Rozmieszczenie utajonego wirusa X w bulwie ziemniaczanej

The distribution of virus X in the potato tubers

PROCHAL PIOTR

(Wpłynęło 25.XI 1952)

I. Wstęp.

Z całości zagadnień nad chorobami wirusowymi ziemniaków, zagadnienie utajonego wirusa ziemniaczanego X wysuwa się dzisiaj na plan pierwszy. Straty spowodowane wirusem X są bardzo znaczne. Według Balda (1944 r.) dochodzą do 27%, wg Stappa (1950 r.), o ile wirus X wystąpi z wirusem A, dochodzą w ciągu jednego roku do 50%. Wystąpienie wirusa w połączeniach z tak zwanymi wirusami złośliwymi powiększa podane straty i stawia plon uprawy ziemniaków pod znakiem zapytania (19, 36, 37). Wiadomo z obszernej literatury, że wirus X, ze względu na swoją utajoną formę w postaci H (rasa Salamana 1938) i wyłącznie kontaktowo-mechanicznego rozprzestrzeniania, nie da się wyeliminować dotychczas stosowanymi metodami hodowlanymi, do których należy selekcja (40), przy pomocy której usuwamy wirusa smugowatości i liściozwoju. Ponieważ nie stwierdzono dotychczas, by wirus X mógł być przenoszony przez mszyce a znajduje się, jak tego dowiodły badania (Kozłowska 1951, Salaman 1938, Smith 1937, Garbowski 1933), we wszystkich odmianach ziemniaków europejskich, określenie jego obecności i stopnia wirulencji w bulwach jest zagadnieniem pierwszorzędnego znaczenia. Przeprowadzone badania na ten temat podają: Clinch (1944) oraz Bawden (1948) i stwierdzają, że wirus X z końcem okresu wegetacyjnego spływa z części nadziemnych do bulwy. Salaman 1938, Bawden 1948 wykazali metodami roślin testowych i precypitacji obecność wirusa X w bulwie. Mc Intosch 1944 i Stapp 1950 wykazali jego obecność w kiełkach otrzymanych w ciemności. Wynika z tego, że wirus X przenoszony jest w bulwie. Zatem bulwy zawierające wirusa X są powodem rozprzestrzeniania się cho-

roby. Według Mc Intoscha (1944) i Robertsa (1948) wirus X rozszerza się przez kontakt kiełków zdrowych z chorymi. Według Stappa i Bartelsa (1950) zawartość wirusa X w kiełkach zależy od temperatury i pory roku, w której bulwy zostały wystawione do kiełkowania. Najlepszą temperaturą kiełkowania była temperatura 21°C, a czas optymalny wyłożenia w miesiącach styczniu, lutym i marcu. Zdaniem tych autorów, istnieją małe różnice w ilości wirusa między kiełkami szczytowymi, a dolnymi. Jak wielkie są te różnice dokładnie nie podają. Na tej podstawie twierdzą, że przy badaniu należy brać pod uwagę wszystkie kiełki bulwy.

Sama bulwa dotychczas nie była częstym obiektem badań odnośnie koncentracji wirusa X. Z pierwszymi wzmiankami o rozmieszczeniu wirusa X w samej bulwie spotykamy się u K. Smitha (1937). Według niego roślina ziemniaczana porażona silną rasą wirusa X, która powoduje nekrozę wierzchołkową liści, wykazuje niekiedy plamistość miąższu bulwy. Punktem wyjścia plam nekrotycznych podobnie jak i w częściach nadziemnych są elementy floemu, skąd nekroza przez warstwę kory dociera czasami do oczek. Objaw ten przypisuje autor działalności wirusa X.

Salaman (1938) podając rozmieszczenie rasy H wirusa X w roślinie stwierdził, że jest go bardzo mało w rosnących bulwach i postawił hipotezę, że koncentracja wirusa X zależna jest od wieku organu, a nie od wielkości bulwy. Stwierdził on w odmianach Epicure, Arran Crest, King Edward przy opanowaniu rasą S uszkodzenia w bulwach, przy czym bulwy mogą nie wykazywać objawów na zewnątrz, tylko lekką zapadłość tkanki wokół oczek. Takie bulwy przecięte wykazują liczne rozprzestrzeniające się ogniska barwy brązowej. Badania mikroskopowe wykazały, że tworzenie się tych ognisk zaczyna się w łyku, i rozprzestrzeniają się one na tkankę parenchymatyczną.

Bawden-Kassanis-Roberts (1948) podają, że nierozcieńczony sok ze skórki bulwy reagował w metodzie precypitacji w trzecim miesiącu po zbiorach, a siła reakcji wzrastała, gdy używano oczek łącznie z położoną obok nich tkanką. Ekstrakty parenchymy bulwy nie dawały tą metodą reakcji, mimo że zawierały wirusa, gdy badane później kiełki tych bulw dawały reakcję. Badaniami metodą wysadzania oczek wykazali, że oczka jednej bulwy dały rośliny o różnych objawach, a drogą przeszczepień na rośliny testowe stwierdzili występowanie wirusa X w różnych rasach. Badaniami na młodych bulwach wykazali, że nie ma w nich dużej ilości wirusa X, jako wyniku jego masowego przesuwania się z łęt do bulwy. Natomiast wysunęli przypuszczenia, że następuje wzrost koncentracji wirusa X w bulwie w końcu okresu wegetacyjnego, gdy łęty giną. Badania bulw z tego okresu wykazują małą ilość wirusa X

wokół oczek. Bawden-Kassanis-Roberts przypuszczają, że wirus X mało przesuwa się w samej bulwie, a jego ilościowe zwiększanie następuje w okresie kiełkowania oczek. Wokół oczek mogły się nagromadzić różne rasy wirusa X. Rasy, które rozprzestrzeniają się i ruszają szybciej, będą miały przewagę nad innymi.

Zadaniem niniejszej pracy jest zbadanie, przy pomocy czułej serologicznej metody odchylenia dopełniacza (Kozłowska 1950), rozmieszczenia wirusa X w poszczególnych fragmentach uśpionej (nie kiełkującej) bulwy ziemniaka, w zależności od ogólnego stopnia porażenia rośliny i rozwoju stadialnego bulwy i nadto wykazać istnienie związku między stopniem porażenia bulwy a procentową zawartością skrobi.

Praca ta została wykonana w okresie od X. 1949 do XII. 1950 w Zakładzie Botaniki, im. Janczewskiego, pod kierownictwem Prof. Dr A. Kozłowskiej, której w tym miejscu pragnę wyrazić podziękowanie za bardzo cenne wskazówki.

II. Podstawy wyboru metody wykrywania wirusa X

Znanymi i najczęściej stosowanymi metodami w wykrywaniu wirusa X w ziemniakach są: metoda roślin testowych i metoda serologiczna precypitacji, ponadto zastosowana niedawno na większą skalę metoda odchylenia dopełniacza (A. Kozłowska 1950).

Metoda roślin testowych pozwala na uchwycenie różnic jakie zachodzą między poszczególnymi rasami wirusa X. Stosowanie jej wymaga pomieszczeń szklarniowych oraz stosunkowo długiego czasu do uzyskania wyników.

Metoda precypitacji daje dobre wyniki jedynie w zastosowaniu do wyciągów z liści i łęt (5, 6, 7, 11, 31). Przy badaniach kiełków budzi zastrzeżenia (A. Kozłowska 1950). Moje próby zastosowania jej do badania miąższu bulwy zawiodły zupełnie. Wyciąg soku z bulwy bardzo szybko sam koaguluje, tak że prawie 100% wyciągów z bulw daje precypitację nieswoistą. Jeżeli natomiast dokładnie oczyściłem wyciąg z parenchymy bulwy to precypitacja nie występowała zupełnie. Wyciąg widocznie pozbawiony był dostatecznej ilości substancji białkowej. Co jest powodem szybkiego samoistnego koagulowania się wyciągów, nie starałem się rozwiązać. Przypuszczam, wnioskując z zabarwionego koagulatu, że pewną rolę odgrywa tu tyrozyna. Analogiczne wyniki otrzymali Bawden-Kassanis-Roberts (1948), którzy stwierdzili, że reakcja precypitacji daje wyniki i może być wykonaną we wszystkich częściach rośliny za wyjątkiem parenchymy bulwy. Z tych

powodów metody tej nie zastosowałem do badania miąższu bulwy na obecność wirusa X.

Metoda odchylenia dopełniacza (A. Kozłowska 1950) daje bardzo dokładne wyniki i może być stosowaną do badania wszystkich części rośliny z założeniem, że przygotowanie antygenu dla każdej części rośliny jest nieco odmienne. Metoda ta jest stosunkowo dość szybka i łącznie z przygotowaniem antygenów pozwala na zbadanie 40 wyciągów bulw w ciągu 8 godzin. Daje ona wyniki pewne, gdyż podwójny system kontroli eliminuje błędy. Zezwala, przez zastosowanie odpowiednich rozcieńczeń surowicy od 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40 itd., na ilościowe uchwycenie różnic między poszczególnymi antygenami. Ujemną stroną metody jest to, że wymaga urządzeń laboratoryjnych (łaźnia wodna wzgl. termostat, sterylizator) oraz zwierząt doświadczalnych królików, świnek morskich, barana, aby było można dysponować stale świeżym, niezbędnym do przeprowadzenia odczynu materiałem.

Dla zbadania rozmieszczenia wirusa X w bulwach postanowiłem opierając się na powyższych rozważaniach zastosować metodę odchylenia dopełniacza, mając na uwadze, że jest to metoda najbardziej czuła i jedyna nadająca się do badania bulw ziemniaczanych.

III. Metoda odchylenia dopełniacza

Metoda odchylenia dopełniacza polega na destrukcyjnym działaniu surowicy hemolitycznej, które wyraża się tym, że pod jej działaniem krwinki ulegają hemolizie. Surowicę hemolityczną otrzymujemy szczepiąc królika krwinkami barana. Surowica szczepionego w ten sposób królika powoduje w roztworze 0,85% NaCl hemolizę czerwonych ciałek krwi barana. Mętna zawiesina krwinek w roztworze 0,85% NaCl daje pod wpływem tej surowicy klarowny czerwony płyn. Według teorii Ehrlicha surowica hemolityczna zawiera dwa składniki dopełniacz i amboceptor (15). Surowica zinaktywowana, tj. ogrzana do 56°C traci dopełniacz wrażliwy na działanie temperatury, a pozostaje w niej tylko amboceptor hemolityczny, który sam nie działa i nie powoduje hemolizy ciałek krwi. Jeżeli do inaktywowanej surowicy hemolitycznej i odpowiedniej zawiesiny krwinek dodamy dopełniacz, hemoliza wystąpi. Próbę hemolityczną uzyskujemy w ten sposób, że do zawiesiny krwinek z inaktywowaną surowicą hemolityczną dajemy dopełniacz. Krwinki połączone z inaktywowaną surowicą, czyli amboceptorem noszą nazwę krwinek uczulonych.

Szczepiąc dożylnie królikowi ekstrakt utajonego wirusa X powodujemy reakcję organizmu zwierzęcego polegającą na wytworzeniu się przeciwciał w jego surowicy (14, 35). Surowica taka z ekstraktem wirusa

X czyli odpowiednim dla siebie antygenem daje precypitację (7, 11, 12). Jeżeli w naszym przypadku weźmiemy jako antygen odpowiednio przygotowany wyciąg z bulwy ziemniaka, damy doń zinaktywowaną surowicę zawierającą przeciwciała wirusa X, następnie dodamy dopełniacz, to jest świeżą nieogrzaną surowicę świnki morskiej oraz zawiesinę uczulonych krwinek barana, to mogą zaistnieć dwa wypadki: 1) krwinki ulegają hemolizie, płyn staje się czerwony przeźroczysty, 2) następuje zahamowanie hemolizy, płyn pozostaje mętny, a po upływie kilku godzin nie zhemolizowane krwinki barana osadzają się na dnie probówki. Drugi przypadek zachodzi wtedy, jeżeli inaktywowana, to znaczy pozbawiona dopełniacza surowica anti virus X połączy się z wurisem X znajdującym się w wyciągu bulwy. Dopełniacz, świeża surowica świnki morskiej, zostaje jednocześnie przy tej reakcji zaabsorbowany. Dodane później uczulone krwinki nie spotykają na swej drodze dopełniacza i nie ulegają hemolizie. Płyn w probówkach pozostaje mętny. W wypadku pierwszym surowica anti virus X nie spotykająca w ekstrakcie bulwy wirusa X pozostaje wolna nie absorbując jednocześnie dopełniacza. Wolny dopełniacz hemolizuje uczulone krwinki.

IV. Technika metody odchylenia dopełniacza w zastosowaniu do antygenów roślinnych.

Każda próba odchylenia dopełniacza wymaga uprzedniego przygotowania czynników biorących udział w reakcji. Wartość przygotowania czynników sprawdzamy miareczkowaniem przed wykonaniem odczynu. Reakcja odczynu składa się:

1) z przygotowania i miareczkowania amboceptora. Miareczkowanie podaje dokładną ilość amboceptora potrzebną do uczulenia krwinek,

2) z przygotowania i uczulenia krwinek,

3) z przygotowania i miareczkowania dopełniacza. Miareczkowanie dopełniacza składa się z dwóch części: a) próby hemolitycznej stwierdzającej miano dopełniacza, b) właściwego miareczkowania dopełniacza wobec antygenów i surowicy kontrolnej w celu otrzymania rozcieńczenia dopełniacza do odczynu odchylenia,

4) z przygotowania surowicy specyficznej anti virus X, surowicy kontrolnej i antygenów oraz odczynu odchylenia dopełniacza z podwójną kontrolą, dającą w efekcie poszukiwany wynik.

Przygotowanie i miareczkowanie amboceptora (26, 29)

Przygotowanie: Krwinki przygotowane jak niżej zmieszać z równą ilością soli fizjologicznej i wstrzyknąć królikowi do żyły obwodowej ucha w ilości 1 cm^3. Powtórzyć wstrzykiwanie jeszcze dwa do trzech

razy w odstępach pięć do siedmiu dni zwiększając dwukrotnie dawki. Siedem dni po ostatnim wstrzyknięciu pobrać krew z serca i oznaczyć miano hemolityczne. Przy wysokim mianie należy królika skrwawić, wypuszczając całą krew z tętnicy szyjnej. Wyodrębnioną surowicę ogrzewa się przez 30 m. w 56°C, dodaje środka antyseptycznego (0,5% roztwór fenolu), rozlewa do ampułek i przechowuje w chłodni. W moim badaniu pracowałem stale amboceptorem o mianie 1 : 2500.

Miareczkowanie: amboceptor rozcieńczony 1 : 1000 miareczkujemy w następujący sposób: (tab. I)

TABELA I

Probówki	1	2	3	4	5	6
NaCl 0,85%	0,85	0,80	0,70	0,60	0,50	0,40
Amboceptor 1 : 1 000	0,05	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50
Komplement 1 : 2	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
2,5% krwinki	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50

Po napełnieniu w powyższy sposób probówek każdą z nich należy skłócić i wstawić do łaźni wodnej na 30 m. w 37°C lub do termostatu na 40 m. w 37°C. Po upływie danego czasu odczytujemy w której probówce nastąpiła hemoliza. Do próby odchylenia dopełniacza używa się pięciokrotnej dawki amboceptora. Jeżeli zatem hemoliza wystąpiła w 5 probówce zawierającej 0,4 cm³ amboceptora rozcieńczonego 1 : 1000, czyli przy pięcickrotnej dawce 2 cm³ w rozcieńczeniu 1 : 1000, zatem na jedną probówkę przypadnie 0,002 cm³ nierozcieńczonego amboceptora.

Przygotowanie i uczulenie krwinek.

Przygotowanie: Pobrana z tętnicy szyjnej barana odpowiednia ilość krwi do sterylnego naczynia zostaje po dokładnym rozbiciu odwłókniona, przepuszczona przez gazę, a następnie trzykrotnie płukana roztworem 0,85% NaCl i wirowana po każdym płukaniu. Płyn nad krwinkami po ostatnim wirowaniu winien być bezbarwny, klarowny, a krwinki winny się składać z poszczególnych erytrocytów.

Uczulenie: W ten sposób przygotowane krwinki barana mieszamy z odpowiednią ilością soli fizjologicznej i dodajemy poprzednio wymiareczkowaną 5-krotną dawką amboceptora rozcieńczonego w stosunku 1 : 1000. Przed przystąpieniem do przygotowania obliczamy, ile nam potrzeba uczulonych krwinek do wykonania odchylenia dopełniacza. Załóżmy, że jednorazowe badanie wymaga 100 cm³ krwinek. Ponieważ

uprzednio stwierdziliśmy, że 5-krotna najniższa dawka hemolityczna wynosi 0,002 cm^3 na probówkę, a do jednej probówki dajemy 0,5 cm^3 krwinek, to na 200 probówek będzie potrzeba (200 × 0,002) 0,4 cm^3 amboceptora. Mieszamy zatem w jednej kolbie 0,4 cm^3 amboceptora z 49,6 cm^3 soli fizjologicznej w drugiej 1,25 cm^3 krwinek baranich z 48,75 cm^3 soli fizjologicznej, a następnie dokładnie zamieszane płyny łączymy i tak przygotowane krwinki wstawiamy do termostatu na 15 m. po czym używamy do miareczkowania dopełniacza.

Przygotowanie i miareczkowanie dopełniacza.

Przygotowanie: Przy pomocy strzykawki pobieramy z serca świnki morskiej ok. 10 cm^3 krwi do probówki. Probówkę umieszczamy na 15 m. do termostatu w 37°C celem skrzepnięcia krwinek. Po upływie tego czasu wirujemy i oddzielamy surowicę (dopełniacz), która nadaje się do użycia tylko w stanie świeżym, tj. do 24 godzin. Dopełniacz w ciągu tego czasu winien być przechowany w nieprzepuszczalnym światło naczyniu i w temperaturze bliskiej 0°C. Jeżeli mamy dużą ilość dopełniacza, konserwujemy go przy pomocy roztworu składającego się z 4 g kwasu borowego, 12 g octanu sodu + 100 g wody destylowanej, mieszając go w stosunku 1 : 1.

Miareczkowanie: Sprawdzenie miana dopełniacza podaje poniżej tabela II.

TABELA II

Probówki	1	2	3	4	5	6
NaCl 0,85%	0,85	0,80	0,75	0,70	0,65	0,60
Dopełniacz 1:10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40
Krwinki uczulone 2.5%	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50

Tak napełnione probówki wstawiamy do łaźni wodnej na 15 m. przy 37°C i odczytujemy wynik. Jeżeli hemoliza nie wystąpiła przynajmniej w czwartej probówce, to dopełniacz odrzucamy jako słaby. Najlepiej jest, jeżeli hemoliza wystąpi w pierwszej probówce.

Miareczkowanie dopełniacza wykonujemy wobec surowicy kontrolnej i antygenów. Dla jednego antygenu musimy przygotować siedem probówek, do których wlewamy następujące ilości roztworu soli fizjologicznej i dopełniacza rozcieńczonego 1 : 10 (tab. III).

Następnie do każdej probówki wlewamy po 0,25 cm^3 antygenu i 0,25 cm^3 surowicy kontrolnej ze zdrowego, nieszczepionego królika. Tak przygotowane mieszaniny w probówkach kłócimy i wkładamy do łaźni

wodnej na 30 m. lub do termostatu na 40 m. przy temp. + 37°C. Następnie dolewamy zawiesiny uczulonych krwinek w ilości 0,5 cm³ i wstawiamy ponownie do łaźni na 15 m. względnie do termostatu na 20 m, po czym

TABELA III

Probówki	1	2	3	4	5	6	7
NaCl 0,85%	0,40	0,35	0,30	0,25	0,20	0,15	0,10
Dopełniacz 1:10	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40

odczytujemy wynik miareczkowania, tzn. wystąpienie hemolizy. Tak przygotowane miareczkowanie daje następujące rozcieńczenie dopełniacza w poszczególnych probówkach: (tab. IV).

TABELA IV

Probówki	1	2	3	4	5	6	7
Rozcieńczenie: na 1 cm³ dopełniacza przypada roztworu soli fizjologicznej w cm³	49	33	24	19	16	13	11

Załóżmy, że hemoliza wystąpiła w czwartej probówce zawierającej 0,25 cm³ dopełniacza rozcieńczonego 1:10, to do samego wykonania odczynu bierzemy 1 cm³ dopełniacza i rozcieńczamy 19 cm³ soli fizjologicznej. Praktyczne zastosowanie wskazało jednak, z uwagi na większą pewność wyniku i uniknięcia ewentualnego błędu, że lepiej jest przyjąć rozcieńczenie następnej probówki w naszym wypadku 5, o stosunku dopełniacza do soli fizjologicznej 1 + 16.

Przygotowanie surowicy specyficznej anti virus X, surowicy kontrolnej i antygenów oraz odczyn odchylenia dopełniacza.

P r z y g o t o w a n i e: Surowicę specyficzną anti virus X przygotowałem w sposób podany przez Prof. A. K o z ł o w s k ą (1950 r. 21). Surowicę kontrolną otrzymałem przez pobranie jej ze zdrowego nieszczepionego królika w sposób stosowany w bakteriologii (29). Sposób przygotowania antygenów podaję na str. 44.

O d c z y n: Dla jednego antygenu zestawiamy szereg złożony najmniej z trzech probówek, z których trzecia służy jako kontrola czy dany antygen sam od siebie nie posiada własności hamujących hemolizę. Do pierwszej probówki wlewamy surowicę specyficzną anti virus X w sto-

sunku 1 : 10, do drugiej w rozcieńczeniu 1 : 20. Przy stosowaniu większej ilości probówek do następnych rozlewamy coraz to większe rozcieńczenie surowicy specyficznej. Zastosowanie zwiększającego się rozcieńczenia surowicy ma na celu kontrolę reakcji i wykazanie ewentualnych różnic zachodzących między poszczególnymi antygenami.

Wykonanie odczynu (tab. V)

TABELA V

Probówki	1	2	3
Na Cl 0,85%	—	—	0,25
Antygen 1:30	0,25	0,25	0,25
Surowica anti virus X 1:10	0,25	—	—
Surowica anti virus X 1:20	—	0,25	—

Probówki po wypełnieniu należy skłócić i wstawić do łaźni wodnej na 30 m w temperaturze 37°C, po czym dolać po 0,5 cm³ krwinek uczulonych, skłócić i wstawić z powrotem do łaźni wodnej na 15 m. w 37°C. Po upływie czasu odczytujemy wynik. Trzecia probówka musi zawsze wykazać hemolizę. Jeżeli antygen bez surowicy dał hemolizę, a z surowicą specyficzną anti virus X zahamowanie hemolizy, to wynik należy uznać za dodatni +++, innymi słowy antygen zawiera wirus X. Natomiast przy wystąpieniu hemolizy za ujemny — antygen nie zawiera wirusa X. Przy wykonaniu odchylenia dopełniacza należy jeszcze stosować kontrolę, a mianowicie: wykazać, jak zachowuje się antygen z wirusem X i bez wirusa X wobec surowicy anti virus X i surowicy kontrolnej. Wynik tylko taki (tab. VI), jak niżej podany jest właściwy i przy równoczesnej hemolizie w trzeciej probówce należy uważać go za poprawny.

TABELA VI

Antygen	Surowica anti virus X		kontrola bez surowicy	Surowica kontrolna		Kotrola bez surowicy
	1:10	1;20		1:10	1:20	
Antygen z wirusem X	+++	+++	—	—	—	—
Antygen bez wirusa X	—	—	—	—	—	—

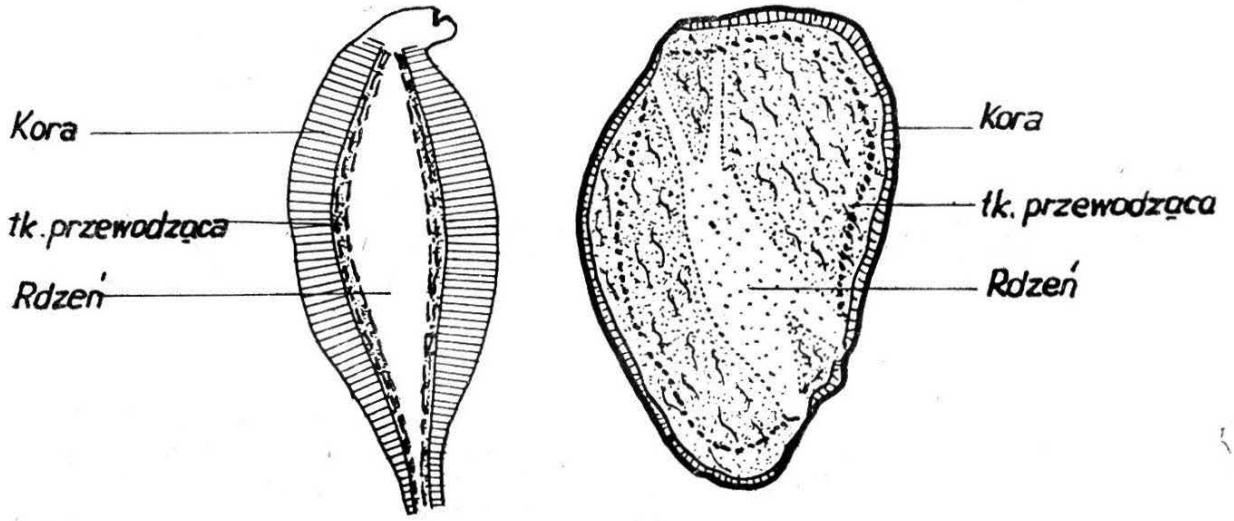
V. Metodyka badań

Anatomia bulwy ziemniaka i oznaczenie miejsc pobierania próbek.

Liczne badania anatomiczne (1, 2, 3, 16, 22, 33) wykazały, że bulwa ziemniaka, połączona z rośliną macierzystą przy pomocy łodygi podziem-

nej, ma analogiczną budowę anatomiczną do kłącza i pędu nadziemnego. (rys. 1).

Bulwa jest niczym innym jak pędem podziemnym w końcowej części odpowiednio pogrubionym, w którym mieści się magazyn składników pokarmowych. Możemy zatem bulwę rozpatrywać jako pogrubiony pęd skrócony z przybliżonymi międzywęźlami (1, 2). Rozłożenie oczek na bulwie jest podobne do ułożenia liści na łodydze (1, 2, 3, 28). Ułożenie to



Schemat zaczynającej się tworzyć bulwy i dojrzałej bulwy

przekrój ukośny

widoczna homologia tkanek
(wg. Artschwagera)

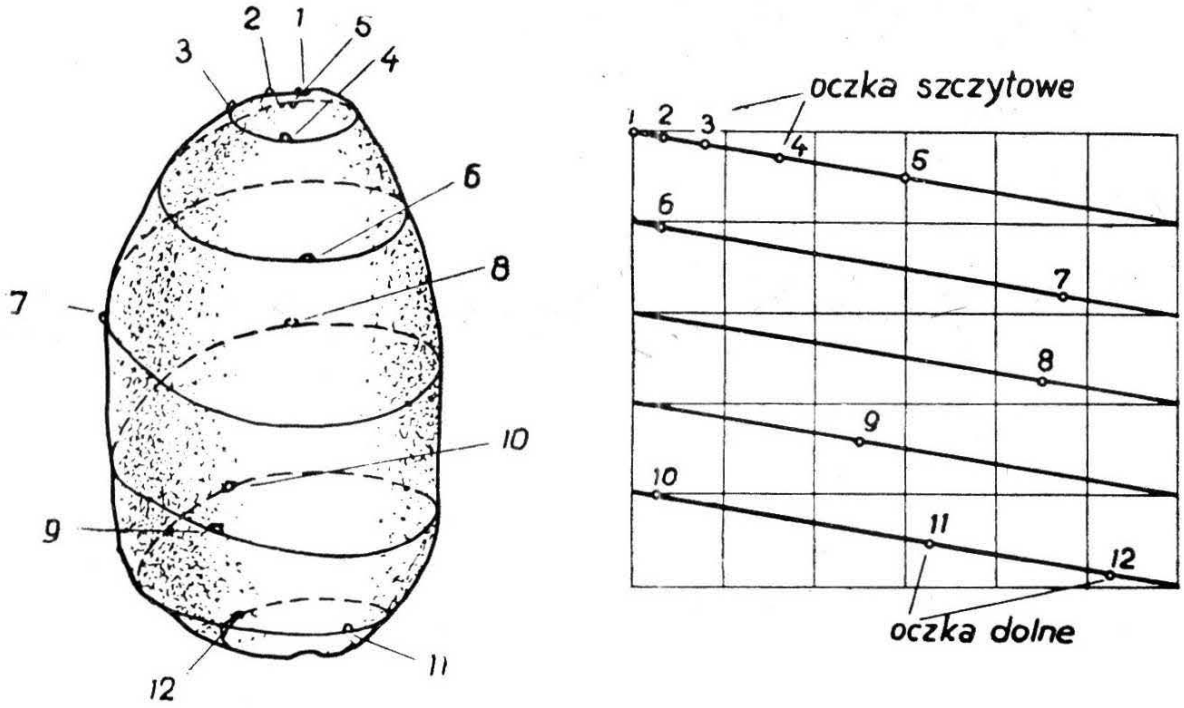
Ryc. 1.

jest lewoskrętne, aczkolwiek spotykamy odmiany z prawoskrętnym ułożeniem oczek. Zamieszczony schemat (rys. 2) rozmieszczenia oczek na bulwie opracowałem w następujący sposób: Wybrałem 100 bulw o podobnej wielkości i jednakowej ilości oczek, następnie po linii spiralnej łączącej oczka pomierzyłem odległości między oczkami u wszystkich bulw i obliczyłem odległości średnie.

Ze schematu widać, że oczka wskutek pogrubienia pędu są nierówno rozłożone na powierzchni bulwy. Idąc po linii spiralnej od oczka szczytowego są one bardzo blisko położone, tak że tworzą skupienie oczek, które to oczka określone są przez autorów jako koronowe, szczytowe (36). W miarę oddalania się od oczek szczytowych odległość między oczkami rośnie, aby potem spadać przy ostatnich oczkach, zwanych pępkowymi,

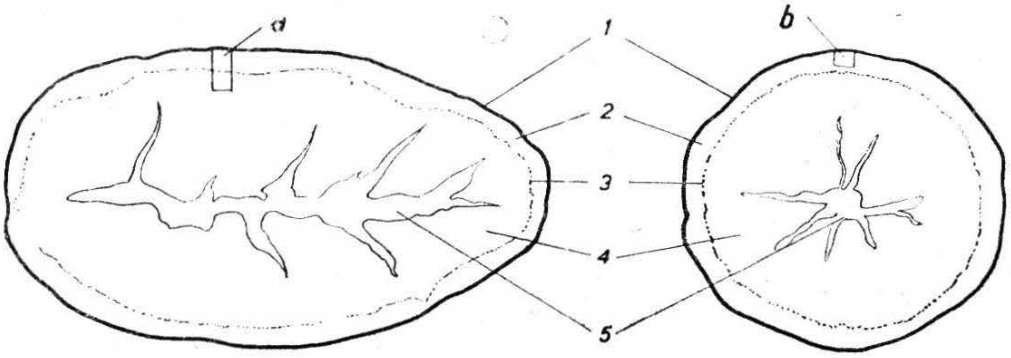
dolnymi, a znajdującymi się obok miejsca przyczepienia bulwy. Oczko szczytowe oznaczyłem nr 1, a następne liczbami dalszej kolejności.

Budowa anatomiczna bulwy ziemniaka przedstawia się następująco (rys. 3 i 4): Idąc od zewnątrz do środka spotykamy najpierw warstwę zwaną perydermą (rys. 3-1) złożoną z dwu części: z komórek zkorkowaciałych i komórek żywych tworzących. Ilość warstw komórek w perydermie



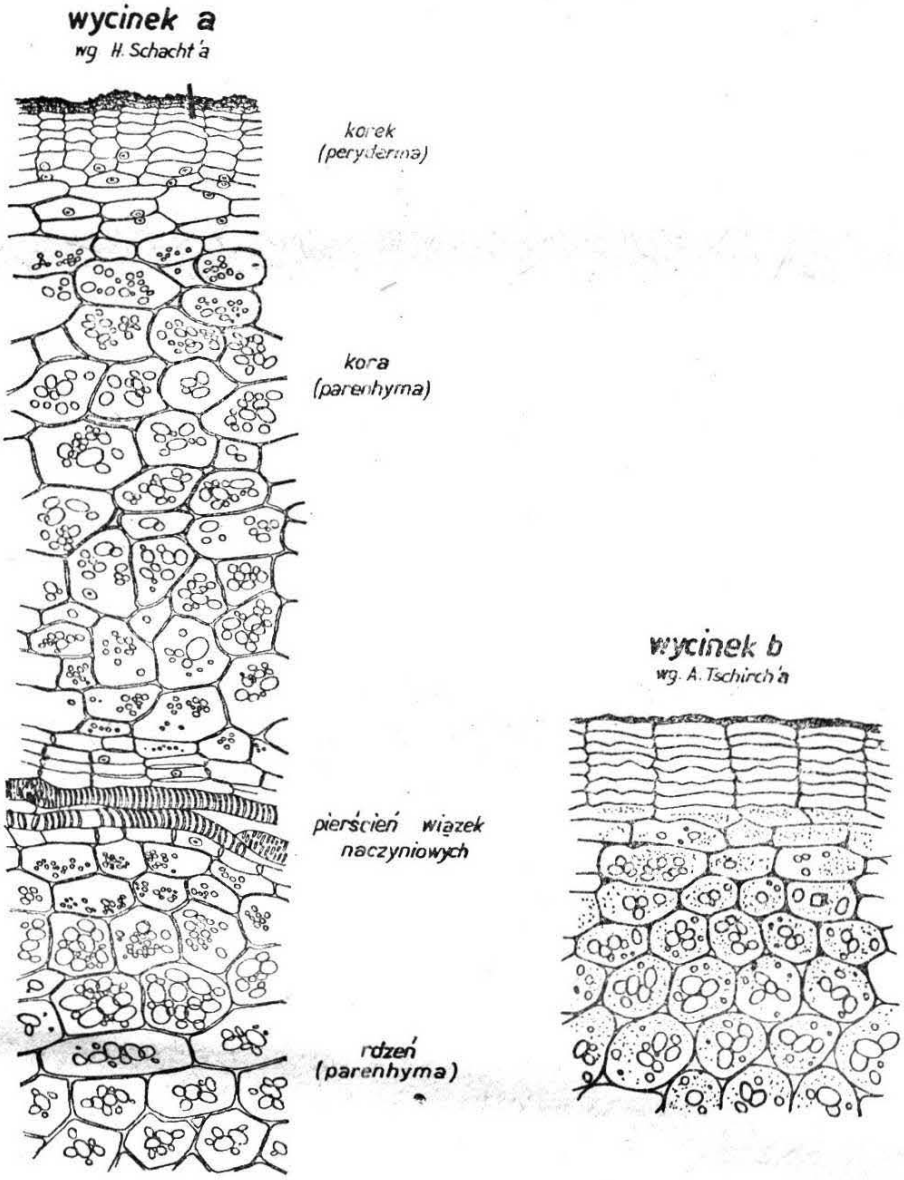
Ryc. 2.

zależy od odmiany, warunków zewnętrznych, nawożenia (1) wg. Kreitza i waha się od 9 do 16 (16). Tkanka ta nie przepuszcza gazów, dlatego do oddychania bulwy służą przetchlinki rozrzucone po całej jej powierzchni. Przetchlinki układają się w pobliżu węzłów młodej bulwy. Komórki perydermy nie zawierają skrobi. Pod perydermą znajduje się kora pierwotna (rys. 3-2) złożona z komórek parenchymatycznych z licznymi międzykomórkowymi przestworami. Komórki kory pierwotnej są wypeł-



Ryc. 3. Przekroje bulwy ziemniaka: przekrój podłużny, przekrój poprzeczny

nione skrobią, której najwięcej znajduje się w środkowej jej warstwie. Pod korą pierwotną widzimy pierścień tkanki przewodzącej (ryc. 3-3), złożony z części sitowych zewnętrznych i wewnętrznych, i położonej między nimi części naczyniowej. W rosnących bulwach w tym pierścieniu między zewnętrznymi sitami a naczyniami znajduje się tkanka twórcza (kambium), która powoduje wzrost bulwy na grubość. Wiązki naczyniowe bulwy są słabo rozwinięte. Również słabo jest rozwinięty floem we-



Ryc. 4. Wycinki z bulwy podane na ryc. 3 pod dużym powiększeniem.

wnętrzny, który niekiedy zupełnie zanika. Z pierścienia tkanki przewodzącej odchodzą do oczek wiązki. Zadaniem wiązek w bulwie jest przeprowadzić asymilaty w głąb bulwy a następnie dostarczyć substancji odżywczej dla wyrastających z oczek kiełków.

Tkankę leżącą wewnątrz okręgu wiązek przewodzących złożoną z komórek parenchymatycznych nazywamy rdzeniem. W rdzeniu wyróżniamy dwie części: część ciemniejszą, rdzeń wewnętrzny — właściwy

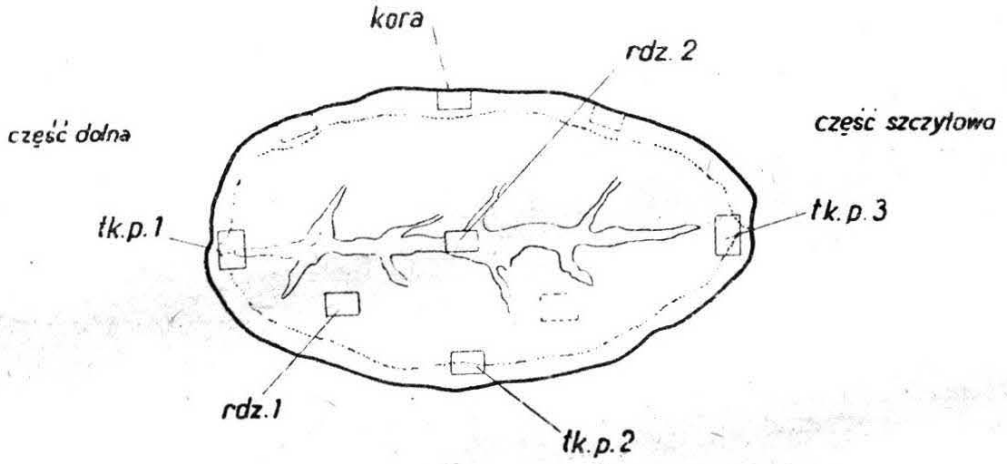
(ryc. 3-5) i jaśniejszą zewnętrzną, rdzeń zewnętrzny tzw. koronę rdzeniową (ryc. 3-4). W rdzeniu niekiedy znajdują się poszczególne wiązki przewodzące złożone przeważnie z elementów floemowych połączone z kręgiem wiązek za pomocą anastomoz. Korona rdzeniowa jest silnie rozwinięta i w niej głównie gromadzi się skrobia. Rdzeń wewnętrzny — właściwy zajmuje małą przestrzeń i jest ubogi w skrobię, a zawiera większy procent wody.

Na podstawie budowy anatomicznej bulwy ustaliłem miejsca brania próbek do badania zawartości wirusa X. Próbki pobierałem w następujący sposób. Za pomocą sterylnego skalpela wycinałem wszystkie oczka z otaczającą je częścią tkanek. Oczka znaczyłem liczbami w podany na ryc. 2 sposób. Wycinki z oczkami ważyły średnio 0,15 grama. Następnie przecinałem bulwę podłużnie i z przekroju podłużnego wyjmowałem skalpelem próbki w następujących miejscach (ryc. 5):

1) z tkanki parenchymatycznej kory łącznie z warstwą korka (kora),

2) z tkanki przewodzącej w trzech miejscach: a) z miejsca tuż pod przyczepem bulwy (tk. p. 1), b) w połowie odległości między nasadą a szczytem bulwy (tk. p. 2) spod oczka szczytowego (tk. p. 3),

3) z tkanki parenchymatycznej rdzenia: a) z korony rdzeniowej (rdz. 1), b) z rdzenia właściwego (rdz. 2).



Ryc 5. Oznaczenie miejsc pobierania próbek.

Zamieszczony rysunek (ryc. 5) podaje miejsca pobierania próbek. Z tak pobranych próbek przygotowywałem antygeny do badania.

Przygotowanie antygenu

Wirus X jest substancją białkową należącą do grupy nukleoproteidów. (Bawden i Pririe 1937), (5, 6, 8, 10, 25, 27). Wyciągi wirusa X w postaci tej czy innej rasy, względnie zespołu ras powodują wytworzenie przeciwciał w organizmie zwierzęcym (Bawden i Spooner 1936) (6, 25, 35), które, jak wskazują dotychczasowe badania, dają jedna-

kową serologiczną reakcję (Bawden i Pierie 1937) (5, 6, 25). Na podstawie tych danych starałem się wyodrębnić i oczyścić całą zawartość substancji białkowej z tkanek bulwy. Opierając się na wynikach uzyskanych przez A. Kozłowską (1947 i 1950) i Stappa (1950) odnośnie wyodrębnienia substancji wirusa z bezzieleniowych kiełków ziemniaka, starałem się ich prostą metodę dostosować do oczek i tkanek bulwy. Prowadzone w dużej ilości próby pozwoliły mi na wypracowanie prostej metody ekstrahowania substancji białkowych z bulwy. Miąższ bulwy po dokładnym rozdrobnieniu w moździerzyku porcelanowym zalewałem 0,85% roztworem NaCl i pozostawiałem na 24 godzin. Następnie roztwo-

TABELA VII

Wyciąg z bulwy	Surowica anti VX rozcieńczona 1 : 10	Surowica anti VX rozcieńczona 1 : 20	Kontrola bez surowicy	Surowica kontrolna rozcieńczona 1 : 10	Surowica kontrolna rozcieńczona 1 . 20	Kontrola bez surowicy
1. Wyciąg sączono jeden raz przez sączek 1 G_2 „Durieux"						
„Bintie" wolny od VX	+++	+++	—	++	+	—
„1619" z VX rasa S	+++	+++	—	++	+	—
2. Wyciąg sączono dwa razy przez sączek 1 G_2 „Durieux"						
„Bintie"	+++	+++	—	+	+	—
„1619"	+++	+++	—	+	+	—
3. Wyciąg sączono trzy razy przez sączek 1 G_2 „Durieux"						
„Bintie"	+++	+	—	+	—	—
„1619"	+++	+++	—	±	—	—
4. Wyciąg z bulwy wirowano przez 5' przy 3000 obrotów na minutę						
„Bintie"	+++	+++	—	+	+	—
„1619"	+++	+++	—	++	+	—
5. Wyciąg wirowano przez 10' przy 3000 obrotów na minutę						
„Bintie"	+++	++	—	+	±	—
„1619"	+++	+++	—	++	±	—
6. Wyciąg wirowano przez 15' przy 3000 obrotów na minutę						
„Bintie"	+	+	—	—	—	—
„1619"	+++	+++	—	+	—	—
7. Wyciąg wirowano przez 5' przy 10000 obrotów na minutę						
„Bintie"	+	±	—	—	—	—
„1619"	+++	±++	—	—	—	—
8. Wyciąg wirowano przez 10' przy 10000 obrotów na minutę						
„Bintie"	—	—	—	—	—	—
„1619"	+++	+++	—	—	—	—

ry te poddawałem próbom w celu wyodrębnienia substancji białkowej z zawiesiny złożonej z miażdżonych części tkanek i skrobi.

W pierwszym wypadku ekstrakt sączyłem przez sączek 1 G_2 „Durieux", w drugim wirowałem na wolno obrotowej wirówce (3000 obrotów na minutę), w trzecim wypadku wirowałem na szybko obrotowej wirówce (10 000 obrotów na minutę). W tak przygotowanych ekstraktach sprawdziłem obecność białka odczynnikiem Milona, a następnie badałem odczynem odchylenia dopełniacza, przy zastosowaniu zarówno surowicy anti virus X i surowicy kontrolnej. Te trzy metody wypróbowałem na dwóch rodzajach bulw, a mianowicie bulwy odmiany „Bintie" nie zawierającej wirusa X, specjalnie w tym celu sprowadzonej z Belgii i rodu „1619", sprowadzonego z Pomorskiej Stacji Hodowlanej — Sławutówko, zawierającego wirusa X w rasie S, co stwierdziłem drogą przeszcze-

TABELA VIII.

Wyciąg z bulwy	Surowica anti VX rozcieńczona 1 : 10	Surowica anti VX rozcieńczona 1 : 20	Kontrola bez surowicy	Surowica kontrolna rozcieńczona 1 : 10	Surowica kontrolna rozcieńczona 1 : 20	Kontrola bez surowicy
1. Wyciąg sączono jeden raz przez sączek 1 G_2 „Durieux"						
„Bintie"	+++	+++		++	+	
„1619"	+++	+++		++	+	
2. Wyciąg sączono dwa razy przez sączek 1 G_2 „Durieux"						
„Bintie"	+	—	—	±	—	—
„1619"	+++	+++	—	+	—	—
3. Wyciąg sączono trzy razy przez sączek 1 G_2 „Durieux"						
„Bintie"	—	—	—	—	—	—
„1619"	+++	+++	—	—	—	—
4. Wyciąg wirowano przez 5′ przy 3000 obrotów na minutę						
„Bintie"	+	+	—	+	±	—
„1619"	+++	+++	—	+	+	—
5. Wyciąg wirowano przez 10′ przy 3000 obrotów na minutę						
„Bintie"	—	—	—	—	—	—
„1619"	+++	+++	—	—	—	—
6. Wyciąg wirowano przez 15′ przy 3000 obrotów na minutę						
„Bintie"	—	—	—	—	—	—
„1619"	+++	+++	—	—	—	—
7. Wyciąg wirowano przez 5′ przy 10,000 obrotów na minutę						
„Bintie"	—	—	—	—	—	—
„1619"	+++	+++	—	—	—	—
8. Wyciąg wirowano przez 10′ przy 10.000 obrotów na minutę						
„Bintie"	—	—	—	—	—	—
„1619"	+++	+++	—	—	—	—

pień na *Nicotiana Tabacum* odmiany White Burley. Podane niżej zestawienie (tabl. VII) obrazuje wyniki otrzymane odchyleniem dopełniacza dla wyciągów w trojaki sposób przygotowanych.

Przeglądając wyniki widzimy w pierwszych 7 wypadkach nieswoiste zahamowanie hemolizy z wyciągiem bulwy wolnej od wirusa X i równocześnie zahamowanie z surowicą kontrolną. Ostatnia próba daje nam poszukiwany rezultat, bowiem wyciąg z bulwy 1619 zatem z wirusem X, wykazuje z surowicą anti virus X zahamowanie hemolizy, a z bulwy „Bintie" bez wirusa X daje hemolizę, przy czym w obu wypadkach surowica kontrolna daje wynik ujemny. Wydawałoby się, że została uzyskana bardzo prosta metoda otrzymywania wirusa X z bulwy, ale niestety dalsze moje próby prowadzone już według ostatniej metody tzn. wyciąg poddany wirowaniu przez 10' przy 10 000 obrotów na minutę, dawały niekiedy jeszcze nieswoiste zahamowanie. Aby eliminować możliwość błędu wytrącałem każdorazowo badane antygeny surowicą otrzymaną z królika szczepionego wyciągiem zdrowej bulwy ziemniaka dodając na 5 cm^3 badanego wyciągu 0,1 cm^3 surowicy przeciwzdrowe białko.

Mieszaniny te dokładnie kłóciłem i odstawiałem na 24 godziny do chłodni. Następnie powtarzałem z nimi trzy opisane sposoby dalszego czyszczenia. Zamieszczona poniżej tabela VIII podaje otrzymane wyniki.

Wyniki wykazują zmianę w odchyleniu dopełniacza wywołaną strąceniem wyciągów surowicą przeciwzdrowe białko. Zmiana ta, jak widać zezwoliła na wyeliminowanie nieswoistego hamowania surowic.

TABELA IX

Wyciąg z bulwy	Rozcieńczenie surowicy						Kontrola bez surowicy
	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320	
„Bintie"	—	—	—	—	—	—	—
„1619"	+++	+++	+++	+++	+++	++	—

Objaśnienie znaków:

+++ bardzo silne zahamowanie hemolizy, po kilku godzinach wszystkie krwinki opadają na dno probówki, nad nimi pozostaje niezabarwiony płyn: oznacza to maksymalne nasilenie wirusa X.

++ średnie zahamowanie hemolizy, po opadnięciu niezhemolizowanych krwinek płyn lekko różowy: średnie nasilenie wirusa X.

+ słabe zahamowanie hemolizy, po opadnięciu części niezhemolizowanych krwinek, płyn czerwony: słabe nasilenie wirusa X.

$\underline{+}$ bardzo słabe zahamowanie hemolizy, po kilku godzinach bardzo mała ilość krwinek osadza się, osad jednak widoczny, płyn w próbówce intensywnie czerwony: bardzo słabe nasilenie wirusa X.

— hemoliza zupełna, płyn intensywnie czerwony, brak osadu krwinek, wirusa X nie ma.

Trzecie, piąte, szóste, siódme i ósme doświadczenie daje nam poszukiwany wynik. Na podstawie wyżej przytoczonych danych w badaniach moich przygotowywałem antygeny w następujący sposób: Dokładnie roztarty miąższ bulwy o wadze 0,15 g w moździerzyku porcelanowym zalewałem 5 cm^3 roztworu soli fizjologicznej. Do wyciągu tego dodawałem następnie surowicy przeciwzdrowe białko bulwy i po dokładnym wymieszaniu odstawiałem do chłodni o temperaturze — 0^0C. Po upływie 24 godzin tak przygotowany wyciąg wirowałem przez 10 m. przy 10 000 obrotów na minutę i bezpośrednio używałem jako antygenu do odczynu odchylenia dopełniacza.

Wyciągi badanych przeze mnie bulw dały z surowicą anti virus X następujące wyniki: (tab. IX).

VI. Przebieg badania

Badania wstępne

Badania moje rozpocząłem od bulw zdrowych, pozbawionych wirusa X, odmiany „Bintie", sprowadzonych od Dr Rolanda z Belgii; bulw pochodzących od roślin optymalnie zakażonych wirusem X rodu „1619", opanowanego całkowicie rasą S (Salaman 1938); bulw pochodzących spod krzaków pozornie zdrowych odmiany „Prezydent", sprowadzonej z Anglii w roku 1947. Uzyskane wyniki podaje niżej zamieszczona tabela X.

Z tabeli wynika, że bulwa „Bintie" nie zawiera wirusa X a natomiast bulwa rodu „1619" wykazuje jego obecność w maksymalnym nasileniu. W odmianie „Prezydent" największe nasilenie wirusa X stwierdziłem w oczku szczytowym, w oczkach niższych stopniowy spadek i wreszcie brak w dolnych oczkach. W tkankach bulwy „Prezydent" główne nasilenie wirusa znajdowało się w pierścieniu złożonym z naczyń i sitek. Tkanka parenchymatyczna kory i korony rdzeniowej nie wykazywała wirusa X. Jedynie tkanka parenchymatyczna rdzenia właściwego wykazywała słabe jego nasilenie.

Wyniki podane w tabeli przedstawiają załączone wykresy (ryc. 6). Na pierwszym wykresie na linii poziomej umieszczone są kolejno oczka od 1 do 10. Na wykresie drugim na linii poziomej umieszczone są wycinki tkanek bulwy, oznaczone według ryc. 5: t. p. 3 — tkanka przewodząca pod oczkiem szczytowym, t. p. 2 — tkanka przewodząca w połowie między nasadą a szczytem bulwy, t. p. 1 — tkanka przewodząca tuż pod miejscem przyczepu bulwy, rd. 2 — rdzeń właściwy, rd. 1 — korona rdzeniowa, kora — kora pierwotna. Na linii pionowej pierwszego i drugiego wykresu znajdują się nasilenia wirusa X.

TABELA X

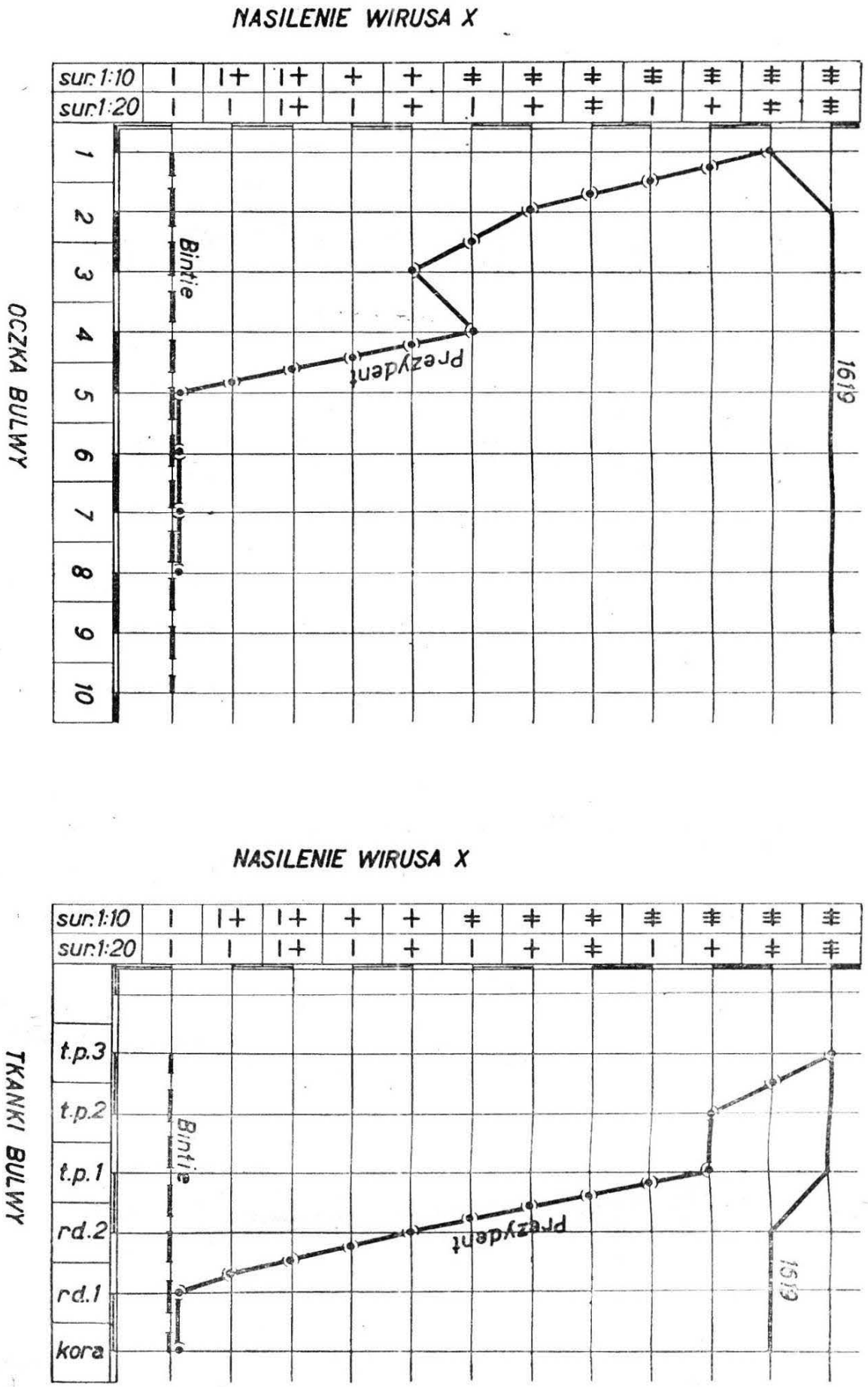
Bulwy	Antygen z oczka; z części tkanek	Surowica anti virus X		Kontrola bez surowicy	Surowica kontrolna		Kontrola bez surowicy
		1 : 10	1 : 20		1 : 10	1 : 20	
„Bintie"	1	—	—	—	—	—	—
„	2	—	—	—	—	—	—
„	3	—	—	—	—	—	—
„	4	—	—	—	—	—	—
„	5	—	—	—	—	—	—
„	6	—	—	—	—	—	—
„	7	—	—	—	—	—	—
„	8	—	—	—	—	—	—
„	9	—	—	—	—	—	—
„	kora	—	—	—	—	—	—
„	t. p. 1	—	—	—	—	—	—
„	t. p. 2	—	—	—	—	—	—
„	t. p. 3	—	—	—	—	—	—
„	rd. 2	—	—	—	—	—	—
„	rd. 1	—	—	—	—	—	—
„1619"	1	+ + +	+ + +	—	—	—	—
„	2	+ + +	+ + +	—	—	—	—
„	3	+ + +	+ + +	—	—	—	—
„	4	+ + +	+ + +	—	—	—	—
„	5	+ + +	+ + +	—	—	—	—
„	6	+ + +	+ + +	—	—	—	—
„	7	+ + +	+ + +	—	—	—	—
„	8	+ + +	+ + +	—	—	—	—
„	kora	+ + +	+ +	—	—	—	—
„	t. p. 1	+ + +	+ + +	—	—	—	—
„	t. p. 2	+ + +	+ + +	—	—	—	—
„	t. p. 3	+ + +	+ + +	—	—	—	—
„	rd. 2	+ + +	+ +	—	—	—	—
„	rd. 1	+ + +	+ +	—	—	—	—
„Prezydent"	1	+ + +	+ +	—	—	—	—
„	2	+ +	+	—	—	—	—
„	3	+	+	—	—	—	—
„	4	+ +	—	—	—	—	—
„	5	—	—	—	—	—	—
„	6	—	—	—	—	—	—
„	7	—	—	—	—	—	—
„	kora	—	—	—	—	—	—
„	t. p. 1	+ + +	+	—	—	—	—
„	t. p. 2	+ + +	+	—	—	—	—
„	t. p. 3	+ + +	+ + +	—	—	—	—
„	rd. 2	+	+	—	—	—	—
„	rd. 1	—	—	—	—	—	—

W dalszym ciągu badań wyciąg białka z bulwy rodu „1619" był wskaźnikiem optymalnego zakażenia, a wyciąg z bulwy „Bintie" kontrolą dla wyciągów pozbawionych wirusa X. Przy każdej nowej badanej bulwie oba te wyciągi służyły za kontrolę.

Materiał badany.

Materiał ziemniaków, na którym przeprowadziłem badania, pochodził z Pomorskich Stacji Hodowlanych przysyłanych rok rocznie do Stacji Hodowlanej Kraków w latach 1947, 1948, 1949, 1950. Ziemniaki te wyprowadzone zostały drogą krzyżówek z materiału pozostałego z hodowli Radaca. Do badania z całości materiału wybrałem następujące rody, pochodzące: a) ze Stacji Hodowlanej Wyszobórz: „21" krzyżówka odmian Ostbote i Tiger, „50", „53", „54", krzyżówki odmian Peru i Carnea, „76" krzyżówka odmian Ragis X i Pepo, „81" krzyżówka odmian Peru i Tiger, b) ze Stacji Hodowlanej Sławutówko: „385" krzyżówka odmian Edda i Pepo c) ze Stacji Hodowlanej Zamarte „44" krzyżówka odmian Peru i Carnea. Były między nimi sprowadzone w roku 1947 i były w tutejszej uprawie 4 lata, sprowadzone w roku 1948 i uprawiane tutaj 3 lata, sprowadzone w roku 1949, uprawiane 2 lata i wreszcie sprowadzone w roku 1950, uprawiane jeden rok. Rzeczą charakterystyczną jest to, że rody te, które w tamtejszych warunkach nie zdradzały najmniejszych objawów obecności wirusa X, tutaj badane przed pierwszym wysadzeniem, metodą roślin testowych i metodą odchylenia dopełniacza, dawały w moich próbach reakcję na wirusa X. Wyciągi z bulw tych rodów przeszczepione na *Nicotiana Tabacum* odmianę White Burley wykazały rasę łagodną „H" (wg. Salmana 1938). Obserwacje polowe prowadzone przez okres 4 lat nad tymi rodami wykazywały z biegiem lat stopniowy wzrost nasilenia wirusa X prowadzący do gwałtownego spadku plonu, niekiedy do wymarcia.

Z poszczególnych rodów do badania wybierałem bulwy nie wykazujące żadnych oznak chorobowych, o podobnych wymiarach, przyjmując za średni wymiar długości 65 mm, szerokość od 40 mm do 50 mm, których waga wahała się od 45 do 75 gramów. Bulwy te były przechowywane w piwnicy, gdzie temperatura w miesiącu listopadzie 1949 r. wahała się w granicach 8 do 14°C, a w grudniu tego roku od 4 do 8°C. Dnia 1 stycznia 1950 r. materiał umieściłem w chłodni, gdzie temperatura wahała się w granicach 2 do 4°C. Wpływ tego rodzaju przechowania był następujący: żadna z bulw nie rozpoczęła kiełkowania, mimo że ostatnie bulwy badałem w maju 1950 r. czyli w odstępie 6-ciu miesięcy. Spadek wagi bulw między pierwszymi badaniami w miesiącu listopadzie 1949 r. a ostatnimi w maju 1950 r. wahał się w granicach 2,2 do



Ryc. 6. Nasilenie wirusa X w pojedynczych bulwach odmiany „Prezydent", „Bintie" i rodu „1619".

7,9%. Zawartość procentowa wody w tym okresie między pierwszymi a ostatnimi badaniami bulwami spadła przeciętnie o 5,5%.

Poprzednio przedstawionymi metodami zbadałem 81 bulw należących do opisanych rodów. Przykładowo wyniki badania oczek i poszczególnych tkanek bulw ująłem w wykresy zestawione w podany na str. 49 sposób (ryc. 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14). Każdy szereg wykresów ułożonych obok siebie, złożony z trzech względnie z czterech odnosi się do jednego rodu, przy czym nad pierwszym wykresem jest podany numer rodu, a poniżej nad każdym wykresem rok uprawy i rok sprowadzenia bulw z Rejonu Pomorskiego do Stacji Hodowlanej w Krakowie.

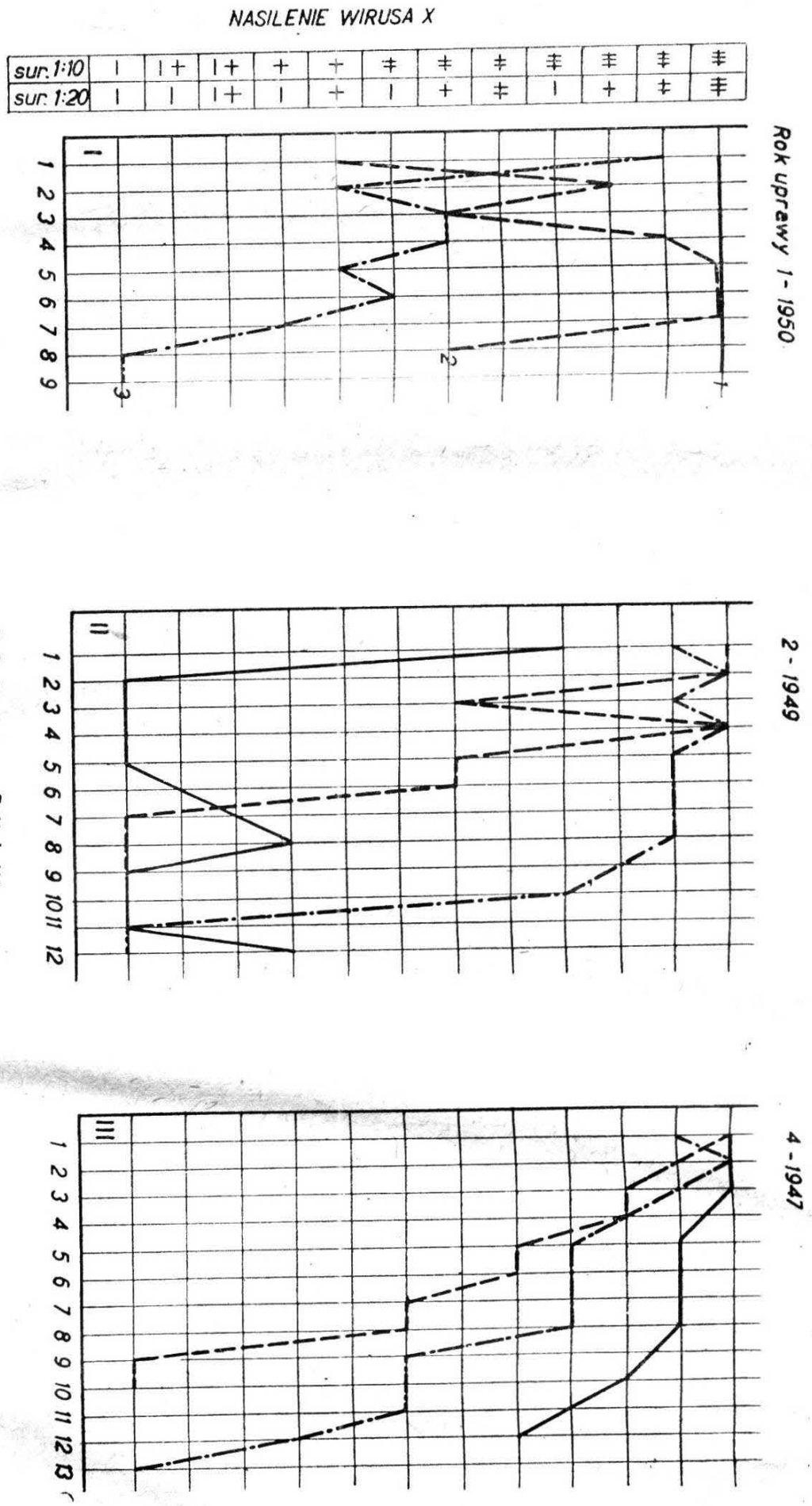
Badania oczek

Analiza opracowanych wyników badania oczek 81 bulw przyjętych za 100 dała w procentach następujące rezultaty. Wypadków odpowiadających bulwie odmianie „Bintie" (ryc. 6) spotykamy 1,3%, bulwie rodu „1619" — 14,9%. Regularny stopniowy spadek nasilenia wirusa X od oczka szczytowego do dolnego, jak to ma miejsce w bulwie odmiany „Prezydent", wyraża się cyfrą 64,0%. Typu nieregularnego, w którym nasilenie wirusa X nie dało się podporządkować pod żaden z podanych na ryc. 6 typów, było 16,5%. Odwrotnie stopniowanie, to znaczy wzrost nasilenia wirusa X od oczka szczytowego do dolnego wykazało 3,7%. Ilość wypadków, gdzie przy wystąpieniu wirusa X w oczkach szczytowych nie stwierdziłem jego obecności w oczkach dolnych, wynosiła 40,7%. Przeglądając wyniki na wykresach (ryc. 7 wykres I i III, ryc. 8 wykres V, ryc. 9 wykres VII), można zauważyć w wielu wypadkach stosunkowo niewiele mniejsze nasilenia wirusa X w oczku 1 a czasem w 2 i 3 od dalszych oczek, 4, 5, 6, wyraźny spadek zaczyna się od 6-go oczka. Z przytoczonego materiału cyfrowego wynika, że oczka szczytowe wykazują większe nasilenie wirusa X, aniżeli oczka dolne.

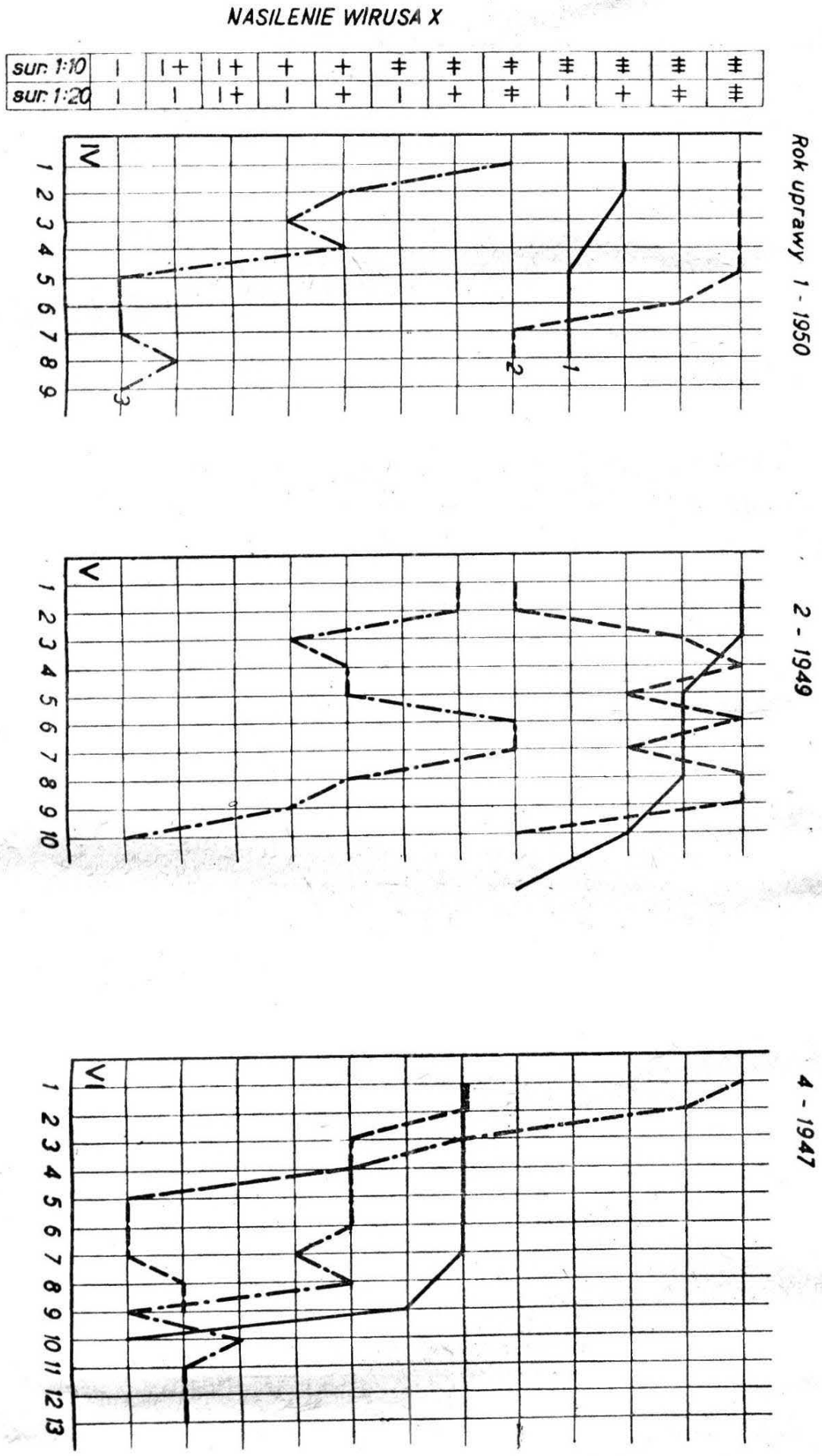
Badania fragmentów tkanek

Na zamieszczonych przykładowo w tekście wykresach (Ryc. 11, 12, 13, 14) przedstawiłem wyniki badań 39 bulw należących do 4 rodów. W ogólnym zestawieniu procentowym wyników przyjmuję 81 bulw za 100. Tkanka przewodząca w bulwie jest miejscem najsilniejszej koncentracji wirusa X. Gdy nasilenie wirusa w tkance przewodzącej zbliża się do maksimum lub już je osiągnęło, wirus X pojawia się w tkankach parenchymatycznych rdzenia i kory.

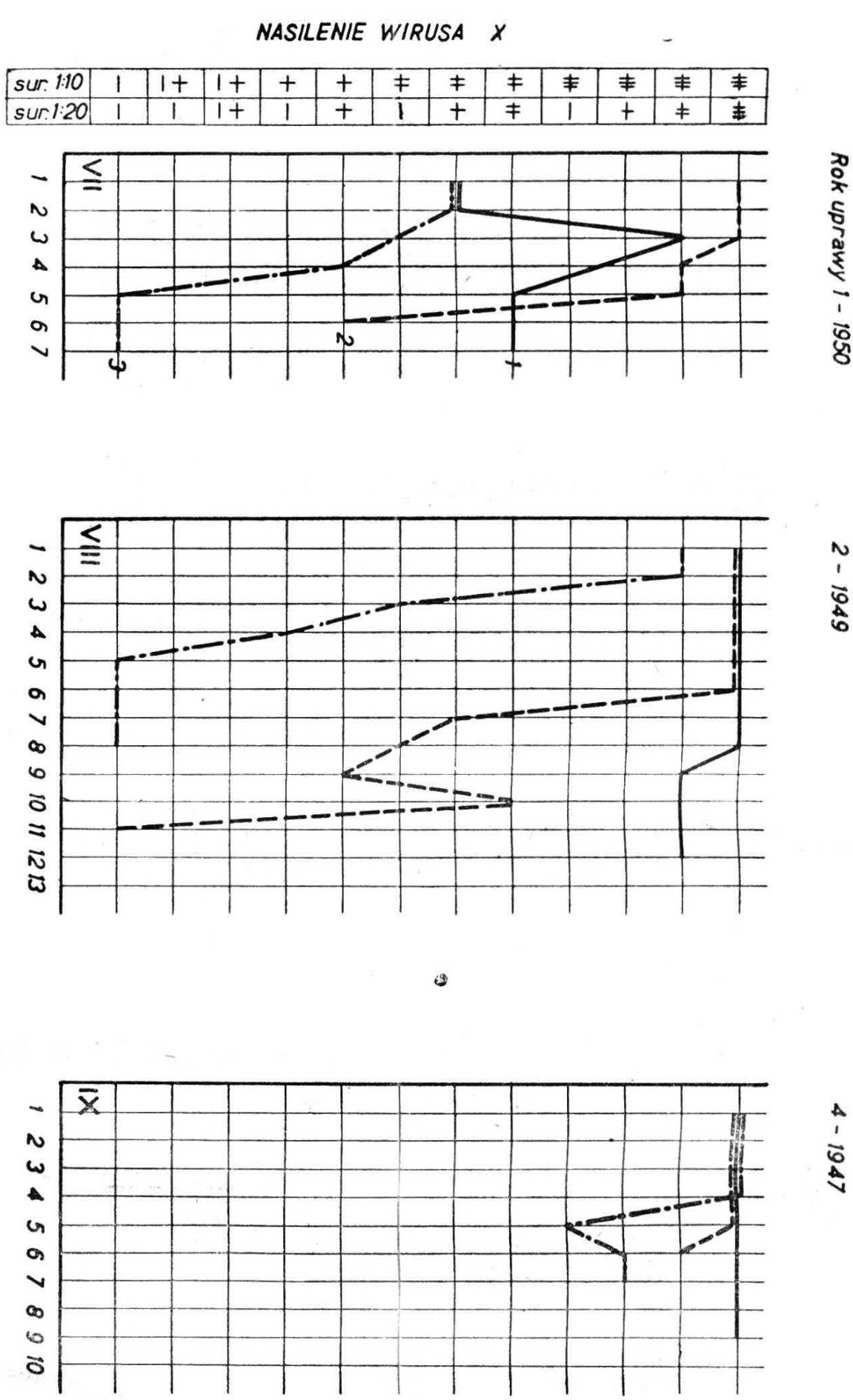
Ilość wypadków, gdzie tkanki bulwy były wolne od wirusa, jak to miało miejsce w bulwie odmiany „Bintie" (ryc. 6) wynosiła 2,5%. Wypadków odpowiadających bulwie odmiany „Prezydent", (ryc. 6), to znaczy takich, gdzie maksymalne nasilenie stwierdziłem w tkance przewodzącej, stopniowo mniejsze w parenchymie rdzenia właściwego, a w pa-



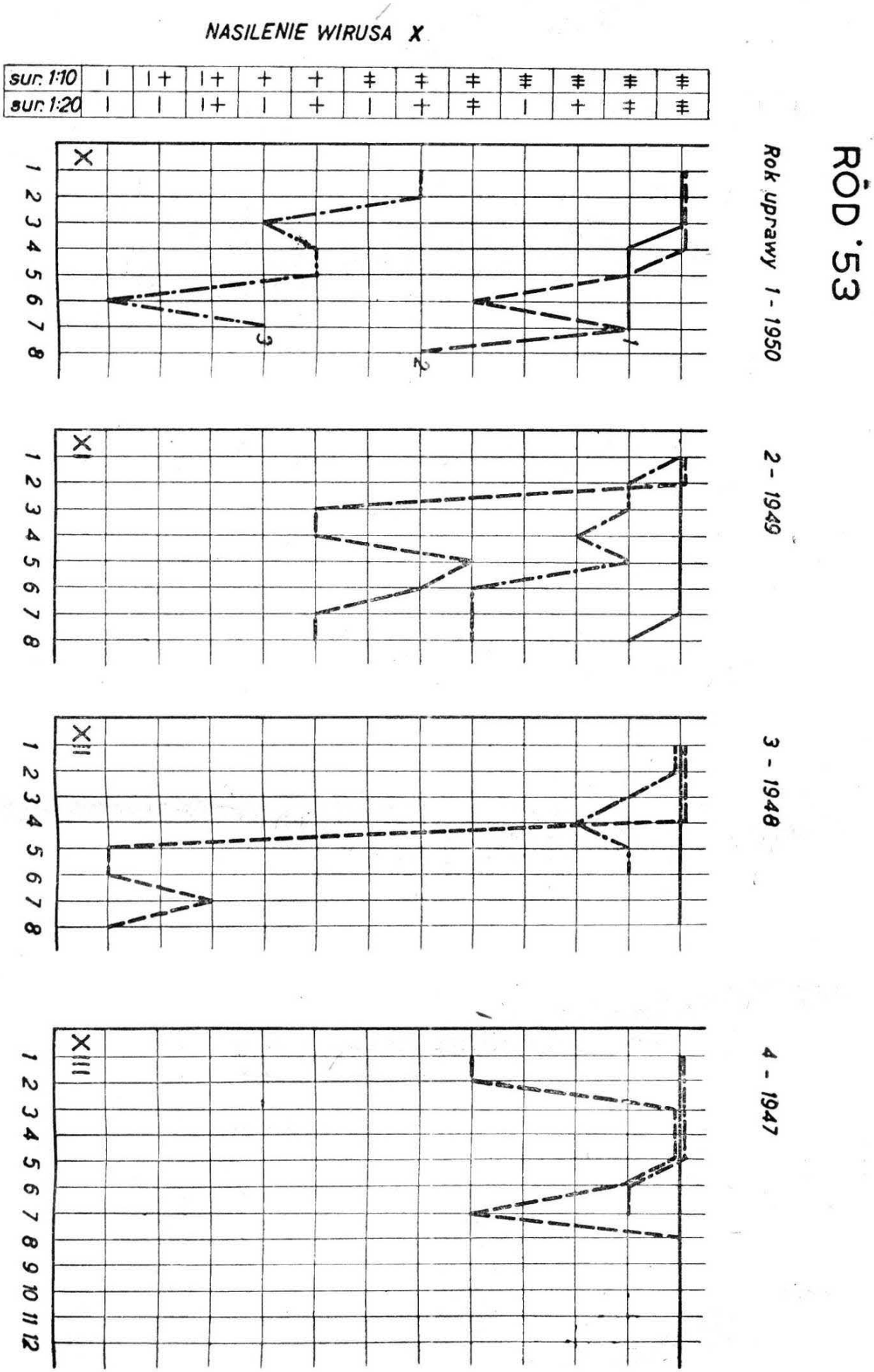
Ryc. 7. Nasilenie wirusa X w oczkach bulw rodu 21.
Linie 1, 2, 3 odpowiadają pojedynczym bulwom wziętym losowo w poszczególnych latach.



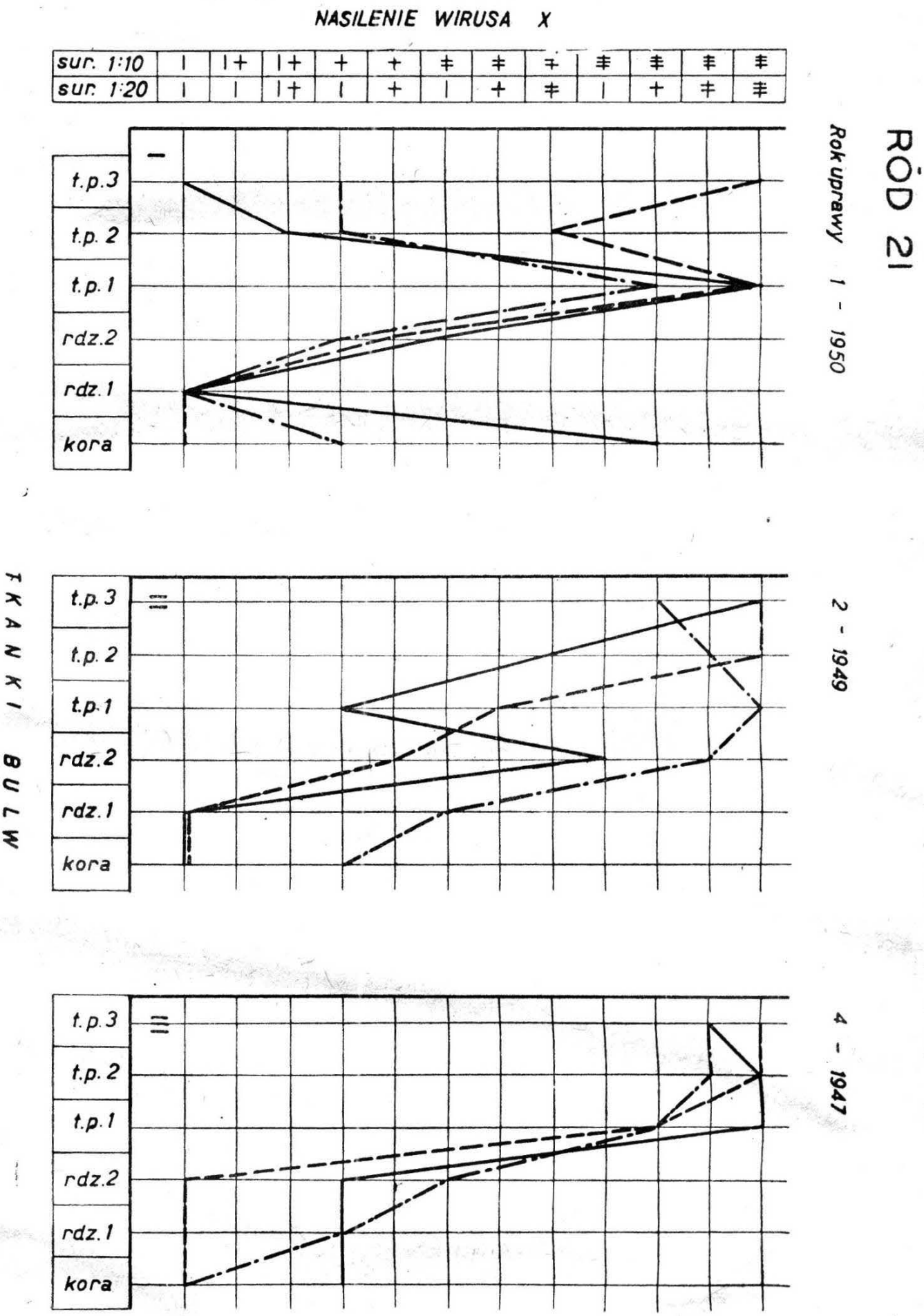
Ryc. 8. Nasilenie wirusa X w oczkach bulw roku 44.
Linie 1, 2, 3 odpowiadają pojedynczym bulwom wziętym losowo w poszczególnych latach.



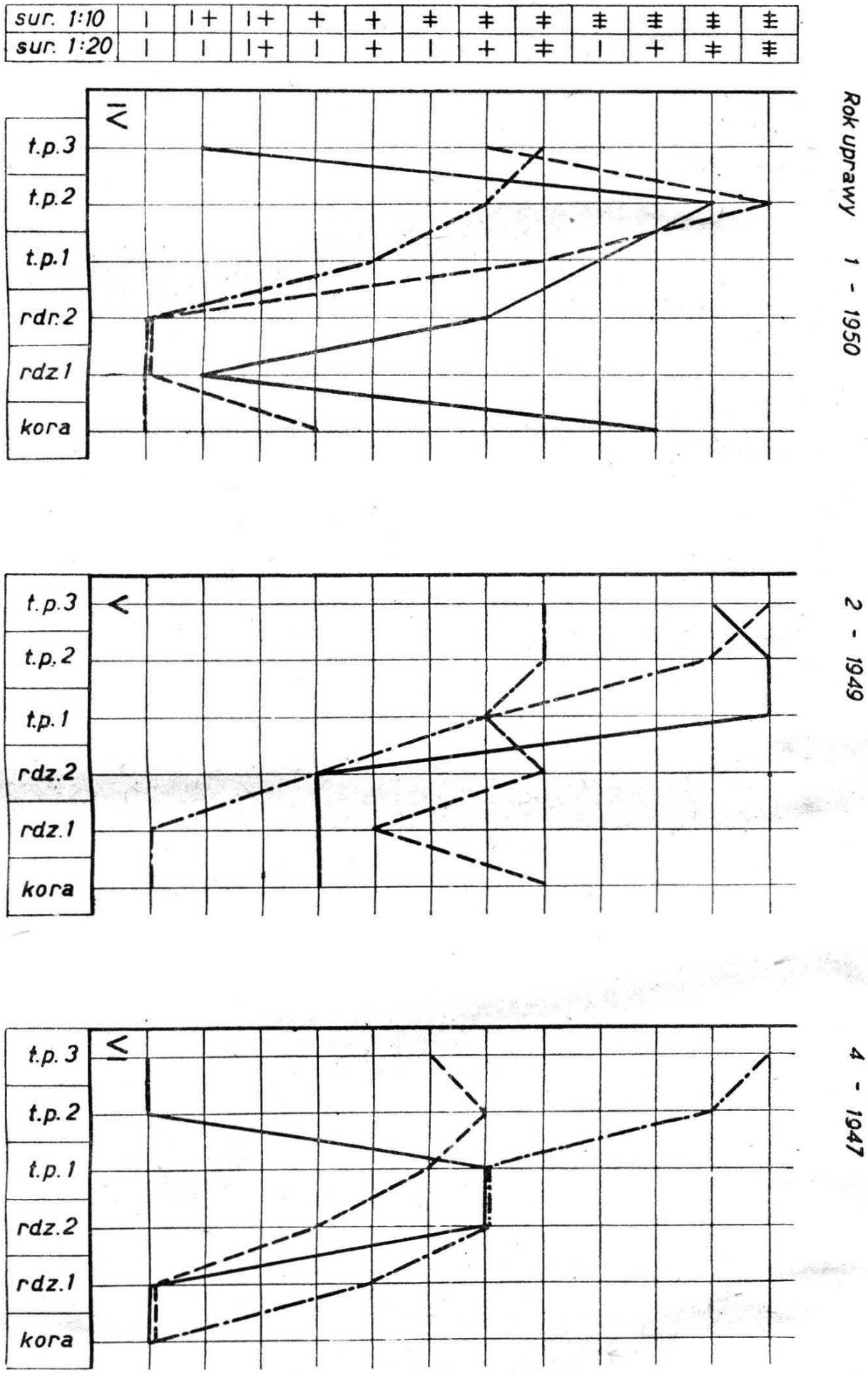
Ryc. 9. Nasilenie wirusa X w oczkach bulw rodu 50.
Linie 1, 2, 3 odpowiadają pojedynczym bulwom wziętym losowo w poszczególnych latach.



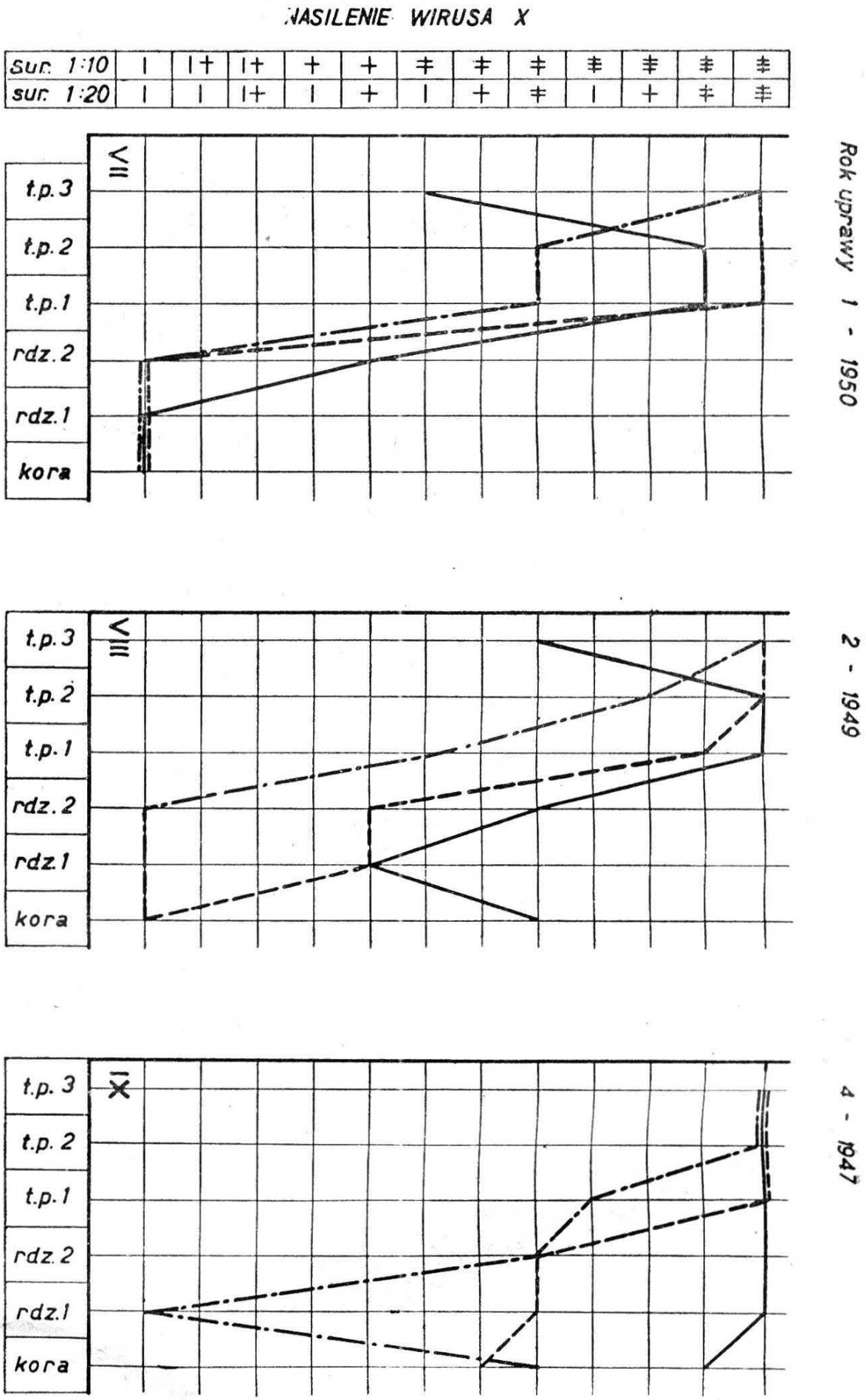
Ryc. 10. Nasilenie wirusa X w oczkach bulw rodu 53.
Linie 1, 2, 3 odpowiadają pojedynczym bulwom wziętym losowo w poszczególnych latach.



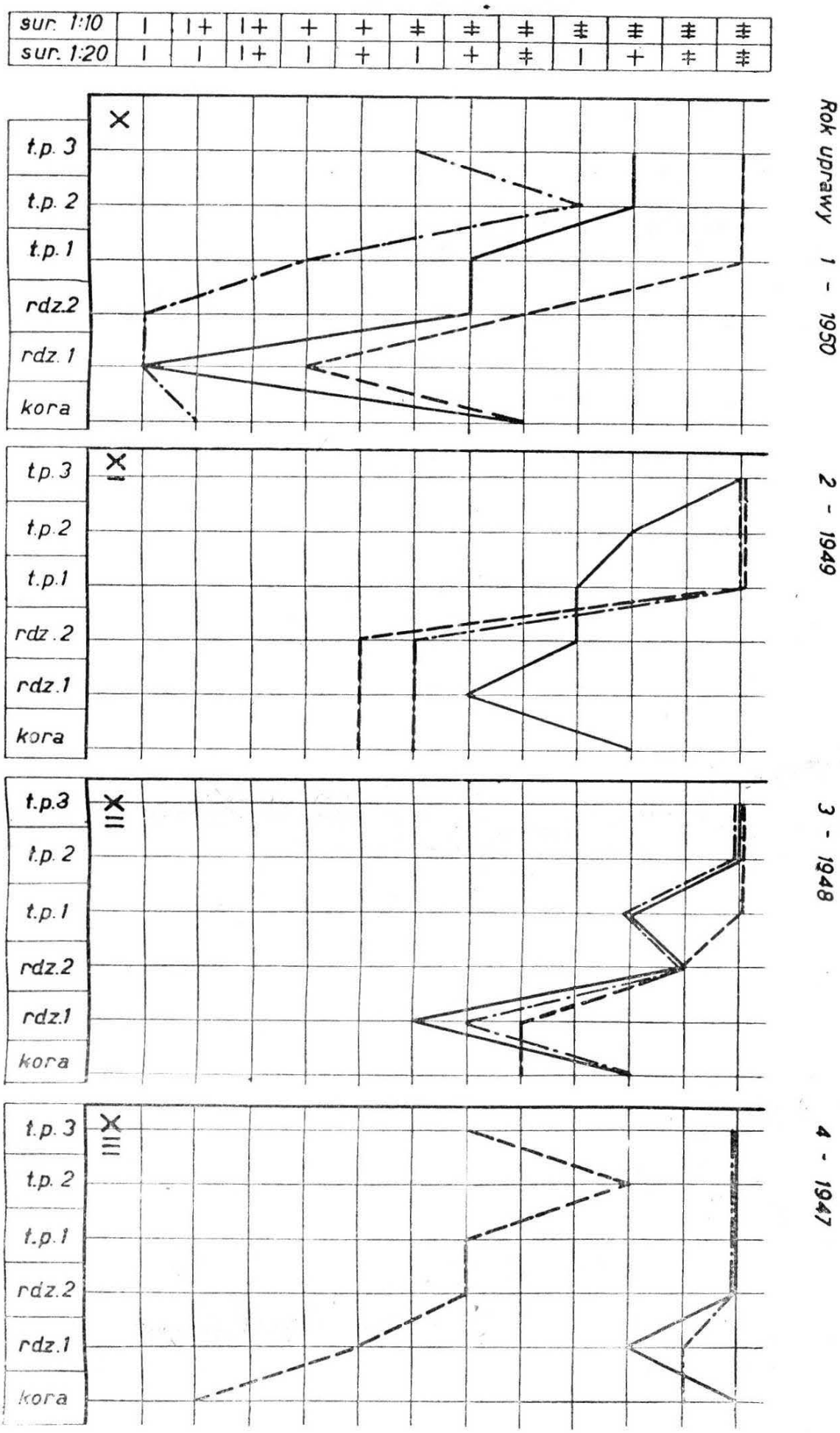
Ryc. 11. Nasilenie wirusa X w tkankach bulw rodu 21, tkanki bulw znakowane według ryc. 5. Trzy linie na wykresie odpowiadają trzem bulwom, wziętym losowo,



Ryc. 12. Nasilenie wirusa X w tkankach bulw rodu 44, tkanki bulw znakowane według ryc. 5. Trzy linie na wykresie odpowiadają trzem bulwom, wziętym losowo.



Ryc. 13. Nasilenie wirusa X w tkankach bulw rodu 53. Tkanki bulw znakowane według ryc. 5. Trzy linie na wykresie odpowiadają trzem bulwom, wziętym losowo.



Ryc. 14. Nasilenie wirusa X w tkankach bulw rodu 53. Tkanki bulw znakowane według ryc. 5. Trzy linie na wykresie odpowiadają trzem bulwom wziętym losowo

renchymie kory i korony rdzeniowej nie było wirusa X wcale, względnie w bardzo małym nasileniu, było 39,2%. Tkanka parenchymatyczna kory wykazywała nieco większe nasilenie wirusa X w porównaniu z tkanką parenchymatyczną korony rdzeniowej i rdzenia właściwego. W niektórych wypadkach nasilenie w komórkach kory było równe parenchymie rdzenia właściwego. Wypadków tego rodzaju było 21,0%. Wypadków, w których parenchyma kory miała większe nasilenie wirusa X od parenchymy korony rdzeniowej a mniejsze od pozostałych tkanek parenchymatycznych, było 9,9%. Nieregularność, to znaczy inny przebieg nasilenia, wykazało 7,4%. Zmniejszanie się wirusa X w tkankach bulw badanych przedstawia załączona tabela XI.

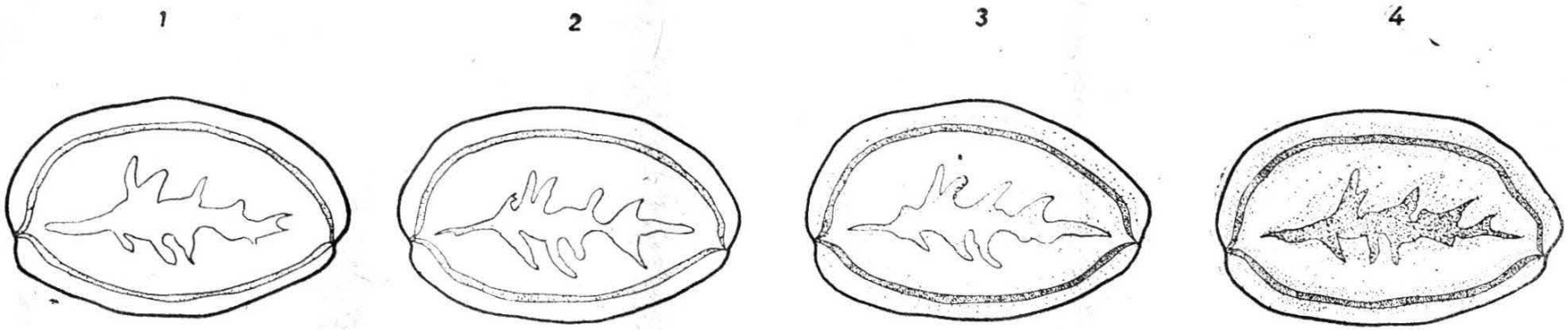
TABELA XI

Bulw badanych	Bulw wolnych od wirusa X	Bulw wykazujących wirusa X w tkankach			
		Tk. przewodz.	rdzenia właściwego	kory	korony rdzeniowej
81	2	79	61	49	36

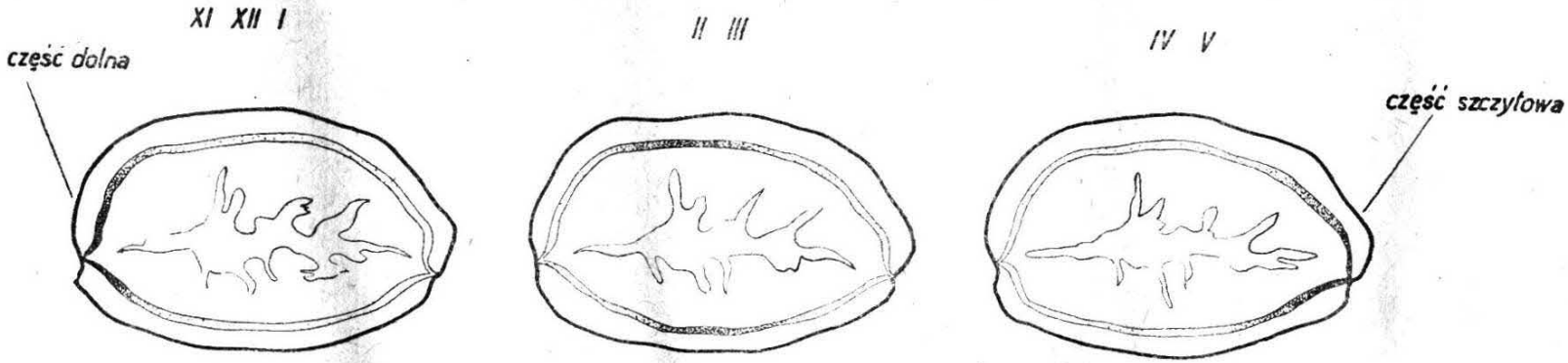
Z przytoczonych cyfr wynika jasno, że punktem głównego nasilenia wirusa X w bulwie jest tkanka przewodząca, następnie parenchyma rdzenia właściwego, dalej parenchyma kory, a najmniejsze nasilenie wykazuje parenchyma korony rdzeniowej. Niżej zamieszczony w tekście rysunek 15, opracowany na podstawie uzyskanych wyników przedstawia schematycznie stopniowe stadia rozmieszczenia wirusa X w bulwie ziemniaka. Nasilenie wirusa przedstawia zagęszczenie kropek. W bulwie w pierwszym stadium opanowanej przez wirusa spotykamy go tylko w tkance przewodzącej. W drugim stadium zakażenia wirus X rozszerza się z tkanki przewodzącej na wąską warstwę kory i korony rdzeniowej oraz na parenchymę rdzenia właściwego. W trzecim stadium występuje najsilniejsza koncentracja wirusa X w tkance przewodzącej i parenchymie rdzenia właściwego, oraz dalsze rozprzestrzenianie się wirusa w parenchymie kory i korony rdzeniowej. W czwartym stadium wszystkie tkanki bulwy wykazują wirusa X w maksymalnym nasileniu, przy czym minimum nasilenia spotykamy w parenchymie korony rdzeniowej.

Tkanka przewodząca w czasie od zbioru, tj. od października do momentu sadzenia, tj. do kwietnia ewentualnie maja, wykazuje jak gdyby przesuwanie się maksymalnego nasilenia wirusa X idąc od miejsca przyczepu bulwy gdzie maksimum przypada na miesiące XI, XII i I, do szczytu bulwy, gdzie maksimum nasilenia przypada na IV i V miesiąc (ryc. 16).

Tego rodzaju zjawisko przesuwania się wirusa X w tkance przewodzącej występowało wyraźnie u bulw o małym nasileniu wirusa. Przy



Ryc. 15. Schemat rozmieszczenia wirusa X w tkankach bulwy ziemniaka w miarę wzrostu jego nasilenia.



Ryc. 16. Schemat przesuwania się wirusa X w tkankach bulwy w czasie przechowania ziemniaków w miesiącach XI, XII, I, II, III, IV, V.

dużej koncentracji wirusa przesuwanie stawało się nieuchwytne. Ilość wypadków, wykazujących harmonijne przejścia punktu głównego nasilenia w tkance przewodzącej z części dolnej do szczytowej, zależnie od miesiąca, w którym wykonano doświadczenie, wynosiła 70,4%, zaś 29,6% wykazywało pod tym względem nieregularne właściwości. Załączona tabela XII obrazuje uzyskany wynik.

Z otrzymanego wyniku można wyciągnąć wniosek, że wirus X, dostający się z końcem okresu wegetacyjnego z łęt (C l i n c h 1944) do bulwy, gromadzi się w pierwszych miesiącach po zbiorze, tj. w listopadzie, grudniu i styczniu w maksymalnym nasileniu w tkance przewodzącej w miejscu przyczepu bulwy. Następnie ten punkt nasilenia przesuwa się powoli w miesiącach lutym i marcu na część tkanki przewodzącej w połowie bulwy, a w miesiącach kwietniu i maju osiąga maksimum nasilenia w części szczytowej tkanki przewodzącej bulwy. Tego rodzaju wniosek zgadza się z osiągniętym wynikiem przedstawionym odnośnie występowania wirusa X w oczkach szczytowych, w których (str. 53) nasilenie jest mniejsze w miesiącach późno jesiennych, a dochodzi do maksimum w miesiąacch wiosennych. Zamieszczony rysunek 16 przedstawia przesuwanie się maksimum nasilenia wirusa X w tkance przewodzącej ziemniaka w czasie od listopada do maja.

Do przedstawionych wyżej wyników należy dodać następujące spostrzeżenia: Wzrost nasilenia wirusa X uwidacznia się wcześniej w oczkach, a później w tkankach bulwy. Przy cofaniu się nasilenia osłabienie wykrywane jest najpierw w tkankach a później w oczkach. W tkankach nasilenie ustępuje wcześniej w parenchymie korony rdzeniowej, korze i rdzeniu właściwym, później w tkance przewodzącej.

Wyniki badań stwierdzają ponadto, że sprowadzone ze Stacji Hodowlanych Pomorskich bulwy, pochodzące z ziemniaków nie wykazujących objawów chorób wirusowych w tamtejszych warunkach, zawierały wirusa X w formie łagodnej, rasa H wg S a l a m a n a. W kolejnych latach uprawy ilość wirusa w bulwach stale wzrasta. Wyniki wykazują, że w naszych warunkach wzrost ten jest stopniowy, a maksimum nasilenia wirusa X przypada w rodach 21, 50, 53, 54, 385 na czwarty rok uprawy. Ród 44 wykazuje punkt maksymalny nasilenia w drugim roku uprawy, w czwartym roku uprawy nasilenie wirusa nieco spada. Podobnie, ale nie tak wyraźnie, zachowuje się pod tym względem ród 76. Ród 81 jest takim, w którym nie można uchwycić stopniowego wzrostu nasilenia, a nawet punktu kulminacyjnego. W wyniku badań nasuwa się wniosek, że sprowadzone bulwy na skutek wybitnej zmiany warunków otoczenia reagują zwiększeniem nasilenia wirusa X w następujących po sobie latach uprawy.

TABELA XII

Bulwy rodu	Badane w miesiącu XI, XII. I						Badane w miesiącu II, III						Badane w miesiącu IX, V					
	tkanka przewodząca																	
	t. p 3		t. p. 2		t. p. 1		t. p. 3		t. p. 2		t. p. 1		t. p. 3		t. p. 2		t. p. 1	
roz. sur.	1:10	1:20	1:10	1:20	1:10	1:20	1:10	1:20	1:10	1:20	1:10	1:20	1:10	1:20	1:10	1:20	1:10	1:20
21	—	—	±	±	+++	+++	++	+	+++	+++	++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+
44	±	—	+++	—	+++	++	++	+	+++	+	++	++	++	++	++	+	+	+
44	—	—	—	—	++	+	++	—	++	+	++	—	++	++	++	++	++	+
50	++	+	++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+	++	—
54	++	+	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	++	++	+
76	+++	++	+++	++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+	+++	++	++	++	++	+
81	—	—	++	++	++	++	—	—	++	++	+	+	++	+	++	+	+	+

Związek między stopniem nasilenia chorób wirusowych a procentową zawartością skrobi w bulwie ziemniaka.

Szkodliwa działalność wirusa X w okresie wegetacyjnym ziemniaka wpływa, jak wiemy na wielkość plonu. W badanych przeze mnie rodach obok wirusa X występowała w wielu wypadkach smugowatość (wirus Y) nie uwzględniona w badaniach. Należało przypuszczać, że oba te schorzenia wirusowe wywołując chlorozę, a następnie wczesne usychanie liści w okresie wegetacyjnym będą wpływały na zmniejszenie jakości plonu, to znaczy procentu skrobi, zasadniczego składnika bulwy.

Dysponując dokładnie zbadanym na obecność wirusa X materiałem postanowiłem tkanki bulw zbadać na zawartość procentową skrobi niezależnie od porażenia smugowatością. Aby mieć porównanie z uzyskanymi przez siebie wynikami podaję przeciętny skład bulwy ziemniaka według Lintnera (ciężar właściwy bulwy 1,06 do 1,16 (Włostowska 1933).

woda		76,0%
	skrobia	17,8%
	cukry, dekstryny	1,0%
substancja	celulozy i pentozany	0,8%
sucha	związków azotowych	2,1%
	tłuszczów	0,2%
	popiołów	1,1%

Głównym zatem składnikiem bulwy poza wodą jest skrobia, a przeciętna jej zawartość w bulwie ziemniaka wynosi 17,8%. Wahania procentowej zawartości skrobi zależą od wielu czynników, między innymi od zdrowotności, wieku, wielkości i sposobu przechowania bulwy. Wpływ tego ostatniego czynnika na wynik doświadczenia starałem się eliminować przez odpowiednie przechowanie bulw. Ponadto, jak to wyżej zaznaczyłem, dobierałem bulwy bez jakichkolwiek oznak chorobowych, o jednakowej wadze i wielkości.

Oznaczenie ilościowe skrobi polega na uprzednim przeprowadzeniu jej w cukry redukujące (d-glukozę), które następnie oznaczamy jedną ze znanych metod, np. metodą Bertranda. Wyjątek stanowi metoda polarymetryczna, wg. której skrobię oznaczamy na zasadzie jej stopnia skręcania światła spolaryzowanego, rozpuszczając substancję w stężonych kwasach na zimno. Hydrolizę skrobi do cukrów prostych w surowcach roślinnych należy prowadzić w taki sposób, aby skrobia została całkowicie przemienioną w cukier, natomiast aby celuloza i o ile możności związki pektynowe, gumy roślinne, nie uległy hydrolizie. Wybór tej czy innej metody zależy od celu do jakiego analizowany materiał skrobiowy jest przeznaczony. W moich badaniach zastosowałem metodę polarymetryczną podaną przez Lintnera (Włostowska 1933).

TABELA XIII.

Bulwa — ród rok sprowadzenia nr. bulwy	Zawartość %-owa skrobi w bulwie		Różnice w %-ach zawartości skrobi
	oznaczona ściśle metodą Lintnera	oznacz. met. Lintnera, gdzie w miejsce soli sod. kw. fosf. wolf. zastąpiono octanem ołowiu i fos. sodu	
81/50/2	19,12	19,05	— 0,07
81/49/2	17,67	17,75	+ 0,08
81/48/2	15,62	15,86	+ 0,24
81/47/2	16,95	16,95	0,00
54/50/2	17,80	17,67	— 0,13
54/49/2	15,59	15,79	+ 0,20
54/48/2	18,10	18,09	— 0,01
54/47/2	15,26	15,32	+ 0,06
53/50/2	13,75	13,90	+ 0,15
53/49/2	14,52	14,10	— 0,42
53/48/2	12,15	12,30	+ 0,15
53/47/2	15,97	15,98	+ 0,01
385/50/2	17,45	17,50	+ 0,05
385/49/2	14,40	14,67	+ 0,27
385/47/2	13,99	13,89	— 0,10
76/50/2	12,42	12,05	— 0,37
76/49/2	15,71	15,81	+ 0,10
76/47/2	12,45	12,40	— 0,05

Metodyka: Po pobraniu wycinków do przygotowania antygenów (str. 45) pozostałe części bulwy ważyłem, a następnie pocięte na cienkie plasterki rozłożyłem na płytki Petri'ego i suszyłem przy 100°C do stałej wagi, oznaczając procent zawartości wody. Materiał ten następnie dokładnie rozcierałem na pyłek w moździerzyku porcelanowym. Oznaczenie skrobi wykonywałem w następujący sposób: 2,5 grama przygotowanej substancji rozcierałem starannie z 10 cm³ wody destylowanej i dodawałem 20 cm³ stężonego kwasu solnego (HCl c. wł. 1,19), po czym bardzo dokładnie mieszałem w parowniczce. Mieszaninę odstawiałem na 30 minut, a następnie zmywałem kwasem solnym (HCl c. wł. 1,125) do 100 cm³ kolby miarowej. Po skłóceniu roztworu w kolbie dodawałem doń 5 cm³ 4-ro procentowego roztworu soli sodowej kwasu fosforo-wolframowego, celem strącenia białek i produktów rozkładu, po czym dopełniałem do 100 cm³ roztworem kwasu solnego (HCl c. wł. 1,125). Po dokładnym skłóceniu zawartość kolby sączyłem przez suchy sączek. Pierwszą porcję przesączu odrzucałem, a następnie napełniałem rurkę polarymetryczną długą 2 dcm i oznaczałem skręcalność w polarymetrze. Roztwory skrobi różnego pochodzenia w kwasie solnym wykazują średnią skręcalność właściwą $(a)\frac{20}{D} = +202$. Wstawiając tę wartość w rów-

nanie $(\alpha)\frac{20}{D} = \frac{\sphericalangle\alpha \cdot 100}{l \cdot c} = 202$ możemy znając l (długość rurki polarymetrycznej w dcm oraz $\sphericalangle\alpha$ odczytane z doświadczenia obliczyć zawartość skrobi w 100 cm³ badanego roztworu $c = \frac{\sphericalangle\alpha \cdot 100}{202 \cdot l}$ następnie przeliczyć w procentach w stosunku do suchej masy. Procentową zawartość skrobi w badanej substancji wyraża prosty wzór:

$\sphericalangle\alpha \cdot 0{,}2475$ (przy $l = 2$ dcm).

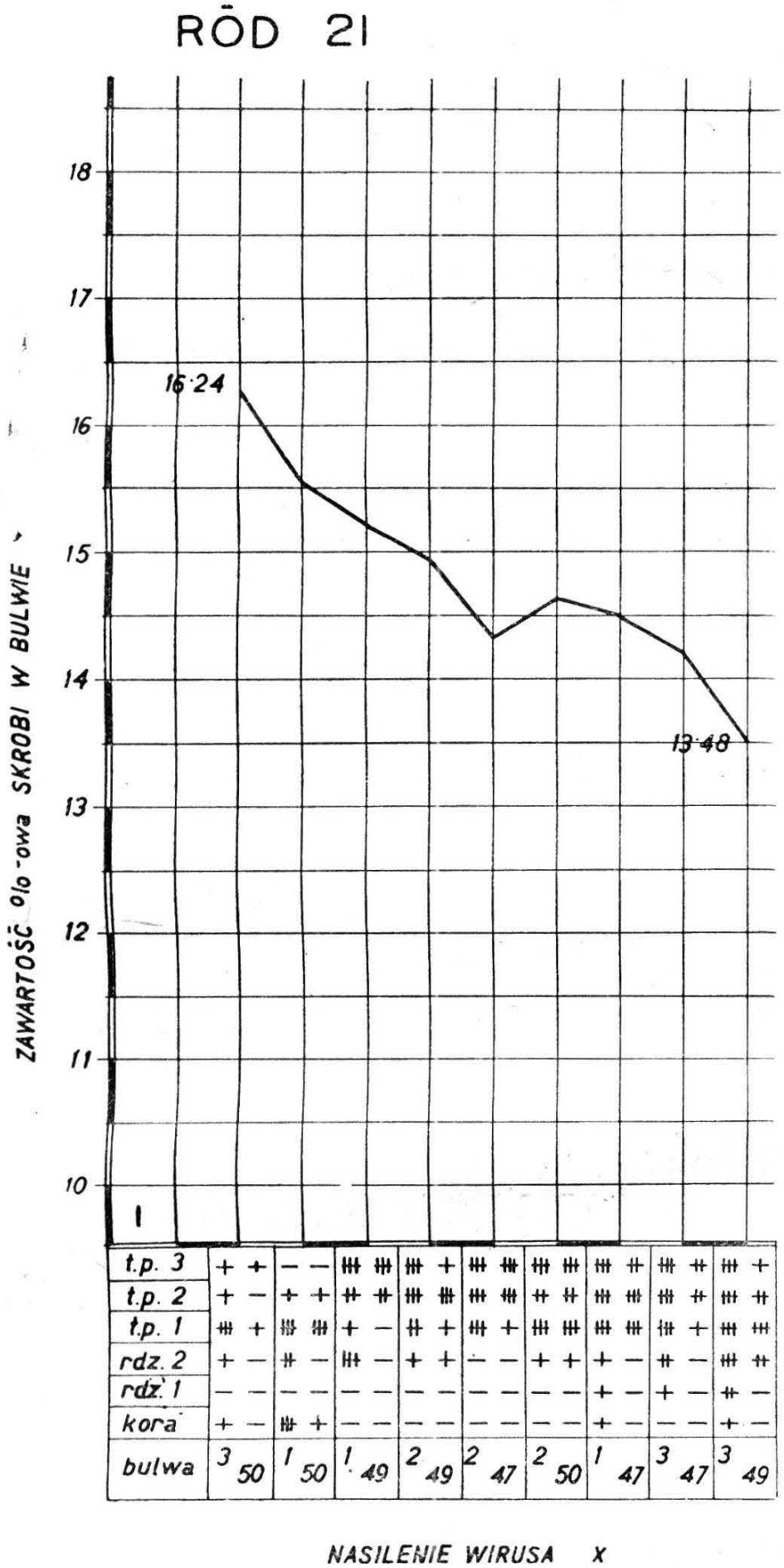
Znając wielkość kąta α w polarymetrze obliczyłem procentową zawartość skrobi w poszczególnych bulwach.

Z powodu braku soli sodowej kwasu fosforowo-wolframowego do wytrącenia białek i produktów rozkładu w szeregu wypadkach używałem 5 cm³ 10%-owego octanu ołowiu. Nadmiar octanu ołowiu strącałem 10%-owym kwaśnym fosforanem sodowym. Załączona tabela nr XIII wykazuje zgodność z oznaczeniami wykonanymi ścisłą metodą Lintnera, a metodą tegoż autora częściowo zmodyfikowaną przez zastąpienie soli sodowej kwasu fosforowo-wolframowego octanem ołowiu.

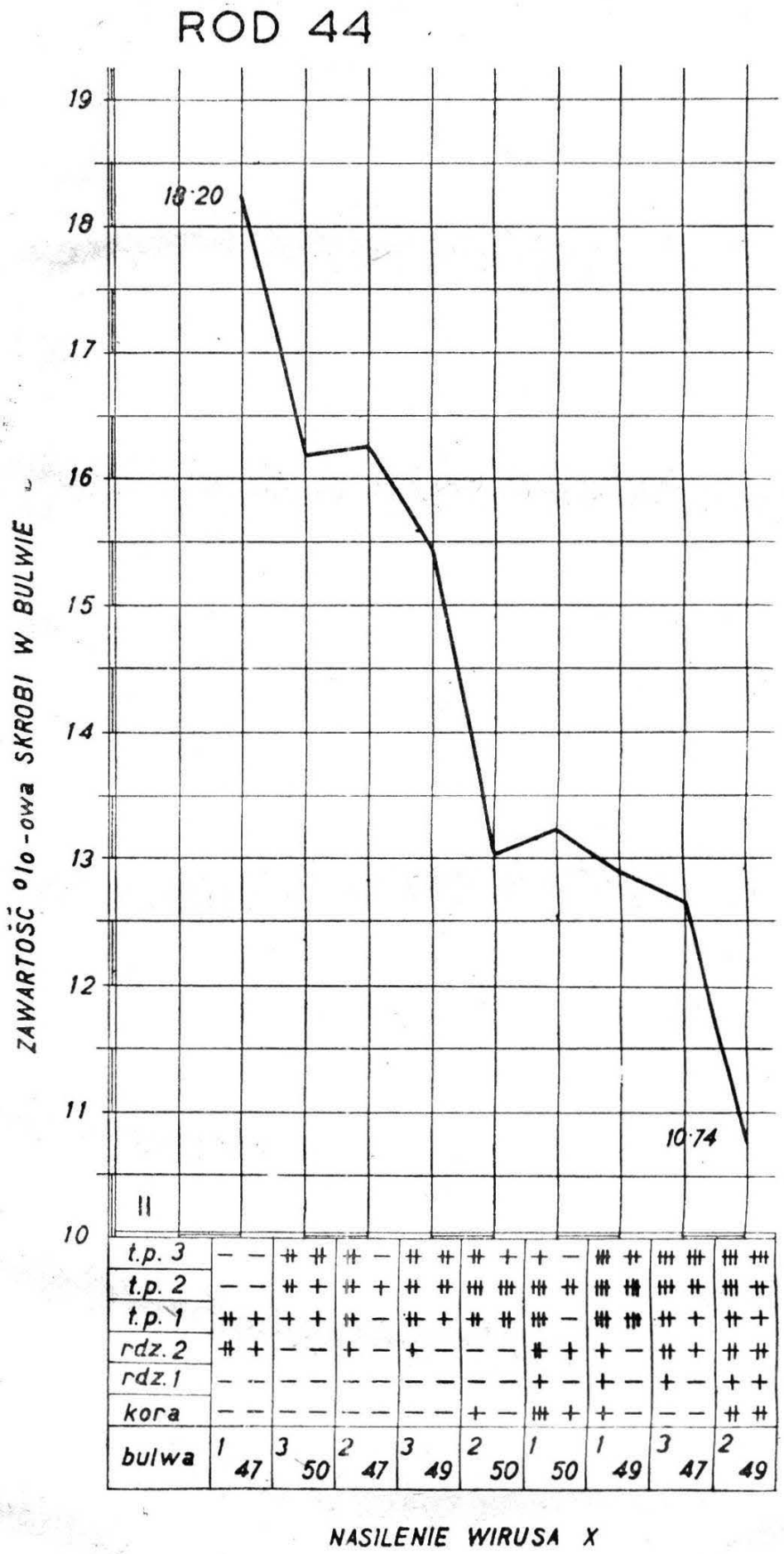
Wyniki oznaczania skrobi w bulwach ująłem graficznie na załączonych w tekście wykresach (Rys. 17, 18, 19, 20). Wykresy te przedstawiają związek między stopniem nasilenia wirusa X, a procentową zawartością skrobi w bulwie ziemniaka. Linie pionowe podają procentową zawartość skrobi w bulwie w granicach od 10 do 19%, przy czym odstęp jednej kratki wynosi 0,5%. Linie poziome przedstawiają nasilenie wirusa X. Aby dokładnie przedstawić nasilenie ułożyłem zbadane bulwy w ten sposób, że idąc od lewej ustaliłem bulwy o najmniejszym nasileniu wirusa X, względnie wolne od niego, a w miarę przejścia ku prawej stronie, bulwy o zwiększającym się nasileniu. W wykresach podaję cał-

TABELA XIV.

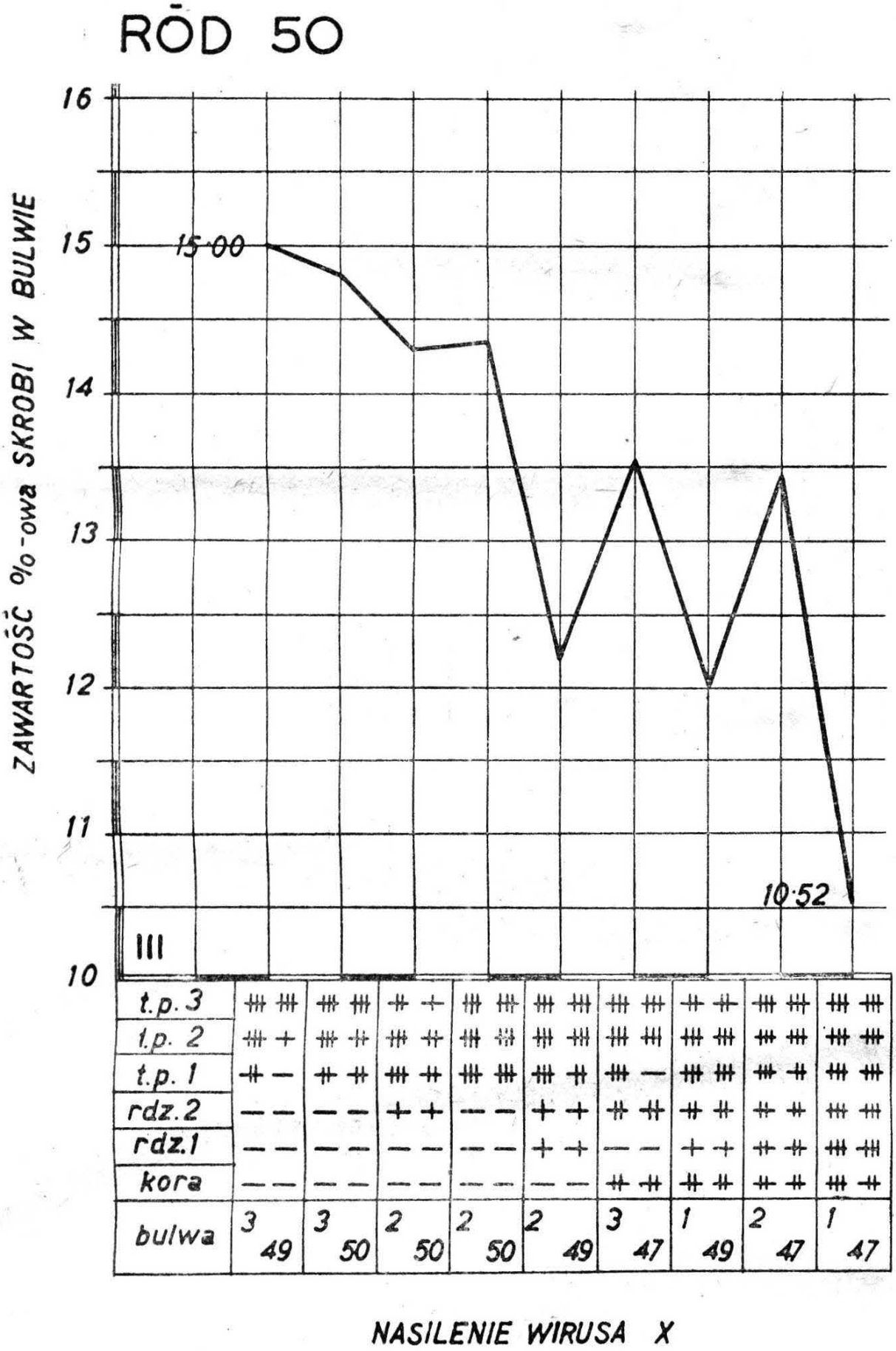
Ród	Procentowa zawartość skrobi w bulwach (średnia z trzech bulw) sprowadzonych w latach			
	1950	1949	1948	1947
21	15,49	14,52	—	14,35
44	14,15	12,36	—	15,70
50	14,49	13,07	—	12,50
53	15,76	15,25	13,28	14,41
54	16,81	17,66	15,44	14,78
76	14,95	13,74	—	13,66
81	16,09	14,39	15,93	14,03
385	17,23	15,93	—	14,30
Średnia z lat	15,62	14,61	14,88	14,21



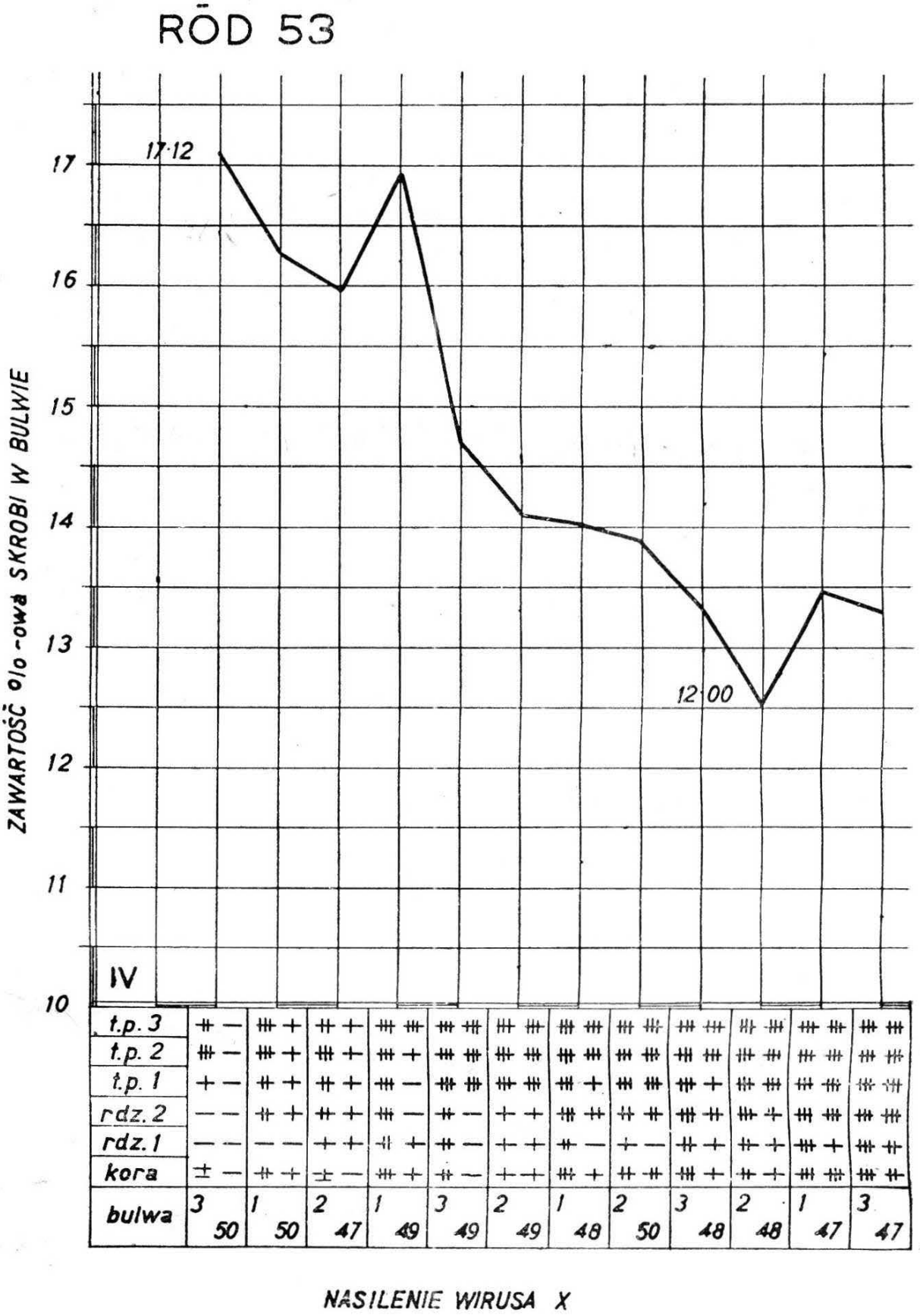
Ryc. 17. Związek między nasileniem wirusa X a procentową zawartością skrobi w bulwach rodu 21.



Ryc. 18. Związek między nasileniem wirusa X a procentową zawartością skrobi w bulwach rodu 44.



Ryc. 19. Związek między nasileniem wirusa X, a procentową zawartością skrobi w bulwach rodu 50.



Ryc. 20. Związek między nasileniem wirusa X, a procentową zawartością skrobi w bulwach rodu 53.

TABELA XV

Ród	bulwa wykazująca najmniejsze nasilenie wirusa X														Bulwa wykazująca maksymalne nasilenie wirusa X													Różnice w %% skrobi
	Nr bulwy rok sprow.	Wynik odchylenia dopełniacza												% skrobi	Nr bulwy rok sprow.	Wynik odchylenia dopełniacza												% skrobi	
		t. p. 3		t. p. 2		t. p. 1		rdz. 2		rdz. 1		kora				t. p. 3		t. p. 2		t. p. 1		rdz. 2		rdz. 1		kora			
21	3/50	+	+	+	—	+++	+	+	—	—	—	+	—	15,54	3/49	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	—	+	—	13,48	2,06
44	1/47	—	—	—	—	++	+	++	+	—	—	—	—	18,20	2/49	+++	+++	++	++	++	+	++	++	+	+	++	++	10,74	7,46
50	3/49	+++	+++	+++	+	++	—	—	—	—	—	—	—	15,00	1/47	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	10,52	4,48
53	3/50	++	—	+++	—	+	—	—	—	—	—	±	—	17,12	2/48	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	12,00	5,12
54	2/49	—	—	++	—	—	—	+	—	—	—	—	—	18,09	3/47	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	14,05	4,04
76	1/50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	18,01	2/50	+++	++	+++	+++	+++	+	++	+	±	—	+	—	12,05	5,96
81	2/50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	19,05	1/49	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	12,24	6,81
385	1/50	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	18,11	3/47	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+	++	++	12,57	5,54

kowity wynik odchylenia dopełniacza poszczególnych wycinków tkanek każdej bulwy. Oznaczyłem wynik dla każdej tkanki dwukrotnie, gdyż stosowałem do każdego antygenu dwa rozcieńczenia surowicy. Pierwszy znak to wynik antygenu z surowicą anti virus X rozcieńczoną 1 : 10, drugi 1 : 20.

Wykresy stwierdzają jasno, że bulwy wolne od wirusa X i o bardzo małym jego nasileniu mają większy procent skrobi niż bulwy o dużym nasileniu wirusa. W miarę wzrostu nasilenia wirusa X opada zatem procentowa zawartość skrobi w bulwach. W bulwach wolnych od wirusa X, względnie o słabym jego nasileniu, procentowa zawartość skrobi dochodzi lub przekracza średnią wynoszącą 17,8 (str. 66). Średnie zawartości skrobi w bulwach poszczególnych rodów także leżą poniżej tej średniej. Zestawienie średnich wartości procentowej zawartości skrobi rodów porażonych wirusem X przedstawia wyżej zamieszczona tabela XIV.

Z tabeli wyciągnąć można następujące wnioski:

1. Wszystkie rody wykazują spadek średnich procentowych zawartości skrobi z latami uprawy. Wyjątek stanowi ród 44 i ród 53, które wykazują w czwartym roku uprawy lekki wzrost.
2. Średnie z lat wszystkich rodów, także wykazują spadek z latami uprawy, który wynosi 1,41%.
3. Porównanie średnich z lat z średnią wynoszącą 17,8% wg Lintnera wykazuje spadek, który wynosi:

u bulw sprowadzonych w	1950 r.	(pierwszy rok uprawy)	2,18
„ „	1949 r.	(drugi „ „	3,19
„ „	1948 r.	(trzeci „ „	2,91
„ „	1947 r.	(czwarty „ „	3,51

Na obniżenie zawartości skrobi w bulwach poza wirusem X niewątpliwie być może w wyższym jeszcze stopniu miała wpływ smugowatość, niemniej zależność jaka wystąpiła między nasileniem wirusa X, a zawartością skrobi w bulwach jest uderzająca. Ilustruje to tabela XV, w której zestawiona jest różnica zawartości skrobi w bulwie wolnej od wirusa X, względnie o najmniejszym jego nasileniu, a bulwą najsilniej porażoną wirusem X z każdego rodu.

VII. Zestawienie wyników

Z przedstawionych w pracy badań można wyciągnąć następujące wnioski:

1. Wirus X pod koniec okresu wegetacyjnego rośliny gromadzi się przede wszystkim w tkance przewodzącej, która jest głównym ośrodkiem rozszerzania się wirusa w bulwie. Rurkami sitkowymi wirus rozprzestrzenia się do oczek.

2. Oczka szczytowe wykazują nieco większą koncentrację wirusa X niż oczka dolne. Przy małym nasileniu wirusa w bulwie, oczka dolne nie wykazują jego obecności.
3. Metodą odchylenia dopełniacza można było uchwycić w bulwie maksimum koncentracji wirusa w tkance przewodzącej. W okresie przechowania bulw maksimum nasilenia wirusa wykazuje przesuwanie się go w tkance przewodzącej z nasadowej części bulwy do szczytowej. W miesiącach wiosennych maksimum nasilenia znajduje się w tkance części szczytowej i w oczkach. Skoncentrowanie wirusa w okresie wiosennym na szczycie bulwy powoduje przypuszczalnie zmniejszenie jego ilości w części nasadowej bulwy.
4. W wypadkach opanowania wirusem X bulwy, stwierdziłem jego obecność we wszystkich tkankach bulwy. Nasilenie wirusa X w poszczególnych tkankach bulwy przedstawiało się następująco: maksymalne nasilenie występuje w tkance przewodzącej, nieco mniejsze w tkance rdzenia właściwego, jeszcze mniejsze w tkance kory pierwotnej, najmniejsze w tkance korony rdzeniowej.
5. Ziemniaki sprowadzone ze Stacyj Hodowlanych Pomorskich do Stacji Hodowlanej Kraków wykazały słabe nasilenie wirusa X. Z latami uprawy w tutejszych warunkach stopniowo wzrasta nasilenie wirusa w bulwach. Wyjątek stanowi ród 44, u którego zmniejsza się nasilenie w 4-tym roku uprawy.
6. Bulwy wolne od wirusa X mają większy procent skrobi aniżeli bulwy nim porażone. W miarę wzrostu nasilenia wirusa X spada zawartość skrobi w bulwach, niezależnie od odmiany.
7. Spadek procentowej zawartości skrobi w bulwach porażonych wirusem X i wirusem Y wynosi przeciętnie 3,5% maksymalnie przekracza 6%.

Praca wykonana w Zakładzie Botaniki im. Janczewskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego pod kierownictwem prof. dr A. Kozłowskiej

SUMMARY

The aim of the work here described was the investigation, by the method of complement fixation, of the distribution of the masked virus X strain in individual fragments of dormant potato tuber depending upon the general infection and its phasic development, and also to indicate the connection between the degree of the tuber infection and its starch content.

1. The potato virus X when entered into the tuber about the end of the vegetative period of the plant concentrates first of all in the conductive tissue which becomes for the virus the main centre of spreading about all the tuber (Figs. 9, 10).
2. The top-eyes of the tuber show a greater concentration of the virus X than those at the base (Figs. 6). In slightly infected tubers the base-eyes do not show any virus at all.
3. Using the complement fixation test method we were able to recognize the maximum concentration of the virus in the conductive tissue of the tuber (Figs. 15).

   During storage, the maximum concentration of the virus in the conductive tissue, tends to move from the base to the top of the tuber. In spring, the eyes and the conductive tissue of the top-part of the tuber show the maximum concentration of the virus. This concentration of the virus in the top-parts of the tuber during spring, acts probably towards diminishing its content in the base parts.
4. In cases when the virus X infected the whole tuber I could also find it in all tissues of the infected tuber. The concentration of the virus X in separate tissues of the tuber was as follows: the greatest amount of virus content is shown by the conductive tissue, a little lesser by the pith, more lesser by the cortex and the smallest amount was found in the external part of the pith.
5. The potatoes imported from Pomeranian plant breeding stations to Cracow showed only a slight concentration of the virus X in the tuber. This concentration increases gradually when the plants are grown under these conditions, during successive years. One exception is here the stock No. 44 by which the virus concentration tends to diminisch in the fourth years of growing.
6. The non-infected tuber shows a much greater starch percentage than theinfected ones (Figs. 17, 18). This tends to diminish when the concentration of the virus increases and is independent from any variety differences.
7. The average reduction of the starch percentage in the virus X and virus Y infected tubers, amounts about 3,5%, and at maximum it amounts beyond 6%.

LITERATURA

1. Arnautow W. W. 1937. Kartofel. s. 23—46. Moskwa.
2. Artschwager E. F. 1924. Studies on the potato tuber s. 809—835. J. Agr. Res.
3. Artschwager E. F. 1926. Anatomy of the vegetative organs of the sugar beet. J. Agr. Res.
4. Bald J. C., 1944. Progress of work with potato, stock free from virus X. Journ. Com. Sci. Industr. Res. Austr. 17, 258.
5. Bawden F. C. 1939. Plant viruses and virus diseases. Leiden Holand.
6. Bawden F. C. 1950. Plant viruses and virus diseases. Waltham, Mass. U. S. A.
7. Bawden F. C. 1935. The relationship between the serological reactions and the infectivity and of potato virus X. Brit. Journ. of Exper. Pathol. 16, s. 435—443.
8. Bawden F. C. i Pirie N. W. 1936. Experiments on the chemical behaviour of potato virus X. Brit. J. Experim. Path. 17, s. 64—74.
9. Bawden F. C., Kassanis B., Roberts F. M. 1948. Studies on the importance and control of potato virus X. Am. Appl. Biol. 35, s. 250 — 265.
10. Bawden F. C., Kleczkowski A. 1948. Variations in the properties of potato virus and their effect on its interactions with ribonuclease and proteolytic enzymes. Journ. Gen. Microbiol. 2. s. 173—185
11. Chester K. S. 1936. Seperation and analysis of virus strains by meas of precipitin test. Phytopatology 26, s. 778—785.
12. Craige J., 1939. Die Antigenfuktionen und die serologischen Reaktion der Virusarten in vitro. Handbuch d. Virusfor. Wien.
13. Clinch, Phylis E. M. 1944. Observations on a severe strains of potato virus X. Sci. Proc. R. Dublin Soc. 23. 273.
14. Doerr R. 1947. Antikörper. Die Immunitätforschung Wien.
15. Doerr R. 1947. Das Komplement. Die Immunitätforschung. Wien.
16. Esmarch F. 1919. Beiträge zur Anatomie der gesunden und Kranken Kartoffelplanze. I. Anatomie der Vegetative Organe. Landwirtschaft, Jahrb. 54, s. 161—266.
17. Garbowski L. 1933. Choroby wirusowe ziemniaków w okresie od 1928 do 1932. Bydgoszcz.
18. Garbowski L. 1938. Choroby wirusowe ziemniaków. Bydgoszcz.
19. Kozłowska A. 1947. The changes caused by ammonium molybdate and virus diseases of plants. Bul. de l'Acad. Pol. B. I. s. 109—165. Kraków.
20. Kozłowska A. 1950. Investigations on the strains of potato virus X in ultraviolet light. Bull. de l'Acad. Pol. B. I. s. 215—232. Kraków.
21. Kozłowska A. 1950. Inwestigation of masked virus X in potatoes complement fixation fest. Bull. l'Acad. Pol. B. I. s. 65—84. Kraków.
22. Lehman R, 1926. Über die Anatomie der Kartoffelknole, unter besonderer Berücksichtingung des Dickenwachstungs und der Zellgrösse. Planta Arch. für Wissenschaft. Bot. 2, s. 85—131.

23. M a t t h e w s R. 1949. Studies on potato virus X. II. Criteria of relationship between strains. Annals Applied. Biol. 36, s. 460—474.
24 M c I n t o s c h T. P. 1944. Potato troubles. Gdnrs. Chron 116. 3 rd. series 87.
25. M e l v i l l e T. C o o k 1947. Viruses and virus diseases of plants. Burgers Publishing Com. U. S. A.
26. Państwowy Zakład Higieny 1937. Odczyny serodiagnostyczne stosowane przez P. Z. H. Warszawa.
27. P f a n k u c h K. i K a u s c h e A. G. 1933. Über Darstellung, Eigenschaften und quatitative Bestimmung von Tabakmosaik — Virus und Kartoffel — X — Virus und ihre physikochemische Diefferenzierung, Biochemische Zeitschrift B. 299, s. 334—345.
28. P r a t T. 1945. Les Grandients Histo-Physiologiques et L'organogenèse végétale. Montréal — Canada s. 96—97.
29. P r z e s m y c k i F. 1947. Zarys bakteriologii praktycznej. s. 269—289. Warszawa.
30. R o b e r t s F. M. 1948. Experiments on the spread potato virus X between plants in contact. Ann. Appl. Biol. 35. s. 266—278.
31 R o l a n d C. 1945. Sur une microméthode sérologique pour l'étude des viroses végétales. Parasitica. T. nr. 3, s. 106—112.
32. S a l a m a n R. W. 1948. The potato virus X its strains and reactions. Phil. Trans. of the Royal Soc. of London Nr. 559 Vol. 229 s. 137—217.
33. S c h a c h t H. 1856. Bericht des Königliche-Oekonomie-Collegium über die Kartoffelpflanze und deren Krankheiten. Berlin.
34. S m i t h K. M. 1937. A textbook of plant virus diseases. London.
35. S p o n e r E. T. G. i B a w d e n F. C. 1935. Experiments on the serological reaction of the potato virus X. Brit. J. Exp. Path. 16 s. 218—230.
36 S t a p p C. i B a r t e l s R. 1950. Der serologische Nachweis des X Virus in Dunkelkeimen der Kartoffelknolle. Der Züchter B. 20 Heft 1/2.
37. S t ö m e r K. i B e r n u t h J. 1940. Neue Geschichtpunkte zum themapflanzen Kartoffelgesundheit. Mittlg. Landwirtsch. 3, s. 248—250.
38. T s c h i r c h A. 1936. Handbuch der Pharmakognosie, s. 242—245. Lipsk.
39 W ł o s t o w s k a W. 1933. Chemia Węglowodanów, s. 498—501. Warszawa.
40. Z a l e w s k i K. 1933. Choroby wirusowe ziemniaków i metody ich zwalczania według wzorów amerykańskich. Poznań.