

MARIA KAMIŃSKA

Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach

CHOROBY WIRUSOWE ZŁOCIENIA

Badania nad chorobami wirusowymi *Chrysanthemum morifolium* zapoczątkowane zostały w latach pięćdziesiątych bieżącego stulecia, po opisaniu przez Dimocka w roku 1947 karłowatości złocienia [12]. Wkrótce po odkryciu choroba ta szybko się rozpowszechniła i pod koniec lat czterdziestych stanowiła poważne zagrożenie dla upraw złocieni w USA. W wyniku podjętej walki i wprowadzenia systemu produkcji sadzonek zdrowych już w latach 1954—1956 problem karłowatości złocienia w USA został opanowany [42]. W tym czasie znana była inna groźna choroba złocieni powodowana przez wirus aspermii pomidora, a opisana przez Hollingsa [25] w Anglii i prawie równocześnie przez Brierleya, Smitha i Doolittle [10] w USA. W roku 1950 opisano wirus mozaiki Q [46], a nieco później wirus mozaiki B [55]. Niedawno poznano nową chorobę — chlorotyczną pstrość złocienia, którą w 1971 r. opisali Dimock, Geissinger i Horst [13]. Jak wykazały późniejsze badania, m. in. Dienera i Lawsona [11], Romaine i Horsta [60], chlorotyczna pstrość i karłowatość złocienia powodowane są przez wiroidy, których cząsteczki, w odróżnieniu od cząsteczek wirusów, stanowi kwas nukleinowy bez płaszcza białkowego. Wiroidy mają inne niż wirusy właściwości fizyczne i chemiczne, jednakże objawy chorobowe powodowane przez te grupy patogenów są podobne. Z tego powodu choroby powodowane przez wiroidy zaliczane są do grupy chorób wirusowych.

Wirus aspermii pomidora

Wirus aspermii pomidora (ang. tomato aspermy virus (TAV), kryptogram R/1:*/*:S/S:S/Ap powoduje gospodarczo najważniejszą chorobę wirusową złocieni — aspermię. Hollings i Stone [33] stwierdzają, że występuje ona powszechnie we wszystkich rejonach uprawy złocieni a zwłaszcza w Europie i Azji, natomiast w USA nigdy nie nabrała większego znaczenia. Wg Brierleya i Smitha [7] oraz Hollingsa i Stone [33] aspermia złocienia znana była w Europie już pod koniec lat trzydziestych. Jako pierwsi opisali ją Ainsworth, Selman oraz Blencowe i Caldwell. Synonimami tego wirusa są: *chrysanthemum mosaic virus*,

Lycopersicon virus 7, *Cucumis virus 1 var chrysanthemum* lub *chrysanthemum aspermy virus* [33].

Wirus aspermii powoduje na złocieniach różnorodne typy objawów chorobowych. Najczęściej są to zdrobnienia, deformacje i zmiany w zabarwieniu kwiatów [25, 55, 16, 56, 53], a tylko niekiedy (głównie wczesną wiosną) występuje zahamowanie wzrostu i ogólna chloroza roślin [25, 63]. Według Hollingsa [25] najbardziej diagnostyczną cechą TAV są objawy na kwiatach, chociaż nawet w obrębie tej samej odmiany istnieje duża zmienność objawów. Z doświadczeń nad szkodliwością wirusa aspermii, przeprowadzonych przez Horsta, Langhansa i Smitha [40] wynika, że rośliny chore miały mniejsze kwiaty (o 5%) i krótsze szypułki (o 11%) niż zdrowe oraz obniżony plon świeżej masy (o 18%).

U większości odmian objawy chorobowe występują przeważnie w drugim roku po zakażeniu [16, 56, 33], a ich obecność lub brak zależą nie tylko od odmiany, ale także od rośliny, a nawet pędu, z którego pobrano sadzonki [25]. Mokra [53] podaje, że zakażeniu TAV ulega od 33 do 93% pędów na roślinie. Na występowanie lub brak symptomów mają wpływ koncentracja i powolne, nieregularne przemieszczania się wirusa, które zależą od pory roku [56]. Z badań Oertela [56] wynika, że TAV porażone jest około 49% złocieni. Wg Mokrej [53] odmiany starsze opanowane są w 100%, natomiast u młodszych porażone jest średnio 37% roślin.

Wielu badaczy donosi o przenoszeniu TAV przez szczepienie oraz zakażaniu w sposób mechaniczny przez sok [7, 55, 4, 16, 33, 53]. Jedną z przyczyn powszechnego występowania choroby jest przenoszenie wirusa przez kilka gatunków mszyc w sposób nietrwały [33]. Mszyce nabywają zdolność do zakażenia roślin zdrowych już po 15 sek. żerowania na roślinie chorej i zachowują ją przez 30 min.; głodzone do 75 min. [10, 25, 16, 33]. Istnieje różnica między izolatami wirusa aspermii co do łatwości przenoszenia ich przez mszyce. Niektóre izolaty po wielokrotnym pasażowaniu tracą tę zdolność całkowicie i nie mogą być przenieszone przez owady [25]. Badania nad zapobieganiem przenoszenia TAV przez mszyce za pomocą insektycydów, pasów folii aluminiowej i oprysków olejem prowadził Hakkaart [20], jednakże nie dały one zadowalających wyników.

Wirus aspermii pomidora ma szeroki zakres roślin żywicielskich. W warunkach naturalnych, poza pomidorem i złocieniami, występuje m. in. na chwastach [25], *Ageratum houstonianum* Mill. [56] i cyklamine [44]. Eksperymentalnie wirusa przeniesiono na około 100 gatunków roślin zielonych, głównie z rodziny *Chenopodiaceae*, *Compositae* i *Solanaceae* [55, 10, 16, 2], przy czym między poszczególnymi izolatami wirusa istnieją znaczne różnice co do zakresu roślin żywicielskich i ostrości objawów chorobowych [33].

Wirus aspermii pomidora ma następujące właściwości *in vitro*: jego inaktywacja termiczna następuje przy temperaturze 50—70°C zależnie od szczepu i wyjściowej koncentracji wirusa [55, 25, 33]. Punkt granicznego rozcieńczenia wirusa w soku tytoniu wynosi około 10^{-4} — 10^{-6} , a w soku złoćieni tylko 10^{-2} — 10^{-3} [33]. Trwałość wirusa w temperaturze 20°C waha się od 1—6 [16, 2, 53] do 14 dni [25], a 9—12 miesięcy w temperaturze —5°C [33].

W literaturze znanych jest kilka sposobów oczyszczania TAV dających dobre wyniki. Opisują je m. in. Hollings, Stone i Brunt [35], Stace-Smith i Tremaine [61] oraz Habili i Francki [17]. Właściwości immunogenne TAV są podobne do właściwości immunogennych CMV [19]. Precypitaty TAV stanowią granule. Podczas immunnej elektroforezy wirus przemieszcza się do katody [33]. W żelu agarowym dyfunduje i tworzy zasadniczo jedną linię precypitacji [33] a niekiedy dwie [61]. Występuje duża zmienność we właściwościach serologicznych izolatów wirusa aspermii pomidora. Niektóre z nich reagują z surowcami nawet o wąskim spektrum, inne nie reagują z żadną specyficzną antysurowicą lub są spokrewnione tylko z typowym szczepem Blencowe i Caldwell. Surowice o szerokim spectrum, a niekiedy i o wąskim, wykazują wzajemne ochronne działanie [35].

Mimo istnienia podobieństwa wirusa aspermii pomidora z wirusem mozaiki ogórka (CMV) pod względem wielu cech fizycznych i chemicznych [24, 61, 17, 18] poglądy na temat pokrewieństwa tych wirusów są zróżnicowane. Serologiczne pokrewieństwo CMV z izolatami TAV stwierdzili m. in. Noordam [55], Govier [16] i Lawson [48], podczas gdy inni badacze takiego związku nie wykazali [56, 19]. Różnice w pokrewieństwie TAV i CMV występują także przy zastosowaniu testów wzajemnego antagonizmu na roślinach. Istnieje pogląd, że występowanie lub brak reakcji w testach serologicznych lub w testach wzajemnego antagonizmu zależą od użytych szczepów TAV i CMV, kolejności inokulacji i roślin testowych, a także pory roku [55, 25, 16, 18].

Stała sedymentacji cząsteczek wirusa aspermii pomidora wynosi 98S, stała dyfuzji $1,49 \times 10^{-7}$ cm²/sek, a ciężar cząsteczkowy $5,3 \times 10^{-6}$ daltonów [61]. Wirus ma cząsteczki izometryczne takie same jak wirus mozaiki ogórka, o średnicy $29,0 \pm 0,28$ nm [19]. W porównaniu do CMV cząsteczki TAV są bardziej odporne na działanie RNA-zy. W obecności jonu Mg²⁺ ulegają stabilizacji zaś EDTA powoduje ich degradację. W roztworach soli sodowej siarczanu dodecyłu o niskich stężeniach cząsteczki TAV ulegają dysocjacji [18].

W skład cząsteczek wirusa aspermii pomidora wchodzi białko i kwas rybonukleinowy. Otoczka białka składa się ze 180 podjednostek o ciężarze cząsteczkowym (SDS) 24 500 daltonów [19]. Kwas nukleinowy TAV

jest pojedynczo skręcony o procentowym składzie nukleotydów G 23,7, A 26,4, C 21,2, U 28,7 [61]. Stace-Smith i Tremaine [61] stwierdzili, że kwas nukleinowy stanowi 17,7% TAV, natomiast zawartość RNA badana metodą Sehgal'a i współpracowników wynosi 23,8% [19].

Wirus aspermii pomidora poraża wszystkie tkanki rośliny, występuje w plazmodesmach i często tworzy agregaty [50]. Koncentracja wirusa w złocieniach jest zmienna, zależy od pory roku i odmiany i ma wpływ na występowanie objawów chorobowych [56, 25, 64]. W porażonych złocieniach wirus przemieszcza się nierównomiernie i powoli [53]. W największej koncentracji wirus występuje w fizjologicznie najmłodszych, nie w pełni rozwiniętych liściach [25, 56], a zwłaszcza w kwiatach [64].

Roślinami najbardziej przydatnymi do wykrywania obecności TAV w złocieniach są: *Nicotiana tabacum* 'Samsun', *N. glutinosa*, *Petunia hybrida* i *Chenopodium quinoa* [55, 25, 16, 56, 15, 53, 45]. Szerokie zastosowanie w testowaniu złocieni na obecność TAV mają metody serologiczne [48, 56, 64, 41]. Wprawdzie wykrywalność TAV w złocieniach jest wyższa przy zastosowaniu testów biologicznych niż serologicznych, jednakże te ostatnie mają tę przewagę nad biologicznymi, że są bardziej ekonomiczne i mniej czasochłonne. Mogą być stosowane niezależnie od wieku materiału roślinnego, nawet latem [41], kiedy wirus występuje w małej koncentracji i trudno go wyizolować z roślin złocieni [64]. Najlepszych jednak wyników, zdaniem Oertela [56], można oczekiwać tylko w okresie od listopada do marca. Wirusa aspermii pomidora można wyeliminować ze złocieni po kilku tygodniach termicznego ich odkażania [27, 15, 33], metodą kultur tkankowych [15, 54, 33] lub po zastosowaniu obu tych metod [56, 58].

Wirusy mozaik złocienia

W literaturze fitopatologicznej opisano wiele chorób powodujących mozaikę lub rozetowatość złocieni: wirus B złocienia, wirus Q złocienia, dwa wirusy rozetowatości, trzy mozaiki i wirus pstrości nerwów złocienia. Choroby te są słabo zbadane, a stosunkowo najwięcej informacji jest na temat wirusa B.

Wirus B złocienia

Wirus B złocienia (ang. chrysanthemum virus B — CVB) — kryptogram x/x:x/x:E/E:S/Ap. opisany został po raz pierwszy przez Noordama [55] w Holandii. Niekiedy w użyciu jest nazwa chrysanthemum mild

mosaic virus [26, 34]. Brierley i Lorentz [63] sugerują, że wirus B złocienia, podobnie jak wirus aspermii, pochodzi z Dalekiego Wschodu. Rozpowszechniony jest we wszystkich rejonach uprawy złocieni, a w wielu krajach porażone są prawie wszystkie odmiany [26, 34, 23, 15].

Istnieje różnica zdań co do objawów chorobowych powodowanych przez wirus B, gdyż wielu badaczy opisywało je na złocieniach porażonych równocześnie innymi chorobami [55, 25, 26]. Najczęściej wirus B powoduje lekką mazaikę lub przejaśnienie nerwów liści [8, 56]. Szczególnie wyraźne symptomy — przejaśnienie nerwów — występują na liściach roślin odmiany Fanfare, Good News i Mistletoe, podczas gdy inne, jak np. Blanche, nie wykazują objawów chorobowych [34]. Niektóre odmiany mają kwiaty mniejsze i słabiej wybarwione niż kwiaty roślin zdrowych, a niekiedy wykazują deformacje i nekrozy pojedynczych kwiatków [4]. Wirus powoduje spadek plonu świeżej masy roślin średnio o 17%, skrócenie długości szypułek kwiatowych o 11% i zmniejszenie średnicy kwiatów o 4% [40].

Wirus B złocienia jest przenoszony przez mszyce [8, 52, 26]. Właściwości infekcyjnych nabiera mszyca po 2—5 min. żerowania, a traci je w ciągu 30 lub 60 min. Z roślin chorych na zdrowe CVB może być przenoszony w sposób mechaniczny [55, 8, 26, 54]. Nie stwierdzono przenoszenia wirusa przez nasiona i kaviankę [34].

Wirus B złocienia ma wąski zakres roślin żywicielskich i poraża kilkanaście gatunków roślin zielnych [26, 55]. Spośród wszystkich znanych roślin żywicielskich, najlepszą rośliną wskaźnikową dla CVB jest *Petunia hybrida*. Reaguje ona na wirus B niewielkimi, żółtawymi, lokalnymi plamami występującymi po 2 do 5 tygodni od inokulacji [55, 26, 23, 53, 15]. Reakcja roślin *Petunia* znalazła zastosowanie w badaniach nad wykrywaniem obecności CVB w złocieniach, chociaż nowsze wyniki badań Hakkaarta [21] wskazują, że najlepsze rezultaty można uzyskać dopiero po zastosowaniu metody serologicznej i elektronomikroskopowej. Często stosowane jest testowanie złocieni przez szczepienie na odmianach wskaźnikowych Fanfare i Good News.

Właściwości *in vitro* wirusa B złocienia badane przez różnych autorów są zbliżone. Wirus ulega inaktywacji w temperaturze od 70 do 80°C, jego punkt granicznego rozcieńczenia wynosi 10^{-2} — 10^{-4} , a trwałość w temperaturze 20°C — 1—6 dni [55, 26, 34]. W zliofilizowanym soku *N. clevelandii* zachowuje infekcyjność przynajmniej 18 miesięcy [34].

Prace nad oczyszczaniem wirusa B prowadziło wielu badaczy, a stosunkowo najlepsze wyniki uzyskali Hakkaart i wsp. [24], Oertel [56] oraz Hollings i wsp. [30]. Wirus ma dobre właściwości immunogenne i używając dobrze oczyszczonych preparatów wirusa można otrzymać

surowicę o mianie 1:131 072 [30]. Zdaniem badaczy [37, 57] najlepsze wyniki uzyskuje się w testach precypitacji. W testach podwójnej dyfuzji w żelu agarowym wirus źle dyfunduje i nie powinien być stosowany [34, 56, 58]. Wirus B jest serologicznie spokrewniony z wirusem utajonym goździka i wirusami ziemniaka S i M [24] i na tej podstawie zaliczony został do grupy utajonego wirusa goździka (ang. carnation latent virus (carlavirus), chociaż zakresy roślin żywicielskich tych wirusów nie pokrywają się. Hollings i Stone [34] podają, że cząsteczki CVB są pałeczkowate, o długości 685 nm i szerokości 12 nm. W porównaniu z cząsteczkami utajonego wirusa goździka są bardziej giętkie, a w kwasie fosforowo-wolframowym wykazują tendencję do fragmentacji.

Brak jest informacji na temat składników cząsteczek wirusa. Jedyne przez analogię do serologicznie spokrewnionych wirusów można sądzić, że w skład cząsteczek wirusa B złościa wchodzi RNA. Współczynnik sedimentacji S_{20} , wynosi około 168S [34].

Próby uwolnienia złościa od CVB prowadzone były przez wielu badaczy z różnym powodzeniem. Stosując termiczne odkażanie można było uwolnić rośliny od wirusa dopiero po dłuższym czasie. 4—8-tygodniowy okres termicznego odkażania, wystarczający do uwolnienia roślin od TAV, jest zbyt krótki, aby wyeliminować CVB [6, 15, 26, 27, 56]. Kilku badaczy [15, 23] uwolniono część roślin od wirusa B rozmnażając je za pomocą kultur tkankowych, jednakże znacznie lepsze wyniki uzyskano stosując najpierw termiczne odkażanie a następnie rozmnażanie ze stożków wzrostu i testowanie [23, 34, 58].

Wirus Q złościana

Wirus Q złościa został opisany przez Kellera w USA [46]. Występuje on także na odmianach europejskich [7] i powoduje mozaikę liści, przejaśnienie nerwów i zahamowanie wzrostu. Niektóre odmiany, jak np. Blanche, są porażone wirusem Q całkowicie i nie wykazują symptomów. Natomiast bardzo wyraźne objawy chorobowe w formie otaśmienia nerwów występują na roślinach odmiany Mistletoe i Good News w 6—9 tygodni po szczepieniu. Odmiany te zalecane są przez Brierleya i Smitha [7] do wykrywania obecności wirusa Q w złościach.

Wirus Q przenosi się przez szczepienie i mechanicznie z sokiem chorych roślin [7]. W warunkach doświadczalnych zakażono nim cynerarię i *Chrysanthemum parthenium* var. *flosculosum* oraz petunię. Istnieje pogląd [8, 52], że wirus Q jest szczepem wirusa B lub że wirus B zawsze występuje w towarzystwie wirusa Q w złościach.

Pstrość nerwów złożenia

Pstrość nerwów złożenia (ang. chrysanthemum vein mottle) opisał Hollings [26]. Choroba ta jest rozpowszechniona i dość szkodliwa ze względu na to, że na niektórych odmianach powoduje silną pstrość, przejaśnienie nerwów i mozaikę liści, widoczne przez cały okres wegetacji [26, 28]. Wirus pstrości nerwów złożenia jest podobny do wirusa B pod względem reakcji kilku roślin żywicielskich, a zwłaszcza roślin *Petunia* [26]. Do wykrywania obecności wirusa pstrości mogą być użyte odmiany złożenia Fanfare, Good News i Mistletoe, na których w 6—10 tygodni po zakażeniu występuje silna mozaika, a czasami deformacje i karłowatość [26, 14, 34]. Wirus jest przenoszony przez mszyce znacznie łatwiej niż przez sok [26]. Podobnie jak w przypadku CVB, złożenie porażone można uwolnić od wirusa chlorotycznej pstrości nerwów stosując termiczne odkażanie połączone z rozmnażaniem metodą *in vitro*.

Do grupy mozaik zaliczane są karłowa i nekrotyczna pstrość złożenia (ang. chrysanthemum dwarf and necrotic mottle [28]) oraz kilka chorób opisanych przez Brierleya i Smitha [9], a niekiedy wymienianych i przez innych badaczy: mozaika z Yellow Darty, mozaika z Nightingale, mozaika z John Cooper oraz rozetowatość z Yellow Rayonante i rozetowatość Ivory Seagull.

Przedstawione choroby z grupy mozaik różnią się między sobą głównie objawami chorobowymi na odmianach złożenia, łatwością przenoszenia w sposób mechaniczny i możliwościami eliminowania z roślin podczas termicznego ich odkażania. Wspólną cechą wirusów z grupy mozaik jest wielkość i kształt cząsteczek oraz zdolność do zakażenia roślin *Petunia* i wywoływania na nich podobnych objawów chorobowych [22]. Wymienione właściwości, jak również brak różnic serologicznych między tymi wirusami, skłoniły Hakkaarta i Maata [22] do stwierdzenia, że zarówno badane przez nich izolaty wirusa B, wirusy opisane przez Hollingsa i wsp. [28], jak również wirusy opisane przez innych badaczy pod nazwami mozaik i rozetowatości [6, 9] oraz wirus Q opisany przez Kellera [46] są szczepami wirusa B. Również Hollings [26] uważa, że wirusy B, Q i pstrości nerwów złożenia wchodzi w skład jednej grupy wirusów.

Wiroid karłowatości złożenia

Objawy karłowatości złożenia (ang. chrysanthemum stunt viroid-CV), kryptogram (R)/(1):x/100:x/x:S/x zostały po raz pierwszy zaobserwowane w 1945 r. przez Dimocka [12] w New York. W ciągu pierw-

szych 3—4 lat po odkryciu choroba występowała bardzo powszechnie, powodowała duże straty i stanowiła poważne zagrożenie dla upraw złocieni w USA [3]. W latach następnych wystąpiła w Kanadzie i Europie. Początkowo uważano, że przyczyną choroby jest wirus, jednakże jak wykazały późniejsze badania Dienera i Lawsona [11], karłowatość złocienia powodowana jest nie przez wirus, lecz przez wiroid.

Objawy karłowatości na złocieniach są na ogół mało specyficzne i mogą być mylone z objawami powodowanymi przez różne czynniki klimatyczne i agrotechniczne. Nasilenie objawów jest zmienne i lepiej ujawnia się na roślinach w późniejszych stadiach choroby lub roślinach zmuszonych do szybkiego wzrostu, niż na roślinach wolno rosnących. Na roślinach chorych najczęściej obserwuje się jasne, do góry wzniesione młode liście i ogólne zahamowanie wzrostu, zdrobnienie liści oraz zdrobnienie i przedwczesne rozwijanie się kwiatów, zmiany w zabarwieniu kwiatów, nadmierną proliferację pędów bocznych i zwiększoną produkcję stolonów [12, 42, 62, 51]. CSV opóźnia inicjację korzeni podczas sadzonkowania i powoduje zmniejszenie świeżej masy roślin średnio aż o 29%, skrócenie długości pędów kwiatowych o 15% i zmniejszenie średnicy kwiatów o 9% [40]. Choroba jest stosunkowo mało groźna w uprawach złocieni na kwiat, bo jej symptomy ukazują się w 6—8 miesięcy po infekcji. Z tego samego względu istnieje duże niebezpieczeństwo rozmnażania materiału chorego [42].

Jedną z przyczyn szybkiego rozpowszechniania się choroby jest łatwość przenoszenia patogena w sposób mechaniczny [1, 49, 59]. Bardzo łatwo przenosi się też przez szczepienie [51] lub implantację tkanek, która stanowi modyfikację metody szczepienia [14, 40]. W warunkach naturalnych choroba rozprzestrzenia się podczas wykonywania zabiegów pielęgnacyjnych i wzajemnego ocierania się roślin [42, 46].

Spośród badanych około 100 gatunków i odmian, głównie z rodziny *Compositae*, zakażeniu przez CSV uległo 40, ale tylko 8 wykazało symptomy [3, 37, 46]. Było to 5 gatunków lub odmian *Chrysanthemum*, 2 gatunki *Senecio* i *Verbesina enceloides*.

Wiroid karłowatości jest bardzo termostabilny i nie traci właściwości infekcyjnych w czasie gotowania. Zachowuje infekcyjność także podczas 1 godz. ekstrakcji z etanolem lub 2-letniego przechowywania w suchych liściach. Graniczny punkt rozcieńczenia wiroidu waha się od 10^{-2} [62] do 10^{-5} [5]. Jego trwałość w soku roślinnym w temperaturze pokojowej wynosi ponad 7 tygodni [42] a w liofilizatach około 6 lat [32].

Nie powiodły się pierwsze próby z oczyszczaniem czynnika chorobotwórczego. Dopiero w 1968 r. Hollings i Stone [29] uzyskali wysoko infekcyjny preparat patogena ekstrahując liście złocieni 'Mistletoe'

w roztworze 0,1M buforu fosforanowego. Ekstrakty sporządzone przy użyciu 0,02M buforu nie miały właściwości infekcyjnych. Po potraktowaniu RNA-zą patogen traci właściwości infekcyjne, natomiast jest odporny na działanie DNA-zy, a w obecności etanolu ulega precypitacji [29, 11]. Ciężar cząsteczkowy CSV wynosi $4,7-4,8 \times 10^4$ daltonów [11]. Mimo licznych prób czynnik wywołujący karłowatość złożenia nie został wyizolowany z rośliny. Także badania elektronomikroskopowe ultracienkich skrawków i ekstraktów z porażonych roślin nie wykazały obecności ani inkluzji, ani cząsteczek podobnych do wirusów [29, 51, 62].

Wiroid karłowatości jest wykrywany w złożeniach na podstawie wyników testowania przez szczepienie lub implantację tkanek na charakterystycznie reagujące odmiany *Ch. morifolium* [46, 51, 62]. Najbardziej przydatne do testowania są odmiany Blazing Gold, Mistletoe, Vibrant i Blanche, jeśli ta ostatnia jest porażona wirusem Q, w obecności którego wiroid karłowatości wykazuje charakterystyczne symptomy [42]. Objawy karłowatości występują dopiero po 4—5, a nawet 8 tygodniach od szczepienia, zależnie od temperatury i intensywności oświetlenia [62, 37]. Przy temperaturze 25—28°C i wysokiej intensywności światła — 20 000 lx, można wykrywać wiroid po 20 dniach od zakażenia na złożeniach odmiany Mistletoe lub roślinach *Gynura aurantiaca* [1]. Dwie inne odmiany złożeń — Bonnie Jean i Sunfire, w wymienionych warunkach wykazują objawy po 15—20 dniach od inokulacji [1].

Pierwsze rośliny uwolnione od wiroidu karłowatości przy pomocy termicznego odkażania i rozmnażania z tkanek wierzchołkowych uzyskali Hollings i Stone [31], Paludan [59] oraz Bachelier i wsp. [1]. Trudności z uwolnieniem złożeń od wiroidu karłowatości wynikają stąd, że merystemy pobrane ze złożeń porażonych karłowatością rosną bardzo powoli, a ich przeżywalność jest bardzo mała. Ponadto ze względu na dużą trwałość i infekcyjność patogena są trudności z zachowaniem warunków aseptycznych i niedopuszczeniem do wtórnej infekcji [42]. Najbardziej skutecznym sposobem zwalczania karłowatości złożeń jest selekcja negatywna, oparta na testowaniu i zakładaniu mateczników o kontrolowanej zdrowotności.

Wiroid chlorotycznej pstrości złożenia

Objawy chlorotycznej pstrości złożeń zostały po raz pierwszy zaobserwowane w 1967 roku w USA przez Dimocka na odmianie Yellow Delaware [13]. Początkowo uważano, że choroba powodowana jest przez wirus, który nazwali wirusem chlorotycznej pstrości złożeń (ang. chrysanthemum chlorotic mottle virus — CCMV) kryptogram (R)/(1):*/

100:x/x:S/x. Dalsze prace wykazały, że podobnie jak w przypadku karłowatości przyczyną choroby jest nie wirus, lecz wiroid, posiadający kwas nukleinowy prawdopodobnie pojedynczo skręcony, bez płaszcza proteinowego [60]. Świadczy o tym wrażliwość patogena na działanie RNA-zy, a brak reakcji na działanie DNA-zy [43], odporność na działanie związków organicznych, jak również właściwości sedymentacyjne typowe dla innych wiroidów [11]. Także badania elektronomikroskopowe nie wykazały obecności cząsteczek wirusopodobnych w tkankach chorych roślin [13].

Chlorotyczna pstrość złocienia występuje tylko na roślinach *Chrysanthemum morifolium* [47] i powoduje pstrość, a często całkowitą chlorozę liści, co może być mylone z objawami niedoboru składników pokarmowych. Niektóre odmiany wykazują karłowatość, zdrobnienie liści i kwiatów, słaby wzrost sadzonek i opóźnione kwitnienie [40]. Nie znane są odmiany złocieni odporne na CCMV, chociaż różnią się one między sobą intensywnością symptomów, a niektóre nie wykazują ich wcale [13, 42]. Przeciętnie plon świeżej masy roślin chorych, w porównaniu do zdrowych jest mniejszy o około 10%, a pędy skrócone o 5% [40]. Najbardziej wyraźne symptomy występują na roślinach z grupy Ridge i Delaware, które są stosowane jako odmiany wskaźnikowe [13, 59]. Rozwój objawów chorobowych trwa około 40 dni [59] i zależy od temperatury i światła [13, 39, 40, 47]. Silne objawy chorobowe rozwijają się przy 12-godzinnym dniu o natężeniu światła 10 000 lx. i temp. 24—27°C. Natomiast w innych temperaturach, a zwłaszcza w temp. poniżej 21°C i intensywności światła mniejszej niż 5 000 lx, na roślinach zakażonych nie występują żadne symptomy.

Właściwości *in vitro* CCMV określone przez Kryczyńskiego, Horsta i Dimocka [47] są następujące: punkt granicznego rozcieńczenia wynosi około 10^{-1} — 10^{-3} , temperatura inaktywacji około 95°C. Trwałość patogena w temp. pokojowej wynosi tylko 30 min. a w temp. 0°C — 4 godz. Wiroid chlorotycznej pstrości złocienia jest przenoszony przez sok [58], przy czym efektywność przenoszenia znacznie wzrasta, jeżeli jest ono wykonywane w niskiej temperaturze w roztworze 1% bentonitu [47, 13, 60], boraksu, fenolu lub EDTA [43]. Optymalny odczyn ekstraktu stosowanego przy mechanicznym zakażeniu wynosi 7,5 [43]. Bardzo łatwo przenosi się CCMV przez szczepienie [59] lub implantację tkanek. W warunkach naturalnych patogen przenosi się na rękach i narzędziach podczas wykonywania zabiegów pielęgnacyjnych, a przede wszystkim przez rozmnażanie roślin chorych [42]. Zwalczanie CCMV, podobnie jak CSV, polega na zakładaniu mateczników z roślin o kontrolowanej zdrowotności.

W roku 1975 Horst [38] stwierdził, że niektóre klony odmiany Deep

Ridge zakażone mechanicznie lub przez implantację tkanki wiroidem chlorotycznej pstrości złożenia pochodzącym z roślin z symptomami tego patogena, nawet w optymalnych warunkach nie wykazują objawów chorobowych. Badacz uznał, że istnieje utajony szczep wiroidu chlorotycznej pstrości złożenia (ang. chrysanthemum chlorotic mottle viroid — nonsymptomatic CCMV-NS), który zabezpiecza rośliny przed zakażeniem szczepem CCMV wykazującym silne objawy. Patogen ten nie powoduje żadnych widocznych symptomów i nie jest wykrywalny jedynie dlatego, że zapobiega wystąpieniu objawów CCMV. Całkowite działanie ochronne ze strony CCMV-NS występuje po 8 dniach inkubacji w temp. 21°C. Poza odmianą Deep Ridge obecność tego patogena została stwierdzona u odmiany Albatross, Mefo, Good News [38] oraz Yellow Fred Shoemith [40]. Występowanie utajonych szczepów CCMV ma duże znaczenie gospodarcze. Ich obecność uniemożliwia wykrycie szczepów powodujących objawy chorobowe.

Inne choroby wirusowe

Z innych chorób wirusowych stwierdzonych na złożeniach wymienić należy: utajony wirus złożenia, wirus brązowej plamistości pomidora, wirus mozaiki tytoniu, wirus nekrozy tytoniu, wirus pierścieniowej plamistości tytoniu, wirus mozaiki ogórka, utajony wirus komosy oraz wirusy C, D i E. Kilkakrotnie też opisywano na złożeniach choroby o nazwie żółtaczka astra, „greenflower virus” i „flower-distortion virus” powodowane prawdopodobnie przez ciała mykoplazmopodobne. Choroby te występują na złożeniach bardzo rzadko, a straty przez nie powodowane są niewielkie. Literatura na ich temat jest bardzo skąpa, a często są to wyniki pojedynczych obserwacji.

LITERATURA

1. Bachelier J.C., Monsion M., Dunez J.: Possibilities of improving detection of chrysanthemum stunt and obtention of viroid-free plants by meristem-tip culture. Fourth Intern. Symp. Virus Diseases of Ornamental Plants, Noordwijkerhout, 3—8 May, 1976, Acta Horticulturae 59, 63—70, 1976.
2. Błaszczak W., Fiodorow Z.: Wirus mozaiki ogórka (*Marmor cucumeris* var. *vulgare* Holmes) na dzwonku bolońskim (*Campanula boloniensis* L.) i złożeniu ogrodowym (*Chrysanthemum indicum* L.). Zesz. Probl. Post. Nauk roln. 94, 197—209, 1969.
3. Brierley P.: Some experimental hosts of the chrysanthemum stunt virus. Plant. Dis. Repr. 37, 343—345, 1953.
4. Brierley P.: Symptoms induced in chrysanthemums on inoculation with the viruses of mosaic, aspermy, and flower distortion. Phytopathology 45, 2—7, 1955.

5. Brierley P.: Revision of some plant virus property values. *Plant Dis. Repr.*, 47, 445, 1963.
6. Brierley P., Lorentz P.: Healthy tip cuttings from some mosaic-diseased Asiatic chrysanthemums; some benefits and other effects of heat treatment. *Phytopathology* 50, 404—408, 1960.
7. Brierley P., Smith F.F.: Survey of virus diseases of chrysanthemums. *Plant Dis. Repr.* 35, 524—526, 1951.
8. Brierley P., Smith F.F.: Noordam's B virus of chrysanthemum detected in the United States. *Plant Dis. Repr.* 37, 280—283, 1953.
9. Brierley P., Smith F.F.: Some characteristics of eight mosaic and two rosette viruses of chrysanthemum. *Plant Dis. Repr.* 42, 752—63, 1958.
10. Brierley P., Smith F.F., Doolittle S.P.: Some hosts and vectors of tomato aspermy virus. *Plant Dis. Repr.* 39, 152—156, 1955.
11. Diener T.O., Lawson R.H.: Chrysanthemum stunt: a viroid disease. Third. Intern. Symp. Virus Diseases Ornamental Plants, College Park, 11—15 September 1972, *Acta Horticulturae*, 36, 123—134, 1974.
12. Dimock A.W.: Chrysanthemum stunt. *N.Y. State Flower Grow. Bull.* 26, 2, 1947.
13. Dimock A.W., Geissinger C.M., Horst R.K.: Chlorotic mottle: a newly recognized disease of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium*). *Phytopathology*, 61, 415—419, 1971.
14. Dimock A.W., Geissinger C.M., Horst R.K.: A new adaptation of tissue implantation for the study of virus and mycoplasma diseases. *Phytopathology* 61, 429—430, 1971.
15. Dunez J., Monsion M.: Possibilités de regeneration de Chrysanthemes contaminés par les virus de l'Aspermie et de la Mosaïque. *Ann. Epiphyties*, 19, 165—175, 1968.
16. Govier D.A.: The properties of tomato aspermy virus and its relationship with cucumber mosaic virus. *Ann. appl. Biol.* 45, 62—73, 1957.
17. Habili N., Francki R.J.B.: Comparative studies on tomato aspermy virus and cucumber mosaic virus. I. Physical and chemical properties. *Virology* 57, 392—401, 1974.
18. Habili N., Francki R.J.B.: Comparative studies on tomato aspermy and cucumber mosaic viruses. II Virus stability. *Virology* 60, 29—36, 1974.
19. Habili N., Francki R.J.B.: Comparative studies on tomato aspermy and cucumber mosaic viruses. IV Immunogenic and serological properties. *Virology* 64, 421—429, 1975.
20. Hakkaart F.A.: Effect of aluminium strips on the spread of two aphid-borne chrysanthemum viruses. *Neth. J. Plant Path.* 73, 181—185, 1967.
21. Hakkaart F.W.: A comparison of electron microscopy and serology with infectivity tests for the detection of Chrysanthemum virus B. *Neth. J. Plant Path.* 75, 355—359, 1969.
22. Hakkaart F.A., Maat D.J.: Variation of chrysanthemum virus B. *Neth. J. Plant Path.* 80, 97—103, 1974.
23. Hakkaart F.A., Quak F.: Effect of heat treatment of young plants of freeing chrysanthemums from virus B by means of meristem culture. *Neth. J. Plant Path.* 70, 154—157, 1964.
24. Hakkaart F.A., van Slogteren D.H.M., de Vos N.P.: Chrysanthemum virus B, its serological diagnosis in chrysanthemum and its relationship to

- the potato virus S and to carnation latent virus. Tijdschr. Pl. Ziekt. 63, 126—135, 1962.
25. Hollings M.: Investigation of chrysanthemum viruses. I. Aspermy flower distortion. Ann. appl. Biol. 43, 86—102, 1955.
 26. Hollings M.: Investigation of chrysanthemum viruses. II. Virus B (mild mosaic) and chrysanthemum latent virus. Ann. appl. Biol. 45, 589—602, 1957.
 27. Hollings M., Kassanis B.: The cure of chrysanthemums from some virus diseases by heat. J. Roy. hort. Soc. 82, 339—342, 1957.
 28. Hollings M., Stone O.M.: Chrysanthemum viruses-leaf mottling complex (chrysanthemum vein mottle, dwarf mottle, necrotic mottle and virus B). Rep. Glasshouse Crops Res. Inst. 1966, 93, 1967.
 29. Hollings M., Stone O.M.: Chrysanthemum viruses. Rep. Glasshouse Crops Res. Inst. 1968, 103—104, 1969.
 30. Hollings M., Stone O.M.: Chrysanthemum. Rep. Glasshouse Crops Res. Inst. 1969, 128—129, 1970.
 31. Hollings M., Stone O.M.: Attempts to eliminate chrysanthemum stunt from chrysanthemum by meristem-tip culture after heat treatment. Ann. appl. Biol. 65, 311—315, 1970.
 32. Hollings M., Stone O.M.: The long-term survival of some plant viruses preserved by lyophilization. Ann. appl. Biol. 65, 411—418, 1970.
 33. Hollings M., Stone O.M.: Tomato aspermy virus CMI/AAB. Descr. Plant Viruses 79, 4p., 1971.
 34. Hollings M., Stone O.M.: Chrysanthemum virus B. CMI/AAB Descr. Plant Viruses 110, 4p., 1972.
 35. Hollings M., Stone O.M., Brunt A.A.: Chrysanthemum viruses. Rep. Glasshouse Crops Res. Inst. 1967, 95—98, 1968.
 36. Hollings M., Stone O.M., Norrish M.E.: Chrysanthemum, Rep. Glasshouse Crops Res. Inst. 1962, 92—95, 1963.
 37. Hollings M., Stone O.M., Thorne J.M.: Chrysanthemum, Rep. Glasshouse Crops Res. Inst. 1970, 149—150, 1971.
 38. Horst R.K.: Detection of a latent infectious agent that protects against infection by chrysanthemum chlorotic mottle viroid. Phytopathology 65, 1000—1003, 1975.
 39. Horst R.K., Kryczyński S.P.: The effect of temperature on symptom expression of chrysanthemum inoculated with chlorotic mottle virus. Phytopathology 61, 895 (Abstr.), 1971.
 40. Horst R.K., Langhans R.W., Smith S.H.: Effects of chrysanthemum stunt, chlorotic mottle, aspermy, and mosaic on flowering and rooting of chrysanthemums. Phytopathology 67, 9—14, 1977.
 41. Horst R.K., Lawson R.J.: A comparison of biological and serological tests to detect chrysanthemum aspermy virus. Plant Dis. Repr. 59, 318—322, 1975.
 42. Horst R.K., Nelson P.E.: Diseases of chrysanthemum. N.Y. State Coll. Agric. Life Sci. (Cornell University, Ithaca, N.Y.) Information Bull. 85, 36p., 1975.
 43. Horst R.K., Geissinger C.M., Staszewicz M.: Treatments that improve mechanical transmission of chrysanthemum chlorotic mottle virus. Acta Horticulture 36, 59—63, 1974.
 44. Kamińska M.: Identification of viruses in *Cyclamen persicum* Mill. Proc. 19-th Intern. Hort. Congress, Warszawa, 1974, 1A, 264, 1974.

45. Kamińska M.: Choroby wirusowe złocieni. Zeszyty Probl. Post. Nauk roln. 1978 (w druku).
46. Keller J.R.: Report on indicator plants for chrysanthemum stunt virus and on a previously unreported chrysanthemum virus. *Phytopathology* 41, 947—949, 1951.
47. Kryczyński S.P., Horst R.K., Dimock A.W.: Some properties of chrysanthemum chlorotic mottle virus. *Phytopathology* 61, 899 (Abstr.), 1971.
48. Lawson R.H.: Relationships among tomato aspermy, aspermy-related viruses from chrysanthemum, and two strains of cucumber mosaic virus. *Virology* 32, 357—362, 1967.
49. Lawson R.H.: Cineraria varieties as strach lesion test plants for chrysanthemum stunt virus. *Phytopathology* 58, 690—695, 1968.
50. Lawson R.H., Hearon S.: Subcellular localization of chrysanthemum aspermy virus in tobacco and chrysanthemum leaf tissue. *Virology* 41, 30—37, 1970.
51. Lawson R.H., Hearon S.: Ultrastructure of chrysanthemum stunt virus-infected and stunt-free 'Mistletoe' chrysanthemum. *Phytopathology* 61, 653—656, 1971.
52. Miller P.R.: Detection of virus B of chrysanthemum in the United States. *FAO Plant Prot. Bull.* 2, 56, 1954.
53. Mokrá V.: Rozšíření viru aspermie rajčete v kulturách chryzantem v Československu. *Acta Pruhoniana* 24, 52—76, 1971.
54. Monsion M., Huchet T.M., Dunez J.: Dissemination naturelle des virus de la mosaïque et de l'Aspermie du Chrysanthème. *Ann. Phytopathologie* 1, 583—589, 1969.
55. Noordam D.: Virusziekten bij chrysanten in Nederland. *Tijdschr. PlZiekt.* 58, 121—189, 1952.
56. Oertel C.: Untersuchungen über die wirtschaftlich wichtigsten Viruskrankheiten an *Chrysanthemum indicum* L. in der DDR und die Möglichkeiten ihrer Bekämpfung. *Nova Acta Leopoldina* 34, 189, 1—92, 1969.
57. Oertel C.: Zur partielle Reinigung des B-virus der Chrysantheme und Herstellung eines hochtiterigen Antiserum. *Zent. Bakt. Parasitenk. Abt. 2*, 123, 277—281, 1969.
58. Oertel C.: Vergleichende charakteristik des Aspermie, — des B, — des chlorotic mottle — und des Stunt — Virus im Gesunderhaltungsprogramm der Chrysanthenen. *Nachrichtenbl. Pflanzenschutzdienst DDR* 27, 61—65, 1973.
59. Paludan N.: Klorotisk spaetning og dvaergsyge hos chrysanthemum. *Infectionsforsog, termoterapi og meristemkultur. Tidsskr. f. Planteavl* 78, 85—90, 1974.
60. Romaine C.P., Horst R.K.: Suggested viroid etiology for chrysanthemum chlorotic mottle disease. *Virology*, 64, 86—95, 1975.
61. Stace-Smith H., Tremaine J.H.: Biophysical and biochemical properties of tomato aspermy virus. *Virology* 51, 401—408, 1973.
62. Teyssier D., Dunez J.: Le rabougrissement du Chrysanthème: symptomes et detection. *Ann. Phytopathol.* 3, 63—71, 1971.
63. Tochiho H.: Some properties of chrysanthemum mild mottle virus, and comparison of this virus with cucumber mosaic virus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 36, 1—10, 1970.
64. Verhoyen M.: Further investigations on the identification on the virus of chrysanthemums in Belgium. 3-rd Symp. *Virus Dis. Ornamental Plants*, College Park, 11—15 September 1972, *Acta Horticulturae* 36, 135—139, 1974.