieke knoppen geïnoculeerd. Het bleek, dat alle of een belangrijk percentage van de bomen, tien maanden eerder behandeld resp. met natriumsulfadiazine, natriumsulfamerizine, sulfaguanidine, zinksulfaat, hydrochinon en dinatrium-aethyleenbisdithiocarbamaat, gezond bleven.

Ook werden proeven genomen met waterige en alcoholische extracten van bladeren en takken van *Prunus serotina*, die onvatbaar is voor de X-ziekte. Het bleek, dat in deze extracten een stof voorkomt, die de perzik beschermt tegen infectie met X-virus.

Deze proefnemingen zijn nog niet afgesloten. Niet alleen om hun praktische betekenis, doch evenzeer voor de oplossing van het theoretische virusprobleem zijn zij belangrijk.

VI. DE BESTRIJDING DER VIRUSZIEKTEN

A. ALGEMENE BESCHOUWINGEN OVER DE BESTRIJDING

In enkele paragrafen zullen punten behandeld worden, die voor de bestrijding van virusziekten van belang kunnen zijn. Achtereenvolgens zullen ter sprake gebracht worden: de verspreiding door insecten, het probleem der infectiebronnen, de toepassing van resistente, tolerante en overgevoelige rassen der cultuurplanten, premunisering der cultuurplanten en het gebruik van gezond zaaizaad en pootgoed.

In het tweede gedeelte van dit hoofdstuk worden voorbeelden gegeven van bestrijdingsschema's, die bij enkele gewassen in de praktijk worden toegepast.

§ 1. Verspreiding door insecten

Met succes worden in streken met een ruw en vochtig klimaat virusvrije poot-aardappelen geteeld, aangezien in dit klimaat de ontwikkeling en verspreiding van de bladluis *Myzus persicae* SULZ. belemmerd worden (QUANJER, 1931). Bovendien vindt men in dergelijke gebieden weinig perzikbomen in de open lucht, terwijl er doorgaans 's winters geen of weinig wintergroenten op het open veld voorhanden zijn, zodat overwinteringsplaatsen voor deze luis geheel of nagenoeg ontbreken. Het insect vliegt niet, wanneer de temperatuur onder 18 °C en de relatieve vochtigheid boven 70 % ligt of wanneer de windsnelheid meer bedraagt dan 1600 m per uur. Bij koel, vochtig en winderig weer heeft dus geen verspreiding plaats van virusziekten, die door deze bladluis worden overgebracht.

In streken met een zacht klimaat verplaatsen de luizen zich in de nazomer naar de perzikboom, waarop mannelijke en vrouwelijke exemplaren worden voortgebracht. De bevruchte wijfjes leggen op de perzik eieren, die tegen de winter bestand zijn en die in het voorjaar uitkomen. Dan ontwikkelen zich eerst enkele generaties van ongevleugelde luizen; pas eind Mei—begin Juni komen de gevleugelden, die van de perzik migreren naar de zomer-waardplanten. Een warme, droge lente is bevorderlijk voor een voorspoedige voorjaarsontwikkeling. In streken met milde en niet te vochtige winters — zoals zonnige dalen — worden het geslachtelijk proces en het eistadium overgeslagen. Daar gaat de ongeslachtelijke vermenigvuldiging b.v. op winterharde Cruciferen voort.

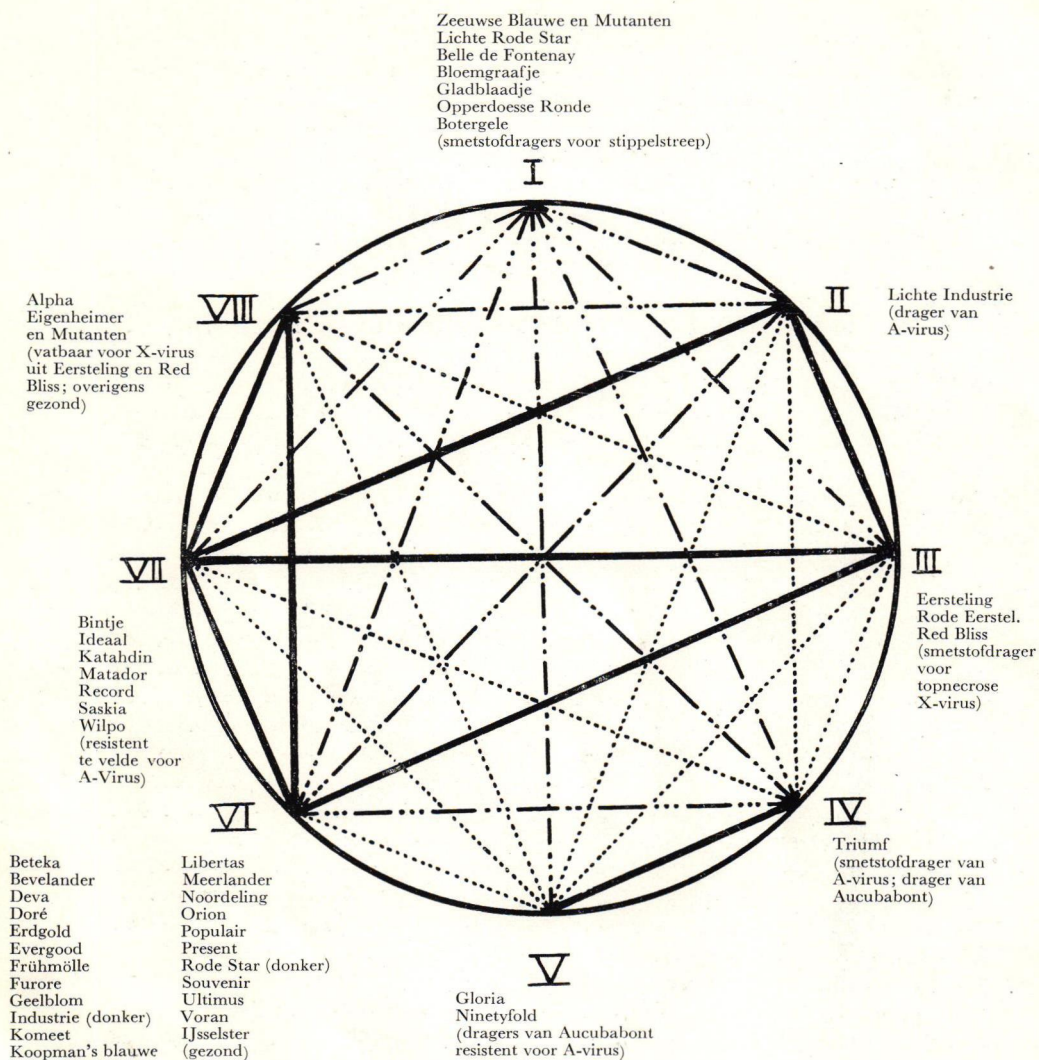
Behalve door profijt te trekken van klimaatsomstandigheden, die de bladluizen tegenwerken, kan men deze insecten rechtstreeks bestrijden. Zo meldt HUCKETT (1945), dat erwten in het westelijk deel van Long Island (U.S.A.), met rotenonhoudende sproei- of stuifmiddelen gedurende één of meer keren van het begin der bloei af werden behandeld; niet alleen werd als gevolg daarvan minder directe schade van de erwtenluis (*Macrosiphum pisi* KALT.) ondervonden, doch ook had er minder verspreiding plaats van het erwtenmozaiek, dat door deze luis wordt overgebracht.

In Engeland wordt volgens MASSEE en GREENSLADE (1941), in aardbeivelden, *Pentatrichopus fragaeifolii* CKLL (= *Capitophorus fragariae* THEOB.) bestreden door onder een zeil, dat langzaam over de planten wordt voortbewogen, nicotine te verdampen. Verwijdert men nu bovendien de viruszieke aardbeiplanten, dan kan men het gewas virusvrij houden. Hierbij moet worden opgemerkt, dat deze luis zijn gehele leven op de aardbeiplant doormaakt.

§ 2. Infectiebronnen

Verschillende viren, die ziekten bij land- en tuinbouwgewassen veroorzaken, overwinteren of blijven gedurende de periode, dat het gewas het veld heeft geruimd, over in andere gewassen of onkruiden. Besmetting heeft plaats door insecten, die eerst gezogen hebben op de planten, waarin het virus is overgebleven en daarna neerstrijken op het cultuurgewas. In de Vorstenlanden ontdekte THUNG (1934), dat de krul- en kroepoekziekte wordt overgebracht door het insect *Bemisia tabaci* GENNADIUS, en dat het virus achterblijft in de onkruiden *Ageratum conyzoides*, *Synedrella nodiflora* en *Vernonia cinerea*, die in ruigten langs de dessa's voorkomen. Komt de tabak op het veld, dan brengt *Bemisia* het virus van deze

BESMETTINGSVEELHOEK



De rassen zijn in 8 groepen ingedeeld, waarbij rekening is gehouden met de N.A.K.-eisen. Een aantal rassen mag direct naast elkaar verbouwd worden. Deze zijn verbonden door _____; bij een aantal moet minstens een ruimte van 10 meter aanwezig zijn. Deze groepen van rassen zijn verbonden door _____. Tenslotte zijn er ook rassen, waarbij ten minste 2 meter tussenruimte aanwezig moet zijn. Bij deze is de verbinding der hoekpunten gemaakt door _____. De rassen, voorkomende in dezelfde groep, mogen naast elkaar verbouwd worden, met uitzondering van Zeeuwse Blauwe en lichte Rode Star, aangezien dit laatste ras soms ook A-virus bevat.

Fig. 24 Besmettingsveelhoek (W. B. L. Verhoeven, Ziekten, selectie en keuring van aardappelen, Wageningen, 2e druk, p. 58, 1947).

onkruiden hierop over. De eerste kroepoekzieke tabaksplanten worden steeds aan de rand van het veld in de buurt van de dessa's waargenomen, hetgeen begrijpelijk is, daar *Bemisia* op deze randplanten het eerst neerstrijkt. Theoretisch is het nu mogelijk de kroepoekziekte te voorkomen door het vroegtijdig uitroeien van deze onkruiden en inderdaad is langs deze weg veel ten aanzien van de vermindering dezer ziekte bereikt.

Het virus, dat rolmozaiek bij de boon (*Phaseolus vulgaris*) veroorzaakt, overwintert in het zaad. Andere waardplanten van dit virus dan de boon zijn niet bekend. Ieder jaar wordt het virus verspreid door bladluizen, die het vaak over afstanden van kilometers van de zieke op de gezonde planten overbrengen. Ook in dit geval moet het mogelijk zijn een ziektevrij bonengewas te telen door alle secundair zieke planten (d.z. planten opgegroeid uit besmet zaad) in een jong stadium te verwijderen.

Gevallen van ernstige besmetting van bieten werden gemeld als dit gewas zich bevond in de directe nabijheid van percelen met zaadbieten (QUANJER EN ROLAND, 1936). Doorgaans bevinden zich tussen de stek- of zaadbieten, die in kuilen overwintert en daarna op het veld uitgeplant zijn, vergelingszieke planten, waar de infectie van uitgaat. Naar aanleiding hiervan is het in de gehele provincie Zeeland verboden bietenzaadteelt te bedrijven.

Het virus der mozaiekziekte van het suikerriet kan ook voorkomen in mais en andere *Gramineae*. Bij de aanleg van nieuwe rietvelden dient men met de aanwezigheid van deze planten in de buurt rekening te houden en ze eventueel op te ruimen (BRANDES EN KLAPHAAK, 1923).

Gewassen, die vegetatief vermenigvuldigd worden, vereisen extra aandacht. Van de aardappel b.v. zijn verscheidene rassen bekend, die drager zijn van bepaalde viren, zonder symptomen te vertonen. Soms vertonen ze slechts lichte verschijnselen. Ze zijn dus min of meer tolerant voor deze viren. Daar de aardappel steeds vegetatief wordt vermeerderd en er vroeger weinig aandacht aan deze zaak is geschonken, zijn van vele oudere tolerante aardappelrassen geen virusvrije knollen meer te vinden. JAMES JOHNSON (1925) nam waar, dat tabak geïnoculeerd met het sap van schijnbaar gezonde aardappelplanten, bepaalde symptomen ging vertonen. Het bleek, dat het aardappelras carrier was van een virus, dat sindsdien wel „healthy potato virus” werd genoemd. Ook in het aardappelras Eersteling kon dit virus, later meestal X-virus genoemd, worden aangetoond (OORTWIJN BOTJES, 1933). ATANASOFF (1926) vond, dat alle knollen van het ras Zeeuwse Blauwe het stippelstreepvirus bevatten, zonder dat dit aan de knollen of de daaruit opgroeiende planten is waar te nemen.

Bij verbouw van twee aardappelrassen naast elkaar dient dus te worden nagegaan of zij smetstofdragers zijn. Door VERHOEVEN (1946) is een besmettingsveelhoek opgesteld waar direct uit is af te lezen welke rassen wel en welke niet naast elkaar geteeld kunnen worden (fig. 24).

Tulpen, die hun gebroken, bonte kleuren te danken hebben aan een virus, moeten afgezonderd van andere tulpen vermeerderd worden, teneinde de laatste tegen besmetting met het virus te beschermen (VAN SLOGTEREN EN DE BRUIJN OUBOTER, 1941).

In vele gevallen is het onmogelijk infectiebronnen van deze aard te elimineren, omdat men ze nog niet alle kent.

§ 3. *Resistente, tolerante en overgevoelige rassen*

Sommige virusziekten kunnen vermeden worden door het gebruik van of het kweken van rassen der cultuurgewassen, die hetzij volkomen onvatbaar zijn, hetzij een grotere resistentie bezitten dan de reeds bestaande. Ook kan men trachten tolerante rassen te vinden. Ten slotte kan gedacht worden aan het gebruik of de winning van overgevoelige rassen, dus rassen welke plaatselijk zo snel en hevig op infectie reageren, dat necrose optreedt, waardoor het virus gelocaliseerd blijft of vernietigd wordt. Hier volgen thans enkele voorbeelden.

In 1933 ontdekte NOLLA in Colombia een tabaksras genaamd Ambalema, dat ongevoeligheid of tolerantie voor het gewone tabaksmozaïek vertoonde. Deze tolerantie bleek op speciale genen te berusten. Kruist men Ambalema met voor tabaksmozaïek gevoelige variëteiten, dan is de F_1 steeds gevoelig. De F_2 geeft een opsplitsing in 15 gevoelige tegen 1 ongevoelige nakomeling. Hieruit en uit de resultaten van een aantal terugkruisingen concludeert NOLLA, dat de gevoeligheid voor tabaksmozaïek dominant en de tolerantie recessief is en dat het verschil tussen beide door twee genen wordt beheerst. Met Ambalema zijn in de Verenigde Staten van Noord-Amerika reeds spoedig kruisingen gemaakt en ook in Indonesië en in andere streken waar de tabak van economische betekenis is, is in deze richting arbeid verricht (BADENHUIZEN, 1948).

Is de Ambalema-tabak dus wel vatbaar, doch ongevoelig voor de ziekte, anders is het met *Nicotiana glutinosa*, welke, zoals reeds eerder werd medegedeeld, op het tabaksmozaïekvirus met plaatselijke afsterving reageert, doch verder geen verschijnselen vertoont (overgevoeligheid). Volgens HOLMES (1938) berust deze eigenschap op één enkele dominante factor en het is hem gelukt deze factor op *Nicotiana tabacum*-rassen over te brengen. Dit was geen eenvoudige taak, daar *N. glutinosa* zich wel met *N. tabacum* laat kruisen, doch een steriele F_1 geeft. Er bestaat echter een *Nicotiana*-soort, beschreven als *N. digluta*, welke een zelffertiële amphidiploid is, afkomstig uit de kruising *N. glutinosa* × *N. tabacum*. Deze *N. digluta* bleek, evenals *N. glutinosa* overgevoelig te zijn voor het tabaksmozaïekvirus. Door kruising kon de necrose-factor van *N. digluta* op allerlei tabaksrassen worden overgebracht en is het gelukt geschikte, voor het tabaksmozaïek overgevoelige typen te winnen.

Volgens CLAYTON en MCKINNEY (1941) zouden de voor mozaïek tolerante tabaksrassen de voorkeur boven de voor mozaïek overgevoelige rassen verdienen, daar de laatste op het veld dikwijls hevige necrose te zien gaven na een besmetting met dit virus. In het 55e jaarrapport van het Kentucky Agricultural Experimental Station (1942) wordt evenwel vermeld, dat de overgevoelige tabaksrassen in de praktijk uitstekend voldoen.

Voor tabaksmozaïek onvatbare tabaksrassen zijn niet bekend.

In de Verenigde Staten van Noord-Amerika is sedert 1943 het zgn. „southern bean mosaic” bekend (ZAUMEYER en HARTER, 1943). Door deze auteurs is gevonden, dat de bonenrassen in twee groepen zijn te onderscheiden: een groep van rassen, die na inoculatie met dit virus uitsluitend reageren met locale necrotische vlekjes op de bladeren en een groep van rassen, die mozaïekverschijnselen op de jongere bladeren te zien geven. Bij de planten, die met locale necrose reageren blijft het virus tot de geïnoculeerde bladeren beperkt; spreidinfectie treedt niet op. Deze bonenrassen zijn dus overgevoelig.

De serehziekte van het suikerriet, die eenmaal de schrik was van de suikerplanters op Java, heeft men onschadelijk gemaakt door het vatbare Cheribon riet te vervangen door andere soorten en rassen. Het bewijs dat deze ziekte inderdaad, wat meer dan waarschijnlijk is, door een virus wordt verwekt, is niet geleverd. Evenmin weet men of hier resistentie dan wel tolerantie in het spel is.

In de vorige paragraaf is reeds gesproken over het bestaan van carriers bij aardappelrassen, welke een gevaar kunnen zijn voor andere gevoelige rassen. Zo kent men het reeds eerder vermelde aardappelras Zeeuwse Blauwe, dat het virus van de stippelstreep-ziekte herbergt, zonder symptomen te vertonen. Het ras Eersteling reageert echter met hevige necrotische spreidsymptomen op dit virus en dient dan ook niet in de buurt van Zeeuwse Blauwe geteeld te worden.

Andere aardappelrassen zijn overgevoelig voor virusaantasting. Zo reageren Bintje, Eersteling, Gloria, Matador, Record, Saskia en Wilpo op mozaiek besmetting (A-virus) met necrosevlekjes, waar het virus in gelocaliseerd wordt (VERHOEVEN, 1946).

§ 4. Premunisering

In de praktijk vindt premunisering van gewassen met lichte virusstammen tegen hevige vormen van hetzelfde virus nog weinig of in het geheel geen toepassing. Voorbeelden van toevallige premunisering vormen de aardappelrassen lichte Industrie en lichte Rode Star, die beide besmet zijn met een lichte vorm van mozaiek, die weinig schade aan de opbrengst veroorzaakt. Deze rassen zijn aldus beschermd tegen aantasting van ernstig en veel schadelijker mozaiek (OORTWIJN BOTJES, 1939).

Opzettelijke premunisering van virusvrije aardappelrassen met lichte virusvormen heeft in de praktijk nog geen toepassing gevonden. Men zou volgens OORTWIJN BOTJES (1940) van een gevaarlijk virus stammen moeten vinden, die de plant weinig hinderen. Voorts heeft hij er op gewezen, dat men door premunisering de kans op het optreden van complexe virusziekten vergroot. Hem bleek nl. het volgende: Eigenheimer, besmet met licht mozaiek geeft milde symptomen te zien. Worden de knollen dezer planten door enting tevens met X-virus (b.v. van Eersteling, die carrier voor dit virus is), besmet, dan blijven de daaruit opgroeiende planten zwak en klein, terwijl de bladeren sterk gekroesd zijn. Gezonde Eigenheimer, door knolenting besmet met X-virus, vertoont daarentegen geen ziekteverschijnselen. Licht-mozaiek en X-virus zijn dus samen schadelijker dan elk apart. In de praktijk schijnt, volgens OORTWIJN BOTJES (1940), het optreden van dergelijke complexe ziekten wel mee te vallen. Premunisering van bepaalde aardappelrassen met lichte virusvormen behoeft het optreden van complexe ziekten dus niet noodzakelijkerwijs in de hand te werken, hoewel met de mogelijkheid ervan rekening moet worden gehouden.

Een geval van doelbewuste premunisering is beschreven door WALLACE (1944), hoewel dit voor de praktijk waarschijnlijk weinig waarde zal hebben. In een veldproef werden naast tomaten, opgekweekt uit zaad, vegetatief vermeerderde tomaten uitgeplant, welke afkomstig waren van planten, die door enting met een zgn. van „curly top” herstellende tabakspant „passief geïmmuniseerd” waren (zie pag. 93 [69]). Op het veld had nu langs natuurlijke weg door *Eutettix tenellus* BAKER besmetting van alle planten met „curly top” plaats. De gepremuniseerde tomaten

hadden weinig of niet van de ziekte te lijden en behielden tot het einde toe hun groene kleur, terwijl de planten, die uit zaad waren opgekweekt, alle afstierven.

BODINE (1942) vermeldt het voorkomen van milde „strains” van het mozaiekvirus van de perzik, die nauwelijks of geen symptomen veroorzaken. Hij acht het mogelijk de bomen met deze lichte vorm te premunisieren tegen de ernstige vormen. Er is evenwel nog niet gemeld, dat dit reeds in het groot wordt toegepast.

De premunisering heeft dus op het ogenblik nog ternauwernood toepassing gevonden. Of zij in de toekomst van groter belang zal worden, moet worden afgewacht.

§ 5. Gezond zaaizaad en pootgoed

Viren, die in zaad, enten, stekken of bibit, bollen en knollen worden overgebracht, kan men vermijden door voortplantingsmateriaal aan virusvrije planten te ontlenen.

Reeds op pag. 57 [33] is medegedeeld, dat viren van erwten, *Phaseolus*-bonen en sla met het zaad kunnen overgaan. Bij de zaadteelt dient men maatregelen te treffen om het gewas ziektevrij te houden. Daartoe moeten o.a. alle planten opgegroeid uit besmet zaad vroegtijdig verwijderd worden, daar zij anders als besmettingsbron fungeren. Voorts verdient het aanbeveling vroeg te zaaien. Op het moment, dat de luizen optreden, moeten bonen zich reeds zover ontwikkeld hebben, dat een besmetting met het virus geen of weinig invloed meer heeft op de gezondheidstoestand van het te produceren zaad.

Ook bij de pootaardappelteelt wordt gelet op het tijdstip, waarop de bladluizen verschijnen; hiernaar wordt vastgesteld op welk ogenblik de aardappelen geroid moeten worden. Op de vermindering van infectiebronnen in deze teelt zal in het tweede gedeelte van dit hoofdstuk nader worden terug gekomen.

B. SPECIALE BESTRIJDINGSSCHEMA'S

§ 1. De bestrijding der virusziekten in tabaksaanplantingen

Hierbij komt het belangrijke verschil tussen met sap-besmettelijke en niet met sap-besmettelijke virusziekten tot uiting.

1. De met sap besmettelijke virusziekten

Welke rol de plantende veldarbeider kan spelen blijkt uit het feit, dat de grenzen der besmette complexen vaak dezelfde zijn als die van de plant-arealen. De arbeider heeft dan de smetstof in zijn eigen plantgebied gebracht en verspreid.

De bestrijdingsmogelijkheden zijn de volgende:

a. Het weren van de smetstof uit de aanplant

De arbeider besmet zijn handen door het roken en pruimen van consumptie-tabak. Voor het ontsmetten van de handen blijken formaline, trinatriumfosfaat en looistof (VAN SCHREVEN, 1948) het best te voldoen. Formaline wordt in de sterkte van 4 % handelsformaline toegepast, trinatriumfosfaat als 8 % oplossing en looistof in een concentratie van circa 15 %. Trinatriumfosfaat heeft boven formaline het voordeel, dat het niet vervluchtigt en dientengevolge langer aan de handen blijft hechten. Ook werkt het niet in op de huid.

b. Het tegengaan van verdere verspreiding in de aanplant

Het is niet altijd te verhinderen, dat hier en daar nog virusziekten in de aanplant komen. Voor zover zij reeds in de jonge aanplant geconstateerd worden, moeten de zieke planten door speciale ploegen uitgetrokken worden. De hiermee belaste personen moeten geregeld hun handen desinfecteren en er voor zorgen, dat zij geen gezonde planten aanraken. Virusziekten, die in de planten wel aanwezig zijn, maar nog niet tot uiting zijn gekomen, vormen het grootste besmettingsgevaar. Het wegzoeken van rupsen en het afrissen der oude blaadjes in de jonge aanplant zijn werkzaamheden, waardoor reeds aanwezige smetstoffen verspreid kunnen worden.

Goede resultaten bij het tegengaan van verdere besmetting zijn verkregen door het rupsen zoeken geheel of nagenoeg geheel te vervangen door chemische bestrijding.

c. Het zoeken naar resistente lijnen

In Amerika heeft men door kruisingen lijnen verkregen, welke tolerant of overgevoelig zijn voor het gewone mozaiek, zoals in § 3 van de eerste helft van dit hoofdstuk reeds is uiteengezet.

d. Het elimineren van besmettingsbronnen

Door J. JOHNSON (1937) e.a. is uitvoerig nagegaan, welke de besmettingsbronnen voor de mozaiekziekten in de aanplant kunnen zijn. Gefermenteerde tabak, tabaksafval, tabaksopslag, werktuigen en grond kunnen in meer of mindere mate smetstof bevatten. Doeltreffende maatregelen tegen besmetting uitgaande van de grond zijn het moeilijkst uit te voeren. Besmetting via de wortels komt weinig voor; de in de grond aanwezige smetstof dringt via de stam en de bladeren, die langs de grond schuren, de plant binnen.

Worden zieke planten uitgetrokken dan kunnen de inboetelingen, die spoedig geplaat worden, smetstoffen in de grond aantreffen. Door intensieve uitdroging kunnen deze wel onschadelijk worden gemaakt, doch in de praktijk zal dit niet goed te bereiken zijn. Het beste zal zijn op deze plaatsen of de grond voor het inboeten door nieuwe te vervangen of hem met een zandlaag te bedekken, zodat de bladeren van de inboeteling niet in aanraking komen met de besmette grond. In het algemeen wordt de smetstof snel in de grond geïnactiveerd door oxydatie; luchttoevoer (dus flink omwerken en rul houden van de grond) bevordert deze oxydatie en daardoor de inactivering. Door toediening van koper aan de besmette grond, bijv. in de vorm van kleine hoeveelheden kopersulfaat, wordt de smetstof voor een belangrijk deel vernietigd; waarschijnlijk wordt de oxydatie hierdoor versneld.

e. Premunisering

In de tabakscultuur heeft deze methode nog geen toepassing gevonden.

2. De met insecten besmettelijke virusziekten

Over de bestrijding hiervan heeft men ervaring in de Vorstenlanden (THUNG, 1934). De tijdige verwijdering van de smetstofdragers, nl. de onkruiden *Ageratum conyzoides*, *Synedrella nodiflora* en *Vernonia cinerea* heeft er ingang gevonden.

Verder is gebleken, dat de „perforatie”-ziekte van de tabaksaanplantingen afkomstig moet zijn van nabij gelegen aanplantingen van Spaanse peper (*Capsicum annum*), vanwaar de luis *Myzus persicae* haar overbrengt. De besmette *Capsicum*-planten zelf tonen de ziekte zelden.

Aanbevolen wordt thans de bladluis door tijdige bespuiting te vernietigen zowel in verdachte *Capsicum*-tuinen als bij de tabak. Reeds tijdens de beddentijd wordt hiermee begonnen. Verschillende middelen zijn beschikbaar.

In de Zuidafrikaanse tabakscultuur kan, volgens VAN DER PLANK en ANDERSEN (1944), de schade, aangericht door de kromnekziekte, belangrijk worden verminderd door in plaats van één, twee planten per plantgat uit te planten. Deze ziekte wordt veroorzaakt door het „spotted wilt”-virus, dat door thripssoorten wordt overgebracht. Er werd geconstateerd, dat de ziekte door de vector van buiten af in de plant wordt gebracht, maar er daarna niet verder van tabaksplant op tabaksplant door wordt verspreid. Is nl. een virusdragende thrips op een tabaksplant neergestreken, dan verlaat hij deze in verreweg de meeste gevallen niet meer, doch beëindigt er spoedig zijn leven op.

Uit veldproeven is nu duidelijk geworden, dat de te veel uitgezette planten als het ware de thrips wegvangen, zodat na verwijdering van de kromnekziek geworden planten ten slotte toch een normaal gesloten aanplant overblijft.

§ 2. De bestrijding van de virusziekten bij de aardappel

Op grond van het werk van QUANJER en OORTWIJN BOTJES en de onderzoeken, verricht door andere medewerkers van QUANJER zijn het eerst in Nederland belangrijke maatregelen genomen voor het telen van ziektevrij pootgoed. De Nederlandse Algemene Keuringsdienst voor landbouwzaden en aardappelpootgoed (kortweg N.A.K.), geeft richtlijnen, welke bij de teelt van pootaardappelen, de selectie en de keuring gevolgd moeten worden.

VERHOEVEN (1946) geeft een overzicht van de gang van zaken bij de pootaardappelteelt en van de eisen, welke aan het gewas, dat voor de keuring is aangegeven, gesteld moeten worden.

De meeste aardappelviren worden door bladluizen, waarvan *Myzus persicae* SULZ. de belangrijkste is, overgebracht. Deze luis overwintert als ei op de perzikboom. In het voorjaar komen ongevleugelde exemplaren uit het ei, zij vermeerderen zich op de perzik door het voortbrengen van ongevleugelde jongen. Van half Mei tot half Juni ontstaan gevleugelde bladluizen, hetgeen afhankelijk is van temperatuur en weersgesteldheid. Deze vliegen o.a. naar de aardappelvelden, bewegen zich van plant op plant en brengen verschillende virusziekten over. Het is daarom van belang, voordat de gevleugelde exemplaren verschijnen, de secundair zieke planten (dus de planten opgegroeid uit besmette knollen) uit het gewas verwijderd te hebben. De gevleugelde luizen stichten kolonies van ongevleugelden. Later in het seizoen, afhankelijk van de omstandigheden, kunnen ook weer gevleugelde exemplaren ontstaan, welke zich over grote afstanden verplaatsen.

De maatregel van het vroeg rooien heeft ten doel te voorkomen, dat smetstof, die door primaire besmetting in de plant is gebracht, tot in de knollen doordringt. Op bepaalde tijdstippen wordt het aantal bladluizen, dat in het gewas voorkomt, geteld en de N.A.K. stelt naar de resultaten van deze tellingen de rooi-data vast.

Bij het verwijderen van de zieke planten uit het gewas dient men bepaalde voorzorgen in acht te nemen. Deze planten moeten na het uitsteken direct in een zak gedeponerd worden. Hierdoor voorkomt men, dat bladluizen, die zich er op bevinden, op gezonde terecht komen. De zieke planten moeten onschadelijk worden gemaakt.

De N.A.K. stelt enkele eisen, aangaande de belendende percelen. Komt nl. binnen een afstand van 10 m van een te keuren perceel een aardappelveld voor, dat besmettingsgevaar oplevert, dan kan het gehele perceel of minstens een strook van 10 m daarvan in een lagere keuringsklasse worden gebracht of zelfs geheel worden afgekeurd. Hierbij moet gedacht worden aan smetstofdragers en aan consumptie-aardappelgewassen van de verbouwer zelf of van zijn buurman. Voor Eersteling is zelfs bepaald, zoals reeds is meegedeeld, dat zich binnen een afstand van 50 m van het perceel geen Zeeuwse Blauwe of knopmutanten hiervan mogen bevinden. Te sterke stikstofbemesting kan bezwaren geven bij de keuring, daar hierdoor de symptomen vaak gemaskeerd worden. Verder kunnen tekorten aan kali, fosfor of mangaan de beoordeling onmogelijk maken, wegens het optreden van physiogene ziekteverschijnselen in het gewas.

Voor het verkrijgen van uitgangsmateriaal, dat men met behulp van de hierboven geschetste massa-selectie op peil tracht te houden, kan men stamboomteelt toepassen. Hierbij gaat men uit van een of meer gezonde planten, die zeer vroeg geroid worden. De knollen van iedere plant worden afzonderlijk bewaard en het volgend jaar afzonderlijk uitgezet. Deze stammen worden weer vroeg geroid. Behalve de viren, die door bladluizen verspreid worden, tracht men langs deze weg ook het X-virus te elimineren. Zoals bekend kan dit virus zeer gemakkelijk door contactinfectie van plant op plant worden overgebracht; bladluizen verspreiden het niet.

Bij de keuring let men niet alleen op virusziekten, doch ook op aantasting door bacteriën, schimmels en aaltjes, alsmede op raszuiverheid. De waardering van het gewas wordt uitgedrukt in het zgn. ziektegetal. Het percentage zieke planten wordt daarbij met een bepaald cijfer vermenigvuldigd. Dit cijfer is verschillend voor de diverse ziekten; voor enkele ziekten verandert het bij de volgende keuringen.

Men kent de volgende klassen:

- Klasse A met een ziektegetal van ten hoogste 4
- Klasse B met een ziektegetal van ten hoogste 10
- Klasse C met een ziektegetal van ten hoogste 16

De N.A.K. stelt voor A-percelen ieder jaar een verplichte rooidatum vast. Voor sommige rassen kan echter een vroegere datum worden aangegeven en deze aardappelen komen dan in de AA-klasse. In de klasse AB komen de percelen, die voorlopig in A zijn gerangschikt, echter niet geroid worden op de voor A gestelde datum, doch wel binnen een door het dagelijks bestuur van de N.A.K. bepaalde datum. Ook kunnen in de klasse AB worden geplaatst de percelen, die met B zijn goedgekeurd, doch vóór of op de voor A gestelde datum geroid zijn.

Na het rooien worden de aardappelen nog op partij gekeurd, doch het zou te ver voeren alle voorschriften, die daarbij in acht genomen moeten worden, te bespreken.

Heel deze aardappelkeuring vereist een grote kennis van de symptomen der ziekten, niet alleen van de keurmeesters, doch tevens van de landbouwers, die zich op de teelt van aardappelpootgoed toeleggen. Door een goed georganiseerde voorlichting is men er in Nederland in geslaagd de kennis der ziekteverschijnselen aanzienlijk te verbreiden, waardoor de gezondheidstoestand van de aardappelplant in de laatste decennia in hoge mate is verbeterd. Hierbij wordt tevens belangrijk geprofiteerd van de serologische virusidentificatie, speciaal met betrekking tot het X-virus. Bijzonderheden hierover zijn te vinden op pag. 39 [15].

VII. DE BEHANDELDE VIRUSZIEKTEN

Van de volgende in deze monografie vermelde ziekten zijn nadere gegevens te vinden in „A textbook of plant virus diseases” van K. M. SMITH (1937).

Aardappel, *Solanum tuberosum* :

Solanum-virus 1, X-virus, topnecrose (acronecrose), tussennervig mozaiek

Solanum-virus 2, Y-virus, „leaf-drop streak”, acropetale necrose

Solanum-virus 3, A-virus, gewoon mozaiek

Solanum-virus 8, F-virus, pseudonetnecrose, aucubabont ¹⁾

Solanum-virus 14, bladrol, phloëm-necrose

Solanum-virus 15, „witch’s broom”, heksenbezemziekte

Aardbei, *Fragaria ananassa* :

Fragaria-virus 1, geelrand, „yellow edge”

Aardnoot, *Arachis hypogaea* :

Arachis-virus 1, heksenbezemziekte, „rosette disease”

Abutilon spp :

Abutilon-virus 1, infectieuze bontheid

Aster, *Callistephus chinensis* :

Callistephus-virus 1, „aster yellows”

Bilzenkruid, *Hyoscyamus niger* :

Hyoscyamus-virus 1, Hy. III-virus van HAMILTON

Boon, *Phaseolus vulgaris* :

Phaseolus-virus 1, rolmozaiek

Erwt, *Pisum sativum*

Pisum-virus 1, „enation pea mosaic”

Pisum-virus 2, „common pea mosaic”

Framboos, *Rubus idaeus*

Rubus-virus 3, „leaf-curl”

Katoen, *Gossypium spec.*

Gossypium-virus 1, krulziekte

Kool, *Brassica spec.*

Brassica-virus 3, bloemkoolmozaiek

Lucerne, *Medicago sativa*

Medicago-virus 2, mozaiek, „alfalfa mosaic”

Mais, *Zea mays* :

Zea-virus 1, mozaiek, „corn leaf-stripe”

Zea-virus 2, strepenziekte, „streak”

Komkommer, *Cucumis sativus*

Cucumis-virus 1, mozaiek

Passiflora edulis

Passiflora-virus 1, „woodiness”

¹⁾ SMITH heeft het aucubabont-virus (G-virus) geassocieerd als *Solanum-virus* 9. Het is evenwel gebleken, dat pseudo-netnecrose en aucubabont door hetzelfde virus worden veroorzaakt (ROZENDAAL, 1946).

Perzik, *Prunus persica* :

- Prunus-virus 1*, „peach yellows”
- Prunus-virus 2*, „peach rosette”
- Prunus-virus 3*, „phony peach”
- Prunus-virus 4*, „peach red suture”

Rijst, *Oryza sativa*

- Oryza-virus 1*, dwergziekte

Sla, *Lactuca sativa* :

- Lactuca-virus 1*, mozaïek

Selderij, *Apium graveolens* :

- Apium-virus 1*, „western celery mosaic”
- Cucumis-virus 1*, „southern celery mosaic”

Spinazie, *Spinacia oleracea* :

- Cucumis-virus 1*, „spinach blight”

Suikerbiet, *Beta vulgaris* :

- Beta-virus 1*, „curly top”
- Beta-virus 2*, mozaïek
- Beta-virus 4*, vergelingsziekte

Suikerriet, *Saccharum officinarum* :

- Saccharum-virus 1*, gele-strepenziekte, „sugar cane mosaic”
- Saccharum-virus 2*, Fiji-ziekte
- Saccharum-virus 3*, serehziekte

Tabak, *Nicotiana tabacum* :

- Lycopersicum-virus 3*, „tomato spotted wilt”, kromnekziekte
- Nicotiana-virus 1*, gewoon mozaïek
- Nicotiana-virus 2*, „speckled tobacco mosaic”
- Nicotiana-virus 3*, „mild tobacco mosaic”
- Nicotiana-virus 4*, „tobacco bleaching mosaic”
- Nicotiana-virus 7*, „tobacco etch”
- Nicotiana-virus 9*, Rotterdam B-ziekte
- Nicotiana-virus 10*, „leaf-curl”, kroepoek, krekoh. De laatste naam wordt in Djember (Java) gebruikt voor „krul”, veroorzaakt door een stam van het kroepoekvirus.
- Nicotiana-virus 11*, „tobacco necrosis”
- Nicotiana-virus 12*, „ringspot”

Tarwe, *Triticum vulgare* :

- Triticum-virus 1*, „wheat mosaic”, „wheat rosette”

Tomaat, *Lycopersicum esculentum* :

- Lycopersicum-virus 3*, „spotted wilt”
- Lycopersicum-virus 4*, „bushy stunt”

Tulp, *Tulipa spec.*

- Tulipa-virus 1*, gebroken bloemkleur

Ui, *Allium cepa* :

- Allium-virus 1*, mozaïek, „yellow dwarf”

- Veenbes, *Vaccinium macrocarpon*
Vaccinium-virus 1, „cranberry false-blossom”
 Zwarte bes, *Ribes nigrum* :
Ribes-virus 1, netelblad, „reversion disease”

Van andere, in dit werk genoemde virusziekten, die door SMITH niet vermeld zijn, volgt hieronder een korte beschrijving.

Aardappel, *Solanum tuberosum* :

Kringerigheid, „spraing”.

Lit. QUANJER (1926).

Uitsluitend de knollen vertonen ziektesymptomen, te weten meer of minder hevige necrosen, vaak in de vorm van bolvormig gebogen vlakken. Deze necrosen komen soms in concentrische lagen voor. De ziekte blijkt gebonden te zijn aan bepaalde gronden. De oorzaak is nog steeds onbekend. Men heeft gedacht, dat het een physiogene ziekte is. Anderen zochten de verwekker onder de bacteriën. Ook zijn er die menen, dat de ziekte door een virus wordt veroorzaakt.

Stengelbont.

Lit. ROZENDAAL (1947), ROZENDAAL en VAN DER WANT (1948), VAN DER WANT en ROZENDAAL (1948).

Deze ziekte kan zich voordoen in vier verschillende verschijnselen: 1. Een grove, gelige bontheid, waarbij de bladeren sterk gegolfd en misvormd kunnen zijn; 2. Aucuba-achtige verschijnselen in de vorm van figuurtjes; 3. Necrotische vlekjes op stengels, bladstelen en bladeren, doorgaans in de hogere delen van de plant. Sommige aardappellrassen reageren met necrosen in de knol, soms gepaard gaande met misvorming; 4. Gedrongenheid van de stengels.

Soms zijn slechts enkele stengels van een plant aangetast. Een typische bijzonderheid van deze ziekte is, dat vaak de nateelt van een zieke plant niet voor 100 % besmet is.

Het virus blijft in de grond achter en tast van hieruit de plant aan.

Dit virus veroorzaakt bij tabak de ratelziekte. Het is gemakkelijk met sap van aardappelen op tabak (zie aldaar) over te brengen; op aardappel werden op deze wijze tot nu toe evenwel slechts locale symptomen op de bladeren verkregen.

Uit veldproeven is gebleken, dat bladluizen de ziekte niet overbrengen. Het stengelbont is tot nu toe alleen in Nederland geconstateerd.

Stippelstreep.

Lit. ATANASOFF (1923), ROZENDAAL (1936, 1946).

Het aardappelras Zeeuwse Blauwe en knopmutanten hiervan zijn smetstofdrager van een virus, dat bij bepaalde aardappellrassen deze ziekte veroorzaakt. Dit virus, hoewel niet geheel identiek met het Y-virus (*Solanum-virus 2*) is er hoogstwaarschijnlijk wel nauw verwant aan. In de practijk worden de ziektebeelden, die beide viren veroorzaken, vaak met elkaar verward, daar zij dikwijls veel op elkaar gelijken.

De meest karakteristieke symptomen van het stippelstreep zijn talrijke hoekige, donkerbruin tot zwarte vlekken op de bladeren. Deze vlekken gaan door het blad heen en hebben aan beide zijden van het blad dezelfde grootte en vorm. Deze vlek-

ken bevinden zich doorgaans op de bladnerven. De nerven kunnen ook necrotische strepen vertonen. Op de stengels van zieke planten treden eveneens donkerbruine strepen op. De bladeren kunnen spoedig verwelkingsverschijnselen te zien geven; dit begint dan bij de lager geplaatste bladeren, waarna de hoger geplaatste bladeren volgen. Sommige aardappelrassen vertonen ook symptomen op de knollen. Op en nabij de ogen en het stengeleinde van de knollen ontstaan dan bruine vlekken en blaren („ogenziekte”). De symptomen op de knollen kunnen tijdens het bewaren heviger worden.

Sommige aardappelrassen zijn minder gevoelig voor het stippelstreep-virus en reageren daarop slechts met een lichte bontheid. Zo ontleent het ras Lichte Rode Star zijn lichtere loofkleur aan de aanwezigheid van het stippelstreep-virus.

Dit virus kan evenals het Y-virus, met bladluizen en sap van plant op plant worden overgebracht.

Appel, *Pirus malus* :

„Flat limb”, „crinkle wood”.

Lit. THOMAS (1942), HOCKEY (1943), WALLACE, OGILVIE en SWARBRICK (1944).

Dit is een ziekte, die in de Verenigde Staten en Canada vooral bij de appelvariëteit Gravenstein optreedt. De takken van zieke bomen zijn sterk afgeplat en meer of minder sterk getordeerd. Deze ziekte kan door enting op *Pyracantha gibbsii yunnanensis* worden overgebracht. Waarschijnlijk komt zij ook in Engeland voor.

Augurk, *Cucumis sativus* :

Mozaiekziekte.

Lit. TJALLINGH (1944).

Over deze ziekte zijn reeds op pag. 60 [36] bijzonderheden medegedeeld. Of deze ziekte verwant is aan het door K. M. SMITH geclassificeerde *Cucumis-virus* 1, is nog niet uitgemaakt.

Boon, *Phaseolus vulgaris* :

„Southern bean mosaic”.

Lit. ZAUMEYER en HARTER (1943), PRICE (1945).

Op de bladeren doet zich een mozaiektekening voor, die enigszins doet denken aan die, welke veroorzaakt wordt door *Phaseolus-virus* 1. Soms zijn de bladeren misvormd als bij rolmozaiek. Op de peulen ontstaan onregelmatige, donkergroene vlekken bij de bonenrassen met groene peulen en groen-geelachtige vlekken bij de wasbonenrassen. Sommige bonenrassen reageren na inoculatie van de bladeren met sap van zieke planten reeds na 2 tot 3 dagen met ronde, roodbruine vlekjes. Dergelijke rassen geven geen spreidsymptomen te zien. Andere rassen reageren niet met locale symptomen, doch wel met spreidsymptomen (zie pag. 118 [94]).

Van het virus bestaan 2 stammen, waarvan een met het zaad over kan gaan.

Het virus kan ook bepaalde rassen van *Phaseolus lunatus* en van *Soja max* aantasten.

De inactiveringstemperatuur ligt tussen 90° en 95 °C, terwijl de verdunningsgrens 1 : 500.000 is. Het virus is na 222 dagen bewaring bij 18 °C *in vitro* geïnactiveerd.

Het virus kon in kristallijne toestand worden afgescheiden. De ziekte is tot nu toe alleen in de Verenigde Staten waargenomen.

Stippelstreep.

Lit. HUBBELING (1942), VAN DER WANT (1948).

De bladnerven worden plaatselijk necrotisch, met naderhand een geelbruine verkleuring van het bladmoes. Aangetaste bladeren kunnen ook verwelken. Op stengels en bladstelen komen necrotische, bruine streepjes voor, terwijl op de peulen een rood tot donkerbruine, soms enigszins ringvormige tekening kan optreden. Het virus kan gemakkelijk met sap worden overgebracht. Zaadovergang en verspreiding door bladluizen zijn niet geconstateerd. De smetstof blijkt in de grond te overwinteren; de planten worden van daaruit aangetast. Zijn de eerste planten aldus ziek geworden, dan kan verdere verspreiding door contactinfectie geschieden.

De inactiveringstemperatuur ligt tussen 85° en 90 °C, de verdunningsgrens tussen 10⁻⁵ en 10⁻⁶. Het virus veroorzaakt op de bladeren van *Nicotiana tabacum* een locale necrose, in de vorm van bruingele vlekjes, die soms in meer of minder concentrische ringetjes zijn gerangschikt.

Het virus komt voor in het Westen van Nederland. Mogelijk is dit zelfde virus ook in Duitsland geconstateerd (KOTTE, 1939).

Cacao, *Theobroma cacao* :

„Swollen shoot”

Lit. POSNETTE (1945, 1947), MANGENOT, ALIBERT en BASSET (1946), VOELCKER (1946).

Deze ziekte, die omstreeks 1936 het eerste in de Goudkust en later ook in de Ivoorkust en Nigeria werd geconstateerd, heeft grote verwoestingen in de cacao-plantages aangericht. Door deze ziekte is de cacao-productie sterk gedaald.

De ziekte wordt veroorzaakt door een aantal viren, die niet alle verwant zijn aan elkaar. Er zijn erbij, die het afsterven van de aangetaste boom veroorzaken; daarentegen geven andere nauwelijks symptomen. Het karakteristiekste symptoom, waaraan de naam is ontleend, is een opzwellen van takken en scheuten, vaak onder de eindknop. De bladeren van zieke bomen blijven kleiner dan normaal, terwijl er vaak mozaiekachtige, meer of minder sterk chlorotische vlekken op voorkomen. Het virus is door oculatie en enting over te brengen. Het wordt verspreid door de insecten *Pseudococcus citri*, *P. njalensis* en *Ferrisia virgata*.

Citrus spp. :

„Psorosis”.

Lit. FAWCETT (1938), FAWCETT en BITANCOURT (1943), WALLACE (1945), KLOTZ en FAWCETT (1948).

Onder „psorosis” worden ziekteverschijnselen bij sinaasappelen, citroenen en grapefruit samengevat, die door een aantal verwante viren worden veroorzaakt. In de jeugdige bladeren van aangetaste bomen doen zich reeds mozaiekachtige verschijnselen voor, in de vorm van witte of geelachtige vlekjes of als lichtere bandjes langs de nerven. Voorts kan de bast van stammen en takken in droge, onregelmatige schilfers loslaten, terwijl in het hout, vlak bij het cambium gomlagen kunnen ontstaan. Verder naar binnen in het hout treden verkleuringen op. In sommige gevallen worden holten in stam en takken gevormd, tengevolge van het plaatselijk in groei achterblijven van het hout. Op de vruchten treft men vaak ringvormige, meer of minder ingezonken vlekken aan. De ziekte is door enting en oculatie over te brengen. Zij komt voor in de Verenigde Staten en in Zuid-Amerika.

Narcis, *Narcissus spp.*:

Het bruin.

Lit. VAN SLOGTEREN en DE BRUIJN OUBOTER (1941).

Op de bladeren licht- tot zeer donkerbruine vlekken. Planten, die hierdoor zijn aangetast, geven over het algemeen minder zware bollen en maken de indruk verzwakt te zijn. Een bewijs, dat deze ziekte door een virus wordt veroorzaakt, is nog niet geleverd.

Het grijs, „stripe”.

Lit. CALDWELL en JAMES (1938), VAN SLOGTEREN en DE BRUIJN OUBOTER (1941), CALDWELL en PRENTICE (1943).

Op de bladeren komen geel-groene longitudinale streepjes van wisselende lengte voor. Soms treden pleksgewijze in de lengterichting lopende vaalgrijze tot bruine verkleuringen op het blad op. In sommige gevallen wordt de bladoppervlakte ruw door het uitgroeien van epidermiscellen; bij bepaalde variëteiten kunnen zo in de lengterichting van het blad lopende richeltjes ontstaan. Het virus kan met sap worden overgebracht. Het wordt verspreid door de bladluizen *Aulacorthum solani* KALT., *Doralis fabae* SCOP. en *Macrosiphum euphorbiae* THOS.

De ziekte komt voor in Nederland, Engeland en de Verenigde Staten.

Zilverblad, „silver streak”, „white streak”.

Lit. HAASIS (1939), VAN SLOGTEREN en DE BRUIJN OUBOTER (1941).

Op de bladeren ontstaan enigszins zilverachtige streepjes, die later sterk toenemen. Deze symptomen komen ook op de bloemstelen voor. De aangetaste planten sterven eerder af dan gezonde. Het virus wordt waarschijnlijk door insecten overgebracht. De ziekte is gesignaleerd in Nederland, Engeland en de Verenigde Staten.

Perzik, *Prunus persica*:

„X disease”.

Lit. STODDARD (1947).

Deze ziekte is sedert 1933 in Connecticut bekend en is daarna in andere delen van de Verenigde Staten en ook in Canada gesignaleerd. Ook „chokecherry” (*Prunus virginiana*), een wilde plant, kan er door worden aangetast.

De bladeren van zieke bomen vertonen zeven tot acht weken na het ontluiken geen symptomen. Ook de bloemen zijn normaal. Plotseling gaat dan echter het loof pleksgewijs naar geel verkleuren. Soms is deze verkleuring beperkt tot een enkele tak. De bladeren blijken een chlorotisch patroon te vertonen. Ze worden stijf en bros en gewoonlijk vallen de verkleurde gedeelten, zonder necrose uit het blad, waardoor dit een gehavend voorkomen krijgt.

Jonge bomen kunnen ten gevolge van deze ziekte spoedig afsterven. Bomen ouder dan drie jaar gaan zelden dood als direct gevolg van deze ziekte.

Als de loofsymptomen laat in het seizoen verschijnen, vallen de vruchten niet af, doch zij worden enigszins bitter van smaak. Symptoomloze delen van een aangetaste boom leveren normale bladeren en vruchten.

De ziekte wordt waarschijnlijk door een complex van viren veroorzaakt. Via *Cuscuta* kan slechts een deel van dit complex op kruidachtige planten worden overgebracht. De ziekte is door enting en oculatie over te brengen. Uit practijk-

waarnemingen is de conclusie getrokken, dat zij door insecten wordt verspreid, doch men weet nog niet welke. Er is echter komen vast te staan, dat de ziekte niet wordt verspreid van perzik op perzik, doch wel van „chokecherry” op perzik. Door „chokecherry” uit te roeien kan men verspreiding van de ziekte verhinderen.

De inactivering van het virus *in vivo* met behulp van chemicaliën is reeds op pag. 115 [91] behandeld.

Raap, *Brassica rapa*:

„Turnip yellow mosaic”.

Lit. MARKHAM en SMITH (1946), SMITH en MARKHAM (1946), SMITH (1947).

Dit virus veroorzaakt op de bladeren van raap (*Brassica rapa*) en Chinese kool (*Brassica chinensis*) een witte, gele of groene mozaiektekening, die meer op een erfelijke bontheid dan op een virusaantasting gelijk.

Het virus kan door de kevers *Phyllotreta cruciferae* en *P. undulata* worden overgebracht (zie pag. 74 [50]). Overgang van het virus met het zaad kon tot een percentage van 2 tot 3 worden geconstateerd. Het virus werd in kristallijne vorm verkregen (zie pag. 46. [22]).

De ziekte is alleen in Engeland geconstateerd.

Tabak, *Nicotiana tabacum*:

Ratelziekte.

Lit. QUANJER (1943), ROZENDAAL en VAN DER WANT (1948), VAN DER WANT en ROZENDAAL (1948).

Deze ziekte is gekenmerkt door necrotische vlekken en dito lijnen op de bladeren, vaak in de vorm van ringen en gekartelde boogjes. Op de stengels en nerven komen vaak necrotische strepen voor. Aangetaste planten blijven in groei achter.

Het virus gaat niet met het zaad over en wordt waarschijnlijk evenmin door insecten verspreid. Bewezen is, dat de planten via de grond met het virus worden besmet en dat het virus in de grond overwintert.

De inactiveringstemperatuur van het virus ligt tussen 70° en 80 °C, de verdunningsgrens tussen 10⁻⁴ en 10⁻⁵. Het is gebleken, dat dit virus identiek is aan het stengelbontvirus van de aardappel (zie aldaar).

„Rosette disease”.

Lit. SMITH (1946, 1947).

De ziekte is gekenmerkt door een gedrongen blijven van de aangetaste plant, waarbij de bladeren sterk kroezig zijn. Groeien de planten na enige tijd door, dan blijken stengels, bladstelen en nerven, tot zelfs de bloemen, van eigenaardige spleten voorzien te zijn. Ook doen zich wel uitgroeisels („enations”) aan de onderzijde van de bladeren voor.

Het bleek, dat deze ziekte veroorzaakt wordt door een complex van twee viren, die „mottle”-virus en „vein-distorting”-virus genoemd worden. Het eerste virus alleen veroorzaakt op tabak een lichter worden van de nerven der jonge bladeren; bij het ouder worden dezer bladeren is alleen een groene mozaiektekening zichtbaar. Worden de planten ouder dan worden de symptomen zwakker. De inactiveringstemperatuur van dit virus is ongeveer 55 °C, de verdunningsgrens ongeveer 1 : 100, terwijl het virus ongeveer twee dagen in perssap actief blijft.

Het tweede virus alleen veroorzaakt misvorming van de nerven, vooral van de hoofdnerf, doch geen mozaiektekening of „vein clearing”. De bladeren krijgen ten gevolge hiervan een misvormd uiterlijk.

Slechts het „mottle”-virus kan met sap worden overgebracht. Beide viren samen kunnen door de bladluizen *Myzus persicae* SULZ. en *Myzus convolvuli* KALT. worden verspreid.

Het „vein-distorting”-virus kan alleen via insecten worden overgebracht. Het kon bij toeval gescheiden worden van het „mottle”-virus, doordat in een proef een luis blijkbaar wel het „vein-distorting”, doch niet het „mottle”-virus had opgenomen.

Ten slotte is gebleken, dat het „mottle”-virus slechts door bladluizen kan worden overgebracht, indien tevens het „vein-distorting”-virus aanwezig is (zie pag. 76 [52]).

Witte honigklaver, *Melilotus alba* :

„Wound tumour disease”.

Lit. BLACK (1945, 1946, 1947).

Deze ziekte veroorzaakt tumoren op wortels en stengels van *Melilotus alba*. Als men de stengel van een met het virus besmette plant prikt of op andere wijze verwondt, ontstaan in vele gevallen ter plaatse woekeringen. Een groot aantal plantensoorten, behorende tot verschillende families, kan door de ziekte worden aangetast. Vele soorten reageren met verbreding van de bladnerven, waarbij deze dan vaak bladachtige uitgroeisels („enations”) te zien geven. Andere soorten krijgen tengevolge van de infectie met het virus een gedrongen habitus. Weer andere soorten reageren niet met symptomen op de bovengrondse delen, doch slechts met woekeringen op de wortels.

De weefselwoekeringen kunnen *in vitro* worden voortgekweekt, zonder dat het virus, zelfs niet na herhaalde overenting van de weefselcultuur, zijn infectievermogen verliest.

Het virus, dat niet met het sap is over te brengen, wordt door de cicaden *Agalliopsis novella* (SAY) en *Agallia constricta* VAN DUZEE verspreid. Deze insecten kunnen het virus niet direct na het opnemen overbrengen; het duurt enige dagen eer dit het geval is.

Witte klaver, *Trifolium repens* :

Mozaiekziekte.

Lit. F. JOHNSON (1942).

K. M. SMITH (1937), menende, dat deze ziekte door één virus wordt veroorzaakt, classificeerde dit als *Trifolium-virus 1*. Het is echter gebleken, dat zij door een complex van twee viren wordt teweeggebracht. Deze viren zijn thans beschreven als „pea-mottle”-virus en „pea-wilt”-virus. De wijze, waarop men deze viren van elkaar kan scheiden is op pag. 67 [43] behandeld.

Het „pea-mottle”-virus heeft een inactiveringstemperatuur van 60°–62 °C en een verdunningsgrens lager dan 1 : 10.000. Voor het „pea-wilt”-virus zijn deze kenmerken resp. 58°–60 °C en lager dan 1 : 100.000.

Het „pea-wilt”-virus kan slechts enkele vlinderbloemigen aantasten; het andere ook planten, behorende tot andere families.

In verband met de mogelijkheden van virusclassificatie volgt ten slotte een overzicht der virusziekten bij de Vorstenlandse tabak. Uitvoerige beschrijvingen van deze ziekten zullen nog gepubliceerd worden.

A-groep (sap-besmettelijk)

Nummering	Mozaiekziekten
A I	„gewoon” mozaiek (J. JOHNSON's tobacco mosaic virus 1)
A II	„mild” mozaiek
A III	„bobbel” mozaiek
A IV	„ruiten” mozaiek (overeenkomstige tekening als bij SALAMAN's „tortoise shell” mozaiek, 1938 en E. M. JOHNSON's „veinbanding” mozaiek, 1930)
A V	HOLMES' „vervormend” mozaiek
A VIa	„wit” mozaiek a
A VIb	„wit” mozaiek b
A VIc	„wit” mozaiek c
A VII	„necrose” mozaiek
A VIII	„gele ringen” mozaiek
A IX	„groene ringen” mozaiek
A X	„witte vlammen” mozaiek
A XI	„groene vlammen” mozaiek
A XII	„ernstig” mozaiek
A XIII	„groen, vervormend” mozaiek (Vorstenl. „vervormend” mozaiek 1)
A XIV	„wit, vervormend” mozaiek (Vorstenl. „vervormend” mozaiek 2)
A XVa	„spichtig, vervormend” mozaiek (Vorstenl. „vervormend” mozaiek 3)
A XVb	„eikenblad-vervormend” mozaiek (oakleaf pattern) (Vorstenl. „vervormend” mozaiek 4)
A XVI	„marmar” mozaiek a (tegelijk ook <i>Myzus</i> -besmettelijk)
A XVII	„marmar” mozaiek b (de S-ziekte, THUNG, 1939)
A XVIII	HOLMES' gemaskeerd mozaiek
	„Necrose”-ziekten
An I	Rotterdam-B ziekte
An II	„ringen”-necrose
An III	„vervormend”-necrose
An IV	„nerven”-necrose (waarschijnlijk identiek aan JOCHEMS' nerfstreep, 1930)

B-groep (niet sap-besmettelijk)

Met Bemisia besmettelijke ziekten („Krinkel”-ondergroep)

Bb I	D-ziekte (THUNG, 1939)
Bb IIa	„gewone” kroepoek-ziekte
Bb IIb	„krul”-ziekte
Bb IIc	„heldere” kroepoek-ziekte

Met Myzus besmettelijke ziekten („Stippelstreep”-ondergroep)

Bm Ia	„streak”
Bm Ib	„perforatie”- of „pok”-ziekte

LITERATUUR

- AINSWORTH, G. C., A note on certain viruses of the cucumber I type isolated from monocotyledonous plants. *Ann. Appl. Biol.* 25: 867-869, 1938.
- , The identification of certain viruses found infecting leguminous plants in Great Britain. *Ann. Appl. Biol.* 27: 218-227, 1940.
- ALGERA, L., J. J. BEYER, W. VAN ITERSON, W. K. H. KARSTENS and T. H. THUNG, Some data on the structure of the chloroplast, obtained by electron microscopy. *Biochimica et Biophysica Acta* 1: 517-526, 1947.
- ALGERA, L., T. H. THUNG en J. P. H. VAN DER WANT, Over het zuiveren van plantenviren. *Tijdschr. Pl.ziekten* 53: 133-139, 1947.
- ALLARD, H. A., The mosaic disease of tobacco. *U.S. Dept. Agr. Bull.* 40, 1914.
- ALLOWAY, J. L., The transformation in vitro of R pneumococci into S forms of different specific types by the use of filtered pneumococcus extracts. *J. Exp. Med.* 55: 91-99, 1932.
- , Futher observations on the use of pneumococcus extracts in effecting transformation of type in vitro. *J. Exp. Med.* 57: 265-278, 1933.
- ARP, P. A., Filterability of certain plant pathogenic bacteria. *Phytopath.* 25: 728-729, 1935.
- ATANASOFF, D., Stipple-streak of potato. *Med. Landbouwhogeschool* 24, verh. 5, 1923.
- , The stipple-streak disease of potato. A complex problem. *Bull. Bulg. Bot. Soc.* 1: 43-52, 1926.
- AVERY, O. T., C. M. MAC LEOD and M. MCCARTHY, Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *J. Exp. Med.* 79: 137-158, 1944.
- BADENHUIZEN, N. P., Genetisch onderzoek bij de teelt van Vorstenlandse tabak. *Landbouwk. Tijdschr.* 60: 179-186, 1948.
- BALL, E. D., The leaf hoppers of the sugar beet and their relation to the curly top condition. *U. J. Dept. Agric. Entomol. Bull.* 66: 33-52, 1909.
- BASSET, J., A. GRATIA, M. MACHEBOEUF and P. MANIL, Action of high pressure on plant viruses. *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.* 38: 248-251, 1938.
- BAUR, E., Zur Aetiologie der infektiöse Panaschierung. *Ber. D. Bot. Ges.* 22: 453-460, 1904.
- , Über die infektiöse Chlorose der Malvaceen. *Sitzungsber. Preuss. Akad. Wissensch.* 1: 11-29, 1906.
- , Weitere Mitteilungen über die infektiöse Chlorose der Malvaceen und über einige analoge Erscheinungen bei Ligustrum und Laburnum. *Ber. D. Bot. Ges.* 24: 416-428, 1906.
- , Über infektiöse Chlorosen bei Ligustrum, Laburnum, Fraxinus, Sorbus und Ptelea. *Ber. D. Bot. Ges.* 25: 410-413, 1907.
- , Über eine infektiöse Chlorose von Evonymus japonicus. *Ber. D. Bot. Ges.* 26a: 711-713, 1908.
- BAWDEN, F. C., The relationship between the serological reactions and the infectivity of potato virus X. *Brit. J. Exp. Path.* 16: 435-443, 1935.
- , Nomina ad infinitum. *Chron. Bot.* 6: 385-386, 1941.
- , Plant viruses and virus diseases. Waltham, Mass. 1943.
- , The nature of viruses. *Scientific Month.* 60: 48-50, 1945.
- , Plant viruses and virus diseases. *Nature* 165: 156-160, 1945.
- , Virus diseases of plants. *J. Roy. Soc. Arts* 94: 136-168, 1946.
- BAWDEN, F. C. and B. KASSANIS, The suppression of one plant virus by another. *Ann. Appl. Biol.* 32: 52-57, 1945.

- BAWDEN, F. C. and A. KLECZKOWSKI, Protein precipitation and virus inactivation by extracts of strawberry plants. *J. Pom. Hort. Sci.* 21: 2-7, 1945.
- BAWDEN, F. C. and N. W. PIRIE, The relationships between liquid crystalline preparations of cucumber viruses 3 and 4 and strains of tobacco mosaic virus. *Brit. J. Exp. Path.* 18: 275-291, 1937.
- , The isolation and some properties of liquid crystalline substances from Solanaceous plants infected with three strains of tobacco mosaic virus. *Proc. Roy. Soc. London (Ser. B)* 123: 274-320, 1937.
- , Liquid crystalline preparations of cucumber viruses 3 and 4. *Nature* 139: 546-547, 1937.
- , Liquid crystalline preparations of potato virus „X”. *Brit. J. Exper. Path.* 19: 66-82, 1938.
- , Crystalline preparations of tomato bushy stunt virus. *Brit. J. Exp. Path.* 19: 251-263, 1938.
- , A plant virus preparation in a fully crystalline state. *Nature* 141: 513-514, 1938.
- , A preliminary description of preparations of some of the viruses causing tobacco necrosis. *Brit. J. Exp. Path.* 23: 314-328, 1942.
- , Methods for the purification of tomato bushy stunt and tobacco mosaic virus. *Biochem. J.* 37: 66-70, 1943.
- , Further studies on the purification and properties of a virus causing tobacco necrosis. *Brit. J. Exp. Path.* 26: 277-285, 1945.
- , The separation and properties of tobacco mosaic virus in different states of aggregation. *Brit. J. Exp. Path.* 26: 294-312, 1945.
- , The virus content of plants suffering from tobacco mosaic. *Brit. J. Exp. Path.* 27: 81-90, 1946.
- BAWDEN, F. C., N. W. PIRIE, J. D. BERNAL and I. FANKUCHEN, Liquid crystalline substances from virus-infected plants. *Nature* 138: 1051-1052, 1936.
- BAWDEN, F. C., N. W. PIRIE and E. F. C. SPOONER, The production of antisera with suspensions of potato virus X inactivated by nitrous acid. *Brit. J. Exp. Path.* 17: 204-207, 1936.
- BAWDEN, F. C. and F. M. ROBERTS, The influence of light intensity on the susceptibility of plants to certain viruses. *Ann. Appl. Biol.* 34: 286-296, 1947.
- BENNETT, C. W., Virus diseases of raspberries. *Mich. Agr. Exp. Stat. Techn. Bull.* 80, 1927.
- , Plant tissue relations of the sugarbeet curly top virus. *J. Agr. Res.* 48: 665-701, 1934.
- , Correlation between movement of the curly top virus and translocation of food in tobacco and sugar beet. *J. Agr. Res.* 54: 479-502, 1937.
- , Movement of the virus of sugar beet mosaic. *Phytopath.* 28: 668, 1938.
- , Acquisition and transmission of viruses by dodder (*Cuscuta subinclusa*). *Phytopath.* 30: 2, 1940, Abstr.
- , Relation of food translocation to movement of virus of tobacco mosaic. *J. Agr. Res.* 60: 361-390, 1940.
- BENNETT, C. W. and H. E. WALLACE, Relation of the curly top virus to the vector *Eutettix tenellus*. *J. Agr. Res.* 56: 31-51, 1938.
- BERGMANN, N. and C. NIEMANN, Newer biological aspects of protein chemistry. *Science* 86: 187-190, 1937.
- BERNAL, J. D. and I. FANKUCHEN, Structure types of protein „crystals” from virus infected plants. *Nature* 139: 923-924, 1937.

- BEIJERINCK, M. W., Over een contagium vivum fluidum als oorzaak van de mozaiekziekte der tabakplanten. Verh. Kon. Akad. v. Wetensch., afd. wis- en natuurk. 7: 229-235, 1898.
- BLACK, L. M., Properties of the potato yellow-dwarf virus. *Phytopath.* 28: 863-874, 1938.
- , A virus tumor disease of plants. *Amer. J. Bot.* 32: 408-415, 1945.
- , Plant tumours induced by the combined action of wounds and virus. *Nature* 158: 56, 1946.
- , Virus tumours in plants. Sixth Growth Symposium: 79-84, 1947.
- BLACK, L. M., W. C. PRICE and R. W. G. WYCKOFF, The electron micrography of plant virus-antibody mixtures. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 61: 9-12, 1946.
- BLODGETT, F. M., Tobacco mosaic on potatoes. *Phytopath.* 17: 727-734, 1927.
- BODINE, E. W., Antagonism between strains of peach-mosaic virus in western Colorado. *Phytopath.* 32: 1, 1942, Abstr.
- BONCQUET, P. A. en C. F. STAHL, Wild vegetation as a source of the curly-top infection of sugar beets. *J. Econ. Ent.* 10: 392-397, 1917.
- BOOIJ, H. L., M. P. DE BRUIJN OUBOTER, M. C. CREMER en E. VAN SLOGTEREN, Verslag van het serologisch onderzoek betreffende de vergelingsziekte der suikerbieten 1942-1943. Med. Instituut Rat. Suikerprod. Bergen op Zoom 14, 1944.
- BORN, H. J., A. LANG und G. SCHRAMM, Markierung von Tabakmosaikvirus mit Radiophosphor. *Arch. Virusf.* 2: 461-479, 1943.
- BOUCHÉ, C., Über das Buntwerden der Blätter als krankhafte Ansteckung durch Propfreiser bei *Evonymus japonicus* wie bei *Abutilon*. Sitzungsber. Ges. Naturf. Freunde. Berlin 1871: 66-68, 1871.
- BRANDES, E. W., Artificial and insect transmission of sugar cane mosaic. *J. Agr. Res.* 19: 131-138, 1920.
- BRANDES, E. W. and P. J. KLAPHAAK, Cultivated and wild hosts of sugar cane or grass mosaic. *J. Agr. Res.* 24: 247-262, 1923.
- BURNET, F. M., Virus as organism. Evolutionary and ecological aspects of some human virus diseases. Cambridge, Mass. 1945.
- BUSCH, H., Berechnung der Bahn von Kathodenstrahlen im axialsymmetrischen elektromagnetischen Felde. *Ann. Physik IV*, 81: 974-993, 1926.
- CALDWELL, J., The physiology of virus diseases in plants. II. Further studies on the movement of mosaic in the tomato plant. *Ann. Appl. Biol.* 18: 279-298, 1931.
- , The physiology of virus diseases in plants. V. The movement of the virus agent in tobacco and tomato. *Ann. App. Biol.* 21: 191-205, 1934.
- , On the interactions of two strains of a plant virus. *Proc. Roy. Soc. B* 117: 120-139, 1935.
- CALDWELL, J. and A. L. JAMES, An investigation into the „stripe” disease of narcissus. I. The nature and significance of the histological modifications following infection. *Ann. Appl. Biol.* 25: 244-253, 1938.
- CALDWELL, J. and I. W. PRENTICE, An investigation into the „stripe” disease of Narcissus. II. Experiments on the virus agent and its spread. *Ann. Appl. Biol.* 30: 27-32, 1943.
- CARSNER, E., Attenuation of the virus of sugar beet curly-top. *Phytopath.* 15: 745-756, 1925.
- CHESTER, K. S., Specific quantitative neutralization of the viruses of tobacco mosaic, tobacco ringspot, and cucumber mosaic by immune sera. *Phytopath.* 24: 1180-1201, 1934.
- , Serological evidence in plant-virus classification. *Phytopath.* 25: 702-714, 1935.

- CHESTER, K. S., Serological tests with Stanley's crystalline tobacco mosaic protein. *Phytopath.* 26: 715-735, 1936.
- , Separation and analysis of virus strains by means of precipitation tests. *Phytopath.* 26: 778-785, 1936.
- CLAYTON, E. E. and H. H. MCKINNEY, Resistance to the common mosaic disease of tobacco. *Phytopath.* 31: 1140-1142, 1941.
- CLINCH, P., J. B. LOUGHNANE and P. A. MURPHY, A study of the aucuba or yellow mosaics of the potato. *Sci. Proc. Roy. Dublin Soc.* 21, N.S.: 431-448, 1936.
- COHEN, S. S., The isolation and crystallization of plant viruses and other protein macro molecules by means of hydrophilic colloids. *J. Biol. Chem.* 144: 353-362, 1942.
- COOK, M. T., *Viruses and virus diseases of plants.* Minneapolis, 1947.
- COUTINHO, L. DE AZEVEDO, Os virus como agentes modificadores dos cromosomas. *Rev. Agron. Lisboa* 28: 83-100, 1940. Geref. in *Plant Breeding Abstracts* 11: 29, 1941.
- CRAFTS, A. S., Movement of viruses, auxins, and chemical indicators in plants. *Bot. Rev.* 9: 471-504, 1939.
- CREAGER, D. B., Carnation mosaic. *Phytopath.* 33: 823-827, 1943.
- CROOK, E. M. and F. M. L. SHEFFIELD, Electron-microscopy of viruses I. State of aggregation of tobacco mosaic virus. *Brit. J. Exp. Path.* 27: 328-338, 1946.
- DARLINGTON, C. D., Heredity, development and infection. *Nature* 154: 164-169, 1944.
- DAVIS, E. F., Some chemical and physiological studies on the nature and transmission of „infectious chlorosis” in variegated plants. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 16: 145-226, 1929.
- DELBRÜCK, M., Interference between bacterial viruses III. The mutual exclusion effect and the depressor effect. *J. Bact.* 50: 151-170, 1945.
- DICKSON, B. T., Studies concerning mosaic diseases. Mac Donald College Quebec, *Techn. Bull.* 2, 1922.
- DOERR, R., Filtrierbare Virusarten als Erreger menschlicher Infektionskrankheiten. *Ned. Tijdschrift v. Hyg. Micr. en Ser.* 2: 3-23, 1927.
- DOERR, R. and C. HALLAUER, *Handbuch der Virusforschung.* Julius Springer, Wien. Erste Hälfte 1938, Zweite Hälfte 1939, *Ergänzungsband I*, 1944.
- DOOLITTLE, S. P. and M. N. WALKER, Aphis transmission of cucumber mosaic. *Phytopath.* 18: 143, 1928. Abstr.
- DOORN DE JONG, L. E. DEN, Studien über Bakteriophagie. *Zentralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskr.* 1e Abt., 120: 1-23, 1931.
- DORSTEN, A. C. VAN, W. J. OOSTERKAMP and J. B. LE POOLE, An experimental electron microscope for 400 kilovolts. *Philips Techn. Rev.* 9: 193-201, 1947.
- DRAKE, C. J., H. D. TATE and H. M. HARRIS, The relationship of aphids to the transmission of yellow dwarf of onions. *J. Econ. Entom.* 26: 841-846, 1933.
- DUBUY, H. G. and M. W. WOODS, Evidence for the evolution of phytopathogenic viruses from mitochondria and their derivatives. II. Chemical evidence. *Phytopath.* 33: 766-777, 1943.
- DUGGAR, B. M. and J. R. ARMSTRONG, The effect of treating the virus of tobacco mosaic with the juices of various plants. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 12: 359-366, 1925.
- DUGGAR, B. M. and A. HOLLAENDER, The virus of typical tobacco mosaic and *Serratia marcescens* as influenced by ultra-violet and visible light. *J. Bact.* 27: 219-239, 1934.
- , Resistance to ultra-violet radiation of a plant virus as contrasted with vegetative and spore stages of certain bacteria. *J. Bact.* 27: 241-256, 1934.

- DUNCKELMAN, P. H., J. W. LUKE, R. T. GIBBINS and C. W. EDGERTON, Response of sugar cane to the hot water treatment. *La. Agr. Exp. Stat. Bull.* 401, 1946.
- DIJKSTRA, T. P. and H. G. DuBUY, Preserving plant viruses in vitro by means of a simplified lyophile apparatus. *Science* 96: 189-190, 1944.
- ELFORD, W. J., The sizes of viruses and bacteriophages, and methods for their determination. In R. DOERR und C. HALLAUER: *Handbuch der Virusforschung*, 1e Hälfte: 126-231, 1938.
- ELZE, D. L., De verspreiding van virusziekten van de aardappel (*Solanum tuberosum* L.) door insecten. *Proefschrift Wageningen* 1927.
- — —, The relation between insect and virus as shown in potato leaf roll and a classification of viroses based on this relation. *Phytopath.* 21: 675-686, 1931.
- ESAU, K., Pathologic changes in the anatomy of leaves of the sugar beet, *Beta vulgaris* L., affected by the curly-top disease. *Phytopath.* 23: 679-712, 1933.
- ESMARCH, F., Zur Kenntnis des Stoffwechsels in blattrollkranken Kartoffeln. *Zeitschr. f. Pflanzenkr.* 29: 1-20, 1919.
- FAWCETT, H. S. and A. A. BITANCOURT, Comparative symptomatology of psorosis varieties on Citrus in California. *Phytopath.* 33: 837-864, 1943.
- FRAMPTON, V. L., On the size and shape of the tobacco mosaic virus protein particle. *Science* 95: 232-233, 1942.
- FREIBERG, G. W., Studies on the mosaic disease of plants. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 4: 175-232, 1917.
- FUKUSHI, T., Transmission of the virus through the eggs of an insect vector. *Proc. Imp. Acad.* 9: 457-460, 1933.
- — —, Multiplication of virus in its insect vector. *Proc. Imp. Acad.* 11: 301-303, 1935.
- — —, An insect vector of the dwarf disease of rice plant. *Proc. Imp. Acad.* 13: 328-331, 1937.
- — —, Retention of virus by its insect vector through several generations. *Proc. Imp. Acad.* 15: 142-145, 1939.
- FULTON, R. W., The sensitivity of plant viruses to certain inactivators. *Phytopath.* 33: 674-682, 1943.
- GANDRUP, J., Verslag over het jaar 1923. *Med. Besoekisch Proefstat.* 36: 20, 1924.
- GARDNER, M. W. and O. C. WHIPPLE, Spotted wilt of tomatoes and its transmission by thrips. *Phytopath.* 24: 1136, 1934. Abstr.
- GOSS, R. W., Effects of environment on potato degeneration diseases. *Neb. Agr. Exp. Stat. Bull.* 26, 1924.
- GRAINGER, J., The movement of tobacco mosaic virus in its host. *Ann. Appl. Biol.* 20: 236-257, 1933.
- — —, Temperature relations of tobacco-mosaic virus and its host. *Phytopath.* 29: 441-448, 1939.
- GRIFFITH, F., The significance of pneumococcal types. *J. Hyg.* 27: 113-159, 1928.
- HAASIS, F. A., White streak, a virus disease of *Narcissus*. *Phytopath.* 29: 890-895, 1939.
- HANSEN, H. P., Om Nomenklatur for Plantevira, samt nogle Synonymer for Kartoffelvira og Kartoffelviroses. *Tidsskr. Planteavl* 46: 363-372, 1941.
- HARRIS, R. V., Grafting as a method for investigating a possible virus disease of strawberry. *Journ. Pom. and Hort. Sci.* 10: 35-41, 1932.
- HEALD, F. D., *Manual of plant diseases*. New York, 1926.
- HENDERSON, R. G., Transmission of tobacco ring spot by seeds of *Petunia*. *Phytopath.* 21: 225-229, 1931.
- HENDERSON SMITH, J., The transmission of potato mosaic to tomato. *Ann. Appl. Biol.* 15: 517-528, 1928.

- HENDERSON SMITH, J., Some recent developments in virus research. *Ann. Appl. Biol.* 25: 227-243, 1938.
- HÉRELLE, F. D', La nature du bactériophage. *Tijdschr. v. vergel. geneesk.* 10: afl. 2-3, 1923.
- , Bactériophagie et bactériophage. *Resumés des rapports, conférences et démonstrations, 1er Congrès international de microbiologie Paris, 1930.*
- HERTZSCH, W., Beiträge zur infektiösen Chlorose. *Zeitschr. Bot.* 20: 65-85, 1928.
- HILLS, C. H. and H. H. MCKINNEY, The effect of mosaic virus infection on the protein content of susceptible and resistant strains of tobacco. *Phytopath.* 32: 857-866, 1942.
- HOCKEY, J. F., Mosaic, false sting, and flat limb of apple. *Sci. Agric.* 23: 633-646, 1943 (*Geref. in Rev. Appl. Myc.* 22: 438, 1943).
- HOGGAN, I. A., Cytological studies on virus diseases of Solanaceous plants. *J. Agr. Res.* 35: 651-672, 1927.
- , Some factors involved in aphid transmission of the cucumber-mosaic virus to tobacco. *J. Agr. Res.* 47: 689-704, 1933.
- , Some viruses affecting spinach, and certain aspects of insect transmission. *Phytopath.* 23: 446-474, 1933.
- , Transmissibility by aphids of the tobacco mosaic virus from different hosts. *J. Agr. Res.* 49: 1135-1142, 1934.
- HOGGAN, I. A. and J. JOHNSON, Behavior of ordinary tobacco mosaic virus in the soil. *J. Agr. Res.* 52: 271-294, 1936.
- HOLLAENDER, A. and B. M. DUGGAR, Irradiation of plant viruses and of microorganisms with monochromatic light III. Resistance of the virus of typical tobacco mosaic and *Escherichia coli* to radiation from λ 3000 to λ 2250 Å. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 22: 19-24, 1936.
- HOLMES, F. O., Local lesions in tobacco mosaic. *Bot. Gaz.* 87: 39-55, 1929.
- , Movement of mosaic virus from primary lesions in *Nicotiana tabacum* L. *Contr. Boyce Thompson Inst.* 4: 297-332, 1932.
- , A masked strain of tobacco-mosaic virus. *Phytopath.* 24: 845-873, 1934.
- , Increase of tobacco-mosaic virus in the absence of chlorophyll and light. *Phytopath.* 24: 1125-1126, 1934.
- , Comparison of derivatives from distinctive strains of tobacco-mosaic virus. *Phytopath.* 26: 896-904, 1936.
- , Inheritance of resistance to tobacco-mosaic disease in tobacco. *Phytopath.* 28: 553-561, 1938.
- , *Handbook of phytopathogenic viruses.* Minneapolis 1939.
- HOLZAPFEL, L., Physikalisch-chemische Gesichtspunkte zum Problem der Virusaktivität. *Advances in Enzymology* 1: 43-62, 1941.
- HOVEY, C. and R. BONDE, *Physalis angulata*, a test plant for the potato leafroll virus. *Phytopath.* 38: 505-507, 1948.
- HUBBELING, N., De invloed van de uitwendige omstandigheden bij het optreden van boonziekten. *Tijdschr. Pl.ziekten* 48: 225-234, 1942.
- HUCKETT, H. C., Timing rotenone applications for control of the pea aphid on Long Island, with special reference to mosaic incidence. *New York State Agr. Exp. Stat. Bull.* 713, 1945.
- HUNGER, F. W. T., Untersuchungen und Betrachtungen über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. *Zeitschr. f. Pflanzenkr.* 15: 257-311, 1905.
- IKENO, S., Studien über einen eigentümlichen Fall der infektiösen Buntblättrigkeit bei *Capsicum annuum*. *Planta* 11: 359-367, 1930.
- IWANOWSKI, D., Über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. *Bull. Acad. Imp. Sci. St. Pétersb. N.S.* III, 35: 67-70, 1892.

- IWANOWSKI, D., Über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. Zeitschr. Pflanzenkr. 13: 1-41, 1903.
- JAEGER, J. M., De analytische ultra-centrifuge en het onderzoek der filtreerbare smetstoffen. Chem. Weekblad 35: 419-431, 1938.
- JANSSEN, J. J., Invloed der bemesting op de gezondheid van de aardappel. Tijdschr. Pl.ziekten 35: 119-151, 1929.
- JANSSEN, L. W., Viruseiwitten en hun productie door de cel. Nederl. Tijdschr. Geneeskunde 84: 3220-3234, 1940.
- JENSEN, J. H., Isolation of yellow-mosaic viruses from plants infected with tobacco mosaic. Phytopath. 23: 964-974, 1933.
- , Studies on the origin of yellow-mosaic viruses. Phytopath. 26: 266-277, 1936.
- , Studies on representative strains of tobacco mosaic virus. Phytopath. 27: 69-84, 1937.
- JENSSEN, D. D., Virus diseases of plants and their insect vectors with special reference to Hawaii. Proc. Hawaiian entom. Soc. 12: 535-610, 1946.
- JOCHEMS, S. C. J., Twee nieuwe virusziekten bij Deli-tabak (ringvlekziekte en nerfstreep). Deli Proefstat. Bull. 30, 1930.
- JOHNSON, E. M., Virus diseases of tobacco in Kentucky. Kentucky Agr. Exp. Sta. Bull. 306, 1930.
- JOHNSON, F., Transmission of plant viruses by dodder. Phytopath. 31: 649-656, 1941.
- , The complex nature of white clover mosaic. Phytopath. 32: 103-116, 1942.
- JOHNSON, J., The relation of air temperature to certain plant diseases. Phytopath. 11: 446-458, 1921.
- , The relation of air temperature to the mosaic disease of potatoes and other plants. Phytopath. 12: 438-440, 1922.
- , The transmission of viruses from apparently healthy potatoes. Wisconsin Agr. Exp. Stat. Bull. 63, 1925.
- , The attenuation of plant viruses and the inactivating influence of oxygen. Science 64: 210, 1926.
- , The classification of plant viruses. Agric. Exp. Stat. Univ. Wisconsin. Res. Bull. 76, 1927.
- , Factors relating to the control of ordinary tobacco mosaic. J. Agr. Res. 54: 239-273, 1937.
- , Plant virus inhibitors produced by micro-organisms. Science 88: 552-553, 1938.
- , Chemical inactivation and the reactivation of a plant virus. Phytopath. 31: 679-701, 1941.
- , Studies on the viroplasm hypothesis. J. Agr. Res. 64: 443-454, 1942.
- , Virus attenuation and the separation of strains by specific hosts. Phytopath. 37: 822-837, 1947.
- JOHNSON, J. and I. A. HOGGAN, A descriptive key for plant viruses. Phytopath. 25: 328-343, 1935.
- , The inactivation of the ordinary tobacco mosaic virus by micro-organisms. Phytopath. 27: 1014-1027, 1937.
- KALMUS, H., The use of abrasives in the transmission of plant viruses. Ann. Appl. Biol. 32: 230-234, 1945.
- KAUSCHE, G. A., Über die Darstellung von Kristallen und die Färbbarkeit des Aucubamosaik-virus. Naturwissenschaften 27: 212, 1939.
- , Über die Bildung von hexagonalen Viruskristallen aus Suspensionen des Tabakmosaikvirus in vitro. Naturwissenschaften 27: 77, 1939.
- , Über eine das Virusprotein inaktivierende Substanz in Samen von *Nicotiana tabacum* Samsun. Biol. Zentralbl. 60: 423-428, 1940.

- KÄUSCHE, G. A., E. PFANKUCH und H. RUSKA, Die Sichtbarmachung von pflanzlichem Virus im Übermikroskop. *Naturwissenschaften* 27: 292–299, 1939.
- KÄUSCHE, G. A. und H. RUSKA, Die Struktur der „kristallinen Aggregate“ des Tabakmosaikvirusproteins. *Biochem. Zeitschr.* 303: 221–230, 1939.
- KÄUSCHE, G. A. und H. STUBBE, Über Aktivierungseffekte mit Röntgenstrahlen am Tabakmosaikvirus. *Naturwissenschaften* 26: 740–741, 1938.
- , Über die Entstehung einer mit Röntgenstrahlen induzierten „Mutation“ des Tabakmosaikvirus. *Naturwissenschaften* 27: 501–502, 1939.
- KEUR, J. Y., Seed transmission of the virus causing variegations of Abutilon. *Phytopath.* 23: 20, 1933. Abstr.
- , Studies of the occurrence and transmission of virus diseases in the genus Abutilon. *Bull. Torey Bot. Club* 61: 53–70, 1934.
- KLECZKOWSKI, A., Combination between different proteins and between proteins and yeast nucleic acid. *Bioch. J.* 40: 677–687, 1946.
- KLINKENBERG, C. H., Anatomisch onderzoek van de vergelingsziekte van bieten vergeleken met enkele andere bietenziekten. *Med. Inst. Rat. Suikerproductie* 2, 1945.
- KLOTZ, L. J. and H. S. FAWCETT, *Color handbook of Citrus diseases*. Berkeley and Los Angeles, 1948.
- KLUYVER, A. J., 's Levens nevels. *Hand. 26e Nederl. Natuur- en Geneesk. Congr.* 1937: 82–106, 1937.
- KÖHLER, E., Über das Auftreten abweichender Varianten bei den Cs-Stämmen des Kartoffel-X-Virus. *Archiv Virusforschung* 1, 46–69, 1940.
- , Über die Resistenzeigenschaften von *Nicotiana glutinosa* gegenüber dem Tabakmosaikvirus. *Z. Pflanzenkrankh. und Pflanzenschutz* 51: 449–462, 1941.
- KOOT, I. J. VAN, De belangrijkste virusziekten van de tomaat in Nederland. *Med. Tuinbouwvoorl. dienst* 10, 1939. *Med. Lab. Myc. Aard. onderz.* 83, 1939.
- KOTTE, W., Beobachtung über neue Viruskrankheiten an Tomate und Bohne. *Mitt. Biol. Reichsanstalt. Land- und Forstwirtschaft.* 59: 61–64, 1939.
- KRAYBILL, H. R., P. H. BREWER, R. W. SAMSON and M. W. GARDNER, The separation from mosaic tomato plants of toxins which produce some of the typical mosaic symptoms. *Phytopath.* 19: 108, 1929.
- KRAYBILL, H. R. and S. H. ECKERSON, Tomato mosaic. Filtration and inoculation experiments. *Amer. J. Bot.* 14: 487–495, 1927.
- KUNKEL, L. O., *Virus diseases in plants*. In T. M. RIVERS: *Filterable viruses*. London, 1928.
- , Studies on acquired immunity with tobacco and aucuba mosaics. *Phytopath.* 24: 437–466, 1934.
- , Heat treatment for the cure of peach yellows and other virus diseases of peach. *Phytopath.* 26: 809–830, 1936.
- , Heat cure of aster yellows in periwinkles. *Am. J. Bot.* 28: 761–769, 1941.
- , False blossom in periwinkles and its cure by heat. *Science* 95: 252, 1942.
- , Transmission of cranberry false blossom from tomato to cranberry plants by dodder (*Cuscuta campestris*). *Phytopath.* 33: 19, 1943.
- , Potato witches' broom transmission by dodder and cure by heat. *Proc. Am. Phil. Soc.* 86: 470–475, 1943.
- KVÍCALA, B., Selective power in virus transmission exhibited by an aphid. *Nature* 155: 174–175, 1945.
- LACKEY, C. F., Restoration of virulence of attenuated curly top virus by passage through *Stellaria media*. *J. Agr. Res.* 44: 755–765, 1932.
- LAIDLAW, P. P., *Virus diseases and viruses*, Cambridge University Press, 1938.
- LAUFFER, M. A. and R. B. DOW, The denaturation of tobacco mosaic virus at high pressures. *J. Biol. Chem.* 140: 509–518, 1941.

- LAUFFER, M. A. and W. M. STANLEY, Stream double refraction of virus proteins. *J. Biol. Chem.* 123: 507-525, 1938.
- LEDEBOER, F., Gelestrepenziekte. *Arch. Suikerind. Ned.-Indië* 1921: 1000-1001, 1921.
- LEMOINE, J. F., Brief gericht aan de heer Duchartre. *J. Soc. Imp. Centr. Hort. France* II, 3: 47, 1869.
- LEVADITI, C., Précis de virologie médicale. Paris, 1945.
- LINDEMUTH, H., Vorläufige Mitteilungen über weitere Impfversuche an Malvacen Arten. *Gartenflora* 51: 323-326, 1902.
- — —, Studien über die sogenannte Panaschüre und über einige begleitende Erscheinungen. *Landw. Jahrb.* 36: 807-861, 1907.
- LOEFFLER und FROSCHE, Berichte der Kommission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche bei dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin. *Centralblatt f. Bakteriologie, Parasitenk. und Infektionskr.* Erst Abt. 23: 371-391, 1898.
- LOJKIN, M. and C. G. VINSON, Effects of enzymes upon the infectivity of the virus of tobacco mosaic. *Contr. Boyce Thompson Inst.* 3: 147-162, 1931.
- LORING, H. S., M. A. LAUFFER and W. M. STANLEY, Aggregation of purified tobacco mosaic. *Nature* 142: 841-845, 1938.
- LUGG, J. W. H. and R. J. BEST, The effects of infection of tobacco plants (*Nicotiana tabacum*) with tobacco mosaic virus on some of the properties of the protein present in the leaves. *Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 23: 235-239, 1945.
- MALKIEL, S., Immunological studies on tobacco mosaic virus IV. The serological behavior of sonic treated tobacco mosaic virus. *J. Immunology* 57: 55-65, 1947.
- MANGENOT, G., H. ALIBERT et A. BASSET, Sur les caractères du „swollen-shoot“ en Côte-d'Ivoire. *Rev. Internat. Bot. Appl.* 26: 173-184, 1946.
- MANIL, P. et A. GRATIA, Transmission du virus de la mosaïque ordinaire du tabac à l'Orobanche, plant parasite dépourvue de chlorophylle. *C.R. Soc. Biol. (Paris)* 126: 67-69, 1937.
- MARKHAM, R. and K. M. SMITH, A new crystalline plant virus. *Nature* 157: 300, 1946.
- MARTIN, L. F., A. K. BALLS and H. H. MCKINNEY, The protein content of mosaic tobacco. *Science* 87: 329, 1938.
- — —, Protein changes in mosaic-diseased tobacco. *J. Biol. Chem.* 130: 687-701, 1939.
- MARTON, L., Electron microscopy of biological objects. *Nature* 133: 911, 1934.
- MASSE, A. M. and R. M. GREENSLADE, Work at East Malling on the control of the strawberry aphid. *Ann. Rep. East Malling Res. Stat.* 1940: 92-94, 1941.
- MASTENBROEK, C., Enkele waarnemingen over virusziekten van lupine en een onderzoek over haar mozaiekziekte. *Tijdschr. Plantenz.* 48: 97-118, 1942.
- MAYER, A. E., Über die Mosaikkrankheit des Tabaks. *Landw. Versuchsstat.* 32: 450-467, 1886.
- — —, Über Heilung der Mosaikkrankheiten. *Landw. Versuchsstationen* 34: 339, 1888.
- MCCLEINTOCK, J. A. and L. B. SMITH, True nature of spinach blight and relation of insects to its transmission. *J. Agr. Res.* 14: 1-59, 1918.
- MCKINNEY, H. H., Investigations of the rosette disease of wheat and its control. *J. Agr. Res.* 23: 771-800, 1923.
- — —, Mosaic diseases in the Canary Islands, West Africa, and Gibraltar. *J. Agr. Res.* 39: 557-578, 1929.
- — —, Mosaic diseases of wheat and related cereals. *U.S. Dept. Agric. circular* no 442, 1937.

- McKINNEY, H. H., Mosaic of winter oats induced by soil-borne viruses. *Phytopath.* 26: 359-369, 1946.
- , Soil factors in relation to incidence and symptom-expression of virus diseases. *Soil. Sci.* 61: 93-100, 1946.
- , Stability of labile viruses in desiccated tissue. *Phytopath.* 37: 139-142, 1947.
- McKINNEY, H. H. and E. E. CLAYTON, Genotype and temperature in relation to symptoms caused in *Nicotiana* by the mosaic virus. *J. Hered.* 36: 323-331, 1945.
- McWHORTER, F. P., The properties and interpretation of tulip breaking viruses. *Phytopath.* 25: 898, 1935.
- , F. P., The antithetic virus theory of tulip breaking. *Ann. Appl. Biol.* 25: 254-270, 1938.
- MELCHERS, G. and G. SCHRAMM, Über den Verlauf der Viruskrankheit in anfälligen und resistenten Rassen von *Nicotiana tabacum*. *Naturwissensch.* 28: 476-478, 1940.
- MOOI-BOK, M. B., Het overbrengen van viren met behulp van *Cuscuta*-soorten. *Tijdschrift Pl.ziekten* 55: 31-30, 1948.
- MORREN, E., Contagion de la panachure (*Variegatio*). *Bull. Acad. Roy. Belgique II*, 28: 434, 1869.
- MULVANIA, N., Studies on the nature of the virus of tobacco mosaic. *Phytopath.* 16: 853-871, 1926.
- NATTRASS, R. M., The transmission of the virus of the „Woodiness” disease of Passion Fruit (*Passiflora edulis*) by single leaf grafts. *Ann. Appl. Biol.* 31: 310-311, 1944.
- NEGER, F. W., Die Blattrollkrankheit der Kartoffel. *Zeitschr. f. Pflanzenkr.* 29: 27-48, 1919.
- NELSON, R. and E. E. DOWN, Influence of pollen and ovule infection in seed transmission of bean mosaic. *Phytopath.* 23: 25, 1933. Abstr.
- NOLLA, J. A. B., Studies on disease resistance. I. A tobacco resistant to ordinary tobacco mosaic. *J. Agr. Univ. Puerto Rico* 19: 29-49, 1935.
- NOLLA, J. A. B. and A. ROGUE, A variety of tobacco resistant to ordinary mosaic. *J. Dept. Agr. Puerto Rico* 17: 301-303, 1933.
- OESTERLE, P. and C. A. STAHL, Untersuchungen über den Formen-wechsel und die Entwicklungsform bei *Bacillus mycoides*. *Zentralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskr. 2e Abt.*, 79: 1-25, 1929.
- OORTWIJN BOTJES, J. G., Verzwakking van het virus der topnecrose en verworven immuniteit voor aardappelrassen ten opzichte van dit virus. *Tijdschr. Pl.ziekten* 39: 249-262, 1933.
- , Een zwakkere stam van het virus van de grofmozaiekziekte. *Tijdschr. Pl.ziekten* 45: 25-29, 1939.
- , De toepassing van een beschuttende enting als middel ter bestrijding van virusziekten bij de aardappelplant. *Tijdschr. Pl.ziekten* 46: 181-193, 1940.
- ORLANDO, A. e K. SILBERSCHMIDT, O vetor da „chlorose infecciosa” das malváceas. *O biológico* 11: 139-140, 1945.
- OSTER, G., Studies on the sonic treatment of tobacco mosaic virus. *J. Gen. Physiol.* 31: 89-102, 1947.
- PAULI, W. and E. VALKÓ, Kolloidchemie der Eiweiß Körper. *Handbuch der Kolloidwissenschaft* 6, Dresden und Leipzig, 1933.
- PFANKUCH, E. and G. A. KAUSCHE, Über Darstellung, Eigenschaften und quantitative Bestimmung von Tabakmosaik-Virus und Kartoffel-X-Virus und ihre physikochemische Differenzierung. *Biochem. Zeitschr.* 299: 334-345, 1938.

- PFANKUCH, E., G. A. KAUSCHE und H. STUBBE, Über die Entstehung, die biologische und physikalisch-chemische Charakterisierung von Röntgen- und γ -Strahlen induzierten „Mutationen“ des Tabakmosaikvirusproteins. *Bioch. Zeitschr.* 304: 238–258, 1940.
- PIRIE, N. W., *Perspectives in biochemistry*. Cambridge, 1937.
- , Physical and chemical properties of tomato bushy stunt virus and the strains of tobacco mosaic virus. *Advances in Enzymology* 5: 1–29, 1945.
- , The viruses. *Ann. Rev. Biochem.* 15: 573–592, 1946.
- PIRIE, N. W., K. M. SMITH, E. F. C. SPOONER and W. D. McCLEMENT, Purified preparations of tobacco necrosis virus (*Nicotiana virus 11*) *Parasitology* 30: 543–551, 1938.
- PIRSCHLE, K., Weitere Pfropfversuche mit Petunien. *Naturw.* 38: 629–630, 1938.
- , Weitere Untersuchungen über die Auswirkung eines Gen-abhängigen Wirkstoffs bei *Petunia* in einem Pfropfversuch auf älteren Unterlagen. *Zeitschr. induct. Abstamm. u. Vererbungslehre* 76: 512–534, 1939.
- PLANK, J. E. VAN DER and E. E. ANDERSSON, Kromnek disease of tobacco. *Farming in S. Afr.* 19: 391–394, 1944.
- POOLE, J. B. LE, A new electron microscope with continuously variable magnification. *Philips Techn. Rev.* 9: 33–45, 1947.
- POSNETTE, A. F., Cacao virus research in West Africa. *Rep. Cocoa Conf. London 1945*: 114–117, 1945. (Geref. in *Rev. Appl. Myc.* 25: 293–294, 1946).
- , Use of seeds in the insect transmission of some plant viruses. *Nature* 159: 500–501, 1947.
- PRICE, W. C., Acquired immunity to ringspot in *Nicotiana*. *Contr. Boyce Thompson Inst.* 4: 359–403, 1932.
- , Virus concentration in relation to acquired immunity from tobacco ringspot. *Phytopath.* 26: 503–529, 1936.
- , Specificity of acquired immunity from tobacco ringspot diseases. *Phytopath.* 26: 665–675, 1936.
- , Acquired immunity from plant virus diseases. *Quart. Rev. Biol.* 15: 338–361, 1940.
- , Severity of curly top in tobacco affected by site of inoculation. *Phytopath.* 33: 586–601, 1943.
- , Crystallization of southern bean mosaic virus. *Science* 101: 515–517, 1945.
- PRICE, W. C. and E. L. SPENCER, Accuracy of the local-lesion method for measuring virus activity. III. The standard deviation of the log-ratio of potencies as a measure of the accuracy of measurement. *Amer. J. Bot.* 30: 720–735, 1943.
- PRIODE, C. N., Further studies in the ring-spot disease of tobacco. *Am. J. Bot.* 15: 88–93, 1928.
- PURDY BEALE, H., Immunologic reactions with tobacco mosaic virus. *J. Exp. Med.* 49: 919–935, 1929.
- , Specificity of the precipitin reaction of tobacco mosaic disease. *Contr. Boyce Thompson Inst.* 3: 529–540, 1931.
- , The serum reactions as an aid in the study of filterable virus of plants. *Contr. Boyce Thompson Inst.* 6: 407–435, 1934.
- QUANJER, H. M., Die Nekrose des Phloëms der Kartoffelpflanze, die Ursache der Blattrollkrankheit. *Med. Rijks Hogere Land-, Tuin- en Boschbouwschool* 6: 41–80, 1913.
- , Waarnemingen over „kringerigheid“ of „vuur“ en over „netnecrose“ van aardappelen. *Tijdschr. Pl. ziekten* 32: 97–128, 1926.
- , De selectie van den aardappel en de invloed van uitwendige omstandigheden, speciaal van de bemesting, op het resultaat daarvan. *Landbouwk. Tijdschr.* 42: 542–582, 1930.

- QUANJER, H. M., Die Autonomie der phytopathogenen Virusarten. *Phytopath. Zeitschr.* 4: 205-224, 1931.
- , The methods of classification of plant viruses, and an attempt to classify and name potato viruses. *Phytopath.* 21: 577-613, 1931.
- , Enkele kenmerken der „vergelings“-ziekten van suiker- en voederbieten ter onderscheiding van de „zwarte houtvaten“-ziekte. *Tijdschr. Pl.ziekten* 40: 201-214, 1934.
- , Phytopathologische terminologie, met speciale bespreking van de begrippen biotrophie, premuniteit en antistoffen. *Tijdschr. Pl.ziekten* 48: 1-16, 1942.
- , Bijdrage tot de kennis van de in Nederland voorkomende ziekten van tabak en van de tabaksteelt op kleigrond. *Tijdschr. Pl.ziekten* 49: 37-51, 1943.
- QUANJER, H. M., H. A. A. VAN DER LEK en J. G. OORTWIJN BOTJES, Aard, verspreidingswijze en bestrijding van phloëmnecrose (bladrol) en verwante verschijnselen o.a. sereh. *Med. Rijks Hoogere Land-, Tuin- en Boschbouwschool* 10: 1-138, 1916.
- QUANJER, H. M. en J. G. OORTWIJN BOTJES, Aardappelziekten van het „stippelstreep“- en „topnecrose“-type en het vraagstuk der latente en physiologische specialisatie. *Med. Landbouwhoogeschool* 33 verh. 7, 1929.
- QUANJER, H. M. en G. ROLAND, De vergelingsziekte van suiker- en voederbieten. *Tijdschr. Pl.ziekten* 42: 45-70, 1936.
- QUANJER, H. M., A. ROZENDAAL and T. H. THUNG, The value of premunity-studies for the classification of plant viruses. *Proc. Fourth Intern. Congr. Microbiology. Copenhague*, 1947.
- RADER, W. E., H. F. FITZPATRICK and E. M. HILDEBRAND, A seed-borne virus of muskmelon. *Phytopath.* 37: 809-816, 1947.
- RAWLINS, T. E., Stream double refraction studies on orientation of tobacco mosaic virus particles. *Science* 99: 447-449, 1944.
- RAWLINS, T. E. and C. M. TOMPKINS, Studies on the effect of carborundum as an abrasive in plant virus inoculation. *Phytopath.* 26: 578-587, 1936.
- REDDICK, D., La transmission du virus de la mosaïque du haricot par le pollen. *Deuxième Congr. Internat. Path. Comp.* 1: 363-366, 1931.
- REDDICK, D. and V. B. STEWART, Transmission of the virus of bean mosaic in seed and observations on thermal death-point of seeds and virus. *Phytopath.* 9: 445-450, 1919.
- RIVERS, T. M. a.o., *Filterable viruses*. London, 1928.
- ROBERTS, F. M., Studies on the feeding methods and penetration rates of *Myzus persicae* Sulz., *Myzus circumflexus* Buckt., and *Macrosiphum* *gei* Koch. *Ann. Appl. Biol.* 27: 348-358, 1940.
- ROCHA-LIMA, H. DA, J. REIS und K. SILBERSCHMIDT, *Methoden der Virusforschung*. Berlin, 1929.
- ROSS, A. F. and W. M. STANLEY, The partial reactivation of formalized tobacco mosaic virus. *J. GEN. PHYSIOL.* 22: 165-191, 1938.
- ROZENDAAL, A., Enkele opmerkingen over een virusziekte bij de aardappelvariëteit Eersteling, en het verband met de stippelstreepziekte. *Landbouwk. Tijdschr.* 50: 1063-1088, 1938.
- , Virusziekten van aardappelplanten. *Landbouwk. Tijdschr.* 58: 533-543, 1946.
- , Ziekten van het stengelbonttype bij de aardappel. *Tijdschr. Pl.ziekten* 53: 93-101, 1947.
- ROZENDAAL, A. en J. P. H. VAN DER WANT, Over de identiteit van het ratelvirus van de tabak en het stengelbontvirus van de aardappel. *Tijdschr. Pl.ziekten* 54: 113-133, 1948.

- RÜTTE, W. A. LE, Het onzichtbare wordt zichtbaar. AO L61, 1947.
- SADASIVAN, T. S., A quantitative study of the interaction of viruses in plants. *Ann. Appl. Biol.* 27: 359-367, 1940.
- SAKIMURA, K., Virus transmission by *Cuscuta sandwichiana*. *Phytopath.* 37: 66-67, 1947.
- SALAMAN, R. N., Protective inoculation against a plant virus. *Nature* 131: 468, 1933.
- , Plant viruses and their relation to those affecting man and animal. *Lancet* 1937: 827, 1937.
- , The potato virus „X”; its strains, and reactions. *Philos. Trans. Roy. Soc. B.* 229: 137-217, 1938.
- SAMUEL, G., The movement of tobacco mosaic virus within the plant. *Ann. Appl. Biol.* 21: 90-111, 1934.
- SAMUEL, G. and R. J. BEST, The effect of various chemical treatments on the activity of the viruses of tomato spotted wilt and tobacco mosaic virus. *Ann. Appl. Biol.* 23: 759-780, 1936.
- SCHREVEN, D. A. VAN, Onderzoekingen met betrekking tot enkele plagen en ziekten van Vorstenlandse tabak. *Tijdschr. Pl.ziekten* 54: 149-174, 1948.
- SCHWEIZER, J., Verslag van het jaar 1925. *Med. Besoekisch Proefsta.* 14: 14, 1926.
- SEIN, F., A new mechanical method for artificially transmitting sugar cane mosaic. *J. Dept. Agric. Puerto Rico* 14: 49-68, 1930.
- SELMAN, I. W., The susceptibility of lettuce to mosaic virus in relation to nitrogen, phosphate and water supply. *J. Pomology and Hort. Sci.* 21: 28-33, 1945.
- SERGENT, E. et L. PERROT, L'immunité, la prémunition et la résistance innée. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie* 13: 279, 1935.
- SEVERIN, H. H. P. and O. SWEZY, Filtration experiments on curly top of sugar beets. *Phytopath.* 18: 681-691, 1928.
- SHAW, H. B., The curly top of beets. *U. S. Dept. Agr. Bur. Pl. Ind. Bull.* 181, 1910.
- SIGURGEIRSSON, T. and W. M. STANLEY, Electron microscope studies on tobacco mosaic virus. *Phytopath.* 37: 26-38, 1947.
- SLOGTEREN, E. VAN, De betekenis van de serologie voor het virusonderzoek. *Tijdschr. Pl.ziekten* 49: 1-21, 1943.
- , De herkenning van virusziekten der aardappelen langs serologische weg. *Med. N.A.K.* 2: 6-8, 1945.
- SLOGTEREN, E. VAN en M. P. DE BRUIJN OUBOTER, Onderzoekingen over virusziekten in bloembolgewassen. I. Narcissen. I. *Med. Landbouwhogeschool* 45, Verh. 3, 1941.
- , Onderzoekingen over virusziekten in bloembolgewassen. II. Tulpen. I. *Med. Landbouwhogeschool* 45, Verh. 4, 1941.
- SMITH, E. F., Peach yellows. A preliminary report. *U.S. Dept. Agric. Div. of Botany Bull.* 9, 1888.
- , Additional evidence of peach yellows and peach rosette. *U.S. Dept. Agric. Div. Vegetable Path. Bull.* 1, 1891.
- SMITH, K. M., Studies on potato virus diseases. IV. Further experiments with potato mosaic. *Ann. Appl. Biol.* 16: 1-32, 1929.
- , Studies on potato virus diseases. VI. Further experiments with the virus of a potato mosaic upon the tobacco plant. *Ann. Appl. Biol.* 16: 382-399, 1929.
- , The present status of plant virus research. *Biol. Rev.* 8: 136-179, 1933.
- , A textbook of plant virus diseases. London, 1937.
- , Tobacco rosette: a complex disease. *Parasitology* 37: 21-24, 1946.
- , The transmission of a plant virus complex by aphids. *Parasitology* 37: 131-134, 1946.

- SMITH, K. M., Some facts in the relationship between insects and plant viruses. Fourth internat. Congr. Microbiol. Copenhagen, Abstr. Comm.: 131, 1947.
- SMITH, K. M. and J. G. BALD, A description of a necrotic virus disease affecting tobacco and other plants. *Parasitology* 27: 231-245, 1935.
- SMITH, K. M. and R. MARKHAM, An insect vector of the turnip yellow mosaic virus. *Nature* 158: 417, 1946.
- SPENCER, E. L., Influence of host nutrition on systemic development of tobacco mosaic. *Plant Physiology* 12: 825-832, 1937.
- , The effect of host nutrition on concentration of tobacco-mosaic virus. *Plant Physiology* 14: 769-782, 1939.
- , Inhibition of increase and activity of tobacco-mosaic virus under nitrogen-deficient conditions. *Plant Physiology* 16: 227-239, 1941.
- , Influence of nitrogen supply on the rate of multiplication of tobacco-mosaic virus. *Plant Physiology* 16: 663-675, 1941.
- , Effect of nitrogen nutrition on virus inactivation in tobacco. *Phytopath.* 31: 27, 1941 (Abstr.).
- , Specific biological activity of tobacco-mosaic virus as influenced by age of lesion and nitrogen supply. *Plant Physiology* 17: 210-222, 1942.
- SPENCER, E. L. and W. C. PRICE, Accuracy of the local-lesion method for measuring virus activity. I. Tobacco-mosaic virus. *Amer. Journ. Bot.* 30: 280-290, 1943.
- STAHL, C. F. and E. CARNSNER, Obtaining beet leaf hoppers non-virulent as to curly top. *J. Agric. Res.* 14: 393-394, 1918.
- STANLEY, W. M., The action of high frequency sound waves on tobacco mosaic virus. *Science* 80: 339-340, 1934.
- , Isolation of a crystalline protein possessing the properties of tobacco mosaic virus. *Science* 81: 644-645, 1935.
- , Chemical studies on the virus of tobacco mosaic. VI. The isolation from diseased Turkish tobacco plants of a crystalline protein possessing the properties of tobacco-mosaic virus. *Phytopath.* 26: 305-319, 1936.
- , Chemical studies on the virus of tobacco mosaic. VII. An improved method for the preparation of crystalline tobacco mosaic-virus protein. *J. Biol. Chem.* 115: 677-678, 1936.
- , The inactivation of crystalline tobacco-mosaic virus protein. *Science* 83: 626-627, 1936.
- , Virus proteins. A new group of macromolecules. *J. Phys. Chem.* 42: 55-70, 1937.
- , Some biochemical investigations on the crystalline tobacco-mosaic virus proteins. *Amer. Philosoph. Soc. Proc.* 77: 447-453, 1937.
- , Viruses and the electron microscope. *Chron. Bot.* 7: 291-294, 1943.
- , Viruses. In *Currents in biochemical research* 13-23. New York, 1946.
- STANLEY, W. M. and T. F. ANDERSON, A study of purified viruses with the electron microscope. *J. Biol. Chem.* 139: 325-338, 1941.
- STANLEY, W. M., C. A. KNIGHT et L. J. DE MERRE, *Les virus. Etudes biochimiques et biophysiques récentes.* Bruxelles, 1945.
- STODDARD, E. M., Inactivating in vivo the virus of X-disease of peach by chemotherapy. *Phytopath.* 32: 17, 1942, Abstr.
- , Immunization of peach trees to X-disease by chemotherapy. *Phytopath.* 34: 1011-1012, 1944, Abstr.
- , The X-disease of peach and its chemotherapy. *Conn. Agr. Exp. Stat. Bull.* 506, 1947.
- STOREY, H. H., The inheritance by an insect vector of the ability to transmit a plant virus. *Proc. Roy. Soc. B.* 112: 46, 1932.

- STOREY, H. H., The inheritance by a leaf hopper of the ability to transmit a plant virus. *Nature* 127: 928, 1932.
- , Investigations of the mechanism of the transmission of plant viruses by insect vectors. I. *Proc. Roy. Soc. B*, 113: 463–485, 1933.
- , Investigations of the mechanism of the transmission of plant viruses by insect vectors. II. *Proc. Roy. Soc. B*. 125: 455–477, 1938.
- , Transmission of plant viruses by insects. *Bot. Review* 5: 240–272, 1939.
- SUKHOV, K. S., Salivary secret of the aphid *Myzus persicae* Sulz. and its ability to form filtering apparatus. *C. R. Acad. Sc. U.R.R.S.* 42: 226–228, 1944.
- TAKAHASHI, W. N., Changes in nitrogen and virus content of detached tobacco leaves in darkness. *Phytopath.* 31: 1117–1122, 1941.
- TAKAHASHI, W. N. and T. E. RAWLINS, Rod-shaped particles in tobacco mosaic demonstrated by stream double refraction. *Science* 77: 26–27, 1933.
- TAKAHASHI, W. N. and R. J. CHRISTENSEN, The virucidal action of high frequency sound radiation. *Science* 79: 415–416, 1934.
- TAKAMI, N., Stunt disease of rice and *Nephotettix apicalis*. *J. Agr. Japan* 241: 22–30, 1901.
- TAKATA, K., Results of experiments with dwarf diseases of rice plant. *J. Agric. Japan* 171: 1–4, 1895 en 172: 13–32, 1896.
- THOMAS, H. E., Transmissible rough-bark diseases of fruittrees. *Phytopath.* 32: 435–436, 1942.
- THORNBERRY, H. H., Effect of tannic acid on the infectivity of tobacco mosaic virus. *Phytopath.* 25: 931–937, 1935.
- THUNG, T. H., Physiologisch onderzoek met betrekking tot het virus der bladrolziekte van de aardappelplant, *Solanum tuberosum* L. *Tijdschr. Pl.ziekten* 33: 1–74, 1928.
- , De epidemiologie van tabaksziekten. *Voordracht te Klaten*, 1931.
- , Smetstof en plantencel bij enkele virusziekten van de tabaksplant. *Hand. 6e Ned. Ind. Natuurw. Congres*: 450–463, 1931.
- , De krul- en kroepoek-ziekte van tabak en de oorzaken van hare verbreiding. *Med. Proefstat. v. Vorstenlandse Tabak* 72, 1932.
- , De bestrijding der krul- en kroepoekziekten. *Med. Proefstat. Vorstenlandse Tabak* 82, 1934.
- , Infective principle and plant cell in some virus diseases of the tobacco plant II. *Hand. 7e Ned. Ind. Natuurw. Congres*: 496–507, 1935.
- , Smetstof en plantencel bij enkele virusziekten van de tabaksplant. III. *Tijdschr. Pl.ziekten* 43: 11–32, 1937.
- , Smetstof en plantencel bij enkele virusziekten van de tabaksplant IV. *Tijdschr. Pl.ziekten* 44: 225–246, 1938.
- , Smetstof en plantencel bij enkele virusziekten van de tabaksplant. V. *Tijdschr. Pl.ziekten* 45: 247–259, 1939.
- , Heksenbezem bij bataten (*Ipomoea batatas*), een virusziekte. *Landbouw* 19: 286, 1947.
- , Virusziekten van *Arachis hypogaea*. *Landbouw* 19: 337–347, 1947.
- , Antagonistische acties van viren. *Tijdschr. Pl.ziekten* 53: 43–48, 1947.
- , De verspreidingswijze van plantenziekten. *Landbouwk. Tijdschr.* 59: 346–350, 1947.
- TJALLINGH, F., Ziekten van augurken en selectie van resistente rassen. *Med. Ned. Alg. Keuringsd. Groentezaden*, 1, no 11, 1944.
- TOMPKINS, C. M., Effect of intermittent temperature on potato mosaic. *Phytopath.* 15: 46, 1925. *Abstr.*
- , Influence of the environment on potato mosaic symptoms. *Phytopath.* 16: 581–610, 1926.

- TOPLEY, W. W. G. and G. S. WILSON, The principles of bacteriology and immunity. London, 1937.
- TOWNSEND, C. O., Curly top, a disease of the sugar beet. U.S. Dept. Agric. Bur. Pl. Ind. Bull. 122, 1908.
- VALLEAU, W. D., Two seed-transmitted ring spot diseases of tobacco. *Phytopath.* 22: 28, 1932.
- , Seed transmission and sterility studies of two strains of tobacco ring spot. *Kentucky Agr. Exp. Stat. Bull.* 327: 43–80, 1932.
- , Do tobacco plants recover from and develop immunity to ring spot. *Kentucky Agr. Exp. Sta. Res. Bull.* 360: 181–191, 1935.
- , Classification and nomenclature of tobacco viruses. *Phytopath.* 40: 820–830, 1940.
- , Experimental production of symptoms in so-called recovered ring spot tobacco plants and its bearing on acquired immunity. *Phytopath.* 31: 522–533, '41.
- VALLEAU, W. D. and E. M. JOHNSON, Some virus diseases of tobacco in Kentucky. *Phytopath.* 18: 132–133, 1928. Abstr.
- , Localization and resistance to tobacco mosaic in *Nicotiana*. *Kentucky Agr. Exp. Stat. Bull.* 360: 202–230, 1935.
- , Tobacco mosaic source of infection and control. *Kentucky Agr. Exp. Stat. Bull.* 376: 223–262, 1937.
- VASUDEVA, R. S. and M. S. PAVGI, Seed transmission of melon mosaic virus. *Curr. Sci.* 14: 271–272, 1945.
- VERHOEVEN, W. B. L., Ziekten, selectie en keuring van aardappelen. Wageningen, 1946.
- VINSON, C. G. and A. W. PETRE, Mosaic disease of tobacco. I. Progress in freeing the virus of accompanying solids. *Bot. Gaz.* 87: 14–38, 1929.
- , Mosaic disease of tobacco. II. Activity of the virus precipitation by lead acetate. *Contrib. Boyce Thomps. Inst.* 3: 131–146, 1931.
- VOELCKER, O. J., Annual report West African Cacao Research Institute 1945–1946. (Geref. in *Rev. Appl. Myc.* 25: 546–548, 1946).
- WALLACE, J. M., Recovery from and acquired tolerance of curly top in *Nicotiana tabacum*. *Phytopath.* 29: 743–749, 1939.
- , Evidence of passive immunization of tobacco, *Nicotiana tabacum*, from the virus of curly top. *Phytopath.* 30: 673–679, 1940.
- , Acquired immunity from curly top in tobacco and tomato. *J. Agr. Res.* 69: 187–214, 1944.
- , Technique for hastening foliage symptoms of psorosis of citrus. *Phytopath.* 35: 535–541, 1945.
- , The use of leaf tissue in graft-transmission of psorosis virus. *Phytopath.* 37: 149–152, 1947.
- WALLACE, T., L. OGILVIE and T. SWARBRICK, Two virus diseases of tree fruits. *Gard. Chronicle Ser. 3*, 116: 140–141, 1944.
- WANT, J. P. H. VAN DER, Het stippestreep van de boon (*Phaseolus vulgaris*) een ziekte veroorzaakt door een virus, dat in de grond overblijft. *Tijdschr. Pl.-ziekten*, 54: 85–90, 1948.
- WANT, J. P. H. VAN DER en A. ROZENDAAL, Electronen-microscopisch onderzoek van het virus dat de ratelziekte van de tabak en het stengelbont van de aardappel veroorzaakt. *Tijdschr. Pl.-ziekten*, 54: 134–141, 1948.
- WATSON, M. A., Factors affecting the amount of infection obtained by aphid transmission of the virus Hy III. *Trans. Roy. Soc. Biol. Sci. B.* 226: 457–489, 1936.
- , Further studies on the relationship between *Hyoscyamus virus 3* and the aphid *Myzus persicae* (Sulz.) with special reference to the effects of fasting. *Proc. Roy. Soc. B.* 125: 144–170, 1938.

- WATSON, M. A. and F. M. ROBERTS, A comparative study of the transmission of Hyoscyamus virus 3, potato virus Y and cucumber virus 1 by the vectors *Myzus persicae* (Sulz), *M. circumflexus* (Buckton), and *Macrosiphum gei* (Koch). Proc. Roy. Soc. B. 127: 543-576, 1939.
- , Evidence against the hypothesis that certain plant viruses are transmitted mechanically by aphides. Ann. Appl. Biol. 27: 227-233, 1940.
- WEBB, R. W., Further studies on the soil relationships of the mosaic disease of winter wheat. J. Agr. Res. 36: 53-75, 1928.
- WEBER, H., Skelet, Muskulatur und Darm der Schwarzen Blattlaus (*Aphis fabae* Scop.). Zoologica 28, Heft 6, 1928.
- WESTERDIJK, J., Die Mosaikkrankheit der Tomaten. Med. Phytopath. Lab. W. C. Scholten, 1, 1910.
- WETTSTEIN, F. VON und K. PIRSCHLE, Über die Wirkung heteroplastischer Pfropfungen und die Übertragung eines genbedingten Stoffes durch Pfropfung bei *Petunia*. Biol. Zbl. 58: 123-142, 1938.
- WHITE, P. R., A handbook of plant tissue culture. Lancaster, Pennsylvania, 1943.
- WIEBOLS, G. L. W. en K. T. WIERINGA, Bacteriophagie een algemeen voorkomend verschijnsel. Publ. „Fonds L.E.B. 1916-1918” 16, 1936.
- WIERINGA, K. T. en G. L. W. WIEBOLS, De aardappelschurft en de heterolyse der schurftparasiet. Tijdschr. Pl.ziekten 42, 235-240, 1936.
- WILBRINK, G., Een onderzoek naar de verbreiding der gelestrepenziekte door bladluizen. Med. Proefstat. Javasuikerind. 1922: 413-456, 1922.
- , Warm water behandeling van stekken als geneesmiddel tegen de serehziekte van het suikerriet. Arch. J. Suikerind. Nederl.-Indië. 1923: 1-15, 1923.
- WOODS, A. F., The destruction of chlorophyll by oxidizing enzymes. Centralbl. f. Bakt. u. Par. Krankh. 11. 5: 745-754, 1899.
- , Observations on the mosaic disease of tobacco. U. S. Dept. Agric. Bur. Plant. Ind. Bull. 18, 1902.
- WOODS, M. W. and H. G. DUBUY, Synthesis of tobacco mosaic virus protein in relation to leaf chromoprotein and cell metabolism. Phytopath. 31: 978-990, 1941.
- WYCKOFF, R. W. G., Electron micrographs from concentrated solutions of the tobacco mosaic virus protein. Bioch. biophys. Acta 1: 139-149, 1947.
- YODEN, W. J. and H. PURDY BEALE, A statistical study of the local lesion method for estimating tobacco mosaic virus. Contr. Boyce Thompson Inst. 6: 437-454, 1934.
- ZAUMEYER, W. J. and L. L. HARTER, Inheritance of symptom expression of bean mosaic virus 4. J. Agr. Res. 67: 287-292, 1943.
- , Two new virus diseases of beans. J. Agr. Res. 67: 305-327, 1943.
- ZWORYKIN, V. K., G. A. MORTON, E. G. RAMBERG, J. HILLIER and A. W. VANCE, Electron optics and the electron microscope. New York, 1945.

REGISTER

In dit register wordt slechts verwezen naar de nummers, die tussen haakjes onder aan de bladzijden zijn vermeld

- Aardappel, acronecrose, 100
 -, acropetale necrose, 100
 -, aucubabont, 68, 100
 -, A-virus, 18, 44, 67
 -, bestrijding virusziekten, 98
 -, bladrol (phloëmnecrose), 32, 35, 85, 100
 -, bladrolvirus, 38, 68
 -, -, overbrenging door bladluizen, 52
 -, complexe ziekten, 95
 -, D-virus, 56
 -, enting van knollen, 47
 -, E-virus, 64
 -, F-virus, 68
 -, gewoon mozaiek, 100
 -, heksenbezemziekte (witches broom), 43, 100
 -, kringerigheid, 53, 102
 -, „krul“-ziekten, 8
 -, „leaf curl“, 48
 -, „leaf-drop streak“, 100
 -, mozaiek, 35
 -, parakrinkelvirus, 64
 -, pseudonetnecrose, 100
 -, stengelbont, 53, 85, 102
 -, stippelstreep, 32, 35, 67, 93, 102, 103
 -, tolerantie voor virusziekten, 93
 -, topnecrose, 32, 59, 100
 -, tussennervig mozaiek, 100
 -, virosen, classificatie, 67, 68
 -, witches broom, 43, 100
 -, X-virus, 15, 18, 32, 39, 40, 56, 67, 70, 71, 95, 100
 -, -, inactivering, 87
 -, -, premuniteit, 60
 -, -, zuivering, 18, 19, 20
 -, Y-virus, 18, 35, 57, 66, 67, 100, 102
 -, -, overbrenging door insecten, 52
 -, „yellow dwarf“, 59
 -, zetmeelophoping bij bladrol, 9
 aardbei, 47
 -, geelrand („yellow edge“), 100
 -, tannine in sap van aardbeiplant, 45
 aardnoot, heksenbezemziekte („rosette disease“), 100
Abutilon, bontheid, 37, 46, 72, 100
 -, -, overgang met zaad, 84
 „a-chromatism“, 83
 „acquired immunity“, 54
 Actinomyceten, 53
Adenia, 47
Agallia constricta VAN DUZEE, 107
Agalliopsis novella SAY, 107
 agar, 42
Ageratum conyzoides, 92, 97
 agglutinatie, specificiteit van, 26
 -, -reactie, 17
 aggregatie van virusdeeltjes, 26, 27, 28
 AINSWORTH, G. C., 35, 38, 59, 109
 ALGERA, L., 18, 29, 109
 ALIBERT, H., 104, 117
 allantoisvocht, 77
 ALLARD, H. A., 49, 63, 109
 allergische werking, 81, 82
 ALLOWAY, J. L., 83, 109
 ammoniumsulfaat, 18-23
 ammoniumsulfide, 89
 AMOSS, H. L., 8
 anaphylaxis, 17
 ANDERSON, T. F., 26, 122
 ANDERSEN, E. E., 98, 119
 anisotropie, 27
 anjelier, mozaiek, 31
Annulaceae, 62
Annulus, orae, 62
 -, *tabaci*, 62
 -, -, var. *auratus*, 62
 antagonisme, 54-60
 antigeen, 15, 16
 antigenen, flagellaire, 27
 -, somatische, 27
 antilichamen, 15, 16
 -, in planten, 69, 70
 antiserum, 15, 16
Aphis, gossypii GLOVER, 50
 -, *maidis* FITCH., 49, 85
 -, *sacchari* ZEHNTNER, 49
 -, *vastator*, 48
 appel, „flat limb“ („crinkle wood“), 31, 103
 Arabische gom, 42
Arachis hypogea, 57
 ARMSTRONG, J. R., 86, 112
 ARP, P. A., 8, 109
 „aster yellows“, 33, 90, 91, 100
 ATANASOFF, D., 67, 93, 102, 109
 augurkenmozaiek, 36, 103
Aulacorthum solani KALT., 105
 AVERY, O. T., 83, 109
Bacillus mycoides, 8
 bacteriën, filtreerbaarheid van, 8
 bacteriophagen, 8, 14, 26, 35, 60
 BADENHUIZEN, N. P., 94, 109
 BAKER, 48
 BALD, J. G., 22, 122
 BALL, E. D., 48, 109
 BALLS, A. K., 73, 74, 117
 BASSET, A., 104, 117
 BASSET, J., 86, 109
 BAUR, E., 37, 46, 72, 109
 BAWDEN, F. C., 10-12, 15, 18, 20-24, 26, 27, 30, 35, 37, 44, 56, 57, 64-66, 74-78, 86-88, 109, 110
Bemisia, gossypiperda MISRA et LAMBA, zie *B. tabaci* GENNADIUS
 -, *tabaci* GENNADIUS, 52, 66, 85
 BENNETT, C. W., 43, 45, 51, 52, 70, 79, 80, 110
 BERGMANN, N., 76, 110
 BERNAL, J. D., 10, 19, 26, 110
 besmettelijkheid, 81-85
 besmetting via de grond, 53, 85
 besmettingsveelhoek, 93
 BEST, R. J., 74, 89, 117, 121
 bestrijding van virusziekten, 91
 BEYER, J. J., 29, 109
 BEYERINCK, M. W., 8, 53, 111
 biet, „curly top“, 7, 32, 33, 39, 45, 51, 52, 69, 70, 80, 101
 -, „curly top“-virus in tabak en tomaat, 57
 -, mozaiek, 80, 101
 -, vergelingsziekte, 18, 32, 51, 52, 93, 101
 bilzenkruid, *Hyoscyamus-virus* 1, 100
 BITANCOURT, A. A., 104, 113
 BLACK, L. M., 59, 64, 107, 111

- BLODGETT, F. M., 36, 111
 bloemkool, mozaiek, 100
 -, -, overbrenging door blad-
 luizen, 53
 BODINE, E. W., 96, 111
 BŌNCQUET, P. A., 48, 111
 BONDE, R., 38, 114
 boon, overgang virus met
 zaad, 33, 83
 -, rolmozaiek, 83, 93, 100
 -, „southern bean mosaic”,
 94, 103
 -, stippelstreep, 53, 104
 -, zuivering van „southern
 bean mosaic”-virus, 22
 BOOY, H. L., 15, 111
 BORN, H. J., 74, 111
 BOUCHÉ, C., 46, 111
 BRANDES, E. W., 44, 49, 85,
 93, 111
Brevicoryne brassicae, 53
 BREWER, P. H., 82, 116
 BRONFENBRENNER, J. J., 8
 BRUIJN OUBOTER, M. P. DE,
 15, 46, 58, 59, 105, 111, 121
 Bryophyten, 30
 BURNET, F. M., 10, 111
 BUSCH, H., 24, 111
- Cacao, „swollen shoot”, 31,
 104
 CALDWELL, J., 54, 79, 105,
 111
Capsicum annum, 47, 63, 97
 -, overgang van bontheid
 met zaad, 84
 carborundumpoeder, 44
 CARREL, A., 8
 carrier, 93, 95
 CARSNER, E., 39, 48, 111, 122
 catalase, 73
 cavia, 17
 celite, 44
Chenopodium murale, 39
 CHESTER, K. S., 15, 64, 111,
 112
 chloroform, 20
 chloroplasten, 26, 29
 -, zuivering, 29
 chlorophyl, 8
 chlorophyldefect, 82, 83
 chlorophyllase, 73
 CHRISTENSEN, R. J., 28, 123
 chromo-proteïne, 72, 74
Cicadulina mbila NAUDE, 51
 circulatietijd, 33, 52
Citrus, „psorosis”, 47, 104
 classificatie van viren, 60-68
 CLAYTON, E. E., 34, 36, 94,
 112, 118
- CLINCH, P., 52, 112
 COHEN, S. S., 42, 112
 collodiumfilters, 12
 complementbindingsreactie,
 17
contagium vivum fluidum, 8
 COOK, M. T., 6, 36, 37, 46,
 48, 49, 88, 112
 COUTINHO, L. DE AZEVEDO,
 85, 112
 COWDRY, E. V., 8
 CRAFTS, A. S., 78, 80, 112
 CRAMER, P. J. S., 83
 CREAGER, D. B., 31, 112
 CREMER, M. C., 15, 111
 CROOK, E. M., 27, 112
 „cross immunity”, 54
Cuscuta-soorten, 43, 44
 cysteine, 89
 cystine, 74
- DARLINGTON, C. D., 83, 112
Datura stramonium, 29
 DAVIS, E. F., 72, 74, 112
 DELBRÜCK, M., 60, 112
Deltocephalus dorsalis, 48
 denaturatie van virus, 88
 dialyse, 19
 diastase, 8
 DICKSON, B. T., 33, 36, 84,
 112
 dissymmetriegetal, 14
 DOERR, R., 6, 8, 9, 74, 75, 77,
 112, 113
 DOOLITTLE, S. P., 50, 112
 DOORN DE JONG, L. E. DEN,
 8, 112
Doralis fabae SCOP., 105
 DORSTEN, A. C. VAN, 24, 112
 DOW, R. B., 86, 116
 DOWN, E. E., 83, 118
 DRAKE, C. J., 50, 112
 dubbelbreking bij stroming,
 27, 29, 30
 DUBUY, H. G., 37, 72, 89,
 112, 113, 125
 DUGGAR, B. M., 86, 88, 112,
 114
 DUNCKELMAN, P. H., 90, 113
 DIJKSTRA, T. P., 89, 113
- ECKERSON, S. H., 82, 116
 EDGERTON, C. W., 113
 electrolyse, 12
 electronenmicroscop, 25,
 26, 33
 electronenmicroscopie, 24-
 26, 29
 electrophorese, 12, 13
 ELFORD, W. J., 12, 14, 113
- ELZE, D. L., 52, 64, 113
 enting, 7, 46-48
 enzym, virus als, 75, 76
 enzymen, synthese van, 76,
 77
 -, uit slakkenmaag, 21, 27
 enzymwerkzaamheid, afwij-
 kende, 8, 9
 epidemiologie van virusziek-
 ten, 85
 ERIKSSON-QUENSEL, 14
 erwten, 43
 -, „enation”-mozaiek, 100
 -, mozaiek, 100
 -, overgang virus met zaad,
 33, 84
 erwtenviren, 35, 100
Eryngium aquaticum, 42
 ESAU, K., 32, 113
 ESMARCH, F., 9, 113
Eutettix tenellus, 8, 48, 52,
 69, 95
Evonymus, besmettelijke
 chlorose, 46, 72
- FANKUCHEN, I., 10, 19, 26,
 110
 FAWCETT, H. S., 104, 113,
 116
Ferrisia virgata, 104
 filterkaarsen, 12
 filtratiemethoden, 12
 filtreerbaarheid van viren,
 11, 33
 FITZPATRICK, H. F., 84, 120
 flagellaire antigenen, 27
 FLUITER, H. J. DE, 48
 formaldehyde, 87
Fragaria-viren, 65
 framboos, 47
 -, „curl” (mozaiek)-virus,
 80, 100
 FRAMPTON, V. L., 27, 113
Fraxinus, 46
 FREIBERG, G. W., 9, 75, 113
 FROSCHE, 8, 117
 FUKUSHI, T., 48, 49, 113
 FULTON, R. W., 87, 113
- γ -stralen, 13, 28
 GANDRUP, J., 47, 113
 GARDNER, M. W., 52, 82,
 113, 116
 gelatine, 42
 gele koorts, 8
 geluidsgolven, 28
 genen, 83
 -, reproductie, 77
 GIBBINS, R. T., 113
 GLASER, R. W., 8

- glucosiden, 10
golfengte, van electronen, 25
-, van het licht, 25
GOODPASTURE, E. W., 8
GOSS, R. W., 37, 113
GRAINGER, J., 36, 79, 113
grana, 29
GRATIA, A., 73, 109, 117
GREENSLADE, R. M., 92, 117
GRIFFITH, F., 83, 113
Gymnospermen, 30
- HAASIS, F. A., 105, 113
haemocyanine, 14
haemolysinen, 17
haemolytisch systeem, 17
HALLAUER, C., 6, 9, 112, 113
HANSEN, H. P., 64, 113
haptenen, 15
HARRIS, H. M., 50, 112
HARRIS, R. V., 47, 113
HARTER, L. L., 94, 103, 125
HEALD, F. D., 7, 113
Helix, 14
HENDERSON, R. G., 84, 113
HENDERSON SMITH, J., 11, 42, 113, 114
heparine, 42
HERELLE, F. D., 10, 114
herpes, 35
-, -virus, 14
HERZTSCH, W., 37, 114
HILDEBRAND, E. M., 84, 120
HILLE RIS LAMBERS, D., 48
HILLIER, J., 24, 125
HILLS, C. H., 73, 114
HOCKEY, J. F., 103, 114
hoenderpestvirus, 14
HOGGAN, I. A., 42, 49, 53, 61, 63, 64, 86, 114, 115
HOLLAENDER, A., 88, 112, 114
HOLMES, F. O., 39, 42, 45, 56, 57, 62, 64, 73, 79, 81, 94, 108, 114
HOLZAPFEL, L., 28, 114
honds dolheid, 8, 35
HOVEY, C., 38, 114
HUBBELING, N., 53, 104, 114
HUCKETT, H. C., 92, 114
HUNGER, F. W. T., 9, 75, 114
hydrolyse van virus, 86
hydrophiele colloïden, 42
Hyoecyamus, niger, 63
-, -virus III, 52, 57
- IKENO, S., 47, 82, 84, 114
inactiverende stoffen, 66, 70, 71, 84
inactivering, *in vitro*, 110-114
-, *in vivo*, 114-115
infectie, 33
infectieuziteit, 75
-, neutralisatie van, 86
-, verlies van, 86, 88
infectievermogen, 28
influenza, 35
-, -virus, 14, 77
inoculatie met sap, 44-45
insecten, virusoverbrenging door, 48-53
intracellulaire lichaampjes, 33
invloed van uitwendige omstandigheden op symptomen, 36-38
inwendige symptomen van virusziekten, 32
Ipomoea batatas, 47
iris, bonte, 18
iso-electrisch punt, 13
isolering van viren, 22, 23
ITERSON, W. VAN, 29, 109
IWANOWSKI, D., 7, 8, 33, 53, 114, 115
- JAEGER, J. M., 11, 115
JAMES, A. L., 105, 111
JANSSEN, J. J., 37, 115
JANSSEN, L. W., 76, 115
JENSEN, J. H., 40, 80, 115
JENSSEN, D. D., 53, 115
JOHNSON, E. M., 62, 89, 108, 115, 124
JOHNSON, F., 43, 107, 115
JOHNSON, J., 36-42, 53, 55, 61-64, 81, 82, 86, 87, 93, 97, 108, 114, 115
- Kaliumpermanganaat, 90
KALMUS, H., 45, 115
kanarie-pokkenvirus, 14
KARSTENS, W. K. H., 29, 109
KASSANIS, B., 27, 45, 57, 109
kataphorese, 13
katoen, krulziekte, 100
KAUSCHE, G. A., 13, 20, 24, 28-30, 40, 84, 115, 116, 118, 119
keratine-fibrillen, 76
KEUR, J. Y., 46, 84, 116
kippensarcoom, 35
KLAPHAAK, P. J., 49, 93, 111
klaver, complexe virusziekte, 43
KLECKZKOWSKI, A., 86, 87, 110, 116
KLINKENBERG, C. H., 32, 116
KLOTZ, L. J., 104, 116
KLUYVER, A. J., 77, 116
- KNIGHT, C. A., 10, 122
KOCH, R., 8
KÖHLER, E., 40, 46, 116
komkommemozaïek, 41, 44, 52, 59, 100
-, overbrenging door bladluizen, 49, 50
-, overgang met zaad van meloen, 84
-, -virus, 6, 59
kool-, ringspot", overbrenging door insecten, 53
KOOT, Y. VAN, 33, 37, 53, 54, 116
KOTTE, W., 104, 116
kopersulfaat, 90
KRAYBILL, H. R., 82, 116
krekoh, 47
krul- en kroepoekziekte, 47, 92, 93
KUNKEL, L. O., 8, 43, 54, 62, 86, 90, 116
KVÍCALA, B., 53, 116
kwikchloride, 90
- Laburnum*, 46
LACKEY, C. F., 39, 116
Lactuca, 33
LAIDLAW, P. P., 7, 10, 116
LANG, A., 74, 111
latente periode, 52
Lathyrus tingitanus L., 81, 82
LAUFFER, M. A., 26, 28, 86, 116, 117
LEDEBOER, F., 85, 117
Leguminosenviren, toetsortiment, 38
LEK, H. A. A. VAN DER, 48, 120
LEMOINE, J. F., 46, 117
LEVADITI, C., 6, 7, 117
leven, criteria voor, 10
Ligustrum, 46
LINDEMUTH, H., 46, 117
lipoïden, 10
locale symptomen, 33
LÖFFLER, 8, 117
LOJIN, M., 86, 117
LORING, H. S., 28, 117
LOUGHNANE, J. B., 52, 112
lucerne, mozaïek, 100
LUGG, J. W. H., 74, 117
LUKE, J. W., 113
lupine, overgang virus met zaad, 33
Lycopersicum, esculentum, 63
-, *pimpinellifolium*, 49
lysis van rode schapenbloedlichaampjes, 17

- MACHEBOEUF, M., 109
 MAC LEOD, C. M., 83, 109
Macrosiphum euphorbiae
 THOS, 105
 -, *psidi* KALT., 92
 -, *solanii* KALT., 49
 mais, mozaiek, 100
 -, strepenziekte, 51, 100
 MALKIEL, S., 28, 117
 MANGENOT, G., 104, 117
 MANIL, P., 73, 109, 117
 MARKHAM, R., 10, 22, 106,
 117, 122
Marmor, Angliae, 64
 -, *cucumeris* var. *ypsilon*, 64
 -, *dubium*, var. *annulus*, 62
 -, -, var. *flavum*, 62
 -, -, var. *obscurum*, 62
 -, -, var. *vulgare*, 62
 -, *lethale*, 62
 -, *tabaci*, var. *obscurum*, 62
 -, -, var. *vulgare*, 62
Marmoraceae, 62
 MARTIN, L. F., 73, 74, 117
 MARTON, L., 24, 117
 MASSEE, A. M., 92, 117
 MASTENBROEK, C., 33, 117
 MAYER, A. E., 7, 37, 44, 53,
 75, 117
 mazelen, 8, 35
 MCCARTHY, M., 83, 109
 McCLEMENT, W. D., 119
 McCLINTOCK, J. A., 49, 117
 McKINNEY, H. H., 34, 36,
 38, 40, 53, 54, 73, 74, 89,
 94, 112, 114, 117, 118
 McWHORTER, F. P., 58, 118
 mechanische overbrenging,
 44, 45, 64
 -, door insecten 49, 50
 MELCHERS, G., 68, 71, 73,
 75, 118
Melilotus alba, tumoren, 31,
 107
 meloen, 84
 MERRE, L. J. DE, 10, 122
 methionine, 74
 mond- en klauwzeervirus, 8,
 10, 14, 35, 76
 MOOI-BOK, M. B., 43, 118
 MORREN, E., 46, 118
 MORTON, G. A., 24, 125
 mozaiek, 7
 MUDD, S., 8
 MULVANIA, N., 11, 118
 MURPHY, P. A., 52, 112
 mutatie van viren, 38-41
Myzus convolvuli KALT., 107
 -, *ornatus* LAING., 53
 -, *persicae* SULZ., 48-53, 67,
 92, 97, 98, 107
 -, *pseudosolanii* THEOB., 49
 Narcis, het bruin, 18, 105
 -, het grijs, 18, 105
 -, virusziekten, 18, 59, 105
 -, zilverblad, 18, 105
 natriumsulfiet, 89
 NATTRASS, R. M., 47, 118
 NEGER, F. W., 9, 118
 NELSON, R., 83, 118
Nephotettix apicalis, 48, 49
Nicandra physaloides, 63
Nicotiana, alata, 34
 -, *benthamiana*, 34
 -, *digluta*, 94
 -, *glauca*, 63
 -, *glutinosa*, 34, 36, 45, 46,
 60, 63, 94
 -, *maritima*, 34
 -, *repanda*, 34
 -, *rustica*, 34, 36, 69, 90, 91
 -, *sanderacae*, 34
 -, *sylvestris*, 60
 -, *tabacum*, 63
 NIEMANN, C., 76, 110
 nitro-cellulose, 12
 NOLLA, J. A. B., 35, 94, 118
 non-persistente viren, 52
 NORTHROP, 75
 nucleinezuur, 10
 nucleoproteïden, 68, 76
 Oculatie, 46-48
 OESTERLE, P., 8, 118
 OGILVIE, L., 103, 124
 OLITSKY, P. K., 8
 OORTWIJN BOTJES, J. G., 48,
 54, 59, 67, 93, 95, 98, 118,
 120
 OOSTERKAMP, W. J., 24, 112
 ORLANDO, A., 46, 118
Orobanche minor, 73
 OSTER, G., 28, 118
 overbrenging door insecten,
 48
 overgang van virus, met stuif-
 meel, 83
 -, met zaad, 83, 84
 overgevoeligheid, 94
 oxidase, 73
 Paardebloem, geelmozaiek-
 virus, 44
 pancreas, 75
 papaïne, 76
 parakristallen, 19
 parenchym, 81
 passieve immunisering, 95
Passiflora edulis, „woodi-
 ness”, 47, 100
 PASTEUR, L., 8
 PAULI, W., 14, 118
 PAVGI, M. S., 84, 124
Pentatrichopus fragaefolii
 CKLL, 92
 pepsine, 76
 pepsinogeen, 76
Peregrinus maidis ASHM., 51
 peroxydase, 73
 PERROT, L., 54, 121
 persistente viren, 52
 perzik, „little peach”, 90
 -, mozaiek, 96
 -, „phony peach”, 101
 -, „red suture”, 90, 101
 -, „rosette”, 46, 90, 101
 -, X-ziekte, 91, 105
 -, „yellows”, 46, 90, 101
 PETRE, A. W., 11, 124
Petunia, 63, 82, 84
 PFANKUCH, E., 13, 20, 24,
 116, 118, 119
Phaseolus vulgaris, 45, 81
 -, bepaling activiteit van ta-
 baksmozaiekvirus met, 69
 phloëem, 50, 51, 81
 -, -necrose, 32
 phlox, 11
 pH-traject van virusactivi-
 teit, 90
Phyllotreta-soorten, 50, 106
Physalis, 63
Phytolacca, decandra, 41
 -, sap, 86
Phytophagi, 62
 PIRIE, N. W., 9-11, 18, 20-
 24, 26, 27, 64, 74, 75, 77,
 87, 110, 119
 PIRSCHLE, K., 82, 119, 125
 PLANK, J. E. VAN DER, 98,
 119
 plasmagenen, 9, 83
 plasmodesmen, 80
 plastiden, 83
 plastogenen, 83
 Pneumococcen, 83
 pokkenvirus, 8, 10, 14, 26
 POOLE J. B. LE, 24, 25, 112,
 119,
 POSNETTE, A. F. 104, 119
 precipitatie-reactie, 16
 premunisering, 95
 premunitieit, 54-60
 PRENTICE, I. W., 105, 111
 PRICE, W. C., 22, 45, 54, 57,
 59, 64, 70, 78, 103, 111,
 119, 122
 PRIODE, C. N., 33, 119

- „protective substances”, 69, 70
 proteïnasen, 76, 77
 proteïne, 10
 proteolytische enzymen, 72
 pro-zône-effect, 16, 17
Prunus, serotina, 91
 -, *virginiana*, 105
Pseudococcus-soorten, 104
Ptelea, 46
 Pteridophyten, 30
 PURDY BEALE, H., 15, 45, 119, 125
- QUANJER, H. M., 6, 32, 33, 37, 48, 53, 54, 62, 64-67, 92, 93, 98, 102, 106, 119, 120
- Raap, geelmozaïek („turnip yellow mosaic”), 106
 -, -, overbrenging door insecten, 50
 -, zuivering geelmozaïekvirus, 22
- RADER, W. E., 84, 120
 RAMBERG, E. G., 24, 125
 RAWLINS, T. E., 26, 27, 44, 120, 123
 REDDICK, D., 33, 83, 120
 REIS, J., 120
 resistentie, 94
Rhopalosiphum vastator, 48
 ribose-nucleoproteïden, 83
 RIVERS, T. M., 8, 120
 ROBERTS, F. M., 37, 51, 52, 64, 110, 120, 125
 ROCHA-LIMA, H. DA, 120
 ROGUE, A., 118
 ROLAND, G., 93, 120
 Röntgenstralen, 13, 28
 roodvonk, 35
Rosaceae, 45, 61
 ROSS, A. F., 87, 120
 Rous-sarcoomvirus, 14
 ROZENDAAL, A., 53, 64-67, 85, 100, 102, 106, 120, 124
 RUSKA, H., 24, 29, 116
 RÜTTE, W. A. LE, 24, 25, 121
 rijst, dwergziekte, 48, 49, 101
- SADASIVAN, T. S., 54, 60, 70, 71, 74, 75, 78, 121
 SAKIMURA, K., 43, 121
 SALAMAN, R. N., 54, 57, 64, 108, 121
 salpeterigzuur, 87
 SAMSON, R. W., 82, 116
 SAMUEL, G., 75, 79, 80, 89, 121
- scheiding van viren, 22, 41, 42
 SCHRAMM, G., 68, 71, 73-75, 111, 118
 SCHREVEN, D. A. VAN, 96, 121
 SCHWEIZER, J., 47, 121
 sedimentatie, -constante, 13, 14
 -, -snelheid, 13, 14
 -, van virusdeeltjes, 13
 SEIN, F., 44, 121
 selderij, „southern celery mosaic”, 101
 -, „western celery mosaic”, 101
 SELMAN, I. W., 37, 80, 121
 sensibilisatie, 17
 SERGENT, E., 54, 121
 serologie, 15-18
 serologische activiteit, 86-88
 serum, 16
 SEVERIN, H. H. P., 8, 121
 „shadowcasten”, 26
 SHAW, H. B., 48, 121
 SHEFFIELD, F. M. L., 27, 112
 SIGURGEIRSSON, T., 28, 121
 SILBERSCHMIDT, K., 46, 118, 120
 sla, mozaïek, 101
 -, -, overbrenging door sprinkhanen, 50
 -, overgang virus met zaad, 33, 84
 SLOGTEREN, E. VAN, 15, 46, 58, 59, 64, 93, 105, 111, 121
 SMEE, 48
 smetstofdrager, 93, 94
 SMITH, E. F., 46, 121
 SMITH, K. M., 10, 22, 33, 35, 37, 39, 40, 43, 49, 50, 62, 64, 67, 84, 100, 103, 106, 107, 117, 119, 121, 122
 SMITH, L. B., 49, 117
Solanum, atropurpureum, 63
 -, *laciniatum*, 63
 -, *miniatum*, 63
 somatische antigenen, 27
Sorbus, 46
 spekselschede, 50
 SPENCER, E. L., 37, 45, 71-73, 119, 122
Spermaphytophagi, 62
 spinazie, mozaïek, 49, 101
 Spirochaeten, 8
 SPOONER, E. F. C., 87, 110, 119
 spreidsymptomen, 33
 STAHL, C. A., 8, 118
- STAHL, C. F., 48, 111, 122
 STANLEY, W. M., 10, 11, 14, 26-28, 40, 64, 77, 87, 88, 117, 120-122
Stellaria media, 39
 STEWART, V. B., 33, 120
 STODDARD, E. M., 86, 91, 105, 122
Stomatitis vesiculosa, 10
 STOREY, H. H., 50, 51, 53, 64, 122, 123
 STUBBE, H., 13, 28, 40, 116, 119
 suikerriet, „chlorotic streak”, 30, 91
 -, Fiji-ziekte, 30, 101
 -, gelestrepenziekte, 49, 101
 -, mozaïek, 44, 85, 93
 -, sereh, 30, 90, 95, 101
 SUKHOV, K. S., 50, 123
 SVEDBERG, T., 13, 14
 Svedberg-eenheid, 14
 SWARBRICK, T., 103, 124
 SWEZY, O., 8, 121
 symptomen van virusziekten, 31-33
 -, invloed van uitwendige omstandigheden op, 36-38
 -, variabiliteit van, 35-38
Synedrella nodiflora, 92, 97
 „systemic infection”, 33
- Tabak, Ambalema, 35, 94
 -, aucubamozaïek, 60, 70
 -, bestrijding van virusziekten, 96-98
 -, „bleaching mosaic”, 101
 -, „curly top”-virus van biet in, 57
 -, „etch”, 52, 57, 101
 -, krekoh, 47, 101
 -, kroepoek, 47, 101
 -, kromnekiekte, 98, 101
 -, „mild mosaic”, 101
 -, perforatieziekte, 97
 -, ratelziekte, 31, 53, 106
 -, „ringspot”, 33, 39, 59, 70, 78, 101
 -, „rosette”, 52, 106
 -, Rotterdam-B-ziekte, 42, 56, 101
 -, „speckled mosaic”, 101
 -, „streak”, 42
 -, wit mozaïek, 43
 tabaksmozaïek, 18, 32, 35, 43, 44, 46, 54, 58, 101
 -, invloed van temperatuur op symptomen, 36
 -, zetmeelophoping in zieke tabak, 8

- tabaksmozaïekvirus, 26-30, 34, 36, 41, 42, 59, 70-72
 -, beweging in de plant, 79, 80
 -, desinfectantia tegen, 96
 -, filtreerbaarheid van, 7, 8
 -, gehalte in tabaksplanten, 68, 69
 -, grootte der deeltjes, 14
 -, inactivering, 87-89, 96, 97
 -, „masked strain”, 39
 -, mutanten, 13
 -, ontstaan van echte kristallen *in vitro*, 30
 -, overblijven in de grond, 53
 -, overbrenging door bladluizen, 49
 -, premuniteit, 55-57, 60
 -, quantitative bepaling, 45
 -, verspreiding door de plant, 79
 -, waardplanten, 61
 -, zuivering, 18, 19, 21
 tabaksnecrose, 37, 42, 88, 100
 -, -viren, zuivering, 22-24
 tabaksviren, classificatie, 61-63, 65-67, 108
 -, overgang met zaad, 84
 -, toetssortiment, 38
 -, verspreiding in de aanplant, 85
Tacsonia, 47
 TAKAHASHI, W. N., 26, 28, 72, 123
 TAKAMI, N., 48, 123
 TAKATA, K., 48, 123
 tanninezuur, 87
 tarwe, mozaïek („rosette”), 53, 101
 TATE, H. D., 50, 112
 temperatuur, invloed op symptomen, 34
 thermaal inactiveringspunt, 88, 89
 thioureum, 89
 THOMAS, H. E., 103, 123
 THORNBERRY, H. H., 87, 123
Thrips, overbrenging van „spotted wilt”, 52
 THUNG, T. H., 9, 10, 18, 29, 36, 47, 54, 55, 57, 64-67, 72, 85, 92, 97, 108, 109, 120, 123
 thymusnucleïnezuur, 42
 titer van antiserum, 15
 TJALLINGH, F., 36, 103, 123
 toetssortiment, 35-38
 tolerantie, 94
 tomaat, „bushy stunt”, 37, 42, 44, 101
 tomaat, „bushy stunt”, -virus, inactivering, 88
 -, -, -, zuivering, 20, 21
 -, „curly top”-virus van biet in, 57
 -, mozaïek, 37, 42, 82
 -, overgang virus met zaad, 33, 84
 -, premunisering tegen „curly top”, 95
 -, „spotted wilt”, 44, 52, 101
 -, „streak”, 42
 -, varenblad („fern leaf”), 31, 82
 TOMPKINS, C. M., 37, 44, 120, 123
 TOPLEY, W. W. G., 15, 124
 TOWNSEND, C. O., 48, 124
 trachoom, 35
 transport van smetstof, 78-81
Trifolium-virus 1, 107
 trypsiene, 19, 73, 86
 tryptofaan, 74
 tulp, mozaïekziekte, 18, 31, 46, 58, 93, 101
 tyrosine, 74
 Ui, mozaïek, 50, 101
 uitwendige omstandigheden, invloed op symptomen, 36-38
 ultracentrifuge, 13, 14
 ultrafiltratie, 12, 14
 ultramicroscoop, 33
 ultraviolet licht, 87, 88
 Vaccinia-virus, 10
 VALKÓ, F., 14, 118
 VALLEAU, W. D., 57, 59, 62, 64, 78, 89, 124
 VANCE, A. W., 24, 125
 VASUDEVA, R. S., 84, 124
 veenbes, „false blossom”-virus, 44, 102
 VERHOEVEN, W. B. L., 35, 93, 95, 98, 124
Vernonia cinerea, 92, 97
 verspreiding van virusziekten door insecten, 48-53, 92
Vicia faba, 85
Vigna sinensis, 43
Vinca rosea, 43, 90
 VINSON, C. G., 11, 86, 117, 124
 viren, als verworpen bacteriën, 9, 10
 -, eigenschappen, 33
 viro-plasma-theorie, 82
 virus, als enzym, 9
 -, als toxine, 9
 -, bewaring *in vitro*, 89
 -, chemische analyse, 10
 -, definitie van, 7, 8
 -, filtreerbaarheid, 7, 8, 33
 -, gezuiverd, 11
 -, grootte van, 10, 14
 -, inactivering en inactivatoren, 69, 84, 86
 -, inactivering *in vivo*, 90-91
 -, overgang met zaad, 33
 -, synthese, 11, 68-78
 -, verandering *in vitro*, 40
 -, vermeerdering, 68-78
 -, -, in insecten, 51
 -, versterking van, 39
 -, verzwakking van, 39
 -, zuivering, 18-24
 virusdeeltjes, aggregatie, 26, 27
 -, vormen, 26
 virus-eiwit, iso-electrisch punt 19
 -, scheiding van normaal eiwit, 73
 virusziekten, bestrijding, 91
 -, diagnose, 31
 VOELCKER, O. J., 104, 124
 WALKER, M. N., 50, 112
 WALLACE, H. E., 52, 110
 WALLACE, J. M., 47, 69, 70, 95, 104, 124
 WALLACE, T., 103, 124
 WANT, J. P. H. VAN DER, 18, 53, 85, 102, 104, 106, 109, 120, 124
 warmtebehandeling, 90, 91
 waterstofperoxyde, 87
 WATSON, M. A., 52, 64, 124, 125
 WEBB, R. W., 54, 125
 WEBER, H., 51, 125
 weefselculturen, 78
 WESTERDIJK, J., 84, 125
 WETTSTEIN, F. VON, 82, 125
 WHIPPLE, O. C., 52, 113
 WHITE, P. R., 78, 125
 WIEBOLS, G. L. W., 53, 125
 WIERINGA, K. T., 53, 125
 WILBRINK, G., 49, 85, 86, 90, 125
 WILSON, G. S., 15, 124
 WILSON-VICKERY, 48
 witte honigklaver, „wound tumour disease”, 107
 witte klaver, mozaïek, 107
 WOODS, A. F., 8, 37, 75, 125

- WOODS, M. W., 37, 72, 89, 112, 125
 WYCKOFF, R. W. G., 14, 27, 64, 111, 125
 X-bodies, 61
 X-stralen, 87, 88
- xanthophyl, 9
- YOU DEN, W. J., 45, 125
- Z AUM EYER, W. J., 94, 103, 125
 zetmeel, 42
- , -ophoping, 8
 zogen, 47
 zuivering van virus, 18-24
 zwarte bes, netelblad („re-
 version disease”), 31, 102
 ZWORYKIN, V. K., 24, 125

