

Virus-Eiweißspindeln der Kakteen in Lokalläsionen von *Chenopodium*

Von

Davor Miličić und Zlata Udjbinac

Aus dem Botanischen Institut der Naturwissenschaftlich-mathematischen Fakultät
Zagreb

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 15. September 1960)

Einleitung

Die Eiweißspindeln der Kakteen wurden in der Zeit ihrer Entdeckung für normale Zellbestandteile gehalten (M o l i s c h 1885). In den letzten zehn Jahren wurde aber durch eine Reihe von Arbeiten mit Sicherheit festgestellt, daß diese Körper erst nach einer Virusinfektion entstehen und daß sie sogar Aggregate von Viruspartikeln darstellen (R o s e n z o p f 1951; W e b e r, K e n d a und T h a l e r 1952; A m e l u n x e n 1958). Nach den Angaben von A m e l u n x e n ist die Eiweißspindeln aufbauende Viruspartikel fadenförmig, mit einer Länge von 500 m μ und einer Breite von 22 m μ . Auf Grund der chemischen Analyse konnte derselbe Autor konstatieren, daß das spindelbildende Virus Eiweiß und Ribonukleinsäure enthält, so daß es demnach nach chemischer Zusammensetzung mit den anderen pflanzlichen Viren übereinstimmt.

Bisher wurde es nur bekannt, daß das spindelbildende Virus bei vielen Angehörigen der Familie *Cactaceae* verbreitet ist. So wußte schon M o l i s c h (1885), daß die Eiweißspindeln bei *Zygocactus truncatus*, *Schlumbergera russelliana* und *Epiphyllum hookeri* vorkommen. Später fand M i k o s c h (1908) dieselben Körper in *Peireskia aculeata*, L e i t g e b in *Opuntia virens* (zit. nach W e b e r, K e n d a und T h a l e r 1953), G i c k l h o r n (1913) in mehreren anderen Opuntien (*Opuntia missouriensis*, *monacantha*, *camanchica*, *filipendula*, *engelmannii*, *rafinesquei*, *vulgaris*, *microdasys*, *grandis*, *haematocarpa*, *robusta*, *spirocentra*, *fragilis*) und in *Austrocylindropuntia cylindrica*, R o s e n z o p f (1951) in *Schlumbergera bridgesii* und *Peireskia sacharosa*, W e b e r und K e n d a (1952 a, b) in *Austrocylindropuntia subulata* und *Rhipsalis cereuscula*, W e b e r (1953, 1954) in *Peireskiopsis pititache* und *Cylindropuntia kleiniae*, M o l è - B a j e r (1953) in *Peireskiopsis spathulata*, M i l i č i ć (1954, 1960) in *Brasiliopuntia brasi-*

liensis, *Opuntia stricta* und *Opuntia tomentosa*, Kenda (1955) in *Opuntia monacantha* f. *variegata*, Goldin und Fedotina (1956) in *Epiphyllum oxypetalum*, *Echinocereus procumbens*, *Cereus peruvianus*, *Cereus bonplandii* und *Echinopsis nigerrima*, Amelunxen (1958) in *Opuntia lemaireana*, *Opuntia leucotricha*, *Opuntia curassavica*, *Opuntia lindheimeri* und *Opuntia herrfeldtii*. Insgesamt wurden die Eiweißspindeln bisher in ungefähr 40 Kakteenarten gefunden, die verschiedenen Subfamilien gehören. Daß dieses Virus auch auf Pflanzen aus anderen Familien übertragbar ist, wurde aber bis jetzt nicht bekannt.

Es ist interessant, daß das spindelbildende Virus bei Kakteen keine deutlichen und regelmäßig vorkommenden äußeren Krankheitssymptome verursacht. Deshalb ist es bei den Cactaceen nur nach einer mikroskopischen Durchsicht, d. h. nach Auffinden der Eiweißspindeln bzw. der X-Körper in den Wirtspflanzenzellen, möglich festzustellen, ob ein Exemplar infiziert ist. Die erwähnten Zellinhaltskörper befinden sich nämlich in der Epidermis und den subepidermalen Zellschichten gewöhnlich in sehr großer Menge, so daß sie dort leicht zu finden sind. Gelegentlich der Übertragung des Virus von einer Kaktee auf die andere ist es deshalb immer notwendig, die inokulierten Pflanzen mikroskopisch zu untersuchen, wenn man sich über das Ergebnis der Verimpfung informieren will. Daß diese Umstände bei der Untersuchung dieser Virose viele Schwierigkeiten veranlassen, hat besonders Amelunxen (1958) betont.

Außerdem waren sehr lange für die Virusübertragung die Methoden in Anwendung, bei denen die „Inkubation“ lange dauerte. So z. B. während der Übertragung durch Pfropfung kann man manchmal die ersten Eiweißspindeln erst nach mehreren Monaten beobachten (Weber 1954). Was die mechanische Übertragungsart anbelangt, braucht auch sie viel Zeit, und zwar mehrere Wochen, wenn der infektiöse Preßsaft mit einer Injektionspritze „subkutan“ inokuliert wird (Rosenzopf 1951). Unlängst aber fand Miličić (1960), daß nach Abreibung der Kladodienoberfläche mit infektiösem Gewebesafte, dem etwas Karborundpuder beigelegt wurde, die ersten Eiweißspindeln schon sechs bis zehn Tage nach Inokulation entstehen können. Bei Anwendung dieser letzteren Methode erscheinen die Proteinkörper besonders schnell, und zwar schon nach sechs Tagen, wenn für Infektion vorher spindelfreie *Schlumbergera bridgesii* verwendet wird. Doch haben unsere in letzter Zeit ausgeführten Versuche gezeigt, daß die Virusübertragung durch Preßsaft bei Zusatz von Karborund nicht immer leicht gelingt. Auf ähnliche Schwierigkeiten sind bei Übertragung dieses Virus auch Goldin und Fedotina (1956) gestoßen. Auf jeden Fall ist jedoch das Kakteenvirus nicht nur durch Pfropfung, sondern auch auf mechanische Weise übertragbar, und zwar in außergewöhnlich kurzer Zeit mit Hilfe des Karborundpuders.

Virus-Zelleinschlüsse in Lokalläsionen

Unlängst gelang uns, das Kakteenvirus auf *Chenopodium amaranticolor* und *Chenopodium album* zu übertragen. Diese zwei Pflanzenarten sind den Virusforschern gut bekannt, weil viele Viren bei ihnen nicht systemische,

sondern lokale Erkrankungen veranlassen. Im letzteren Falle bleibt die Krankheit nur auf die inokulierten Blätter beschränkt und verbreitet sich nicht auf die anderen Pflanzenteile. An den verimpften Blättern entstehen sogenannte Lokalläsionen, die gewöhnlich die Form rundlicher und nekrotischer Flecke besitzen. Solche Läsionen stellen die Orte dar, wo das Virus während der Inokulation in das Blattgewebe eingedrungen ist. Dort begann sich das Virus zu vermehren, aber das Gewebe infolge seiner großen Empfindlichkeit war nicht imstande am Leben zu bleiben, sondern starb unter dem Einfluß des Virus bald ab.

Die Erscheinung der Lokalläsionen ist von großer Wichtigkeit für die pflanzliche Virologie. Die Läsionen können nämlich für die quantitative Virusbestimmung dienen, weil die Anzahl dieser Gebilde, die an verimpften Blättern entsteht, der Viruskonzentration des verwendeten infektiösen Preßsaftes annähernd proportional ist.

Die ringförmigen Blatteile, die sich unmittelbar um die nekrotischen Flecke befinden, nehmen häufig ein besonderes Aussehen an, das sich von jenem der normalen Blattbereiche unterscheidet. Diese lebendigen Läsionenteile besitzen sehr häufig einen chlorotischen Charakter, sie können aber auch verschiedenartig gefärbt werden. Es sei hier noch erwähnt, daß der zentrale nekrotische Fleck oft gänzlich ausbleiben kann, so daß dann die Läsionen völlig chlorotisch werden. Hollings (1956, 1957) hat bei seinen vergleichenden Untersuchungen die Veränderungen erforscht, die von vielen Viren an den Blättern von *Chenopodium amaranticolor* veranlaßt werden. Dabei schloß er, daß die Läsionen, die verschiedene Viren an den Blättern dieser Pflanze verursachen, oft so mannigfaltig sein können, daß sie für diagnostische Zwecke brauchbar werden.

Gelegentlich unserer Untersuchungen an den Lokalläsionen von *Chenopodium amaranticolor* haben wir versucht, diese Pflanze mit Tabakmosaikvirus (TMV) zu infizieren. Für Inokulation diente uns ein aus einer Paprikapflanze gewonnener Stamm des TMV, der schon lange für Versuchszwecke im Glashaus des Botanischen Institutes in Zagreb gezogen wurde. Daß die Paprikapflanze wirklich das TMV enthielt, konnten wir in erster Linie durch das Auffinden der hexagonalen Prismen in ihren Zellen feststellen. Außerdem wurde die Anwesenheit des TMV durch Verimpfung der Blätter von *Nicotiana glutinosa* mit virushaltigem Preßsaft aus Paprika bewiesen, weil dabei für TMV sehr charakteristische, nekrotische Läsionen an den *Nicotiana*-Blättern entstanden sind.

Sechs bis sieben Tage nach der Inokulation von *Chenopodium* mit TMV aus Paprika wurden an den behandelten Blättern sehr viele kleine Flecke wahrgenommen. Einige Tage später konnten wir beobachten, daß um das nekrotische Zentrum der Flecke ein roter Ring erscheint, der in folgenden Tagen allmählich breiter wurde. Da die Flecke in großer Anzahl anwesend und dicht nebeneinander gestellt waren, vereinigten sich dauernd viele rote Ringe miteinander. Alle diese Veränderungen konnten die alterierten Blätter nicht lang vertragen, sondern vergilbten bald und fielen 20 Tage nach der Impfung ab.

Die Lokalläsionen wurden in verschiedenen Entwicklungsstadien einer

mikroskopischen Durchsicht unterzogen. Dabei wurde wahrgenommen, daß der weiße zentrale Fleck aus toten Zellen mit großen Zwischenräumen bestand, die mit Luft erfüllt waren. Was die rote Anfärbung um die Flecke anbelangt, so stammte sie von lebendigen, aber unter dem Einfluß des Virus alterierten anthozyanhaltigen Zellen. Ähnliche rote Ringe entstehen auch nach Hollings (1956, 1957) im Bereiche der Lokalläsionen nach Infektion von *Chenopodium amaranticolor* mit verschiedenen Viren. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die rote Anfärbung auch in den von Hollings beschriebenen Fällen von Anthozyan verursacht wurde.

Im lebendigen, roten Teile der Lokalläsionen konnten wir sieben bis acht Tage nach Inokulation eine sehr große Anzahl von X-Körpern beobachten. Besonders schön waren die X-Körper in den Epidermiszellen sichtbar, wo sie größer als die Zellkerne und vom Cytoplasma scharf gesondert waren. Da aus elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Brandes (1956) bekannt ist, daß die von TMV hervorgerufenen X-Körper von Viruspartikeln ganz ausgefüllt sind (vgl. auch Sheffield 1946, Bawden 1950, Goldin 1954), meinen wir, daß auch unsere Gebilde in den Lokalläsionen den gleichen Charakter besitzen.

Eine Woche später wurde derselbe Bereich der Flecke wieder mikroskopiert. In den X-Körpern konnten dann stark lichtbrechende Teilchen beobachtet werden, die in polarisiertem Licht zwischen gekreuzten Nikol intensiv leuchteten. Doch bildeten sich dabei keine deutlichen hexagonalen Plättchen, die sonst häufig nach Infektion mit TMV aus den X-Körpern durch Kristallisation entstehen (vgl. Sheffield 1946, Steere und Williams 1953, Smith 1958). Die mit stark lichtbrechenden Teilchen beladenen X-Körper hatten die Form knotiger Ansammlungen, die mit vielen regellos verteilten, kristallinen Körperchen ausgefüllt waren. Da diese voluminösen X-Körper regelmäßig neben der Zellwand lokalisiert und im randständigen Plasmabelag eingelagert waren, ist ihre Verwechslung mit intravakuolären Einschlüssen ausgeschlossen. In Zusammenhang damit ist es wichtig zu erwähnen, daß in den mit Anthozyan gefärbten Zellen die X-Körper immer farblos blieben. Daß diese Körper unter dem Einfluß der Infektion entstanden sind, ging auch aus dem Umstande hervor, daß sie sich in normal grünen Blatteilen außerhalb des Bereiches der Lokalläsionen niemals finden.

Da die X-Körper des TMV eine große Menge von Viruspartikeln enthalten, können wir aus der Anwesenheit der X-Körper schließen, daß das TMV regelmäßig in großer Quantität in den lebenden Zellen auftritt, die das nekrotische Zentrum der Läsionen umgeben.

Eiweißspindeln in *Chenopodium*

Das Auftreten der Viruskörper in den von verschiedenen Viren verursachten Lokalläsionen scheint ziemlich häufig zu sein. Wir hatten nämlich die Gelegenheit festzustellen, daß sich in den Lokalläsionen nicht nur die X-Körper des TMV bilden, sondern daß in ihnen auch die Eiweißspindeln der Kakteen regelmäßig entstehen. Die letzten Körper stellen auch — wie schon angeführt wurde — Aggregate von Viruspartikeln dar.

In diesem Frühling gelang uns nämlich mit dem Kakteenvirus ein Exemplar von *Chenopodium amaranticolor* zu infizieren. Für diese Infektion diente uns der Gewebesaft aus Kladodien einer *Opuntia monacantha*-Pflanze, die in der Epidermis und Subepidermis große Mengen von Eiweißspindeln besaß. Um im Gewebesaft möglichst größere Viruskonzentration

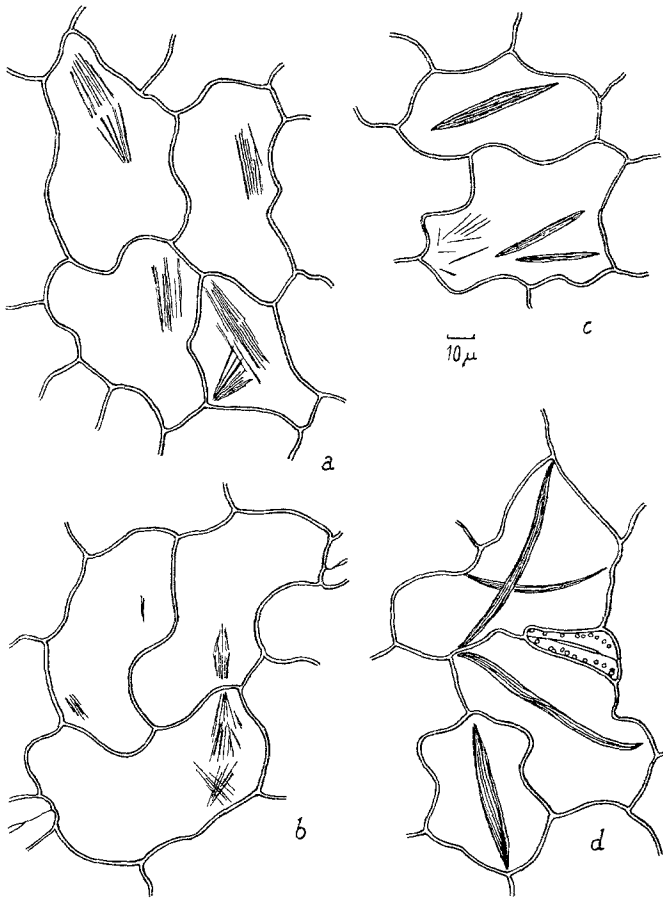


Abb. 1. Kakteen-Eiweißspindeln in Epidermiszellen der Lokalläsionen, *a* und *b* raphidenähnliche Körper in *Chenopodium album*, *c* und *d* typische Spindeln in *Chenopodium amaranticolor*.

zu erhalten, haben wir ihn nur aus den virusreichen peripheren Kladodienteilen ausgepreßt, in denen ausschließlich die Einschlüsse vorkommen. Die Inokulation wurde durch Abreibung der Blattoberfläche von *Chenopodium* bei Karborundzusatz ausgeführt.

Zum Unterschied von anderen Viren, die an *Chenopodium* verhältnismäßig schnell, und zwar schon in einigen Tagen (sechs bis sieben) nach Verimpfung Lokalläsionen hervorrufen, hat *Chenopodium* auf das Kakteenvirus ziemlich spät reagiert. Die ersten deutlichen Veränderungen an den

inokulierten Blättern haben wir bei dem ersten Versuch nach 30 Tagen beobachtet. Diese Blätter waren nicht mehr normal grün, sondern begannen schon chlorotisch zu werden; an ihrer gelbgrünen Oberfläche konnten wir deutliche rote Flecke wahrnehmen. Die Flecke waren meistens rundlich und hatten einen Durchmesser von 1 bis 3 mm.

Die mikroskopische Durchsicht der roten Flecke hat gezeigt, daß sich in der oberen Epidermis zahlreiche Eiweißspindeln befinden, die mit Rücksicht auf ihre Form und charakteristische Mannigfaltigkeit mit den Proteinspindeln aus *Zygocactus* und anderen Kakteen völlig übereinstimmen. Wie bei Kakteen so auch bei *Chenopodium amaranticolor* konnten wir neben typischen Spindeln auch gewundene Eiweißfäden, raphidenähnliche Nadeln und echte ringförmige Körper beobachten (Abb. 1 c und d, 2). Häufig befanden sich die Spindeln fast in jeder Epidermiszelle eines Flächenschnittes, so daß solche Epidermistteile von *Chenopodium* nach ihrem Aussehen der spindelhaltigen *Zygocactus*-Epidermis sehr ähnlich waren.

In den Bereichen der roten Flecke konnten wir während des ersten Übertragungsversuches makroskopisch keine nekrotischen Stellen wahrnehmen. Demgegenüber zeigte eine mikroskopische Durchsicht viele Vernarbungen in der Epidermis; ob diese nach dem Absterben der Epidermis unter dem Einfluß des Virus oder unter der mechanischen Behandlung mit Karborundpuder entstanden sind, war uns nicht möglich festzustellen. Auf jeden Fall war die rote Verfärbung der Epidermis mit der Infektion verbunden, weil sich die Eiweißspindeln regelmäßig in den Bereichen der Flecke befanden. In anderen Epidermisbereichen, die von Flecken entfernt waren, waren die Spindeln sehr selten oder gar nicht zu finden.

Nach der ersten gelungenen Übertragung haben wir den zweiten Versuch angesetzt. In diesem Versuche diente uns wieder zur Inokulation der viröse Gewebesaft, der aus peripheren Kladodienteilen von *Opuntia monacantha* ausgepreßt wurde. Mit diesem Saft wurden in derselben Weise wie im ersten Versuche vier Exemplare von *Chenopodium amaranticolor* und zwei von *Ch. album* inokuliert. Außerdem dienten uns als Kontrolle spindelfreie Kladodien von *Schlumbergera bridgesii* und *Opuntia stricta*, die mit demselben Preßsaft behandelt wurden.

Zehn Tage nach der Inokulation wurden zuerst die Kakteen einer Durchsicht unterzogen, aber Eiweißspindeln in ihrer Epidermis konnten nicht wahrgenommen werden. Die Durchmusterungen derselben Pflanzen wurden 20 Tage nach der Inokulation wiederholt, aber wiederum mit negativem Ergebnis. Das hat uns nicht überrascht, weil uns schon von früher Schwierigkeiten bei Übertragung dieses Virus bekannt waren.

Ebenso ist es uns in diesem Versuche nicht gelungen, mit dem Kakteenvirus *Chenopodium amaranticolor* zu infizieren. An den behandelten Blättern dieser Art sind die erwarteten Flecke ein Monat nach Inokulation nicht entstanden; gleicherweise zeigten dieselben Blätter auch sechs Wochen nach Anfang des Versuches keine Veränderung. Die inokulierten Blätter waren dabei auch mikroskopisch untersucht, aber die Spindeln waren nicht zu finden.

Gegen Erwartung haben wir aber ein und einhalb Monate nach Inokulation an *Chenopodium album* sehr schwache chlorotische Flecke beobachtet,

die größtenteils rundlich waren und einen Durchmesser von ungefähr 4 mm besaßen. Die Flecke waren besser sichtbar, wenn die Blätter in durchfallen-

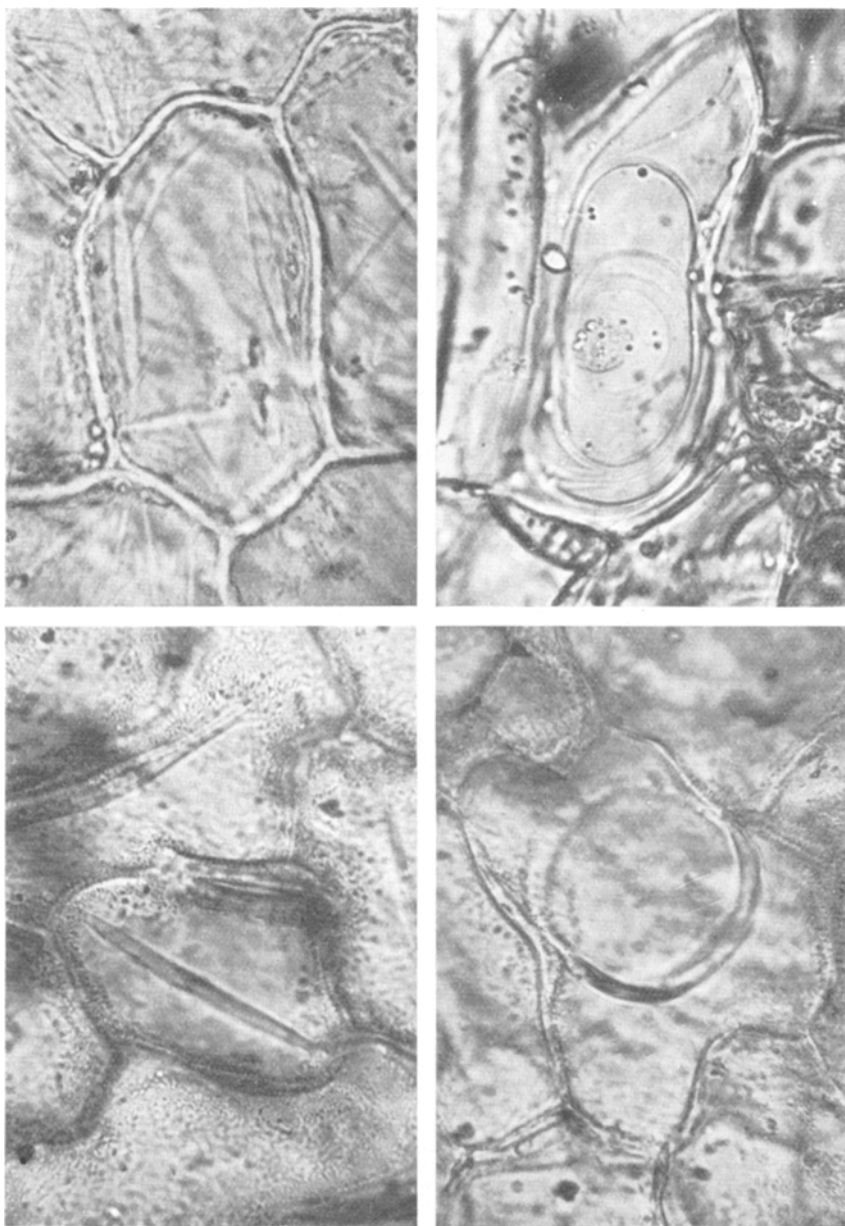


Abb. 2. Verschieden geformte Eiweißspindeln in Blattepidermiszellen von *Chenopodium amaranticolor*.

dem Lichte betrachtet wurden. Daß die Flecke als Folge einer lokalen Virusinfektion entstanden sind, wurde durch eine mikroskopische Durchsicht be-

wiesen; es gelang uns dabei im Bereiche der Flecke Proteinspindeln zu finden, die meistens Raphiden ähnlich waren (Abb. 1 a, b).

Da der zweite Versuch nur teilweise ein positives Ergebnis erbracht hat, wurde die Infektion von *Chenopodium* noch einmal ausgeführt. Im dritten Versuche wurden vier Exemplare von *Chenopodium amaranticolor* mit dem aus peripheren Kladodiengeweiben von *Schlumbergera bridgesii* ausgepreßten infektiösen Saft inokuliert. Schon 20 Tage nach Verimpfung wurden an einigen behandelten Blättern sehr schwache chlorotische Flecke wahrgenommen. Daß diese Flecke unter dem Einfluß der Infektion entstanden sind, haben wir uns nach mikroskopischer Durchsicht der Blattgewebe überzeugt, weil wir dabei in den Blattzellen Eiweißspindeln gefunden haben. Die dann noch schwach sichtbaren Flecke wurden mit der Zeit immer deutlicher, so daß sie 30 Tage nach Infektion leicht bemerkbar waren.

Die infizierten Pflanzen entwickelten sich zufällig unter verschiedenen Lichtbedingungen. Das war anscheinend die Ursache, daß die Lokalläsionen dieser Pflanzen etwas verschiedenes Aussehen bekamen. Bei den an beschatteter Stelle gezogenen Pflanzen zeichneten sich die zuerst chlorotischen Läsionen von den normal grünen und gesunden Bereichen desselben Blattes nicht besonders stark aus. Jedoch bald, und zwar 30 bis 35 Tage nach der Verimpfung, begannen diese Blätter zu vergilben: die Läsionen waren dann viel deutlicher sichtbar geworden, weil um jede einzelne Läsion ein grüner Ring entstanden war (Abb. 3). Sie hatten verschiedene Größe und enthielten einen Durchmesser, der einschließlich mit dem grünen Ring ungefähr 4 mm betrug. Der Ring allein besaß eine Breite von nahezu 1 mm und war manchmal stärker, manchmal schwächer ausgeprägt. In jenen Fällen, wenn sich die Mittelpunkte der Läsionen zu nahe nebeneinander befanden, floßen die chlorotischen Flecke miteinander zusammen. Als Folge solcher Fusionen geschah es, daß mehrere Lokalläsionen nur mit einem gemeinsamen, grün gefärbten Ring umgeben wurden. Solche Fusionen waren ziemlich häufig, was die Zählung der Läsionen bedeutend erschwerte. Trotzdem konnten wir annähernd abschätzen, daß jedes inokulierte Blatt je 30 bis 40 Läsionen enthält.

Demgegenüber waren die Pflanzen, die an stärker besonnener Stelle gediehen, besser entwickelt. Auch bei diesen Exemplaren entstanden an den behandelten Blättern chlorotische Flecke, die schon vor Vergilbung der Blätter gut sichtbar waren. Die inokulierten Blätter dieser Pflanzen begannen etwas später zu vergilben. An den schon vergilbten Blättern waren die randständigen Läsionsteile häufig stärker als bei beschatteten Exemplaren aus-

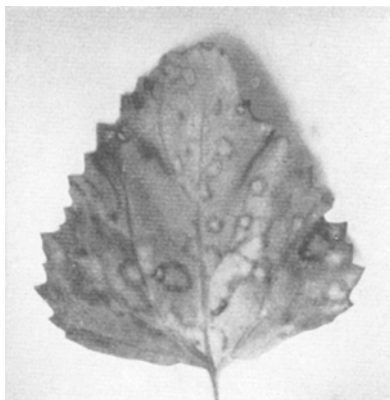


Abb. 3. Ein Blatt von *Chenopodium amaranticolor* mit zahlreichen rundlichen und chlorotischen Lokalläsionen, die mit dunklen (grünen) Ringen umgeben sind.

geprägt, weil diese Teile nicht nur mit dem grünen Pigment, sondern auch mit Anthozyan oft gefärbt waren. Außerdem sammelte sich das Anthozyan manchmal reichlich auch im mittleren Teil der Läsion an. Im Bereiche der Ringe, die von Anthozyan rot angefärbt waren, konnten wir auch manchmal eine kleinere Anzahl nekrotischer Punkte beobachten. Sonst stimmten die Lokalläsionen nach Form und Größe mit jenen überein, die sich an den Exemplaren aus beschatteten Stellen entwickelt waren.

Auf Grund der mikroskopischen Durchsicht dieser Pflanzen konnten wir konstatieren, daß die Eiweißspindeln in allen Teilen der Lokalläsionen vorkommen. Besonders viele Spindeln haben wir in mit Anthozyan gefärbten Bereichen der Läsion beobachtet. Es sei noch erwähnt, daß die Spindeln in großer Menge nicht nur in der oberen, sondern auch in der unteren Epidermis auftreten. Außerhalb der Läsion und eines sehr engen, unmittelbar um die Läsion befindlichen, ringförmigen und normal grünen Blatteil konnten wir niemals Eiweißspindeln wahrnehmen. Was den grünen Ring am Rande der Läsionen betrifft, stammte seine Farbe von Chloroplasten, die in diesen Blattpartien etwas von grünem Pigment auch nach Vergilbung der Spreiten noch behalten haben.

Es ist bemerkenswert, daß wir in Lokalläsionen nur Eiweißspindeln und niemals X-Körper beobachten konnten. Sonst entstehen Eiweißspindeln bei Kakteen häufig aus X-Körpern, wie dies besonders aus den Arbeiten von Weber, Kenda und Thaler (1952) und Amelunxen (1956) bekannt ist. Diese direkte Entstehung der Eiweißspindeln hat uns nicht besonders überrascht, weil sich nach Erfahrungen von Miličić (1960) bei mechanischer Übertragung dieses Virus von einer Kaktee auf die andere, die durch Kladodienabreibung bei Karborundzusatz ausgeführt wurde, auch keine X-Körper, sondern nur Proteinspindeln bildeten. Offenbar können die Eiweißspindeln oder direkt oder vermitteltst der X-Körper erscheinen. Auch die hexagonalen Prismen des TMV können auf beide Weise entstehen.

Aus der Verteilung der Eiweißspindeln war es möglich zu schließen, daß das Virus nur im Bereiche der Läsionen vorhanden ist und daß es sich in die weit entfernten, normal grünen Blattpartien nicht verbreiten kann. Doch können sich — wie bekannt — die Läsionen mit der Zeit vergrößern, was höchstwahrscheinlich mit einer langsamen Ausbreitung des Virus im Blattgewebe in Zusammenhang steht. Sonst muß die Geschwindigkeit der Virusausbreitung bei lokalen Infektionen sehr klein sein, besonders wenn wir diese mit der Geschwindigkeit der Viruswanderung bei systemischen Infektionen vergleichen; im letzten Falle kann sich nämlich die ganze Pflanze in wenigen Tagen mit Virus infizieren. Kleine Ausbreitungsgeschwindigkeit in den Lokalläsionen von *Chenopodium* ist nicht nur bei Wanderung des Kakteenvirus, sondern gewiß auch bei Verbreitung vieler anderen Viren, wie z. B. des schon beschriebenen TMV, verwirklicht. Was die Ursache ist, daß sich das Virus im Bereiche der Lokalläsion so langsam verbreitet, scheint noch nicht völlig geklärt zu sein.

Die inokulierten und läsionenhaltigen Blätter von *Chenopodium amaranticolor* und *Ch. album* vergilbten früher als die anderen, gleich alten und gesunden Blätter derselben Pflanze und fielen kurze Zeit nach Vergilbung

von der Pflanze ab. Diese Autoamputation kann auch verhindern, daß sich das Virus vom verimpften Blatt in die anderen Pflanzenteile verbreitet.

Daß die Spindeln aus den beschriebenen Lokalläsionen von *Chenopodium* wirklich Einschlußkörper des Kakteenvirus sind, wurde auf folgende Weise bewiesen. Einige Kladodien von *Schlumbergera bridgesii* wurden mit dem aus spindelhaltigen *Chenopodium*-Blättern gewonnenen Preßsaft verimpft. Sechs Tage nach Verimpfung wurden in *Schlumbergera* die ersten Proteinspindeln beobachtet. Doch war die Anzahl der Infektionsherde in *Schlumbergera* nicht besonders groß.

Schlußbemerkungen

Wie aus der obigen Beschreibung hervorgeht, unterscheiden sich die vom Kakteenvirus an *Chenopodium* hervorgerufenen Läsionen immer von normalen Blattbereichen. Es scheint uns, daß diese Läsionen die ersten bisher beobachteten regelmäßigen makroskopischen Veränderungen sind, die das Kakteenvirus an seinen Wirtspflanzen verursacht. Demnach kann das Kakteenvirus manchmal auch stärkere Umwandlungen in Wirtspflanzen-gewebe veranlassen.

Was das Aussehen der Läsionen betrifft, so unterscheiden sie sich manchmal etwas voneinander auch im Falle, wenn sie an derselben Pflanzenart vorkommen. Diese Unterschiede können aber teilweise auch von äußeren Bedingungen abhängig sein. So z. B. scheint uns, daß die Entstehung des Anthozyans im Bereiche der Läsionen stark von Licht bedingt ist. Auf jeden Fall ist es notwendig, in künftigen Untersuchungen der Morphologie der Läsionen weitere Aufmerksamkeit zu widmen.

Die vom Kakteenvirus an *Chenopodium* verursachten Läsionen sind manchmal nicht besonders deutlich; sie lassen sich wegen dieser und anderen Eigenschaften — zum Unterschied von jenen des TMV — nicht leicht zählen. Daß sich in dieser Hinsicht die Läsionen von verschiedenen Viren an *Chenopodium* unterscheiden, folgt auch aus den Untersuchungen von Hollings (1956, 1957), der die Reaktionsweise von ungefähr 60 Viren auf diese Pflanze geprüft hat. Dieser Autor konnte in erster Linie feststellen, daß die Mehrzahl der untersuchten Viren an *Chenopodium* nicht eine systemische, sondern lokale Infektion verursacht. Die entstandenen Läsionen waren häufig zahlreich, genug klein und scharf voneinander gesondert, so daß sie leicht zählbar und deshalb für quantitative Untersuchung brauchbar waren. Obwohl die vom Kakteenvirus an derselben Pflanze hervorgerufenen Lokalläsionen infolge der beschriebenen Eigenschaften für quantitative Virusbestimmung nicht besonders geeignet sind, können wir sie doch vielleicht wenigstens für Orientierung verwenden. Sonst sind die Pflanzen mit solchen Läsionen für verschiedene Arbeiten oft sehr nützlich. So hat z. B. A m e l u n x e n (1958) hervorgehoben, daß das Fehlen der Testpflanzen mit Lokalläsionen ihm viele Schwierigkeiten bei biochemischen Untersuchungen des Kakteenvirus verursacht hat.

In den schon erwähnten Arbeiten hat Hollings (1956, 1957) noch gezeigt, daß viele Viren an den Blättern von *Chenopodium amaranticolor* so charakteristische Lokalläsionen hervorrufen, daß diese einen diagnostischen

Wert haben können. Außerdem sind die Inkubationszeiten, innerhalb deren die Lokalläsionen an *Chenopodium* entstehen, sehr verschieden und deutlich von der Virusart abhängig, so daß auch diese Angaben für einzelne Viren bedeutungsvoll sein können. Wie aus den Daten von Hollings hervorgeht, besitzen die Läsionen der Mehrzahl der Viren kurze Inkubationen, so daß solche Viren verhältnismäßig selten sind, deren Läsionen sich erst nach 20 bis 45 Tagen äußern. Nach den Untersuchungen von Hollings haben lange Inkubation z. B. die durch das Potato virus S verursachten Läsionen.

Unter den Viren, die von Hollings geprüft sind, befindet sich eine große Anzahl von gut bekannten und weitverbreiteten Erregern von Pflanzenkrankheiten. Wenn wir die von Hollings (1956, 1957) beschriebenen Symptome und notierten Daten mit unseren Angaben über die vom Kakteenvirus verursachten Veränderungen an *Chenopodium amaranticolor* vergleichen, dann scheint es uns, daß keine Beschreibung von Hollings mit von uns beobachteten Merkmalen übereinstimmt. Demnach müßte das Virus, das in Kakteen und in *Chenopodium* die Entstehung von Eiweißspindeln veranlaßt, mit keinem von jenen Viren identisch sein, die von Hollings (1956, 1957) untersucht worden sind.

Außerdem ist uns die Partikelgröße des spindelbildenden Virus bekannt, die nach Amelunxen (1958) $500 \times 22 \text{ m}\mu$ beträgt. Das bietet uns die Möglichkeit, auch in dieser Hinsicht das Kakteenvirus mit vielen anderen Viren zu vergleichen. Wenn wir also die angeführten Dimensionen des Kakteenvirus und die bei Klinkowski (1958) befindlichen Daten über die Partikelgröße und -form von 45 Viren gegenüberstellen, geht daraus wieder hervor, daß das Kakteenvirus eine besondere, mit diesen nicht identische Virusart sein muß.

Gelegentlich der künftigen Bemühungen, das Kakteenvirus noch genauer zu erkennen, wäre es notwendig, die Beobachtungen von Goldin und Fedotina (1956) zu berücksichtigen. Diese Autoren konnten die Angaben früherer Forscher bestätigen, daß das Kakteenvirus bei seinen der Familie *Cactaceae* gehörenden Wirtspflanzen keine sichtbaren Erkrankungssymptome verursacht. In dieser Hinsicht unterscheidet sich diese Virose von der Krankheit, die für *Zygocactus truncatus* Blattný und Vukolov (1932) beschrieben haben. Die von diesen Autoren untersuchte Krankheit ruft nämlich an den jungen Kladodien von *Zygocactus* charakteristische Flecke hervor, die bei spindelhaltigen Exemplaren derselben Art nicht auftreten (Goldin und Fedotina 1956, Miličić 1960). Dabei sei noch erwähnt, daß nach Meinung von Goldin und Fedotina (1956) die von Blattný und Vukolov angeführten Beweise für den Viruscharakter ihrer Erkrankung nicht genug überzeugend sind. Für jeden Fall wäre es notwendig zu überprüfen, ob die Krankheit von Blattný und Vukolov eine Virose ist.

Demgegenüber ist die Virusnatur des Agens, das die Übertragung der Eiweißspindeln veranlaßt, mit Sicherheit bewiesen. Zuerst verdanken wir Weber, Kenda und Thaler (1952) die Entdeckung, daß die Spindeln aus X-Körpern entstehen. Weiter ist durch die Arbeiten von Amelunxen (1956, 1958) die Form und Größe der die Spindeln aufbauenden Virus-

partikeln wie ihre chemische Zusammensetzung bekannt. Ebenso wissen wir heute, daß diese Virose durch Pfropfung (Rosenzopf 1951, Weber 1954) und auf mechanische Weise durch infektiösen Preßsaft bei Karborundzusatz übertragbar ist (Miličić 1960). Schließlich wurde es von uns hier mitgeteilt, daß dieses Virus experimental auf Chenopodien übertragbar ist, an denen es krankhafte Veränderungen regelmäßig verursacht.

Nach den Angaben aus der Literatur ist es gewiß, daß dieses Virus in Österreich, Deutschland, UdSSR, Polen, Frankreich, Italien, Spanien und Jugoslawien verbreitet ist, und zwar bei in Gärten und Parkanlagen gezogenen Kakteen. Demgegenüber konnte Miličić (1956) bei den spontan sich vermehrenden verwilderten Opuntien aus dem jugoslawischen Küstenland diese Virose nicht konstatieren. Ob diese Krankheit auch in Amerika, der Heimat der Kakteen, vorkommt, ist jetzt noch nicht bekannt.

Die physikalischen Eigenschaften des Kakteenvirus sind noch nicht genau untersucht; doch ist einiges in dieser Richtung bisher schon bekannt. So wurde von Rosenzopf (1951) festgestellt, daß das Virus bei Temperatur von 70° C noch beständig ist. Außerdem hat Amelunxen (1958) berichtet, daß die gereinigten Virupräparate, die 18 Tage im Kühlschrank aufbewahrt wurden, die Infektionskraft noch behalten.

Auf Grund der angeführten Eigenschaften der Eiweißspindel-bildenden Virose meinen wir, daß diese als eine besondere Viruskrankheit zu betrachten ist, die mit der Krankheit von Blattný und Vukolov (1932) nicht identisch ist. Für Erweiterung unserer Kenntnisse über die Kakteenvirose und für besseres Erkennen der Unterschiede unter dieser und anderen pflanzlichen Viruskrankheiten, wäre es notwendig, weitere Übertragungsversuche auf Testpflanzen aus verschiedenen Pflanzenfamilien auszuführen.

Zusammenfassung

Das Virus, das bei *Zygocactus*, *Opuntia* und vielen anderen Kakteen die Entstehung von Eiweißspindeln veranlaßt, wurde mechanisch auf *Chenopodium amaranticolor* und *Chenopodium album* übertragen. Unter dem Einfluß dieses Virus erscheinen an den Blättern dieser Pflanzen 20 bis 45 Tage nach Inokulation Lokalläsionen in Form von chlorotischen Flecken. Die Läsionen sind manchmal durch Anthozyan deutlich rot gefärbt und häufig von einem grünen Ring umgeben. Bei der mikroskopischen Durchsicht der inokulierten Blätter wurde festgestellt, daß sich nur im Bereiche der Lokalläsionen eine große Anzahl von Eiweißspindeln befindet.

Außerdem wurden große X-Körper auch in den Lokalläsionen gefunden, die sich unter dem Einfluß des Tabakmosaikvirus an den Blättern von *Chenopodium amaranticolor* bildeten. Diese Einschlüsse befanden sich sehr reichlich in den roten Höfen, welche die nekrotische Zentren der Lokalläsionen umgaben.

Literatur

- Amelunxen, F., 1956: Über die Strukturanalyse der Eiweißspindeln der *Cactaceae*. *Protoplasma* 45, 228.
 — 1958: Die Virus-Eiweißspindeln der Kakteen. Darstellung, elektronenmikroskopische und biochemische Analyse des Virus. *Protoplasma* 49, 140.

- Bawden, F. C., 1950: Plant viruses and virus diseases. Waltham, Mass., U. S. A.
- Blatný, C., und V. Vukolov, 1952: Mosaik bei *Epiphyllum truncatum*. Gartenbauwiss. 6, 425.
- Brandes, J., 1956: Über das Aussehen und die Verteilung des Tabakmosaikvirus im Blattgewebe. Phytopathol. Z. 26, 95.
- Gicklhorn, J., 1915: Über das Vorkommen spindelförmiger Eiweißkörper bei *Opuntia*. Österr. bot. Z. 65, 8.
- Goldin, M. I., 1954: Viruseinschlüsse in der pflanzlichen Zelle (russisch). Moskva.
- und V. L. Fedotina, 1956: Die Verbreitung der Eiweiß- (Virus-) Einschlußkörper in verschiedenen Kakteen. Bjull. Gl. bot. sada 26, 80.
- Hollings, M., 1956: *Chenopodium amaranticolor* as a test plant for plant viruses. Plant Pathology 5, 57.
- 1957: Reaction of some additional plant viruses on *Chenopodium amaranticolor*. Plant Pathology 6, 135.
- Kenda, G., 1955: Eiweißspindeln in *Opuntia monacantha* f. *variegata*. Protoplasma 44, 192.
- Klinkowski, M., 1958: Pflanzliche Virologie. Bd. I/II. Berlin.
- Mikosch, C., 1908: Über den Einfluß des Reises auf die Unterlage. In: Linsbauer, Wiesner-Festschrift 1908, 280.
- Miličić, D., 1954: Viruskörper und Zellteilungsanomalien in *Opuntia brasiliensis*. Protoplasma 43, 228.
- 1956: Rasprostranjenje kakteja s virusnim tijelima u primorskim krajevima Jugoslavije. Biol. glasnik 9, 21.
- 1960: Sind verschiedene Eiweißkristalle der Kakteen Viruskörper? Acta Bot. Croatica 18/19, 37.
- Molè-Bajer, J., 1955: Experimental studies on protein spindles. Acta Soc. Bot. Poloniae 22, 811.
- Molisch, H., 1885: Über merkwürdig geformte Proteinkörper in den Zweigen von *Epiphyllum*. Ber. deutsch. bot. Ges. 3, 195.
- Rosenzopf, E., 1951: Sind Eiweißspindeln Virus-Einschlußkörper? Phytion 5, 95.
- Sheffield, F. M. L., 1939: Some effects of plant virus diseases on the cells of their hosts. J. Micr. Soc. 59, 149.
- 1946: Preliminary studies in the electron microscope of some plant virus inclusion bodies. J. Micr. Soc. 66, 69.
- Smith, K. M., 1958: Virus inclusions in plant cells. Protoplasmatologia, Bd. IV, 4 a. Wien.
- Steele, R. L., and R. C. Williams, 1955: Identification of crystalline inclusion bodies extracted intact from plant cells infected with tobacco mosaic virus. Amer. J. Bot. 40, 81.
- Weber, F., 1955: Eiweißpolyeder in *Pereskopsis*-Virusträgern. Protoplasma 42, 289.
- 1954: Kakteen-Virus-Übertragung durch Pfropfung. Protoplasma 43, 382.
- und G. Kenda, 1952 a: Cactaceen-Virus-Eiweißspindeln. Protoplasma 41, 111.
- — 1952 b: Die Viruskörper von *Opuntia subulata*. Protoplasma 41, 378.
- — und I. Thaler, 1952: Viruskörper in Kakteen-Zellen. Protoplasma 41, 277.
- — — 1955: Eiweißspindeln und cytoplasmatische Einschlußkörper in *Pereskopsis*. Protoplasma 42, 239.