Received: 22.04.2021 / Accepted: 17.08.2021

ARTYKUŁ ORYGINALNY

Identyfikacja i charakterystyka molekularna wirusa żółtej karłowatości cebuli (OYDV) w uprawach *Allium cepa* w Polsce

Identification and molecular characterization of onion yellow dwarf virus (OYDV) in *Allium cepa* crops in Poland

Agnieszka Taberska^A, Julia Minicka^{B*}, Natasza Borodynko-Filas^C, Beata Hasiów-Jaroszewska^D

Streszczenie

Wirus żółtej karłowatości cebuli jest rozpowszechniony na całym świecie, istotnie ograniczając plony upraw z rodzaju *Allium*. Celem pracy było wykrywanie i charakterystyka molekularna nowo zidentyfikowanych izolatów OYDV infekujących cebulę w Polsce. Obecność wirusa w cebuli potwierdzono za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej oraz techniki RT-PCR z użyciem dwóch par starterów diagnostycznych: OYDV-NibCPF1/R1 oraz OYDV-CPF2/R2. Specyficzność otrzymanych produktów potwierdzono za pomocą sekwencjo-nowania metodą Sangera, a otrzymaną sekwencję białka płaszcza wirusa wykorzystano do analizy filogenetycznej. Analizę filogenetyczną przeprowadzono na podstawie sekwencji CP nowego polskiego izolatu z cebuli oraz 37 innych sekwencji OYDV pobranych z Banku Genów. Analiza wykazała, że polski izolat OYDV jest najbardziej podobny do izolatów OYDV pochodzących z cebuli z Argentyny i Niemiec, co może wskazywać na ich wspólne pochodzenie. Ponadto zaobserwowano, że polskie izolaty cebuli i czosnku są bardzo zróżnicowane i należą do różnych grup filogenetycznych.

Słowa kluczowe: wirus żółtej karłowatości cebuli (OYDV), Allium cepa L., RT-PCR, filogeneza

Abstract

Onion yellow dwarf virus is distributed worldwide significantly reducing yield of crops from the *Allium* genus. The aim of the study was the detection and molecular characterization of newly identified OYDV isolates infecting onions in Poland. The virus was detected by transmission electron microscopy and RT-PCR techniques using two pairs of diagnostic primers: OYDV-NibCPF1/R1 and OYDV-CPF2/R2. The specificity of obtained RT-PCR products was confirmed by Sanger sequencing and received viral coat protein sequence was used for phylogenetic analysis. The phylogenetic analysis was carried out using CP sequences of the new Polish onion isolate obtained in this study and 37 other sequences of OYDV retrieved from GenBank. The analysis revealed that the Polish OYDV isolate is the most similar to the OYDV isolates derived from onions from Argentina and Germany, which may indicate their common origin. Moreover, it was observed that the Polish onion and garlic isolates are very diverse and belong to different phylogroups.

Key words: onion yellow dwarf virus (OYDV), Allium cepa L., RT-PCR, phylogenesis

- Instytut Ochrony Roślin Państwowy Instytut Badawczy
- Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań
- *corresponding author: j.minicka@iorpib.poznan.pl
- ORCID: ^0000-0002-3059-3041, ^B0000-0002-7773-9079, ^C0000-0002-4217-6421, ^D0000-0002-8267-023X

Wstęp / Introduction

Cebula (*Allium cepa* L.) należąca do rodzaju *Allium*, jest jednym z warzyw produkowanych w Polsce na dużą skalę. Według danych Krajowego Ośrodka Wsparcia Rolnictwa zbiory cebuli w 2017 roku wyniosły 667 tysięcy ton. Polska należy zatem do największych unijnych producentów tego warzywa. Liczne choroby powodowane przez wirusy, bakterie i grzyby wpływają na redukcję plonu cebuli. Wśród wirusów porażających cebulę najpowszechniejsze należą do rodzajów *Allexivirus*, *Carlavirus*, *Tospovirus* i *Potyvirus* (van Dijk 1993b; McDonald i wsp. 2004; Bag i wsp. 2012). Wirus żółtej karłowatości cebuli (onion yellow dwarf virus, OYDV) należący do rodzaju *Potyvirus*, rodziny Potyviridae jest obecnie jednym z częściej obserwowanych wirusów w uprawach roślin z rodzaju *Allium* na całym świecie.

Wirus żółtej karłowatości cebuli po raz pierwszy został wykryty w 1927 roku w Iowa, w Stanach Zjednoczonych (Henderson 1935) i od tego czasu jego występowanie odnotowano niemal na całym świecie (Bereda i Paduch-Cichal 2016). W Polsce po raz pierwszy został zidentyfikowany w 1942 roku w uprawach cebuli (Książek 1972), wykryto go również w uprawach czosnku pospolitego w 2014 roku (Chodorska i wsp. 2014). Wirus posiada wąski zakres roślin gospodarzy, ograniczony do uprawnych roślin z rodzaju Allium, takich jak cebula zwyczajna, czosnek pospolity, czosnek askaloński, czy por oraz dzikich przedstawicieli czosnkowatych (van Dijk 1993a; Saffar i wsp. 2013). Wirus powoduje straty w uprawach cebuli zwyczajnej i czosnku pospolitego wynoszące od 25 do 60% (Barg i wsp. 1994; Lot i wsp. 1998; Dovas i wsp. 2001), jednocześnie prowadząc również do zawiązywania mniejszej liczby nasion oraz przedwczesnego zamierania roślin (Conci i wsp. 2003; Elnagar i wsp. 2011; Kumar i wsp. 2011).

Onion yellow dwarf virus przenoszony jest wraz z materiałem rozmnożeniowym oraz w sposób nietrwały przez ponad 50 gatunków mszyc, w tym Myzus persicae, czyli mszycę brzoskwiniowo-ziemniaczaną, która jest najbardziej istotnym wektorem wirusa (Abd El-Wahab 2009). Rezerwuar wirusa mogą stanowić dziko rosnące rośliny z rodzaju Allium. Na porażonych roślinach powoduje on objawy w postaci żółtych lub jasnozielonych, chlorotycznych pasków na liściach, skręcania i przedwczesnego usychania końcówek liści, zahamowania wzrostu i redukcji rozmiaru cebuli (Lot i wsp. 1998; Kebede i wsp. 2020). Cząstki wirusa są nitkowate o długości 700-800 nm i średnicy 12 nm (Baghalian i wsp. 2010). Genom wirusa stanowi pojedyncza nić RNA o dodatniej polarności (ss(+)RNA) i wielkości około 10 kb. Genom zawiera jedną ramkę odczytu, a w wyniku translacji powstaje pojedyncza poliproteina, ulegająca proteolizie, z której powstaje 10 białek: P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, VPg, NIa-Pro, NIb-RdRp, CP, oraz w wyniku zmiany ramki odczytu w cistronie P3 dodatkowe białko P3-PIPO. Na końcu 5' nici RNA znajduje się białko VPg, a na końcu 3' zlokalizowany jest ogon poliA (Chung i wsp. 2008; Celli i wsp. 2013; Verma i wsp. 2015). Wirus jest bardzo zróżnicowany genetycznie. Na podstawie różnic w sekwencji genu kodującego białko płaszcza wirusa (ang. coat protein, CP) obejmującej 771 nt, wyróżniono 3 grupy filogenetyczne OYDV (Manglli i wsp. 2014). Poszczególne grupy są przeważnie specyficzne względem danego gospodarza, w konsekwencji izolaty porażające cebule, nie infekują czosnku i odwrotnie. Wspomniana zależność wiąże się z różnicami na poziomie molekularnym, obejmującymi zarówno rozbieżność sekwencji, jak i miejsc proteolitycznego cięcia (Celli i wsp. 2013; Manglli i wsp. 2014).

Obecność OYDV potwierdzono w polskich uprawach cebuli i czosnku (Książek 1972; Chodorska i wsp. 2014). Jednakże, dotychczas nie pozyskano sekwencji CP polskiego izolatu wirusa wyizolowanego z cebuli.

Celem pracy była identyfikacja OYDV w uprawach cebuli w Polsce oraz analizy zróżnicowania genetycznego populacji wirusa.

Materialy i metody / Materials and methods

Transmisyjna mikroskopia elektronowa / Transmission electron microscope

W roku 2020 przeprowadzono monitoring upraw cebuli i czosnku, podczas którego pozyskano 10 próbek cebuli zwyczajnej pochodzących z województwa wielkopolskiego, charakteryzujących się objawami w postaci żółtych pasów na blaszkach liściowych oraz skręcania i wyginania liści (fot. 1). W celu potwierdzenia infekcji wirusowej i wstępnej identyfikacji wirusa przygotowano preparaty mikroskopo-



Fot. 1. Liście cebuli zainfekowanej OYDV **Photo 1.** Onion leaves infected by OYDV

we z zainfekowanych liści cebuli. Roztarty w wodzie materiał roślinny naniesiono na pokryte formwarem miedziane siatki. Po trwającej 1 minutę inkubacji preparaty barwiono kwasem fosforowolframowym (PTA, pH 7,2), a następnie obserwowano w transmisyjnym mikroskopie elektronowym (Hitachi HT7700, Tokyo, Japan) przy napięciu przyśpieszającym wynoszącym 100 kV.

RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction)

Z porażonych liści cebuli pobierano 100 mg tkanki i izolowano z nich całkowite RNA metodą fenol/chloroform. Jakość oraz stężenie wyizolowanego RNA sprawdzono spektrofotometrycznie (NanoDrop 2000, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Wyizolowane RNA wykorzystano do przeprowadzenia reakcji RT-PCR z zastosowaniem zestawu DreamTaq Green PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) oraz starterów diagnostycznych OYDV-NibCPF1 i OYDV-NibCPR1 (tab. 1). W celu ustalenia optymalnej temperatury przyłączania starterów przeprowadzono reakcję w termocyklerze gradientowym T Professional (Biometra, Jena, Germany) z zaprogramowanym gradientem temperatur od 45 do 60°C. Profil termiczny reakcji RT-PCR obejmował: odwrotną transkrypcję 42°C, 20 min; wstępną denaturację 95°C, 3 min; amplifikację składającą się z trzech etapów (denaturacja 95°C, 30 s; przyłączanie starterów w gradiencie 45-60°C, 30 s; wydłużanie nici 72°C, 1 min), powtórzonych w 30 cyklach oraz wydłużanie końcowe 72°C, 7 min. Reakcję prowadzono w końcowej objętości 10 µl. Mieszanina reakcyjna zawierała 5 µl DreamTaq Green PCR Master Mix, 3,4 µl wody, 0,2 µl RevertAid Reverse Transcriptase (200 U/µl), 0,2 µl startera OYDV-NibCPF1, 0,2 µl startera OYDV-NibCPR1 i 1 µl wyizolowanego RNA. Powstałe produkty amplifikacji rozdzielono elektroforetycznie w 1% żelu agarozowym z barwnikiem Midori Green (NIP-PON GENETICS EUROPE, Düren, Germany) przy użyciu markera wielkości DNA HyperLadder™ 100 bp (Bioline, Londyn, Wielka Brytania).

Następnie przeprowadzono reakcję RT-PCR w temperaturze wybranej jako optymalna na podstawie wcześniej przeprowadzonej reakcji, z zastosowaniem wyżej opisanej procedury. Uzyskany produkt amplifikacji rozdzielono w 1% żelu agarozowym z barwnikiem Midori Green (NIP-PON GENETICS EUROPE, Düren, Germany) przy użyciu markera wielkości DNA HyperLadder™ 100 bp (Bioline). Uzyskany produkt reakcji oczyszczano stosując zestaw NucleoSpin®Gel and PCR Clean-up (Machery-Nagel, Düren, Germany), zgodnie z zaleceniami producenta, a następnie sekwencjonowano metodą Sangera (Genomed S.A., Warszawa, Polska).

W celu uzyskania sekwencji genu kodującego białko płaszcza wirusa wykorzystano startery: OYDV-CPF2 i OY-DV-CPR2 (tab. 1). Reakcję RT-PCR przeprowadzono przy użyciu zestawu DreamTaq Green PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) według wcześniej opisanej procedury, w temperaturze przyłączania starterów 45°C. Uzyskany produkt amplifikacji rozdzielono w 1% żelu agarozowym z barwnikiem Midori Green (NIPPON GENETICS EURO-PE, Düren, Germany), przy użyciu markera wielkości DNA HyperLadder™ 100 bp (Bioline), a następnie oczyszczano z żelu przy użyciu zestawu NucleoSpin[®]Gel and PCR Clean -up (Machery-Nagel, Düren, Germany) i sekwencjonowano (Genomed S.A., Warszawa, Polska).

Analiza filogenetyczna / Phylogenetic analysis

Do przeprowadzenia analizy filogenetycznej wykorzystano jedną wybraną sekwencję genu kodującego białko płaszcza OYDV uzyskaną w tym doświadczeniu oraz 39 innych sekwencji izolatów OYDV pochodzących z różnych gospodarzy oraz różnych lokalizacji, które wcześniej zostały zdeponowane w Banku Genów. Analizę przeprowadzono przy użyciu programu BioEdit (Hall 1999) i MEGA X (Kumar i wsp. 2018). Obecność rekombinantów analizowano z zastosowaniem programu RDP 4 i następujących metod: GENCONV, BootScan, MaxChi, Chimaera, Si-Scan, 3Seq i RDP (Martin i wsp. 2015). Występowanie zjawiska rekombinacji uznawano za istotne statystycznie,

Tabela 1. Startery użyte do wykrywania OYDV w reakcji RT-PCR (Manglli i wsp. 2014) **Table 1.** Primers used for detection of OYDV in RT-PCR reaction (Manglli et al. 2014)

Starter Primer	Sekwencja 5'-3' Sequence 5'-3'	Długość produktu [pz] Product length [bp]	Tempratura przyłączania starterów Primer attachment temperature [°C]	Referencje Reference
OYDV-NibCPF1	CATCCAGATCACGAGGGAAT	0.97	50	
OYDV-NibCPR1	TGTGGCATTTCGGTATTCAA	987	52	Manglli i wsp. 2014
OYDV-CP F2	YGTYGAYRCTGGMACHACYG	615	45	Manglli et al. 2014
OYDV-CP R2	RTTACCATCMARGCCAAACA	015	43	

jeśli cztery lub więcej metod miało wartość p < 0,05. Drzewo filogenetyczne skonstruowano metodą największej wiarygodności (ML) w programie MEGA X stosując model Tamura-Nei (TN-93+G+I) (Kumar i wsp. 2018). Wartości bootstrap zostały obliczone przy użyciu 1000 losowych pseudoreplikacji. Informacje dotyczące poszczególnych izolatów (numery akcesyjne, gospodarz oraz miejsce pochodzenia) zostały zamieszczone na drzewie filogenetycznym.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Obserwacja preparatów w transmisyjnym mikroskopie elektronowym wykazała obecność nitkowatych cząstek wirusowych o długości około 700–800 nm oraz średnicy około 12 nm, charakterystycznych dla rodziny Potyviridae (fot. 2).

Przeprowadzona reakcja RT-PCR w termocyklerze gradientowym wykazała, że przy użyciu pary starterów OY-DV-NibCPF/R, wirus żółtej karłowatości cebuli jest amplifikowany w przedziale od 45 do 60°C (fot. 3A). Uzyskany produkt amplifikacji wynosił odpowiednio 987 pz. Do przeprowadzenia właściwej reakcji RT-PCR wybrano temperaturę 52°C, ponieważ w tej temperaturze produkt powstawał z największą wydajnością. Specyficzność otrzymanych produktów potwierdzono poprzez sekwencjonowanie metodą



Fot. 2. Nitkowate cząstki wirusa, obserwowane w transmisyjnym mikroskopie elektronowym

Photo 2. Filamentous virus particles, observed in transmission electron microscope

Sangera (fot. 3B). Następnie w celu uzyskania sekwencji genu kodującego białko płaszcza zidentyfikowanych izolatów wirusa przeprowadzono reakcję RT-PCR przy użyciu starterów OYDV-CPF/R. W wyniku przeprowadzenia reakcji uzyskano produkt amplifikacji o wielkości odpowiednio 615 pz, który sekwencjonowano (fot. 3C).

W wyniku sekwencjonowania uzyskano 10 sekwencji genu kodującego białko płaszcza OYDV, które wykazywały 99,8–100% podobieństwa sekwencji nukleotydów. Z tego względu do przeprowadzenia analiz filogenetycznych wybrano jedną reprezentatywną sekwencję, którą zamieszczono w Banku Genów pod numerem akcesyjnym MW972075. Przeprowadzona analiza rekombinacji wykazała obecność dwóch rekombinantów spośród wybranych sekwencji zdeponowanych w Banku Genów. Były to izolaty: G56 i G89 pochodzące z Chin, zidentyfikowane w czosnku i pozyskane w 2017 roku. Sekwencji tych nie wykorzystano do dalszej analizy filogenetycznej.

Analiza filogenetyczna wykonana na podstawie sekwencji genu kodującego CP nowego, polskiego izolatu OYDV z cebuli oraz 37 sekwencji innych izolatów pozyskanych z Banku Genów wykazała duże zróżnicowanie nukleotydów i aminokwasów izolatów OYDV pochodzących z różnych gospodarzy, wynoszące od 77,7% do 99,8% w przypadku nukleotydów oraz od 81,7% do 100% w przypadku aminokwasów. Również w obrębie analizowanych izolatów pochodzacych z cebuli uprawianej w różnych lokalizacjach obserwowane było duże zróżnicowanie genetyczne wynoszące od 79,2% do 99,4% w przypadku nukleotydów oraz od 82,2% do 100% w przypadku aminokwasów. Większe podobieństwo sekwencji aminokwasów w stosunku do sekwencji nukleotydów wynika z obecności licznych substytucji synonimicznych. Ponadto zaobserwowano, iż nowy polski izolat grupuje się z izolatami z cebuli z Argentyny (JX433019) wykazując 97% podobieństwa sekwencji nukleotydów i Niemiec (JX433020) wykazując 96,4% podobieństwa sekwencji nukleotydów, co może wskazywać na ich wspólne pochodzenie (fot. 4). Potencjalnym źródłem wirusa może być materiał rozmnożeniowy, który dzięki globalizacji gospodarki, podlega obrotowi międzynarodowemu. Zaobserwowano również, że polskie izolaty z czosnku (Bereda i Paduch-Cichal 2016) oraz z cebuli uzyskane w ramach niniejszej pracy, należą do oddzielnych grup filogenetycznych, co wskazuje na ich odmienne pochodzenie.

Obecność OYDV w uprawach cebuli w Polsce może nie tylko wpływać na jakość i ilość plonów, ale również stanowić zagrożenie dla innych upraw ze względu na możliwość jego dalekiego rozprzestrzeniania się poprzez mszyce. Wiedza dotycząca zróżnicowania genetycznego wirusa będzie mieć więc kluczowe znaczenie w opracowywaniu nowych skutecznych metod umożliwiających wykrywanie jak najszerszego spektrum izolatów wirusa, również bezpośrednio w warunkach polowych.



- Fot. 3. Rozdział elektroforetyczny produktów reakcji RT-PCR amplifikowanych ze starterami OYDV-NibCPF/R w gradiencie temperatur 45–60°C. M marker wielkości (Nova 100 bp DNA Ladder), 1 kontrola negatywna, 2–11 produkt PCR z RNA wyizolowanego z zainfekowanej cebuli (A); Rozdział elektroforetyczny produktów reakcji RT-PCR ze starterami OYDV-NibCPF/R w temperaturze 45°C. M marker wielkości (Nova 100 bp DNA Ladder), 1 kontrola negatywna, 2 produkt PCR z RNA wyizolowanego z zainfekowanej cebuli (B); Rozdział elektroforetyczny produktów reakcji RT-PCR ze starterami OYDV-CPF2/R2 (C)
- Photo 3. Electrophoretic separation of RT-PCR reaction products amplified with OYDV-NibCPF/R primers in a temperature gradient from 45–60°C. M marker (Nova 100 bp DNA Ladder), 1 negative control, 2–11 PCR product from RNA isolated from infected onion (A); Electrophoretic separation of RT-PCR reaction products amplified with OYDV-NibCPF/R primers in a temperature 45°C. M marker (Nova 100 bp DNA Ladder), 1 negative control, 2 RT-PCR product from RNA isolated from infected onion (B); Electrophoretic separation of RT-PCR reaction products amplified with OYDV-CPF/R primers. M marker (Nova 100 bp DNA Ladder), 1 negative control, 2 RT-PCR product from RNA isolated from infected onion (B); Electrophoretic separation of RT-PCR reaction products amplified with OYDV-CPF/R primers. M marker (Nova 100 bp DNA Ladder), 2 PCR product from RNA isolated from infected onion (C)



- Fot. 4. Drzewo filogenetyczne skonstruowane z użyciem sekwencji genu kodującego białko płaszcza OYDV izolatu uzyskanego w niniejszej pracy oraz innych izolatów zdeponowanych w Banku Genów. Polski izolat oznaczono kropką
- Photo 4. A phylogenetic tree constructed using the gene sequence encoding the OYDV coat protein of the isolate obtained in this work and other isolates deposited in the Gene Bank. Polish isolate is marked by dot

Wnioski / Conclusions

- 1. Przeprowadzone badania pozwoliły na wykrycie wirusa OYDV w cebuli.
- Polski izolat OYDV grupuje się razem z izolatami z Argentyny, Niemiec oraz Włoch, również pochodzącymi z cebuli.
- Polski izolat jest odmienny genetycznie od wcześniej stwierdzonych w Polsce izolatów występujących w uprawach czosnku.

Literatura / References

- Abd El-Wahab A.S. 2009. Aphid-transmission efficiency of two main viruses on garlic in Egypt, Onion yellow dwarf virus (OYDV-G) and Leek yellow stripe virus (LYSV-G). Academic Journal of Entomology 2 (1): 40–42.
- Bag S., Schwartz H.F., Pappu H.R. 2012. Identification and characterization of biologically distinct isolates of *Iris yellow spot virus* (genus *Tospovirus*, family *Bunyaviridae*), a serious pathogen of onion. European Journal of Plant Pathology 134: 97–104. DOI: 10.1007/s10658-012-0026-1
- Baghalian K., Kim O.K., Natzuaki K.T. 2010. Molecular variability and genetic structure of the population of *Onion yellow dwarf* virus infecting garlic in Iran. Virus Genes 41 (2): 282–291. DOI: 10.1007/s11262-010-0514-3
- Barg E., Lesemann D.-E., Vetten H.J., Green S.K. 1994. Identification, partial characterization, and distribution of viruses infecting allium crops in South and Southeast Asia. Acta Horticulturae 358: 251–258. DOI: 10.17660/ActaHortic.1994.358.41
- Bereda M., Paduch-Cichal E. 2016. Carla- i potywirusy wykrywane w czosnku pospolitym. [Carla- and Potyviruses detected in garlic plants]. Progress in Plant Protection 56 (2): 251–257. DOI: 10.14199/ppp-2016-043
- Celli M.G., Torrico A.K., Kiehr M., Conci V.C. 2013. Striking differences in the biological and molecular properties of onion and garlic isolates of onion yellow dwarf virus. Archives of Virology 158 (6): 1377–1382. DOI: 10.1007/s00705-012-1597-z
- Chodorska M., Paduch-Cichal E., Kalinowska E., Szyndel M.S. 2014. First report of Onion yellow dwarf virus, Garlic common latent virus and Shallot latent virus on garlic in Poland. Plant Disease 98 (6): 858. DOI: 10.1094/PDIS-11-13-1160-PDN
- Chung B.Y.-W., Miller W.A., Atkins J.F., Firth A.E. 2008. An overlapping essential gene in the Potyviridae. Proceedings of the National Academy of Sciences 105 (15): 5897–5902. DOI: 10.1073/pnas.0800468105
- Conci V.C., Canavelli A., Lunello P., Di Rienzo J., Nome S.F., Zumelzu G., Italia R. 2003. Yield losses associated with virusinfected garlic plants during five successive years. Plant Disease 87 (12): 1411–1415. DOI: 10.1094/PDIS.2003.87.12.1411
- Dovas C.I., Hatziloukas E., Salomon R., Barg E., Shiboleth Y., Katis N.I. 2001. Incidence of viruses infecting *Allium* spp. in Greece. European Journal of Plant Pathology 107: 677–684. DOI: 10.1023/A:1011958914573
- Elnagar S., El-Sheikh M.A.-K., El-Wahab A.S.E.-D.A. 2011. Effect of natural infection with onion yellow dwarf virus (OYDV) on yield of onion and garlic crops in Egypt. Journal of Life Sciences 5: 634–638.
- Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series 41: 95–98. DOI: 10.14601/Phytopathol Mediterr-14998u1.29
- Henderson W.J. 1935. Yellow dwarf, a virus disease of onions, and its control. Iowa Agriculture and Home Economics Research Station Research Bulletin 16 (188): 209–255.
- Kebede Y., Singh J., Majumder S. 2020. Molecular characterization of the partial coat protein gene of an Onion yellow dwarf virus isolate detected in garlic (*Allium sativum* L.) from the West Shewa zone of Ethiopia. Journal of Plant Protection Research 60 (1): 106–111. DOI: 10.24425/jppr.2020.132205
- Książek D. 1972. Choroby wirusowe cebuli. [Onion virus diseases]. Postępy Nauk Rolniczych 19 (1): 109-130.
- Kumar P., Dhawan P., Mehra R. 2011. Characterization, transmission and host range of Onion yellow dwarf virus. Plant Disease Research 26 (2): 176.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. Molecularv Biology and Evolution 35 (6): 1547–1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096
- Lot H., Chovelon V., Souche S., Delecolle B. 1998. Effects of Onion yellow dwarf and Leek yellow stripe viruses on symptomatology and yield loss of three french garlic cultivars. Plant Disease 82 (12): 1381–1385. DOI: 10.1094/PDIS.1998.82.12.1381
- Manglli A., Mohammed H.S., El Hussein A.A., Agosteo G.E., Albanese G., Tomassoli L. 2014. Molecular analysis of the 3'terminal region of *Onion yellow dwarf virus* from onion in southern Italy. Phytopathologia Mediterranea 53 (3): 438–450. DOI: 10.14601/ Phytopathol_Mediterr-14027
- Martin D.P., Murrell B., Golden M., Khoosal A., Muhire B. 2015. RDP4: Detection and analysis of recombination patterns in virus genomes. Virus Evolution 1 (1): vev003. DOI: 10.1093/ve/vev003
- McDonald M.R., de los Angeles Jaime M., Hovius M.H. 2004. Management of diseases of onions and garlic. s. 149–200.
 W: Disease of Fruits and Vegetables. Volume II (S.A.M.H. Naqvi, red.). Springer, Dordrecht, 686 ss. DOI: 10.1007/1-4020-2607-2 6
- Saffar Z.N., Torabi S., Naghavi M.R., Golnaraghi A.R., Aryakia E. 2013. *Onion yellow dwarf virus* on leek, onion, shallot and welsh onion in Iran. Journal of Plant Pathology 95 (4): 73. DOI: 10.4454/JPP.V95I4.013

Podziękowanie / Acknowledgements

Badania realizowano w ramach tematu statutowego WIB03 "Identyfikacja nowych zagrożeń w uprawach roślin rolniczych oraz opracowanie nowoczesnych technik wykrywania różnych patogenów roślinnych jako efektywnych sposobów ograniczania ich występowania".

- van Dijk P. 1993a. Survey and characterization of potyviruses and their strains of *Allium* species. Netherlands Journal of Plant Pathology 99: 1–48. DOI: 10.1007/BF02017734
- van Dijk P. 1993b. Carlavirus isolates from cultivated *Allium* species represent three viruses. Netherlands Journal of Plant Pathology 99: 233–257. DOI: 10.1007/BF01974306
- Verma R.K., Mishra R., Petrov N.M., Stoyanova M., Stoev A., Bakardjieva N.V., Gaur R.K. 2015. Molecular characterization and recombination analysis of an Indian isolate of Onion yellow dwarf virus. European Journal of Plant Pathology 143: 437–445. DOI: 10.1007/s10658-015-0695-7