

NEDERLANDSCHE PLANTENZIEKTENKUNDIGE (PHYTOPATHOLOGISCHE) VEREENIGING

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

ONDER REDACTIE VAN

IR N. VAN POETEREN, PROF. DR W. K. J. ROEPKE EN
PROF. DR JOH^A WESTERDIJK

42e Jaargang

1e aflevering

Januari 1936

**DE STAND VAN HET IMMUNITEITSVRAAGSTUK BIJ
VIRUSZIEKTEN VAN DE PLANTEN**

DOOR

DR J. G. OORTWIJN BOTJES

In de geneeskunde van mensch en dier gebruikt men dikwijls minder virulente vormen van een ziekteverwekker als middel tot bescherming tegen een aanval van virulente smetstof. Bij de bestrijding van plantenziekten wordt tot nu toe van deze methode geen gebruik gemaakt.

De onderzoekingen van de laatste jaren doen echter de mogelijkheid veronderstellen, dat er in deze richting tenslotte wel iets te bereiken zal zijn.

Er is namelijk aangetoond, dat men van sommige virusziekten minder virulente stammen kan kweken en dat enting met deze verzwakte stammen een zekere bescherming verleent tegenover besmetting met onverzwakt virus.

HET KWEEKEN VAN VERZWAakte STAMMEN VAN VIRUSSEN

JOHNSON (4) entte tabaksplanten met het virus van de gewone tabaks-mozaiekziekte en plaatste de geënte planten daarna gedurende eenige dagen in een kamer, bij een temperatuur van

35 tot 37 graden Celsius. Uit planten, die bij deze hoge temperaturen gestaan hadden, werd smetstof over gebracht op normaal groeiende gezonde tabaksplanten. Het bleek toen, dat deze smetstof andere ziektesymptomen in tabaksplanten veroorzaakte dan smetstof, welke genomen was uit normaal groeiende planten. De bladeren waren wel gevlekt, maar ze waren volkomen vlak gebleven. De vormveranderingen in het blad, te voorschijn geroepen door normaal virus, was geheel achterwege gebleven.

JOHNSON leidt uit deze proeven af, dat het virus van het tabaksmozaïek verzwakt is, doordat de besmette planten eenige dagen bij hooge temperaturen groeiden.

Door de proeven van OORTWIJN BOTJES (6) met het virus, dat verborgen in het aardappelras Eersteling leeft, is aangetoond, dat verzwakking van dit virus plaats heeft bij overbrenging in een aantal andere aardappelrassen. Bij eerste enting, op Bravo, bijvoorbeeld, ontstaat sterke necrose aan de toppen der jonge scheuten. Later gevormde scheuten vertoonden deze necrose niet meer, terwijl ze ook niet werd waargenomen in den nabouw van besmette planten. De nabouw vertoont bij Bravo in hoofdzaak slechts een gevlektheid der bladeren. Bij Bravo konden hierbij duidelijk twee zeer scherp van elkaar te onderscheiden ziektebeelden worden waargenomen, die secundaire topnecrose en verzwakt secundaire topnecrose zijn genoemd. Bij enting van secundaire en verzwakt secundaire topnecrose op gezonde Bravo-planten, werd nooit necrose aan de toppen der besmette planten geconstateerd. Deze planten vertoonden hetzelfde ziektype als de planten, die als ziekmaker hadden gediend.

JENSEN (3) entte het virus van gewone tabaksmozaïekziekte op *Nicotiana sylvestris*, op *Lycopersicum esculentum* en op een bepaalde variëteit van *Nicotiana tabacum*. Op de bladeren van de besmette planten werden een aantal helgele plekje waargenomen. Sap uit deze gele plekjes werd gebruikt om gezonde tabaksplanten te besmetten. Hierbij bleek, dat niet het gewone tabaksmozaïek verkregen werd, maar dat er een aantal vrij sterk uiteenlopende ziektebeelden te voorschijn traden. Bij overenting op een aantal volgende generaties traden steeds weer dezelfde ziektesymptomen op als in de ziekmaker waren waargenomen. Blijkbaar waren hier een aantal constant-blijvende virussen opgetreden, die door JENSEN beschouwd werden als verzwakte stammen van het oorspronkelijk gebruikte tabaksmozaïek virus. Deze verzwakte stammen veroorzaken bij enting primaire necrotische plekjes; maar kunnen dikwijls niet doordringen in de nieuw gevormde blaadjes. Ze kunnen zich dan ook veelal niet tot een ziekte van het geheele systeem van de plant ontwikkelen. Sommige gelijken veel op het vrij dikwijls in de natuur voorkomende geelmozaïek.

KUNKEL (5) entte aucuba mozaïek van tabak en van tomaat gedurende twee jaren op opvolgende generaties van genoemde plantensoorten zonder verschil in ziektesymptomen te kunnen waarnemen. Overgebracht op *Nicotiana sylvestris*, ontstaan necrotische plekken op de besmette bladeren; maar de ziekte dringt niet door naar de plantendeelen, die dicht bij de vegetatie-

punten liggen. Plaatste hij de planten echter gedurende eenige dagen bij 35° Celcius dan wordt wel een aantasting van het heele systeem geconstateerd. Uit dergelijke abnormaal groeiende planten konden een aantal verzwakte stammen van het oorspronkelijke virus worden geïsoleerd. Een er van veroorzaakt in tabak weer aucubabont, maar ze heeft het vermogen verloren in *N. sylvestris* necrose te verwekken. Hier veroorzaakt ze een ziekte van het geheele plantensysteem, zich uitend in vlekkingheid der bladeren.

HOLMES (2) ging uit van een bepaald virus van tabaksmozaïek, dat in tabak vlekkingheid der bladeren veroorzaakt en tevens tot vormverandering der bladeren aanleiding gaf. Als de geënte planten eenigen tijd bij temperaturen boven 34° Celsius groeiden, waren een aantal verzwakte stammen van het virus verkregen. In zeer vele opzichten kwamen deze verzwakte stammen overeen met het oorspronkelijke virus. Ze leefden in dezelfde plantensoorten, stierven bij dezelfde temperaturen, bleven actief na lange bewaring, veroorzaakten in sommige plantensoorten gelijksoortige ziektesymptomen als het oorspronkelijke virus. Maar zij verschilden in twee opzichten. In de eerste plaats konden zij zich in de weefsels van geënte planten vermeerderen bij temperaturen, hoog genoeg om een vermeerdering van het oorspronkelijke virus te beletten en in de tweede plaats hadden zij, bij overbrenging in een aantal plantenrassen, het vermogen verloren door te dringen naar de weefsels, die dicht bij het groeipunt liggen. Zij hadden dus het vermogen verloren in een aantal plantenrassen, ziekten van het geheele systeem te verwekken.

ONTSTAAN ONDER BEPAALDE GROEIVORWAARDEN VERZWAKTE
STAMMEN OF HEEFT SLECHTS SELECTIE PLAATS VAN REEDS
BESTAANDE STAMMEN?

Door bovengenoemde schrijvers is aangetoond, dat minder virulente stammen van sommige virussoorten verkregen kunnen worden uit virulentesmetstof. JOHNSON, KUNKEL en HOLMES slaagden hierin door besmette planten te laten groeien bij hoge temperaturen, terwijl JENSEN en OORTWIJN BOTJES dit bereikten door virulente smetstof over te brengen op andere plantenrassen. Ieder hunner heeft als zijn meening uitgesproken, dat werkelijk verzwakking van het virus heeft plaats gehad en heeft hiervoor ook bepaalde aanwijzingen gegeven. Volkomen overtuigend zijn deze aanwijzingen echter niet. De mogelijkheid is niet uitgesloten, dat in de gebruikte smetstof een aantal virulente en minder virulente stammen aanwezig zijn geweest

en dat slechts de minder virulente zich onder de gewijzigde groei-voorwaarde hebben kunnen ontwikkelen. Dan zou dus slechts selectie uit bestaande stammen hebben plaats gehad en geen ontstaan van nieuwe stammen.

De proeven van JENSEN geven echter heel sterke aanwijziging, dat werkelijk nieuwe vormen zijn ontstaan.

JENSEN (3) kon steeds het optreden van helgele vlekjes constateeren indien sap van tabaksplanten, lijdende aan het gewone tabaksmozaïek, werd overgebracht op *Nicotiana sylvestris*, *Lycopersicum esculentum* en op een bepaalde variëteit van *Nicotiana tabacum*. Uit deze gele plekken isoleerde hij het virus van geelmozaïek.

Bracht hij een mengsel van beide virussen over op *Nicotiana glutinosa* dan ontstaan plaatselijk gele vlekjes. Maar uit deze vlekjes konden beide virussen worden geïsoleerd. Sommige vlekjes bevatten de smetstof van het tabaksmozaïek en sommige de smetstof van geelmozaïek. Of werkelijk tabaksmozaïek verkregen werd, kon worden waargenomen bij overenting op tabaksplanten. Als slechts 1% geel mozaïek bij het virus van tabaksmozaïek gevoegd werd, was dit reeds merkbaar aan de optredende ziekteverschijnselen.

JENSEN entte dus tabaksmozaïek op *N. glutinosa*, nam uit de gele vlekjes smetstof, onderzocht door overenting op tabak of het virus vrij was van geel mozaïek. De smetstof werd, als ze vrij bevonden was van geel mozaïek, weer overgebracht op *N. glutinosa*. Dit geschiedde 10 tot 15 keer. Op deze wijze werd een smetstof verkregen, die vrij was van geelmozaïek.

Met deze smetstof, die dus vrij zeker een reincultuur bevatte van het virus van de tabaksmozaïek, werd en *N. sylvestris* geënt. In de geënte planten ontwikkelden zich dan de verzwakte stammen, waarvan één in alle opzichten overeenkwam met het geelmozaïek. Deze vorm kan dus niet overgebracht zijn op de geënte planten, maar moet er zijn ontstaan. Dit versterkt zeer de opvatting, dat werkelijk nieuwe verzwakte stammen van een virus gevormd kunnen worden indien het virus zich onder bepaalde groeivoorwaarden of in bepaalde plantenrassen ontwikkelt en dat men dus niet of althans niet altijd te doen heeft met een selectie uit bestaande stammen.

VERWORVEN IMMUNITEIT

Waar er van sommige virusziekten werkelijk verzwakte stammen zijn te kweken of te isoleeren, rijst de vraag, welken invloed de aanwezigheid van deze zwakke stammen in een plant heeft op een infectie met virulente stammen.

De eerste, die aangetoond heeft, dat de aanwezigheid van een bepaald virus in een plant beschermend kan werken ten opzichte van een ander virus was THUNG (11). Hij nam waar, dat tabaksplanten, besmet met het virus van geel mozaïek, geen symptomen van het gewone tabaksmozaïek gaan vertoonen, indien ze met het virus van tabaksmozaïek worden besmet. Omgekeerd blijven de verschijnselen van geel mozaïek achterwege indien de planten reeds aan tabaksmozaïek lijden. Na THUNG hebben andere onderzoekers gelijksoortige waarnemingen verricht.

PRICE (8) bracht het virus van ringspot over in *Nicotiana glauca* in *N. multivalvis*, *N. quadrivalvis* en in enkele variëteiten van *N. tabacum*. De besmette bladeren werden in erge mate ziek; maar bij de zich later ontwikkelende plantendeelen constateerde hij een min of meer volledig herstel. Bij de herenting van deze herstelde plantendeelen met het virus van de ringspot bleken deze immuun te zijn geworden.

SALAMAN (10) toonde aan, dat de aanwezigheid van een zwakke stam van het zoogenaamde x virus van de aardappel in tabak en in *Datura stramonium* deze planten beschermde tegen een virulente stam.

OORTWIJN BOTJES (6) bewees, dat Bravo aardappelen, besmet met secundaire top-necrose of met verzwakt secundaire top-necrose in den regel niet werden aangetast door het meer virulente primaire topnecrose uit Eersteling. Slechts bij een zeer klein percentage van de entingen van het virus uit Eersteling op planten met verzwakte ziektesymptomen trad het primaire topnecrose op. Deze gedeeltelijke immuniteit was nog onverminderd aanwezig drie jaren, nadat de eerste besmetting met het sap uit Eersteling had plaats gehad. Ook bij Bloemgraafjes werd een dergelijke gedeeltelijke immuniteit geconstateerd. Het percentage der planten, dat niet immuun bleek, was hier echter grooter dan bij Bravo.

KUNKEL (5) kwam, als resultaat van zeer talrijke proeven tot de conclusie, dat planten van *N. sylvestris*, geïnfecteerd door verzwakte stammen van aucubabont, immuun waren geworden voor het onverzwakte virus.

Rijpe bladeren van gezonde planten, welke met tabaksmozaïek geënt waren, bleken eveneens immuun voor aucubabont;

het virus ontwikkelt zich niet in de vroeger met tabaksmozaïek geënte weefsels.

Planten, besmet met sommige verzwakte stammen van het virus van tabaksmozaïek werden immuun, zoowel voor tabaksmozaïek als voor aucubabont.

PRICE (9) heeft waargenomen dat verschillende stammen van komkommermozaïek kunnen worden overgebracht op Zinnia. Vier van deze stammen veroorzaken slechts een mozaïek, terwijl één er van aanleiding geeft tot het optreden van necrotische plekken in de bladeren. Wanneer Zinnia-planten reeds bezet zijn met één der mozaïek veroorzakende virussen, levert een enting met het necrose veroorzakende virus geen resultaat op. De planten zijn immuun tegen deze enting geworden.

Zinnia-planten, die geënt zijn met een mozaïek veroorzakend virus uit tabak, zijn eveneens immuun geworden ten opzichte van een necrose veroorzakend virus uit tabak. Ook hier is immuniteit opgetreden.

Nog niet gepubliceerde mededeelingen betreffende het immuniteitsvraagstuk zijn op het Algemeen Botanisch Congres gedaan door QUANJER, THUNG en KÖHLER.

TOT HOEVER STREKT ZICH DE IMMUNITEIT VOOR BEPAALTE VIRUSZIEKTEN UIT?

THUNG (11), PRICE (9), SALAMAN (10), OORTWIJN BOTJES (6) en KUNKEL (8) hebben een volledige of een gedeeltelijke immuniteit verkregen ten opzichte van virussen, waarvan, blijkens hun oorsprong, kon worden verondersteld, dat ze na verwant zijn met het virus, welks aanwezigheid in de plant de immuniteit veroorzaakt. OORTWIJN BOTJES (7) kon geen verschil in vatbaarheid constateeren ten opzichte van bladrol, mozaïek of stippelstreep tusschen gezonde Bravo's en Bravo planten, welke secundaire topnecrose of verzwakt secundaire topnecrose in zich bevatten.

Evenmin bleek bij het onderzoek van PRICE (9), dat het minder virulente virus van komkommermozaïek bescherming verleende tegen tabaksmozaïek of dat het minder virulente virus van tabaksmozaïek het optreden van komkommermozaïek tegen- ging.

De voorloopig verkregen resultaten wijzen er op, dat een zwakke stam van een virus beschermen kan tegen een sterke stam van hetzelfde virus; maar dat geen bescherming verkregen wordt tegen een vreemd virus. In dit verband wordt het van groote beteekenis te weten welke virussen, die ziekten van planten ver-

oorzaken, bij elkaar behooren. De symptomen, welke zij veroorzaken geven hierbij geen uitkomst, terwijl ook andere kenmerken als doodingstemperatuur, grootte, of houdbaarheid niet altijd een betrouwbare aanwijzing geven omtrent identiteit of verwantschap.

Voor het bepalen van de identiteit en de klassificatie zal het serologisch onderzoek in de toekomst groote diensten kunnen bewijzen. Sera, die hiervoor gebruikt kunnen worden, kan men verkrijgen uit het bloed van konijnen, welke men met plantenvirussen heeft ingespoten. Er ontwikkelen zich, na inspuiting van een plantenvirus in het bloed van konijnen, antistoffen, die een immuniseerende werking uitoefenen. Brengt men een serum uit het bloed van ingespoten konijnen in een oplossing van het virus, dat voor de inspuiting is gebruikt, dan wordt dit virus onwerkzaam; het precipiteert.

Er ontstaat echter slechts dan een precipitaat indien het virus in de oplossing identiek of verwant is met het virus, waarmee het konijn is ingespoten.

CHESTER (1) was daardoor in staat de door hem gebruikte virussen in groepen te verdeelen, die ten opzichte van de gebruikte sera op gelijke wijze reageerden. Uit dit gelijk reageren leidt hij de identiteit of althans de verwantschap van de virussen binnen dezelfde groep af.

Eén der groepen, welke door CHESTER zijn gevonden is de groep van het x virus, waartoe ook behoort het virus van de topnecrose. De gevaarlijkste degeneratie-ziekten bij aardappels, als bladrol, mozaïek en stippelstreep behooren tot andere groepen. Waar dit het geval is, behoefde het dan ook geen verwondering te baren, dat het virus van secundaire en verzwakt secundaire topnecrose geen bescherming verleende voor een aantasting van bladrol, mozaïek en stippelstreep. Als men zou willen trachten planten immuun te maken tegen deze ziekten zal men ze moeten besmetten met zwakke virussen, die bij dezelfde groep behooren als een der genoemde virussen.

BESCHOUWINGEN IN VERBAND MET HET IMMUNITEITSVRAAGSTUK

Uit de proeven van boven aangehaalde schrijvers is met zekerheid af te leiden, dat men van sommige virussen verzwakte stammen kan kweken en dat enting van deze verzwakte virussen op gezonde planten gebruikt kan worden als een voorbehoedmiddel tegen de oorspronkelijke virusziekten.

Dit resultaat heeft voor eenjarige gewassen slechts theoretische waarde. In de praktijk zal niemand er aan denken tabaksplanten of tomaten te enten als voorbehoedmiddel tegen virusziekten.

Maar bij langlevende planten als heesters en boomen staat de zaak reeds eenigszins anders. En van nog veel grootere beteekenis zou een enting tot bescherming tegen virusziekten kunnen worden bij de zich vegetatief vermeerderende plantensoorten.

Hierbij denkt men wel allereerst aan de aardappelplant, zoo- wel vanwege hare groote beteekenis, als met betrekking tot de groote vatbaarheid van vele aardappelrassen voor gevaarlijke virusziekten.

Als men een klein aantal aardappelplanten immuun zou kunnen maken voor de virusziekten, welke haar het meest bedreigen, zou men binnen enkele jaren duizenden hectares met geïmmuni- eerde planten kunnen betelen. Als men pas gekweekte aardappel- rassen minder vatbaar zou kunnen maken voor bladrol, mozaïek- ziekte of stippestreepziekte, zouden vele hunner, die thans te gronde gaan wegens hunne groote vatbaarheid voor een of meer dezer virusziekten, behouden kunnen blijven.

Dat de verworven immuniteit bij aardappelplanten bij opvol- gende generatie niet achteruitgaat, blijkt uit de proeven van OORTWIJN BOTJES (6). De verzwakte virussen, die deze immuni- teit opwekken, blijven blijkbaar in de plant leven. En waar dit het geval is, is er voor de achteruitgang van immuniteit geen aanleiding.

De aanwezigheid van verzwakte stammen van een virus in de plant, behoeft niet a priori als een groot bezwaar te worden be- schouwd. Wij bezitten thans ook reeds een groot aantal aard- appelrassen, waarin altijd een of meer virussen voorkomen. Als voorbeelden zouden hier genoemd kunnen worden Thorbecke, Triumf, Eersteling, Zeeuwsche Blauwe, Lichte Roode Star, Lichte Industrie. Het is, in verband hiermee, dan ook volstrekt niet uitgesloten, dat wij verzwakte stammen in een aardappel- plant zouden kunnen brengen, welke de opbrengst weinig scha- den. In zeker opzicht is dit zelfs reeds gelukt; want de Bravo met verzwakte secundaire topnecrose, brengt al heel weinig min- der op dan de gezonde Bravo.

De groote moeilijkheid ligt in het kweken en isoleeren van verzwakte stammen van onze belangrijkste virussen. Tot nu toe is het nog slechts gelukt verzwakte stammen te kweken van het virus van de topnecrose, een ziekte, die geen praktische beteek- enis heeft. Maar waar dit gelukt is, is de mogelijkheid op succes niet uitgesloten voor andere virussen, die wel groote beteekenis voor de cultuur hebben.

Twee wegen kunnen hierbij worden ingeslagen. Men kan in de eerste plaats nagaan of er in de natuur virussen gevonden worden, die in een bepaald aardappelras geen noemenswaardige ziekte-

symptomen veroorzaken; maar wier aanwezigheid toch beschermt tegen ernstige virusziekten. En in de tweede plaats kan men trachten uit een bestaande smetstof verzwakte stammen te isoleren of men kan trachten een bestaand virus te verzwakken.

Wil men deze tweede weg bewandelen dan zal men de smetstof onder abnormale omstandigheden moeten overbrengen, hetgeen kan geschieden door het zich te laten ontwikkelen bij hoge temperaturen of door het te laten groeien in andere rassen of in andere plantensoorten.

Hier ligt een uitgebreid veld van onderzoek, waarop nog nauwelijks de eerste stappen zijn gezet. Geheel zonder perspectief is dit onderzoek zeker niet.

LITERATUUR

1. CHESTER, K. STARR, Serological evidence in plant-virus classification. *Phytopathology*, Juli 1935.
2. HOLMES, FRANCIS O., A masked strain of tobacco-mosaic virus. *Phytopathology*, 24, 1934.
3. JENSEN, J. W., Isolation of yellow-mosaic viruses from plants infected with tobacomosaic. *Phytopathology*, 23, 1933.
4. JOHNSON, J., The attenuation of plant viruses and the inactivating influence of oxygen. *Science* 6, 1926.
5. KUNKEL, L. O., Studies on acquired immunity with tobacco and aucuba mosaics. *Phytopathology* 16, 1926.
6. OORTWIJN BOTJES, J. G. Verzwakking van het virus der topnecrose en verworven immuniteit van aardappelrassen ten opzichte van dit virus. *Tijdschrift over Plantenziekten*, 39, 1933.
7. OORTWIJN BOTJES, J. G., Vermindering van de vatbaarheid voor bepaalde virusziekten bij sommige aardappelrassen. *Landbouwkundig Tijdschrift*, 1935.
8. PRICE, W. C., Acquired immunity to ringspot in *Nicotiana*. *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, 4, 1932.
9. PRICE, W. C., Acquired immunity in *Zinnia*. *Phytopathology*, vol. 25, 1935.
10. SALAMAN, R. N., Protective inoculation against a plantvirus. *Nature* 131, 1933.
11. THUNG, T. H., Smetstof en plantencel bij enkele virusziekten van de tabaksplant. *Handelingen v. h. Ned. Natuurwetenschappelijk Congres*, 1931.