

günstigen klimatischen Voraussetzungen wieder den ersten erkennbaren Befall hervorruft. Falls sich die Befallsprognose in derartigen schütteamnen Jahren nur auf den Zustand der Apothezien an frischen Nadeln stützt (Rack 1958), wären Fehler allerdings kaum zu vermeiden.

Die aus der Beobachtung des Keimverlaufs erzielten Resultate sind für die Praxis nicht von unmittelbarem Interesse. Für die Technik der Laboratoriumsinfektion ist es jedoch wichtig zu wissen, daß nicht die zuerst abgeworfen, sondern die zwischen 36 und 48 Stunden nach dem Exponieren entlassenen Sporen die schnellste Entwicklung durchlaufen und deswegen den größeren Infektionserfolg versprechen. Schließlich werden Fälle beschrieben, bei denen die Inkubationszeit des Pilzes nicht länger dauerte als 6 Wochen.

Summary

Observations on the biology of *Lophodermium pinastri*

Germination tests of *Lophodermium* spores led to the conclusion that the spores are flung off all the year round, but from the end of April to the end of July they fail to germinate and frequently show a typical form of disturbance. According to the favourable climatic infection conditions,

often occurring in March and April it is suggested to investigate the possibilities of a springtime *Lophodermium*-attack.

There are differences in the germination time and vigour between spores, flung off by the same fruiting-bodies in the course of 8—10 days. The spores leaving the apothecia between 36 and 48 hours after exposal are most vigorous.

Field observations and first results of inoculation experiments imply that the incubation period of *Lophodermium* occasionally does not last longer than 4—6 weeks.

Literatur

- Fischer, W.: Zur Föhrenschütte *Lophodermium pinastri*. Schweiz. Zeitschr. Forstwes. 108. 1957, 260—270.
 Haack: Der Schüttepilz der Kiefer. Zeitschr. Forst- u. Jagdwes. 43. 1911, 329—357, 404—423, 481—505.
 Langner, W.: Über die Schüttekrankheit der Kiefernadel (*Pinus silvestris* und *Pinus strobus*). Phytopath. Zeitschr. 5. 1933, 625—60.
 Langner, W.: Reziprok unterschiedliches Verhalten von Lärchenbastarden gegen eine Nadelerkrankung. Zeitschr. Forstgenetik 1. 1952, 78—81.
 Rack, K.: Wo und wann muß die Kiefernschütte bekämpft werden? Forstschutz-Merkbl. d. Niedersächs. Forstl. Versuchsanst. Nr. 8. 2. Aufl. 1958.
 Schütt, P.: Über Aussichten und erste Maßnahmen einer züchterischen Bekämpfung der Kiefernschütte. Allgem. Forstzeitschr. 12. 1957, 13—15.

Eingegangen am 17. August 1959

DK 632.38.095 Tabak-Rattle + Spraing

Die Viren des Kartoffel-Stengelbunt (Tabak-Rattle) und der Pfropfenbildung (Spraing). Eine Stellungnahme zur Frage ihrer Verwandtschaft

Von Erich Köhler, Braunschweig

Die in der Überschrift genannten Viren haben so vieles gemeinsam, daß die Vermutung ihrer nahen Verwandtschaft schon seit längerer Zeit besteht (s. insbesondere Noordam 1956). Durch Untersuchungen aus jüngster Zeit wird diese Vermutung noch bekräftigt (Brandenburg, Eißner und Tostmann 1959; Cadman 1959). Die Infektion geht bei beiden Krankheiten vom Boden aus. Die Übertragung durch Saftverimpfung gelingt beim Virus des Stengelbunt in der Regel leicht, unsicher ist sie dagegen mit dem Virus der Pfropfenbildung.

Daß zwischen der Pfropfenbildung und der Eisenfleckigkeit nahe Beziehungen bestehen und welcher Art sie sind, hat Lihnell (1958) gezeigt: Eisenfleckigkeit*) entsteht nach seiner Untersuchung dann, wenn das Pfropfenkrankheitsvirus durch den Stolon in die Knollen vordringt, sie stellt also in der Regel ein sekundäres Krankheitsstadium dar. Das primäre Krankheitsstadium ist die Pfropfenbildung, die eine Folge des direkten Eindringens des Virus aus dem Boden in die Knollenperipherie ist.

Wie soll man sich nun die Beziehungen zwischen Pfropfenkrankheit und Stengelbunt vorstellen?

Nach meinen früher in dieser Zeitschrift mitgeteilten Untersuchungen (1956) über das Stengelbuntvirus erzeugt dieses beim Tabak zwei Krankheitstypen, einen mit vollsystemischer und einen anderen mit halbsystemischer Erkrankung. Beide Erkrankungsformen können an der wachsenden Pflanze ineinander umschlagen, wobei allerdings der Übergang von der vollsystemischen zur halbsystemischen Form weit abrupter und auch offenbar leichter erfolgt als der umgekehrte Vorgang.

*) Nicht zu verwechseln mit der weitverbreiteten „physiogenen“ Eisenfleckigkeit.

Brandenburg und Mitarbeiter haben das Vorkommen der beiden Typen bestätigt. Darüber hinaus stießen sie auf eine sehr merkwürdige Erscheinung. Wenn sie nämlich unverdünnten oder nur schwach verdünnten Saft aus vollsystemisch erkrankten Tabakpflanzen weiterverimpften, so erhielten sie stets wieder den vollsystemischen, wenn sie jedoch den Saft stärker verdünnten, den halbsystemischen Erkrankungstyp. Eine Deutung für dieses seltsame Verhalten gaben sie nicht.

Der Befund legt nun aber meines Erachtens die Annahme nahe, daß ihr Saft (mindestens) zweierlei infektiöse Partikeln enthielt, nämlich solche, die am Tabak vollsystemische Erkrankung bedingen — wir wollen sie „v-Partikeln“ nennen — und andere, die halbsystemische Erkrankung bedingen („h-Partikeln“). Bei der Verimpfung des unverdünnten Saftes können sich die vorhandenen h-Partikeln, vornehmlich wohl wegen der rasch erfolgenden Prämunisierung des befallenen Gewebes durch die sich schneller vermehrenden v-Partikeln, nicht durchsetzen oder jedenfalls nur wenig zur Geltung bringen. Erst wenn sie für sich allein Infektionen hervorrufen können, fällt diese Hemmung weg, und der rein halbsystemische Erkrankungstyp kommt zustande.

Es erhebt sich die Frage, ob sich etwa das Virus der Pfropfenbildung ganz allgemein von Linien aus h-Partikeln des Stengelbunt-Virus herleitet; diese könnten die Befähigung zur Hervorbringung von v-Partikeln — wenigstens auf der Kartoffel — ganz oder teilweise verloren haben. Diese Theorie ließe sich vermutlich mit Hilfe serologischer Tests auf ihre Richtigkeit prüfen, wozu diese Zeilen anregen möchten. Mir sind keine Befunde bekannt, die mit dieser Theorie ernstlich in Widerspruch stünden.

Literatur

- Brandenburg, E., Eibner, R., und Tostmann, R.: Untersuchungen über die Eisenfleckigkeit-Pfropfenbildung der Kartoffel als bodengebundene Viruskrankheit. Mitt. Biol. Bundesanst. **97**. 1959, 37—51.
- Cadman, C. H.: Potato stem mottle disease in Scotland. Europ. Potato J. **2**. 1959, 165—175.
- Köhler, E.: Über eine reversible, durch die Jahreszeit induzierte Virulenzänderung beim Tabak-Rattle-Virus.

Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzdienst (Braunschweig) **8**. 1956, 93—94.

- Lihnell, D.: Investigations on spraing. Proc. 3rd Conf. Potato Virus Dis. Lisse-Wageningen 1957. Wageningen 1958, p. 184—188.
- Noordam, D.: Waardplanten en toetsplanten van het ratelvirus van de tabak. Tijdschr. Plantenziekt. **62**. 1956, 219—225.

Eingegangen am 12. Januar 1960

DK 632.38.093.38

Bedeutung und Technik der Reindarstellung von Pflanzenviren

Von Hans-Ludwig Paul

Biologische Bundesanstalt, Institut für Landwirtschaftliche Virusforschung, Braunschweig

Die Erforschung einer Pflanzenvirose beginnt im allgemeinen mit dem Studium der Symptomatologie sowie der Übertragungsmöglichkeiten und des Wirtspflanzenkreises ihres Erregers. Läßt sich die Virose mechanisch durch Einreiben geeigneter Organe mit dem Virus auf eine Pflanze übertragen, dann können auch die Inaktivierungstemperatur, die Lebensdauer und der Verdünnungsendpunkt des Erregers im Preßsaft einer Wirtspflanze festgestellt werden. Bei derartigen Versuchen wird kein gereinigtes, konzentriertes Präparat des betreffenden Virus benötigt. Sollen aber zu seiner näheren Beschreibung und Identifizierung chemische und physikalische Untersuchungen angeschlossen werden, dann ist eine Reindarstellung und Konzentrierung unerlässlich. Den erforderlichen Grad der Reinheit bestimmt dabei die Art der geplanten Versuche. Bei Analysen der Aminosäurezusammensetzung o. ä. muß er möglichst hoch getrieben werden, während ein nur teilweises Säubern des Virus von Wirtspflanzensubstanzen für manche anderen Zwecke, z. B. für die Herstellung von Antisera, ausreichen kann. Da somit für viele Versuche gereinigte und konzentrierte Viruspräparate notwendig sind, ist die Reindarstellung ein zentrales Problem. Das macht es verständlich, daß die leicht und in größeren Mengen in reiner Form zu gewinnenden Viren, wie etwa das Tabakmosaikvirus, das Gelbmosaikvirus der Wasserrübe oder das Südliche Bohnenmosaikvirus, auch die am besten untersuchten sind, während diejenigen, deren Reindarstellung bislang nicht gelungen ist, meist nur in den eingangs erwähnten Punkten erforscht sind.

Soweit bisher bekannt, stellen die phytopathogenen Viren reine Ribonukleoproteide dar. Der Träger des genetischen Code, der zur Vermehrung des Virus in einer Wirtszelle nötig ist, dürfte die Ribonukleinsäure sein, da sie allein genügt, um eine Infektion zu erzeugen. Dem Protein wird nach dem Stande unseres heutigen Wissens lediglich eine Schutzfunktion zugeschrieben. Wie oftmals bei biologischem Material, sind die meisten Viren wärmeempfindlich und verlieren ihre Infektiosität auch bei längerem Aufbewahren und bei groben chemischen oder physikalischen Eingriffen. Die Darstellungsmethoden müssen diese Faktoren berücksichtigen, aber doch ermöglichen, die Viren von den oft recht ähnlichen pflanzeigenen Substanzen zu trennen. Ein Reinigungsschema, das immer in gleicher Weise angewendet werden kann, gibt es nicht; in jedem Falle bestimmen Virus und Wirtspflanze die Einzelheiten der Verarbeitung. Es sollen deswegen auch nicht die zahlreichen Präparationsanleitungen für die bislang erfolgreich behandelten Viren aufgeführt (hierfür s. z. B. die neue Zusammenstellung von Steere, 1959), sondern nur allgemeine Anhaltspunkte über die wesentlichen, fast stets notwendigen Schritte gegeben werden. Daran seien dann einige kritische Bemerkungen über den erreichbaren Grad der Reinheit angeschlossen.

Schon vor der Präparation sind, wenn es das Material erlaubt, folgende Punkte zu beachten: a) Es sollen möglichst nur solche Wirtspflanzen gewählt werden, in denen sich das Virus gut vermehrt und eine hohe Konzentration erreicht; b) die Wirtspflanzen sollen leicht zu kultivieren sein, rasch wachsen und wenig holzige oder faserige Gewebe enthalten; c) die Wirtspflanzen sollen möglichst keine inaktivierenden Substanzen (z. B. Gerbstoffe), Schleime, melaninbildende Stoffe oder virusähnliche Nukleoproteide enthalten. Lassen sich diese Forderungen nicht erfüllen, dann wird die Präparation erschwert, und es müssen besondere Maßnahmen ergriffen werden, die eine Reindarstellung ermöglichen oder zu große Verluste an Virus verhüten. Die Reinigung selbst beginnt mit dem Auspressen oder Homogenisieren des Wirtspflanzengewebes (meist Blätter), denn das Virus läßt sich nur durch Zerstören der Zellen aus dem Gewebe herauslösen. Beim Auspressen des Gewebes ist oft ein vorheriges Einfrieren und Tauen vorteilhaft, denn hierdurch kann nicht nur der Saft leichter gewonnen werden, sondern es werden zugleich mancherlei pflanzeigene Stoffe zerstört und lassen sich später einfacher vom Virus abtrennen. Es ist aber zu bedenken, daß manche Viren dadurch ebenfalls geschädigt werden oder daß u. U. die Virusausbeute verringert wird. Beim Homogenisieren ist hingegen frisches Gewebe vorteilhafter. Welches von beiden Verfahren zu bevorzugen ist, hängt außer von der Virus-Wirt-Kombination auch von der Menge des zu verarbeitenden Materials ab.

Im Preßsaft bzw. Homogenisat befindet sich das Virus nicht mehr in seiner natürlichen Umgebung, sondern ist zahlreichen schädigenden Einflüssen ausgesetzt. Zwar gibt es einige robuste Virusarten, denen diese nicht abträglich sind, doch die Mehrzahl der Viren ist labiler und wird bald inaktiviert. Aus diesem Grunde empfiehlt es sich, den Preßsaft schnell und, wenn nötig, bei Temperaturen unter 10°C zu verarbeiten. Zusätze von Pufferlösungen, enzymblockierenden Stoffen oder Antioxydantien wirken häufig günstig, indem sie die Reinigung erleichtern oder die Beständigkeit des Virus im Saft erhöhen.

Der trübe, meist grüne Saft muß zuerst von groben Verunreinigungen befreit werden. Das kann durch Zentrifugation oder Filtration geschehen. Anschließend werden die grünen Farbstoffe und zugleich ein Teil der Eiweiße der Wirtspflanzen entfernt. Am einfachsten gelingt das bei temperaturstabilen Viren (z. B. Tabakmosaikvirus, Rattlevirus). Der virushaltige Saft braucht lediglich im Wasserbad für einige Minuten auf etwa 60°C erhitzt zu werden, dann koagulieren die Farbträger und ein Teil der Eiweißstoffe und flocken aus. Nach dem Abkühlen wird das Präzipitat abzentrifugiert. Der bräunliche Überstand enthält das Virus, während das Sediment verworfen wird. Bei temperaturlabilen Viren hat sich neben anderen Verfahren besonders das Aus-