

MAATALOUDEN TUTKIMUSKESKUS
KASVITAUTIEN TUTKIMUSLAITOS

Tiedote No 37

1981

NEILIKAN JA KRYSANTEEMIN VIRUSTAUDIT
VUOSINA 1978-79 MAAHAN TUODUISSA PIS-
-TOKKAISSA

Katri Bremer & Marja-Leena Lahdenperä

Tiedote No 37

1981

NEILIKAN JA KRYSANTEEMIN VIRUSTAUDIT
VUOSINA 1978-79 MAAHAN TUODUISSA PIS-
TOKKAISSA

Katri Bremer & Marja-Leena Lahdenperä

TIIVISTELMÄ

Kasvitautilien tutkimuslaitoksella testattiin vuosina 1978-79 93 maahan-
tuodun neilikan pistokaserän ja 203 krysanteemin pistokaserän virustauti-
suus. Samalla tutkittiin 25 viljelijöiden kasvustoista kerättyä neilikka-
ja 10 krysanteemierää. Näytteet tutkittiin pääasiassa testikasvimenetel-
män avulla, mutta lisäksi käytettiin lämmönsietorajakoetta, serologista
testiä sekä elektronimikroskopointia.

51.4 % maahantuoduista neilikan pistokkaista todettiin virustautien
saastuttamiksi. Yleisimmät taudinaiheuttajat olivat läikkä- ja suoni-
läikkävirus, joita vuonna 1979 esiintyi 40.8 %:lla testatuista eristä.
Valkokirjovirusta tavattiin lähes 30 %:lla, kun sen sijaan rengaslaikku-
virusta löytyi ainoastaan yhdessä tapauksessa. Viljelijöiltä saaduissa
näytteissä esiintyi yleisesti läikkä-, suoniläikkä- ja valkokirjoviruk-
sen aiheuttama sekainfektio. Lisäksi muutamista lajikkeista löydettiin
elektronimikroskoopitutkimuksissa lankamaisia 1150-1350 nm:n pituisia
virushiukkasia, jotka ilmeisesti ovat Suomessa aiemmin tuntemattoman
neilikan nekroosiläikkuviruksen kappaleita.

Pistokkaiden alkuperään nähden oli virustautisuudessa selviä eroja.
Teneriffalla ja Länsi-Saksassa tuotetut pistokkaat osoittautuivat erit-
tään terveiksi, kun taas ruotsalaiset, Portugalissa lisätyt pistokkaat
olivat hyvin viroottisia.

18.2 % maahantuoduista krysanteemin pistokkaista todettiin virustauti-
siksi. Pääasiallisin taudinaiheuttaja oli krysanteemin B-virus. Muuta-
massa erässä esiintyi martovirusta ja kääpiökasvuviroidia. Samat vi-
rukset todettiin myös viljelijöiltä saaduissa näytteissä.

SISÄLLYSLUETTELO

TIIVISTELMA	1
JOHDANTO	3
AINEISTO	4
VIRUSTAUTIEN MÄÄRITTÄMINEN	5
Testausmenetelmät	5
Infektiokokeet testikasveilla	5
Lämmönsietoraja	7
Serologinen testaus	8
Elektronimikroskopointi	9
NEILIKAN VIRUSTAUDIT	11
1. Neilikan läikkävirus	11
2. Neilikan suoniläikkävirus	13
3. Neilikan valkokirjovirus	15
4. Neilikan rengaslaikkuvirus	18
5. Neilikan nekroosilaikkuvirus	20
KRYSANTEEMIN VIRUSTAUDIT	23
1. Krysanteemin B-virus	23
2. Krysanteemin martovirus	25
3. Krysanteemin kääpiökasvuviroidi	27
NEILIKKA- JA KRYSANTEEMINÄYTTEIDEN VIRUSTAUTISUUS	28
Maahantuodut pistokkaat	28
Viljelijöiden lähettämät näytteet	30
NEILIKAN JA KRYSANTEEMIN VIRUSTAUTIEN TORJUNTAMAHDOLLISUUKSISTA	31
Terveiden taimien tuottaminen	32
TULOSTEN TARKASTELU	36
KIRJALLISUUTTA	39

JOHDANTO

Koristekasveilla esiintyy runsaasti erilaisia virustauteja, jotka kansainvälisen taimikaupan välityksellä leviävät maasta toiseen. Suomessa tärkeiden lasinalaiskoristekasvien, neilikan ja krysanteemin viljely perustuu pääosin ulkomailta tuotujen pistokkaiden käyttöön. Parhaassa tapauksessa emokasvit, joista pistokkaat otetaan, ovat virustestauksissa terveiksi todettuja, lämpökäsiteltyjä, kasvusolukkomonistusta käyttäen aikaansaatuja kasveja. Näin onkin asianlaita suurimpien taimituottajien kohdalla, mutta kaikki maahan tuodut pistokkaat eivät kuitenkaan ole peräisin virustestatuista emokasveista.

Sekä neilikan että krysanteemin virustaudit ovat silmämäärin vaikeasti havaittavissa, sillä kasvun alkuvaiheessa oireet ovat hyvin lieviä. Viroottisuus ilmenee usein vasta myöhemmin, kukintavaiheessa, jolloin se huomataan satomäärien pienenemisenä ja laadun heikkenemisenä. Näin ollen virukset pääsevät helposti leviämään kukkaviljelmällä ja lisäksi ne voivat altistaa kasvin sienitautisaastunnalle.

Tiedot maahantuotujen pistokkaiden virustautitilanteesta mahdollistavat sen, että voimme suunnata pistokashankintamme todella terveiden pistokkaiden tuottajiin. Samalla luodaan pohjaa koristekasvien mahdollista tervetaimitoimintaa varten. Näin voitaisiin tuottaa pistokkaita kotimaassa ja mahdollisesti viedä niitä ulkomaille. Nyt suoritettu tutkimus käynnistettiin osaksi koristekasviviljelijöiden aloitteesta, sillä he ovat viime aikoina osoittaneet huolestuneisuutensa meille tuotavan pistokasmateriaalin viroottisuudesta. Suomessa ei ole aiemmin kiinnitetty mainittavaa huomiota neilikan ja krysanteemin virustauteihin.

Neilikan ja krysanteemin pistokkaissa esiintyviä virustauteja koskeva tutkimus aloitettiin Kasvitautilain tutkimuslaitoksella keväällä 1978. Tällöin haluttiin selvittää, pohjautuvatko neilikka- ja krysanteemiviljelmillä esiintyvät virustaudit saastuneeseen pistokasmateriaaliin, vai onko syynä taimien infektoituminen viljelmillä. Virustautien alkuperästä on ollut erimielisyyttä viljelijöiden ja maahantuojien välillä. Yhteistoiminnassa Kasvintarkastustoimiston kanssa otettiin maahantuontitarkastusten yhteydessä näytteitä neilikan ja krysanteemin pistokaseristä. Tutkimuksia jatkettiin vuonna 1979 ottamalla edelleen näytteitä tärkeimpien lajikkeiden osalta. Viroottisuustestausten lisäksi määritettiin myös virukset, koska viruslajisto on meillä tois-

taiseksi puutteellisesti tutkittu. Neilikan ja krysanteemin viruslajiston tuntemus ja meille sopivien testausmenetelmien käytön selvittäminen ovat välttämättömiä edellytyksiä näiden kasvien tervetaimi-tuotannolle, mikä on suunnittelun alaisena.

Pienessä mittakaavassa kokeiltiin kasvusolukkomonistusta täysin terveiden emokasvien saamiseksi. Tähän liittyivät oleellisina jälkites-taukset viroottisten yksilöiden eliminoimiseksi. Näin saatiin alus-tavia kokemuksia terveiden pistokkaiden tuotosta kotimaassa.

AINEISTO

Vuosina 1978-79 otettiin Kasvintarkastustoimiston maahantuontitarkas-tusten yhteydessä 93 neilikkanäytettä, jotka edustivat valtaosaltaan kolmea lajiketta: Scania 3C, Lena ja White Sim. Yksi näyte koostui noin 10 pistokkaasta.

Samoina vuosina maahantuoduista krysanteemieristä testattiin 203 näy-tettä, jotka olivat peräisin seuraavista lajikkeista: Dramatic, Fan-dango, Hurricane ja White Marble. Myös krysanteeminäytteeksi otettiin noin 10 pistokasta, joista osa käytettiin mehu-, osa ympäystestauk-siin.

Ohessa testattiin myös viljelyksiltä otettuja näytteitä, joita vuosien 1978-79 aikana kerättiin muutamalta neilikkaviljelykseltä yhteensä 27 kpl ja parilta krysanteemiviljelykseltä 10 kpl.

VIRUSTAUTIEN MAARITTAMINEN

Testausmenetelmät

Neilikka- ja krysanteemipistokkaiden viroottisuuden toteamiseksi ja viruslajiston määrittämiseksi käytettiin tutkimuksessa seuraavia menetelmiä:

1. infektiokokeet
2. lämmönsietorajakokeet
3. serologinen testaus
4. elektronimikroskopiointi

I. Infektiokokeet testikasveilla

a) Mehusiirrostus

Testattavien pistokkaiden lehdet jauhettiin joko tuoreina tai pakastettuina huumareessa yhdessä puskurin kanssa hienoksi massaksi. Pumpulipäisellä tikulla siveltiin näin puristettu mehu testikasvien lehdille, jotka oli haavapinnan aikaansaamiseksi pölytetty carborundumhiomajauheella. Parin minuutin kuluttua käsitellyt lehdet huuhdottiin vesijohtovedellä.

Sekä neilikan että krysanteemin kohdalla käytettiin mehusiirrostuksissa puskuriliuoksena 0.2 M fosfaattipuskuria, jonka pH oli 7.2. Krysanteemin pistokkaita testattaessa lisättiin puskuriin 0.5 % natriumsulfiittia (Na_2SO_3), jolloin välttyttiin krysanteemimehun aiheuttamista kellanvihreistä, toisinaan nekroottisista, virusmaisista laikuista (\varnothing 1-2 mm), joita muussa tapauksessa ilmaantui useimpiin *Chenopodium amaranticolor*-kasveihin noin neljän vuorokauden kuluttua inokuloinnista.

Neilikan pistokkaiden testaamisessa käytettiin säännöllisesti seuraavia testikasveja:

Chenopodium quinoa Willd.

Dianthus barbatus L. cv. Diadem

Saponaria vaccaria L. cv. Pink Beauty

Silene armeria L.

Toisinaan neilikkanäytteiden testaamisessa käytettiin lisäksi seuraavia testikasveja:

- C. amaranticolor* Coste et Reyn.
- D. caryophyllus* L. Chabaud cv. Joker
- D. chinensis* L.
- D. deltoides* L.
- D. plumarius* L.
- Gomphrena globosa* L.
- Nicotiana clevelandii* Gray

Krysanteemin testikasveina olivat:

- C. amaranticolor*
- C. quinoa*
- N. clevelandii*
- N. glutinosa* L.
- N. tabacum* L. Samsun
- Petunia hybrida* Vilm. cv. Resisto Rosa

Testikasvit inokuloitiin varhaisessa kehitysvaiheessa, tavallisimmin silloin, kun niihin oli muodostunut muutama kasvulehti. Tällöin ne ovat yleensä herkkiä virussaastunnalle.

Mehusiirrostuksia tehtäessä kokeiltiin myös testikasvien pimentämistä ennen inokuloitua, koska pimeys herkistää kasvit viruksille. Tosin neilikan pistokkaiden testaamisessa tämä tuli kyseeseen lähinnä vain vaikeasti mehussa siirtyvän nekroosilaikkuviruksen kohdalla. Muut virukset siirtyivät helposti ilman pimentämistäkin.

Mehusiirrostuksissa käytettiin pääasiassa kokonaisia testikasveja, mutta jonkin verran kokeiltiin myös siirrostusta irtonaisiin, tuoreisiin lehtiin (irtolehti- eli laatikkotesti). Testiin soveltuvat lehdet, jotka reagoivat selvin, voimakkain paikallislaikuin testattavaan virukseen. Menetelmä sopii käytettäväksi suurissa massatestauksissa. Se vie vain vähän tilaa eikä testikasveja tarvita kovin paljon. Nyt tehdyssä tutkimuksessa lehtitestin käyttäminen tuli lähinnä kyseeseen neilikan läikkäviruksen testaamisessa *C. quinoan* ja *G. globosan* lehdillä.

Lehtitesti suoritettiin seuraavasti:

Nuorehkot, taysikasvuiset lehdet sijoitettiin kostealle imupaperialustalle muovilaatikkoon. Carborundum-hiomajauheella pölytettyihin lehtiin tehtiin mehusiirrostus sivelemällä niihin testattavan pistokkaan lehdistä puristettua mehua. Testilaatikko pidettiin sen jäl-

keen 20°C:n lämpötilassa jatkuvassa valossa muovipussin sisässä.

Inkubaatioajan jälkeen testin tulos oli nähtävissä lehdistä.

b) Ympäpäys

Krysanteemin pistokkaiden virustestauksessa käytettiin mehusiirrostusten varmentajana ympäpäymismenetelmää. Saapuneista näyte-eristä juurutettiin kolme pistokasta, joihin myöhemmin ympätettiin kolmen terveen testikrysanteemin latva. Lajikkeina olivat 'Deep Ridge', 'Fanfare' ja 'Mistletoe'. Niiden emokasvit oli saatu Tanskasta ja ne olivat viruksettomia. Testaustulokset olivat varmuudella nähtävissä vasta 6-9 viikon kuluttua ympäyksestä.

Virustestaus voidaan myöskin suorittaa ympäpäymällä testattavan pistokkaan latva testikrysanteemin varren sivuun, jolloin ympätyn verson tyvi pannaan veteen pieneen muoviputkeen liiallisen haihtumisen estämiseksi.

c) Vektorisiirrostus

Tutkimuksessa käytettiin vektorisiirrostusta pyrittäessä saamaan viruksia eroon toisistaan ja tunnistettaessa vektorilevintäisiä viruksia, lähinnä neilikan suoniläikkä- ja nekroosilaikkuvirusta. Vektorina eli siirtäjänä käytettiin yleisintä virusvektoria, persikkakirvaa *Myzus persicae* Sulz. 4-12 tuntia viileässä paastolla pidettyjä kirvoja nostettiin ohuella siveltimellä viroottisen kasvin lehdille. Kirvoja käytettiin 5-10 kpl/testikasvi kasvin koosta riippuen. Imennän kestettyä 2-10 minuuttia kirvat nostettiin terveille testikasveille vuorokaudeksi. Siirrostuksen onnistuessa oireet ilmaantuivat virukselle tyypillisen inkubaatioajan jälkeen. Menetelmää käytettiin lähinnä erottamaan kirva- ja mehulevintäinen neilikan suoniläikkävirus pelkästään mehulevintäisestä läikkävirusesta. Lisäksi kirvasiirrostusta kokeiltiin neilikan valkokirjo- ja nekroosilaikkuvirusten testaamisessa.

2. Lämmönsietoraja

Virusten lämmönsietorajan (TIP = thermal inactivation point) määrittäminen on varsin käytännöllinen apukeino virusten identifioinnissa ja soveltuu hyvin etenkin mahdollisen sekainfektion toteamiseen. Lämmönsietorajalla tarkoitetaan alinta lämpötilaa, jossa virus inaktivoituu eli

menettää infektiokykynsä kuumennettaessa viroottista kasvimehua 10 minuuttia.

Koeputkissa olevaa viroottista kasvimehua kuumennettiin 2 ml:n erinä vesihauteessa eri lämpötiloissa 10 minuutin ajan ja näin käsitellyillä mehunäytteillä suoritettiin testikasvien saastutus tavallista mehuinokulointia käyttäen. Inkubaatioajan jälkeen tehtiin havainnot oireiden ilmaantumisesta eri lämpötilojen kohdalla. Vertailukohteena käytettiin kuumentamattomalla kasvimehulla saastutettuja testikasveja.

3. Serologinen testaus

Serologinen testaus perustuu kullekin virukselle valmistetun, kanin verisuonistossa tuotetun antiseerumin käyttöön. Viruksen joutuessa kosketukseen antiseerumissa olevien virusten vasta-aineiden kanssa tapahtuu saostumista, mikä on merkinä kyseisen viruksen läsnäolosta.

Nyt suoritettussa tutkimuksessa serologinen testaus suoritettiin agargeelikaksoisdifфуsiomenetelmällä (Ouchterlony test, OUCHTERLONY 1964), jota esim. neilikan läikkävirusen kohdalla pidetään luotettavimpana keinona viruksen toteamiseksi (OERTEL 1977). Petrimaljassa olevaan agargeeliin porattuun koloön pipetoitiin tiettyä antiseerumia ja ympärille noin 0.5 cm:n etäisyydellä oleviin koloihin viroottiseksi oletettua kasvimehua. Testin tulos oli yleensä nähtävissä noin vuorokauden kuluttua, jolloin kolojen välille geeliin oli muodostunut viirukuviona näkyvä sakkautuma, presipitaatiolinja, mikäli kasvimehu sisälsi kyseistä virusta. Testauksen tulos varmennettiin vielä vuorokauden kuluttua ensimmäisestä tarkastuksesta. Tuloksen selkeyteen vaikuttaa voimakkaasti viruksen ja antiseerumin suhde, virusten diffuusionopeus sekä alustassa käytetyn agargeelin kiinteytys.

Käytettävissä olivat Tanskasta saadut neilikan läikkä-, suoniläikkä-, rengaslaikku- ja latenttivirusen antiseerumit sekä tomaatin murtovirusen antiseerumi krysanteemin virustestausta varten. Tutkimuksen loppuvaiheessa saatiin lisäksi neilikan nekroosilaikkuvirusen seerumia Italiasta sekä neilikan valkokirjovirusen ja krysanteemin B-virusen seerumia Hollannista, mutta näiden käyttö rajoittui melko vähän.

Testauksissa käytettiin sekä itse näytekasveista että saastutetuista testikasveista puristettua mehua. Neilikan virusten seerumitestauksissa käytettiin seuraavien testikasvien mehua: *C. amaranticolor*, *C. quinoa*, *D. barbatus*, *D. caryophyllus*, *S. vaccaria* cv. Pink Beauty sekä *S. armeria*. Kaikkien kasvien mehu ei tosin sovellu serologiseen testaukseen. Krysanteemien seerumitestauksissa käytettiin krysanteemin lisäksi seuraavia testikasveja: *N. clevelandii*, *N. glutinosa* ja *P. hybrida*.

Toinen Italiasta saatu neilikan nekroosilaikkuviruksen antiseerumi sisälsi myös läikkävirusantiseerumia, joten testaus jouduttiin suorittamaan seuraavasti: Agargeeliin tehtyyn koloon, johon normaalisti pipetoidaan vain viroottiseksi oletettua kasvimehua, pipetoi tiinkin ensin läikkävirusantiseerumia puolen kolon verran, minkä jälkeen kolo täytettiin virusnäytemehulla. Nesteet sekoitettiin ja vasta puolen tunnin kuluttua keskikoloon pipetoi tiin nekroosilaikkuviruksen antiseerumi. Tätä poikkeuksellista menetelmää ei tarvinnut suorittaa, mikäli testattavaksi aiottu mehu oli peräisin kirvoilla siirrostetuista kasveista, jotka siis eivät sisältäneet läikkävirusa.

4. Elektronimikroskointi

Elektronimikroskooppia käytettiin pääasiassa varmistamaan infektiota, mikäli oireet testikasveissa olivat epäselviä.

Elektronimikroskointi tehtiin Helsingin yliopiston elektronimikroskopian laitoksella, jossa oli käytettävissä Jeol JEM-100S -merkkinen läpivalaisuelektronimikroskooppi.

Koska tässä työssä elektronimikroskooppia käytettiin vain apuna virusten määrittämisessä, keskityttiin kuvaamisessa sellaisiin menetelmiin, joilla saadaan esille sauva- ja lankamaiset virukset. Ne ovatkin verrattain helposti todettavissa elektronimikroskopian avulla. Testikasvimenetelmää käyttäen neilikan sauva- ja lankamaiset virukset sen sijaan ovat vaikeammin määritettävissä kuin pallomaiset virukset, jotka taas saadaan esille elektronimikroskoopissa vasta, kun virushiukkaset on puhdistettu erilleen kasvimehun kasviaineksista.

Viruspreparaattien valmistamiseksi käytettiin sekä neilikka- ja krysanteeminäytteistä että testikasveista puristettua mehua. Preparaatit elektronimikroskooppia varten tehtiin seuraavilla menetelmillä:

1. Kastomenetelmä
2. Murskausmenetelmä

1. Kastomenetelmällä (BRANDES 1957) preparaatti tehtiin seuraavasti: Hilalle siirrettiin pipetillä pisara 1.5 % fosforiwolframihappoa, pH 7.0. Tutkittavan kasvin lehdestä leikattua 4-5 mm² suuruista lehdenpala kastettiin pari kertaa fosforiwolframihappopisarassa. Parin minuutin kuluttua hila kuivattiin imupaperilla minkä jälkeen preparaatti oli valmis katsottavaksi elektronimikroskoopissa.

2. Murskausmenetelmää LESEMANNin (1972) mukaan käytettiin seuraavasti: Noin 0.5 cm² kokoinen lehdenpala jauhettiin lasisauvalla 1-2 ml:n glutaraldehydi-fosfaattipuskuriliuoksessa ja annettiin seoksen seistä puolen tunnin ajan. Glutaraldehydiä käytettiin 2.5 % 0.2 Mol fosfaattipuskurissa, seoksen pH oli 7.0.

Hilan päällyspinnalla kosketettiin kasvimehuglutaraldehydiseoksen pintaa, niin että hilan pintaan kiinnittyi pieni pisara. Sen annettiin hetkisen kiinnittyä ja kuivua, minkä jälkeen preparaatti värjättiin negatiiviseksi siirtämällä sille pisara 1.5 % fosforiwolframihappoa. Kuivauksen jälkeen hila oli valmis katsottavaksi.

2.5 % glutaraldehydi-fosfaattipuskuriseoksen sijasta käytettiin joskus myös seosta: 3 % formaldehydiä 0.2 Mol fosfaattipuskurissa.

Sekä glutaraldehydi- että formaldehydi-puskuriseoksilla tehdyt preparaatit neilikasta ja krysanteemista olivat paljon käyttökelpoisempia kuin kastomenetelmällä tehdyt preparaatit. Virushiukkaset olivat glutaraldehydi- ja formaldehydipreparaateissa tasaisesti levinneet hilalle ja selkeästi näkyvissä. Kastomenetelmässä hiukkaset olivat liittyneet kimpuiksi ja kuvaus oli sen vuoksi vaikeaa.

Kuvauksessa käytettiin 10 000-15 000 x suurennusta ja filmeistä tehdyt valokuvat suurennettiin kolmekertaisiksi, joten valokuvissa näkyvien virushiukkasten koko oli 30 000- tai 45 000 -kertainen.

NEILIKAN VIRUSTAUDIT

I. Neilikan läikkävirus (carnation mottle virus, CaMV)

Neilikan läikkäviroosi on yleisin virustauti neilikalla (ZANDVOORT 1973). Se eristettiin ensimmäisen kerran Englannissa (KASSANIS 1955) ja myöhemmin sitä on tavattu lähes kaikkialta, missä neilikoita viljellään. Esim. USA:ssa sitä on esiintynyt yleisesti (BRIERLEY ja SMITH 1957). Puolassa läikkävirus todettiin v. 1967 (KOWALSKA 1972). Vuotta myöhemmin havaittiin Ruotsissa, että käytännöllisesti katsoen kaikki maassa viljeltävät neilikat ovat läikkävirusinfektioita (AHMAN 1969). Virus esiintyy yleisenä myös alueilla, joissa harjoitetaan pistokastuotantoa kuten Välimeren maissa (POUPET ym. 1970), Israelissa (SMOOKLER ja LOEBENSTEIN 1975) ja Kolumbiassa (MARTINEZ ym. 1974). Läikkävirus esiintyy niin ikään Japanissa (TOCHIHARA ym. 1975), Suomessa (BREMER 1978) ja Iranissa (DANESH ja GAVGANI 1979).

Vaikka läikkävirus aiheuttaa neilikalla ainoastaan heikkoja oireita, lähinnä lehtien lievää kirjavoitumista, sillä on tutkijoiden mukaan (vrt. HOLLINGS ja STONE 1964) taloudellista merkitystä. HAKKAART (1964) sekä PALUDAN ja REHNSTRÖM (1968) pitävät tautia merkityksellisenä sen vuoksi, että se vähentää kukkien lukumäärää ja heikentää laatua. Lisäksi läikkäviroottiset neilikat ovat yleensä terveitä alttiimpia sienitautisaastunnalle.

Neilikan läikkävirus yleisyys selittyy sillä, että se leviää tavattoman helposti. Se voi siirtyä juuri- tai versokosketuksen avulla tai esim. leikkausveitsen kautta (vrt. BRIERLEY ja SMITH 1957). Tehokkaimmin se kuitenkin leviää viroottisista emokasveista otettujen pistokaiden mukana (HOLLINGS ja STONE 1954, AHMAN 1969).

Läikkävirus torjumiseksi on istutuksiin käytettävä puhtaita pistokkaita ja hoitotoimissa on noudatettava ehdotonta hygieenisyyttä.

Oireet testikasveilla

Chenopodium amaranticolor

5-7 vrk:n kuluttua inokuloinnista ilmaantui lehtiin paikallisia laikkuoireita: lukuisia kellanvihreitä pilkkuja tai pieniä laikkuja, toisinaan joukossa oli muutama nekroottinen laikku. Systemisiä oireita ei esiintynyt.

C. quinoa

Oireiden kuvaamista vaikeutti se, että läikkävirus esiintyi neilikoissa lähes aina yhdessä suoniläikkävirusinfektion kanssa. Paikallislaiikut muodostuivat 4-9 vrk:n kuluessa saastutuksesta. Kesällä oireet tulivat esiin selvästi myöhemmin kuin pimeänä vuodenaikana. Keltaiset laikut, joiden läpimitta oli 2-3 mm, muuttuivat noin viikon kuluttua väriltään punaisiksi ja mikäli laikkuja oli runsaasti, lehdet kuituivat.

Systemiset oireet ilmaantuivat 12-14 vrk:n kuluessa ja ilmenivät keltaislaikkaisuutena, lehtien pienikokoisuutena ja epämuotoisuutena.

Jos saastunta on voimakas, saattaa kasvi kokonaisuudessaan jäädä normaalia pienemmäksi.

Dianthus barbatus

6-7 vrk:n kuluessa muodostui harvakseltaan esiintyviä vihreänvalkeita paikallisia laikkuja, jotka vaihtelivat melkoisesti kooltaan. Enimmäkseen ne olivat kuitenkin suhteellisen pieniä. Systemisiä oireita ei erittäin heikkoa lehtikloroosia lukuunottamatta esiintynyt.

Gomphrena globosa

6-10 vrk:n kuluessa ilmaantui muutamia vaaleanruskeita, nekroottisia paikallisia laikkuja, joiden reunat olivat punaruskeita. Systemisiä oireita ei esiintynyt.

G. globosa soveltui käytettäväksi myös irtolehtitestissä: läikkäviruslaikut ilmaantuivat 10 vrk:n kuluttua saastutuksesta.

Saponaria vaccaria cv. Pink Beauty

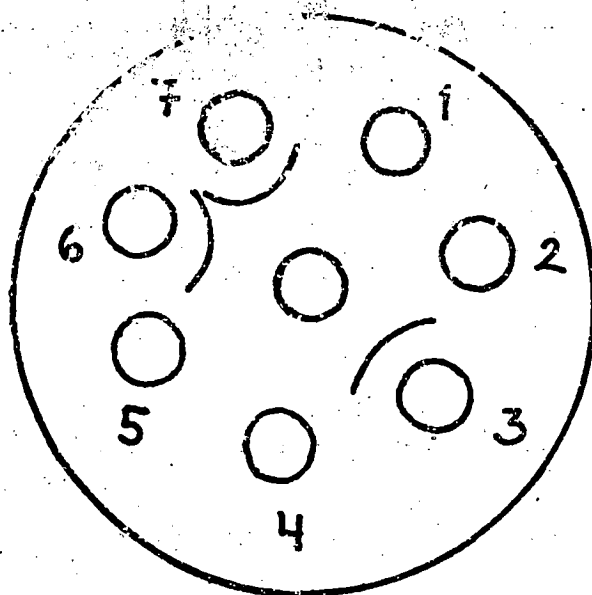
7-10 vrk:ssa ilmaantui suonikloroosia ja kirjavuutta, joskus paikallisia keltaisia laikkuja.

Systemisinä oireina esiintyi läikkikyyttä, lehtien aaltomaisuutta ja epämuotoisuutta noin 1.5-2 viikon kuluttua inokuloinnista. Vähitellen kasvi kääpiöityi.

Serologinen testaus

Serologinen testaus oli nopea ja luotettava keino läikkävirusen toteamiseksi. *C. quinoa* -testikasvin mehua käytettäessä agargeeliin muodostui aina hyvin selvä presipitaatioviiva näytteistä, jotka olivat myös aiheuttaneet oireita testikasveihin (kuva I). Sen sijaan *C. amaranticolor*-kasvia käytettäessä antiseerumi ei toiminut, vaikka kyseinen testikasvi osoittikin selviä läikkävirusoireita mehusiirrostuksen perusteella.

Läikkävirusmääritys sen testikasveissa aiheuttamien oireiden sekä serologisten reaktioiden perusteella oli sangen helppoa.



Kuva I. Kaksoisdifфуusio-seerumitestі. Keskellä läikkävirusen, antiseerumi, näytteissä 3, 6 ja 7 on virusta.

2. Neilikan suoniläikkävirus (carnation vein mottle virus, CaVMV)

Neilikan suoniläikkävirus todettiin ensimmäisen kerran Englannissa (KASSANIS 1955), mutta siellä sitä on tavattu vain harvoin kasvihuoneilikoissa. Harjaneilikoissa se sen sijaan esiintyy yleisenä kotipuutarhoissa (HOLLINGS ym. 1977). USA:ssa suoniläikkävirus on BRIERLEYn ja SMITHin (1957) mukaan yleisempi kuin Euroopassa, mutta toisaalta se on kuitenkin tavallinen avomaalla viljeltävillä neilikoilla eräissä Välimeren alueen maissa (POUPET ja MARAIS 1973). Ruotsissa suoniläikkäviroosia on esiintynyt vähäisessä määrin paikoittain (AHMAN 1969).

Suoniläikkävirusen oireet vaihtelevat ja ovat epämääräisiä. Virus on vähentänyt kukkasatoa 15-40 % eri tutkijoiden kokeissa (BRIERLEY 1964 a, HAKKAART 1964, HOLLINGS ym 1977).

HOLLINGS ym. (1977) eivät pidä suoniläikkäviroosia nykyisin vaarallisenä neilikan tautina ainakaan Isossa Britanniassa. POUPET ja MARAIS (1973) ovat sitä mieltä, että suoniläikkävirusella lienee merkitystä lähinnä vain avomaaviljelyssä. Osasyynä tähän on luultavasti se, että kasvihuoneissa yleinen neilikkakirva *Myzus persicae* f. *dianthi* siirtää virusta tehottomammin kuin persikkakirva *M. persicae* (HOLLINGS ym. 1977).

Oireet testikasveilla

C. amaranticolor

Noin 1 mm:n läpimittaiset, kloroottiset sekä puolinekroottiset paikallislaikut ilmaantuivat 1-2 viikon kuluttua inokuloinnista. Toisinaan

laikut olivat keskeltä punaisia. Mikäli kyseessä oli sekainfektio läikkävirusen kanssa, oireet hämärtyivät. Systemisiä oireita ei esiintynyt.

C. quinoa

Heikko infektio ei aiheuttanut oireita, jolloin viruksen toteamiseen käytettiin serologista menetelmää. Tavallisimmin kloroottiset laikut ilmaantuivat 7-10 vrk:n kuluttua saastutuksesta. Oireiden kuvaamista vaikeutti se, että lähes aina oli kyseessä sekainfektio läikkävirusen kanssa. Systemisinä oireina esiintyi kellanvihreitä suoniläikkiä 2-4 viikon kuluessa. Myös lehtien epämuotoisuus, kurtistuminen ja vääntyileminen kuuluivat tautioireisiin.

S. vaccearia cv. Pink Beauty

Oireet muistuttivat läikkävirusen aiheuttamia oireita, mutta olivat selvästi voimakkaampia. Kahden viikon kuluttua inokuloinnista ilmeni systeemistä suonikloroosia, lehtien epämuotoisuutta ja kitukasvuisuutta. Kukkatertut syheröityivät, teriö jäi tavallista pienemmäksi ja kukkaperät taipuivat voimakkaasti alaspäin. Terälehtiä saattoi olla normaalia enemmän ja ne jäivät tavallista kapeammiksi ja niissä esiintyi värivirheitä. Lisäksi terälehdet usein sijoittuivat epäsymmetrisesti toisiinsa nähden.

Lämmönsietoraja

Suoniläikkävirusen osalta ei lämmönsietorajakoeita voitu tehdä, koska pelkästään tämän viruksen saastuttamaa kasvimateriaalia ei saatu riittävästi. Neilikan läikkä- ja suoniläikkävirus esiintyivät pistokkaissa lähes aina sekainfektiona, joten lämmönsietorajakokeen suorittamisesta luovuttiin.

Serologinen testi

Suoniläikkävirus *C. quinoa*n mehussa agargeeliin siirrettynä aiheutti lähes aina selvän presipitaatioviivan muodostumisen. Sekainfektio läikkävirusen kanssa ei haitannut serologista reaktiota. Suoniläikkävirusen toteaminen ilman antiseerumia olisikin ollut vaikeata, sillä läikkävirusen aiheuttamat oireet peittivät usein suoniläikkävirusen oireet testikasveissa, ja lähes aina oli kyse nimenomaan läikkä- ja suoniläikkävirusen aiheuttamasta sekainfektioista.

Elektronimikroskopointi

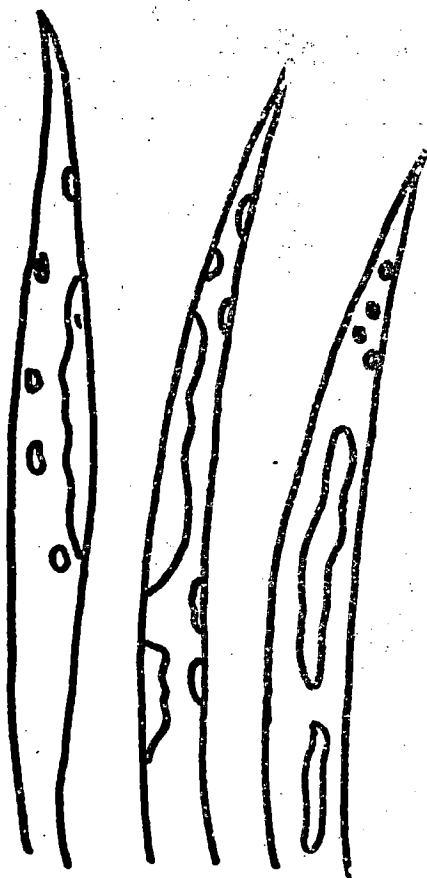
Suorittamissamme elektronimikroskoopitutkimuksissa *C. quinoa*sta ja *S. vaccarian* lehdistä tehdyistä preparaateista löytyi muutamia lankamaisia virushiukkasia, joiden koko vaihteli 700-750 nm, mutta viruskonsentraation alhaisuuden vuoksi mittaustulokset eivät olleet luotettavia.

3. Neilikan valkokirjovirus (carnation etched ring virus, CERV)

Neilikan valkokirjovirus löydettiin ensimmäisen kerran 1950-luvun lopulla Englannista (HOLLINGS ja STONE 1961). Tämän jälkeen on tiheässä tahdissa ilmaantunut tietoja sen esiintymisestä useissa maissa, sillä pistokasaineiston mukana se on levinnyt nopeasti. Esim. Tanskassa sitä on tavattu v. 1963 lähtien (KRISTENSEN 1964). Myös Ruotsissa suoritetun tutkimuksen mukaan se esiintyy useimmissa lajikkeissa, jotka ovat jopa suuressa määrin saastuneita (AHMAN 1969). Hollantilaisen tutkimuksen mukaan valkokirjoviroottiset neilikat alkavat kukkia terveitä myöhemmin ja kukkien lukumäärä jää tavallista pienemmäksi. Valkokirjovirus siirtyy persikkakirvan välityksellä (HOLLINGS ja STONE 1961).

Virusoireet neilikassa

Valkokirjoviruksen aiheuttamia oireita esiintyi joskus jo pistokkaisuissa, mutta runsaampina ja selvempinä oireita tavattiin viljelijöiltä saaduissa näytteissä. Neilikan lehdissä esiintyi nekroottisia läikkiä ja renkaita, jotka toisinaan esiintyivät ainoastaan kasvin muutamissa lehdissä ja usein juuri lehtien reunoilla (kuva 2). 'Joker'-lajikkeella ilmeni valkoisia, nekroottisia laikkuja, jotka olivat ikään kuin syövytettyjä, 'etsattuja', mistä taudin englanninkielinen nimi johtuu. Koska neilikoissa esiintyi useimmiten valkokirjoviruksen ohella läikkävirus ja usein myös suoniläikkävirus, oireet vaihtelivat suuresti eikä saatu täyttä varmuutta, millaisina oireet ilmenevät pelkästään valkokirjoviruksen saastuttamassa neilikassa.



Kuva 2. Neilikan valkokirjoviruksen aiheuttamia kuoliolaikkuja neilikan lehdissä.

Oireet testikasveilla

S. vaccaria cv. Pink Beauty

S. vaccaria osoittautui tärkeimmäksi kasviksi valkokirjoviruksen testaamisessa. Nuori testikasvi oli erittäin herkkä: voimakas saastunta aiheutti jopa taimen kuihtumisen. Oireet vaihtelivat ja esiintyivät eri muodoissa eri vuodenaikoina. Tunnusomaisimpia olivat jyrkkärajaiset, vaaleanruskeat kuoliolaikut, jotka yleensä olivat muodoltaan epäsäännöllisiä, usein kuitenkin pitkänomaisia. Nekroottisia läikkiä, jotka ilmaantuivat 9-33 vrk:ssa, saattoi esiintyä sekä inokuloiduissa että systeemisesti saastuneissa lehdissä, ja ne sijaitsivat usein lehden tyvipuolella, keskisuonen kohdalla. Tästä alkoi yleensä lehden kuihtuminen. Kuoliolaikkuja oli myös lehtilavan keskiosassa. Useimmiten näitä nekroottisia laikkuja esiintyi lukumääräisesti vähän, yleensä vain muutama laikku kasvia kohti. Inokuloiduissa lehdissä havaittiin myös punertavia tai harmaita konsentrisiä renkaita ja keltaisia laikkuja. Viimeistään kuukauden kuluttua saastutuksesta ilmeni selvää ni-

velvälien lyhentymistä, mikäli saastunta oli ollut kyllin voimakas. Edellä kuvatut oireet saattoivat esiintyä testikasvissa joko yhdessä tai erikseen.

S. armeria

Saastutettaessa kasvi pelkästään valkokirjoviruksella ilmeni virusoireita vain muutamissa harvoissa testikasveissa, kun sen sijaan läikkävirusen läsnäollessa oireet tulivat helposti esiin. *S. armeria* soveltuu käytettäväksi testaukseen ainoastaan lehtiviruskeasteella. Pitkän päivän kasvina se muodostaa kesällä kukkavarren, jolloin se ei enää sovi virustestaukseen.

Oireet muodostuivat hitaasti vaihdellen 15-45 vrk:een vuodenajasta riippuen. Virus aiheutti systeemisiä oireita, jotka ilmenivät valkeina, nekroottisina juovina ja renkaina. Juovat seurasivat usein lehtisuonia lyhyinä pätkinä muodostaen repaleista verkkokuviointia. Myöhemmin kasvu pensoittui, kukinta ehkäistyi ja kasvi saattoi jopa kokonaan kuolla. Tällöin oli yleensä kuitenkin kyse poikkeuksellisen voimakkaasta valkokirjo- ja läikkävirusen sekainfektiosta.

Lämmönsietoraja

Neilikan valkokirjoviruspitoinen mehu oli vielä jonkin verran infektoimiskykyistä 80°C:een kuumennettuna, mutta ei enää 85°C:een kuumennettuna. Lämmönsietoraja on siten 80°C - 85°C:n välissä, mikä vastaa mm. LAWSONin ym. (1977) ilmoittamaa lämmönsietorajaa.

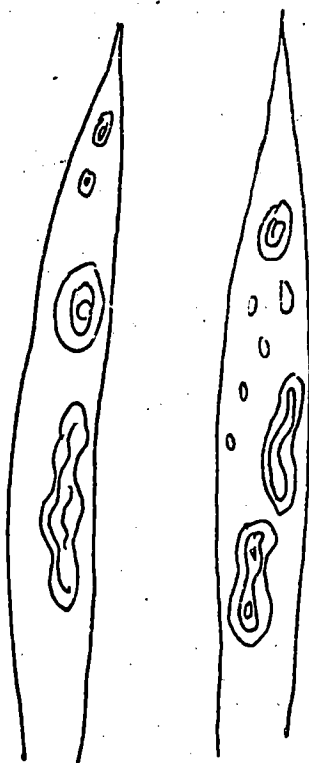
Serologinen testi

Hollannista saadulla valkokirjovirusantiseerumilla ei saatu tuloksia. Selviä presipitaatioviivoja ei muodostunut, vaikka testikasveihin ja elektronimikroskooppitutkimuksiin perustuvat testaukset osoittivat tämän virusen läsnäolon näytteissä. Serologiset testaukset tehtiin *S. vaccarian* mehusta. *S. vaccaria* on altis muillekin neilikan viruksille, joten siinä on saattanut esiintyä sekainfektioita, jotka ovat haitanneet serologista reaktiota.

Elektronimikroskopointi

Valkokirjoviruksen hiukkaset ovat pallomaisia (HOLLINGS ja STONE 1961) ja ne tulevat esille vain suuria suurennoksia käyttäen. Eräissä suoraan neilikoista murskausmenetelmällä tehdyissä preparaateissa nähtiin pallomaisia 30-35 nm:n läpimittaisia hiukkasia, jotka todennäköisesti olivat valkokirjoviruksen hiukkasia, sillä nämä neilikkakasvit oli jo aiemmin todettu kyseisen viruksen infektoimiksi.

4. Neilikan rengaslaikkuvirus (carnation ringspot virus, CaRSV)



Kuva 3. Rengaslaikkuviruksen aiheuttamia laikkuja neilikan lehdissä.

Englannissa ensimmäisen kerran kuvattu neilikan rengaslaikkuvirus (KASSANIS 1955) oli aikaisemmin yleinen kaikissa maissa, joissa neilikkaa viljellään, mutta nykyisin se on melko harvinainen ainakin Englannissa (HOLLINGS ja STONE 1970 a) ja Ruotsissa (AHMAN 1969). USA:ssa sen esiintyminen on ollut aikaisemminkin vähäistä (BRIERLEY ja SMITH 1957).

Rengaslaikkuvirus on helppo todeta neilikoista, sillä sen aiheuttama tauti on ankara. Lehdissä esiintyy kellertäviä laikkuja, usein myös sisäkkäin olevia kehämäisiä renkaita (kuva 3). Kukot jäävät pieni-

kokoiseksi, niissä on värivirheitä ja terälehtien epämuotoisuutta (vrt. KASSANIS 1955, HAKKAART 1964). Vaikka rengaslaikkuvirus leviää helposti hoitotöiden ohessa, esim. leikkuuveitsissä, on virustauti oireiden silmiinpistävyiden vuoksi tullut helposti havaituksi ja sairaat kasvit on yleensä poistettu kasvustosta. Avomaalla rengaslaikkuvirus leviää ankeroisten välityksellä (FRITSCH ja SCHMELZER 1967).

Oireet testikasveilla

G. globosa

Pieniä, vaaleita, nekroottisia renkaita ja laikkuja ilmaantui inokuloituihin lehtiin 3-4 vrk:n kuluttua saastutuksesta. Systemisinä oireina esiintyi kookkaita, epäsäännöllisiä laikkuja, kirjavuutta, lehtien punertumista ja epämuotoisuutta noin viikon kuluttua inokuloinnista.

N. clevelandii

3 vrk:n kuluttua inokuloinnista muodostui tummanharmaita, nekroottisia paikallisia laikkuja, joiden läpimitta oli 1.5 mm. Inokuloidut lehdet kuolivat noin 10 vrk:n kuluessa.

Systemiset oireet olivat myös ankaria. Uudet lehdet jäivät pienikokoiseksi, niissä esiintyi sekä kloroosia että kurtistumista. Koko kasvi kääpiöityi ja noin 3 viikon kuluttua osa kasveista saattoi kuitua kokonaan.

S. vaccaria cv. Pink Beauty

Harmahtavat rengaslaikut ilmaantuivat inokuloituihin lehtiin kolmen vrk:n kuluessa.

Noin viikon kuluttua saastutuksesta ilmeni voimakasta systeemistä kirjavuutta, suonikloroosia ja nekroosia sekä lehtien epämuotoisuutta. Kasvit jäivät kitukasvuiseksi.

S. armeria

Paikallisoireina ilmaantui selviä harmaanvalkeita renkaita sekä suonien myötäisiä juovia 3-4 vrk:n kuluessa.

Systemiset oireet ilmenivät valkeina, pieninä pilkkuina ja juovina noin viikon kuluttua saastutuksesta.

Lämmönsietoraja

Neilikan rengaslaikkuvirukseksi oletettu virus osoittautui lievästi saastutuskykyiseksi vielä 82°C:n lämpötilassa, mutta 85°C:n lämpötila inaktivoi viruksen täysin.

Serologinen testi

Neilikan rengaslaikkuvirus *N. clevelandii*-kasvin mehussa aiheutti erittäin selvän presipitaatiojuovan muodostumisen agargeeliin.

5. Neilikan nekroosilaikkuvirus (carnation necrotic fleck virus, CNFV)

Muutamia vuosia sitten tavattiin Japanissa uusi neilikan virus, nekroosilaikkuvirus (INOUE ja MITSUHATA 1973). Vähän myöhemmin sama virus havaittiin Israelissa (SMOOKLER ja LOEBENSTEIN 1974), Italiassa (RANA ym. 1977) ja USA:ssa (MAYHEW 1979). Lisäksi Ranskassa esiintyvä neilikan viiruvirus (POUPET ym. 1975) on hyvin samankaltainen, luultavasti sama kuin nekroosilaikkuvirus.

Nekroosilaikkuvirus leviää pääasiallisesti kirvojen (*M. persicae*) välityksellä (INOUE ja MITSUHATA 1973). Sen vuoksi sen toteaminen on vaikeaa. Nekroosilaikkuviruksen pitkät lankamaiset virushiukkaset (INOUE ja MITSUHATA 1973, RANA ym. 1977, MAYHEW 1979) on kuitenkin helppo nähdä elektronimikroskoopissa, ja sen avulla virus todettiin meilläkin. Taudin esiintymistä kaikissa pistokasnäytteissä ei kuitenkaan voitu tutkia.

Oireet testikasveilla

Oireet testikasveilla

Nekroosilaikkuviruksen toteaminen neilikannäytteistä testikasvimenetelmän avulla oli hankalaa, sillä virus siirtyi vaikeasti mehussa ja kirvasiirroksissa taas oli vaarana suoniläikkä- ja valkokirjoviruksen siirtyminen samanaikaisesti.

D. barbatus

Inokuloituihin lehtiin ilmaantui vaaleita painannelaikkuja 10 vrk:n kuluttua saastutuksesta. Ainoastaan yksi kymmenestä testikasvista osoitti virusoireita.

D. chinensis, *D. deltoides* ja *D. plumarius*-kasvien kukkiin muodostui valkeita laikkuja. Lisäksi lehdistä esiintyi läikikkyyttä ja kiertymistä.

S. vaccaria

Aluksi ilmeni himmeitä laikkuja, jotka myöhemmin muuttuivat nekroottisiksi. Systeemiset oireet, nuorten lehtien ja kukkien laikkuisuus ilmenivät usein kasveissa, jotka olivat myös suoniläikkävirusen saastuttamia.

S. armeria

Lehtiin muodostui 6-8 viikon kuluessa valkeita laikkuja ja renkaita, jotka usein sijoittuivat lehtisuonten viereen. Joskus lehtien reunat punertuivat tai lehtien tyvelle ilmaantui tummanpunertavia laikkuja.

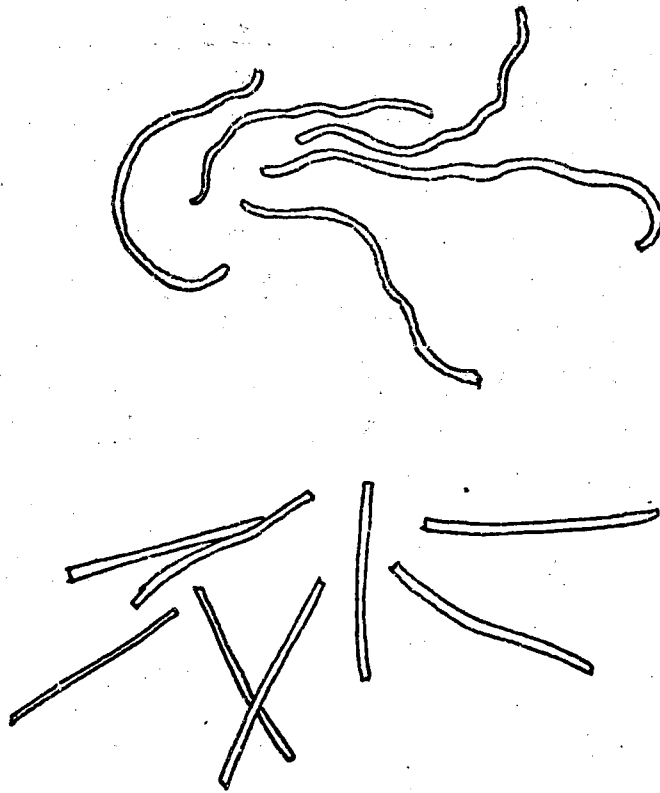
Serologinen testi

Vain muutamissa tapauksissa havaittiin nekroosilaikkuvirusen ja sen antiseerumin välillä erittäin heikko presipitaatiojuova. Tuloksia ei voitu pitää kovinkaan luotettavina.

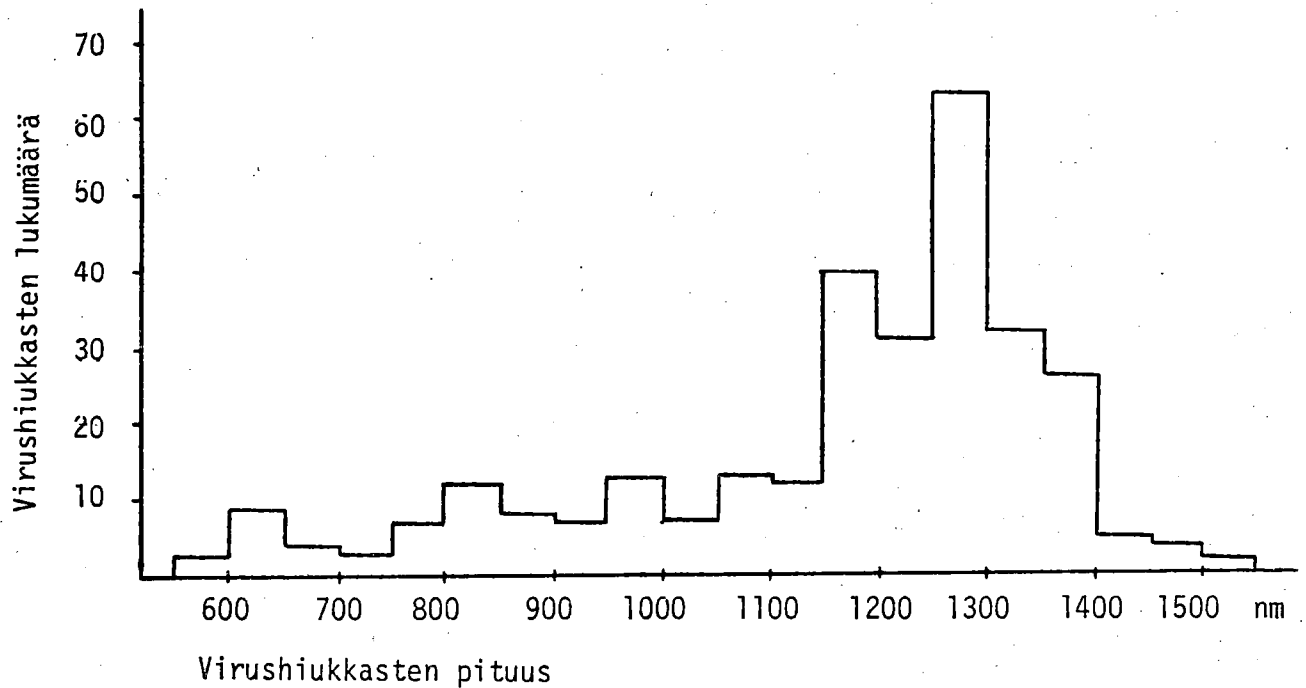
Elektronimikroskopointi

Neilikan nekroosilaikkuvirus todettiin varsinaisesti vasta, kun neilikoista puristettua mehua tarkasteltiin elektronimikroskopissa.

Eräältä viljelykseltä otettujen neilikoiden (cvs. Calypso, Pallas ja tuntematon lajike) lehdistä ja kukista sekä kasto- että murskausmenetelmällä tehdyissä preparaateissa esiintyi runsaasti pitkiä, taipuisan lankamaisia hiukkasia (kuva 4). Parhaiten hiukkaset näkyivät glutaraldehydissä tehdyissä preparaateissa. Kaikkien kolmen lajikkeen kasveista mitattujen 298 virushiukkasen koko vaihteli 500-1 533 nm ollen keskimäärin 1 183 nm. Useimpien koko oli 1 250-1 300 nm (vrt. kuva 5).



Kuva 4. Yllynnä neilikan nekroosilaikkuviruksen, alhaalla krysanteemin B-viruksen hiukkasia piirrettyinä suoraan elektronimikroskooppivalokuvasta. Suurennus on 30 000 x.



Kuva 5. Diagrammi virushiukkasten pituudesta. Virukset peräisin neilikoista, joissa näkyi nekroosilaikkuviruksen aiheuttamia oireita.

KRYSANTEEMIN VIRUSTAUDIT

I. Krysanteemin B-virus (chrysanthemum virus B, CVB)

Krysanteemin B-virus on ensimmäisen kerran kuvailtu Hollannissa (NOORDAM 1952). Vuotta myöhemmin se tavattiin USA:ssa (BRIERLEY ja SMITH 1953), jossa se on yhtä yleinen kuin Euroopassakin. B-virus on erittäin laajalle levinnyt: sitä tavataan kaikkialta, missä krysanteemia viljellään ja monet lajikkeet ovat täysin tämän viruksen infektoimia, vaikkakin usein ilman näkyviä oireita (HOLLINGS ja STONE 1972). Lisäksi tiedetään, että B-virus esiintyy tavallisesti yhdessä muiden krysanteemin virusten kanssa sekainfektiona (HOLLINGS 1957). HAKKAARTin ja MAATin (1974) mukaan B-virus koostuu useista eri roduista, minkä johdosta oireet ovat hyvin vaihtelevaiset. Esim. KRISTENSENin (1962) mukaan tauti ilmenee lehdissä heikkona kloroottisena läikkikyytenä. Toisinaan taas voi esiintyä kellanvihreitä renkaamuotoisia laikkuja. Kukissa tauti saattaa ilmetä terälehtien vääntymisenä. Muihin krysanteemin viruksiin verrattuna B-viruksen aiheuttamat oireet ovat yleensä hyvin lieviä. B-virus leviää mehussa kosketuksen kautta sekä useiden kirvalajien avulla (BRIERLEY ja SMITH 1953, HOLLINGS 1957).

Tutkittaviksi otetut krysanteemin pistokkaat olivat yleensä niin nuoria, ettei niissä ollut oireita. Vain harvoin havaittiin lehdissä vähäistä keltakirjavuutta.

Oireet testikasveilla

P. hybrida

P. hybrida todettiin B-viruksen testaamiseen parhaiten soveltuvaksi testikasviksi. Tutkimuksessa käytettiin kolmea eri lajiketta: 'Cream Star', 'Himmelröschen' ja 'Resisto Rosa', joista viimeksi mainittu osoittautui parhaaksi B-viruksen ilmentäjäksi.

Oireet ilmenivät säännöllisen pyöreinä, selvärajaisina, kellertävinä laikkuina, jotka ilmaantuivat inokuloituihin lehtiin 2-4 viikon kuluttua mekaanisesta saastutuksesta. Laikut olivat aluksi pieniä, läpimitaltaan 1-2 mm, mutta suurenevät aikaa myöten lähes 0.5 cm:n mittaisiksi. Laikut muodostuivat täysikasvuisiin lehtiin, kun sen sijaan nuorissa lehdissä ei esiintynyt oireita.

Nyt suoritetussa tutkimuksessa B-virus ei saastuttanut petunioita systeemisesti. Kuitenkin HOLLINGS (1957) on todennut, että yksittäisissä tapauksissa viruksen on todettu olevan myös nuorissa inokuloimattomissa lehdissä, vaikkakaan ulkoisia oireita ei ole ollut näkyvissä.

Vuodenajalla on tärkeä merkitys oireiden ilmenemismuutoksen kannalta. Maalis-kesäkuussa B-viruslaikut ilmaantuivat petuniaan 10-15 vrk:ssa, kun sen sijaan loka-tammikuun välisenä aikana tehdyissä testauksissa oireet ilmenivät vasta 24-29 vrk:n kuluttua inokuloinnista.

HOLLINGSin (1957) kokeissa on esiintynyt vaikeuksia siirtää B-virusta petuniaan kesäisin. Maalis-syyskuun välisenä aikana monet inokuloidut, saastuneet kasvit eivät aiheuttaneet lainkaan paikallisia laikkoja. Tämä johtuu ilmeisesti kahdestakin syystä: petunian alttius viruksille heikentyy kesällä ja toisaalta krysanteemimehun infektiivisyys vähenee.

N. clevelandii

Luotettava B-viruksen ilmentäjä.

2.5-3 viikon kuluttua saastutuksesta ilmeni lievää suonten selkeytymistä ja kirjavuutta. Oireet olivat systeemisiä.

N. glutinosa

2-3 viikkoa inokuloinnin jälkeen ilmaantui muutamia paikallisia laikkoja. Kasvi ei saastunut systeemisesti eikä paikallisoireitakaan ilmaantunut läheskään joka kerta. HOLLINGS (1957) onkin todennut, että silloin tällöin B-virus lisääntyy inokuloiduissa lehdissä aiheuttamatta oireita.

Serologinen testaus

Krysanteemin B-viruksen seerumitestauksissa ei saatu tulosta käytetystä krysanteemeista, *P. hybridasta* cv. Resisto Rosa tai *N. clevelandii*-kasvista puristettua mehua, vaikka testikasveissa olleiden oireiden ja elektronimikroskooppitarkastusten perusteella näytteissä oli B-virusta. Eräät muutkaan tutkijat eivät ole saaneet luotettavia tuloksia serologisista testeistä tämän viruksen kohdalla.

Elektronimikroskopointi

B-viruksen hiukkasia kuvattiin krysanteemin cv. Mistletoe, *P. hybridan* ja *N. clevelandiin* lehdistä kastomenetelmällä tehdyistä preparaateista. Virushiukkaset olivat kaikissa näissä kasveissa samanlaisia, lievästi taipuisia sauvoja (kuva 4). Sadan virushiukkasen keskimääräinen pituus oli 706 nm ja leveys 12-13 nm.

Lämmönsietoraja

Lämmönsietorajakokeessa käytettiin *P. hybrida*-kasvista puristettua mehua. Virus inaktivoitui 70°C:ssa. HOLLINGSin ja STONEn (1972) mukaan B-viruksen lämmönsietoraja on ollut 70-75°C suoritettaessa koe krysanteemista puristettua mehua käyttäen. *P. hybridan* mehua käytettäessä oli lämmönsietoraja 75-80°C. Ero on luultavasti selitettävissä sillä, että virusväkevyys vaihtelee eri isäntäkasveissa.

B-viruksen määrittäminen perustui pääasiallisesti sen aiheuttamiin oireisiin *P. hybridassa* ja muissa testikasveissa, lämmönsietorajaan ja virushiukkasten kokoon.

Krysanteemin B-virus saatiin esiin myös ympättäessä testattavaan kasviin testikrysanteemin latva. Tällöin oireet ilmenivät lehtien lievänä epämuotoisuutena, pienilehtisyytenä, keltaisina pilkkuina, suoniklo-roosina sekä toisinaan tummana pilkukuksena.

2. Krysanteemin martovirus (chrysanthemum aspermy virus, CAV)

Martovirus tavattiin ensimmäisen kerran tomaatin ja krysanteemin taudinaiheuttajana Englannissa (BLENCOWE ja CALDWELL 1946, 1949). Tauti nimettiin alunperin tomaatin martoviroosiksi, koska se voi aiheuttaa siemenettömien hedelmien kehittymisen tomaatilla. Krysanteemin tautina sitä tavataan nykyisin lähes kaikkialla, missä krysanteemeja laajalti viljellään (HOLLINGS 1955, GOVIER 1957, KRISTENSEN 1962, HOLLINGS ja STONE 1971). Huolimatta siitä, että krysanteemeja on pudistettu martoviruksesta, tautia esiintyy yhä vielä, koska vektoreina toimivista kirvoista on muodostunut insektisidiresistenttejä rotuja ja toisaalta koska viruksesta on kehittynyt rotuja, jotka kestävät lämpökäsittelyn.

Martovirus aiheuttaa krysanteemissa pääasiassa kukkaoireita. Saastuneiden kasvien kukat voivat olla voimakkaasti epämuotoisia eivätkä ne aina edes täysin avaudu. Viroottisten kukkien koko jää tavallisesti normaalia pienemmäksi ja terälehdet joskus jopa huomattavan lyhyiksi. Myös värivirheellisyyttä esiintyy: vaaleanpunaisilla lajikkeilla muodostuu terälehtiin usein valkeita juovia, punaisilla ja pronssinvärisillä keltaisia juovia ja keltakukkaisissa ilmenee joskus pronssisia viiruja (GOVIER 1957). Lisäksi virus aiheuttaa kukkien epämuotoisuutta, pienikokoisuutta ja lukumäärän vähenemistä.

Martovirus voi levitä mehussa, mutta viljelyksillä se leviää pääasiallisesti sairaista kasveista otetuissa pistokkaissa tai kirvojen välityksellä.

Oireet testikasveissa

P. hybrida cv. Resisto Rosa

Noin 10 vrk:n kuluttua inokuloinnista ilmaantuivat isot, vaaleat paikallislaikut, joskus myös suoninauhakloroosia. Noin 15 vrk:n kuluttua saastutuksesta alkoi ilmetä systeemistä tumman- ja vaaleanvihreän kirjavoitumista. Samanaikaisesti lehdet alkoivat pienentyä ja kaventua. 20-25 vrk:n kuluttua kasvien ja lehtien pienikokoisuus oli erittäin voimakasta. Lisäksi lehdet olivat kurttuaisia. Monien lehtien kärkiosa muodostui niin kapeaksi, että lehden pääsuonen ympärillä oli enää 1-2 mm levyinen osa lehden lapaa jäljellä. Kukat olivat epämuotoisia ja niiden väri vaihteli voimakkuudeltaan.

C. amaranticolor

Noin viikon kuluttua inokuloinnista ilmaantui saastutettuihin lehtiin lukuisia pistemäisen pieniä vaaleita pilkkuja. Systeemisiä oireita ei esiintynyt.

Cucumis sativus cv. Muromin

Viikon kuluttua inokuloinnista ilmaantui sirkkalehtiin pyöreitä, 1-2 mm läpimittaisia, kellertäviä laikkuja, joiden keskusta oli pistemäinen. Systeemisiä oireita ei esiintynyt.

N. tabacum Samsun

Viikon kuluttua inokuloinnista muodostui inokuloituihin lehtiin katkojuovareunaisia, vaaleita nekroosilaikkuja ja nekroosipisteitä. Noin 10 vrk:n kuluttua inokuloinnista suonet alkoivat kellastua ja lehtilapa kupruilla suonten välissä.

N. tabacum cv. White Burley

Noin 9 vrk:n kuluttua inokuloinnista lehdet muuttuivat vaaleanvihreän ja kellankirjaviksi. Tämä värittyminen jatkui systeemisenä. Myös suonikloroosia ja lehtilavan kupruilua esiintyi lehdissä.

Krysanteemin martovirusoireet molemmissa tupakkakasveissa muistuttivat suuresti tupakan mosaiikin aiheuttamia oireita.

N. glutinosa

6 vrk:n kuluttua inokuloinnista lehtiin ilmaantui heikosti erottuvia, kellertäviä paikallis-laikkuja, joiden kohdalta solukot kuihtuivat kolmen viikon kuluessa. Noin 2-3 viikon kuluttua ilmaantuivat systeemiset oireet. Nuoret lehdet jäivät hyvin pienikokoisiksi ja kapeiksi sekä muuttuivat keltakirjaviksi ja kurtteisiksi. Suonten lyhentymisen vuoksi lehtilapa kupruili.

N. clevelandii

Noin 9 vrk:n kuluttua inokuloinnista ilmaantui lehtiin harmahtavia, teräväreunaisia paikallisia laikkuja, jotka muutamassa päivässä laajenivat niin, että inokuloidut lehdet kuihtuivat lopulta kokonaan. Nuoret lehdet, joissa systeemiset oireet näkyivät, olivat hyvin pieniksi ja kapeiksi surkastuneita, kurtteisia ja keltakirjavia.

Lycopersicum esculentum cv. Bonny Best

Erittäin voimakas kasvun hidastuminen oli pitkän aikaa ainoa oire. Myöhemmin lehtiin ilmaantui keltakirjavuutta sekä voimakasta lehtien suikaloitumista ja ryppyisyyttä. Suuri osa kukista varisi, joten hedelmiä muodostui vain vähän ja ne jäivät pienikokoisiksi.

3. Krysanteemin kääpiökasvuviroidi (chrysanthemum stunt viroid, CSV)

Krysanteemin kääpiökasvutaudin aiheuttaja pysyi kauan tuntemattomana, kunnes 1970-luvulla DIENER ja LAWSON (1973) totesivat taudin viroidin (vapaa ribonukleiinihappo) aiheuttamaksi. Ensimmäisen kerran kiinnitettiin kääpiökasvutautiin huomiota USA:ssa vuonna 1945, jonka jälkeen se nopeasti yleistyi kasvihuoneviljelmillä sekä Yhdysvalloissa että Kanadassa. Pistokkaiden mukana tauti on helposti päässyt leviämään muuallekin (DIMOCK 1947, BRIERLEY ja SMITH 1949), mm. Hollantiin (NOORDAM 1952), Tanskaan (KRISTENSEN 1962) ja Englantiin (SMITH 1972). Oireet ilmenevät yleensä vasta useiden kuukausien kuluttua saastunnasta. Tämä vaikeuttaa krysanteemituottajien työtä, koska viroottisten kasvien havaitseminen tapahtuu varmin vasta kukintavaiheessa. Tauti aiheuttaa kääpiöitymistä, kasveista muodostuu normaalia lyhyempiä ja sekä kukat että lehdet jäävät pienikokoisiksi. Leviämisen kannalta on ensisijaisen tärkeää viruksen siirtyminen saastuneiden pistokkaiden avulla. Tauti on erittäin tarttuva ja viljelmillä se leviää nopeasti hoitotoimien yhteydessä käsien ja työvälineitten kautta.

Oireet testikasveissa

Chrysanthemum morifolium cv. Mistletoe

Oireet ilmenivät systeemisesti. Ensimmäiset symptomit tulivat esiin noin 3 viikon kuluttua ympypäyksestä, jolloin näkyi pieniä, vaaleita pilkkuja ja lehtien kupruilua. Vasta 7-9 viikon kuluttua ilmeni suonikloroosia, keltakirjavuutta sekä suurehkoja keltaisia laikkuja, joiden läpimitta oli 2-5 mm. Lisäksi lehtien koko pieneni ja lievää epämuotoisuutta esiintyi.

Kääpiökasvutautia aiheuttava viroidi saatiin ymppäämällä siirretyksi myös *C. carinatum*-kasviin, jossa se kuitenkin esiintyi oireettomana. Taudinaiheuttaja voitiin siirtää siitä mehussa takaisin 'Mistletoe'-krysantheemiin, johon ilmaantuivat tyypilliset oireet.

NEILIKKA - JA KRYSANTEEMINÄYTTEIDEN VIRUSTAUTISUUS

Maahantuodut pistokkaat

Neilikan pistokkaat osoittautuivat yllättävän suuressa määrin virusten saastuttamiksi. Vuonna 1978 oli maahantuontitarkastusten yhteydessä otetuista neilikan pistokaseristä 47.7 % virustautisia ja vastaava luku vuoden 1979 näytteiden kohdalla oli samaa luokkaa, 55.1 %. Pistokkaiden tautisuus korostuu sillä, että useimmiten oli kyseessä kahden tai toisinaan jopa kolmen viruksen aiheuttama sekainfektio.

Yleisimmät neilikalla tavattavat virukset olivat läikkä- ja suoniläikkävirus. Vuonna 1978 neilikan läikkävirus esiintyi 38.6 %:lla tutkituista eristä, kun taas suoniläikkävirus jäi aluksi huomaamatta, koska se peittyi läikkävirusinfektion alle. Vuoden 1979 näytteiden kohdalla sen sijaan kaikissa erissä, joissa esiintyi läikkävirus, todettiin myös suoniläikkävirus. Tällöin prosenttilukema oli 40.8.

Neilikan valkokirjovirus, johon ei meillä ole aiemmin kiinnitetty lainkaan huomiota, osoittautui tutkimuksessa yllättävän yleiseksi: vuonna 1978 29.5 % ja vuonna 1979 28.6 % näyte-eristä todettiin tämän viruksen saastuttamiksi. Valkokirjoa tavattiin nimenomaan useissa sellaisissa erissä, joissa ei esiintynyt läikkä- eikä suoniläikkävirus. Näin ollen voidaan otaksua, että neilikan valkokirjovirus on edellä mainittuja viruksia vaikeammin eliminoitavissa tuotettaessa

terveitä kasveja.

Nyt tehdyn tutkimuksen perusteella näyttää ilmeiseltä, että neilikan rengaslaikkuviruksesta on onnistuttu pääsemään eroon jo pistokastuotantovaiheessa. Testatuista eristä esiintyi rengaslaikkua ainoastaan yhdessä tapauksessa.

Muutaman viime vuoden aikana on eri puolilta maailmaa tullut tietoja neilikan nekroosilaikkuviruksen esiintymisestä. Näin ollen on hyvin todennäköistä, että tämä pistokkaiden mukana leviävä uusi virus saadaan esille myös meille tuotavassa pistokasaineistossa. Muutamien erien kohdalla elektronimikroskooppitutkimukset osoittivat, että neilikoissa esiintyi pitkiä, lankamaisia virushiukkasia, joiden koko oli yhteneväinen muiden tutkijoiden nekroosilaikkuviruksella saamien mitaustulosten kanssa. Viruksen määrittäminen jäi kuitenkin muilta osin puutteelliseksi.

Pistokkaiden alkuperään nähden oli havaittavissa eroja viroottisuudessa: Teneriffalla ja Länsi-Saksassa tuotetut pistokkaat osoittautuivat erittäin terveiksi, kun sen sijaan ruotsalaiset pistokkaat, joiden emokasvit ovat alkuaan portugalilaisia, todettiin hyvin viroottisiksi. Useimmissa erissä ilmeni läikkä-, suoniläikkä- ja valkokirjoviruksen sekainfektio. Solvik, joka nämä pistokkaat on toimittanut, on keskitänyt osan tuotannostaan Portugaliin. Pääsiallisena syynä tähän ovat paremmat valo-olot sekä korkeampi keskilämpötila. Nämä tekijät takaavat tasaisen, ympärivuotisen kasvun, kun taas Skånessa neilikoiden kasvu on talvisin lähes täysin pysähdyksissä. Myös ranskalaiset pistokkaat osoittautuivat virustautien saastuttamiksi. Hollannissa tuotetuissa pistokkaissa ei sitä vastoin lainkaan esiintynyt läikkä- tai suoniläikkävirusta, mutta kylläkin yllättävän runsaasti neilikan valkokirjoa.

Edellä esitetystä käy ilmi, ettei suinkaan ole merkityksetöntä, mistä viljelijä neilikan pistokkaansa hankkii. Mikäli tervetaimituotantoa ei meillä käynnistetä, on ainakin syytä suunnata pistokasostot todella terveiden pistokkaiden tuottajiin.

Maahantuontitarkastusten yhteydessä testattaviksi otetut krysanteemin pistokkaat osoittautuivat virustautien osalta melko terveiksi. Vuosina 1978-79 tutkituissa 203 krysanteemierässä ilmeni virustautisaastuntaa ainoastaan 18.2 %:ssa, ja tällöinkin oli pääsiallisesti kyse B-viruksesta, jonka aiheuttamat oireet krysanteemissa jäivät yleensä

lieviksi. Parissa tapauksessa todettiin martovirusta sekä viroidin aiheuttamaa kääpiökasvutautia.

Aiemmin, vuoden 1978 krysanteeminäytteiden kohdalla erehdyttiin pistokkaita väittämään viroottisiksi virheellisen virusoiretulkinnan takia. Aluksi nimittäin oletettiin, että *Chenopodium amaranticolor*-testikasviin 4-5 vrk:n kuluttua inokuloinnista ilmaantuvat virusmaiset laikut olisivat oireita virustaudista. Myöhemmin kuitenkin todettiin niiden aiheutuvan itse krysanteemimehusta, minkä jälkeen ruvettiin mehusiirrostuksissa lisäämään puskurin joukkoon natriumsulfiittia (Na_2SO_3), jolloin tältä harhaanjohtavalta ilmiöltä vältyttiin.

Viljelijöiden lähettämät näytteet

Vaikka työn tarkoituksena oli alunperin selvittää ainoastaan maahan-tuoduissa pistokkaissa esiintyviä viruksia, suoritettiin ohessa myös viljelijöiltä saatujen neilikka- ja krysanteeminäytteiden virustestausta vuosina 1978-80. Tutkimus toteutettiin samoin kuin maahantuonti-tarkastusten yhteydessä otettujen pistokasnäytteidenkin osalta: ensi sijassa testikasveja käyttäen, mutta jonkin verran myös serologisen testauksen sekä elektronimikroskopoinnin avulla.

Ilmeni, että viljelmillä esiintyy hyvin yleisesti neilikan virustauteja, läikkä-, suoniläikkä- ja valkokirjoviroosia, ja useimmiten on kyseessä kahden tai kolmen viruksen aiheuttama sekainfektio, mistä johtuen oireet ovat hyvin moninaiset koostuen valkoisista, keltaisista tai ruskehtavista katkojuovista, purppuranpunaïsiksi värjäytyneistä lehtityivistä, kellertävistä tai valkeista täplistä ja laikuista, eri asteisesta kirjavuudesta, viiruisista terälehdistä ja lehdistä. Toisinaan esiintyy myös lehtien kuihtumista. Virusten aiheuttama yhteisvaikutus on näin ollen suhteellisen voimakas, vaikka yksittäisen viruksen aiheuttamat oireet jäävät useimmissa tapauksissa hyvin heikoiksi.

Yhteensä testattiin 27 neilikkanäytettä, joissa jokaisessa todettiin virustautisaastuntaa. Läikkävirusta havaittiin kaikissa tutkituissa erissä ja näytteiden, jotka mehusiirrostuksen lisäksi tutkittiin myös serologisen testin avulla, havaittiin sisältävän myös suoniläikkävirusta. Näin ollen on luultavaa, että lähes poikkeuksetta läikkävirus-

ja suoniläikkävirussaastunta ovat toisiinsa kiinteästi liittyviä.

Sama seikka todettiin niin ikään suoraan maahantuontitarkastusten yhteydessä otettujen pistokkaiden osalta.

Neilikan valkokirjovirusta esiintyi peräti 88 %:lla näytteistä. Tosin on muistettava, että näytteiksi oli valittu nimenomaan neilikoita, jotka jo silmämäärin arvioitiin viroottisiksi. Neilikan rengaslaikkuvirusta ei sen sijaan tavattu yhdessäkään tapauksessa, joten tästä haitallisesta viruksesta ollaan ilmeisesti päästy eroon jo pistokas-tuotantovaiheessa.

Viljelijöiden neilikkanäytteitä tutkittaessa oli silmiinpistävää vi-rusten yleisyys myös erittäin hyvin hoidetuilla viljelmillä, joskin virustauteja esiintyi runsaammin huonokuntoisilla viljelmillä.

Taudit olivat samoja kuin maahantuotujen pistokkaiden testauksissa todetut viroosit. Useimmissa tapauksissa oli kyse krysanteemin B-vi-ruksesta. Yhdessä näytteessä esiintyi martovirusta ja yhdessä viroi-din aiheuttamaa kääpiökasvutautia, joka kyseisellä viljelmällä esiin-tyi sängen runsaana.

NEILIKAN JA KRYSANTEEMIN VIRUSTAUTIEN TORJUNTAMAHDOLLISUUKSISTA

Lähes kaikki neilikan ja krysanteemin virustaudit leviävät helposti hoitotöiden yhteydessä, esim. leikkuuveitsissä. Tämä on todettu mo-nissa tutkimuksessa eri maissa (vrt. BRIERLEY ja SMITH 1949, 1951, 1957, HOLLINGS 1955, HOLLINGS ja STONE 1961, 1965).

Avomaaviljelyksillä, varsinkin Etelä-Euroopan pistokasviljelmillä on kirvojen levittämällä virustaudeilla suuri merkitys. Neilikan suoni-läikkä-, valkokirjo- ja nekroosilaikkuvirus siirtyvät kirvojen väli-tyksellä kasvista toiseen (HOLLINGS ja STONE 1961, INOUE ja MITSU-HATA 1973, HOLLINGS ym. 1977) ja myös krysanteemin B- sekä marto-virus leviävät tällä tavoin (BLENCOWE ja CALDWELL 1949, BRIERLEY ja SMITH 1957, GOVIER 1957). Kaikkein tehokkaimmin virustauteja on kui-tenkin levitetty ottamalla pistokkaita sairaista kasveista (vrt. KRISTENSEN 1962, AHMAN 1969, RANA ym. 1977). Siten taudit ovat hel-posti levinneet maasta, jopa maanosasta toiseen.

Viljelijän mahdollisuudet virustautien torjumisessa rajoittuvat kah-teen seikkaan: ensiksikin viljelijän pitää pyrkiä samaan mahdoli-

simman terveitä pistokkaita, toiseksi hänen on mahdollisen virus-saastunnan leviämisen estämiseksi viljelyksillään noudatettava mitä ankarinta hygieenisyyttä etenkin hoitotoimenpiteitä suoritettaessa. Esim. leikkuuveitset pitäisi puhdistaa trinatriumfosfaattiliuoksella (5-10 %) tai talousspriillä toistuvasti leikkaamisen aikana. Sairaatt kasvit on poistettava.

Tärkein virustautien torjuntakeino on terveen lisäysaineiston tuottaminen. Monissa maissa tuotetaan jo nykyisin viruksettomia ydinkasveja krysanteemista ja neilikasta terveiden pistokkaiden saamiseksi.

Terveiden taimien tuottaminen

Virustutkimuksissa on yleensä todettu, että korkeissa lämpötiloissa (35° - 37° C) kasvatettujen kasvien nuoret versot tai ainakin niissä olevat kasvusolukot ovat viruksettomia. Lämpökäsittelyn aikana tulevat piilevät bakteeritartunnat esille, joten bakteeritautiset kasvit on tällöin helppo poistaa. Lämpökäsittelyistä kasveista irroitettujen kasvusolukot voidaan kasvattaa edelleen ravintoalustalla koeputkissa kasveiksi.

Neilikoita on puhdistettu lämpökäsittelyn avulla edellä kuvatuista viruksista, vaikka se onkin tuottanut vaikeuksia. Esim. BRIERLEYn (1964 b) ja myöskin HAKKAARTin ja JORDANOVAn (1968) kokeissa läikkävirus on inaktivoitunut kasvusolukoista vasta 2-3 kuukautta kestäneen, 38° C:ssa suoritettun lämpökäsittelyn jälkeen. Suoniläikkävirus on saatu poistetuksi 2 kuukautta kestäneen lämpökäsittelyn aikana (BRIERLEY 1964 b). Valkokirjovirusta ei ole saatu lämpökäsittelyillä poistetuksi neilikoista (HAKKAART ja JORDANOVA 1968, PALUDAN 1970), mutta solukkokasvatusten ja virustestausten avulla on kuitenkin saatu ainakin muutamia terveitä ydinkasveja (PALUDAN 1970). Neilikan rengaslaikkuviroosi on helposti eliminoitavissa neilikoista lämpökäsittelyn avulla (HOLLINGS ja STONE 1970 a).

Vaikka krysanteemin kääpiökasvuviroidi kestää hyvinkin korkeita lämpötiloja, on lämpökäsittelyjen krysanteemien kasvusolukkoja kasvattamalla saatu terveitä kasveja (HOLLINGS ja STONE 1970 b, PALUDAN 1971, BACHELIER ym. 1976). B-virus on osoittautunut hyvin lämpökäsittelyä kestäväksi (PALUDAN 1973), mutta kasvusolukkokasvatusten avulla on tämäkin virus saatu poistetuksi (PALUDAN 1973, HAKKAART ja QUAK 1964).

Martovirus sen sijaan on ollut helppo eliminoida lämpökäsittelyn ja kasvusolukkokasvatusten avulla (KRISTENSEN 1962, PALUDAN 1973).

Tuotettaessa kasvusolukoista kasveja on sekä krysanteemille että neilikalle kokeiltu erilaisia kasvualustoja. Useimmat tutkijat ovat päätyneet käyttämään kasvusolukon eri kehitysvaiheitten mukaisesti perätysten 2-3 erilaista alustaa (HAKKAART ja QUAK 1964, STONE 1968, PALUDAN 1970, BEN-JAAKOV ja LANGHANS 1972, EARLE ja LANGHANS 1974 a,b, 1975, MURASHIGE 1974), joiden kaikkien perustana on MURASHIGEn ja SKOOGin (1962) tupakan kallussolukon kasvatukseen kehittämä ravintoalusta.

Kasvitautilien tutkimuslaitoksen kokeissa krysanteemeista ja neilikoista otettiin kasvusolukkoja sekä lämpökäsittelyn jälkeen että ilman sitä. Lämpökäsittelyssä nuoria krysanteemikasveja kasvatettiin 35-37°C lämpötilassa 32 vrk:n ajan.

Kavusolukkojen irroittamista varten leikattiin sekä pää- että sivuversoista noin 2-3 cm pituiset latvat. Latvoja ei desinfioitu, vaan kasvusolukkoa ympäröivät lehdet ensiksi irroitettiin varovaisesti desinfioiduilla veitsillä kunnes kasvusolukko oli esillä. Kasvusolukko leikattiin irti uudella puhtaalla veitsellä ja siirrettiin koeputkeen ravintoalustalle.

Sekä krysanteemin että neilikan kasvusolukkojen kasvatuksessa käytettiin seuraavia alustoja:

Alusta I. alkualusta

Alusta 2. lisäysalusta

Alusta 3. juurrutuslusta

Nämä alustat laadittiin tutkijoiden (EARLE ja LANGHANS 1974 a, b, 1975) ravintoalustakokeiden antamia tuloksia perustana käyttäen. Alustat poikkesivat toisistaan vain kasvuhormonien osuudelta, joten ensin tehtiin ns. perusalusta, josta sopivilla kasvuaineilla täydentäen saatiin muut tarvittavat alustat (vrt. taulukko I.).

TAULUKKO I. Krysanteemin ja neilikan kasvusolukkokasvatuksissa käytettyjen alustojen koostumus.

Perusalusta	mg/l
NH_4NO_3	1650,0
KNO_3	1900,0
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440,0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370,0
KH_2PO_4	170,0
EDTA - Fe - Na_2	39,0
H_3BO_3	6,2
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,3
$\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	8,6
KJ	0,83
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025
$\text{CoCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025
tiamiini (B_1 -vitamiini)	0,040
niasiini (nikotiinihappo)	0,050
B_6 -vitamiini, pyridoksiini	0,050
glysiini	0,200
myo-inosita]	100,0
sakkarooosi	30,0 g
agar	6,0 g

Seuraavat kasvuhormonit lisättiin perusalustaan eri alustoissa

	kinetiini mg/l	NAA (naftalyylietikkahappo) mg/l
Alusta I (alkualusta)	0,5	1,0
Alusta 2 (lisäysalusta)	2,0	0,1
Alusta 3 (juurtumisalusta) = perusalusta ilman kasvuhormoneja		

Alkualustalla kasvista irroitettut kasvusolukot kasvoivat noin 2-4 viikon ajan. Tänä aikana kehittynyt pieni verson alku siirrettiin lisääntymisalustalle. Tämän alustan sisältämä kasvuhormoni, kinetiini, edistää solujen erilaistumista. Krysanteemilla ja neilikalla se aiheuttaa runsasta sivuversojen muodostumista. Tavallisesti yhdestä kasvusolukosta kehittyy vain yksi verso, mutta kinetiinin vaikutuksesta kasvusolukosta kasvaneeseen versoon kehittyy jatkuvasti uusia sivusilmuja ja niistä edelleen versoja. Nämä versot ovat juuretomia. Versot voidaan irroittaa toisistaan ja siirtää juurtumaan alusta 3:lle, juurtumisalustalle, joka ei sisällä mitään kasvuhormoneja.

Lisäysalustan ansiosta krysanteemin ja neilikan kasvusolukkolisäys on sangen nopeata. Alustavissa kokeissa saatiin edellä kuvattuja alustoja käyttämällä yhdestä krysanteemin kasvusolukosta keskimäärin 72 juurtunutta noin 8 cm korkuista tainta 3 kk:n kasvuaikana. Myöhemmin saatiin huomattavasti suurempia taimimääriä tuotetuksi. Eräät tutkijat (vrt. EARLE ja LANGHANS 1974 b, 1975) ovat saaneet vielä tätäkin suurempia kasvimääriä, joten menetelmiä voitaneen meillä edelleen kehittää.

Neilikalla uusien versojen muodostuminen lisäysalustalla oli ainakin yhtä runsasta kuin krysanteemilla, mutta juurtumisalustalta multaan siirretyistä kasveista huomattava osa ei juurtunut, vaikka niihin olikin muodostunut runsaasti juuria. Agarilta multaan siirtämisvaihe näyttää olevan kriittisin vaihe neilikan solukkolisäyksessä.

Sekä krysanteemin että neilikan kasvusolukoista kasvatetut taimet testattiin tavanomaisilla virustestausmenetelmillä taimien ollessa parin kuukauden ikäisiä. Saadut taimet olivat viruksettomia, mutta myöskin ne krysanteemikasvit, joista kasvusolukot otettiin, olivat viruksettomia.

Pääpiirteissään on kuitenkin menetelmä krysanteemin ja neilikan viruksettomien ydinkasvien tuottamiseksi kokeiltu ja todettu käyttökelpoiseksi ja mahdolliseksi toteuttaa meilläkin.

TULOSTEN TARKASTELU

Pohdittaessa virustautien esiintymistä ja runsautta neilikka- ja krysanteeminäytteissä on pidettävä mielessä, että tehdyn tutkimuksen tulokset perustuvat vain v. 1978-1979 otettuihin näytteisiin. Kirjallisuustietojen ja havaintojen mukaan virustautitilanne saattaa vaihdella eri vuosina suurestikin. Esim. sääolot vaikuttavat virustauteja levittävien kirvojen yleisyyteen ja esiintymiseen ja näin ollen välillisesti myös itse virustautien runsauteen.

Tutkimuksista ilmeni, että läikkäviroosi näyttää olevan yleisin virus-tauti neilikalla. Infektio on vaikeasti vältettävissä, koska virus leviää helposti suuren tarttuvuutensa sekä ulkoisten olosuhteiden kestokykynsä takia.

Suoniläikkävirus esiintyi yllättävän runsaasti, vaikka kirjallisuustietojen perusteella se ei ainakaan aiemmin ole ollut yleinen. Esim. Ruotsissa (AHMAN 1969) ja Englannissa (HOLLINGS ym. 1977) virus on todettu ainoastaan muutamina harvinaisuuksina. Nyt tehdyssä tutkimuksessa ilmeni virussaastuntaa erityisen runsaasti pistokkaissa, joiden emokasvit oli viljelty Portugalissa. Ilmeisesti kirvat ovat saastuttaneet emotaimet avomaalla. *Myzus persicae* on tehokas suoniläikkävirusen vektori (HOLLINGS ym. 1977) ja sen mainitaan esiintyvän neilikoissa Portugalissa (ILHARCO 1973). Sitä vastoin ei tiedetä, kuinka tehokkaita muut Etelä-Euroopassa neilikalla esiintyvät kirvat ovat viruksen siirtäjinä.

Vaikka neilikan suoniläikkäviroosia ei nykyisin pidetäkään uhkaavana, sillä saattaa tulevaisuudessa olla enemmän merkitystä. Tämä johtuu siitä, että Englannista ja muistakin Euroopan maista lähetetään neilikan pistokkaita juurrutettavaksi lämpimämmille alueille, esim. Keniaan tai Kanariansaarille, jotta välttyttäisiin Luoteis-Euroopan heikoista kasvuoloista talvikuukausina. Uusissa kasvupaikoissa taimet kasvatetaan joko kokonaan avomaalla tai kevytrakenteisissä kausikasvihuoneissa. Pistokkaat ovat siis alttiina virusvektoreille, joten saattaa olla, että ne saavat virustartunnan ennen kuin ne palautetaan Eurooppaan (HOLLINGS ym. 1977). Nyt tehdyn tutkimuksen perusteella edellä esitetty oletamus näyttää toteutuneen.

Neilikoiden puhdistaminen suoniläikkävirusesta lämpökäsittelyä ja kasvusolukviljelyä käyttäen on suhteellisen helppoa (BRIERLEY 1964 b, STONE 1968 b, HOLLINGS ym. 1977), mutta sen sijaan kirvojen aiheuttama jälkisaastunta näyttää olevan vaikeasti estettävissä.

Valkokirjovirus osoittautui melko yleiseksi: lähes 30 % neilikan pistokkaista oli tämän viruksen infektoimia. Syynä taudin yleisyyteen on ilmeisesti valkokirjoviruksen helppo leviäminen *M. persicae*-kirvan avulla emokasveihin sekä se, että virus on suhteellisen vaikeasti poistettavissa neilikoista lämpökäsittelyä tai meristeemiviljelyä käyttäen (mm. HOLLINGS 1967).

Neilikan rengaslaikkuvirusta havaittiin ainoastaan yhdessä näytteessä. Virus on melko helposti eliminoitavissa lämpökäsittelyn ja meristeemiviljelyn avulla (vrt. KASSANIS 1955, HOLLINGS ja STONE 1965, 1970 a), joten tämä saattaa selittää rengaslaikun vähäisyyden.

Lisäksi eräissä viljelijöiltä saaduissa näytteissä löytyi elektronimikroskooppitutkimuksissa virushiukkasia, jotka ilmeisesti ovat nekroosilaikkuviruksen viruskappaleita. Tämä virus ei siirry helposti mehussa, joten se ei voinut tulla esille ilmaisinkasvitesteissä. Kasvihuoneessa, josta saastuneet neilikat olivat peräisin, ei ollut kirvoja, joten virus on luultavasti tullut pistokkaiden mukana. Kasvit, joissa nekroosilaikkua esiintyi, olivat peräisin Portugalissa kasvatettujen emotaimien pistokkaista. Nekroosilaikkuvirus on vasta äskettäin todettu Euroopassa (RANA ym. 1977), mutta on todennäköistä, että tämä *M. persicae*-kirvan välityksellä leviävä tauti on huomattavasti yleisempi kuin on luultu. Tiedot viruksen esiintymisestä ovat toistaiseksi kuitenkin vähäiset, sillä sen läsnäolo on vaikeasti todettavissa.

Yleensä näytteistä todetut virukset olivat testikasveissa aiheuttamien sa oireiden, lämmönsietorajojensa sekä virushiukkasten muodon ja koon perusteella samanlaisia kuin kirjallisuudessa kuvatut, pääasiallisesti Keski-Euroopasta tavatut virukset. Jotkut pienet eroavaisuudet johtuvat suureksi osaksi testikasvien kasvuolosuhteista.

Neilikan pistokkaiden alkuperään nähden oli havaittavissa melkoisia eroavaisuuksia virustautisuuden suhteen. Teneriffalla ja Länsi-Saksassa tuotetut pistokkaat osoittautuivat erittäin terveiksi, kun sen sijaan ruotsalaiset pistokkaat, joiden lisäys on tapahtunut Portugalissa, olivat hyvin viroottisia. Samankaltaisia havaintoja ovat myös

eräät viljelijät tehneet neilikkakasvustojensa suhteen.

Kiitokset - Antiseerumit neilikan läikkä-, suoniläikkä-, rengaslaiku- ja latenttiviruselle sekä tomaatin aspermiviruselle saatiin tohtori Mogens Christenseniltä (Statens Plantepatologiske Forsøg, Lyngby, Danmark). Antiseerumit neilikan valkokirjoviruksen sekä krysanteemin B-viruksen testaamiseksi luovutti käytettäväksemme tohtori D. Z. Maat (Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen, Nederland) ja antiseerumi neilikan nekroosiläikkäviruselle oli peräisin tohtori G. Ranalta (Istituto Di Patologia Vegetale, Bari, Italia). Kaikille yllämainituille henkilöille esitämme parhaat kiitokset.

Kiitämme myös Kasvintarkastustoimiston henkilökuntaa, joka on suorittanut pistokasnäytteiden keruun maahantuontitarkastusten yhteydessä. Elektronimikroskopointi suoritettiin Helsingin yliopiston elektronimikroskopian laitoksella, jonka henkilökuntaa kiitämme saamastamme avusta.

Rouva Kirsti Niemiselle esitämme parhaat kiitoksemme taitavasta teknisestä avustuksesta tutkimuksessamme.

Jälkimmäinen kirjoittaja kiittää lisäksi Kauppapuutarhaliittoa saamastaan taloudellisesta tuesta.

KIRJALLISUUTTA

- BACHELIER, J. C., MONSION, M. & DUNEZ, J. 1976. Possibilities of improving detection of chrysanthemum stunt and obtaining viroid-free plants by meristem-tip culture. *Acta Hort.* No. 59: 63-69.
- BEN-JAAKOV, J. & LANGHANS, R. W. 1972. Rapid multiplication of chrysanthemum plants by stem tip proliferation. *Hort. Sci.* 7: 289-290.
- BLENCOWE, J. W. & CALDWELL, J. 1946. A new virus disease of the tomato. *Nature* 158: 96.
- & CALDWELL, J. 1949. Aspermy - a new virus disease of the tomato. *Ann. appl. Biol.* 36: 320-326.
- BRANDES, J. 1957. Eine elektronmikroskopische Schnellmethode zum Nachweis faden- und stäbchenförmiger Viren, insbesondere in Kartoffeldunkelkeimen. *Nachr.bl. Deut. Pfl.schutzd. (Braunschweig)* 9: I51-I52.
- BREMER, K. 1978. The carnation mottle virus in Finnish carnations. *Ann. Agric. Fenn.* 17: 36-38.
- BRIERLEY, P. 1964 a. Effects of four viruses on yield and quality of King Cardinal carnations. *Pl. Dis. Rep.* 48: 5-7.
- 1964 b. Heat cure of carnation viruses. *Pl. Dis. Rep.* 48: 143.
 - & SMITH, F. F. 1949. Chrysanthemum stunt. *Phytopath.* 39: 501.
 - & SMITH, F. F. 1951. Survey of virus disease of chrysanthemums. *Pl. Dis. Rep.* 35: 524-526.
 - & SMITH, F. F. 1953. Noordam's B virus of Chrysanthemum detected in the United States. *Pl. Dis. Rep.* 37: 280-283.
 - & SMITH, F. F. 1957. Carnation viruses in the United States. *Phytopath.* 47: 714-721.
- DANESH, D. & GAVGANI, A. M. 1979. Occurrence of carnation mottle virus on carnation in Iran. *Pl. Dis. Rep.* 63: 940-944.
- DIENER, T. O. & LAWSON, R. H. 1973. Chrysanthemum Stunt: A Viroid Disease. *Virology* 51: 94-101.
- DIMOCK, A. W. 1947. Chrysanthemum stunt. *New York State Flower Growers Bull.* 26, 2.
- EARLE, E. D. & LANGHANS, R. W. 1974 a. Propagation of Chrysanthemum in vitro. I Multiple plantlets from shoot tips and the establishment of tissue cultures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 99: 128-131.
- & LANGHANS, R. W. 1974 b. Propagation of Chrysanthemum in vitro. II Production growth and flowering of plantlets from tissue cultures. *J. Amer. Soc. Hort.Sci.* 99: 352-358.
 - & LANGHANS, R. W. 1975. Carnation propagation from shoot tips cultured in liquid medium. *HortScience* 10: 608-610.
- FRITSCH, R. & SCHMELZER, K. 1967. Übertragung des Nelkenringflecken-virus durch Nematoden. *Naturwiss.* 54: 498-499.
- GOVIER, D. A. 1957. The properties of tomato aspermy virus and its relationship with cucumber mosaic virus. *Ann. appl. Biol.* 45: 62-73.

- HAKKAART, F. A. & QUAK, F. 1964. Effect of heat treatment on young plants on freeing chrysanthemums from virus B by means of meristem culture. *Neth. J. Plant Path.* 70: 154-157.
- 1964. Descriptions of symptoms and assesment of loss caused by some viruses in the carnation cultivar 'William Sim'. *Neth. J. Pl. Path.* 70: 53-60.
 - & JORDANOVA, J. 1968. Heat treatment experiments with carnations for the elimination of carnation mottle and etched ring virus. *Neth. J. Pl. Path.* 74: 146-149.
 - & MAAT, D. Z. 1974. Variation of chrysanthemum virus B. *Neth. J. Pl. Path.* 80: 97-103.
- HOLLINGS, M. 1955. Investigation of chrysanthemum viruses. I. Aspermy flower distortion. *Ann. appl. Biol.* 43: 86-102.
- 1957. Investigation of chrysanthemum viruses. II. Virus B (Mild mosaic) and chrysanthemum latent virus. *Ann. appl. Biol.* 45: 589-602.
 - 1967. Virology. Carnation viruses. *Rep. Glasshouse Crops Res. Inst.* 1967: 93-94.
 - & STONE, O. M. 1961. Carnation etched ring: a preliminary report on an undescribed disease. *Rep. Glasshouse Crops Res. Inst.* 1960: 94-95.
 - & STONE, O. M. 1964. Investigation of carnation viruses. I. Carnation mottle. *Ann. appl. Biol.* 53: 103-118.
 - & STONE, O. M. 1965. Investigation of carnation viruses. II. Carnation ringspot. *Ann. appl. Biol.* 56: 73-86.
 - & STONE, O. M. 1970 a. Carnation ringspot virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses.* No. 21, 4 p.
 - & STONE, O. M. 1970 b. Attempts to eliminate Chrysanthemum stunt from Chrysanthemum by meristem-tip culture after heat treatment. *Ann. appl. Biol.* 65: 311-315.
 - & STONE, O. M. 1971. Tomato aspermy virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses.* No. 79, 4 p.
 - & STONE, O. M. 1972. Chrysanthemum virus B. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses.* No. 110, 4 p.
 - & STONE, O. M., ATKEY, P. T. & BARTON, R. J. 1977: Investigations of carnation viruses. IV. Carnation vein mottle virus. *Ann. appl. Biol.* 85: 59-70.
- ILHARCO, F. A. 1973. *Catalogo dos Afideos de Portugal continental.* 134 p. Oeiras.
- INOUE, T. & MITSUHATA, K. 1973. Carnation necrotic fleck virus. *Ber. Ohara Inst. Landw. Biol. Okayama Univ.* 15: 195-205. (Ref. Rev. *Pl. Path.* 53: 574.)
- KASSANIS, B. 1955. Some properties of four viruses isolated from carnation plants. *Ann. appl. Biol.* 43: 103-113.
- KOWALSKA, A. 1972. Studies on the properties of Carnation mottle virus and Carnation ringspot virus isolated in Poland. *Phytopath. Z.* 74: 329-341.
- KRISTENSEN, H. RØNDE. 1962. Chrysanthemum-viroser. *Horticultura* 16: 61-75.
- 1964. Nellike-aetsning. *Plantesygdomme i Danmark. Tidsskr. Pl. avl.* 68: 408.

- LAWSON, R. H., HEARON, S. S. & CIVEROLO, E. L. 1977. Carnation etched ring virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses. No. 182, 4 p.
- LESEMANN, D. 1972. Electron microscopy of crude extracts. J. Gen. Virology 16: 273-274.
- MARTINEZ LOPEZ, G., LA ROTTA, M. C. F. de, HUERTAS, C. A. & LUQUE, C. S. de 1974. (Carnation mottle virus in Colombia.) El virus del moteado del clavel (carnation mottle virus) en Colombia. Fitopath. 9: 105-109. (Ref. Rev. Pl. Path. 54: 5450.)
- MAYHEW, D. E. 1979. Carnation necrotic fleck virus in California. Pl. Dis. Rep. 63: 978-980.
- MURASHIGE, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. Ann. Rev. Pl. Physiol. 25: 135-165.
- & SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15: 473-497.
- NOORDAM, D. 1952. Virusziekten bij Chrysanten in Nederland. Tijdschr. Pl. Ziekt. 58: 121-189.
- OERTEL, C. 1977. Über die Sicherheit bei Routinetesten an Zierpflanzen-Virosen. Arch. Phytopath. und Pfl.schutz 13: 163-176.
- OUCHTERLONY, O. 1964. Gel-diffusion techniques p. 57-78. Immunological methods. 628 p. Oxford.
- PALUDAN, N. 1970. Nellike-aetsning-virus. Kortlaegning, infektionsforsøg, termoterapi og meristemkultur. Tidsskr. Pl. avl 74: 75-86.
- 1971. Etablering af virusfrie meristemkulturer af havebrugsplanter. Tidsskr. Pl. avl 75: 387-410.
 - 1973. Virusfrie chrysanthemumplanter af anerkendte sorter etableret ved varmebehandling og meristemkultur. Tidsskr. Pl. avl 77: 689-696.
 - & REHNSTRØM, F. 1968. Indflydelse af Nellikespaetningvirus på udbytte og kvalitet hos Nellike (*Dianthus caryophyllus*). Tidsskr. Pl. avl 72: 33-41.
- POUPET, A., BECK, D. & MAIA, E. 1970. Preliminary observations on the behaviour of carnation mottle virus on Mediterranean carnations. Ann. Phytopath. 2: 663-668.
- , CARDIN, L. , MARAIS, A. & CADILHAC, B. 1975. La bigarrure de l'oeillet: Isolement et propriétés d'un virus filamenteux. Ann. Phytopath. 7: 277-286.
 - & MARAIS, A. 1973. Isolement et purification du virus de la marbrure des nervures de l'oeillet (carnation vein mottle virus). Ann. Phytopath. 5: 265-271.
- RANA, G. L., CASTELLANO, M. A. & VOVLAS, C. 1977. Carnation necrotic fleck virus (CNFV) in Apulia (Italy). Phytopath. Mediterranea 16: 22-26.
- SMITH, K. M. 1972. A textbook of Plant Virus Diseases. p. 178. 3rd Ed. Academic Press, New York.
- SMOOKLER, M. & LOEBENSTEIN, G. 1974. Carnation yellow fleck virus. Phytopath. 64: 979-984.
- & LOEBENSTEIN, G. 1975. Viruses of carnation identified in Israel. Phytopath. Mediterranea 14: 1-5.

- STONE, O. M. 1968. The elimination of four viruses from carnation and sweet william by meristem-tip culture. *Ann. appl. Biol.* 62: 119-122.
- TOCHIHARA, H., IDEI, T., YABUKI, S. & FUKUMOTS, F. 1975. Properties and distribution of three carnation viruses in Japan. *Ann. Phytopath. Soc. Jap.* 41: 390-399.
- ZANDVOORT, R. 1973. The spread of carnation mottle virus in carnations in glasshouses. *Neth. J. Pl. Path.* 79: 81-84.
- AHMAN, G. 1969. Viroser på nejlikor. *Växtskyddsnot.* 33: 82-86.

