

PRZEDŁUŻENIE INFEKCYJNOŚCI WIRUSA MOZAIKI OGÓRKA
(*CUCUMIS VIRUS 1* DOOLITTLE, SMITH)
PRZECHOWYWANEGO W FORMIE PREPARATU „TEEP”

Zbigniew Maj, Jan Bednarek

Zespół Botaniki Instytutu Przyrodniczych Podstaw Produkcji Roślinnej AR, Kraków

WSTĘP

Badania nad identyfikacją wirusa mozaiki ogórka (*Cucumis virus 1* Doolittle, Smith) w roślinach uprawnych i chwastach oraz planowane poszukiwania źródeł choroby w terenie, skłoniły autorów do opracowania prostej metody konserwacji zebranego materiału liściowego z roślin podejrzanych o nosicielstwo wymienionego patogena.

Jak wiadomo, wirus mozaiki ogórka jest wirusem nietrwałym. Jego infekcyjność w normalnie wysuszonym materiale liściowym szybko zanika [15]. Autorzy postanowili więc opracować taki sposób konserwacji porażonego wirusem materiału liściowego, który nie tylko przedłużyłby okres jego infekcyjności, ale byłby ponadto możliwy do zastosowania w warunkach terenowych.

Spośród rozmaitych metod konserwacji i przechowywania wirusów roślinnych [2, 5-8, 12-14, 19], uwagę autorów zwróciła metoda konserwacji porażonych liści przy pomocy roztworów sacharozy [5, 14]. Jednakże przechowywanie materiału zakaźnego w formie płynnej i dodatkowo, jak podaje Polak [14], w niskiej temperaturze, jest w warunkach terenowych kłopotliwe i stwarza znaczne trudności manipulacyjne. Należało przeto metodę tę tak zmodyfikować, ażeby wyeliminować wspomniane niedogodności. W tym celu autorzy sięgnęli do jednej z metod stosowanych w preparatyce galenowej. Gatty-Kostyal w swojej pracy [4] dotyczącej preparatyki galenowej, wspomina o preparatach leczniczych sporządzanych przez niemiecką firmę Madaus, która produkuje m. in. leki roślinne pod nazwą fabryczną „Teep”. Nazwa ta jest skrótem słowa „Teepulver” od

słów Tee — herbata, Pulver — proszek. Według tego autora są to prawdopodobnie preparaty lecznicze sporządzane z roślin świeżych przez rozcieranie ich organów z cukrem aż do otrzymania suchego proszku. Preparaty te, nazywane po niemiecku „Frischpflanzenverreibungen” [10], czyli roztarcia roślin świeżych, przypominają t.zw. „suchą różę” sporządzaną niekiedy w gospodarstwach domowych z płatków róży jadalnej roztartych aż do suchości z sacharozą. Celem niniejszej pracy było więc zbadanie czy podobnie sporządzone preparaty z porażonych wirusem mozaiki ogórka liści zachowują przez dłuższy czas właściwości zakaźne, a tym samym czy metoda ta nadaje się do konserwacji tego labilnego wirusa w materiale liściowym.

MATERIAŁ I METODY

Materiał liściowy, z którym przeprowadzano badania pochodził z roślin *Echinocystis lobata* Michx. Torr. et Gr. wysiewanych w szklarni do wazonów wypełnionych ziemią kompostową. Dobrze rozwinięte liścienie młodych siewek zakażano mechanicznie zwykłym szczepem wirusa mozaiki ogórka [1, 11]. Do doświadczeń pobierano wyłącznie liście z wyraźnymi wtórnymi objawami chorobowymi [11]. Natychmiast po zerwaniu, liście te dzielono wzdłuż głównego nerwu na połowę. Jedną część połówek liściowych rozcierano w porcelanowym moździerzu z chemicznie czystą, drobnoziarnistą sacharozą w ilości 1 g liści + 9 g sacharozy. Otrzymaną w ten sposób jednolitą masę o barwie zielonej, pozostawiano do następnego dnia w celu przesuszenia, a następnie po sproszkowaniu przechowywano w słoikach z ciemnego szkła w temperaturze pokojowej. Równocześnie w celach kontrolnych, drugą część połówek liściowych suszono normalnie w temperaturze pokojowej. Otrzymany susz w formie miąższu sproszkowanej (sito farmakologiczne Nr 6), przechowywano w takich samych warunkach jak preparat poprzedni.

Infekcyjność obu preparatów badano po 3, 6, 9, 12, 25 dniach od momentu wysuszenia, a następnie w około 30 dniowych odstępach czasu. Z preparatu roztartego z sacharozą (Teepulver), sporządzano każdorazowo dwa rozcieńczenia 10 i 75⁰/₀ w wodzie destylowanej. Z suszu kontrolnego sporządzano każdorazowo również dwa rozcieńczenia ale w 10 i 75⁰/₀ roztworze sacharozy. Zarówno w roztworach testowych jak i kontrolnych zawartość materiału liściowego, w przeliczeniu na suchą masę, była jednakowa. Każdym roztworem inokulowano mechanicznie po 20 młodych roślin tytoniu odmiany Xanthi. Rośliny te uprawiane w doniczkach w ziemi kompostowej z dodatkiem torfu i piasku były w stadium 6 liści, z których inokulowano 4 najstarsze liście. Natychmiast po inokulacji, zmywano z powierzchni liści resztki inokulatu i karborundu wodą wodociągową. Rośliny ustawiano następnie na preparatach w szklarni.

WYNIKI

Porażone szczepem zwykłym wirusa mozaiki ogórka liście rośliny *Echinocystis lobata*, roztarte z sacharozą i przechowywane w formie suchego proszku w temperaturze pokojowej, zachowały infekcyjność przez dłuższy czas — w naszym przypadku przez 11 miesięcy (tab. 1). Na pod-

Tabela 1

Przedłużenie infekcyjności wirusa mozaiki ogórka (*Cucumis virus 1* Doolittle, Smith) przechowywanego w formie preparatu „Teep”

Preparat	Stężenie inoculum (%)	Liczba dni od momentu sporządzenia preparatu													
		3	6	9	12	25	55	86	115	145	178	208	240	275	315
„Teep”	10	20 ⁺ 20	20	20	20	20	20	20	20	20	18	16	16	15	16
		20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	75	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
		20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Kontrolny	10	15	7	3	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	
		20	20	20	20	20									
	75	16	9	2	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	
		20	20	20	20	20									

+ Licznik— liczba roślin zakażonych.

Mianownik — liczba roślin inokulowanych.

stawie danych przedstawionych w tabeli można przypuszczać, że preparat taki traci powoli własności infekcyjne, gdyż coraz mniejsza liczba inokulowanych roślin tytoniu ulegała zakażeniu. Zjawisko to wystąpiło dopiero po 8 miesięcznym przechowywaniu preparatu, przy zastosowaniu do inokulacji roślin tytoniu 10⁰% roztworu testowego.

Wynikające z tabeli 1 dane kontrolne dotyczące zachowania własności infekcyjnych liści *Echinocystis lobata* normalnie wysuszonych są w zasadzie zgodne z danymi cytowanymi w literaturze [15]. Własności te w normalnie wysuszonym materiale liściowym, utrzymały się w naszym doświadczeniu w ciągu 9 dni.

Nie stwierdzono zasadniczych różnic zarówno w okresie inkubacji choroby, jak też i w charakterze objawów występujących na liściach roślin zakażanych preparatami testowymi i kontrolnymi.

DYSKUSJA

Spośród rozmaitych metod przechowywania i konserwacji wirusów roślinnych [2, 5-8, 12-14, 19], autorzy byli zmuszeni wybrać taką metodę, która umożliwiałaby konserwację zawirusowanego materiału roślinnego w warunkach terenowych. Na pierwszy plan wysuwają się tu, jako najprostsze, metody z zastosowaniem sacharozy [5, 14]. Sacharoza jako środek

konserwujący spełnia prawdopodobnie podwójną rolę. Zastosowana w dużym stężeniu powoduje szybkie i bardzo silne odwodnienie konserwowanego materiału liściowego [13], a tym samym zapobiega procesom gnilnym wywoływanym przez bakterie, grzyby itp. hamując równocześnie fermentację enzymatyczną w konserwowanym materiale. Z drugiej zaś strony obecność sacharozy w inokulacie może wpływać stymulująco na proces zakażenia. Ten stymulujący wpływ sacharozy na efekty mechanicznej inokulacji roślin niektórymi wirusami obserwowało wielu badaczy [3, 5, 9, 16-18]. Te wszystkie zalety sacharozy brali pod uwagę autorzy podejmując próby adaptacji jednej z metod stosowanych w preparatyce galenowej, a mianowicie, metody konserwacji materiału roślinnego polegającej na rozcieraniu świeżych organów roślinnych z sacharozą aż do otrzymania suchego proszku (preparat „Teep”) [4, 10]. Metoda ta zastosowana do konserwacji roślinnego materiału zawirusowanego spełnia, jak się wydaje, wymagane warunki, a więc powoduje szybkie i silne odwodnienie tkanek roślinnych oraz zapewnia obecność sacharozy w inokulum.

Uzyskane przez autorów wyniki przedstawione w niniejszej pracy dowiodły, że materiał liściowy porażony wirusem mozaiki ogórka przechowywany w formie preparatu „Teep” zachowuje w pełni, przez dłuższy czas własności infekcyjne. Biorąc pod uwagę zarówno łatwość przygotowania preparatu, jak i stymulujący wpływ sacharozy na zakażenie, wydaje się, że konserwacja wymienionego wirusa tą metodą może być z powodzeniem wykorzystana przy zbiorze zawirusowanego materiału liściowego, zwłaszcza w warunkach terenowych, tym bardziej że preparat taki nie wymaga przechowywania w niskiej temperaturze, tak jak tego wymagają preparaty konserwowane np. w glicerolu [2] lub roztworach sacharozy [14].

Autorzy składają serdeczne podziękowanie Panu Inż. Kazimierzowi Waniowskiemu za odstąpienie w swoich szklarniach miejsca potrzebnego do produkcji roślin doświadczalnych.

LITERATURA

1. Bednarek J., Maj Z.: Reakcja niektórych odmian szpinaku uprawianych w Polsce na zakażenie wirusem mozaiki ogórka (*Cucumis virus 1* Doolittle, Smith). Zesz. probl. Post. Nauk rol., 1974, z. 156, s. 175-180
2. Bercks R.: Über die Konservierung von Kartoffel-X-Virus durch Glycerin. Phytopath. Z., 1950, t. 16, s. 508-510
3. Davis R. E., Whitcomb R. F.: Sucrose-enhanced local infection of plants by viruses. Phytopath., 1967, t. 57, s. 808
4. Gatty-Kostyal M.: Preparaty galenowe. PZWL Warszawa, 1959
5. Hansen H. P.: The influence of saccharose on infectivity and physical properties of some plant viruses. Contr. from the department of plant patnol. of Royal veterinary and agricultural college, Copenhagen, 39, 1954, s. 170-173. W.: E.

- Jermoljev: Diagnostika virovych chorob bramboru a repy cukrove. Acad. Naklad. Csl. Akad. Ved, Praha 1967
6. Hidaka Z., Tomaru K.: Vacuum freeze-drying of tobacco leaf tissues infected with cucumber mosaic virus. *Virology*, 1960, t. 12, z. 1, s. 8-13
 7. Hollings M., Lelliot R. A.: Preservation of some plant viruses by freeze-drying. *Pl. Path.*, 1960, t. 9, s. 63-66
 8. Jermoljev E.: Diagnostika virovych chorob bramboru a repy cukrove. Acad. Naklad. Csl. Akad. Ved, Praha 1967
 9. Kassanis B.: Some effects of sucrose and phosphorus in increasing the multiplication of tobacco mosaic virus in detached tobacco leaves. *J. gen. Microbiol.*, 1953, t. 9, s. 467-474
 10. Madaus G.: Lehrbuch der biologischen Heilmittel. Abt. 1 Heilpflanzen, t. 1, Georg Thieme-Verlag-Leipzig, 1938
 11. Maj Z., Bednarek J., Nowak G.: Wirus mozaiki ogórka na *Echinocystis lobata* Michx. Torr. et Gr. Zesz. probl. Post. Nauk rol., 1972, z. 133, s. 109-121
 12. Mc Kinney H. H.: Stability of labile viruses in dissicated tissue. *Phytopath.*, 1947, t. 37, s. 139-142
 13. Mc Kinney H. H., Silber G., Greeley L.W.: Longevity of some plant viruses stored in chemically dehydrated tissues. *Phytopath.*, 1965, t. 65, s. 1043-1044
 14. Polak Z.: Preservative effect of saccharose solution on some plant viruses. *Biol. Plant.*, 1964, t. 6, s. 238-239
 15. Smith K. M.: A textbook of plant virus diseases. J. and A. Churchill LTD, London 1957
 16. Schmelzer K.: Przenoszenie wirusów przez szczepienie, z wyciśniętym sokiem, przez kontakt, z nasionami, przez glebę i za pomocą roślin z rodzaju *Cuscuta*. S. 62-72. W: M. Klinkowski Choroby wirusowe roślin. PWRiL, Warszawa 1964
 17. Watson M. A.: The effect of sucrose spraying on symptoms caused by beet yellows virus in sugar beet. *Ann. Appl. Biol.*, 1955, t. 43 (4), s. 672-685
 18. Whitcomb R. F., Sinha R. C.: Effect of host components and sucrose on infection by potato yellow dwarf virus. *Phytopath.*, 1964, t. 54, s. 142-146
 19. Worley J. F., Schneider I. R.: Long-term storage of purified southern bean mosaic virus freeze-dried in the presence of lactose. *Phytopath.*, 1966, t. 56, s. 1327

Збигнев Май, Ян Беднарек

УДЛИНЕНИЕ ИНФЕКЦИОННОСТИ ВИРУСА ОГУРЕЧНОЙ МОЗАИКИ (*CUCUMIS VIRUS 1* DOOLITTLE, SMITH) ХРАНИМОГО В ФОРМЕ ПРЕПАРАТА „ТЕЕП”

Резюме

Авторы описывают простой метод по консервированию листового материала зараженного вирусом огуречной мозаики (*Cucumis virus 1* Doolittle Smith). Листья *Echinocystis lobata* с болезненными симптомами растирались с сахарозом до времени получения сухого порошка. Приготовленный таким образом листовый материал хранимый при комнатной температуре сохранял в течение многих месяцев инфекционные свойства.

Zbigniew Maj, Jan Bednarek

INFECTIVITY OF CUCUMBER MOSAIC VIRUS (*CUCUMIS VIRUS 1*
DOOLITTLE, SMITH) IN „TEEP” PREPARATIONS

S u m m a r y

A simple method is described for the preservation of leaf material infected by cucumber mosaic virus. Leaves of *Echinocystis lobata* with disease symptoms were ground with sucrose until a dry powder was obtained. Leaf material prepared in this way was kept for many months at room temperature without losing its infective properties.