

## ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER KARTOFFEL-VIREN

### I. VERMESSUNGEN AN TEILCHEN DES KARTOFFEL-X-VIRUS\*

von

O. BODE UND H. L. PAUL

*Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Virusforschung,  
Braunschweig (Deutschland)*

Die Ergebnisse der sehr zahlreichen elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Virusteilchen während der letzten Jahre machen es wahrscheinlich, dass für jede Virusart bestimmte Partikelformen und charakteristische Längenverteilungen bestehen. Diese morphologischen Daten könnten eine wichtige Stütze für die systematische Einreihung der Viren sowie für deren Diagnostizierung in erkranktem Material abgeben. Von den stäbchenförmigen Viren ist vor allem das Tabakmosaik-Virus vermessen worden; seine Masse von  $280 \times 15 \text{ m}\mu$  dürften nach den in der Literatur verzeichneten Angaben nunmehr als gesichert gelten (SCHRAMM UND WIEDEMANN<sup>1</sup>). Demgegenüber war die Streuung der Teilchenlängen des Kartoffel-X-Virus entweder, wohl infolge der chemischen Präparation, gross oder aber es ist wie z.B. bei KLECKOWSKI UND NIXON<sup>2</sup> auf eine Längenbestimmung vollständig verzichtet worden.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Partikellängen von sechs verschiedenen Stämmen des Kartoffel-X-Virus elektronenmikroskopisch ermittelt. Die Messungen sollten gleichzeitig feststellen, ob gesicherte Längenunterschiede zwischen den Teilchen verschiedener Stämme bestehen.

#### METHODIK

Wir benutzten die Exsudatmethode nach JOHNSON<sup>3</sup> um möglichst ein heitliche Präparate zu erzielen und Veränderungen durch chemische Präparation bzw. Zentrifugation zu vermeiden. Die Technik besteht darin, dass abgeschnittene, virusinfizierte Tabakpflanzen in eine Vorrichtung eingespannt werden, die es gestattet, Wasser in den Stengel zu pressen. Wird ein Stück der Blattlamina parallel zur Mittelrippe abgetrennt, so treten aus den angeschnittenen Leitbahnen klare Tröpfchen aus, die sich direkt auf die Kolloidumfolie des elektronenmikroskopischen Trägers aufbringen lassen. Die Präparate waren sehr sauber und enthielten im allgemeinen zahlreiche Teilchen des X-Virus. Nach dem Eintrocknen der Tröpfchen wurde mit Platin schräg bedampft.

Die Untersuchungen wurden mit einem elektrostatischen Gerät der Firma C. Zeiss (Type EM 8/2) ausgeführt. Dieses Gerät bietet auf Grund seines Aufbaues den Vorteil konstanter Vergrösserungsstufen. Die exakte Bestimmung der absoluten Vergrösserung des Elektronenmikroskops wurde mit Hilfe einer Lochblende in der von SCHRAMM UND WIEDEMANN<sup>1</sup> angegebenen Art vorgenommen. Die Mehrzahl der Präparate wurde bei einer elektronenmikroskopischen Vergrösserung

\* Die Deutsche Forschungsgemeinschaft stellte in dankenswerter Weise Mittel zur Durchführung der Arbeit zur Verfügung.

Literatur S. 345.

von 5397-fach photographiert. Diese Aufnahmen wurden dann durch Projektion auf eine Gesamtvergrösserung von genau 40,000  $\times$  gebracht und vermessen. Der Fehler der Messungen lag bei etwa 5%. Untersucht wurden 6 verschiedene Stämme des X-Virus, und zwar war die Auswahl so getroffen, dass sowohl Stämme der X<sup>E</sup>-Gruppe (Bm u. Cs 35/50) als auch der X<sup>N</sup>-Gruppe (Fl<sub>4</sub>, H<sub>19</sub> m, Al u. T<sub>10</sub>) präpariert wurden (KÖHLER<sup>4</sup>). Innerhalb jeder dieser Gruppen befanden sich Stämme verschiedener Virulenz.

#### ERGEBNISSE

In der Fig. 1 sind die Ergebnisse der Teilchenmessungen für die einzelnen Stämme wiedergegeben. Die Klassenbreite beträgt 12.5 m $\mu$ , obwohl die Fehlergrenze eine grössere gerechtfertigt hätte. Die geringe Klassenbreite sollte jedoch feinere, wenn auch evtl. ungesicherte Abstufungen erkennbar machen. Für alle Stämme ist eine deutliche Massierung der Werte im Bereich 480–560 m $\mu$  erkennbar. Nur selten wurden Teilchen gefunden die ausserhalb dieser Grenzen lagen. Auch die doppelte Teilchenlänge stellte nur einen verschwindenden Anteil der Gesamtteilchenzahl dar. Kleinere Partikellängen als die Normallänge, etwa infolge von Brüchen, wurden ebenfalls nur selten beobachtet,

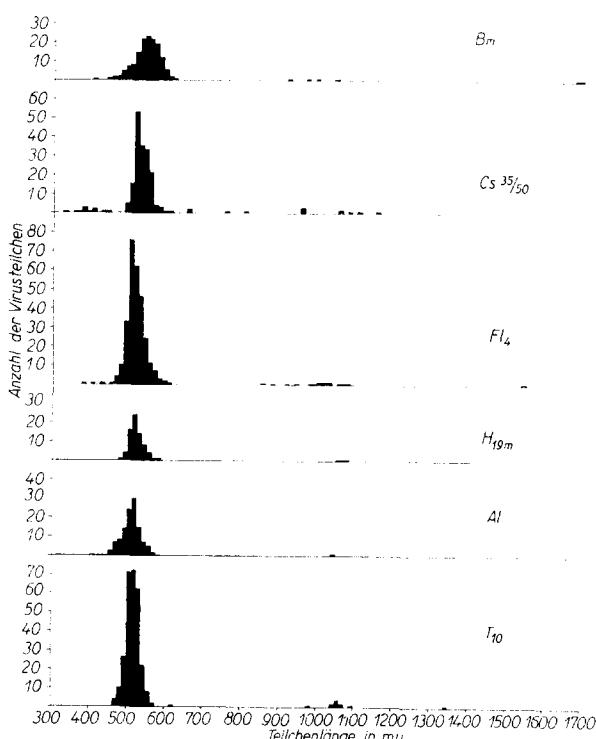


Fig. 1.

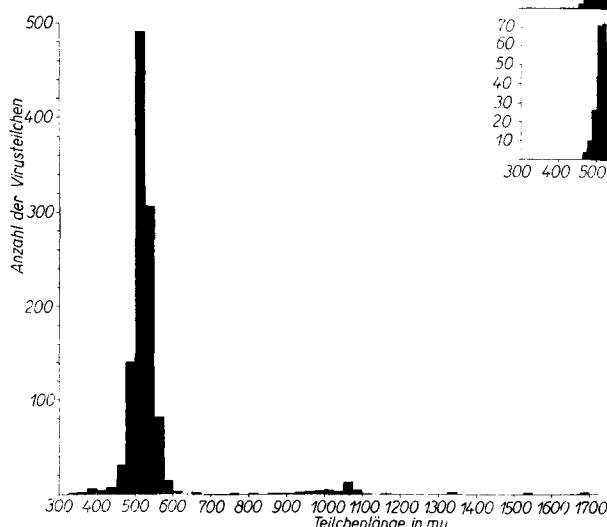


Fig. 2.

genunterschied zwischen den Teilchen der verschiedenen Stämme besteht.

Wir glaubten deshalb, in Fig. 2 alle Messergebnisse zusammenfassen zu können.

obwohl in der Auswertung sämtliche Partikelgrössen gleichmässig berücksichtigt wurden. Die Zahl der gemessenen Teilchen betrug für Stamm Bm 156, für Cs<sub>35/50</sub> 196, für Fl<sub>4</sub> 300, für H<sub>19</sub> m 76, für Al 114 und für T<sub>10</sub> 289. Aus den Verteilungskurven ist ersichtlich, dass das Maximum für alle 6 Stämme etwa an der gleichen Stelle liegt, so dass kein gesicherter Län-

Die Darstellung setzt sich aus insgesamt 1131 Einzelmessungen zusammen. Die Klassenbreite ist im Gegensatz zu Fig. 1 auf 25 m $\mu$  erweitert, um der Fehlergrösse Rechnung zu tragen. Im Bereich 500–525 m $\mu$  liegen 43% aller Teilchen; im Bereich von 525–550 m $\mu$  27% und im Bereich 475–500 m $\mu$  12%. Die überwiegende Zahl der Teilchen des X-Virus besass demnach eine Länge von 500–525 m $\mu$ . Diese eindeutige Form der Verteilungskurve ist sicherlich eine Folge der schonenden und schnellen Präparation, bei der Aggregationen und Brüche der Virusteilchen wesentlich seltener sind als bei chemischen Präparationsmethoden. Somit scheint der Schluss gerechtfertigt, dass eine Länge der Teilchen von 500–525 m $\mu$  ihre Normallänge darstellt.

In früheren Untersuchungen (BODE UND KÖHLER<sup>5</sup>) über je einen Stamm der X<sup>E</sup> — (Cs<sub>35/50</sub>) und der X<sup>N</sup>-Gruppe (M<sub>23</sub>) wurde auf eine differente Länge zwischen diesen Stämmen geschlossen. Die damaligen Aufnahmen waren für jeden Stamm jeweils mit einem anderen Werkgerät durchgeführt worden. Es zeigte sich jetzt aber bei Benutzung unseres genau geeichten Institutgerätes, dass einerseits die absoluten Masse mit 560 bzw. 600 m $\mu$  bei den Werkgeräten zu hoch lagen und dass andererseits die beschriebenen Unterschiede zwischen den Stämmen auf eine geringe Abweichung in der Eichung der beiden Werkgeräte zurückgeführt werden müssen. Damit dürfte der angenommene Längenunterschied zwischen den beiden Stämmen entfallen.

Die in der Literatur angegebene Dicke der Teilchen in der Größenordnung von etwa 10 m $\mu$  konnte bestätigt werden. Untersuchungen über weitere Viren sind bereits in Angriff genommen.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Elektronenmikroskopische Untersuchungen an 6 verschiedenen Stämmen des Kartoffel-X-Virus zeigten keinen gesicherten Unterschied in der Länge der Teilchen der verschiedenen Stämme. Das Maximum der Längenverteilungskurven lag in allen Fällen an der gleichen Stelle, nämlich im Bereich von 500–525 m $\mu$ . Aggregationen oder Bruchstücke waren bei Verwendung der Präparationsweise nach JOHNSON selten. Für das Kartoffel-X-Virus wird deshalb eine Länge von normalerweise 500–525 m $\mu$  angenommen.

#### SUMMARY

Electron micrographs of 6 different strains of the potato virus X showed rod-shaped particles of rather uniform length. The majority of particles had a length of 500–525 m $\mu$ . This may be the length unit of the virus. There were no differences between various strains. The preparations were made by the exudation method of JOHNSON and contained in contrast to chemical preparations a great number of particles of the unit length.

#### RÉSUMÉ

Des recherches sur 6 différentes souches du virus X de la Pomme de terre à l'aide du microscope électronique ont démontré qu'aucune différence significante n'existe entre la longueur des particules de ces différentes souches. Dans tous les cas les maxima des courbes de distribution des longueurs se trouvaient au même endroit (500–525 m $\mu$ ). Employant la méthode de JOHNSON nous n'avons obtenu que rarement des agrégats ou des fragments des particules. Pour cette raison la longueur du virus X de la Pomme de terre est prise pour normalement 500–525 m $\mu$ .

#### LITERATUR

- 1 G. SCHRAMM UND M. WIEDEMANN, *Z. Naturforsch.*, 6b, (1951) 379.
- 2 A. KLECZKOWSKI UND H. L. NIXON, *J. Gen. Microbiol.*, 4 (1950) 220.
- 3 J. JOHNSON, *Phytopathol.*, 41 (1951) 78.
- 4 E. KÖHLER, *Zentr. Bakteriol.*, II, 101 (1939) 29.
- 5 O. BODE UND E. KÖHLER, *Z. Naturforsch.*, 7b (1952) 598.

eingegangen den 28. August, 1954