

NIEUWE INZICHTEN IN DEN AARD DER VOOR PLANTEN PATHOGENE VIREN ¹⁾

DOOR

H. M. QUANJER

Het is te Wageningen dat ongeveer 53 jaar geleden het onderzoek der plantenviren een aanvang nam en wel door de werkzaamheid van Prof. ADOLF MAYER, die in 1886 een verslag uitbracht over de mozaiekziekte van de tabak. Hij toonde aan, dat zij met door papier gefiltreerd sap van de bonte op de gezonde planten kan worden overgebracht. IWANOWSKI (1892), zoowel als BEYERINCK (1898), de eerste door gebruik te maken van zacht gebakken porcelein als filter, de laatste bovendien van agarplaten, toonden aan hoeveel fijner de deeltjes van het virus zijn dan bacteriën. Omstreeks denzelfden tijd, het einde van de negentiende eeuw, werd hetzelfde gevonden voor het virus van het mond- en klauwzeer (*febris aphthosa*) door LÖFFLER en FROSCHE (1898).

Over den aard dezer viren is men langen tijd in 't onzekere gebleven. In 't begin van deze eeuw werd o.a. door WOODS (1902) en door HUNGER (1905) aangenomen, dat het virus van het tabaksmozaiek onder bepaalde omstandigheden spontaan in de plant ontstaat. ERWIN BAUR (1904), die zich in dienzelfden tijd bezig hield met de studie van het besmettelijk bont der *Malvaceae*, dat slechts door enting op groene planten der zelfde soort kan worden overgebracht, was dezelfde meening toegedaan ten opzichte van de hierbij werkzame smetstof.

Nog kort geleden heeft KLUYVER (1937) de hypothese uitgesproken, dat bepaalde „synthetische groepen” der protoplasten van gezonde planten, bij overbrenging op gevoeliger plantensoorten, daarin een desorganiseerende werking zouden kunnen gaan uitoefenen. Hij stelde zich voor, dat de zooveel intensiever geworden cultuur het contact van uiteenlopende gewassen en daarmee het optreden dezer destructieve werking zou verhoogen. Op deze wijze zou de beangstigende toeneming van de virusziekten der planten kunnen worden verklaard.

In dit verband dient ook te worden herinnerd aan de waarnemingen van DEN DOOREN DE JONG (1930), die meende het ont-

¹⁾ Voordracht gehouden ter gelegenheid van het tienjarig bestaan van den biologenkring te Wageningen op 14 Februari 1939.

staan van een bacteriophagaag te hebben aangetoond in culturen van een sporevormende bacterie, welke verkregen waren uit bacteriënsporten, die tevoren bij 100° C waren gepasteuriseerd. WIEBOLSEN WIERINGA (1936), die bacteriophagie bij de schimmel-familie der Actinomyceten ontdekten, namen dit verschijnsel als gevolg van besmetting waar.

Wanneer men bedenkt, dat de algemeene ervaring is, dat planten en dieren vrij van virusziekten blijven als besmetting wordt vermeden, dan schijnt de hypothese van de spontane generatie der viren even onwaarschijnlijk als die van de spontane generatie der microben. De weg, die verschillende virusziekten gegaan zijn bij hun verspreiding over de aarde is principieel geen andere dan die welke pathogene organismen, bacteriën, schimmels, nematoden en andere parasieten gegaan zijn.

De hoenderpest, die pas in de eerste jaren van deze eeuw in onze streken bekend werd, moet uit Italië afkomstig zijn. De Zuid Afrikaansche paardeziekte is nog weinig verspreid. De bakermat der gele koorts is de kust van tropisch West Afrika, vanwaar zij door slavenschepen naar Amerika is overgebracht en zich verspreid heeft in tropische landstreken waar de vector, de mug *Aedes aegypti*, kan leven. De serehziekte van het suikerriet heeft zich over Java van West naar Oost verbreid, de mozaiekziekte van dit gewas is van Azië naar Amerika, de virusziekten van de aardappel zijn van Zuid Amerika naar vele andere landen overgebracht. De recente studie van het y-virus van ROZENDAAL (1938) werd uitgelokt door het feit, dat dit virus voor ons land waar reeds verschillende aardappelviren bekend waren, als een nieuw virus beschouwd wordt.

De viren van den mensch, dier en plant lijken dus in epidemiologisch opzicht volkomen op de parasitische microben.

Dat de viren zich niet, als bacteriën, op doode stoffen laten kweken, hebben zij met obligate parasieten gemeen. Dat vele viren door zuigende insecten worden overgebracht hebben zij gemeen met sommige voor den mensch en hogere dieren pathogene protozoën. Het is dan ook volkomen begrijpelijk, dat men de viren ongeveer tien jaar geleden nog vrij algemeen beschouwde als ultramicroben.

Buitengewoon veel onderzoek is in dien tijd verricht om deze ultramicroben in de weefsels der zieke dieren en planten zichtbaar te maken. Zoo heeft b.v. GUARNERI in 1892 bij het onderzoek van de pokken kleine lichaampjes in de cellen gevonden, die hij voor protozoën hield. IWANOWSKI beeldde ongeveer in denzelfden tijd microscopische lichaampjes af, die in de cellen van aan mozaiek lijdende tabak voorkomen en waarvan GOLDSTEIN nog in

1926 de beweging bestudeerde. Tot in het jaar 1930 werden zij door sommige onderzoekers als een ontwikkelingsvorm beschouwd van de ultramicrobe, die de ziekte teweegbrengt. Sommige viren hebben in een overbrengend insect eenige dagen noodig om er door te kunnen worden overgebracht, zooals b.v. ELZE voor de bladrolziekte en de perzikbladluis heeft aangetoond. In geen enkel geval is men er echter in geslaagd ontwikkelingsvormen van ultramicroben in deze vectoren te vinden. Nader tot haar oplossing werd deze quaestie, stof of organisme, gebracht door een film, waarvoor de opnamen onder leiding van HENDERSON SMITH (1930) en SHEFFIELD (1931) aan het Rothamsted Experimental Station zijn gemaakt en waarvan het eerste gedeelte in 1930 ter gelegenheid van het 5e internationale botanische congres te Cambridge is vertoond. Men leert in deze film de werking van een der Solaneeën-viren op de protoplasten der haren van *Solanum nodiflorum* kennen.

Zoodra het virus een protoplast heeft bereikt, gaat deze sneller stroomen; daarna worden al spoedig partikeltjes neergeslagen, meegesleept in den stroom en samengekneed. De aldus gevormde klompjes verdwijnen ten slotte; een of meer langgerekte, soms gebogen kristallen komen er voor in de plaats. Door deze film, waarvan de indruk nog versterkt werd toen bleek, dat de genoemde Solanee op precies dezelfde wijze reageert, wanneer zij molybdeen-zuren heeft opgenomen (SHEFFIELD 1934), is een eind gemaakt aan de meening, dat de veel beschreven x-bodies microscopische ontwikkelingsvormen van een ultramicroscopische parasiet zouden zijn.

Een andere weg, langs welke men trachtte te komen tot een beslissing in de vraag „organisme of smetstof” was het meten van de grootte der virusdeeltjes. Alle bekende bacteriën zijn grooter dan de halve golflengte van het licht; hun grootte kan met behulp van den microscoop worden bepaald. Kleinere deeltjes kan men meten zoowel met behulp van ultrafilters als van centrifuges. Wat de eerste methode betreft, de filters van porcelein en infusoriënaarde, die men aanvankelijk gebruikte, hadden enkele nadeelen, o.a. dat de meeste viren er sterk op worden geadsorbeerd, hetgeen ook van de elektrische lading van het virus en het filter afhangt. In het laatste decennium heeft men in de collodium-membranen van ELFORD (1931) een materiaal leeren kennen, dat in 't algemeen een minder sterk adsorbeerende werking heeft.

De methode der centrifugatie heeft zich pas krachtig ontwikkeld sedert voor bepaalde onderdeelen metalen worden gebruikt van zoo groote hardheid, dat sterk opgevoerde omwentelingsnelheden ze niet meer van vorm doen veranderen. De ultra-

centrifuge van SVEDBERG, waarover JAEGER (1938) hier te lande enkele voordrachten heeft gehouden, is van groote waarde o.a. voor de bepaling der grootere moleculairgewichten; de osmotische methode, die voor kleine moleculen in zwang is, kan hierop niet worden toegepast.

De gewichten der grootere moleculen leidt men af uit de sedimentatiesnelheid bij centrifugeeren. Des te grooter de moleculen, des te sneller laten zij zich uitslingeren.

Voor de deeltjes der viren zijn waarden gevonden, die in den regel iets grooter zijn wanneer zij met de centrifuge, dan wanneer zij door filtratie worden bepaald, zooals uit de volgende tabel blijkt:

	Grootte der deeltjes in $m\mu$ bepaald door	
	centrifugeeren	filtratie
pokken-vaccine	200	125-175
herpes	200	100-150
kanarie-virus	120	125-175
hoenderpest	110	60-90
bacteriophagaag C_{16}	90	50-75
„ C_{21}	75	30-45
„ L	75	30-45
tabaksmozaiek-virus	50	18-27
bacteriophagaag D_{20}	50	20-30
mond- en klauwzeervirus	—	8-12
bacteriophagaag S_{13}	20	8-12

De afwijkingen worden in verband gebracht met den vorm der deeltjes, die bij sommige viren, die men nader heeft onderzocht, niet bol maar langerekt is. Een beslissing over den aard der viren is echter ook langs dezen weg niet verkregen.

Het gebruik van methoden der eiwitchemie heeft ten slotte den juisten weg doen vinden.

STANLEY (1936), in Amerika, was de eerste, die uit mozaiek-zieke tabak een eiwit in kristalloide vorm heeft afgescheiden. Deze stof, opgelost in de duizendvoudige hoeveelheid water, is ongeveer even infectieus als het sap der zieke planten.

De kristallen lijken op die, welke bij het cytologisch onderzoek als eindproduct in de cellen worden waargenomen. Dat deze stof een proteïne is, kan door verschillende reacties aangetoond worden.

In Engeland hebben BAWDEN en PIRIE (1937) het bereidingsproces van de meest thermostabile, tegen temperaturen van plm. 90° C. resistente viren, die bij Solaneeën en Cucurbitaceeën voorkomen, nog iets vereenvoudigd. Men moet de te infecteeren

planten in kassen en met rijkelijke stikstofbemesting kweeken om zich een goede virusopbrengst te verzekeren. Men doet goed ze te laten bevriezen alvorens het sap er uit te persen, verhitting van het sap tot 70° C. doet vele hinderlijke plantenstoffen coaguleren, zoodat zij gemakkelijk verwijderd kunnen worden. Het gebruik van fijn verdeelde koolstof ter verwijdering van kleurstoffen, volgens RISCHKOV en GROMYKO (1938) verdient aanbeveling. Verder maakt men gebruik van de oplosbaarheid der virus-eiwitten in alcalisch en de geringe oplosbaarheid in zuur milieu. Als middel om plantenviren uit te zouten wordt veelal ammoniumsulfaat gebruikt. De centrifuge speelt een groote rol bij de bereiding en de ultracentrifuge kan het werk zeer bespoedigen. Men kan er zelfs virusproteïnen mee uitslingeren uit sap, dat niet chemisch gezuiverd is.

Om op de aanwezigheid en de concentratie der viren na elke bewerking contrôle te kunnen uitoefenen, dus om ze te „titreeren”, maakt men gebruik van de eigenschap van bepaalde plantensoorten om met typische locale symptomen te reageeren op de plaatsen waar het virus, na uitgewreven te zijn, op de bladeren, in oppervlakkige wonden indringt (HOLMES 1929). Op deze wijze uitgevoerd, lijkt de titratie op die welke CALMETTE en GUERIN toepasten om de concentratie van pokken-vaccine te bepalen (SEIFFERT 1938). Voor het klassieke tabaks- en voor het ook in ons land veel voorkomend tomatenstreepziektevirus gebruikt men *Nicotiana glutinosa*.

De locale symptomen verschijnen in den regel ook iets eerder dan de algemeene symptomen, die in de nog groeiende bladeren tot uiting zouden komen, wanneer men de eigenlijke waardplant *Nicotiana tabacum* of tomaat als indicatorplant gebruikte.

Ook heeft men ter contrôle van de aanwezigheid en de concentratie van viren wel zijn toevlucht genomen tot serologische reacties; hiervoor worden konijnen gebruikt. Deze reacties leveren slechts een positief resultaat op, wanneer men bij elkaar brengt het serum van dieren, die zijn ingespoten met een bepaald virus en dit virus zelf. In vele gevallen blijken zij even specifiek te zijn voor verschillende viren als de symptomen, die deze in hun waardplanten doen optreden (CHESTER 1936).

Heeft men tenslotte het tabaksmozaïekvirus en enkele verwante viren in geconcentreerden vorm in waterige suspensie verkregen, dan ziet men zich twee lagen afscheiden; in de onderste meer geconcentreerde laag hebben de moleculen en de langgerekte aggregaten van moleculen dezelfde richting aangenomen; in de bovenste minder geconcentreerde bovenlaag liggen zij onregelmatig dooreen. De zijdeachtige glans der in een richting

stroomende vloeistof is eveneens op het gelijk gericht zijn der moleculen terug te voeren; dit verschijnsel is toe te schrijven aan een eigenschap der viren, die als stroomingsdubbelbreking of anisotropie bekend staat (TAKAHASHI en RAWLINS 1934).

Onder de viren, die men als eiwitstoffen heeft leeren kennen, zijn er niet alleen zulke, als enkele tabaks- en tomatenviren en een tweetal komkommerviren (BAWDEN en PIRIE 1937), die gemakkelijk met uitgeperst sap worden overgebracht, maar bovendien zulke welke alleen maar door zuigende insecten kunnen worden overgebracht: het virus der Californische curly-top ziekte van de biet is er een voorbeeld van (FIFE 1938). Vele viren zijn minder stabiel en moeilijker te zuiveren dan het tabaksmozaïekvirus; van andere is de isolatie wel beproefd, maar nog niet gelukt. Vooral de viren, die een lage ontledingstemperatuur en een geringe bestaansduur buiten de plant hebben, zijn moeilijk in zuiveren vorm af te scheiden.

Met de ultracentrifuge hebben ERIKSSON QUESNEL en SVEDBERG (1936) het moleculairgewicht van het tabaksmozaïekvirus bepaald; WYCKOFF e.a. (1937) deden dit met een vereenvoudigde ultracentrifuge. Deze onderzoekers kwamen tot niet te ver uiteenlopende uitkomsten en wel tot een bedrag van plm. 17.000.000, dus 500 maal zoo groot als dat van het kippeneiwit, ook groter dan dat van tot dusverre bekende stoffen met groot moleculair gewicht, als het haemocyanine, een bloedkleurstof van de slak en het oxyhaemoglobine, een bloedkleurstof van den mensch.

Ook zijn elementair-analysen van sommige viren gemaakt. Men komt voor het tabaksmozaïekvirus op 51% C, 7,1% H en 16,7% N, verder O en ongeveer 0,5% P.

Men tracht uit deze groote moleculen thans atoomgroepen af te scheiden, die voor bepaalde eigenschappen verantwoordelijk zijn; reeds is STANLEY (1937) er in geslaagd aan te toonen, dat de virulentie door inwerking van waterstofsuperoxyde, formaldehyde en bestraling met ultraviolet licht verloren gaat, terwijl de kristalvorm en de serologische eigenschappen behouden blijven. Aanknoopingspunten zijn hier te vinden o.a. met WILLSTÄDTER's fermentstudiën.

Belangrijk in dit verband is het feit, dat men, evenals van levende wezens, ook van viren mutanten kent. Zulk een afwijkend virus is, zooals JOHNSON (1926), HOLMES (1934) en anderen aantoonen, verkregen in tabaksplanten, die eenige dagen op een temperatuur van 35 tot 37° C. werden gehouden. Normale planten reageeren op deze virusmutant met zwakkere symptomen. Men kent thans van het tabaksmozaïekvirus een vrij groot aantal mutanten, die niet alleen naar de symptomen der ermee besmette

planten, maar ook serologisch te onderscheiden zijn (BEALE PURDY 1934, CHESTER 1936).

THUNG (1931) en SALAMAN (1933) hebben op andere wijze nl. door zorgvuldige overenting van sap uit in kleur eenigszins verschillende deelen van bladeren van eenzelfde zieke tabakspiant varianten van het mozaïekvirus afgescheiden. Uit proeven met het aardappel-x-virus, dat verborgen leeft o.a. in het ras Eersteling, besloot OORTWIJN BOTJES (1935) op het bestaan van componenten met een zwakkere werking. Bij enting van knolstukken van dit ras op knollen van het ras Bravo reageert dit laatste met de uit- en inwendig karakteristieke symptomen van „topnecrose”. In den nabouw blijkt nog slechts een verzwakt virus aanwezig te zijn, dat beschouwd kan worden als een component van het oorspronkelijk aanwezige virus of viruscomplex.

Zoowel buitenlandsche onderzoekers, ik noem b.v. SALAMAN in Engeland als Nederlandsche: OORTWIJN BOTJES en THUNG, toonden aan, dat planten, waarin zulk een zwak virus voorkomt, daardoor tegen de pathogene werking van een verwant sterker virus min of meer beschut zijn. Dit verschijnsel kent men niet in die mate bij door bacteriën, schimmels en dierlijke parasieten veroorzaakte plantenziekten. Het herinnert aan de bij den mensch en hogere dieren voorkomende „verworven immuniteit”.

Bij de dieren schrijft men hierbij vooral aan in het bloed optredende virus-neutraliseerende stoffen en antistoffen een hoofdrol toe; men kan b.v. in het bloedserum van menschen, die aan gele koorts geleden hebben, en daarna langen tijd in streken geleefd hebben, die vrij van deze ziekte zijn, nog virus-neutraliseerende stoffen aantoonen. Bij de planten, waar het ziekteproces zich in de protoplasten der cellen afspeelt, moet de beschermende werking daaraan worden toegeschreven, dat deze, na door een virus uitgeput te zijn, niet nog eens met een verwant virus kunnen reageeren. De gelegenheid om aan te toonen, dat er neutraliseerende of antistoffen zouden ontstaan, heeft men niet omdat men de planten geen met bloed vergelijkbaar vocht in eenigszins belangrijke hoeveelheid kan aftappen. Alles wijst er dus op, dat hier cellulaire, geen humorale processen in 't spel zijn. In de zieke planten blijft het virus bestaan, ook als de reactie der plant geleidelijk minder hevig wordt. Er zijn bij hooge uitzondering voorbeelden van bekend, dat planten genezen en virusvrij worden (sommige suikerrietrasen, die met suikerrietmozaïek zijn geïnoculeerd). In de meeste gevallen kunnen echter niet anders dan door voortplanting met zaad virusvrije uit virusdragende planten verkregen worden.

De mogelijkheid van een practische toepassing der „immunisa-

tie'' bij planten is nog niet voldoende nagegaan. Voor de classificatie der viren hebben immunisatieproeven beteekenis, want de immuniseerende werking bestaat slechts ten opzichte van verwante viren, zij strekt zich niet uit tot vreemde viren.

Dat de verschillen, die tusschen de mutanten of varianten van het tabaksmozaiekvirus bestaan, beantwoorden aan physische en chemische verschillen, is onlangs door LORING en STANLEY (1937) aangetoond.

Van sommige bacteriophagen gaat het onderzoek in dezelfde richting; reeds heeft men door toepassing van ultracentrifugatie kunnen aantonen, dat zij geen microben maar eiwitachtige stoffen zijn.

Er blijven tal van vragen te beantwoorden: Hoe moet men zich b.v. de vermenigvuldiging der viren voorstellen als het geen microben zijn? Eenige gelijkenis is te vinden met autokatalytische processen, zooals de vorming van bruinsteen, die plaats heeft in een oplossing van kaliumpermanganaat, waarin een partikelkje bruinsteen is „gepoot'', of de vorming van een tryptisch ferment bij inwerking van een weinig trypsine op pancreas-eiwit. Een tweede vraag: Kan men door de afbraak van het protoplasma, die onder de werking der viren plaats vindt, een inzicht krijgen in de samenstelling en werking dezer levende stof? Een derde vraag: Worden alle ziekten van dieren en planten, die men tegenwoordig voor virusziekten houdt, veroorzaakt door eiwitachtige stoffen of zijn er ook bij die b.v. door protozoën worden teweeggebracht? Zoo heeft STAHEL (19) aangetoond, dat bij de instervingsziekte van Liberia koffie in Suriname, die o.a. door haar kenmerk „phloeemnecrose'' op een virusziekte lijkt, steeds een protozoo in de afstervende zeefvaten is te vinden. Een vierde vraag: Waar komen deze zich als organismen gedragende groot-moleculaire eiwitstoffen oorspronkelijk vandaan?

Zoo interesseeren de voor planten pathogene viren de beoefenaars van verschillende natuurwetenschappen: de physici, chemici, bacteriologen, genetici, medici, dierenartsen en plantentopathologen, kortom de biologen in den ruimsten zin. Slechts met vereende krachten kunnen de specialisten verder doordringen in de virologie.

LITERATUUR

- BAUR, ERWIN 1904. Zur Ätiologie der infectiösen Panaschierung. Ber. d. deutsch. bot. Ges. 22, 454.
 BAWDEN, F. C. and PIRIE, N. V. 1937. Liquid crystalline preparations of cucumber viruses 3 and 4. Nature 139, 546.

- BEALE PURDY, HELEN. 1934. The serum reactions as an aid in the study of filterable virus of plants. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 6, 407.
- BEYERINCK, M. W. 1898. Über ein Contagium vivum fluidum als Ursache der Fleckenkrankheit der Tabakblätter. *Verhandel. Koninkl. Akad. Wetensch. Amsterdam, Sect. 2, Deel 6, no 5.*
- CHESTER, K. S. 1936. Separation and analysis of virus strains by means of precipitin tests. *Phytopathology* 26, 778.
- DEN DOOREN DE JONG, L. E. 1930. De bacteriophaga van *Bac. megatherium*; een product van de levende bacteriëncel. *Tijdschr. v. Hygiëne, Microbiologie en Serologie* 4, 1.
- ELFORD, W. J. 1931. Filtration Experiments with virus of infectious ectromelia. *Proc. Royal Society B. Vol. 109, 374.*
- ERIKSSON QUESNEL and SVEDBERG TH. 1936. Sedimentation and electrophoresis of the tobacco-mosaic virus protein. *Journ. Amer. Chem. Soc.* 58, 1863.
- FIFE, J. M. 1938. Effect of sodium citrate on release of curly-top virus from alcoholic precipitate of plant juice. *Phytopathology* 28, 561.
- GOLDSTEIN, B. 1926. A cytological study of the leaves and growing points of healthy and mosaic diseased tobacco plants. *Bull. Torrey Bot. Club* 53, 400.
- HENDERSON SMITH, J. 1930. Intracellular inclusions in mosaic of *Solanum nodiflorum*. *Ann. Appl. Biol.* 17, 213.
- HOLMES, F. O. 1929. Local lesions in tobacco mosaic. *Bot. Gaz.* 87, 39.
- 1934. A masked strain of tobacco-mosaic virus. *Phytopathology* 24, 845.
- HUNGER, F. W. T. 1905. Untersuchungen und Betrachtungen über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. *Zeitschr. f. Pflanzenkr.* 13, 1.
- IVANOWSKI, D. 1903. Über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. *Zeitschr. f. Pflanzenkrankh.* 13, 1. Hieruit blijkt, dat IWANOWSKI in 1892 deze ziekte met door Chamberland-filters geperst sap heeft overgebracht.
- JAEGER, F. M. 1938. De analytische ultra-centrifuge en het onderzoek der filtreerbare virus-soorten. *Chemisch Weekbl.* 35, 419.
- JOHNSON, J. 1926. The attenuation of plant viruses and the inactivating influence of oxygen. *Science* 6.
- LORING, H. S. en STANLEY, W. M. 1937. Comparative properties of virus proteins from a single-lesion strain and from ordinary tobacco-mosaic virus. *Phytopath.* 27, 134.
- KLUYVER, A. J. 1937. 's Levens nevels. *Hand. v. h. 26e Nederl. Natuur- en Geneesk. Congres Utrecht* 82.
- LÖFFLER and FROSCHE, 1898. Berichte einer Kommission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche etc. *Cent. Bakt. Abt.* 1, 23, 371.
- MAYER, ADOLF, 1886. Über die Mosaikkrankheit des Tabaks. *Die Landwirtschaftl. Versuchsstationen* 32, 451.
- OORTWIJN BOTJES, J. G. 1935. Vermindering van de vatbaarheid voor bepaalde virusziekten bij sommige aardappelvassen. *Landbouwkundig Tijdschr.* 47, 651.
- RISCHKOV, V. L. en GROMYKO, E. P. 1938. A new method for the purification of the tobacco mosaic virus. *Comptes rendus de l'Acad. d. Sc. de l'U.R.R.S.* 19, 3.
- ROZENDAAAL, A. 1938. Enkele opmerkingen over een virusziekte van de aardappelvarieteit Eersteling en het verband met de stippelstreepziekte. *Landbouwk. Tijds.* 50, 1063.

- SALAMAN, R. N. 1933. Protective inoculation against a plant virus. *Nature* 131, 486.
- SEIFFERT, G. 1938. Virus und Viruskrankheiten bei Menschen, Tieren und Pflanzen. Theodor Steinkopf, Dresden und Leipzig.
- SHEFFIELD, F. M. L. 1931. The formation of intracellular inclusions in Solanaceous hosts infected with aucuba mosaic of tomato. *Ann. Appl. Biol.* 18, 471.
- 1934. Experiments bearing on the nature of intracellular inclusions in plant virus diseases. *Ann. Appl. Biol.* 21, 430.
- STAHEL, G. 1932. Zur Kenntnis der Siebröhrenkrankheit (Phloëmekrose) des Kaffeebaumes in Surinam. *Phytopath. Zeitschr.* 4, 65.
- STANLEY, W. M. 1937. Crystalline tobacco-mosaic virus protein. *Amer. Journ. o. Bot.* 24, 59.
- TAKAHASHI, W. N. and RAWLINS, T. E. 1934. Application of stream double refraction in the identification of streak viruses of tomato. *Phytopathology* 24, 1111.
- THUNG, T. H. 1931. Smetstof en plantencel bij enkele virusziekten van de Tabaksplant. *Hand. VI. Ned. Ind. Natuurw. Congr.* 450.
- WIEBOLS, G. L. W. en WIERINGA, K. T. 1936. De aardappelschurft en de heterolyse der schurftparasiet. *Tijdschr. o. Plantenz.* 42, 235.
- WOODS, A. F. 1902. Observations on the mosaic disease of tobacco. U.S. Dept. Agric. Bureau of Plant Industry Bull. no 18.
- WYCKOFF, R. W. G., BISCOE, J. en STANLEY, W. M. 1937. An ultra centrifugal analysis of the crystalline virus proteins isolated from plants diseased with different strains of tobacco mosaic virus. *Journ. Biol. Chem.* 117, 57.