

Viren in Basidiomyceten

H. P. MOLITORIS

Institut für Botanik, Universität Regensburg
Postfach 397, D-8400 Regensburg

Als Vortrag gehalten am 29.9.1977

Molitoris, H. P. (1978) – Viruses in *Basidiomycetes*. Z. Mykol. 44 (1): 109–127.

K e y W o r d s: *Basidiomycetes*, fungal viruses, mycophages, mycoviruses, viruses, viruslike particles.

A b s t r a c t: *Basidiomycetes* may be vectors or hosts for viruses. The viruses have mostly an isodiametric shape with dimensions between 25 and 48 nm. They are cytoplasmatically inherited through heterocaryosis. Almost all viruses of *Basidiomycetes* tested so far have a ds-RNA genome. The ds-RNA often consists of several molecular components and may be packed into different virus particles. Viruses are not uncommon in *Basidiomycetes* but occur intracellularly at low titer only and usually do not cause visible disease symptoms in the fungus. Their biology is discussed.

Z u s a m m e n f a s s u n g: Basidiomyceten können Vektor oder Wirt für bestimmte Viren darstellen. Basidiomycetenviren sind meist isodiametrisch mit Durchmessern von 25–48 nm. Sie werden cytoplasmatisch durch Heterokaryose vererbt. Fast alle untersuchten Basidiomycetenviren besitzen ein Genom aus Doppelstrang-Ribonukleinsäure (ds-RNS), das häufig aus verschiedenen molekularen Komponenten besteht, die auf verschiedene Viruspartikel verteilt sein können. Viren sind bei Basidiomyceten verbreitet, kommen in den Zellen jedoch nur in geringen Konzentrationen vor und verursachen meist keine sichtbaren Befallsymptome. Die Biologie der Basidiomycetenviren wird diskutiert.

Die Existenz von Pilzviren ist in der Vergangenheit schon mehrfach postuliert worden, konnte jedoch erst vor kurzem schlüssig nachgewiesen werden. So befinden sich die Untersuchungen an Pilzviren – und das gilt insbesondere für die Basidiomycetenviren – noch im Stadium des Faktensammelns und Sichtens. Die Ergebnisse fanden in die einschlägigen Lehrbücher der Virologie und Mykologie bisher noch kaum Eingang, und erst neuerdings werden in spezielleren Werken Pilzviren kurz abgehandelt oder zumindest erwähnt (Smith & Berry 1975, Smith & Berry 1976, Smith 1977). Demgegenüber sind jedoch bereits eine Reihe von Übersichtsreferaten erschienen, auf die hier für ein eingehenderes Studium verwiesen sei (Hewitt & Grogan 1967, Hollings & Stone 1969, 1971, Bozarth 1972, Wood 1973, Lemke & Nash 1974, Lemke 1976, Lemke, Saksena & Nash 1976, Lemke 1977a, Hollings 1977). Trotz der – abgesehen von Fachkreisen – noch recht geringen Beachtung hat jedoch gerade dieses Forschungsgebiet eine Reihe wichtiger theoretischer und angewandter Aspekte.

Für die späte Entdeckung der Pilzviren waren besonders methodische Schwierigkeiten der Arbeit mit diesen Partikeln an der Grenze der belebten Welt sowie das häufige Fehlen von Befallssymptomen verantwortlich.

A. Viren

Während Basidiomyceten für diesen Leserkreis nicht charakterisiert zu werden brauchen, dürfte in diesem Zusammenhang eine kurze Beschreibung der Viren angebracht sein.

I. Definition

Viren sind ultrafiltrierbare, infektiöse Partikel,

- sie enthalten nur jeweils einen Typ von Nukleinsäure,
- sie können nicht wachsen,
- vermögen sich nicht zu teilen,
- haben keinen eigenen Stoffwechsel,
- ihnen fehlt die genetische Information für die Enzyme des Energie-Stoffwechsels
- sie besitzen weder t-RNS noch Ribosomen.

II. Morphologie

Betrachten wir den Aufbau typischer Viren (Abb. 1), so sehen wir, daß die im Zentrum liegende jeweilige Nukleinsäure von einer Proteinhülle, dem Kapsid umgeben ist, das wiederum aus identischen Untereinheiten, den Kapsomeren besteht. Dieses Nukleokapsid genannte Gebilde kann nochmals von einer charakteristischen Proteinhülle umgeben sein. (Abb. 1, rechts). Bei Basidiomycetenviren wurden vor allem isodiametrische, eikosaederartige bis kugelige (Abb. 1, links oben) oder bacillus- bis fadenförmige Viren (Abb. 1, links unten) gefunden. Formen mit zusätzlicher Proteinhülle (Abb. 1, rechts) oder die komplexen Formen der Bakteriophagen traten bei Basidiomycetenviren bisher nicht auf. Die Dimensionen der Viren liegen meist zwischen 20 und 300 nm, ihr Molekulargewicht zwischen 1 bis 10^6 Dalton.

III. Zusammensetzung

Neben den Proteinen der Hülle enthalten die Viren im allgemeinen, abgesehen von einigen komplexeren Viren mit zusätzlichen Lipiden und Polysacchariden, nur noch Nukleinsäure eines Typs, entweder Ribonukleinsäure (RNS) oder Desoxyribonukleinsäure (DNS) mit Einstrang (es-) oder Doppelstrang-Struktur (ds-). Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, sind bei tierischen und bei Bakterienviren alle Nukleinsäuretypen vertreten, bei Pflanzen fehlen es-DNS-Viren. In Pilzviren wurde sowohl RNS als auch DNS als Nukleinsäurekomponente gefunden. Die Klammer um den DNS-Gehalt der Pilzviren in Tab. 1 soll ausdrücken, daß nur in wenigen Fällen DNS-haltige Pilzviren gefunden wurden und darüber hinaus meist keine genauen Daten über ihre Struktur vorliegen, bzw. die Virusnatur selbst der untersuchten Partikel nicht eindeutig geklärt ist.

IV. Nachweis

Zum Nachweis als Pilzviren und zur Identifikation als Viruspartikel sollten zunächst die sogenannten „Kochschen Kriterien“ erfüllbar sein: Infektion, Übertragung auf einen anderen Wirt, Befreiung des Wirtes vom infektiösen Prinzip, Wiederinfektion. Der Nachweis der Viren kann, soweit vorhanden, durch spezifische Krankheitssymptome erfolgen. Wegen ihrer geringen Dimensionen können sie morphologisch nur im Elektronenmikroskop nachgewiesen werden oder durch physikalische oder chemische Methoden wie Bildung spezifischer Banden bei der Ultrazentrifugation, durch Elektrophorese, spezifische Absorption im ultravioletten Licht, durch den Nachweis der typischen Nukleinsäure-Komponenten oder durch serologische Reaktionen.

Tabelle 1

Vorkommen, Art und Struktur von Virus-Nukleinsäuren

WIRT	es-DNS	ds-DNS	es-RNS	ds-RNS
Tiere	+	+	+	+
Pflanzen	-	+	+	+
Bakterien	+	+	+	+
Pilze	(+)		+	+

V. Einteilung

Die Systematik und Taxonomie der Viren benutzt verschiedene Einteilungskriterien:

- Vektor und Wirt (Mikroorganismen, Pflanzen, Tiere),
- verursachte Krankheitssymptome,
- Morphologie und Ultrastruktur,
- Zusammensetzung, insbesondere Art und Struktur der Nukleinsäuren,
- serologische Verwandtschaft.

Als für Mikroorganismen, Pflanzen und Tiere infektiöse Partikel haben Viren erhebliche praktische und theoretische Bedeutung und wurden zu wichtigen Untersuchungsobjekten der molekularbiologischen Forschung.

B. Viren bei Basidiomyceten

Zwei grundsätzlich verschiedene Beziehungen zwischen Viren und Pilzen gibt es:

- I. Pilze können den Viren lediglich als Überträger auf einen anderen Wirt, also als Vektoren dienen. Die Viren können sich dabei in der Pilzzelle nicht vermehren (Grogan & Campbell 1968, Teka 1969).
- II. Pilze können für bestimmte Viren den Wirt darstellen, d. h. die Viren vermehren sich auf Kosten und mit Hilfe des Pilzstoffwechsels in den Pilzzellen.

I. Basidiomyceten als Vektoren von Viren

Nur 2 Basidiomyceten, die phytopathogenen Brandpilze *Uromyces fabae* und *Uromyces phaseoli* wurden als Vektoren für das ebenfalls pathogene Tabak-Mosaik-Virus gefunden (Yarwood & Hecht-Poinar 1973).

II. Basidiomyceten als Wirte von Viren

Als Pilzviren im engeren Sinne, mit denen wir uns in diesem Zusammenhang ausschließlich beschäftigen wollen, werden nur diejenigen Viren bezeichnet, die sich in der Pilzzelle auch zu vermehren vermögen. Sie werden auch als Mycophagen, Mycovieren, fungal viruses oder bei vorsichtiger Interpretation als viruslike particles (VLP) bezeichnet, letzteres vor allem, wenn der Nachweis, wie in den meisten Fällen, nur elektronenmikroskopisch oder serologisch erfolgte und keines oder nur wenige der Kochschen Postulate erfüllt sind.

1. Entdeckung von Viren in Pilzen

Die ersten Hinweise, daß Viren in Basidiomyceten vorkommen und möglicherweise replizieren, gehen unter anderem auf Untersuchungen von Blattný & Pilát (1957) über eine Krankheit verschiedenster Hutpilze und von Sindén & Häuser (1957) über eine Krankheit

heit des Kulturchampignons *Agaricus bisporus* zurück. Beweise fehlten jedoch zunächst noch.

Wie häufig in der Geschichte biologischer Forschung, wurde erst bei der Untersuchung wirtschaftlich bedeutender Organismen oder Prozesse ein neues Phänomen, hier das der Pilzviren, gefunden und aufgeklärt.

a. *Agaricus bisporus* (Kulturchampignon)

Seit den 50er Jahren traten in verschiedenen Champignonkulturen schwere Ernteschäden auf. Neben dem Erterückgang zeigten die Fruchtkörper zusätzlich Degenerationserscheinungen (Abb. 2). Das Koloniewachstum des Myzels war verlangsamt und abnormal (Abb. 3). Alle Befunde deuteten auf ein infektiöses Agens. Sinden & Hauser (1957) vermuteten bereits Viren als Ursache. Jedoch erst die Phytopathologen Hollings, Gandy und Last konnten dann in den befallenen Fruchtkörpern und im Myzel die ersten Pilzviren nachweisen (Hollings 1962, Hollings, Gandy & Last 1963). Im Elektronenmikroskop traten mindestens drei verschiedene Partikeltypen auf: 2 kugelförmige, polyedrische von 25 und 29 nm Durchmesser und ein länglicher, bacillusartiger Typ von 19 x 50 nm (Abb. 4). Dies ist gleichzeitig der erste und nach wie vor einer der wenigen Fälle, in denen Pilzviren elektronenmikroskopisch dargestellt und im Laufe der Zeit ihre Zusammensetzung aufgeklärt und die Virusinfektion nach allen Kochschen Kriterien nachgewiesen wurde.

b. *Penicillium*

Fast gleichzeitig mit den Virusnachweisen beim Kulturchampignon wurde bei der Suche nach antivirösen Agentien bei dem Antibiotika-Produzenten *Penicillium* ein wirksames Prinzip gefunden (Kleinschmidt et al. 1964), das sich später als ds-RNS herausstellte (Lompson et al. 1967, Banks et al. 1968, Kleinschmidt et al. 1968).

Im Elektronenmikroskop traten polyedrische, virusartige Partikel von ca. 30 nm Durchmesser auf (Abb. 5) (Ellis & Kleinschmidt 1967, Kleinschmidt & Ellis 1968), aus denen ds-RNS isoliert werden konnte (Banks et al. 1968). Die *Penicillium*-Viren gehören heute zu den bestuntersuchten Pilzviren.

2. Verbreitung von Pilzviren innerhalb der Basidiomyceten

Inzwischen wurden Pilzviren in Arten aller größeren Taxa der Pilze gefunden, bei insgesamt mehr als 100 Arten aus mehr als 50 Gattungen. Allerdings erfolgte in den meisten Fällen der Nachweis nur elektronenmikroskopisch oder serologisch. Pilzviren sind demnach relativ häufig. Bozarth (1972) schätzt, daß 10–15 % von zufällig ausgewählten Pilzstämmen bei elektronenmikroskopischer Untersuchung virusartige Partikel enthalten würden. Pilzviren dürften bisher dem Nachweis wohl nur entgangen sein, weil sie meist nur in geringer Anzahl in den Pilzzellen vorkommen und meist in den befallenen Pilzen keine Krankheitssymptome hervorrufen. Dies gilt auch für die in Basidiomyceten gefundenen Viren.

Wie Tabelle 2 zeigt, wurden bisher bei Basidiomyceten in über 27 Arten von 15 Gattungen Viren gefunden, darunter auch in einigen phytopathogenen Pilzen wie *Puccinia* und *Ustilago* (Literatur in Lemke & Nash 1974, Lemke 1976, Hollings 1977, Mori & Kuida 1977).

Tabelle 2

Virusartige Partikel in Basidiomyceten

PILZWIRT		VIRUS		
Gattung	Arten	phytopathogen	Form	Größe (nm)
<i>Agaricus</i>	2		polyedr.-kugelf. bacillusartig fadenförmig	mehrere: 19–50 19 x 50 17 x 350
<i>Boletus</i>	1		polyedr.-kugelf. fadenförmig	mehrere: 28–50 13 x 500
<i>Collybia</i>	1		fadenförmig	13 x 500
<i>Coprinus</i>	1		polyedr.-kugelf.	130
<i>Corticium</i> = <i>Rhizoctonia</i> = <i>Thanatephorus</i>	1	+	polyedr.-kugelf.	28, 43
<i>Hypholoma</i>	1		polyedr.-kugelf.	—
<i>Laccaria</i>	2		polyedr.-kugelf.	28
<i>Lentinus</i>	2		fadenförmig	mehrere: 25–45 15–17 x 700–900
<i>Phaeolepiota</i>	1		polyedr.-kugelf.	32, 60
<i>Polyporus</i>	1	(+)	polyedr.-kugelf.	—
<i>Puccinia</i>	9	+	polyedr.-kugelf.	34, 40
<i>Schizophyllum</i>	1		polyedr.-kugelf.	130
<i>Tilletiopsis</i>	1	+	polyedr.-kugelf.	40
<i>Uromyces</i>	2	+	polyedr.-kugelf.	40
<i>Ustilago</i>	1	+	polyedr.-kugelf.	41

3. Eigenschaften von Basidiomycetenviren

a. Morphologie

Mit Ausnahme der bacillus- bzw. fadenförmigen Viren bei *Agaricus*, *Boletus* und *Lentinus*, sind alle anderen Viren isodiametrisch, polyedrisch bis kugelförmig. Ihr Durchmesser liegt im allgemeinen zwischen 25 und 48 nm und entspricht damit dem der meisten anderen Pilzviren.

Im Gegensatz zu den – auch wegen ihres hohen Virustiters – gut untersuchten Viren von *Penicillium* und *Aspergillus* ist der Virusgehalt der Basidiomyceten wesentlich geringer. Damit ist die Gewinnung der für eingehende Untersuchungen benötigten Virusmengen sehr erschwert. Dennoch liegen von 4 Basidiomycetenviren bereits genaue Daten vor (Tab. 2, 3).

Agaricus bisporus

Wie bereits erwähnt, wurden im Kulturchampignon die ersten Pilzviren gefunden. Die mindestens 3 Virustypen (Abb. 4, Tab. 2, 3) werden für die starken Ernterückgänge und die Veränderungen im Koloniewachstum und der Fruchtkörperform verantwortlich gemacht (Hollings, Gandy & Last 1963).

Boletus edulis

Im Fruchtkörper des Steinpilzes *Boletus edulis* wurden verschiedene polyedrische (28 bis 50 nm Durchmesser) und ein fadenförmiges (13 x 500 nm) Virus gefunden (Huttinga et al. 1975). Abb. 6 zeigt derartige Viren.

Lentinus edodes

Der Shiitake-Pilz, *Lentinus edodes*, der im Fernen Osten angebaut wird und dort eine ähnliche Rolle wie bei uns der Kulturchampignon spielt, enthält wie Abb. 7 zeigt, in Fruchtkörper und Myzel ebenfalls verschiedene polyedrische (25 bis 45 nm) und ein fadenförmiges (17 x 700–900 nm) virusartiges Partikel (Ushiyama & Nakai 1975, Yamashita et al. 1975).

Tabelle 3 Eigenschaften von Basidiomyceten-Viren

Wirt	Virus-Partikel Form	Größe (nm)	Sed.K.S. (cm/sec ⁻¹)	Schw.D. (g/cm ³)	UV-Abs. (nm) Max.	Nukleinsäure Nukl.Sr.	Mol.Gew. (1x10 ³ D)	Schw ₃ D. (g/cm ³)
<i>Agaricus bisporus</i> (Kultur-Champignon)	isod. isod. bac.f.	25 34 20 x 51	80-90 140-145		1,65 1,60	ds-RNS ds-RNS es-RNS	mehrere: 0,67-2,17	1,60
<i>Lentinus edodes</i> (Shiitake-Pilz)	isod. isod. isod. faden- förmig	25 30 39 1,5 x 700-900 ^{a)}			262 2,0	ds-RNS		
<i>Ustilago maydis</i> (Maisbrand)	isod. isod. isod.	36 4,5 41		5 Komp. 110-160	1.094 1.124	ds-RNS	mehrere: (0,06) 0,4-4,7	2,6; 2,9

a) Virusnatur zweifelhaft
Daten den in Lemke & Bash 1974, Lemke 1976 und in dieser Arbeit zitierten Autoren entnommen.

Sed. K. S.	= Sedimentationscoefficient S
Schw. D.	= Schwebedichte
UV-Abs.	= UV-Absorption
Mol. Gew.	= Molekulargewicht

Ustilago maydis

Auch beim Beulenbrand des Mais, *Ustilago maydis*, wurden die in Abb. 8 gezeigten polyedrischen Viruspartikel von 40 nm Durchmesser gefunden (Wood & Bozarth 1973).

b. Biophysikalische und biochemische Daten

Aus den oben genannten Gründen konnten nur wenige Basidiomycetenviren genauer untersucht werden. Tabelle 3 faßt die wichtigsten Ergebnisse zusammen (Literatur in Lemke & Nash 1974, Lemke 1976). Demnach kommen in einem Pilz häufig mehrere, meist isodiametrische Viruspartikel der Größe 25 bis 45 nm vor. Ihr Molekulargewicht erreicht im Extrem 15×10^6 Dalton. Der hohe Nukleinsäuregehalt der Partikel zeigt sich im UV-Maximum bei 260 nm. Bis auf die bacillusförmigen virusartigen Partikel von *Agaricus bisporus* (es-RNS) enthalten alle genannten Basidiomycetenviren ds-RNS, die häufig in mehreren Komponenten verschiedenen Molekulargewichtes (von 0,06 bis 5×10^6 Dalton) auf die Partikel verteilt ist. Daneben wurden jedoch auch anscheinend „leere“ Partikel gefunden, deren Bedeutung teilweise noch umstritten ist, so bei *Agaricus bisporus* (Dieleman-van Zayen 1972a) und in *Lentinus edodes* (Ushiyama & Nakai 1975). Wegen ihres ds-RNS-Gehaltes wurde vorgeschlagen, diese Pilzvirusgruppe als Mycorna-Viren zu bezeichnen (Lapierre et al. 1973).

4. Biologie der Basidiomycetenviren

Ist schon über die Biologie der Pilzviren allgemein wenig bekannt, so sind unsere Kenntnisse bei den Basidiomycetenviren in dieser Hinsicht besonders dürftig.

a. Befallssymptome

Die stärksten bisher aufgetretenen Veränderungen durch Virusbefall wurden an *Agaricus bisporus* gefunden und führten zur Entdeckung der Pilzviren (Hollings, Gandy & Last 1963). Bei *Boletus edulis* äußert sich der Befall durch kleinere Fruchtkörper mit geringen Deformationen, weshalb das Phänomen auch als „little-cap-disease“ bezeichnet wird (Huttinga et al. 1975).

Geringfügige Veränderungen bei den von Viren befallenen Pilzen wurden auch bei *Cantharellus*, *Coprinus*, *Laccaria* und *Ustilago maydis* beobachtet (Davy & Angostakis 1972, Shahriari et al. 1973, Huttinga et al. 1975). Ein kausaler Zusammenhang zwischen dem Auftreten der Viren und den Befallssymptomen konnte vielfach jedoch noch nicht nachgewiesen werden.

Lytische Erscheinungen, die z. B. als Plaques (Löcher) in Petrischalen-Kulturen auftreten, wurden bei *Coprinus* und *Schizophyllum* beobachtet (Shahriari et al. 1973, Koltin et al. 1973). Im Gegensatz zum Bakterien/Phagen-System erlaubt das Auftreten von Plaques in Pilzkulturen jedoch keine quantitativen Aussagen über den Virustiter, ein großes Hindernis für die Untersuchungen an Pilzviren.

Dennoch wurde die Korrelation von Plaquebildung mit dem Auftreten von Viren bei *Schizophyllum commune* – auch in genetischer Hinsicht – genauer untersucht. Wie Tabelle 4 zeigt, treten Viren sowohl bei gegen Lyse sensitiven (s^-Sc-1^+) als auch bei resistenten (s^+Sc-1^+) Stämmen auf. Zur Plaquebildung kommt es jedoch nur, wenn zusätzlich das Kerngen s^- vorhanden ist. Die Vererbung der Plaquebildung erfolgt dabei cytoplasmatisch, d. h. durch erfolgreiche Anastomosen.

Tabelle 4

Plaquebildung und Viren bei *Schizophyllum commune*

Symbol	Resistenz	Virus	Plaquebildung
s ⁻ Sc-1 ⁺	sensitiv	+	+
s ⁻ Sc-1 ⁻	sensitiv	-	-
s ⁺ Sc-1 ⁺	resistant	+	-
s ⁺ Sc-1 ⁻	resistant	-	-

s⁺: Kerngen für Resistenz; Sc-1: *Schizophyllum commune*-Virus.

Virus-Transmission durch Heterokaryose,

Vererbung der Plaquebildung cytoplasmatisch.

b. Virusbefall und Pilzstoffwechsel

Ausgehend von Untersuchungen über Antibiotika-Produktion und Virus-Befall bei *Penicillium*-Stämmen und durch andere Befunde, nahm man zunächst eine enge positive Korrelation von Virusbefall und der Synthese sekundärer pilzlicher Stoffwechselprodukte wie Antibiotika und Toxine an (Banks et al. 1969, Lemke & Ness 1970). Dies ließ sich allgemein jedoch nicht bestätigen (Literatur in Hollings 1977).

Der einzige bisher bei Basidiomyceten genauer untersuchte Fall, gleichzeitig einer der wenigen, bei denen eine eindeutige positive Korrelation zwischen Virusbefall und der Produktion eines pilzlichen Stoffwechselproduktes auftrat, ist das sogenannte „Killer-System“ bei *Ustilago maydis*, das eine Parallelle bei der Ascomyceten-Hefe *Saccharomyces cerevisiae* hat. Hier ist die Synthese eines toxischen Pilzproteins mit der Anwesenheit von ds-RNS-Viren korreliert (Wood & Bozarth 1973, Koltin & Day 1976).

Wie aus Tabelle 5 hervorgeht, treten 3 Phänotypen in verschiedenen Varianten auf:

- „Killer“, die Toxin produzieren, selbst aber gegen das Gift immun sind.
- Neutrale, „Nicht-Killer“, die kein Toxin produzieren, selbst aber gegen das Toxin immun sind.
- Sensitive, „Nicht-Killer“, die kein Toxin produzieren, jedoch gegen das Gift empfindlich sind.

Toxin-Produktion und Immunität treten nur bei Anwesenheit von Viren und von

Tabelle 5

Killer-System bei *Ustilago maydis*

Symbol	Phänotyp	Virus	ds-RNA Profil	ds-RNA Profil	Kerngen
T ¹⁺ I ¹⁺	Killer, Toxin, immun	+	+	—	
T ⁴⁺ I ⁴⁺	Killer, Toxin, immun	+	+	—	
T ⁶⁺ I ⁶⁺	Killer, Toxin, immun	+	+	—	
T ⁰ I ¹⁺	Nicht-Killer, kein Toxin, immun	+	+	—	s ⁺
T ⁰ I ⁴⁺	Nicht-Killer, kein Toxin, immun	+	+	—	
T ⁰ I ⁶⁺	Nicht-Killer, kein Toxin, immun	+	+	—	
T ⁰ I ⁰	Nicht-Killer, kein Toxin, sensitiv	—	—	—	s ⁻

ds-RNA auf. Unterschiede zwischen den immunen Stämmen finden sich im Profil der jeweiligen ds-RNS.

Die Viren werden cytoplasmatisch vererbt, wobei noch das chromosomal (Kern-)Gen s^+ für Resistenz (Immunität) gegenüber dem Toxin beteiligt ist (Day & Agnostonakis 1972, Day & Agnostonakis 1973).

Nachdem dieses Toxin jetzt isoliert und gereinigt wurde und charakterisiert werden kann, wie Day, Koltin und Mitarbeiter kürzlich berichteten (2. Int. Mycol. Congr., Tampa, USA, 1977) hofft man jetzt – und das wäre wirtschaftlich von großer Bedeutung – über die Pilzviren eine genetische Basis für die Synthese sekundärer pilzlicher Stoffwechselprodukte zu finden.

c. Virusbefall und Phytopathogenität

Wie bereits erwähnt, sind eine Reihe von Virus-beherbergenden Basidiomyceten selbst phytopathogen, so z. B. *Puccinia graminis*, der Getreiderost und *Ustilago maydis*, der Maisbeulenbrand.

Als man feststellte, daß das nach Virusbefall von *Ustilago maydis* gebildete Toxin auch gegen andere, verwandte, ebenfalls phytopathogene Arten von *Ustilago* wirkt (Koltin & Day 1975), lag es nahe, in dieser Richtung nach neuen Wegen zur biologischen Kontrolle von Pflanzenkrankheiten zu suchen. Man dachte daran, die genetische Information für die Toxinbildung (die in Viren enthaltene spezifische ds-RNS) in gefährdete Pflanzen einzubringen, wo sie sich mit den Pflanzenzellen weitervermehrt und die Pflanze gegen die pathogenen Pilze resistent macht.

Dieser Weg scheint prinzipiell gangbar zu sein, wie neuere Untersuchungen am Kastanienkrebs, *Endothia parasitica*, einem Ascomyceten, aufzeigen. Während der durch amerikanische *Endothia*-Stämme hervorgerufene Kastanienkrebs dort tödlich ist, traten in Europa (Italien, Frankreich) Stämme auf, die wesentlich geringere Schäden verursachten und als hypovirulent bezeichnet werden. Diese Hypovirulenz wird cytoplasmatisch vererbt, und Pilzviren werden als infektiöses Agens vermutet. Die hypovirulente Eigenschaft konnte inzwischen auf amerikanische *Endothia*-Stämme übertragen werden (van Alfen et al. 1975), doch sind die Ergebnisse noch nicht eindeutig und weitere Untersuchungen erforderlich (Hollings 1977, Lemke 1977a).

d. Transmission und Replikation

Der Fragenkomplex der Virus-Replikation in Pilzzellen ist vor allem wegen experimenteller Schwierigkeiten, so der Bestimmung des Virus-Titers, der Komplexität des eukaryontischen Wirtes oder der fehlenden Befallssymptome erst wenig untersucht, auch dies gilt wiederum in besonderem Maße für Basidiomycetenviren.

– in situ

Aus verschiedenen elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Ultradünnabschnitten geht hervor, daß Pilzviren in Myzel, Fruchtkörpern und Sporen auftreten und in Menge und Organisation mit dem Alter der Pilzzellen zunehmen (z. B. Dieleman-van Zayen 1975). Pilzviren wurden mehrfach daher auch mit verschiedenen Alterungs- und Seneszenzphänomenen bei Pilzen in Zusammenhang gebracht (Molitoris 1974). In einer elektronenmikroskopischen und serologischen Untersuchung senescenter Stadien des phytopathogenen Pilzes *Rhizoctonia solani*, der imperfekten Form des

Basidiomyceten *Corticium rolfsii*, konnten wir jedoch die vermutete Anwesenheit von Pilzviren in diesem Falle nicht bestätigen (Hollings et al. 1975).

Die wachsenden Hyphenspitzen sind im allgemeinen frei von Viren. Vielfach kommt es im weiteren Verlauf der Entwicklung zur Aggregation der im Cytoplasma befindlichen Viren und zu teilweise ausgedehnten kristallartigen Strukturen; Viren erscheinen an Membranen assoziiert und treten später teilweise in Vesikeln auf. Derartige Phänomene wurden gefunden bei *Agaricus bisporus* (Albouy 1972, Dieleman-van Zaayen 1975), *Lentinus edodes* (Ushiyama & Nakai 1975, Yamashita et al. 1975), *Corticium rolfsii* (Yamashita et al. 1975), *Puccinia allii* (Yamashita et al. 1975) und *Uromyces alopecuri* (Yamashita et al. 1975).

— in vitro

Die biochemischen Vorgänge der Virusvermehrung in Pilzen sind noch weitgehend ungeklärt.

Nach dem „zentralen Dogma der Molekularbiologie“ wird die genetische Information der DNS unidirektionell und sequentiell von DNS zu RNS (Transskription) und von dort über m-RNS zum Protein (Translation) weitergegeben (Schema in Abb. 9).

Die Vermehrung DNS-haltiger Viren ließ sich zwangsläufig in dieses Schema einordnen. Die Replikation der später gefundenen RNS-haltigen Viren dagegen stimmte mit dem Dogma, zumindest in seiner strengen Form, nicht mehr überein. Hier liegt das genetische Material als RNS vor, die bei der durch eine RNS-abhängige RNS-Polymerase katalysierten Replikation der Viruspartikel damit gleichzeitig sowohl die Funktion der Matrize als auch der m-RNS erfüllt. Das Dogma geriet zum anderen ins Wanken, als Temin 1970 (siehe Temin & Baltimore 1972) bei tumorbildenden RNS-Viren (Rous-Sarkom) einen rückwärtslaufenden Informationsfluß von RNS zu DNS fand. Das hierfür verantwortliche Enzym wurde gefunden und entsprechend „reverse transskriptase“ genannt. Damit konnte auch viröse RNS-Information in DNS reskribiert und prophagenartig in ein DNS-Wirtsgenom eingebaut werden.

Da die meisten Pilze ds-RNS-Viren enthalten, sollte deren Vermehrung auch über eine RNS-abhängige RNS-Polymerase laufen. Dieses Enzym wurde inzwischen bei einigen Pilzen nachgewiesen. Bei dem Ascomyceten *Penicillium* führten derartige Untersuchungen inzwischen zu einer Modellvorstellung, nach der die Virussynthese im Sinne einer Duplikation durch eine Replikase abläuft (Buck & Ratti 1975). Da hiernach jedes Viruspartikel in der Pilzzelle im Gegensatz zu den anderen bekannten Vermehrungssystemen bei Viren nur ein weiteres Partikel synthetisiert, wäre damit auch der häufig konstante und niedrige Titer der Pilzviren, ihre langsame Vermehrung in der Pilzzelle und damit die Latenz und das häufige Fehlen von Befallssymptomen bei Pilzen erklärt. An Basidiomycetenviren wurden derartige Untersuchungen aber bisher wegen der benötigten großen Virusmengen noch nicht durchgeführt.

— in vivo

Voraussetzung für die Replikation von Pilzviren ist die Verbreitung des infizierenden Materials sowie die Übertragung auf einen neuen Wirt und das Eindringen in die neue Wirtszelle, die sogenannte Transmission.

Die Verbreitung von Basidiomycetenviren erfolgt sowohl durch infizierte Sporen, in denen Viren nachgewiesen wurden, als auch durch infizierte Myzelfragmente und durch Transport innerhalb des wachsenden Myzels (Schisler et al. 1963, Hollings et al. 1970, Dieleman-van Zaayen 1972b, Rawlinson & Lean 1973, Shahriari et al. 1973). Die eigentliche Transmission, d. h. die Übertragung der

Viren von Pilzzelle zu Pilzzelle geschieht im allgemeinen durch Anastomosen, das Verschmelzen von kompatiblen Pilzhypfen, d. h. bei der für Pilze typischen Heterokaryose. Hierbei kommt es nach Hyphenkontakt zu einer lokalen Auflösung der Zellwände mit anschließender Verschmelzung, so daß Kerne, Plasma und damit auch darin enthaltene Viruspartikel übertragen können. Es ist offensichtlich, daß hierbei im Gegensatz zu anderen Virus/Wirt-Systemen eine völlige Lyse der Wirtszelle und Freisetzung der Viruspartikel nicht erforderlich sind, wohl einer der Gründe für die weitgehende Latenz der Pilzviren.

Wie aus Tabelle 6 hervorgeht, konnte Virusübertragung bei Basidiomyceten mehrfach gezeigt werden und zwar meist durch Heterokaryose. Beispiele sind *Agaricus bisporus*, *Schizophyllum commune*, *Ustilago maydis*. Teilweise wurde die Heterokaryose durch Verwendung genetischer Marker nachgewiesen. Einschränkend für Heterokaryose und damit für die Virusübertragung wirkt eine bei vielen Pilzen auftretende Unverträglichkeitsreaktion, die Inkompabilität, sowie zusätzlich eine im allgemeinen hohe Wirtspezifität der Pilzviren.

Neben der Übertragung durch Heterokaryose, der offenbar natürlichen Übertragungsart, wurde Transmission experimentell auch durch Verschmelzung von Protoplasten (Pallett 1972) und durch Injektion freier Viruspartikel in Myzel oder Fruchtkörper erreicht (Hollings 1962, Hollings et al. 1963, Dieleman-van Zayen & Temmink 1968). Diese Befunde bedürfen jedoch experimentell noch der letzten Bestätigung (Diskussion dazu in Hollings 1977 und Lemke 1977a).

e. Befreiung vom infektiösen Prinzip

Als letztes der noch offenstehenden Kochschen Postulate konnte auch das der Befreiung vom infektiösen Prinzip (zumindest bis zur Genauigkeit der Nachweismethode) und der Wiederinfektion erfüllt werden.

Virusinfizierte Sporen von *Lentinus edodes* zeigten nach Hitzebehandlung (60 min bei 68–70 °C) im auskeimenden Myzel keine Viruspartikel mehr (Ushiyama & Nakai 1975).

Bei *Agaricus bisporus* konnte durch wiederholten Hyphenspitzentransfer mit und ohne vorhergehende Hitzebehandlung des Myzels (30 bis 33 °C) oder der Sporen eine Erhöhung der Wuchsrate des Myzels, eine Reduktion des Virustiters oder auch völlige Befreiung vom infektiösen Prinzip erreicht werden (Hollings 1971, Dieleman-van Zayen 1972b, Nair 1973, Last et al. 1974). Wiederinfektion z. B. durch Hyphenanastomosen ist möglich. Insofern wäre zumindest für den Basidiomyceten *Agaricus bisporus* die Virusnatur der beobachteten Partikel nach allen Kochschen Kriterien bestätigt. Die Infektion durch freie Viruspartikel ist jedoch bei Pilzviren ein immer noch offenes Problem, und es bedarf hier möglicherweise einer Neudefinition der Kochschen Postulate zur Bestätigung ihrer Virusnatur (Lemke 1977b).

Tabelle 6
Virusübertragung bei Basidiomyceten

Virus-Donor	Virus-Empfänger	Methode	Autoren
<i>Agaricus bisporus</i>	<i>Agaricus bisporus</i>	Heterokaryose	Gandy (1960)
<i>Agaricus bisporus</i>	<i>Agaricus bisporus</i>	Injektion	Hollings (1962), Hollings et al. (1963), Dieleman-Van Zayen & Temmink (1968)
<i>Schizophyllum commune</i>	<i>Schizophyllum commune</i>	Heterokaryose	Koltin et al. (1973)
<i>Ustilago maydis</i>	<i>Ustilago maydis</i>	Heterokaryose	Day & Agnostonakis (1973), Wood & Bozarth (1973)
<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Marasmius androsaceus</i>	Protoplasten	Pallet (1972)

Literatur

- ALBOUY, J. (1972) — Étude ultramicroscopique du complexe viral de la „Goutte sèche“ de carpophores *d'Agaricus bisporus*. — Ann. Phytopathol. 4: 39–44.
- BANKS, G. T., K. W. BUCK, E. B. CHAIN, F. HIMMELWEIT, J. E. MARKS, J. M. TYLER, M. HOLLINGS, F. T. LAST, O. M. STONE (1968) — Viruses in fungi and interferon stimulation. Nature (Lond.) 218: 542–545.
- K. W. BUCK, E. B. CHAIN, J. E. DARBYSHIRE & F. HIMMELWEIT (1969) — Viruslike particles in Penicillin producing strains of *Penicillium chrysogenum*. Nature (Lond.) 222: 89–90.
- BLATTNÝ, C. & A. PILÁT (1957) — Možnost existence viros u vyšších hub. Ceska Mykol. 11: 205–211.
- BOZARTH, R. F. (1972) — Mycoviruses: A new dimension in microbiology. Environmental Health Perspectives. October 1972, 23–39.
- BUCK, K. W. & G. RATTI (1975) — A model for the replication of double-stranded ribonucleic acid mycoviruses. Biochem. Soc. Trans. 3: 542–544.
- DAY, P. R. & S. L. ANAGNOSTAKIS (1972) — Heterokaryon transfer of the „killer“ factor in *Ustilago maydis*. Phytopathology 62: 494 (abstr.).
- & S. L. ANAGNOSTAKIS (1973) — The killer system in *Ustilago maydis*: Heterokaryon transfer and loss of determinants. Phytopathology 63: 1017–1018.
- DIELEMAN-VAN ZAAYEN, A. (1972a) — Intracellular appearance of mushroom virus in fruiting bodies and basidiospores of *Agaricus bisporus*. Virology 47: 94–104.
- (1972b) — Spread, prevention and control of mushroom virus disease. Mushroom Sci. 8: 131–154.
 - (1975) — Electron microscopy of virus-infected cultivated mushroom. Rep. Tottori Mycol. Inst. 12: 139–150.
 - & J. H. M. TEMMINK (1968) — A virus disease of cultivated mushrooms in the Netherlands. Neth. J. Plant Pathol. 74: 48–51.
- ELLIS, L. F. & W. J. KLEINSCHMIDT (1967) — Virus-like particles of a fraction of statolon, a mould product. Nature (Lond.) 215: 649–650.
- GANDY, D. G. (1960) — A transmissible disease of cultivated mushrooms („watery stipe“). Ann. Appl. Biol. 48: 427–430.
- GROGAN, R. G. & R. N. CAMPBELL (1968) — Fungi as vectors and hosts of viruses. Annu. Rev. Phytopathol. 4: 29–51.
- HEWITT, W. B. & R. G. GROGAN (1967) — Unusual vectors of plant viruses. Annu. Rev. Microbiol. 21: 205–224.
- HOLLINGS, M. (1962) — Viruses associated with a die-back disease of cultivated mushroom. Nature (Lond.) 196: 962–965.
- (1972) — Pathogen-free stock schemes — some problems in the production and use of virus-free planting material. Rep. Glasshouse Crops Res. Inst. 1971 p. 130–135.
 - (1977) — Mycoviruses: Viruses that infect fungi. Adv. Virus Res. 22: 1–53.
 - D. G. GANDY & F. T. LAST (1963) — A virus disease of a fungus: die-back of cultivated mushroom. Endeavour 22: 112–117.
 - & O. M. STONE (1969) — Viruses in fungi. Sci. Prog., Oxf. 57: 371–391.
 - O. M. STONE & P. T. ATKEY (1971) — Mushroom viruses. Rep. Glasshouse Crops Res. Inst., 1970, p. 157.
 - & O. M. STONE (1971) — Viruses that infect fungi. Annu. Rev. Phytopathol. 9: 93–118.
 - O. M. STONE, R. J. BARTON, P. T. ATKEY & H. P. MOLITORIS (1975) — Fungal viruses. Rep. Glasshouse Crops Res. Inst. 1974, p. 123.
- HUTTINGA, H., H. J. WICHERS & A. DIELEMAN-VAN ZAAYEN (1975) — Filamentous and polyhedral virus-like particles in *Boletus edulis*. Neth. J. Plant Pathol. 81: 102–106.
- KLEINSCHMIDT, W. J., J. C. CLINE & E. B. MURPHY (1964) — Interferon production induced by statolon. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 52: 741–744.
- & L. F. ELLIS (1968) — Statolon as an inducer of interferin, p. 39–46. In: G. E. W. WOLSTENHOLME & M. O'CONNOR (eds.), Ciba foundation symposium on interferon, 1967. J. & A. Churchill Ltd., London.
 - L. F. ELLIS, R. M. VAN FRANK & E. B. MURPHY (1968) — Interferon stimulation by a double-stranded RNA of a mycopophage in statolon preparations. Nature (Lond.) 220: 167–168.
- KOLTIN, Y., R. BERICK, J. STAMBERG & Y. BEN-SHAUL (1973) — Virus-like particles and cytoplasmic inheritance of plaques in a higher fungus. Nature New Biol. 241: 108–109.

- & P. R. DAY (1975) - Specificity of *Ustilago maydis* killer proteins. *Appl. Microbiol.* 30: 694-696.
- & P. R. DAY (1976) - Suppression of the killer phenotype in *Ustilago maydis*. *Genetics* 82: 629-637.
- LAMPSON, G. P., A. TYTELL, A. A. F. FIELD, M. M. NEMES & M. R. HILLEMANN (1967) - Inducers of interferon and host resistance. I. Double-stranded RNA from extracts of *Penicillium funiculosum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 58: 782-789.
- LAPIERRE, H., G. MOLIN, C. KUSIAK, A. FAIVRE-AMIOT (1973) - L'acide nucléique des virus de champignons. *Ann. Phytopathol.* 5: 322-323.
- LAST, F. T., M. HOLLINGS & O. M. STONE (1974) - Effects of cultural conditions on the mycelial growth of healthy and virus-infected cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Ann. Appl. Biol.* 76: 99-111.
- LEMKE, P. A. (1976) - Viruses of eucaryotic microorganisms. *Annu. Rev. Microbiol.* 30: 105-145.
 - (1977a) - Fungal viruses and agriculture. In: *Virology in agriculture*. Allanheld Osmun & Co., Montclair, NJ, April 1977, p. 159-175.
 - (1977b) - Double-stranded RNA viruses among filamentous fungi. In: *Microbiology 1977*. Am. Soc. Microbiol., p. 567-570.
 - & T. M. NESS (1970) - Isolation and characterization of a double-stranded ribonucleic acid from *Penicillium chrysogenum*. *J. Virol.* 6: 813-819.
 - & C. H. NASH (1974) - Fungal viruses. *Bacteriol. Rev.* 38: 29-56.
 - K. N. SAKSENA & C. H. NASH (1976) - Viruses of industrial fungi. In: McDONALD, K. D. (ed.) *Genetics of industrial microorganisms*, Academic Press, London, New York, 1976, 323-337.
- MOLITORIS, H. P. (1974) - Alterungsvorgänge bei Pilzen. *Veröff. Inst. Meeresforsch. Bremerhaven*, Suppl. 5: 475-508.
- MORI, K. & K. KUIDA (1977) - Virus like particles in several mushrooms. 2nd Int. Mycol. Congr., Tampa, USA, Abstracts, p. 451.
- NAIR, N. G. (1973) - Heat therapy of virus-infected cultures of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Aust. J. Agric. Res.* 24: 533-541.
- PALLETT, I. H. (1972) - Production and regeneration of protoplasts from various fungi and their infection with fungal viruses. 3rd. Int. Symp. Yeast Protoplasts, October 1972, Salamanca, Spain, p. 78 (abstr.).
- RAWLINSON, C. J. & D. J. MACLEAN (1973) - Virus-like particles in axenic cultures of *Puccinia graminis tritici*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 61: 590-592.
- SCHISLER, L. C., J. W. SINDEN & E. M. SIGEL (1963) - Transmission of a virus disease of mushrooms by infected spores. *Phytopathology* 53: 888 (abstr.).
- SHAHRIARI, H., J. B. KIRKHAM & L. A. CASSELTON (1973) - Virus-like particles in the fungus *Coprinus lagopus*. *Heredity* 31, 428 (abstr.).
- SINDEN, J. W. & E. HAUSER (1957) - It is „La France“. *Mushroom Grow. Assoc. Bull.* 95: 407-409.
- SMITH, K. M. (1977) - *Plant viruses*. Chapman and Hall, London. 6. ed., 241 pp.
- SMITH, J. E. & D. R. BERRY (eds.) (1975) - The filamentous fungi. Vol. 1. *Industrial mycology*. Edward Arnold, London, XII + 340 pp.
 - & D. R. BERRY (eds.) (1976) - The filamentous fungi. Vol. 2. *Biosynthesis and metabolism*. Edward Arnold, London, XIV + 520 pp.
- TEAKLE, D. S. (1969) - Fungi as vectors and hosts of viruses. In: MARAMOROSCH, K. (ed.), *Viruses, vectors and vegetation*. Interscience, New York, London, 1969, p. 23-54.
- TEMIN, H. M. & D. BALTIMORE (1972) - RNA-directed DNA synthesis and RNA tumor viruses. *Adv. Virus Res.* 17: 129-186.
- USHIYAMA, R. & Y. NAKAI (1975) - Viruses associated with hymenomycetes. II. Presence of polyhedral virus-like particles in Shiitake mushroom, *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. *Rep. Tottori Mycol. Inst.* 12: 53-60.
 - Y. NAKAI & M. IKEGAMI (1976) - Detection of double-stranded RNA from polyhedral virus-like particles in *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. *Proc. Jap. Acad.* 52: 450-452.
- VAN ALFEN, N. K., R. A. JAYNES, S. L. ANAGNOSTAKIS & P. R. DAY (1975) - Chestnut blight: Biological control by transmissible hypovirulence in *Endothia parasitica*. *Science N. Y. Acad. Sci.* 189: 890-891.
- WOOD, H. A. (1973) - Viruses with double-stranded RNA genomes. *J. gen. Virol.* 20: 61-85.
 - & R. F. BOZARTH (1973) - Heterokaryon transfer of virus-like particles and a cytoplasmically inherited determinant in *Ustilago maydis*. *Phytopathology* 63: 1019-1021.

YAMASHITA, S., Y. DOI & K. YORA (1975) – Electron microscopic study of several viruses.
 Proc. 1st. Intersect. Congr. IAMS, 3: 340–350.

YARWOOD, C. E. & E. HECHT-POINAR (1973) – Viruses from rusts and mildews. Phytopathology 63: 1111–1115.

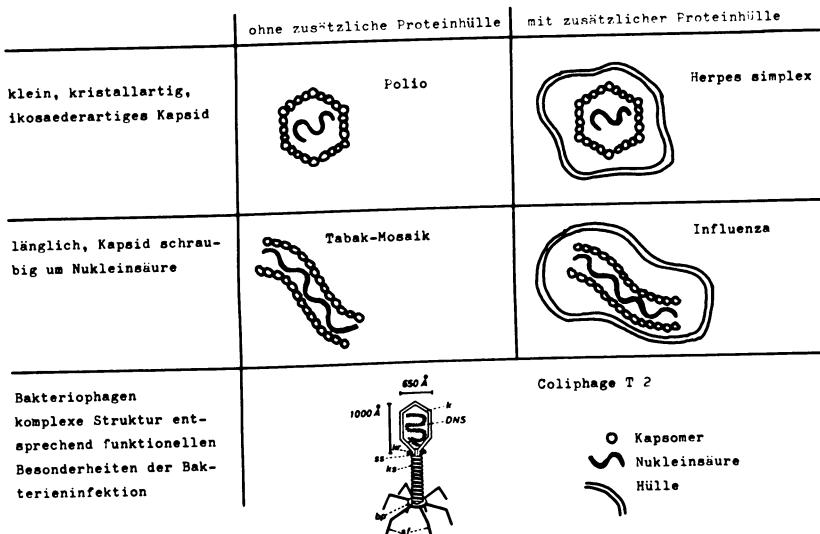


Abb. 1. Virustypen. Schematisch.

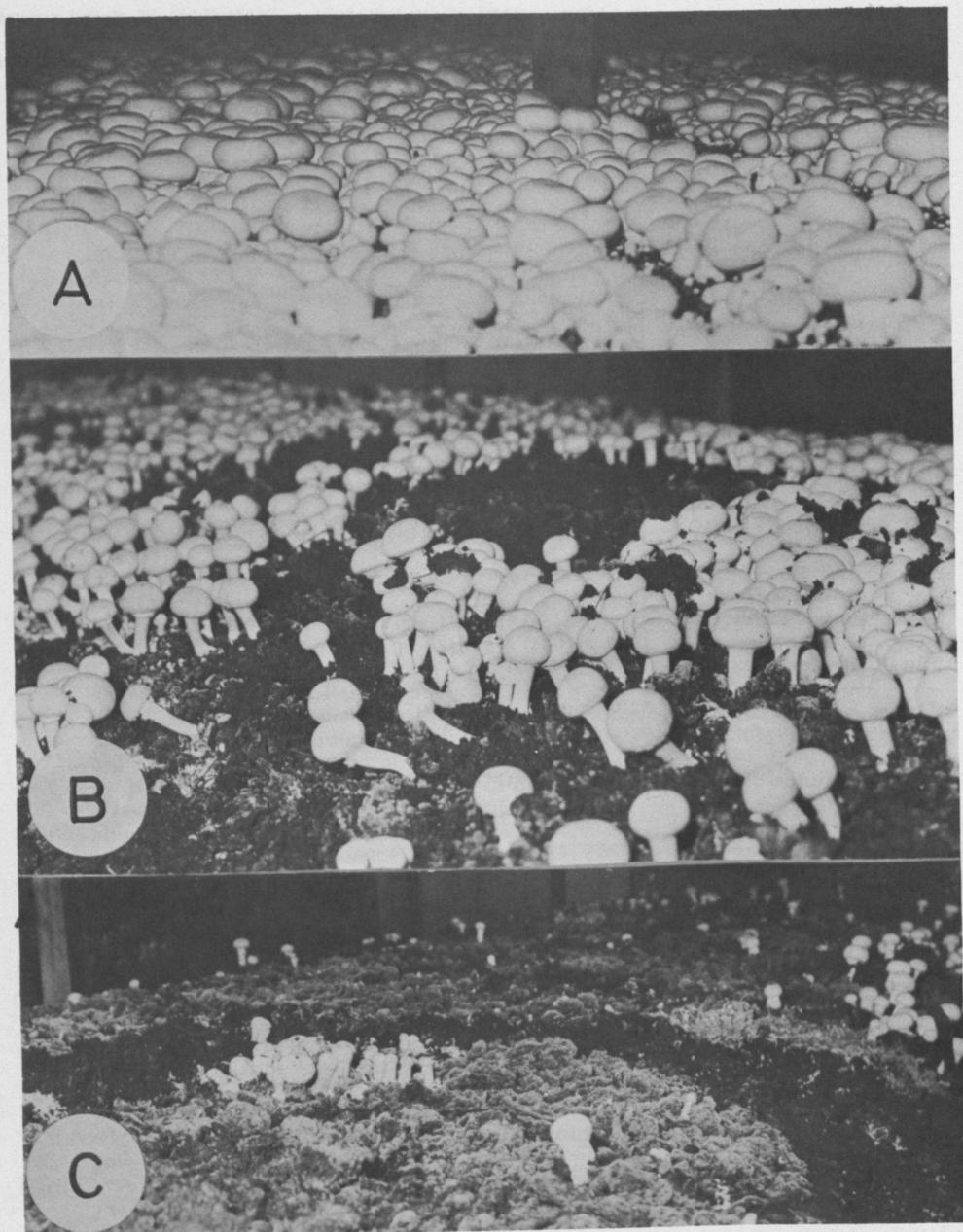


Abb. 2. Gesunde und virusinfizierte Anlagen des Kulturchampignons *Agaricus bisporus* im Ertrag. A: Virusfreie Kultur mit normalen Fruchtkörpern und hohem Ertrag. B: Frühes Infektionsstadium: Freie Stellen, umgeben von kleineren, deformierten Pilzen mit langen Stielen und fahl-weißen, sich früh öffnenden Hüten. C: Schwere Virusinfektion im fortgeschrittenen Stadium. Nur noch wenige, deformierte Fruchtkörper. Starke Ertragsminderung. (Dieleman-van Zaayen, 1978; mit freundlicher Genehmigung).

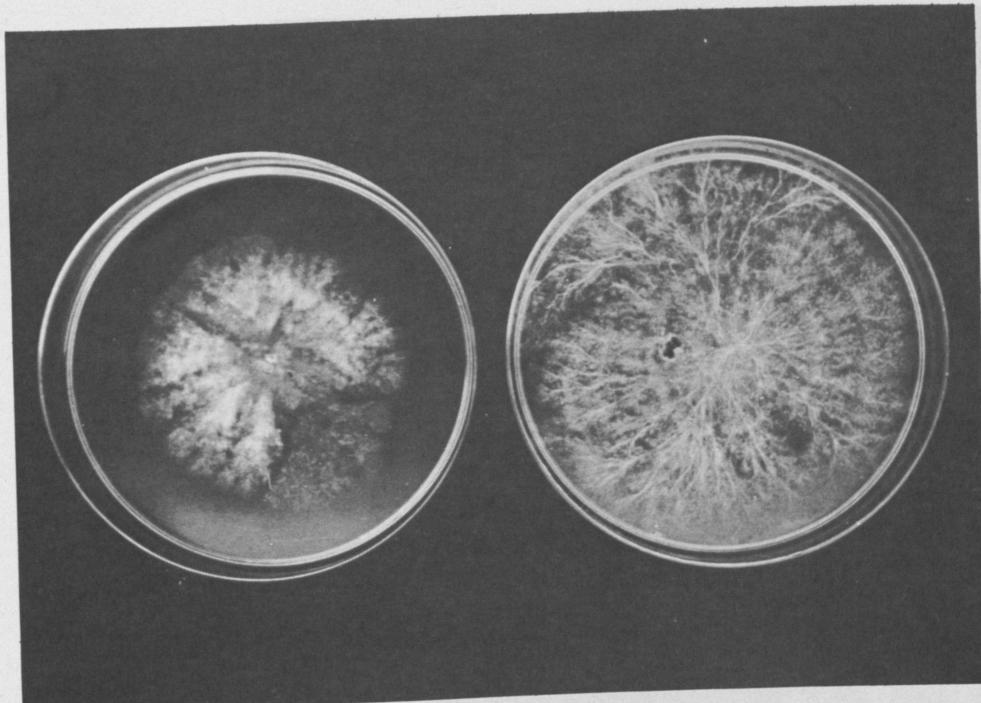


Abb. 3. Koloniewachstum von gesundem (rechts) und virusinfiziertem (links) Myzel des Kulturchampignons *Agaricus bisporus* auf Biomalz-Agar. Die virusinfizierte Kultur zeigt verringerte Wachstumsrate, Verfärbungen, keine Strangbildung und kaum Luftmyzel (Hollings 1978; mit freundlicher Genehmigung).

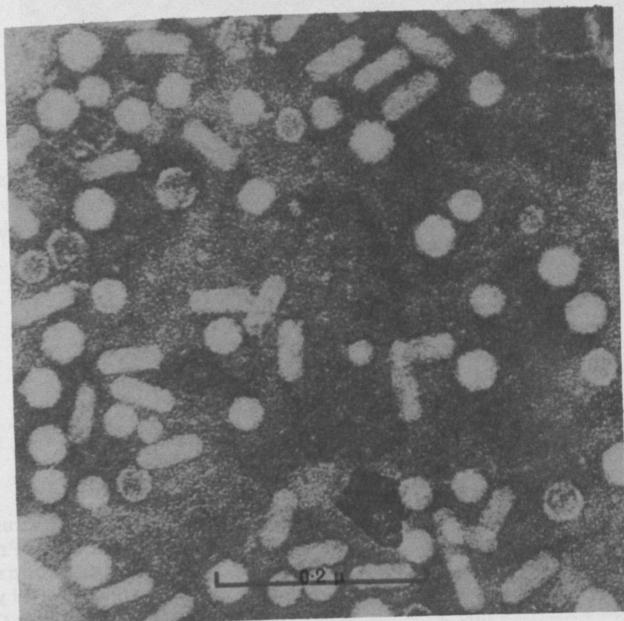


Abb. 4. Viruspartikel aus Fruchtkörpern von *Agaricus bisporus*. Partikel mit Dimensionen von 25 und 29 nm und 19 x 50 nm. Negativkontrastierung. Der Eichstrich entspricht 0,2 nm (aus Hollings et al., 1963; mit freundlicher Genehmigung).

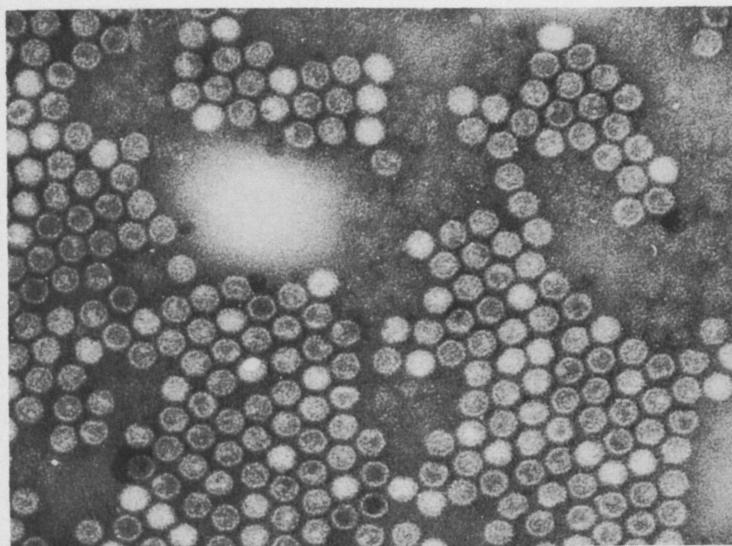


Abb. 5. Viruspartikel aus dem Kulturfiltrat von *Penicillium chrysogenum*. Negativkontrastierung.
(A t k e y, P. T. & H o l l i n g s, M., mit freundlicher Genehmigung).

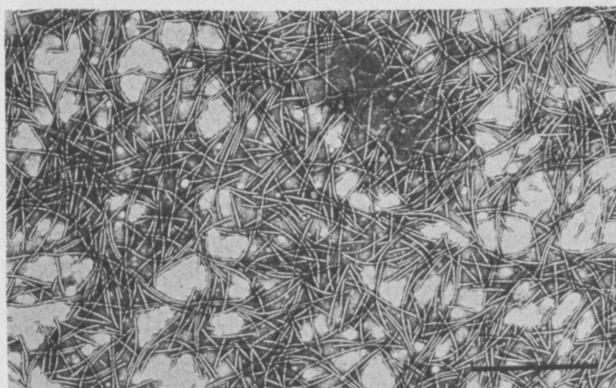


Abb. 6. Fadenförmige virusartige Partikel aus Fruchtkörpern des Steinpilzes *Boletus edulis*. Negativkontrastfärbung mit 2 % Phosphorwolframsäure. Der Eichstrich entspricht 1000 nm (D i e l e m a n - v a n Z a a y e n 1978; mit freundlicher Genehmigung).

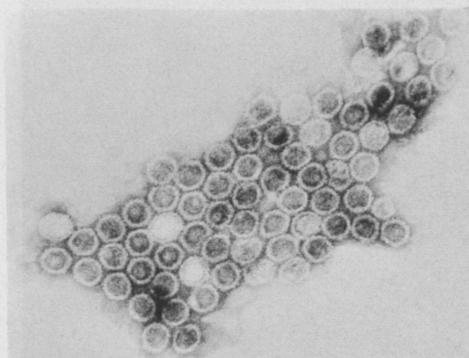


Abb. 7. Virusartige Partikel von 39 nm Durchmesser aus Fruchtkörpern von *Lentinus edodes*, Negativkontrastfärbung mit 2% Uranylacetat (aus U s h i y a m a & N a k a i, 1975; mit freundlicher Genehmigung).

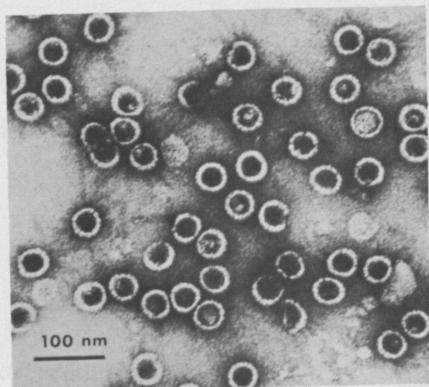


Abb. 8. Virusartige Partikel aus *Ustilago maydis* (P1). Negativkontrastfärbung mit 1 % Uranylacetat. Der Eichstrich entspricht 100 nm (aus Wood & Bozarth, 1973; mit freundlicher Genehmigung).

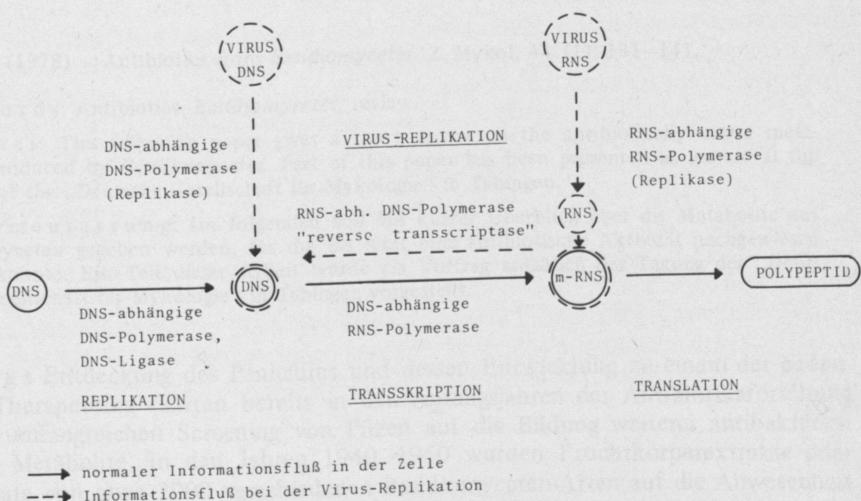


Abb. 9. „Zentrales Dogma der Molekularbiologie“ und Virusvermehrung. Schematisch. Nicht berücksichtigt ist die Synthese von Virus-Protein.