PRÓBY OCENY ZDROWOTNOŚCI ZIEMNIAKA
NA PODSTAWIE BADANIA BIAŁKA BULW METODAMI:
OPTYCZNĄ I SEROLOGICZNĄ.

OPTICAL AND SEROLOGICAL METHODS OF TESTING
POTATO-VIRUSES IN POTATO TUBERS.

LUDMIŁA HAUSBRANDT.

I. Wstęp.

Praca ta została wykonana w latach 1941 — 1944 na materiale częściowo krajowym, częściowo otrzymanym z zagranicy przed wojną i utrzymanym w hodowli w ogrodzie i szklarni Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Wymagająca laboratorium część jej była przeprowadzona w Państwowym Zakładzie Higieny w Warszawie.

II. Materiał.

Materiał, na którym wykonano próby przedstawiał się następująco:

a) Otrzymane w 1939 roku z Potato Virus Research Institut w Cambrigde oraz z Ameryki i Holandii odmiany:

1. Prezydent z wirusem X (standard przyjęty przez Quanjera),
2. Prezydent z wirusem Y (wirus Y Kenneth Smith'a),
3. Prezydent z kompleksem $Y + X$,
4. Prezydent z kompleksem $A + X$,
5. Prezydent z wirusem A mild mosaic,
6. Prezydent z wirusem A severe mosaic,
7. Prezydent z aucubą,
8. Green Mountain z wirusem Y,
9. Nr. 42898 z wirusem Y,
10. Prezydent — zdrowy,

- 1. Nr. 41956 — zdrowy.
- 2. Arran Victory — zdrowy.

b) Otrzymane jesienią 1940 roku ze stacji doświadczalnej w Moich k. Warszawy niemieckie odmiany:

- 1. Ackersegen ze smugowatością,
- 2. Parnassia z mozaiką,
- 3. Prisca z mozaiką,
- 4. Prisca — zdrowa,
- 5. Golden-Wonder z liściozwojem.

c) Wyprodukowana przez stację doświadczalną Mory odmiana:

- 1. Kmieć — zdrowy.

III. Badania metodą optyczną.

A. Zadania. Jeśli chodzi o pierwszą część pracy to jest o próby wykonane metodą optyczną, to zadaniem jej było stwierdzić o ile badanie podwójnego załamania w prądzie w roztworach białka ekstrakowanego z bulw ziemniaka pozwala teoretycznie rozróżnić ziemniaki zdrowe od zarażonych różnymi wirusami i o ile może to mieć znaczenie praktyczne dla opracowania metody oceny zdrowotności bioru i selekcji sadzeniaków.

B. Teoretyczne podstawy. Teoretyczną podstawą badań była właściwość wykazywania przez oczyszczone preparaty wirusowe zjawiska anizotropii w prądzie.

Zjawisko to polega na tym, że dany płyn polaryzuje światło dopiero wtedy, gdy jest wprowadzony w ruch i tłumaczyć się może między innymi istnieniem w płynie małych wydłużonych cząsteczek. Gdy płyn jest w spoczynku ruchy Browna utrzymują je w przypadkowym ułożeniu. Jeśli natomiast jakaś siła wprowadzi płyn w ruch postępowy, uprządkuje ona jednocześnie te wydłużone cząsteczki równolegle do kierunku prądu i płyn nabierze na czas trwania ruchu własności polaryzowania światła.

Anizotropia w prądzie w preparatach wirusowych znana jest od dawna (zauważona po raz pierwszy w 1933 r. przez Rawlinsa) i opisywana w jednośnej literaturze, przede wszystkim na przykładzie wi-asa mozaiki tytoniowej.

C. Przebieg doświadczeń. Plan przeprowadzenia doświadczeń był następujący: w zimie przebadanie na podwójne załamanie bulw wybranych i obserwowanych krzaków, w lecie hodowla i obserwacje polowe wyrosłych z przebadanych bulw roślin, a następnie porównanie wyników obserwacji polowych i badań laboratoryjnych.

Doświadczenia powtórzono w ciągu trzech sezonów wegetacyjnych i przebieg ich podany jest w porządku chronologicznym.

Wiosną 1941 roku posadzono na zagonach 6 — 10 bulw każdej z wymienionych w wykazie materiału odmian w różnych miejscach ogrodu, aby w miarę możliwości zapobiec wzajemnemu przenoszeniu się chorób.

1. *Obserwacje hodowlane 1941 r.* Obserwacje polowe wykazały co następuje:

1. Prezydent X — pozornie zdrowy, nie wykazujący przez cały okres wegetacji żadnych objawów wirusa, tylko wcześniej usychający. Przeszczepienie soku z okazów tego ziemniaka na zdrowy wyhodowany w szklarni pieprz turecki, powodowało wystąpienie na tym ostatnim mozaiki.
2. Prezydent Y — bulwy wzięto do badania spod krzaka, wykazującego mozaikę i plamy nekrotyczne wzdłuż głównych nerwów liści. Krzak usechl w połowie lata, plon silnie zmniejszony.
3. Prezydent X + Y — liście pomarszczone i mozaikowatość na niektórych krzakach silnie występująca.
4. Prezydent A + X krzaki lekko mozaikowate bez silniejszych objawów choroby.
5. Prezydent A (mild mosaic) — bardzo lekka, znikająca często w połowie zaiłowate, wcześniej usychające, plon znacznie zmniejszony.
7. Prezydent aucuba — na pozornie zdrowych krzakach pojawiają się nalata mozaika. Czasem mozaika wcale nie występuje, krzaki pozostają zielone do późnej jesieni. Plon normalny.
6. Prezydent A (severe mosaic) — krzaki karłowate, liście pomarszczone, mogły żółte, ostro odgraniczone plamy. Plon prawie nie zmniejszony.
8. Green Mountain Y — objawy smugowatości, opadanie dolnych liści, tworzenie charakterystycznej formy pióropusza. Przedwczesne obumieranie krzaków.
9. Nr. 42898 Y — opadanie dolnych liści i wczesne obumieranie krzaków.
10. Prezydent zdrowy — żadnych objawów chorobowych.
11. Nr. 41956 zdrowy — żadnych objawów chorobowych.
12. Arran Victory zdrowy — żadnych objawów chorobowych.

zbiegających z czasem wzdłuż nerwów i po łodydze w dół. Dolne liście obumierają i opadają. Dość wcześniej występuje forma pióropusza, liście górne silnie pomarszczone, zwyrodniałe. Plon słaby.

14. Parnassia mozaika — lekka mozaika, krzaki normalnej wielkości, plon niewiele zmniejszony, krzaki zielone do jesieni.
15. Prisca smugowatość — (i może kędzierzawka?) — liście pomarszczone, krzaki wątłe, wczesne opadanie dolnych liści, bulwy bardzo drobne.
16. Prisca zdrowa — lekka mozaika znikająca w połowie lata.
17. Golden-Wonder liściowój — łyżeczkowate zwijanie się liści.
18. Kmieć zdrowy — żadnych objawów chorobowych przez cały okres wegetacji. Plon normalny.

Jesienią ziemniaki wykopano, przechowując oddzielnie plon z każdego krzaka.

2. *Przygotowanie białek.* W ciągu zimy przeprowadzono pierwsze badania ekstraktów białkowych. Wybrane bulwy przepołowiono, zostawiając jedną z połówek do posadzenia na rok następny. Druga połówka została użyta do ekstrakcji białka. Przeprowadzano ją metodą Stanleya, podawaną dla mozaiki tytoniowej, oczywiście z pewnymi zmianami.

Bulwę rozcierano na szklanej tarce, zalewając 2% roztworem chlorku sodu w objętości równej około połowy objętości papki, po czym odwirowywano przy szybkości 3000 obrotów na minutę w ciągu 15 minut. Mętny płyn z wierzchu zlewano, wytloki przemywano raz jeszcze 2% chlorkiem sodu i ponownie wirowano. Zlany płyn wykazujący wielką zawartość białka strącano siarczanem amonu do połowy jego nasycenia, to jest w proporcji 37 gramów na 100 cm³ płynu, zakwaszając jednocześnie do pH 4,5 jedno dziesięcio normalnym kwasem solnym. Po odwirowaniu osadu, rozpuszczano go w wodzie destylowanej, dolewając jej w ilości równej około 1/10 całego płynu, dodając kilka kropel rozcieńczonej zasady sodowej, aby utrzymać pH około 7. Płyn ten wirowano do przezroczystości, po czym powtarzano strącanie siarczanem amonu przy pH 4,5, tym razem w 1/4 nasycenia (tj. 18,5 gr. siarczanu amonu na 100 cm³ płynu).

Takie kolejne strącania i rozpuszczania osadu powtarzano kilka razy (przeważnie 3 do 5-ciu razy), przy czym płyn stawał się coraz jaśniejszy.

Po każdym strąceniu badano czy dany płyn wykazuje podwójne załamanie w prądzie, czy nie.

3. *Technika próby podwójnego załamania.* Próbę podwójnego załamania wykonywano następująco: Do szklanej waniенki o płaskim dnie wlewano około 5 cm³ oczyszczonego roztworu białka, tak że waniенka napełniona była mniej więcej do połowy i stawiano ją na stole mikroskopu, na okular którego zakładano nicole. Nicole krzyżowano, tak aby pole widzenia pozostawało zaciemnione. Do płynu wprowadzano rurkę szklaną wyciągniętą w płomieniu i zgiętą pod kątem rozwartym z jednej strony, a zaopatrzoną w gumową pompkę z drutem. Za pomocą tej pompki puszczano strumień płynu w naczynku, obserwując jednocześnie przez nicole. Gdyby do doświadczenia użyty został roztwór białka ekstrahowanego z rośliny zarażonej jakimś wirusem, to prąd płynu powinien w myśl teoretycznych założeń rozjaśniać pole widzenia w wypadku zaś ekstraktu z rośliny zdrowej pole widzenia powinno pozostawać ciemne.

4. *Opracowanie skali oceny podwójnego załamania.* Ponieważ już pierwsze próby wykazały, że rozjaśnienie pola może występować w różnym nasileniu przygotowawczym zadaniem było ustalenie skali według której możnaby oceniać stopień anizotropii poszczególnych roztworów białek. Za materiał do opracowania tej skali posłużyły ekstrakty białek z liści tytoniowych, zarażonych mozaiką tytoniową, oraz z liści pieprzu tureckiego, zarażonego wirusem X przeniesionym z ziemniaka Prezydent X (Nr. 1 w spisie materiału).

Ostatecznie za wzorcowe przyjęto 5 stopni nasilenia zjawiska anizotropii, odpowiadające różnym rozcieńczeniom roztworów białka tytoniu z mozaiką tytoniową, jak następuje:

Stopień pierwszy, odpowiadający nie rozcieńczonemu ekstraktowi mozaiki tytoniowej, oznaczany trzema plusami i dający wyraźną, ostrą, świetlistą smugę, znaczącą przepływający strumień płynu.

Stopień drugi, odpowiadający mniej więcej 25% roztworowi tegoż ekstraktu, oznaczany dwoma plusami, dający smugę mało ostrą z przebłyskami.

Stopień trzeci, odpowiadający mniej więcej 5% roztworowi tejże mozaiki oznaczany jednym plusem, dający rozjaśnienie pola, czasem z nieostrą smugą.

Stopień czwarty, odpowiadający mniej więcej 1% roztworowi, oznaczany plusem i minusem, dający niewyraźne rozjaśnienie pola.

Stopień piąty oznaczany minusem, odpowiadający użyciu do próby wody destylowanej przy czym pole widzenia, pozostaje ciemne.

5. *Wyniki badania w 1941/42 r.* W powyższy sposób i kwalifikując według podanej skali, przebadano przynajmniej po 5 połówek bulw wszystkich odmian, przygotowując materiał do posadzenia na rok następny.

Załączona jedna z tabel (Tab. I), podaje wyniki po trójkrotnym strąceniu.

Z tablicy tej widać, że odmiany chore wykazały na ogół podwójne załamanie w prądzie w mniejszym, lub większym stopniu, przynajmniej w wypadku 1 bulwy, chociaż były także wyniki wątpliwe, a nawet wyraźnie ujemne. W wypadku dodatniego wyniku często przy dalszym czyszczeniu białka następowało zmniejszenie stopnia nasilenia anizotropii zamiast oczekiwanego zwiększenia, co zdaje się być spowodowane brakiem w początku pracy odpowiedniej wprawy w czyszczeniu białka, wskutek czego przy wielokrotnych strąceniach i wirowaniach białko po prostu ginęło zwłaszcza, że operowano małymi jego ilościami ($\frac{1}{2}$ bulwy).

Tablica I. 1941/42.

[illegible]

Tablica II c, d. (2)

Tablica II. c. d. (4)

Największe nasilenie anizotropii zdawały się wykazywać odmiany zawierające wirus X.

Jeśli chodzi o odmiany przyjęte za zdrowe, to z pięciu, ich trzy wykazały wynik zdecydowanie ujemny, dwie zaś to jest: Prisca (Nr 15 w spisie) i Prezydent (Nr 10 w spisie), wątpliwy.

Letnia obserwacja 1942 roku wykazała w porównaniu z obserwacją poprzedniego roku następujące zmiany:

1. Prezydent (Nr. 10 w spisie) krzaki były słabsze i plon znacznie zmniejszony, mozaika nie wystąpiła.
2. Prisca (Nr. 16 w spisie) wykazała lekką, lecz wyraźną, mozaikę znikającą w połowie lata.
3. Golden-Wonder (Nr. 17 w spisie) krzaki miały liście jasne, kruche i skórzaste, w połowie lata uschły, nie dając plonu.

6. *Badania 1942/43 r.* Jesienią 1942 roku wykopano plon, wyrażnie zredukowany w kilku wypadkach (Prezydent A — Nr. 6 w spisie, Ackersegen — Nr 13 w spisie, Prisca — Nr 15 w spisie) w innych normalny lub nieznacznie zredukowany.

Badanie podwójnego załamania powtórzono na dowolnie wybranych pięciu bulwach z pod każdego krzaka wszystkich odmian. Wyniki przedstawia tabela II.

Jak widać z załączonej tabeli (Tab. II) zdrowe ziemniaki: Kmieć (Nr 18 w spisie), Arran Victory (Nr 12 w spisie), i Nr 41956 (Nr 11 w spisie) dawały niewątpliwie ujemny wynik. Dwa zaś w pierwszym badaniu wątpliwe, to jest: Prisca (Nr 15 w spisie) i Prezydent Nr 16 w spisie) dawały w powtórным badaniu znacznie silniejszy stopień anizotropii, czego należało się spodziewać po obserwacjach polowych. Odmiany te albo nie były w ogóle zdrowe przy rozpoczęciu badań, albo uległy zarażeniu (prawdopodobnie mozaiką) w czasie doświadczeń.

W roku 1943 wysadzono materiał jeszcze raz zwracając szczególnie uwagę na wypadki, w których wyniki badania optycznego były mieszane lub niewyraźne i wybierając wówczas do posadzenia bulwy, dające najbardziej skrajne wyniki, w kierunku dodatnim i ujemnym.

Opisów obserwacji polowych i tabel wyników badania podwójnego załamania, które raz jeszcze było powtórzone brak. Nie wniosły one zasadniczo nic nowego. Objawy chorobowe w polu niektórych wypadkach, jak Prezydent A (Nr 6 w spisie), Ackersegen (Nr 13 w spisie), Prisca (Nr 15 w spisie) znacznie wzmożyły się, powodując nawet w drugim z wymienionych wypadków przedwczesne uschnięcie krzaków i niewytworzenie plonu. Równolegle z tym zaznaczało się wzmożenie nasilenia stopnia anizotropii w prądzie.

Co do różnic pomiędzy poszczególnymi liniami wirusowymi wydaje się jakgdyby kompleksy z wirusem X, wykazywały to zjawisko najsilniej.

Stopień nasilenia podwójnego załamania u wirusa smugowatości zależy bardzo od staranności oczyszczenia białka.

Jednakże nawet w wypadkach zupełnie wyraźnych i daleko posuniętych objawów chorobowych, niektóre bulwy dawały wyniki niewyraźne. Zdrowe odmiany natomiast w dalszym ciągu nie wykazywały w żadnym wypadku podwójnego załamania.

D. *Wnioski.* Reasumując wyniki można powiedzieć, że tylko dodatnia próba podwójnego załamania jest niewątpliwie pewna, to znaczy stanowi dowód obecności wirusa w danej bulwie. Wynik ujemny natomiast nie daje 100% pewności, czy dana bulwa da zdrową czy chorą roślinę. Wyjaśnienie, czy niepewność wyniku ujemnego spowodowana jest jakimiś wadami w technice doświadczeń, czy świadczy o tym, że w bulwie wirusa jeszcze istotnie nie ma, choć roślina była zarażona, czy też stanowi specjalną właściwość niektórych wirusów wymagałoby dalszego badania.

Tyle, jeśli chodzi o badanie poszczególnych wybranych bulw. Jeśli zaś chodzi o ocenę zdrowotności zbiorów możnaby oczywiście, biorąc dowolne próbki po 100 bulw obliczać za pomocą tej metody, jaki jest w przybliżeniu procent pewnie zarażonych bulw, ustalwszy umownie jakieś stopnie zdrowotności czy zarażenia.

Możnaby także korzystać w pewnej mierze z próby podwójnego załamania przy produkcji selekcionowanych sadzeniaków. Może w kombinacji z innymi stosowanymi metodami dałaby jakieś korzystne subtelnosci w ocenie. Czy jednak opłaciłyby one jej kłopotliwość i pracowitość, budzi wątpliwości.

IV. Badania metodą serologiczną.

Druga część pracy, to jest badanie metodą serologiczną, która nie wyszła właściwie poza swoje stadium przygotowawcze, miała na celu, poza zadaniami wspólnymi z metodą optyczną, stwierdzenie, czy na tej drodze nie dałoby się wypracować metody identyfikowania różnych linii wirusowych.

Metoda ta, opierała się na mającej szerokie zastosowanie w serologii reakcji wiązania dopełniacza. Reakcja wiązania dopełniacza wykazuje związek między antygenem, a przeciwciałem, wytworzonym we krwi szczepionego królika pośrednio, mianowicie przez powstrzymanie reakcji rozpuszczania ciałek krwi barana przez surowicę królika,

uodpornionego krwią barana w obecności standaryzowanego komplementu. Ponieważ komplement wiąże się przy tej reakcji w mniejszym lub większym stopniu zależnie od stopnia reakcji między antygenem i przeciwciałem, można odwrotnie też przez obserwację czy jest jeszcze dość wolnego komplementu, któryby pozwalał na rozpuszczenie krwinek wnioskować o stopniu łączenia się antygeny i przeciwciała. Jeśli więc nie ma w użytej surowicy przeciwciała odpowiedniego do danego antygeny, reakcja łączenia się nie zachodzi, komplement nie zostaje zużyty i hemoliza przebiega całkowicie. Odwrotnie przy użyciu odpowiadających sobie antygeny i przeciwciała łączenie ich jest całkowite, związanie komplementu zachodzi całkowicie i proces hemolizy jest zahamowany.

Reakcję tę przeprowadza się w dwóch fazach: 1) antygen i przeciwciała miesza się i dodaje się komplement, umieszczając na godzinę w łaźni wodnej przy 37° C. 2) dodaje się krwinki baranie i normalną surowicę wassermanowską i trzyma się 15 minut w łaźni przy temperaturze 37° C. Następnie odczytuje się wyniki.

Do badań tych użyto jako antygenów, ekstraktów białek z ziemniaków wymienionych w spisie. Surowicę przygotowano, zastosowawszy serię dożylnych szczepień królików białkiem z bulw zdrowego Kmiecica, Prezydenta X + Y i białkiem z liści pieprzu tureckiego, wyhodowanego w szklarni i zakażonego wirusem X, przez pocieranie świeżym sokiem z liści ziemniaka Prezydent X (Nr 1 w spisie).

Wykonano ogółem kilkanaście prób. Wyników szczegółowych i tabel brak. Ogólnie obserwacje wykazywały co następuje:

Surowica otrzymana ze zdrowego Kmiecica, reagowała dodatnio, bardzo silnie z antygenem ze zdrowego Kmiecica, jak również z antygenem ze zdrowego Arran Victory, reagowała jednak także dodatnio, wprawdzie w słabszym stopniu i nie we wszystkich wypadkach z ziemniakami chorymi, jak Prezydent X (Nr 1 w spisie), Prezydent X + Y (Nr 2 w spisie) i Prisca (Nr 15 w spisie).

Surowica otrzymana z zarażonej odmiany Prezydent X + Y (Nr 3 w spisie) reagowała bardzo silnie dodatnio z antygenem Prezydent X + Y (Nr 3 w spisie), Prezydent X (Nr 1 w spisie), Prisca (Nr 15 w spisie) i Prezydent A + X (Nr 4 w spisie); jednak dodatnia reakcja wypadła także przy użyciu antygenów ze zdrowych ziemniaków, jak Kmiecic, Arran Victory i Nr 41956.

Wyników tych, zdawałoby się sprzecznych z założeniami teoretycznymi, należało właściwie się spodziewać, ponieważ w surowicy kró-

lika uodpornionego białkiem chorego ziemniaka muszą powstawać także przeciwciała, odpowiadające białku zdrowemu, które zawsze w pewnej ilości znajduje się w antygenie obok białka chorego. Jeżeli w surowicy otrzymanej z zarażonego ziemniaka, absorbowano przed doświadczeniem zdrowe białko (przez dodanie 2 do 5 objętości zdrowego ekstraktu z Kmiecia i pozostawienie przez 24 godz., a następnie odwirowanie) wyniki stawały się wyraźniejsze, to znaczy reakcja wiązania dopełniacza wypadała przy użyciu zdrowych antygenów ujemnie, a jeśli dodatkowo to w znacznie słabszym stopniu. Trudność w dokładnym przeprowadzeniu tych doświadczeń polegała na tym, że nie było do rozporządzenia równocześnie zdrowych i chorych okazów tej samej odmiany.

Najciekawsze wyniki dały doświadczenia przeprowadzone z surowicą, otrzymaną przez wstrzykiwanie soku z pieprzu tureckiego, zarażonego wirusem X, gdzie nie mogło już być ubocznego działania przeciwciał zdrowego białka, które w tym wypadku odpowiadały gatunkowi innemu, niż ziemniak. Surowica ta reagowała we wszystkich wypadkach ujemnie z antygenem ze zdrowego Kmiecia i prawie we wszystkich wypadkach silnie dodatnio z antygenem z Prezydent X. Również dodatnio wypadały reakcje w wypadku antygeny Prezydent $X + Y$, oraz Prisca (Nr 15 w spisie); natomiast niewyraźną reakcję raz dodatnią to znów ujemną dawały Prezydent $A + X$ (Nr 4 w spisie) i Prezydent A (Nr 6 w spisie), a w przeważającej liczbie wypadków ujemną Green Mountain z Y (Nr 8 w spisie), Nr 42898 z Y (Nr 9 w spisie) i Ackersegen (Nr 13 w spisie).

Zbyt mała ilość wykonanych prób nie pozwala właściwie na wyciągnięcie jakichkolwiek choćby w najmniejszym stopniu pewnych wniosków. Wydaje się jednak, że po odpowiednim jeszcze przepracowaniu, metoda wiązania dopełniacza, powinna dawać bezbłędne wyniki jeśli chodzi o rozróżnienie antygenów zdrowych od zarażonych. Można także przypuszczać, że surowica X reaguje raczej ujemnie z antygenami zarażonymi, lecz zawierającymi czynnik Y. Byłoby to pierwszym krokiem w wypełnieniu zadań postawionych powyższej pracy.

Streszczenie.

Badanie metodą podwójnego załamania w prądzie białka ekstrahowanego z bulw ziemniaczanych wykazało, że dodatni wynik próby jest niewątpliwym dowodem zarażenia danej bulwy jakimś wirusem. Natomiast ujemny wynik nie daje 100% pewności, że bulwa jest zdrowa.

Wstępne badania białek bulw ziemniaczanych metodą wiązania dopełniacza pozwalają przypuszczać, że na tej drodze dałoby się może uzyskać metodę identyfikowania różnych linii wirusowych.

Summary.

The examination of double refraction in flow in albuminous extracts of potato tubers showed that only its positive result is sure and proves the presence of virus in the tuber. The negative result cannot be regarded as quite sure and does not prove that the tuber is healthy.

The applying of complement fixation reaction in examination of potato tubers albumen allows to suppose that it would perhaps be the right method of identifying different virus strains.

LITERATURA:

1. J. Johnson. Transmission of viruses from apparently healthy potatoes. Research Bulletin 63. September 1925. Agricultural Experiment Station of the University of Wisconsin, Madison.
2. J. Johnson. The classification of certain virus diseases of the potato. ibid. Research Bulletin 87. January 1929.
3. L. Garbowski. Choroby wirusowe ziemniaków w okresie 1928 — 1933. Prace Wyd. Chorób Roślin P.I.N.G.W. w Bydgoszczy Nr 13. Bydgoszcz 1933.
4. M. B. Mc. Kay., T. P. Dykstra, H. E. Morris, P. A. Young, B. L. Richards, H. L. Blood. Virus and viruslike diseases of the potato in the North West and their control. United States Department of Agriculture. Circular No 271. Washington D. C. July 1933.
5. Z. Czarnowska. Rozpowszechnianie się chorób wirusowych na ziemniakach w środkowej Polsce i na Wileńszczyźnie. W-wa, 1934. Odb. z Wydawnictw S.G.G.W. w W-wie, Tom I, r. 1934.
6. W. E. Brentzel. Types of potato virus diseases in North Dakota. Bulletin 282 April 1935, Agricult. Experiment Station North Dakota Agricultural College, Fargo, North Dakota.
7. M. C. Dunin. Wirusnyje bolezni selskohoziastwiennych rastienji. Sel'hozgiz. Moskwa 1937.
8. F. C. Bawden. Plant viruses and virus diseases. London W. 1. Wm. Dawson and Sons Ltd. 1943.