

# TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

Onder redactie van Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr J. A. M. H. GOOSSENS;  
Ir P. HUS; Prof. Dr A. J. P. OORT en Dr H. J. DE FLUITER (Secretaris)

Redactie-adres: p/a Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek,  
Binnenhaven 4a, Wageningen

Drukkers-Uitgevers: H. Veenman & Zonen - Wageningen

57e JAARGANG (1951)

1e AFLEVERING

JAN.-FEBR.

## ONDERZOEKINGEN OVER ANJERMOZAIEK, I <sup>1)</sup> <sup>2)</sup>

*With a summary: Investigations on Carnation Mosaic, I*

DOOR

D. NOORDAM <sup>3)</sup>, T. H. THUNG en J. P. H. VAN DER WANT  
Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

### I. INLEIDING

#### A. *Voorkomen in Nederland*

In Nederland komt een ziekteverschijnsel in Amerikaanse anjers voor, dat oppervlakkig beschouwd enigszins doet denken aan een aantasting door thrips en bladluis, maar dat ook bij afwezigheid van deze insecten optreedt. De ziekteverschijnselen doen ook denken aan in de literatuur (4, 6, 7, 9) beschreven virusziekten. Het vermoeden, dat we met een virusziekte te doen hebben, werd versterkt door het volgende verschijnsel. Bij een kweker vertoonde een partij van het anjerras P. Fisher een normale groei en bloei, terwijl een andere partij het bovengenoemde ziektebeeld liet zien, slecht groeide en een verminderde opbrengst aan bloemen opleverde. Het verschil in gezondheid en groei van de twee partijen was in dit geval zeer opvallend, aangezien deze twee partijen tegelijkertijd naast elkaar in de lengte op één bed gepoot waren.

In het najaar van 1948 werden te Aalsmeer entproeven uitgevoerd, die in het volgende hoofdstuk zullen worden besproken. Toen bij het beëindigen van deze proeven in het najaar van 1949 was gebleken, dat dit mozaïek besmettelijk was en dat het vermoedelijk door een virus werd veroorzaakt, terwijl het voorts tot belangrijke opbrengstderving aanleiding kon geven, zijn dit redenen geweest de praktijk hiervan in kennis te stellen (11). De N.A.K.S. afd. Anjers en de Plantenziektenkundige Dienst houden naar aanleiding hiervan thans bij de keuring van anjerstek ook rekening met het voorkomen van mozaïek.

#### B. *Bespreking van de literatuur*

In de Ver. Staten van N.-Amerika is in de laatste tien jaren aandacht besteed aan virusziekten in Amerikaanse anjers. CREAGER (6) en JONES (9) refereren ook

<sup>1)</sup> Ontvangen voor publicatie Juni 1950.

<sup>2)</sup> Verschijnt tevens als Meded. no 11 van het Inst. voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.)

<sup>3)</sup> Gedetacheerd bij het Proefstation voor de Bloemencultuur te Aalsmeer.

de oudere literatuur, die op deze ziekte betrekking heeft. CREAGER (6) bevestigde het resultaat van PELTIER (12), die aantoonde, dat de ziekte op gezonde enten overgaat. JONES (9) bracht de ziekte over op zaailingen en onderscheidt op grond van de resultaten van deze proeven twee viren nl.:

1. „Mosaic”, dat door enten en met sap is over te brengen, maar niet door de bladluis *Myzus persicae* SULZ.

2. „Streak”, dat door enten en door *Myzus persicae* SULZ. is over te brengen, maar in tegenstelling tot „mosaic” niet met sap overgaat.

Een derde ziekte „yellows” wordt volgens JONES veroorzaakt door het voorkomen van „mosaic” en „streak” in dezelfde plant.

THOMAS (14) volgt de onderscheiding van JONES van de drie virusziekten bij anjers. Het gelukte THOMAS „mosaic” mechanisch en „streak” en „yellows” met behulp van plakenting op een aantal plantensoorten over te brengen.

### C. Beschrijving van het ziektebeeld

In Nederland vallen de zieke planten van het ras P. Fisher bij oppervlakkige beschouwing soms al op door een geringe bladmisvorming: de bladrand is onregelmatig gegolfd en het blad is iets bobbelig. Dikwijls blijven de jonge bladeren in elkaar vastzitten en trekken krom. De bladeren van de zieke planten zijn kleiner, de groei van de planten is minder goed en de bloemen zijn van mindere kwaliteit dan normaal.

Op de bladeren ziet men geelachtige, soms meer grijs-bruine, waterige vlekjes ter grootte van  $\frac{1}{3}$ – $\frac{1}{2}$  mm. Bij doervallend licht zijn deze vlekjes doorschijnend en steken geel af tegen de ondoorschijnende groene kleur van het blad. Een aantal van deze vlekjes kan met elkaar versmolten zijn en een grotere vlek of een lijntje vormen. De doorschijnende vlekjes bevatten in het centrum meestal dood weefsel, dat ondoorschijnend is. Is dit dode weefsel in een jong stadium aanwezig, dan veroorzaakt dit bij het verder uitgroeien van het nog levende weefsel, bovengenoemde misvorming van het blad.

Bij zeer vele planten vertonen de jongste bladeren lichte groene vlekken, strepen of kringen; op oudere bladeren zijn deze verschijnselen niet meer te zien. Deze lichtgroene tekening kan zó uitgesproken zijn, dat zij niet is te onderscheiden van de bovenbeschreven doorschijnende vlekjes. De doorschijnende vlekken blijven echter ook op de oudere bladeren zichtbaar in tegenstelling tot de lichtgroene tekening.

Het bovenstaande is een beschrijving van het ziektebeeld bij P. Fisher. Deze beschrijving geldt in hoofdzaak ook voor ziekteverschijnselen, die bij andere Amerikaanse anjerrassen werden gevonden. Er komen echter verschillen voor in de grootte en vorm van de doorschijnende vlekjes. Bij de rassen Puritan en Orchid Beauty is het weefsel om de centrale dode vlek dikwijls paars gekleurd. Bij sommige rassen sterft het blad bij het ouder worden ten dele af, terwijl dit bij andere rassen in het geheel niet plaats heeft.

## II. EIGEN ONDERZOEK

### A. Entproeven

Om aan te tonen, dat we inderdaad met een virusziekte te doen hadden, werd P. Fisher-stek geplukt, dat sterk de ziekteverschijnselen, in de inleiding beschreven, vertoonde, terwijl ook stek geplukt werd van een meer gezonde partij,

die van de ziekteverschijnselen geheel vrij was. Na bewortelen en oppotten werden met behulp van spleetenting op deze onderstammen enten gezet, die al of niet ziekteverschijnselen vertoonden. Behalve P. Fisher-enten werden ook enten van 3 andere rassen gebruikt. Voorjaar 1949 zijn de planten, waarbij de enting was geslaagd uitgepoot in een kas. Geteld werden de aantallen bloemen, die de geënte planten opleverden en aan het einde van de proef (einde November 1949) werd nog het aantal op de planten aanwezige knoppen geteld. Tevens werd geteld hoeveel planten ziektesymptomen vertoonden. De gegevens en resultaten van deze proef zijn samengevat in tabel I.

TABEL I (Table I)

	Aantal planten Number of plants	Aantal hiervan ziek Number diseased	Gem. hoogte in cm Mean height in cm	Aantal bloemen Number of flowers	Aantal knoppen Number of buds	Aantal bloemen plus knoppen op 25 planten omgerekend Number of flowers + buds per 25 plants	
						Totaal Total	In %
Betty Lou:							
op gezonde <sup>1)</sup> P. Fisher . . . .	22	3	89	26	37	72	100
op zieke <sup>2)</sup> P. Fisher . . . .	16	16	81	15	23	60	83
Chief Kokomo:							
op gezonde P. Fisher . . . .	25	5	89	21	36	57	100
op zieke P. Fisher . . . .	28	20	84	8	32	36	63
Doris Allwood:							
op gezonde P. Fisher . . . .	26	26	77	3	5	8	100
op zieke P. Fisher . . . .	29	29	66	7	4	10	125
P. Fisher gez. op gez. P. Fisher .	26	10	102	31	60	88	100
P. Fisher gez. op zieke P. Fisher .	24	24	83	11	33	46	51
P. Fisher ziek op gez. P. Fisher .	23	23	79	15	35	54	61
P. Fisher gez. op zieke P. Fisher .	20	20	83	8	30	48	55

<sup>1)</sup> gez. = *healthy*

<sup>2)</sup> ziek = *diseased*

Uit deze proef is op te maken:

1. De ziekte gaat met ent en onderstam over op de gezonde onderstam of ent. De enige uitzondering kwam voor bij Chief Kokomo; bij 8 van de 20 planten kon niet met zekerheid geconstateerd worden, dat de planten ziek waren.

2. Wanneer gezonde onderstammen en gezonde enten gebruikt zijn, blijkt het grootste gedeelte van de planten gezond. Dat een aantal planten bij het beëindigen van de proef niet meer gezond was, vindt zijn verklaring misschien in het plaats vinden van infectie gedurende de proef of in het feit, dat de ziekteverschijnselen bij de opzet van de proef niet zichtbaar waren, terwijl toch onderstam of ent ziek was. Van D. Allwood waren ook de planten op gezonde onderstam ziek, wat hieraan toegeschreven moet worden, dat alle planten, waarvan D. Allwood-stek geplukt werd, ziekteverschijnselen bleken te vertonen, zij het minder duidelijk dan P. Fisher.

Uit 1 en 2 blijkt, dat de ziekte door enting is over te brengen. Op grond hiervan

en op grond van het ziektebeeld kunnen we concluderen, dat we met een virusziekte te doen hebben.

3. De opbrengst aan bloemen is bij de gezonde planten hoger dan bij de zieke planten. Uit de kolom van de tabel, waar het aantal bloemen plus knoppen, geproduceerd door de „gezonde” series, gelijk is gesteld aan 100, blijkt dit voor de planten met zieke onderstam of ent belangrijk (bij P. Fisher zelfs 50 procent) minder te zijn. Daar deze proef voor een opbrengstvergelijking niet geheel verantwoord was opgezet, moeten de genoemde percentages slechts als zeer globale waarden worden beschouwd. De enige uitzondering, Doris Allwood, dient buiten beschouwing te blijven, daar het aantal bloemen en knoppen te klein was om waarde aan deze aantallen te kunnen hechten en Doris Allwood bovendien in de zieke en „gezonde” partij voor 100 procent ziek was. Ook de kwaliteit van de bloemen der zieke planten is minder dan die van de gezonde; de bloemen zijn kleiner en bij Betty Lou b.v. meer gevlekt en gestreept dan normaal.

4. Ook uit de gemeten lengte der planten komt naar voren, dat de gezonde planten van betere kwaliteit zijn; de gemiddelde hoogte van de planten is nl. groter dan van de zieke.

## B. Inoculatieproeven

### 1. met *Dianthus barbatus*

Met sap, uitgeperst uit toppen van mozaïekzieke anjerplanten, werden bladeren van duizendschoonplanten (*Dianthus barbatus*) geïnoculeerd. De te inoculeren bladeren waren vooraf met fijn carborundumpoeder bestrooid en zij werden na ingewreven te zijn met het virushoudend sap direct afgesproeid met kraanwater. Reeds na 4 dagen werden op de geïnoculeerde bladeren van duizendschoon geelgroene verkleuringen zichtbaar, terwijl 8 dagen na de inoculatie duidelijke beige tot witgekleurde ringvormige figuren en vaak concentrische ringetjes van 1 mm tot enkele mm in doorsnede optraden (fig. 2). Elf dagen na de inoculatie vertoonden zich eveneens kleine ringvormige figuren op de jongere, niet ingewreven bladeren; hierbij kwamen ook geelgroene min of meer onregelmatige verkleuringen voor. Bij doorgroeien van de planten waren de ringvormige symptomen op de jongste bladeren minder geprononceerd. Hiervoor in de plaats trad meer een bonthed op. Alle inoculaties op duizendschoon slaagden ten volle. Er waren geen planten, die niet besmet werden.

Werden met het sap van geïnfecteerde duizendschoonplanten gezonde *Dianthus barbatus*-planten geïnoculeerd, dan werden hierop dezelfde locale en verspreidingssymptomen verkregen als bij de planten, die met het sap van viruszieke anjers waren geïnoculeerd. Uit deze proeven blijkt, dat *Dianthus barbatus* wegens zijn duidelijke en snelle reactie zeer geschikt is als toetsplant voor genoemd virus. Bij verdere onderzoekingen over dit virus is dan ook ruimschoots van duizendschoon als proefplant gebruik gemaakt.

### 2. Met aster, tabak en boon

Andere planten, die met sap van mozaïekzieke anjers werden geïnoculeerd, waren: aster (*Callistephus spec.*) en tabak (*Nicotiana tabacum* var. White Burley). Met deze planten werden merkwaardige resultaten verkregen. Op slechts enkele der geïnoculeerde bladeren van de genoemde plantensoorten ontstonden na 1 tot 2 weken bruine vlekken van circa 3 mm middellijn (fig. 3).



Fig. 1. Bladeren van mozaïekzieke Amerikaanse anjer (*Dianthus caryophyllus*).  
(Leaves of carnation (*Dianthus caryophyllus*) showing mosaic)



Fig. 2. Bladeren van duizendschoon (*Dianthus barbatus*), geïnoculeerd met sap van mozaïekzieke anjer.  
(Leaves of Sweet William (*Dianthus barbatus*) inoculated with sap from mosaic-diseased carnation)



Fig. 3  
Blad van aster (*Callistephus* sp.), geïnoculeerd met sap van mozaïekzieke anjer. Enkele lokale vlekken zijn zichtbaar.  
(Leaf of aster (*Callistephus* sp.) showing some local lesions after inoculations with sap from mosaic-diseased carnation)

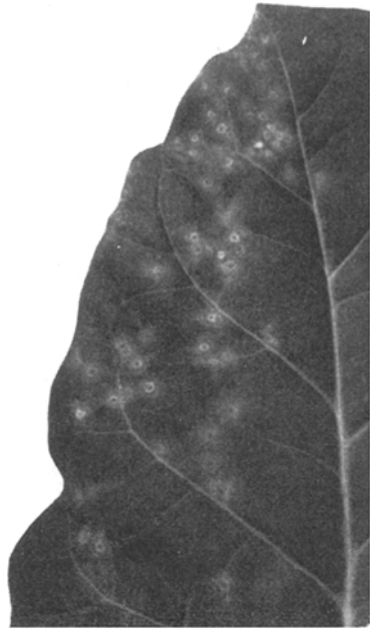


Fig. 4  
Blad van tabak (*Nicotiana tabacum* var. White Burley), waarvan de linker helft is geïnoculeerd met anjer-mozaïekvirus na passage door aster.  
(Leaf of tobacco (*Nicotiana tabacum* var. White Burley) showing local lesions. The left half of the leaf was inoculated with carnation mosaic virus after passage through aster)

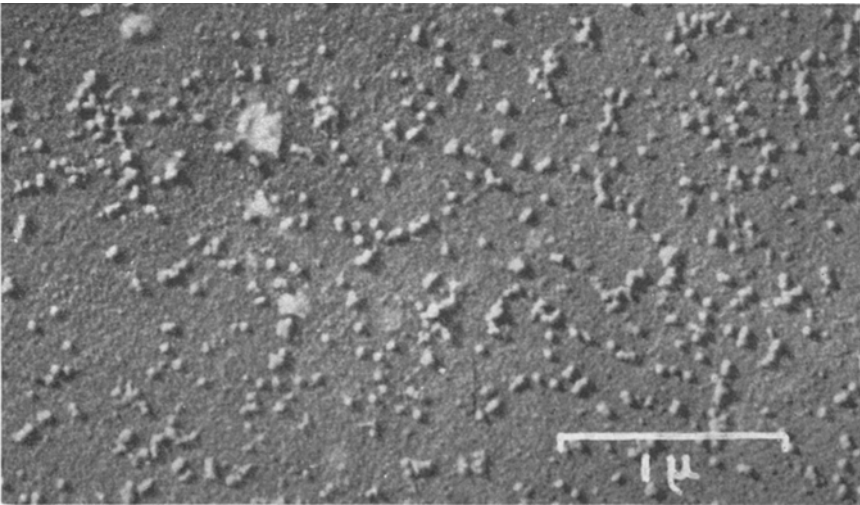


Fig. 5. Electronenfoto van gezuiverd anjer-mozaïekvirus, afkomstig van *Dianthus barbatus*; „shadow-cast” met Pd. De meeste deeltjes zijn ongeveer 33 m $\mu$  in diameter, maar sommige zijn kleiner (ongeveer 17 m $\mu$ ). Foto vervaardigd door Dr A. C. VAN DORSTEN op het Laboratorium W.O. van Philips N.V. te Eindhoven.  
(Electron micrograph of a purified preparation of carnation mosaic virus, derived from *Dianthus barbatus*; shadow-cast with Pd. Most of the particles are about 33 m $\mu$  in diameter, but some are smaller (about 17 m $\mu$ ). Micrograph made by Dr A. C. VAN DORSTEN, Laboratorium W.O., Philips N.V., Eindhoven.)

Soms waren deze vlekken omgeven door een concentrische bruine ring. Slechts 1 van de 10 geïnoculeerde asterplanten vertoonde ruim een maand na de inoculatie verspreidingssymptomen, te weten „vein clearing” en fijne necrotische stipjes, verspreid over de bladoppervlakte. Geen der tabaksplanten, al dan niet reagerend met locale necrose, vertoonde verspreidingssymptomen.

Enkele locale vlekken op tabak werden uitgeknipt met een ontsmette schaar en fijn geweven met een weinig water. Het aldus verkregen sap werd uitgestreken op bladeren van 5 duizendschoonplanten en op enkele bladhelften van 2 tabaksplanten. Alle duizendschoonplanten vertoonden na 1 week dezelfde ringvormige locale verschijnselen, die ook verkregen worden na inoculatie met sap van mozaïekzieke anjers. Twee weken na de inoculatie traden voorts de reeds beschreven verspreidingssymptomen op.

De tabaksbladeren vertoonden na de inoculatie zeer veel necrotische ringetjes en vlekjes (fig. 4). Verspreidingssymptomen traden op tabak niet op. De locale verschijnselen doen zeer veel denken aan die, welke met tabaksnecroseviren worden verkregen (3, 5, 10).

Met sap, geperst uit de locale vlekken op aster werden bij duizendschoon en tabak gelijke resultaten verkregen.

Van de ziekgeworden tabaksbladeren (de met sap van tabak geïnoculeerde zowel als de met sap van aster geïnoculeerde) werd sap gewonnen, waarmee bonenplanten (*Phaseolus vulgaris* var. Dubbele witte z.dr.) werden geïnoculeerd. Alle bonen vertoonden na 7 dagen necrotische nerven en stipvormige bruine vlekjes op de geïnoculeerde bladeren. Hierbij trad verdorring van het blad op. Na ruim 3 weken waren ook necrosen op de topbladeren en stengels waar te nemen. Dit ziektebeeld komt overeen met dat van het stippelstreep van de boon, waarvan bekend is, dat het door een tabaksnecrosevirus wordt teweeggebracht (3).

Ook met het sap van *Dianthus barbatus*, besmet met het anjer-mozaïekvirus, konden stippelstreep-verschijnselen op boon worden teweeggebracht, ofschoon de symptomen minder hevig waren dan in de zojuist beschreven proeven. De locale necrosen waren nl. minder talrijk, terwijl slechts 1 van de 5 geïnoculeerde bonenplanten met verspreidingssymptomen reageerde.

De geïnoculeerde bladeren van de overige planten vielen nl. spoedig af, waarschijnlijk voordat het virus in de stengel was doorgedrongen. Ook dit is bekend van tabaksnecroseviren (3).

Bonenplanten, geïnoculeerd met sap van mozaïekzieke anjers, reageerden in het geheel niet.

Uit deze proeven is niet met zekerheid te zeggen wat er bij passage van het anjervirus via aster en tabak gebeurt. Het is mogelijk, dat in het sap van zieke anjers twee viren voorkomen, die beide in staat zijn *Dianthus barbatus* aan te tasten. Men kan zich voorstellen, dat een van deze viren echter in zeer geringe concentratie voorkomt. Deze concentratie zou wel voldoende zijn om er in enkele gevallen op tabak of aster locale necrose mee te verwekken, doch onvoldoende om er symptomen op boon mee te verkrijgen. Op tabak en aster zou dan een dermate vermeerdering van dit virus plaats hebben, dat het wel verschijnselen van stippelstreep op boon kan teweegbrengen. Ook zou de concentratie van deze component na passage door *Dianthus barbatus* voldoende zijn geworden om er met succes bonen mee te besmetten.

Aan de andere kant is het denkbaar, dat in de anjer slechts één virus voorkomt, dat ten gevolge van de passage door aster of tabak en in mindere mate door

*Dianthus barbatus* dermate kan worden geactiveerd, dat het ook voor boon agressief wordt.

### 3. Met anjer.

Om de garantie te hebben, dat het uitgangsmateriaal absoluut virusvrij is, werden de inoculatieproeven verricht op anjerzaailingen, opgekweekt in gestoomde grond uit zaad, dat in de handel verkrijgbaar is. Het bezwaar van dergelijk materiaal is, dat het erfelijk heterogeen kan zijn, hetgeen blijkt uit de verschillen in bloemkleur. Het is dus te verwachten, dat de wijze van reageren op een smetstof tussen de planten uit één zaaisel onderling kan verschillen.

Als inoculum deed dienst: *a.* sap van *Dianthus barbatus*, besmet met anjervirus; *b.* sap van tabak, besmet met anjervirus na passage door tabak; *c.* sap van tabak besmet met anjervirus na passage door aster.

In deze drie series proeven ontstonden op sommige geïnoculeerde bladeren der zaailingenanjers na circa een week geel-groene diffuse verkleuringen, die af en toe vergezeld gingen van rood-bruin getinte vlekken. Circa drie weken na de inoculatie vertoonden enkele proefplanten een lichte bontheid in de topbladeren. Later hadden de meeste planten duidelijke mozaïeksymptomen in de jongste bladeren. Niet alle planten reageerden evenwel duidelijk, zodat rechtstreeks niet te zeggen was of alle planten werkelijk besmet waren. Zekerheid over deze vraag kon slechts verkregen worden door van elke anjerplant sap uit te wrijven op een aantal duizendschoonplanten. Inderdaad bleek het sap van iedere anjerplant uit elk der drie series tot de bekende, boven beschreven symptomen op *Dianthus barbatus* aanleiding te geven. *Dianthus barbatus* geïnoculeerd met sap van onbehandelde anjerzaailing bleef daarentegen vrij van enig ziektebeeld. Hiermee is aangetoond, dat de smetstof, die op duizendschoon het ringpatroon en bontheid en op aster en tabak locale necrose teweegbrengt in staat is bij anjer mozaïek te veroorzaken.

### C. Eigenschappen van het virus in vitro

Voor deze proeven deed als toetsplant *Dianthus barbatus* dienst. In een serie werd sap van viruszieke anjers gedurende 10 minuten in reageerbuizen verhit in een waterbad van resp. 50°, 60°, 70°, 80° en 90° C. Na de verhitting werden de buizen snel in stromend water afgekoeld. Daarna werden met de verhitte saponsters telkens 5 toetsplanten geïnoculeerd. Hierbij werd carborundumpoeder toegepast.

In een tweede serie werd sap van viruszieke anjers verdund met gedestilleerd water in de volgende verhoudingen: 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> en 10<sup>-5</sup>. Met elke verdunning werden eveneens 5 toetsplanten geïnoculeerd.

De resultaten zijn samengevat in tabel II.

Het anjervirus blijkt dus een hoge inactiveringstemperatuur (tussen 80° en 90° C) te bezitten en een lage verdunningsgrens (beneden 10<sup>-5</sup>).

### D. Zuivering van het virus

Sap van mozaïekzieke anjerplanten werd uitgeperst, waarna per 100 cm<sup>3</sup> sap 30 cm<sup>3</sup> 90 % aethylalcohol werd toegevoegd. Deze bewerking brengt verschillende normale saponbestanddelen, als eiwitten en bladgroenkorrels, tot coaguleren. Het viruseiwit blijft echter in oplossing. Na afcentrifugeren van het coagulum werd aan de afgeschonken heldere vloeistof 25 g ammoniumsulfaat per 100 cm<sup>3</sup>



TABEL II (Table II)

	Inactiveringstemperatuur ( <i>Thermal inactivation point</i> )					
	onbeh. sap ( <i>untreated sap</i> )	50° C	60° C	70° C	80° C	90° C
Resultaten <sup>1)</sup> ( <i>results</i> <sup>1)</sup> ) . . .	5/5	5/5	3/5	3/5	4/5	0/5
	Verduunningsgrens ( <i>Dilution end point</i> )					
	onbeh. sap ( <i>undiluted sap</i> )	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
Resultaten <sup>1)</sup> ( <i>results</i> <sup>1)</sup> ) . . .	5/5	5/5	5/5	5/5	4/5	2/5

<sup>1)</sup> De noemer is het aantal geïnoculeerde *Dianthus barbatus*-planten; de teller het aantal planten met symptomen.

(*The denominator is the number of inoculated Dianthus barbatus plants; the numerator the number of plants showing symptoms*)

vloeistof toegevoegd. Het witte neerslag, dat zich hierna vormde, werd na enkele uren afgecentrifugeerd en in een weinig water opgenomen.

Deze geconcentreerde virusoplossing werd gedurende enige uren in stromend leidingwater gedialyseerd. Hierbij vormde zich een neerslag, hetgeen na dialyseren werd afgecentrifugeerd. De heldere vloeistof diende daarna als inoculum voor enige tabaksplanten (White Burley), duizendschoonplanten en asters.

De duizendschoonplanten reageerden na ongeveer 1 week met de bekende ringsymptomen op de geïnoculeerde bladeren, terwijl op de tabak en de asters locale bruine vlekken optraden. Hiermee was aangetoond, dat het virus van de anjer de zuivering, zoals boven beschreven, zonder verlies van infectieuziteit had doorstaan. Er zijn nog te weinig pogingen gedaan het virus in kristallijne staat af te zonderen.

### E. Electronenmicroscopie

Voor dit deel van het onderzoek werd anjervirus volgens de in de vorige paragraaf beschreven methode geïsoleerd uit hiermee op natuurlijke wijze besmette anjerplanten en uit *Dianthus barbatus*, die kunstmatig was besmet.

Het virus werd in verschillende verdunningen naar het Wetenschappelijk Laboratorium der Philips Fabrieken te Eindhoven gezonden, waar er door Dr A. C. VAN DORSTEN electronenfoto's van werden gemaakt. <sup>1)</sup>

De electronenfoto's van het anjervirus vertonen een groot aantal bolvormige deeltjes, welke ontbreken in het sap van gezonde anjers. Op grond van het resultaat van de electronenmicroscopie van andere plantenviren (15) kan worden aangenomen, dat deze deeltjes de smetstof vertegenwoordigen.

De resultaten van ons serologisch onderzoek, die in de volgende paragraaf zullen worden meegedeeld, bevestigen eveneens de waarneming, dat wij met bolvormige virusdeeltjes te maken hebben.

Eén der opnamen van het anjervirus, geïsoleerd uit *Dianthus barbatus* is weer-

<sup>1)</sup> Schrijvers willen ook gaarne op deze plaats dank betuigen aan de leiding van de Philips Fabrieken en aan Dr A. C. VAN DORSTEN voor de hulp, die zij bij het electronenmicroscopisch onderzoek mochten ontvangen.

gegeven in fig. 5. Uit metingen verricht op deze en andere vervaardigde opnamen is te concluderen, dat de meeste deeltjes een diameter hebben van circa  $33\text{ m}\mu$ . Daarnaast komen evenwel deeltjes voor met een middellijn van ongeveer  $17\text{ m}\mu$ . Het is nog niet uitgemaakt of dit wijst op het voorkomen in het preparaat van twee verschillende viren of stammen van hetzelfde virus, dan wel dat deeltjes van verschillende diameter verschillende stadia in de vorming van hetzelfde virus voorstellen. Op deze plaats dient vermeld te worden, dat BAWDEN en VAN DER WANT (3) in de electronenfoto's van het stippelstreepvirus van de boon naast talrijke bolvormige deeltjes van circa  $17\text{ m}\mu$  ook enkele met een grotere diameter (nl. ongeveer  $34\text{ m}\mu$ ) waarnamen. Het mengsel kon niet op eenvoudige wijze (door passage er van door verschillende planten) gescheiden worden. Waren in de foto's van het stippelstreepvirus van de boon de grotere virusdeeltjes in minderheid aanwezig, bij het electronenmicroscopisch onderzoek van het anjervirus blijken de deeltjes met een diameter van circa  $17\text{ m}\mu$  in kleiner aantal voor te komen dan de deeltjes met een diameter van circa  $33\text{ m}\mu$ .

Anjervirus, met behulp van ammoniumsulfaat uit sap van zieke „P. Fisher” geïsoleerd, is door Prof. Dr J. TH. G. OVERBEEK en Drs H. REERINK <sup>1)</sup> op het Van 't Hoff-Laboratorium te Utrecht met de Spinco ultracentrifuge onderzocht. Het sedimentatie-diagram is weergegeven in fig. 6. De eiwitconcentratie in het viruspreparaat bedroeg 0,25 % (bepaald volgens de micro-Kjeldahlmethode door Ir C. A. KOPPEJAN <sup>2)</sup> op het Laboratorium voor Zuivelbereiding en Melkkunde te Wageningen). De snelheid bij het centrifugeren bedroeg 42040 toeren per minuut. Uit het toelichtend schrijven bij het sedimentatie-diagram van Drs REERINK ontleen wij het volgende;

„We hebben te doen met een mengsel van twee stoffen, die in ongeveer gelijke gewichtconcentratie voorkomen. Een van beide (waarschijnlijk virus?) heeft een hoog moleculair gewicht; de sedimentatie-constante heeft een waarde van  $108 \cdot 10^{-13}$ , hetgeen overeenkomt met een moleculair gewicht van ongeveer 6.000.000 als we de bolvorm aannemen. De andere component heeft een veel kleiner moleculair gewicht naar ruwe schatting tussen 2000 en 10000. De piek in het sedimentatie-diagram is in het tijdsverloop van de proef nog niet van de meniscus los-

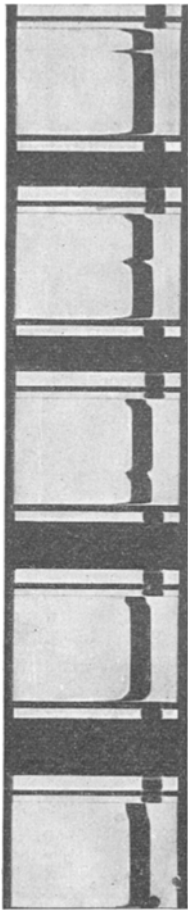


Fig. 6. Sedimentatie-diagram van een gezuiverd preparaat van het anjer-mosaïekvirus bij een snelheid van 42040 toeren per min. Tijd, verlopen tussen 4e en 5e foto: 10 min.; tussen de overige 4 min. Vervaardigd door Prof. Dr J. TH. G. OVERBEEK en Drs H. REERINK met een Spinco ultracentrifuge, Van 't Hoff Laboratorium, Utrecht.

(Sedimentation diagram of purified preparation of carnation mosaic virus. Speed 42040 r.p.m.; time between 4th and 5th photo 10 min.; between the others 4 min. Made by Prof. Dr J. TH. G. OVERBEEK and Drs H. REERINK with a Spinco ultracentrifuge, Van 't Hoff Laboratorium, Utrecht.)

<sup>1)</sup> Schrijvers willen Prof. OVERBEEK en Drs REERINK ook op deze plaats gaarne danken voor de medewerking bij het onderzoek ondervonden.

<sup>2)</sup> Ook Ir KOPPEJAN zijn schrijvers zeer erkentelijk voor zijn hulp.

gekomen en het is daardoor niet mogelijk een sedimentatie-constante te bepalen.”

Zeer waarschijnlijk wordt deze tweede component gevormd door normale eiwitten, die met behulp van de toegepaste zuiveringsmethode niet verwijderd konden worden. Ook tijdens het serologisch onderzoek is gebleken, dat het gezuiverde viruspreparaat nog een belangrijke hoeveelheid normale antigenen bevatte. Mogelijk zijn deze identiek aan de met de ultracentrifuge aangetoonde tweede component.

Het onderzoek met de ultracentrifuge heeft het voorkomen van deeltjes met een kleinere diameter, die in de electronenfoto's werden waargenomen, niet bevestigd. Mogelijk is de concentratie van deze deeltjes te gering om er iets van waar te nemen op het sedimentatie-diagram.

#### F. Serologie

Nu gebleken was, dat het anjervirus door een eenvoudige methode gezuiverd kon worden van een belangrijk deel der normale sapbestanddelen werd getracht een antiserum tegen dit virus te bereiden. Nog voordat bekend was, dat zuivering van dit virus mogelijk was, werden 3 konijnen intraveneus ingespoten met sap van mozaïekzieke anjers. Dit sap was daartoe eerst gedurende 1 uur gecentrifugeerd bij 3400 omwentelingen per min., waarbij het gros van het bladgroen werd neergeslagen. Het sap was hierna echter nog groenachtig getint; het werd in gelijke volumedelen met physiologische zoutoplossing verdund. Van deze verdunning werd 1 cm<sup>3</sup> ingespoten bij 1 konijn; twee andere konijnen ontvingen ieder 2 cm<sup>3</sup> van deze verdunning. Deze laatste dieren waren echter na 36 uur gestorven. Het eerste dier had geen zichtbare schade ondervonden. Hieruit blijkt, dat anjersap in een bepaalde dosis letaal is voor konijnen. Dit berust waarschijnlijk op de oplossing van rode bloedlichaampjes door bepaalde stoffen in het sap. Rode bloedlichaampjes van een konijn, die twee maal gewassen waren in physiologische zoutoplossing, gesuspendeerd in physiologisch zoutoplossing en toegevoegd aan anjersap, werden nl. snel opgelost. Dit had zowel plaats bij sap van gezonde als van zieke anjers.

Later werden 3 konijnen gedurende 5 weken 2 maal per week ingespoten met anjervirus, dat volgens de in de vorige paragraaf beschreven werkwijze was gezuiverd. De dosis werd geleidelijk verhoogd tot 5 cm<sup>3</sup>. De dieren ondervonden hiervan geen nadeel, hetgeen aantoont, dat de toxische stof of stoffen verdwenen was of waren.

Het serum, dat van deze dieren werd gewonnen, bleek de gewenste antilichamen te bevatten tegen het anjer-mozaïekvirus. Tevens waren echter antilichamen tegen normale bestanddelen van het anjersap in het serum aanwezig. De toegepaste zuiveringsmethode is dus kennelijk onvoldoende geweest om alle normale antigenen uit het sap te verwijderen. Het is zelfs niet ondenkbaar, dat bij het concentreren van het virus door middel van ammoniumsulfaat eveneens een concentratie van deze normale antigenen tot stand is gekomen.

Vóór het serum kan worden gebruikt om het anjervirus aan te tonen moet het dus verzaaid worden met sap van gezonde anjers. Daartoe werd dit sap, na uitpersen, verhit tot 60° C en vervolgens gecentrifugeerd. De heldere vloeistof werd gemengd met serum en gedurende enige uren bij 37° C geplaatst. Het neerslag, dat hierbij werd gevormd, werd vervolgens afgecentrifugeerd. Er werd zoveel sap van gezonde anjerplanten toegevoegd totdat geen neerslag meer ontstond.

Voor het aantonen van anjervirus werd gebruik gemaakt van de micro-precip-

pitatie-reactie in de hangende druppel (15). Het met gezond sap verzadigde serum reageerde sterk met gezuiverd anjervirus. Reeds tijdens de menging van een druppel verzadigd antiserum met een druppel gezuiverd en geconcentreerd anjervirus ontstond een dicht precipitaat, dat kenmerkend is voor een somatisch antigeen (15). Dit was trouwens te verwachten gezien de bolvorm der virusdeeltjes op de electronenfoto's.

Bij het onderzoek van sap van anjerplanten op aanwezigheid van virus werd het mengsel sap-verzadigd antiserum eerst circa 20 minuten bij 37° C geïncubeerd.

De hoogste titer, die verkregen werd, was 1 : 64. Ongetwijfeld zal deze nog kunnen worden opgevoerd. Het sap van alle getoetste, door ons in gestoomde grond opgekweekte anjerzaailingen en van *Dianthus barbatus* bleek geen reactie met verzadigd antiserum te geven. Daarentegen werd wel een precipitatie verkregen met sap van anjerzaailingen en duizendschoonplanten, geïnculeerd met anjervirus, terwijl verschillende monsters van Amerikaanse anjers, afkomstig uit Aalsmeer, duidelijk positief reageerden.

Het is dus mogelijk met behulp van de precipitatie-reactie een snelle diagnose aangaande het anjermozaïekvirus te stellen.

Naar aanleiding hiervan zal op het Lab. voor Bloembollenonderzoek te Lisse onder leiding van Prof. Dr E. VAN SLOGTEREN in het groot antiserum tegen het anjermozaïek worden bereid. Hiermede zal in Aalsmeer een strenge selectie van het anjergewas mogelijk zijn. Men hoopt aldus te bereiken, dat slechts die anjerplanten voor het winnen van stek overblijven, welke vrij zijn van het mozaïekvirus.

### III. NABESCHOUWING

Bij het bekijken van Amerikaanse anjers in Nederland waren soortgelijke ziekteverschijnselen te constateren als beschreven door BRIERLEY en SMITH (4), CREAGER (6), FORSBERG (7) en JONES (9). Of de ziekteverschijnselen even hevig zijn als in de U.S.A. is niet zeker. De indeling van JONES in „mosaic”, „streak” en „yellows” is bij de beschrijving van de ziekteverschijnselen niet gevolgd, daar deze indeling alléén op grond van de symptomen te scherp is. Uit proeven zal pas kunnen blijken of er in Nederland nog meer viren bij anjer voorkomen.

Een opbrengstvermindering van viruszieke planten ten opzichte van gezonde planten werd ook gevonden door CREAGER (zie BRIERLEY en SMITH, 4). Bij King Cardinal werden van zieke planten 19 percent minder bloemen gesneden dan van gezonde.

Een gevlekt zijn van bloemen van viruszieke planten werd, naar de afbeeldingen te oordelen, in de U.S.A. in sterkere mate waargenomen dan in Nederland. De resultaten van de proeven op tabak, aster en boon wijzen in de richting, dat het anjervirus of een stam daarvan – indien men aanneemt, dat verschillende stammen van dit virus bestaan – tot de groep der tabaksnecroseviren behoort. Hiermee in overeenstemming is het feit, dat op de electronenfoto's van gezuiverd anjervirus bolvormige deeltjes werden waargenomen. Het is nl. bekend, dat verschillende tabaksnecroseviren bolvormig zijn (3). De hoge inactiveringstemperatuur (tussen 80° en 90° C), alsmede de lage verdunningsgrens (minder dan 10<sup>-5</sup>) van het anjervirus sluiten hierbij aan, hoewel direct hier aan moet worden toegevoegd, dat FULTON (8) een tabaksnecrosevirus heeft geïsoleerd, dat een veel lager inactiveringspunt heeft.

Van de tabaksnecroseviren is bekend, dat zij in de grond kunnen voorkomen

en vandaar de planten kunnen aantasten (1, 3, 5, 8, 10, 13). Zij werden dan ook verscheidene malen geïsoleerd uit wortels van uitéénlopende planten.

Merkwaardig is, dat deze viren doorgaans slechts in de wortels voorkomen; de bovengrondse delen van deze planten blijven vrij van symptomen en virus. Slechts als bladeren van tabak bijv. met sap van besmette wortels worden geïnoculeerd, komen hierop locale necrotische vlekken tot ontwikkeling. Het virus blijft echter in deze vlekken gelocaliseerd. Deze localisatie in de bovengrondse delen doet zich bij verreweg de meeste plantensoorten, die voor dit virus vatbaar zijn, voor. Uitzonderingen zijn evenwel tulp (10, 5) en boon (3), waarop tabaksnecroseviren soms necrotische verspreidingsymptomen doen ontstaan. Een ander uitzonderlijk geval is *Primula obconica* waarin deze viren kunnen voorkomen zonder symptomen te verwekken (1, 13). Indien inderdaad in verder onderzoek, dat thans nog gaande is, het bewijs wordt geleverd, dat anjervirus een tabaksnecrosevirus is, dan wordt aan de lijst van merkwaardige waardplanten een belangrijke toegevoegd. In dit geval zou nl. door een vertegenwoordiger van deze groep een mozaïek worden veroorzaakt bij een economisch belangrijk gewas. Serologische identificatie van het anjervirus als tabaksnecrosevirus wordt in een apart onderzoek opgenomen. Hierbij wordt rekening gehouden met het feit, dat verschillende tabaksnecroseviren serologisch geen verwantschap vertonen (2).

#### IV. SAMENVATTING

Een mozaïekziekte van Amerikaanse anjer (*Dianthus caryophyllus*) kon door enting en met sap worden overgebracht. Deze ziekte blijkt tot belangrijke opbrengstvermindering aanleiding te kunnen geven. Het virus veroorzaakt na uitwrijven op bladeren van duizendschoon (*Dianthus barbatus*) ringvormige vlekjes, terwijl later in de topbladeren van deze planten min of meer ringvormige, vaak concentrische witte figuren optreden; op den duur kan meer geel-groene bontheid als verspreidingsymptoom domineren. Op bladeren van tabak en aster werden na uitwrijven van het sap van mozaïekzieke anjers locale necrotische vlekken verkregen. Met sap van tabaks- en asterbladeren, die deze vlekken vertoonden en met sap van *Dianthus barbatus*, besmet met het anjervirus, konden op boon (*Phaseolus vulgaris* var. Dubbele witte z.dr.) necrotische locale en dito verspreidingsymptomen worden teweeggebracht, die sterk aan stippelstreep van de boon doen denken (3). Rechtstreekse inoculatie op boon met sap van viruszieke anjers leverde echter tot nu toe geen resultaat op.

De inactiveringstemperatuur van het virus ligt tussen 80° en 90° C en de verdunningsgrens lager dan 10<sup>-5</sup>. In de electronenfoto's van het gezuiverde virus werden bolvormige deeltjes waargenomen. Het merendeel dezer deeltjes heeft een diameter van circa 33 m $\mu$ ; in de minderheid zijn deeltjes met een diameter van circa 17 m $\mu$ .

Het virus kan partiëel worden gezuiverd met ammoniumsulfaat. Na inspuiting van konijnen met partieel gezuiverd virus werd een antiserum verkregen dat tot in een verdunning 1 : 64 precipitatie gaf met sap van mozaïekzieke anjers.

#### V. SUMMARY

A virus disease of carnations occurs in the Netherlands which is characterized by yellowish to grey-brown spots on the leaves (fig. 1). Often these spots coalesce

and form bigger spots or lines, sometimes with necrotic centres. If necrosis occurs when the leaves are young, it results in curling or distortion of the leaves when they grow older. Many diseased plants show lighter green spots, streaks or rings in the young leaves. These mosaic symptoms tend to disappear as the leaves grow older, in contrast with the above-mentioned yellowish or necrotic spots which remain. Diseased plants are smaller than healthy ones; their leaves also are smaller and flowers poorer in quality than those of normal plants. The General Netherlands Inspection Service for Ornamental Plants (N.A.K.S.) and the Phytopathological Service take these symptoms seriously into account at inspection of carnation cuttings.

The symptoms described are characteristic of the carnation variety Peter Fisher and most other varieties react similarly. Only in the varieties Puritan and Orchid Beauty has a purple discoloration of the leaf tissue around the necrotic spots been observed.

The disease proved to be transmissible by grafting. Healthy and diseased Peter Fisher plants served as stocks, whereas symptomless material of the varieties Betty Lou, Chief Kokomo, Doris Allwood and Peter Fisher was chosen for scions. The data published in Table I were collected in the course of the experiment.

When both the scions and the stocks used were apparently healthy, most of the grafted plants remained healthy. The explanation of the fact that some plants of the „healthy” series showed symptoms of mosaic at the end of the experiment, may be that these plants became infected during the course of the experiment or that some of the plant parts used were infected, though showing no symptoms. For instance all plants of the variety Doris Allwood that furnished cuttings for the experiment afterwards showed mosaic.

As is evident from Table I, diseased plants produced fewer flowers and the quality of these flowers was also poorer than those of healthy plants. They were smaller than normal and sometimes (e.g. in the variety Betty Lou) spotted and striped.

Sap of mosaic-diseased carnation inoculated into leaves of Sweet William (*Dianthus barbatus*) produced buff-coloured to whitish rings, often in concentric patterns, after 4 to 8 days (fig. 2). Systemic symptoms consisting of small ring like markings or irregular yellowish-green discolorations, appeared 11 days after inoculation.

Inoculation of leaves of aster (*Callistephus* sp.) and tobacco (*Nicotiana tabacum* var. White Burley) resulted in a few necrotic spots which were sometimes surrounded by a concentric ring (fig. 3). Only one out of 10 aster plants afterwards showed systemic symptoms, viz. vein clearing and fine necrotic spots. None of the tobacco plants showed systemic symptoms.

Some of the spots, both from aster and from tobacco, were used as inoculum for *Dianthus barbatus* and new tobacco plants. The *Dianthus barbatus* leaves reacted 1 week after inoculation in the way described above, whereas many local lesions developed on tobacco (fig. 4).

In another experiment the first leaves of young bean plants (*Phaseolus vulgaris* var. Double White Stringless) were inoculated with sap from tobacco leaves showing the above-mentioned local lesions. All bean plants developed dark-coloured local lesions within a week. After 3 weeks most of the inoculated plants showed a systemic necrosis closely resembling the stipple-streak disease of beans (Ref. 3). Sap from *Dianthus barbatus* systemically infected with carnation virus

gave the same local symptoms on beans, though the number of plants showing necrosis of the stem was less (1 out of 5). So far, inoculations of bean plants with sap from diseased carnation plants have not been successful.

The symptoms obtained on tobacco and bean plants closely resembled those of tobacco necrosis viruses.

Carnations grown from seed in steamed soil were inoculated respectively with (a), sap from *Dianthus barbatus* infected with carnation mosaic virus; (b), sap from tobacco leaves infected with this virus after passage through aster; (c), sap from tobacco leaves infected with this virus after passage through tobacco. After one week some plants reacted with slight local yellowish-green discolorations; sometimes reddish-brown local spots appeared. Three weeks later some plants showed symptoms of mosaic in the top leaves. Later, most plants showed distinct mosaic symptoms in the younger leaves, though not all plants reacted clearly, possibly because the plants were not genetically uniform. Proof that all carnations inoculated had become infected, was obtained by inoculating *Dianthus barbatus* plants with sap from every carnation plant used in the experiment. After one week all *Dianthus barbatus* plants showed the above-mentioned local symptoms, whereas those inoculated with sap from untreated carnations remained symptomless. It was concluded from this experiment, that passage through *Dianthus barbatus*, tobacco or aster does not alter the capacity of the virus to infect carnation.

We are not sure what happens after passage of the carnation virus through *Dianthus barbatus*, aster and tobacco. It is possible that in the sap of diseased carnations two viruses or strains occur, one of which can infect bean. The concentration of this virus may be too small to obtain symptoms by inoculation of bean leaves directly with sap from diseased carnation. Only on tobacco or aster does this virus sometimes give rise to a few local lesions. On these hosts the virus may multiply sufficiently to make inoculation with it into beans successful. In *Dianthus barbatus*, multiplication of this virus might also be stimulated in this way, so that the concentration becomes sufficiently high for infection of bean plants. On the other hand it is possible that in carnation only one virus occurs which, as a consequence of passage through tobacco and aster and to a lesser degree through *Dianthus barbatus*, becomes virulent for beans.

The results of experiments to determine the physical properties of the virus *in vitro* are summarized in Table II. The thermal inactivation point proved to be between 80° and 90° C, whereas the dilution end point lay beyond in 10<sup>-5</sup>.

Partial purification of carnation mosaic virus by salting out with ammonium sulphate proved to be possible without loss of its infectivity. The bulk of normal cell constituents had previously been removed by adding 30 ml. 90 % ethyl alcohol to 100 ml. sap expressed from diseased carnation plants.

Partially purified virus, obtained from carnation and from *Dianthus barbatus*, was studied with the electron microscope by Dr A. C. VAN DORSTEN at the Laboratorium W.O., Philips N.V. at Eindhoven. The electron micrographs (fig. 5) show spherical particles. Most of the particles are about 33 m $\mu$  in diameter, but smaller ones of about 17 m $\mu$  occur. This may point to the presence of two viruses. BAWDEN and VAN DER WANT (Ref. 3) described particles of two sizes in the sap of stipple-streak diseased bean plants; besides many spherical particles of 17 m $\mu$  diameter, some bigger ones (about 34 m $\mu$ ) were observed and it was found impossible to separate these particles in any simple way such as by passing the mixture through test plants.

Partially purified virus, obtained from carnation, was examined in the Spinco ultracentrifuge by Prof. Dr J. TH. G. OVERBEEK and Drs H. REERINK at the Van 't Hoff Laboratorium, Utrecht. The concentration of protein in the preparation was 0,25 % according to micro-Kjeldahl analysis.

The sedimentation diagram (fig. 6) shows the occurrence of two components: one had a sedimentation constant of  $108.10^{-13}$  corresponding with a molecular weight of about 6.000.000; the other was much smaller, having a molecular weight roughly estimated as between 2.000 and 10.000. The last one is probably identical with normal proteins not separated by the purification method followed and they may also act as antigens (see below).

The analysis by ultracentrifugation of the virus preparation does not show the occurrence of the smaller globular particles which were seen in some of the electron micrographs. It is possible that the concentration of this component was too low for ultracentrifugal analysis.

An antiserum against the carnation mosaic virus was prepared by injecting rabbits with partly purified virus. It was necessary to saturate this antiserum with sap from healthy carnation plants before use. This shows that the purification of the virus as described does not get rid of all the antigens which are present in the sap of healthy plants. Saturated antiserum reacted strongly with sap from diseased carnations. A bulky precipitate was formed which also indicates the presence of spherical virus particles.

Antiserum in bigger quantities will be made by the Laboratory for Bulb Research at Lisse under the direction of Prof. Dr E. VAN SLOGTEREN. With this antiserum it will be possible to discard diseased plants. The aim is the exclusive cultivation of carnation free from mosaic.

## VI. LITERATUUR

1. BAWDEN, F. C. and KASSANIS, B., *Primula obconica*, a carrier of tobacco necrosis viruses. *Ann. Appl. Biol.* 34: 127-135, 1947.
2. BAWDEN, F. C. and PIRIE, N. W., Further studies on the purification and properties of a virus causing tobacco necrosis. *Brit. J. Exp. Path.* 26: 277-285, 1945.
3. BAWDEN, F. C. and VAN DER WANT, J. P. H., Bean stipple-streak caused by a tobacco necrosis virus. *Tijdschr. o. Pl.ziekten* 55: 142-150, 1949.
4. BRIERLEY, P. and SMITH, F. F., Carnation and gladiolus virus diseases pose serious problems. *Flor. Rev.* 99: 30-33, 1947.
5. BRUYN OUBOTER, M. P. DE en VAN SLOGTEREN, E., Het Augusta-ziek der tulpen een virusziekte van het tabaks-necrosetype. *Tijdschr. o. Pl.ziekten* 55: 262-267, 1949.
6. CREAGER, D. B., Carnation mosaic. *Phytopath.* 33: 823-827, 1943.
7. FORSBERG, J. L., Lessons in carnation diseases. No. 5. The virus complex. *Carnation Craft*, Dec. 1949: 4-5.
8. FULTON, R. W., Variants of the tobacco necrosis virus in Wisconsin. *Phytopath.* 40: 298-305, 1950.
9. JONES, L. K., Mosaic, streak and yellows of carnation. *Phytopath.* 35: 37-46, 1945.
10. KASSANIS, B., A necrotic disease of forced tulips caused by tobacco necrosis viruses. *Ann. Appl. Biol.* 36: 14-17, 1949.



11. NOORDAM, D. en BELGRAVER, W., Virusziekte bij anjers. Vakbl. Bloemisterij 5: 69, 1950.
12. PELTIER, G. L., Carnation diseases. Amer. Florist 46: 725-726, 1916. (Geref. door CREAGER, Phytopath. 33: 823-827, 1943.)
13. PRICE, W. C., MCWHORTER, F. P. and STERANKA, B. H., Natural occurrence of tobacco necrosis virus in primrose. Phytopath. 40: 391-392, 1950.
14. THOMAS, W. D., Hosts of carnation viruses other than carnation. Carnation Craft, Dec. 1949: 6-8, 1949.
15. THUNG, T. H., Grondbeginseien der plantenvirologie. Med. L.H.S. 49, Verh. 4, 1949.

## HET SCHURFTONDERZOEK IN DE JAREN 1947 EN 1948 EN DE WAARNEMINGEN IN 1949 <sup>1)</sup>

*With a summary:*

*Investigations and Observations on Scab disease in 1947, 1948 and 1949*

DOOR

W. P. N. VLASVELD

Tuinbouwconsulentschap voor Plantenziektenbestrijding <sup>2)</sup>

### I. INLEIDING

De schurftziekte van appel en peer, resp. veroorzaakt door *Venturia inaequalis* (COOKE) ADERH. en *V. pirina* ADERH., is nog steeds een van de meest gevreesde ziekten van onze fruitteelt.

In 1938 werd op initiatief van Prof. QUANJER het schurftonderzoek in Wageningen begonnen en in dit tijdschrift verschenen in de loop der jaren enige artikelen, waarin de resultaten van het onderzoek werden medegedeeld (2, 5 en 9).

Evenals in de voorafgaande jaren lag in 1947 en 1948 het zwaartepunt van het onderzoek op het voorspellen van de rijpheid der peritheciën en op het nagaan van de ascosporen-uitstotingen in het voorjaar. Tevens werd de betrouwbaarheid van de resultaten aan een nadere beschouwing onderworpen.

Het is gebleken dat, indien men daadwerkelijk er toe wil overgaan de bespuitingen tegen schurft in het voorjaar te richten naar het vrijkomen van de ascosporen, het van essentieel belang is te weten, wanneer de peritheciën rijpen en rijp zijn en wanneer ascosporen-uitstotingen van betekenis (de zgn. hoofd-ascosporen-uitstotingen) verwacht kunnen worden.

Het eerste is een zuiver biologisch proces, afhankelijk van verschillende factoren, die o.m. in 1947 (2) werden besproken. Het tweede punt houdt direct verband met de regenval; ascosporen komen nl. alleen vrij wanneer de peritheciën voldoende vocht kunnen opnemen. De weervoorspelling, speciaal de weervoorspelling op langere termijn, vervult dus wel een zeer belangrijke rol. Temeer, daar de laatste tijd is gebleken, dat de infectievoorwaarden, die sterk van de meteorologische omstandigheden afhangen (o.a. van de temperatuur en van de duur van de regenval) meer aandacht zullen moeten verdienen (13).

<sup>1)</sup> Ontvangen voor publicatie in October 1949 en aangevuld met enige nieuwe gezichtspunten in 1950.

<sup>2)</sup> Per adres Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen.