

## HET VIROLOGISCH ONDERZOEK AAN DE LANDBOUW- HOGESCHOOL, WAGENINGEN<sup>1)</sup>

*With a summary: Virological research in the Agricultural University, Wageningen*

DOOR

T. H. THUNG

Laboratorium voor Virologie der Landbouwhogeschool, Wageningen

### INLEIDING

Met de instelling van een gewone leerstoel voor Virologie aan de Landbouwhogeschool op 1 januari 1957, waarbij de bestaande buitengewone leerstoel werd opgeheven, is dit vak een zelfstandig onderdeel van het studieprogramma geworden. Tevoren was het een onderdeel van het vak fytopathologie.

In afwachting van het betrekken van een eigen gebouw wordt thans nog gastvrijheid genoten bij het Laboratorium voor Phytopathologie en het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek. Voor de werkzaamheden, het geven van onderwijs en het verrichten van onderzoeken, zijn eigen practicum- en laboratoriumruimten echter van zeer groot belang.

Het is goed een moment stil te staan bij deze nieuwe ontwikkeling in het landbouwkundig onderwijs en onderzoek in Nederland en ons te bezinnen op de historie van het plantevirusonderzoek hier te lande, alsmede op de vele vraagstukken, waarvoor de viroloog zich in het algemeen geplaagd ziet. Het behoort tot de idealen van de nieuwe afdeling bij te dragen tot de oplossing van enige dezer vraagstukken.

### GESCHIEDENIS VAN HET VIRUSONDERZOEK IN NEDERLAND

Tachtig jaar geleden – namelijk in 1876 – ging de Regering ertoe over de Rijkslandbouwschool te Wageningen op te richten. Tot het docentencorps behoorde ook Dr ADOLF MAYER, die met de persoonlijke titel van hoogleraar voor deze onderwijsinstelling was aangetrokken. Voor die tijd was hij buitengewoon hoogleraar aan de Universiteit van Heidelberg. Tot zijn activiteiten – van welke wij het opbouwen van het Proefstationwezen in Nederland willen noemen – behoorde ook het bestuderen van verschillende belangrijke cultures in de Nederlandse landbouw.

Bij deze studie stuitte hij op een ziekte in de tabakscultuur, die al eerder terloops de aandacht moet hebben getrokken in Nederland. Immers VAN SWIETEN, een leerling van de Landbouwhuishoudkundige School te Groningen, vermeldde in 1857 in een rapport over de tabaksteelt te Elst en omstreken en in de Over-Betuwe een ziekte, die hij „roestziekte” noemde. Het is zeer waarschijnlijk, dat deze „roestziekte” dezelfde is als die, welke in 1882 door MAYER met de naam „mozaïekziekte” werd aangeduid. MAYER gebruikt namelijk in het betreffende artikel de namen „roest”, „bont” en „vuil” voor dezelfde ziekte.

De beschrijving van de symptomen vatte hij als volgt samen: „Beschouwt

<sup>1)</sup> Aangenomen voor publikatie 28-9-1957.

men een blad als den platten grond van een landschap, de bladnerven als de rivieren, het landschap doorstroomende, dan treden de donkere plekken op als de overstromingsgebieden der rivieren, waarvan echter eenige hun bed niet verlaten."

De naam mozaïekziekte is sindsdien populair geworden en zó verbreid, dat virusziekten bij planten in het algemeen decennia lang als mozaïekziekten werden betiteld en HEALD (1926) in zijn handboek de tegenwoordige periode van de bestudering der plantenziekten de „mosaic age" noemde, gezien de overheersende betekenis van de virusziekten in deze tijd.

Enige voor ons belangrijke punten in de waarnemingen van MAYER (1886) zijn de volgende:

„Die Krankheit – bisher nur in Holland bekannt – trotz eifrigen Suchens habe ich in Süddeutschland nur ein einziges Mal <sup>1)</sup> in der Nähe von Karlsruhe eine ähnliche Erscheinung in ganz kleinem Massstabe auffinden können – hat bisher nur provinciale Bezeichnungen erhalten."

Als noot lezen we 1) „Die Kräuselung, das sogenannten „Närrischwerden" des Pfälzer Tabaks, ist eine ganz andere Krankheit, von viel weniger tiefgreifenden Folgen."

Een andere noot deelt onder meer mede:

„Eine sehr grosse Verbreitung hat ferner die Meinung, dass das Verfahren beim Auspflanzen von grossem Einflusse sei. Das geht so weit, dass man in Amerongen einem Knechte, der dafür bekannt war, keine glückliche Hand beim Auspflanzen zu haben, und der in Folge dessen vielen „bunten" Tabak zu verantworten hatte, den Beinamen „Jan Bont" zulegte."

Hieruit kunnen we opmaken, dat de verbreiding van de ziekte nog niet sterk was in die dagen, terwijl de besmetting via werkzaamheden zoals het uitplanten, reeds werd vermoed. Thans komt de ziekte algemeen voor en is dit vermoeden volledig bevestigd.

Met het „Närrisch werden" van de tabak in de Pfalz is misschien een ziekte bedoeld, welke thans in Nederland in de belangstelling is gekomen, namelijk de „ratelziekte" van de tabak. Deze ziekte wordt veroorzaakt door een virus, dat bij de aardappel het „stengelbont" teweeg brengt. Het belangwekkendste aspect van dit virus is, dat het tot de zgn. grondvirussen behoort; het blijft nl. lange tijd in de bodem actief en hoewel een eiwit, wordt het blijkbaar niet zodanig aangetast door de enzymen van bodem-micro-organismen, dat het snel verdwijnt.

Het voornaamste resultaat van MAYER's in deze publikatie vermelde werk is wel, dat hij aantoonde dat de ziekte door middel van sap overgebracht kan worden.

„Da machte ich auf einmal die Entdeckung, dass der durch Reibung erhaltene Saft von kranken Pflanzen ein sicherer Infektionsstoff für gesunde Pflanzen sei. Wenn man ein deutlich erkranktes Blatt mit Beifügung einiger Tropfen Wasser feinreibt, und die dickliche grüne Emulsion, welche man auf diese Weise erhält, durch fein ausgezogenen kapilläre Glasröhrchen aufsaugen lässt und diese in die dicken Blattnerven eines älteren Blattes so einstickt, dass sie halten bleiben, ohne auf die Hinterseite des Blattes durchzudringen, so gelingt es in 10 Fällen sicherlich neunmal gesunden Pflanzen von denen das so behandelte Blatt ein Stück ausmacht, zu schweren Erkrankung zu bringen."

Hij filtreerde ook het sap door filtreerpapier en veelal verkreeg hij met de

filtraten infectie bij gezonde planten. Zijn uiteindelijke opvatting was, dat de smetstof uit bacteriën zou bestaan, zo klein, dat ze het filtreerpapier konden passeren. Spoedig zou hier echter een nieuw licht op vallen.

Een andere kracht, in 1876 in Wageningen aangetrokken, was Dr M. W. BEIJERINCK. Hij bleef hier tot 1885, waarna hij naar Delft vertrok, eerst als leider van het microbiologisch onderzoek aan de Nederlandsche Gist- en Spiritusfabriek en later als hoogleraar aan de Polytechnische School (later Technische Hogeschool). Van 1897 af heeft BEIJERINCK 26 jaar in het door hem opgebouwde Laboratorium voor Microbiologie te Delft gewerkt.

In 1889 zag – als resultaat van het in Wageningen begonnen onderzoek – van zijn hand een publikatie het licht, getiteld: „Over een *Contagium vivum fluidum* als oorzaak van de vlekziekte der tabaksbladeren.”

Genoemde publikatie verscheen in de vorm van een vergaderingsverslag van de Wis- en Natuurkundige Afdeling der Koninklijke Akademie van Wetenschappen. Overeenkomstige, meer uitgewerkte publikaties werden enige tijd later in het Duits en het Frans uitgegeven.

Filtreerproeven met porceleinen filters en agarlagen gaven BEIJERINCK aanleiding tot de opstelling van een zeer originele hypothese, namelijk van een levende, vloeibare smetstof. Hiermee onderkende hij als eerste de niet-corpusculaire aard van het agens.

In diezelfde periode kwam ook IWANOWSKI (1894) in Rusland met de mededeling de mozaïeksmetstof door een Chamberlandkaars te hebben gefiltreerd en LÖFFLER & FROSCHE (1898) in Duitsland deden hetzelfde met de veroorzaker van het mond- en klauwzeer. Zij kwamen echter niet op BEIJERINCK's idee, dat de verwekkers geen microben zijn, doch als een geheel nieuw soort agens moeten worden opgevat. BEIJERINCK gebruikte ook reeds geregeld het woord „virus”. Van zijn vele belangrijke waarnemingen dienen nog vermeld te worden: zijn vondst, dat de smetstof alleen tot verspreiding en vermenigvuldiging kan komen in zich delende cellen en zijn ontdekking dat het tabaksmozaïekvirus zeer lang actief blijft, bijvoorbeeld in gedroogd, ziek tabaksblad.

Parallellen trekkend met door ERWIN F. SMITH (1888, 1891) bestudeerde ziekten in Amerika, zoals „peach yellows” en „peach rosette”, overzag BEIJERINCK het uitgebreide gebied al, waartoe de genoemde tabaksziekte dient te worden gerekend.

De na deze studies langzamerhand ontstane definitie van virusziekten, als „besmettelijke ziekten, veroorzaakt door filtreerbare smetstof”, betekent een doorbreking van de tot dan toe dominerende gedachte. Naar aanleiding van de grote werken van PASTEUR en KOCH werd namelijk algemeen aangenomen, dat elke ziekte verwekt werd door een micro-organisme. BEIJERINCK was dus de eerste, die bewust het andere gebied ontsloot. Hij zag ook, dat de filtreerbaarheid van de smetstof niet altijd aangetoond kan worden. Blijft deze filtreerbaarheid achterwege, dan dient door een enting de besmettelijkheid te worden bewezen.

Dank zij het werk van QUANJER en zijn medewerkers, komt aan Nederland de eer toe het nieuwe studiegebied te hebben verruimd.

Dr. H. M. QUANJER begon zijn fytopathologische loopbaan in 1904 als assistent aan het Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten” te Amsterdam. Genoemd laboratorium was een particuliere stichting met Rijks-

subsidie onder directoraat van Professor Dr J. RITZEMA BOS (KERLING, 1957).

In 1906 ging hij met RITZEMA BOS naar Wageningen, waar de Regering een Instituut voor Phytopathologie aan de Rijks Hogere Land-, Tuin- en Bosbouwschool had verbonden. Aanvankelijk was QUANJER als assistent aan dit Instituut verbonden. Na 1909 werd hij leraar in de ziekten der planten en na de stichting van de Landbouwhogeschool werd hij benoemd tot hoogleraar aan deze instelling.

In 1906 kwam QUANJER in aanraking met de bladrolziekte van de aardappel. Het is de Duitse geleerde APPEL geweest, die in 1905 uit het verzamelbegrip „krul”, deze ziekte als afzonderlijke eenheid naar voren had gebracht. Dit betekende een belangrijke vooruitgang, want vóór die tijd werden alle „krulverschijnselen” over één kam geschoren. Over de oorzaak van deze zogenaamde degeneratie of ontaarding werden de meest uiteenlopende ideeën tegen beste gegeven. Een bestrijdingswijze kon dan ook niet worden aangegeven. Het bleek QUANJER al spoedig, dat ook de bladrolziekte geen eenheid vertegenwoordigde. Verschillende oorzaken kunnen een rolling van bladeren teweeg brengen. Veel tegenspraak in de literatuur kon dan ook worden verklaard uit het feit dat men met verschillende bladrolziekten had gewerkt. QUANJER is erin geslaagd de „echte” bladrolziekte volledig af te bakenen. Een groots opgezet anatomisch onderzoek bracht aan het licht, dat alleen de „echte” bladrolziekte gekenmerkt is door het afsterven van het floëemweefsel. In 1908 werd deze floëemnecrose voor het eerst door hem waargenomen, echter pas na heel veel bevestigingen werd de ontdekking in 1913 wereldkundig gemaakt.

Eindelijk beschikte men dan over een middel om de juiste diagnose van bladrol te stellen; tevens kon door het optreden van floëemnecrose een verklaring van de ziekteverschijnselen worden gegeven. De volgende stap, die door QUANJER werd gedaan, was het verrichten van exacte overbrengingsproeven. Door middel van halve knol- en stengelentingen bleek het hem mogelijk de bladrolziekte van zieke op gezonde plantendelen over te brengen.

Eindelijk (1915) was dan het bewijs geleverd, dat hier een infectieziekte in het spel is. Hetzelfde bewees hij een jaar later voor topbont of mozaïekziekte van de aardappel, een ziekte, die reeds in 1910 naast de bladrolziekte door hem was onderscheiden.

Pogingen een microscopisch zichtbare verwekker te vinden bleven zonder resultaat, zodat de oorzaak door hem met de naam „virus” werd aangeduid. QUANJER was zich dus bewust hier met een ziekteverwekker te doen te hebben, die kardinaal afwijkt van de toentertijd bekende verwekkers van ziekten bij de aardappel en hij kan dan ook met recht als een der grondleggers van het moderne virusonderzoek bij de aardappel worden beschouwd.

Nu het vast stond, dat het hier om een besmettelijke ziekte gaat, konden wegen worden aangegeven om de aardappel ziektevrij te vermeenderen. De vraag, hoe het bladrolvirus in de natuur van een zieke op een gezonde plant wordt overgebracht, werd in 1918 en 1919 door J. G. OORTWIJN BOTJES te Midwolda tot een oplossing gebracht. De perzikbladluis bleek de schuldige te zijn. Hetzelfde bewees QUANJER wat later voor de mozaïekziekte van de aardappel. De wetenschap, dat bladluizen een belangrijke rol spelen ook bij de verspreiding van de virussen over grote afstanden, maakte het mogelijk de pootgoedverbouw op de enige juiste basis te plaatsen. Het uitgaan van gezond pootgoed, een zo groot mogelijke isolatie en een zo vroegtijdig mogelijke selectie waren de eerste ver-

eisten. Later werd hieraan door OORTWIJN BOTJES het vroeg rooien toegevoegd; immers op deze wijze ontloopt men de primaire infecties. Zonder overdrijving kan worden gezegd, dat door toepassing van bovengenoemde wetenschap ons land tot de beste pootgoedleverancier van de wereld is geworden. Intussen maakte QUANJER zich verdienstelijk door de groep der krulziekten verder te analyseren en aldus orde in de chaos te brengen. Gedeeltelijk in samenwerking met zijn medewerkers komt hij naast bladrol en gewoon mozaïek tot het onderscheiden van tussennervig mozaïek, aucubabont, kinkel en stippelstreep.

In 1923 wordt het Instituut voor Phytopathologie in drie delen gesplitst, te weten: het Laboratorium voor Entomologie, het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek en het domein van QUANJER: het Laboratorium voor Mycologie en Aardappelonderzoek. Eindelijk krijgt hij de gelegenheid een aantal viruskasjes te bouwen. De eerste voor dit doel gebouwde kasjes zijn later een voorbeeld voor vele andere geworden.

QUANJER wijdt zich nu ook aan de zogenaamde knolziekten. Naast de kringgerigheid (door QUANJER toegeschreven aan een virus) onderscheidt hij de krenterigheid of pseudo-netnecrose, die door ATANASOFF abusievelijk met de door ORTON in Amerika beschreven netnecrose geïdentificeerd was.

In combinatie met OORTWIJN BOTJES komt hij in 1929 tot een verhandeling over ziekten van het stippelstreep- en topnecrosotype; hiermede illustreerde hij dat het zogenaamde „streak” ook een verzamelbegrip vertegenwoordigt.

Ook nu was QUANJER niet tevreden met het beschrijven van de uitwendige symptomen. Microscopisch onderzoek bracht principiële verschillen tussen genoemde ziektypen naar voren. Dit bracht hem ertoe ter gelegenheid van het 5e Internationale Botanische Congres te Cambridge in 1930 op de betekenis van de pathologische anatomie voor de identificatie, differentiatie en klassificatie van de aardappelvirusziekten te wijzen.

Op grond hiervan kwam hij tot zes verschillende virusgroepen. Hoewel later wat betreft de onderdelen wel enige wijziging noodzakelijk was, dient toch te worden gezegd, dat deze bijdrage een grote verheldering heeft gebracht en aanleiding is geworden tot het stichten door genoemd congres van de „International Committee on Classification and Nomenclature of Plant Viruses”.

Tot voorzitter van dit comité werd JAMES JOHNSON van Madison (Wisconsin) benoemd. Hiermee werd aan de werkzaamheden van deze eminente onderzoeker een nieuwe toegevoegd. Van zijn ontdekkingen, die ook in Nederland de aandacht hebben getrokken, zijn o.a. te noemen de aanwezigheid van virussen in gezond uitziende aardappelrassen (1925) en zijn karakterisering van virussen door de fysische eigenschappen (1927).

In 1935 kwam QUANJER met een „verbeterde” classificatie. Een groot deel van de zo langzamerhand ontstane Babylonische spraakverwarring werd er door opgeheven.

Het werk aangaande virusziekten van de aardappel, door QUANJER begonnen, is sedert de jaren 1930 door zijn assistent A. ROZENDAAL voortgezet. Deze onderzoeker heeft zich toegelegd op de differentiatie van virusstammen, de studie van nieuw ontdekte virussen en de symptomatic van aardappelrassen, die kunstmatig worden besmet met een groot sortiment van virusziekten (1948, 1954).

Ook op het gebied van de ziekten bij de voeder- en suikerbiet heeft QUANJER baanbrekend werk verricht. Hier heerste eveneens een grote verwarring. QUANJER maakt voor het eerst duidelijk onderscheid tussen de zwarte hout-

vatenziekte (veroorzaakt door een *Pythium*) en de vergelingsziekte. Laatstgenoemde ziekte bleek gekenmerkt te zijn door zetmeelophoping en floëemvergomming (1934). In 1935 brachten QUANJER's leerlingen het bewijs, dat we hier met een virusziekte te doen hebben.

Gedurende de oorlogsjaren maakte QUANJER „en passant” nog een studie van de ratelziekte van de tabak en kwam daarbij tot de belangrijke ontdekking, dat deze ziekte door een „grondvirus” wordt veroorzaakt. De planten bleken vanuit de bodem te worden besmet. Voortgezet onderzoek bracht aan het licht, dat het ratelvirus identiek is met het stengelbontvirus van de aardappel. Naast ROZENDAAL heeft J. P. H. VAN DER WANT (1948, 1951) belangrijk werk verricht op het gebied van in de grond actief blijvende virussen.

Het onderzoek nam een nieuwe wending als gevolg van de praktische toepassing van de serologie bij de plantevirologie door Professor Dr E. VAN SLOGTEREN, die zich in het onder zijn leiding staande Laboratorium voor Bloembollenonderzoek te Lisse wijdt aan de virusziekten van bolgewassen.

Met hoeveel elan het onderwerp ter hand werd genomen, blijkt wel uit de bereikte resultaten. Op dit laboratorium werd in ons land de serologie voor het eerst in dienst gesteld van de diagnostiek van de verschillende virussen bij de bolgewassen, terwijl door D. H. M. VAN SLOGTEREN belangrijke verbeteringen in de methoden der serologie zijn ingevoerd (1954, 1954).

De ervaring welke men te Lisse verkreeg in het bereiden van verschillende antisera werd voor de N.A.K. aanleiding tot het verzoek de aardappelvirussen eveneens in het onderzoek op te nemen. In betrekkelijk korte tijd kon een hoogwaardig antiserum tegen het X-virus worden afgeleverd, dat in de praktijk uitermate belangrijk is gebleken. Het zich steeds meer uitbreidende X-virus kon immers te velde maar al te vaak niet worden onderkend. Het waren ook serologische methoden waarmee het VAN SLOGTEREN en zijn staf gelukte het zogenaamde S-virus te ontdekken, een virus, dat bij het stellen van de diagnose te velde nog meer moeilijkheden biedt dan het X-virus. Het beschikbaar zijn van deze twee antisera maakte het mogelijk een geperfectioneerde stamboomteelt in te voeren.

Behalve een beoordeling op het oog, heeft hierbij ook serologische toetsing op genoemde virussen plaats. Voor de N.A.K. werd dit in 1947 aanleiding om een zogenaamde gereguleerde stamselectie in te voeren. Wat in de laatste 10 jaren door de combinatie van stamselecties en serologisch onderzoek ten aanzien van de kwaliteit van het Nederlandse pootgoed is bereikt, kan niet hoog genoeg worden aangeslagen. Bij de viering van het 25-jarig bestaan van de N.A.K. op 28 mei 1957 heeft deze dienst met gerechtvaardigde trots op de bereikte resultaten terug kunnen zien. Het wetenschappelijk onderzoek van de bij de aardappel optredende virusziekten en de kennis van de reacties van de verschillende aardappelrassen op de economisch belangrijke virussen, vormden de basis van het keuringsreglement van de N.A.K. Steeds werd op korte termijn met nieuwe ontdekkingen rekening gehouden. Zo was het mogelijk een kwaliteitsproduct van de hoogste orde te verkrijgen en Nederland tot het belangrijkste pootgoed-exporterende land van de wereld te maken. In de jaren 1953, 1954 en 1955 werden respectievelijk 271.816, 248.849 en 257.770 ton pootaardappelen uitgevoerd, overeenkomende met een waarde van respectievelijk 64,4; 55 en 62,5 miljoen gulden.

Het antiserum tegen het virus van vergelingsziekte bij de biet te Lisse bereid, heeft het onderzoek van deze virusziekte belangrijke diensten bewezen en wordt o.m. ook in Amerika gebruikt.

De uitbreiding, die het fytopathologische onderzoek ten behoeve van de oplossing van velerlei in de praktijk van land- en tuinbouw gerezen vraagstukken had ondergaan, leidde in 1949 tot de stichting van het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.) onder directie van Dr J. G. TEN HOUTEN. Dit instituut, dat niet tot de Landbouwhogeschool behoort, heeft ook een virologische afdeling, waar het onderzoek sinds de oprichting van het I.P.O. verder is ontwikkeld. Blijkens het Jaarverslag van het I.P.O. over 1956 zijn hier o.m. onderzoekingen gaande over virusziekten van vruchtbomen, klein fruit, vlinderbloemige gewassen, verschillende groenten en tabak. Daarnaast verricht men er studiën over het virusvrij maken van planten door middel van meristeemcultuur, onder meer van aardappelrassen die geheel met virus zijn besmet, en over de snelheid van het transport van virussen in de aardappelplant in verband met de vaststelling van de rooidatum. Ook wordt er gezocht naar biochemische verschillen tussen viruszieke en gezonde planten ten einde hierop een snelle diagnostiek te baseren.

In de entomologische afdeling van het I.P.O. wijdt men zich ook aan een bepaald facet van het virusonderzoek, nl. aan de insecten, die virussen overbrengen. Onder leiding van Dr H. J. DE FLUITER kon worden aangetoond, dat cicadelliden ook in West-Europa als belangrijke vectoren van plantevirussen kunnen optreden. Dit geldt in het bijzonder voor de cicadellide *Macropsis fuscula*, die het virus van de dwergziekte van de framboos en voor de cicadellide *Euscelis plebejus*, die het bloemvergroeningsvirus bij klaver verspreidt (DE FLUITER, EVENHUIS & VAN DER MEER; 1955).

Daar de taak van de nieuwe afdeling Virologie van de Landbouwhogeschool naast onderwijs ook onderzoek omvat, komt de vraag op, of er geen gevaar voor duplicering zal optreden, aangezien het I.P.O., zoals geschetst, een belangrijke virologische afdeling bezit. Het doel dat het I.P.O. zich stelt, is zoals zojuist is opgemerkt, het verrichten van onderzoek ten behoeve van vraagstukken, die direct uit de praktijk voortkomen. Bij het voortschrijden van dit onderzoek komen dikwijls vraagstukken van meer fundamentele aard naar voren, die voor de oplossing van het praktische probleem van bijzondere betekenis zijn. Het Laboratorium voor Virologie nu kan op dit punt een belangrijke steun aan het I.P.O. verlenen. Omgekeerd kan het I.P.O. het Laboratorium voor Virologie helpen door studenten bij het onderzoek te laten assisteren ten einde hen in de gelegenheid te stellen ervaring op te doen in het oplossen van wetenschappelijke problemen. Aldus kan een harmonische samenwerking tussen I.P.O. en Laboratorium voor Virologie tot stand komen. Bovendien biedt, zoals in de volgende paragraaf zal worden uiteengezet, de virologie zoveel aspecten van theoretische en praktische aard, dat een duplicering van onderzoek ten gevolge van de oprichting van het Laboratorium voor Virologie niet is te duchten.

Beschouwen we de virologie als de leer van het virus, dan kunnen we haar in engere zin opvatten als de wetenschap, die zich met de morfologische en structurele eigenschappen van het virus dient bezig te houden. Hierbij wordt dan de structuuropheldering der virussen als centraal probleem gesteld.

De eigenschappen der virussen worden, wegens hun macromoleculaire karakter, niet zo zeer bepaald door de loutere aanwezigheid van zekere reactieve groepen in het molecuul, dan wel door hun ruimtelijke rangschikking. Onder reactieve groepen moeten hier niet alleen aminogroepen ( $-\text{NH}_2$ ), carboxylgroepen ( $-\text{COOH}$ ) en hydroxylgroepen ( $-\text{OH}$ ) worden verstaan, maar ook atoomconfiguraties, die aanleiding geven tot waterstofbrugbindingen en bindingen op basis van restvalenties (van der Waals-krachten).

Door de talrijke mogelijkheden voor dergelijke lager-energetische bindingen, die een organisch macromolecuul – dat behalve C- en H- ook N- en O-atomen bevat – biedt, wordt hun betekenis bij interacties met andere hoogmoleculaire verbindingen duidelijk, vooral indien men de energie-inhouden van al deze „detail”-bindingen addeert.

Uiteindelijk zal immers voor een begrip van de biologische activiteiten van het virus, zowel als voor een begrip van zijn gedragingen in vitro, een inzicht in de ruimtelijke structuur ervan noodzakelijk zijn. Hoewel een totale opheldering van de architectuur een bovenmenselijke taak schijnt, zo zij hoe dan ook ooit te bereiken is, zullen ook kleine vorderingen op dit gebied van onschatbare waarde zijn.

Vóór men met dit centrale en uiterst fundamentele probleem kan beginnen, zullen verschillende voorwaarden vervuld moeten zijn, voorwaarden, die elk op zichzelf het resultaat zijn van diepgaande onderzoekingen op verschillende terreinen der virologie. Zo zal een eerste voorwaarde zijn de isolering en zuivering van de virussen onder omstandigheden die de biologische activiteit en dus de natieve ruimtelijke structuur ongewijzigd laten.

Een dergelijke zuivering vraagt een bezinning op en een definiëring van criteria voor de zuiverheid van een viruspreparaat. Het zal in dit verband noodzakelijk zijn al de mogelijkheden, die moderne fysische apparatuur, en chromatografische en elektroforetische methodieken voor de viruszuivering bieden, ten volle te benutten, en door vergelijking van langs verschillende wegen verkregen resultaten het begrip „zuiverheid” steeds scherper te omlijnen. Eerst dan zal een kwantitatieve waardering van chemische en biologische fenomenen mogelijk en zinvol zijn en zal omgekeerd de zuiverheid van een preparaat tot uitdrukking komen in zekere chemische karakteristieken.

Een tweede voorwaarde zal zijn een chemische analyse van de tot het uiterste gezuiverde virussen. Deze analyse zal zowel van kwalitatieve als van kwantitatieve aard moeten zijn en zal zijn afsluiting moeten vinden in een opheldering van de lineaire rangschikking der verschillende elementaire bouwstenen (o.a. aminozuren).

Het beschikbaar zijn van kostbare fysische apparaten zoals electronenmicroscoop, ultra-centrifuge en elektroforese-apparatuur zal een derde voorwaarde zijn voor de benadering van de ruimtelijke geaardheid der virussen. Voorts zullen moleculaire grootte en vorm, alsmede de ruimtelijke rangschikking der grotere structuur-elementen, door röntgenologisch onderzoek kunnen worden

bepaald. Het vervullen van deze voorwaarden zal niet alleen de mogelijkheid scheppen voor de aanpak van het bovengeschetste probleem der structuur, maar zal tevens van betekenis zijn voor de oplossing van andere problemen der virologie, zoals diagnostiek en therapie.

De virologie in ruimere zin opgevat, zal zich ook moeten bekommeren om de interactie tussen virus en cel, te beginnen bij het gebeuren der infectie tot de synthese der virusdeeltjes toe. Immers, het virus kan zijn eigenschappen van smetstof slechts openbaren in samenspel met de vatbare cel.

Over het eerste gebeuren bij de infectie (de zogenaamde „attachment”) heeft men bij de plantecel nog geen duidelijk beeld. Dit in tegenstelling tot wat in de bacteriofagie (HERSHEY & CHASE, 1953) bekend is, namelijk de adsorptie van de faag aan de bacteriewand, waarna het nucleïnezuur van de faag in de bacterie dringt. Het is zeer waarschijnlijk dat hierbij enzymatische processen van betekenis zijn, waarin stoffen uit de bacterie een functie vervullen. Ook bij bepaalde diervirussen zijn wij ingelicht over deze eerste fase in de infectie van cel door virus (bijvoorbeeld door het werk van BURNET (1955)).

Bij plantevirussen is het, althans wat tabaksmozaïekvirus betreft, waarschijnlijk, dat ook hier in het nucleïnezuur-deel de essentiële eigenschappen van het virus verankerd liggen (GIERER & SCHRAMM, 1956). Maar het is nog niet duidelijk, waar het intacte virusdeeltje na de inoculatie aangrijpt en op welke wijze het nucleïnezuur uit dit deeltje wordt bevrijd. Het zou van bijzondere betekenis zijn, indien infectieproeven met plantecellen konden worden uitgevoerd, die het trekken van parallellen met de proeven, verricht aan bacteriën en aan op agar gekweekte dierlijke cellen, toe zouden laten. Met betrekking hiertoe is gedacht aan het prepareren van protoplasten uit de kluisters van de starre plantecelwanden. Gezocht zou moeten worden naar methoden om de naakte protoplasten enige tijd in een vloeibaar medium in leven te houden.

Is eenmaal een cel besmet geraakt en is de virusproductie ingezet, dan dringt zich de vraag op, hoe de buurcellen geïnfecteerd raken. Geschiedt dit op dezelfde wijze als bij de eerste cel of berust de verplaatsing van het virus van cel naar cel op een geheel ander principe? De verplaatsing van het virus door de gehele plant werpt voorts problemen op, die verweven zijn met vraagstukken uit de plantenfysiologie betreffende transport van stoffen in het algemeen. Bij het werk over de eerste fase in de infectie na mechanische overbrenging van het virus, kan een studie aansluiten over de infectie, volgend op overbrenging door middel van insecten. Tevens zou nader kunnen worden ingegaan op de nog steeds niet beantwoorde vraag, of er wezenlijke verschillen zijn in de wijze, waarop persistente en non-persistente virussen in de plant worden geïntroduceerd. Als belangwekkend onderdeel van de virologie kan hier nog worden genoemd de studie van bepaalde virussen, die zowel in de plant als in het insect, waardoor zij worden verspreid, tot vermeerdering komen. Uit deze onderzoeken kunnen we nadere gegevens verwachten over de stoffen, waaruit zowel in de dierlijke als in de plantaardige cel het virus wordt opgebouwd. Cultures van plantaardige weefsels en van weefsels van de betreffende insecten leveren het substraat van de te bestuderen virusvermeerderingen.

Is de besmetting zover voortgeschreden, dat het virus tot in de jongste, gedifferentieerde delen van de plant voorkomt, dan is de besmette plant in zijn geheel afwijkend geworden van de gezonde plant. Doch daarmee zijn de vraagstukken, betreffende de fysiologie oneindig gecompliceerder geworden, aange-

zien men nu niet alleen te maken heeft met de interactie van virus en cel, maar ook met de interacties van verschillende besmette weefsels, respectievelijk organen, onderling. Met het oog hierop zou het wenselijk zijn, als proefobject niet een volledige plant te gebruiken, doch te zoeken naar een zo klein mogelijke eenheid, liefst een cel of, indien dit niet mogelijk is, een weefsel.

Brengen wij het vraagstuk der infectie ter sprake, dan komen wij op het probleem, waarom bij inoculaties met ontelbare viruspartikels (zelfs met volgens de electronenmicroscopie schijnbaar homogeen virusmateriaal) meestal slechts een klein aantal slagingen optreedt. Dit aantal varieert bij verschillende fysiologische toestanden van het te inoculeren blad en bij verschillende soorten waardplanten. Naast de condities van het substraat zouden hier ook mogelijke individuele eigenschappen van de viruspartikels van betekenis kunnen zijn. Het is vrijwel zeker, dat bepaalde groepen van viruspartikels eigenschappen hebben, waarin zij zich van andere groepen onderscheiden. Zij zouden daardoor in staat zijn bladeren van bepaalde aard en fysiologische gesteldheid te infecteren. Als consequentie hiervan zouden wij het accent van het virusbegrip moeten verleggen naar het slagen van infectie: wanneer het tot infectie in staat is, is een partikel pas een virus.

Na deze beschouwing over onderzoek naar de aard van het virus en het wezen van infectie en virusvermeerdering dienen we nog even in te gaan op een belangrijk praktisch probleem, nl. het vaststellen of virussen, die op verschillende plaatsen van de wereld voorkomen al dan niet identiek respectievelijk verwant zijn.

De laatste jaren hebben zich weer enigen gewaagd aan het compileren van virusziekten bij planten (KÖHLER & KLINKOWSKI, 1954; SMITH, 1957).

Men moet respect hebben voor de geweldige arbeid, die verricht moest worden om dergelijke compilaties tot stand te brengen. Zonder twijfel is de waarde van deze werken groot; zeer vele gegevens uit de wereldliteratuur zijn hier bijeengebracht en op een gemakkelijk toegankelijke wijze samengevat. Doch onvermijdelijke tekortkomingen zijn hierbij te bedenken: belangrijke virusziekten zijn niet opgenomen, verwante virusziekten zijn afzonderlijk beschreven, niet-verwante bijeengevoegd. Dat dit is geschied, behoeft niet te verwonderen. De literatuur is namelijk zo omvattend, dat het eigenlijk niet voor één mens mogelijk is deze in zijn geheel te overzien en ieder artikel naar waarde te schatten.

In de plantevirologie wordt de behoefte gevoeld aan een werk, dat een overzicht geeft van de in de wereld voorkomende virusziekten, een overzicht dat, of een inventarisatie, die verantwoord is tot het moment van verschijning. De gedachte dringt zich op, of hier niet een taak ligt, die door internationale samenwerking moet worden opgelost.

Eerder is gemeld, dat er vanwege het Internationaal Botanisch Congres en thans ook vanwege het Internationaal Microbiologisch Congres een comité bestaat, dat zich beraadt over de classificatie en naamgeving van plantevirussen. Men kan zich niet aan de indruk onttrekken, dat deze comités aan belangstelling hebben ingeboet. De wereld der virologie heeft nogal in beroering verkeerd over enkele voorstellen van naamgeving. Hoewel de discussies hierover nog niet ten volle zijn verstomd, hebben zij veel van hun actualiteit verloren. In deze discussies heeft men de classificatie min of meer uit het oog verloren en heeft men niet op de voorgrond gesteld, dat de kwestie van de nomenclatuur pas urgent wordt, indien er een zekere vorm van classificatie is bereikt.

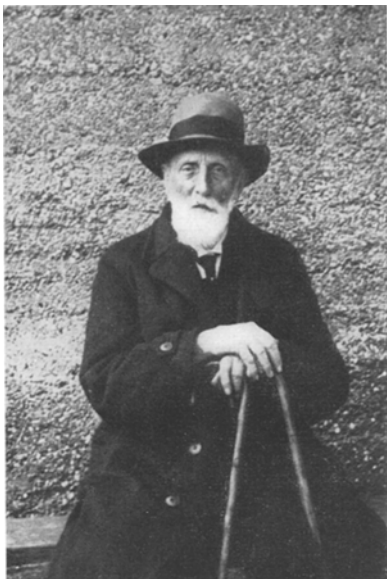


FIG. 1. ADOLF MAYER, geboren te Oldenburg, 9 augustus 1843, gestorven te Heidelberg, 25 december 1942.

Foto uit het archief der Landbouwhogeschool.

ADOLF MAYER, born 9th August, 1843 at Oldenburg, died at Heidelberg, on 25th December 1942.

Photo from the files of the Agricultural University, Wageningen.

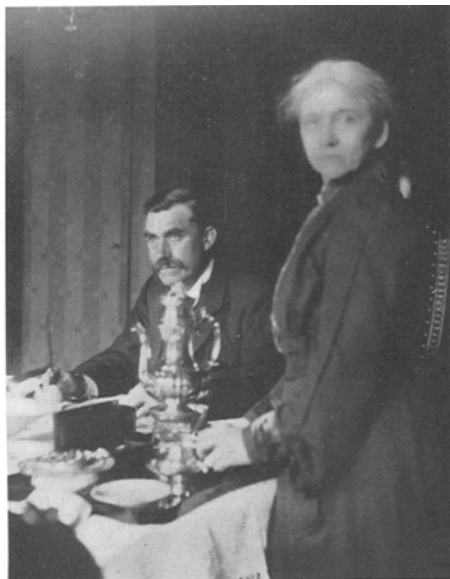


FIG. 2. M. W. BEIJERINCK, geboren te Amsterdam, 16 maart 1851, gestorven te Gorssel, 1 januari 1931.

Foto, met zijn zuster JOHANNA HERMANA ALIDA, genomen te Delft 1917 (?), welwillend afgestaan door Dr C. W. BEIJERINCK, Hilversum.

M. W. BEIJERINCK, born 16th March, 1851 at Amsterdam, died 1st January, 1931 at Gorssel. Photo, with his sister JOHANNA HERMANA ALIDA, taken in 1917 (?) at Delft. Photo placed at the author's disposal by DR C. W. BEIJERINCK, Hilversum.

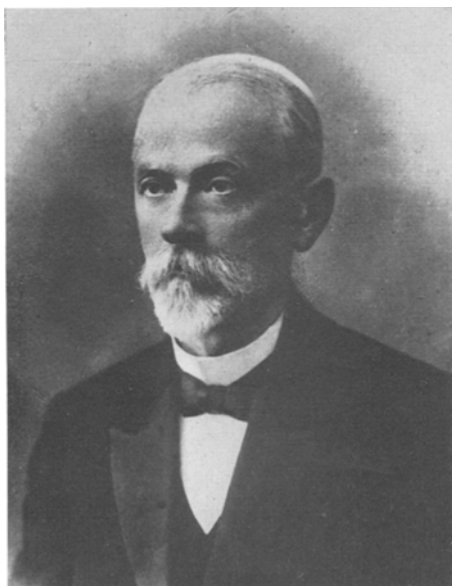


FIG. 3. D. I. IWANOWSKI, geboren 1862, gestorven 1920.

Foto ter beschikking gesteld door Dr. V. L. RYZHKOV te Moskou.

D. I. IWANOWSKI, born 1862, died 1920.

Photo placed at the author's disposal by Dr. V. L. RYZHKOV, Moscow.



FIG. 4. ERWIN F. SMITH, geboren te Gilberts Mills, New York, 21 januari 1854, gestorven 6 april 1927. Foto ter beschikking gesteld door Dr H. H. McKINNEY, Beltsville, Maryland.  
 ERWIN F. SMITH, born 21st January, 1854 at Gilberts Mills, New York, died 6th April 1927.  
 Photo placed at the author's disposal by Dr H. H. McKinney, Beltsville, Maryland.

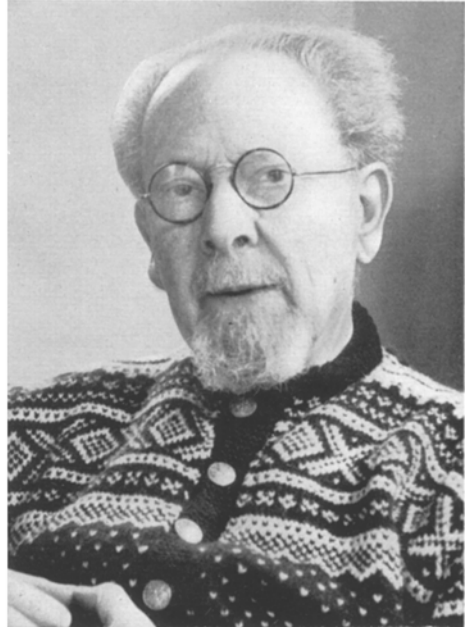


FIG. 5. H. M. QUANJER, geboren 23 april 1879 te Enkhuizen.  
 Foto door de schrijver genomen te Bennekom, april 1957.  
 H. M. QUANJER, born 23rd April, 1879 at Enkhuizen.  
 Photo taken by the author April 1957 at Bennekom.



FIG. 6. JAMES JOHNSON, geboren te Deerfield, Wisconsin, 11 mei 1886; gestorven te Madison, 4 augustus 1952.  
 Foto door de schrijver genomen te Madison, juli 1952.  
 JAMES JOHNSON, born 11th May, 1886 at Deerfield, Wisconsin, died 4th August, 1952.  
 Photo taken by the author, July 1952.

Er zijn onderzoekers, die menen dat de tijd nog niet rijp is voor een ordening, omdat onze kennis voor dit doel nog niet toereikend is. Maar of dit pessimisme gerechtvaardigd is? Er zou mogelijk een positieve bijdrage kunnen worden geleverd door het ten uitvoer brengen van een inventarisatie van de virusziekten en de virussen, die bekend zijn. Uiteindelijk moet men een inzicht hebben in wat er is, alvorens men kan gaan classificeren.

Specialisten zouden landsgewijs moeten trachten inventarisatielijsten samen te stellen. Continentsgewijs zouden deze lijsten verder kunnen worden gecompileerd om tenslotte tot een wereldlijst te worden samengevat.

Criteria voor toetsing en toetsmateriaal dienen internationaal vastgesteld en uitgewisseld te worden. Ontegengesteld zullen bij deze arbeid talloze problemen te voorschijn treden, doch tevens zal dan blijken, dat deze onmogelijk kunnen worden opgelost door enkelingen, die op grond van indrukken uit enkele publicaties verkregen, beslissen of twee virussen verwant zijn, dan wel als afzonderlijke eenheid moeten worden beschouwd. De pathologen, die onderzoek verrichten in de humane en veterinaire virologie, werken op dit ogenblik op dezelfde wijze in internationaal verband samen. Ook de plantevirologen zullen dit tot stand kunnen brengen.

In het voorgaande moest veel in Nederland verricht belangrijk virusonderzoek onbesproken blijven. De door verschillende onderzoekers in diverse instituten en instellingen bereikte resultaten hebben mede de voorwaarden helpen scheppen voor een vruchtbare verdere studie en een gedocumenteerd onderwijs in de virologie aan de Landbouwhogeschool. Naast dank hiervoor wordt ook de verplichting gevoeld het onderzoek met kracht voort te zetten.

#### SUMMARY

On 1st January, 1957 the Laboratory of Virology was erected as part of the Agricultural University at Wageningen.

On the occasion of this event, a short account of the history of plant virus research in the Netherlands is given. This history starts with the investigations of ADOLF MAYER on the mosaic disease of tobacco. These studies were continued by M. W. BEIJERINCK and lead to the concept of virus as a „contagium vivum fluidum”. A new impetus to plant virus research in the Netherlands was given by H. M. QUANJER, who dedicated himself during many years to the study of virus diseases of the potato plant. Well-known are his studies on phloem necrosis in connection with potato leaf roll and the discovery that this disease is caused by a virus.

The name of J. G. OORTWIJN BOTJES is mentioned because he found that the leaf roll virus is transmitted by aphids, in particular by *Myzus persicae*. QUANJER contributed much to the unravelling of the general problem of „potato degeneration” and he was able to distinguish several viruses. He also studied sugar beet yellows disease and a virus disease of tobacco which became known as „rattle disease”.

The work of QUANJER and OORTWIJN BOTJES led to the development of a specialized system for growing potatoes for seed, controlled by the General Netherlands Inspection Service for Seeds of Field Crops and for Seed Potatoes, (N.A.K.).

This organization maintains close contact with A. ROZENDAAL who continues QUANJER's work and studies the symptomatology of many potato varieties in connection with a great many viruses and virus strains. The N.A.K. has also taken advantage of the results from the work of E. VAN SLOGTEREN who developed serological methods and used them on a large scale for diagnosis of plant virus diseases.

Shortly before and after World War II plant pathological and entomological research with the aim to study problems in the practice of agriculture and horticulture was extended. This led to the erection in 1949 of the Institute of Phytopathological Research at Wageningen under the direction of J. G. TEN HOUTEN. This institute possesses a virological division which studies virus diseases of fruit trees, strawberries and raspberries, legumes and various vegetable crops. It also takes care of more specialized investigations such as those on:

1. the velocity of virus translocation in potato plants; 2. the freeing of virus-infected vegetatively-reproduced plants from virus by the application of meristem culture; and 3. the search for biochemical differences between virus infected and healthy plants with the purpose of developing quick diagnosis methods.

In the entomological division of the Institute of Phytopathological Research, attention is paid to the study of virus transmission by insects, especially by leafhoppers.

In the second part of the present article various aspects of modern virus research are considered, e.g. studies on the structure of plant viruses, which directly depend upon virus purification and the criteria of purity; the sequence of events starting with the very beginning of infection and leading to the production of completed virus particles and the mode of transmission of plant viruses by insects.

The new Laboratory of Virology hopes to make a contribution to the study of these aspects. Since there are so many problems to be solved there is no danger that the new Laboratory will lead to a duplication of the above mentioned virus division of the Institute for Phytopathological Research. Instead we want to strive for close co-operation.

Finally, the problem of virus classification and nomenclature is mentioned briefly. It is the opinion of the present writer that the first aim of the international committees on the naming and classification of plant viruses of the botanical and microbiological congresses ought to be the compilation of data on plant viruses. It is thought that plant virologists from all over the world have to work closely together. By exchanging data on the properties of the known viruses it will be discovered on what points our knowledge is inadequate. It is hoped that this work will result in a grouping of viruses and their ultimate naming.

Virological studies here and elsewhere have formed the basis and the stimulus for setting up the new Laboratory of Virology, which will carry on teaching and further research. Besides thanks for the foundations laid by earlier workers, an obligation to carry on their work is felt.

#### LITERATUUR

- BEIJERINCK, M. W., - 1898. Over een Contagium vivum fluidum als oorzaak van de vlekziekte der tabaksbladeren. -- Verslag gewone Verg. Wis- en Natuurkunde Afd. van de Koninkl. Akademie van Wetenschappen d.d. 26 November 1898, blz. 229-235.

- BURNET, F. M., - 1955. The riddle of influence virus. *Endeavour* 14: 5-11.
- FLUITER, H. J. DE, H. H. EVENHUIS & F. A. VAN DER MEER, - 1955. Observations on some leaf-hopper-borne virus diseases in the Netherlands. *Proc. Sec. Conf. Potato Virus Diseases* 1954: 84-88.
- GIERER, A. & G. SCHRAMM, - 1956. Die Infektiosität der Nucleinsäure aus Tabakmosaikvirus. *Zeitschr. für Naturforschung* 11: 138-142.
- HEALD, F. D., - 1926. *Manual of plant diseases*. New York.
- HERSHEY, A. D. & M. CHASE, - 1952. Independant functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *J. gen. Physiology* 36: 39-56.
- IWANOWSKI, D., - 1894. Ueber die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. *Bull. Acad. Imp. Sci. St. Petersburg* no. 5 III: 67-70.
- JOHNSON, J., - 1925. The transmission of viruses from apperently healthy potatoes. *Wisconsin Agr. Exp. Sta. Bull.* 63.
- JOHNSON, J., - 1927. The classification of plant viruses. *Wisconsin Agr. Exp. Sta. Bull.* 76.
- KERLING, L. C. P., - 1957. De stichting Het Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten”. *T. Pl. ziekten* 63: 161-168.
- KÖHLER, E. & M. KLINKOWSKI, - 1954. *Viruskrankheiten. Handbuch der Pflanzenkrankheiten*. P. Sorauer. Band II, 1e Lieferung. Berlin.
- LOEFFLER & FROSCH, - 1898. *Berichte der Kommission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche bei dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin. Centralbl. f. Bakteriöl., Parasitenk. und Infektionkr. Erst. Abt.* 23: 371-391.
- MAYER, A., - 1882. Over de mozaïekziekte van de tabak; voorloopige mededeeling. *Landbouwk.* 2: 359-364.
- MAYER, A., - 1886. Ueber die Mosaikkrankheit des Tabaks. *Landw. Versuchsstat.* 32: 450-467.
- N.A.K., “Tussen Ras en Gewas”. Uitgave N.A.K. 1957.
- QUANJER, H. M., - 1913. Die Nekrose des Phloëms der Kartoffelpflanze, die Ursache der Blattrollkrankheit. *Med. v. d. Rijks Hogere L., T. en B.-school* 6: 41-80.
- QUANJER, H. M., H. A. A. v. D. LEK & J. OORTWIJN BOTJES, - 1916. Aard, verspreidingswijze en bestrijding van phloeemnecrose (bladrol) en verwante ziekten, o.a. Sereh. *Med. v. d. Rijks Hogere L., T. en B.-school* 10: 1-138.
- QUANJER, H. M. & J. OORTWIJN BOTJES, - 1929. Aardappelziekten van het „stippelstreep” en „topnecrose”-type en het vraagstuk der latentie en physiologische specialisatie. *Med. der L.H.S.* 33: 1-44.
- QUANJER, H. M., - 1931. The methods of classification of plant viruses, and an attempt to classify and name potato viruses. *Phytopath.* 21: 577-613.
- QUANJER, H. M., - 1934. Enkele kenmerken der „vergelings”-ziekte van suiker- en voederbieten ter onderscheiding van de „Zwarte houtvaten”-ziekte. *T. Pl. ziekten* 40: 201-214.
- ROZENDAAL, A. & J. P. H. VAN DER WANT, - 1948. Over de identiteit van het ratelvirus van de tabak en het stengelbontvirus van de aardappel. *T. Pl. ziekten* 54: 113-133.
- ROZENDAAL, A., - 1954. De betekenis van verschillende virusgroepen voor de teelt van pootgoed. *Landbouwvoorlichting* 11: 299-308.
- ROZENDAAL, A. & J. H. BRUST, 1954. The significance of potato virus S in seed potato culture. *Proc. 2nd Conf. Potato Virus diseases, Lisse-Wageningen*: 120-133.
- SMITH, E. F., - 1888. Peach yellows, A preliminary report. *U.S. Dept. Agric. Div. of Bot. Bull.* 9.
- SMITH, E. F., - 1891. Additional evidence of peach yellows and peach rosette. *U.S. Dept. Agric. Div. Vegetable Path. Bull.* 1.
- SMITH, K. M., - 1957. *A textbook of plant virus Diseases*. London.
- SWIETEN, J. H. VAN, - 1857. De tabaksteelt te Elst en omstreken en in de Opper-Betuwe. *T. ter bev. v. Nijverheid* 20: 145-167.
- SLOGTEREN, E. VAN, - 1943. De betekenis van de serologie voor het virus-onderzoek. *T. Pl. ziekten* 49: 1-21.
- SLOGTEREN, D. H. M. VAN, - 1954. Serological analysis of some plant viruses with the gel-diffusion method. *Proc. 2nd Conf. Potatoe Virus diseases, Lisse-Wageningen*: 45-50.
- SLOGTEREN, D. H. M. VAN, - 1954. Serological micro-reactions with plant viruses under paraffin oil. *Proc. 2nd Conf. Potato Virus diseases, Lisse-Wageningen*: 51-54.
- WANT, J. P. H. VAN DER, - 1948. Het stippelstreep van de boon (*Phaseolus vulgaris*) een ziekte veroorzaakt door een virus, dat in de grond overblijft. *T. Pl. ziekten* 54: 85-90.
- WANT, J. P. H. VAN DER, - 1951. Some remarks on a soil-borne potato virus. *Proc. Conf. Potato Virus diseases, Wageningen-Lisse*: 71-75.