

Received: 18.07.2025 / Accepted: 04.09.2025

ARTYKUŁ ORYGINALNY

Wykrycie i identyfikacja wirusa nekrotycznego żółknięcia nerwów buraka (*Benyvirus necrobetae*, BNYVV) w buraku ćwikłowym w Polsce

Detection and identification of *Benyvirus necrobetae* (BNYVV) in beetroot in Poland

Katarzyna Trzmiel* , Emily Pusch 

Streszczenie

W 2024 roku wykonano badania diagnostyczne buraka ćwikłowego, na którym występowały przebarwienia i nekrozy liści oraz deformacje korzeni. Rośliny pochodziły z województwa łódzkiego. Testy DAS-ELISA wykazały w badanym materiale obecność wirusa mozaiki buraka (BtMV) oraz wirusa nekrotycznego żółknięcia nerwów buraka (BNYVV). Ponadto, test TAS-ELISA potwierdził porażenie roślin przez wirusa zachodniej żółtaczkii buraka (BWYV). Do dalszych analiz molekularnych wytypowano dwie rośliny buraka ćwikłowego. W reakcji RT-PCR użyto startery specyficzne dla BNYVV. Uzyskaną sekwencję nukleotydów (nt) badanego izolatu BNYVV-K porównano z analogicznymi fragmentami sekwencji innych izolatów wirusa zdeponowanych w Banku Genów za pomocą narzędzia MUSCLE w programie MEGAX. Otrzymane wyniki wykazały identyczność sekwencji nt BNYVV-K na poziomie od 92,5 do 99,6%. Analogiczne porównania wygenerowanej sekwencji aminokwasów fragmentu białka płaszcza ww. wirusa wykazały identyczność od 93,8 do 99,4%. Jest to pierwsze doniesienie o naturalnej infekcji buraka ćwikłowego przez BNYVV w Polsce.

Słowa kluczowe: BtMV, BNYVV, BWYV, burak ćwikłowy, diagnostyka, rizomania

Abstract

In 2024, diagnostic tests were performed on beetroot plants showing symptoms of leaf discoloration, necrosis, and root deformation. The plants came from the Łódzkie voivodeship. The DAS-ELISA tests revealed the presence of potyvirus betaceum (BtMV) and benyvirus necrobetae (BNYVV) in the tested plants. Moreover, the TAS-ELISA test confirmed infection with polerovirus BWYV (BWYV). Two beetroot samples were selected for the next molecular analysis. BNYVV-specific primers were used in the RT-PCR reaction. The obtained nucleotide (nt) sequence of the studied BNYVV-K isolate was compared to analogous sequence fragments from other virus isolates deposited in the GenBank database using the MUSCLE tool in the MEGAX program. The obtained results showed identity of the BNYVV-K nt sequence ranging from 92.5 to 99.6%. Analogous comparisons of the generated amino acid sequence of fragment of coat protein showed identity ranging from 93.8 to 99.4%. This is the first report of natural BNYVV infection in beetroot in Poland.

Keywords: BtMV, BNYVV, BWYV, beetroot, diagnostics, rhizomania

Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
ul. Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań

*corresponding author: k.trzmiel@iortpib.poznan.pl

Wstęp / Introduction

Burak cukrowy jest jedną z ważnych roślin przemysłowych w Polsce, którą uprawia się głównie dla uzyskania cukru buraczanego. Jego produkcja stanowi jedną z najważniejszych gałęzi przemysłu rolno-spożywczego w kraju (Dubownik i Rudnicki 2016). Polska zajmuje trzecie miejsce w Unii Europejskiej pod względem powierzchni uprawy tej rośliny. Chociaż areal uprawy ciągle spada to wydajność plonowania wzrasta (Kapusta 2023). W 2024 roku plantacje buraka cukrowego zajmowały powierzchnię 300 tys. hektarów, a plony wyniosły ok. 18 mln ton (GUS 2024).

Burak ćwikłowy jest jednym z najbardziej popularnych warzyw uprawianych w naszym kraju (Nizioł-Lukaszewska i Gawęda 2014), a Polska jest ich największym producentem w Unii Europejskiej (Filipiak i Maciejczak 2010). W 2024 roku zbiory buraka ćwikłowego wyniosły 240 tys. ton w Polsce, a powierzchnia uprawy kształtowała się na poziomie 7270,97 hektarów (Dobrosz 2024; GUS 2024). Burak ćwikłowy wykorzystywany jest kulinarnie oraz jako składnik funkcjonalny do leków i suplementów diety (Kobus-Cisowska i wsp. 2023).

Podobnie, jak w przypadku innych, ważnych gospodarczo roślin, uprawa buraka cukrowego i ćwikłowego jest ściśle związana z koniecznością ich ochrony przed szkodnikami i chorobami, które mogą znacząco obniżyć jakość i ilość uzyskiwanych plonów. Jednym z potencjalnych zagrożeń są choroby wirusowe. Główną wirozą buraka na świecie jest żółtaczka buraka wywoływana przez kompleks różnych gatunków, które występują w zróżnicowanym nasileniu w różnych regionach na świecie (Dunning i Byford 1982; Hauser i wsp. 2000; Liu i wsp. 2001; Wintermantel 2005; Kozłowska-Makulska i wsp. 2009; Hossain i wsp. 2021). Są to: wirus żółtaczki buraka (*Closterovirus flavibetae*, BYV, rodzina *Closteroviridae*, rodzaj *Closterovirus*) (ICTV 2019, 2023a), wirus zachodniej żółtaczki buraka (*Polerovirus BWYV*, BWYV, rodzina *Solemoviridae*, rodzaj *Polerovirus*) (ICTV 2020, 2023b), wirus łagodnej żółtaczki buraka (*Polerovirus BMV*, BMV, rodzina *Solemoviridae*, rodzaj *Polerovirus*) (ICTV 2020, 2023b), wirus chlorozy buraka (*Polerovirus BCHV*, BCHV, rodzina *Solemoviridae*, rodzaj *Polerovirus*) (ICTV 2020, 2023b). Wraz z wymienionymi gatunkami często występuje także wirus mozaiki buraka (*Potyvirus betaceum* BtMV, rodzina *Potyviridae*, rodzaj *Potyvirus*) (Russell 1971; Nemchinov i wsp. 2004; ICTV 2019, 2023c). BYV, BMV, BCHV rozpowszechnione są na terenie Europy, natomiast BtMV był wykrywany sporadycznie (Hossain i wsp. 2021). Wszystkie ww. gatunki wirusów są naturalnie przenoszone przez mszycę brzoskwińowo-ziemniaczaną (*Myzus persicae*), BYV przez mszycę burakową (*Aphis fabae*), a BMV i BCHV przez mszycę ziemniaczaną smugową (*Macrosiphum cuphorbiae*) (Dunning i Byford 1982; Wintermantel 2005; Kozłowska-Makulska i wsp. 2009). Objawem żółtaczki buraka są początkowe

przejaśnienia nerwów liści, a następnie postępujące żółknięcie blaszek liściowych, natomiast reakcja roślin na porażenie BtMV prowadzi do deformacji i mozaiki liści chorych roślin. Szkodliwość chorób wirusowych prowadzi do strat plonu buraka na poziomie 70% w przypadku żółtaczki buraka oraz 10% dla porażień wywołanych przez BtMV (Bennett i McFarlane 1957; Dunning i Byford 1982; Rollwage i wsp. 2023). Kolejną grupę patogenów wirusowych buraka stanowią wirusy odglebowe: odglebowy wirus buraka (*Pomovirus solibetae*, BSBV, rodzina *Virgaviridae*, rodzaj *Pomovirus*) (Henry i wsp. 1986; ICTV 2019, 2023d), wirus Q buraka (*Pomovirus betae*, BVQ, rodzina *Virgaviridae*, rodzaj *Pomovirus*) (Koenig i wsp. 1998; ICTV 2019, 2023d) oraz wirus nekrotycznego żółknięcia nerwów buraka (*Benyvirus necrobetae*, BNYVV, rodzina *Benyviridae*, rodzaj *Benyvirus*) (Tamada i Baba 1973; ICTV 2019, 2023d) – sprawca rizomanii. Wirusy te są przenoszone przez pierwotniaka glebowego *Polymyxa betae*, który w postaci uśpionych cyst potrafi przetrwać w glebie nawet powyżej 15 lat i przez ten czas wirusy, których jest wektorem, zachowują zdolność do infekcji (Scholten i Lange 2000). Zakażenia wywołane przez wirusy odglebowe powodują reakcję roślin w postaci przejaśnień i przewężeń blaszek liściowych, zahamowania wzrostu, a niekiedy także nekrozy wiązek przewodzących. Ponadto, obserwuje się także deformacje korzeni, zahamowanie ich wzrostu oraz nadmierne rozwijanie się korzeni włosnikowych, co prowadzi do powstania tzw. brody, charakterystycznej cechy rizomanii (Liebe i Varrelmann 2022). Skutkiem nekrotyzacji wiązek przewodzących jest utrudnione pobieranie wody i składników pokarmowych, co prowadzi do ograniczenia masy korzeni i strat plonu rzędu 40% wywołanych przez BNYVV lub 26% przez BSBV. Ponadto, kolejnym efektem infekcji wirusowej jest znaczne pogorszenie wartości przetwórczej buraka, spowodowane spadkiem zawartości cukru o 55% i 35%, odpowiednio dla BNYVV i BSBV (Prillwitz i Schlösser 1993; EPPO 2024). Obecność ww. odglebowych wirusów buraka została potwierdzona w różnych regionach Polski (Borodynko i Pospieszny 2007). Pierwsze opisy tej choroby pochodzą z lat pięćdziesiątych z Włoch (Canova 1959). W Polsce wykryto go w latach osiemdziesiątych (Osińska i wsp. 1989). Głównym gospodarzem BNYVV jest burak cukrowy, jednakże może on porażać także inne gatunki roślin, takie jak szpinak oraz burak ćwikłowy (Mou i wsp. 2012; Camelo-García i wsp. 2019). Z uwagi na zdolność długotrwałego przeżywania przetrwalników (cyst) infekcyjnych form *P. betae* w glebie, jedyną formą ochrony przed rizomanią jest wysianie odpornych lub tolerancyjnych odmian buraka (Camelo-García i wsp. 2019).

Celem niniejszej pracy była charakterystyka molekularna oraz analiza filogenetyczna nowo wykrytego izolatu BNYVV-K zidentyfikowanego w roślinach buraka ćwikłowego.

Materiały i metody / Materials and methods

Materiał do badań stanowiło pięć prób buraka ćwikłowego odmiany Scarlet (pojedyncze rośliny), które przesłano do analiz, do Kliniki Chorób Roślin w Instytucie Ochrony Roślin – Państwowym Instytucie Badawczym. Rośliny pobrano w lipcu 2024 roku z różnych miejsc na plantacji zlokalizowanej w gminie Witonina (okolice Kutna). Wykazywały one objawy przebarwień i nekrozy blaszek liściowych, zahamowany wzrost korzenia głównego oraz jednoczesny rozrost korzeni bocznych, wskazujące na możliwe infekcje wirusowe. Do przesiewowych serologicznych badań diagnostycznych wykorzystano testy enzymo-immunologiczne: (double antibody sandwich-enzyme-linked immunosorbent assay, DAS-ELISA) z zastosowaniem specyficznych komercyjnych zestawów przeciwciał i koniugatów (firmy Loewe, Niemcy), które umożliwiają wykrywanie BYV, BtMV i BNYVV oraz (triple antibody sandwich-enzyme-linked immunosorbent assay, TAS-ELISA) (DSMZ, Niemcy) do identyfikacji BWYV. Pobrane oddzielne próbki liści i korzeni roślin homogenizowano z buforem ekstrakcyjnym firmy Bioreba (Szwajcaria) w homogenizatorze Homex 6 firmy Bioreba. Do analiz wykorzystano negatywne próby kontrolne, które stanowiły zdrowe rośliny buraka ćwikłowego odmiany Bona (PNOS, Polska) wysiane i utrzymywane w warunkach szklarniowych oraz komercyjne kontrole pozytywne badanych gatunków wirusów: BYV, BtMV, BNYVV (Loewe), a BWYV (DSMZ). Testy diagnostyczne wykonano zgodnie z procedurami zalecanymi przez producentów. Odczyty wyników wykonano w czytniku mikropłytek ELx800 (BioTek Instruments, USA), przy długości fali 405 nm.

W badaniach molekularnych wykorzystano dwie próbki ww. buraka ćwikłowego odmiany Scarlet (oznaczone jako B1 i B3), w których uprzednio obecność BNYVV potwierdzono testem DAS-ELISA.

Do reakcji odwrotnej transkrypcji i łańcuchowej reakcji polimerazy (RT-PCR) wykorzystano całkowity RNA, który wyizolowano przy użyciu zestawu RNeasy Plant Mini Kit firmy Qiagen (Niemcy), zgodnie z procedurą producenta. Jakość próbek RNA oceniono spektrofotometrycznie używając NanoDrop 2000 Spectrophotometer (Thermo Scientific, USA), a następnie przechowywano w -20°C . W zoptymalizowanych, jednostopniowych reakcjach RT-PCR stosowano odczynniki firmy Thermo Scientific oraz literaturowe startery BNYVV2-F i BNYVV2-R (Meunier i wsp. 2003). Skład mieszaniny reakcyjnej był następujący: 0,2 μl RevertAid Reverse Transcriptase 200 U/ μl ; 5 μl Dream Taq Green PCR Master Mix (2x); po 0,2 μl starterów o stężeniu 10 μM każdy oraz sterylna woda, którą uzupełniono do finalnej objętości 10 μl . Kontrolna próba odczynnikowa (negatywna) składała się z mieszaniny reakcyjnej RT-PCR bez dodatku RNA. Reakcje prowadzono zgodnie z następującymi warunkami termicznymi: odwrot-

na transkrypcja w 42°C przez 20 min, wstępna denaturacja i aktywacja polimerazy w 95°C przez 3 min, a następnie 40 cykli (denaturacja w 95°C przez 30 s, przyłączania starterów w 50°C przez 30 s, elongacja w 72°C przez 30 s) oraz końcowa elongacja w 72°C przez 5 min. Produkty RT-PCR rozdzielano podczas elektroforezy w obecności markera NOVA DNA Ladder 100 bp o wielkości 1000 pz (Novazym, Polska), w 1% żelu agarozowym z dodatkiem 2 μl Midori Green (NIPPON Genetics Europe GmbH, Niemcy), a następnie wizualizowano w świetle UV. Specyficzność otrzymanych produktów reakcji RT-PCR potwierdzono za pomocą bezpośredniego sekwencjonowania metodą Sanger. Uzyskane fragmenty genomu badanego wirusa eluowano z żelu przy użyciu zestawu Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System firmy Promega (USA), zgodnie z procedurą zalecaną przez producenta, a następnie przesyłano wraz z zestawem wcześniej użytych starterów BNYVV2-F i BNYVV2-R do sekwencjonowania, do firmy zewnętrznej (Genomed S.A.). Uzyskane sekwencje nukleotydów (nt) analizowano przy zastosowaniu Standard Nucleotide BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/blastn) i edytowano przy użyciu oprogramowania BioEdit, wersja 7.2.5 (Hall 1999). Charakterystykę molekularną nowego polskiego izolatu BNYVV-K wykonano na podstawie analizy sekwencji nukleotydów (nt) i wydedukowanej sekwencji aminokwasów (aa) uzyskanego fragmentu genomu wirusa. Do analiz podobieństwa wykorzystano również sekwencje nt odpowiadających fragmentów genomu 23 innych izolatów wirusa, dostępnych w Banku Genów NCBI (tab. 1). Wśród zebranych sekwencji 15 pochodzi z Europy (Polska, Belgia, Francja, Niemcy), a 8 z innych części świata (Chiny, Iran, Stany Zjednoczone, Mongolia, Brazylia, Japonia). Wszystkie wymienione powyżej sekwencje zostały porównane do siebie za pomocą MUSCLE w programie MEGAX (Kumar i wsp. 2018). Wizualizację uzyskanych wartości podobieństwa sekwencji nt i wydedukowanych sekwencji aa wykonano w programie Sequence Demarcation Tool Version 1.2 (SDTv1.2) (Muhire i wsp. 2014). Kolejnym etapem badań było wykonanie analizy filogenetycznej. Drzewo filogenetyczne utworzono w programie MEGA X z zastosowaniem metody największej wiarygodności (maximum likelihood – ML) i wybranego modelu Kimura 2-parameter. Do oceny jej wiarygodności zastosowano użycie 1000 losowych pseudoreplikacji (bootstraps), a jako grupy zewnętrznej, użyto sekwencji wirusa odległowej mozaiki buraka (*Benyvirus solibetae*, BSBMV) (numer akcesyjny AF061869).

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Wyniki przeprowadzonych analiz wykazały obecność wirusów w nadesłanych roślinach buraka ćwikłowego. Wyniki testów DAS i TAS-ELISA wykazały, że objawy więdnięcia, przebarwień i zahamowania wzrostu (fot. 1) były wywołane

Tabela 1. Wykaz izolatów wirusa nekrotycznego żółknięcia nerwów buraka (*Benyvirus necrobetae*, BNYVV) użytych do badań
Table 1. Description of beet necrotic yellows vein virus (*Benyvirus necrobetae*, BNYVV) isolates used in this study

Nazwa izolatów Name of BNYVV isolates	Gospodarz Host	Pochodzenie geograficzne Geographical origin	Data zbioru Date of collection	Numer akcesyjny GenBank GenBank accession number
BNYVV-Hu3	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Chiny: Mongolia wewnętrzna region autonomiczny, Hohhot China: inner Mongolia autonomous region, Hohhot	1992	KM434314
BNYVV	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Mongolia	–	S80856
BNYVV	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Iran: Khorasan Razavi, Torbat Heydarieh	2005	FM210683
BNYVV-IR-GR	–	Iran: Torbat Heydarieh, Golgei Rokh	–	AM779752
BNYVV-USA2020	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Stany Zjednoczone USA	–	MT227165
BNYVV	<i>Tetragonia expansa</i> (Pallas) Kuntze	Japonia Japan	–	D84411
BNYVV-Kas3	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Kazachstan Kazakhstan	–	AF197556
BNYVV-PR	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Polska Poland	–	EF621517
BNYVV-RR	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Polska Poland	–	EF621515
BNYVV-WR	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Polska Poland	–	EF621514
BNYVV-ZR	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Polska Poland	–	EF621516
BNYVV-JR	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Polska Poland	–	EF621513
BNYVV	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Belgia: St Germain Belgium: St Germain	–	AJ634738
BNYVV	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Belgia: Beauvechain Belgium: Beauvechain	–	AJ634732
BNYVV	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Belgia: Beclers Belgium: Beclers	–	AJ634733
BNYVV-OW1	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Niemcy Germany	–	EU864118
BNYVV-Pithivier	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Francja: Yèvre-la-ville France: Yèvre-la-ville	2002	HM117903
BNYVV-F75	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Francja France	–	AF197547
BNYVV	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Niemcy Germany	2020	MZ836263
BNYVV	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Belgia: Ways Belgium: Ways	–	AJ634740
BNYVV	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>	Belgia: Kieldrecht Belgium: Kieldrecht	–	AJ634735
BNYVV- -DSMZPV-0990	<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	Niemcy: Jessen Germany: Jessen	–	OP722626
BNYVV-Brazilian	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>conditiva</i>	Brazylia Brazil	2012	MH106727
BNYVV-K	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>conditiva</i>	Polska: Kutno Poland: Kutno	2024	PV075072

przez infekcje BtMV, BWYV i BNYVV (tab. 2). Uzyskane dane potwierdzają doniesienia innych badaczy (Rollwage i wsp. 2023), którzy wskazywali, że kompleks wirusów żółtaczki buraka przenoszonych przez mszyce, staje się ponownym zagrożeniem dla upraw buraka w różnych regionach Unii Europejskiej. Poza tym, rezultaty bieżących badań dowodzą, że BNYVV może stanowić potencjalne zagrożenie. Wirus może porażać podatne odmiany swych roślin gospodarzy, w tym także roślin buraka ćwikłowego.

Otrzymane wyniki badań molekularnych potwierdziły obecność BNYVV w buraku ćwikłowym z okolic Kutna. Wyniki reakcji RT-PCR były jednakowe dla badanych

dwóch prób, a wielkość uzyskanych produktów (545 pz) była charakterystyczna dla BNYVV (rys. 1). Analizy porównawcze uzyskanych sekwencji nt wykazały 100% zgodności dla analizowanych prób B1 i B3. Otrzymaną sekwencję kodującą fragment genu CP polskiego izolatu BNYVV-K zdeponowano w Banku Genów NCBI pod numerem akcesyjnym PV075072. Porównanie sekwencji nt polskiego izolatu do odpowiadających mu fragmentów genomu innych dotychczas opisanych izolatów BNYVV wykazało najwyższą wartość identyczności (99,6%) do izolatów BNYVV-PV-0990 z Niemiec (zidentyfikowanego w *Chenopodium quinoa*, OP722626) oraz dwóch belgij-



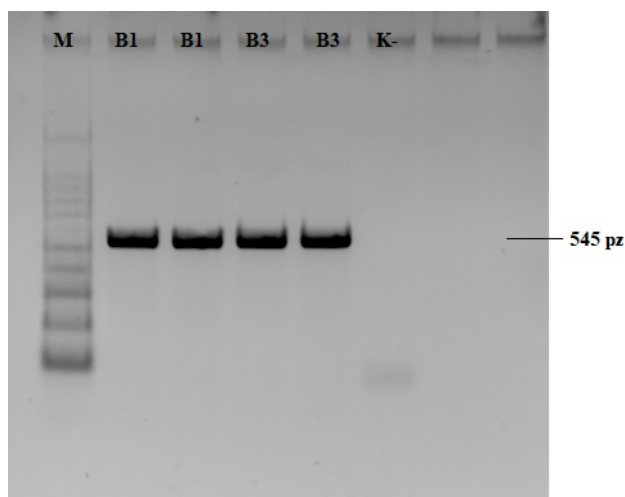
Fot. 1. Dokumentacja fotograficzna objawów na plantacji buraka ćwikłowego
 A) widok uprawy odmiany Scarlet (wrażliwej) i Rhizu (odpornej), widoczne różnice w pokroju roślin (więdnięcie roślin odmiany Scarlet)
 B) objawy pobranych prób buraka ćwikłowego z objawami rizomanii: karłowatość korzenia głównego i rozrost korzeni bocznych
 C) przekrój poprzeczny buraka z objawami nekrotyzacji wiązek przewodzących korzeni
 D) widok na ogólny pokrój buraków różnych odmian, istotne różnice w wielkości rośliny, korzeni i liści

Photo 1. Photographic documentation of symptoms in a beetroot plantation
 A) a view of Scarlet (susceptible) and Rhizu (resistant) cultivars, visible differences in plant appearance (wilting of Scarlet cultivar plants)
 B) beetroot with rhizomania symptoms: reduced size of main root and extensive proliferation of lateral roots
 C) cross section of a beetroot with symptoms of vascular bundle necrosis in the root
 D) a view of the general shape of different varieties beetroots, with significant differences in the size of the plants, roots and leaves

Tabela 2. Wykrywanie porażen BtMV, BYV, BWYV i BNYVV buraków ćwikłowych

Table 2. Detection of BtMV, BYV, BWYV and BNYVV infections in beetroots

Gatunek Species	Lokalizacja (województwo) Location (voivodeship)	Liczba roślin porażonych/liczba roślin badanych Number of infected plants/number of tested samples			
		BtMV	BYV	BWYV	BNYVV
<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>conditiva</i>	Kutno (łódzkie)	1/5	0/5	1/5	2/5



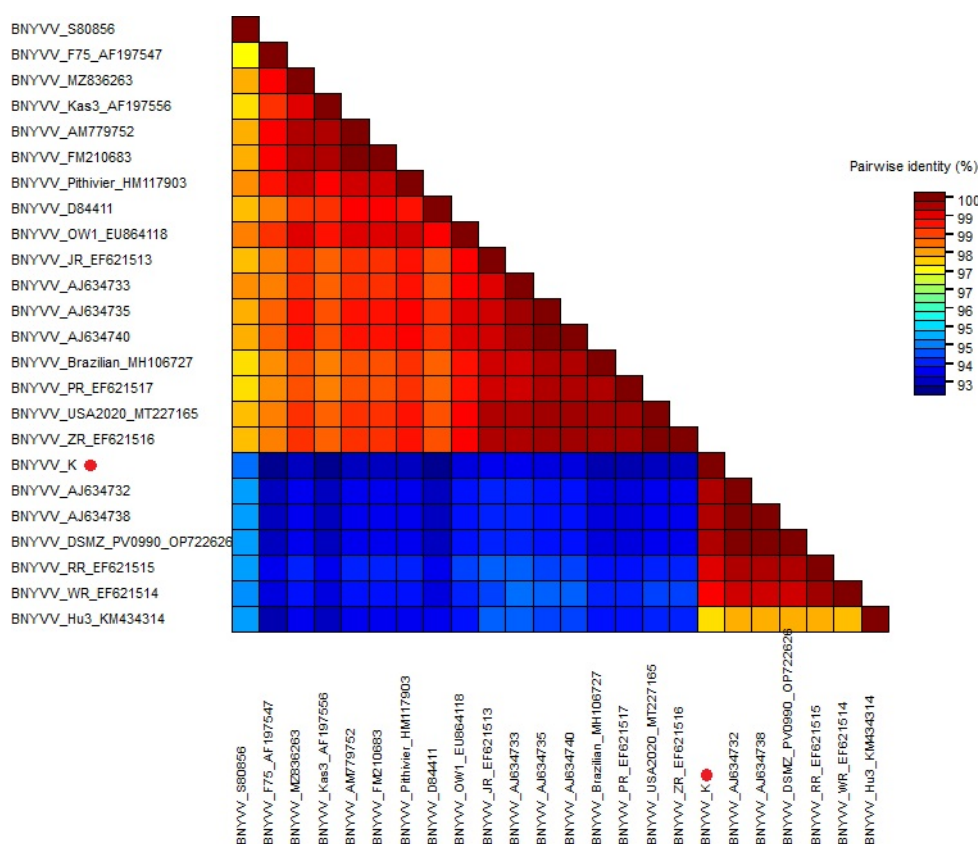
Rys. 1. Rozdział elektroforetyczny produktów RT-PCR ze starterami BNYVV2-F i BNYVV2-R

M – marker NOVA DNA Ladder 100 bp (Novazym); B1, B3 – próby badane; K- – kontrola negatywna

Fig. 1. Electrophoresis of RT-PCR products with BNYVV2-F and BNYVV2-R primers

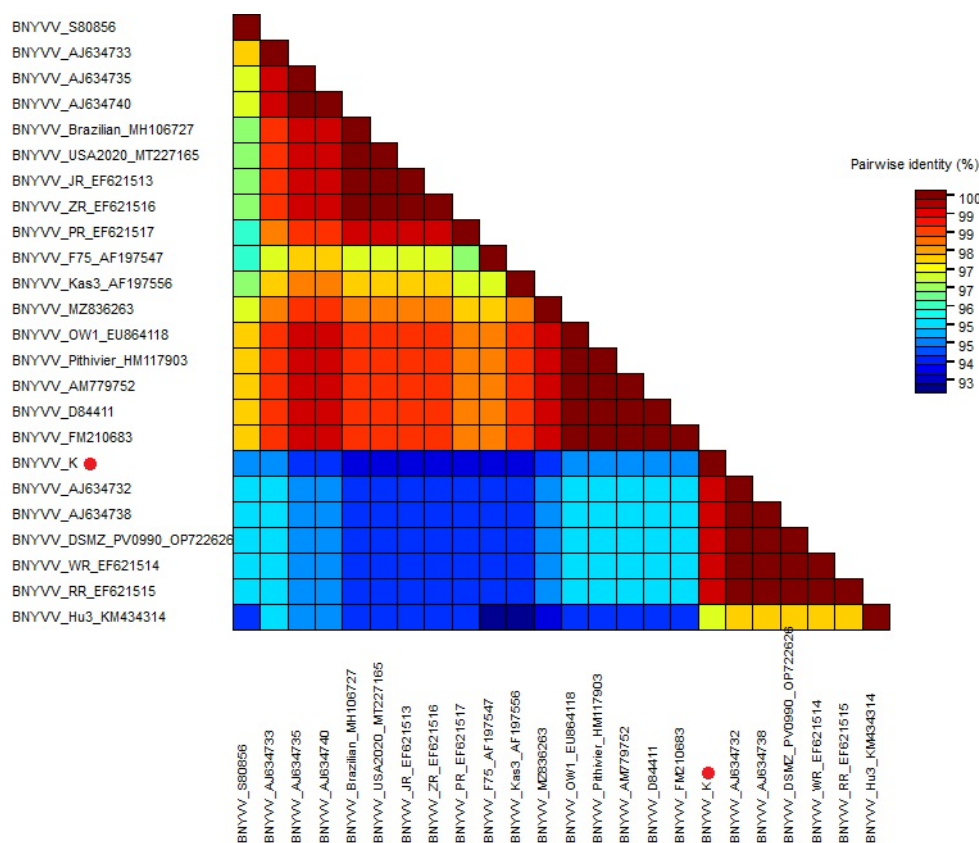
M – NOVA DNA Ladder 100 bp (Novazym); B1, B3 – tested samples; K- – negative control

skich izolatów BNYVV (AJ634738 i AJ634732), które wykryto w roślinach buraka cukrowego. Zaś najniższą wartość identyczności (92,5%) wykazano dla izolatów BNYVV-F75 (AF197547) z Francji (z buraka cukrowego), BNYVV-Kas3 (AF197556) z Kazachstanu (z buraka cukrowego) oraz BNYVV (D84411) z Japonii (wykrytego w *Tetragonia expansa*). Analogiczne analizy dla sekwencji aa wykazały identyczność na poziomie od 93,8 do 99,4%. Szczegółowe wyniki ww. porównań zamieszczono na rysunkach 2 i 3. Analiza filogenetyczna wykonana w oparciu o niepełną sekwencję kodującą genu CP BNYVV wykazała obecność dwóch głównych grup (1a, 1b i 2), złożonych z izolatów pochodzących z różnych krajów Azji, Ameryki Północnej, Ameryki Południowej i Europy (rys. 4). BNYVV-K, podobnie jak dwa inne polskie izolaty: WR (EF621514) i RR (EF621515) oraz dwa belgijskie, jeden niemiecki i jeden chiński, należy do grupy 1b. Pozostałe dwa polskie izolaty: JR (EF621513) i PR (EF621517) wchodzi w skład grupy 1a, która grupuje izolaty z Ameryki Południowej (Brazylia), Ameryki Północnej (USA), Azji (Kazachstan, Iran, Japonia) oraz Europy (Francja, Niemcy, Belgia). Grupę 2 tworzy jeden izolat z Mongolii (S80856). Nie zaobserwowano



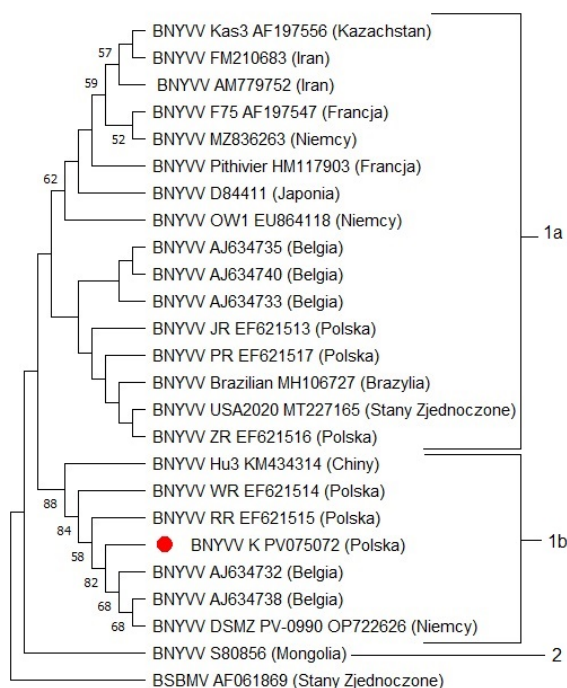
Rys. 2. Wizualizacja analizy identyczności sekwencji badanych 23 izolatów BNYVV na podstawie sekwencji nukleotydów kodującej fragment genu białka płaszcz, analizę wykonano w programie SDT v. 1.2, badany izolat oznaczono czerwoną kropką

Fig. 2. Visualization of nucleotide sequence identity analysis of 23 studied BNYVV isolates based on the nucleotide sequence encoding a fragment of the coat protein gene, the analysis was performed using the SDT v. 1.2 software, the tested isolate is marked with a red dot



Rys. 3. Wizualizacja analizy identyczności sekwencji badanych 23 izolatów BNYVV na podstawie sekwencji aminokwasów fragmentu białka płaszcza, analizę wykonano w programie SDT v. 1.2, badany izolat oznaczono czerwoną kropką

Fig. 3. Visualization of sequence identity of 23 studied BNYVV isolates based on the amino acid sequence of a fragment of the coat protein, the analysis was performed using SDT v. 1.2 software, the tested isolate is marked with a red dot



Rys. 4. Drzewo filogenetyczne modelu maximum likelihood oparte na sekwencji nukleotydów kodującej fragment genu białka płaszcza BNYVV o długości 545 nt, jako grupy zewnętrznej użyto sekwencji nukleotydów BSBMV, badany izolat BNYVV oznaczono czerwoną kropką

Fig. 4. Maximum likelihood tree performed based on nucleotide sequence (545 nt) encoding a fragment of BNYVV coat protein gene, the nucleotide sequence of BSBMV was used as an outgroup, the studied isolate is marked with a red dot

grupowania pod względem rośliny gospodarza, z której pochodziły analizowane próbki. Izolaty pobrane z roślin buraka ćwikłowego (PV075072 i MH106727) należą do dwóch różnych klastrow. Ich wzajemne pokrewieństwo jest niższe w porównaniu do innych izolatów, które pochodzą z buraka cukrowego. Wykonane analizy wskazują, że lokalizacja nie ma także wyraźnego wpływu na grupowanie.

Uzyskane wyniki potwierdzają porażenie BNYVV buraka ćwikłowego z okolic Kutna, u którego obserwowano charakterystyczne objawy rizomanii. Według dostępnej wiedzy jest to pierwsze tego typu doniesienie z Polski. Podobne przypadki odnotowano już w Brazylii oraz w Afryce Południowej (Roberts i wsp. 2016; Camelo-García i wsp. 2019). Infekcje BNYVV spowodowały obniżenie masy porażonych roślin o 64,4% (Camelo-García i wsp. 2019). Warto zwrócić także uwagę na doniesienia Yilmaza i wsp. (2016), którzy wykazali, że różne gatunki chwastów mogą stać się rezerwuarem BNYVV w środowisku. Poza ww. gatunkiem, plantacje buraka ćwikłowego są narażone także na infekcje innych patogenów wirusowych. Mroczkowska i wsp. (2007) wykazali infekcje BMVY u buraka ćwikłowego w Polsce, a Gaafar i wsp. (2019) potwierdzili porażenia tych roślin przez BSBV na terenie Niemiec. Przytoczone przykłady dowodzą, że plantacje zarówno buraka cukrowego, jak i ćwikłowego wymagają ciągłego monitoringu i diagnostyki. Z uwagi na potwierdzone w przeszłości liczne przypadki porażen buraka przez grupę wirusów odglebowych (Borodynko i Pospieszny 2007) oraz na fakt nieusuwalności i trwałej obecności cyst *P. betae* z infekcyjnymi

wirusami, do uniknięcia porażen i minimalizacji potencjalnych strat ilości i jakości plonu zaleca się wysiewanie odmian odpornych (Rush i wsp. 2006).

Wnioski / Conclusions

1. Przeprowadzone badania wykazały obecność BNYVV w roślinach buraka ćwikłowego w okolicach Kutna, co potwierdza stałe zagrożenie ze strony tego wirusa dla podatnych odmian jego roślin gospodarzy.
2. Analizy filogenetyczne oparte na uzyskanej sekwencji kodującej fragment genu CP wykazały, że grupowanie izolatów BNYVV odbywało się niezależnie od rośliny żywicielskiej, ani od lokalizacji z których pochodziły.
3. Charakterystykę molekularną populacji BNYVV należy uzupełnić o sekwencjonowanie dłuższych części genomowego RNA.

Podziękowanie / Acknowledgements

Autorki pragną podziękować Panu Michałowi Rzepka (specjalista ds. doświadczałnictwa, firma Bejo Zaden) za udzielenie zgody na publikację uzyskanych wyników badań przesłanego materiału roślinnego oraz za przekazanie bogatej dokumentacji fotograficznej objawów na plantacji buraka ćwikłowego, które wykorzystano w niniejszej pracy.

Literatura / References

- Bennett C.W., McFarlane J.S. 1957. The effect of sugar beet virus yellows disease on sugar beet seed production. *Plant Disease Reports* 43: 1188–1190.
- Borodynko N., Pospieszny H. 2007. Identyfikacja i występowanie odglebowych wirusów buraka cukrowego w Polsce. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 47 (2): 55–61.
- Camelo-García V.M., Molina J.P.E., Nagata T., Rezende J.A.M., Silva J.M.F. 2019. Effect of rhizomania on red table-beet biomass production and molecular characterization of an isolate of Beet necrotic yellow vein virus from Brazil. *European Journal of Plant Pathology* 154 (4): 1021–1028. DOI: 10.1007/s10658-019-01722-1
- Canova A. 1959. On the pathology of sugarbeet. *Informatore Fitopatologico* 9: 390–396.
- Dobrosz J. 2024. Buraki ćwikłowe zaskakują – ile hektarów uprawiają rolnicy w 2024 roku? <https://www.warzywa.pl/warzywa-polowe/buraki-cwiklowe-zaskakuja-ile-hektarow-uprawiaja-rolnicy-w-2024-roku/> [dostęp: 21.05.2025].
- Dubownik A., Rudnicki R. 2016. Reforma rynku cukru Unii Europejskiej i jej wpływ na uprawę buraków cukrowych i produkcję cukru w Polsce. *Studia Obszarów Wiejskich* 42: 185–196. DOI: 10.7163/SOW.42.14
- Dunning A., Byford W. 1982. *Pests, diseases and disorders of sugar beet*. Deleplanque and Cie, B. M. Press, Sartrouville, France, 166 ss.
- EPPO 2024. EPPO Datasheet: Beet necrotic yellow vein virus. <https://gd.eppo.int/taxon/BNYVV0/datasheet> [dostęp: 20.05.2025].
- Filipiak T., Maciejczak M. 2010. Sektor warzywniczy w Polsce i w wybranych krajach UE. *Zeszyty Naukowe SGGW – Ekonomika i Organizacja Gospodarki Żywnościowej* 84: 99–110. DOI: 10.22630/EIOGZ.2010.84.67
- Gaafar Y., Sieg-Müller A., Lüddecke P., Hartrick J., Seide Y., Müller J., Maaß C., Schuhmann S., Richert-Pöggeler K.R., Blouin A.G., Massart S., Ziebell H. 2019. First report of natural infection of beetroot with Beet soil-borne virus. *New Disease Reports* 40: 5. DOI: 10.5197/j.2044-0588.2019.040.005
- GUS 2024. Przedwiniowy szacunek głównych ziemiopłodów rolnych i ogrodnich w 2024 r. <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/rolnictwo-lesnictwo/uprawy-rolne-i-ogrodnicze/przedwiniowy-szacunek-glownych-ziemioplodow-rolnych-i-ogrodnich-w-2024-roku,4,23.html> [dostęp: 20.05.2025].
- 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. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1571698600931687808> [dostęp: 20.05.2025].

- Hauser S., Stevens M., Mougél C., Smith H.G., Fritsch C., Herrbach E., Lemaire O. 2000. Biological, serological, and molecular variability suggest three distinct polerovirus species infecting beet or rape. *Phytopathology* 90: 460–466. DOI: 10.1094/PHYTO.2000.90.5.460
- Henry C.M., Jones R.A.C., Coutts R.H.A. 1986. Occurrence of a soil-borne virus of sugar beet in England. *Plant Pathology* 35: 585–591. DOI: 10.1111/j.1365-3059.1986.tb02059.x
- Hossain R., Menzel W., Lachmann C., Varrelmann M. 2021. New insights into virus yellows distribution in Europe and effects of beet yellows virus, beet mild yellowing virus, and beet chlorosis virus on sugar beet yield following field inoculation. *Plant Pathology* 70: 584–593. DOI: 10.1111/ppa.13306
- ICTV 2019. 006G. Create a megataxonomic framework, filling all principal taxonomic ranks, for realm Riboviria. https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202404578&taxon_name=Potyvirus%20betaceum [dostęp: 20.05.2025].
- ICTV 2020. 026P.R. Abolish Luteoviridae. https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202403776&taxon_name=Polerovirus%20BWVYV [dostęp: 20.05.2025].
- ICTV 2023a. 030P. Closteroviridae rename sp. https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202402992&taxon_name=Closterovirus%20flavibetae [dostęp: 20.05.2025].
- ICTV 2023b. 019P. Solemoviridae rename sp. https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202403776&taxon_name=Polerovirus%20BWVYV [dostęp: 20.05.2025].
- ICTV 2023c. 013P. Potyviridae rename sp. https://ictv.global/taxonomy/taxondetailstaxnode_id=202404578&taxon_name=Potyvirus%20betaceum [dostęp: 20.05.2025].
- ICTV 2023d. 016P. Virgaviridae and Benyviridae rename sp. https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202405415&taxon_name=Pomovirus%20solibetae [dostęp: 20.05.2025].
- Kapusta F. 2023. Ewolucja cukrownictwa polskiego i jego stan na początku XXI wieku. *Zagadnienia Doradztwa Rolniczego* 114 (4): 67–82.
- Kobus-Cisowska J., Dziedziński M., Szymandera-Buszk K., Neumann M. 2023. Właściwości odżywcze i funkcjonalne buraka ćwikowego (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris*). *Zagadnienia Doradztwa Rolniczego* 114 (4): 83–93.
- Koenig R., Pleij C.W.A., Beier C., Commandeur U. 1998. Genome properties of beet virus Q, a new furo-like virus from sugarbeet, determined from unpurified virus. *Journal of General Virology* 79: 2027–2036. DOI: 10.1099/0022-1317-79-8-2027
- Kozłowska-Makulska A., Beuve M., Syller J., Szyndel M.S., Lemaire O., Bouzoubaa S., Herrbach E. 2009. Aphid transmissibility of different European beet polerovirus isolates. *European Journal of Plant Pathology* 125: 337–341. DOI: 10.1007/s10658-009-9474-7
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35 (6): 1547–1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096
- Liebe S., Varrelmann M. 2022. Ongoing evolution of *Beet necrotic yellow vein virus* towards *Rz1* - resistance breaking in Europe. *Plant Pathology* 71 (8): 1647–1659. DOI: 10.1111/ppa.13597
- Liu H.-Y., Wisler G.C., Wintermantel W.M., Sears J.L. 2001. Differentiation of poleroviruses in sugarbeet. *Journal of Sugar Beet Research* 38 (1): 84.
- Meunier A., Schmit J.-F., Stas A., Kutluk N., Bragard C. 2003. Multiplex reverse transcription-PCR for simultaneous detection of *Beet Necrotic Yellow Vein Virus*, *Beet Soilborne Virus* and *Beet Virus Q* and their vector *Polymyxa betae* KESKIN on sugar beet. *Applied and Environmental Microbiology* 69 (4): 2356–2360. DOI: 10.1128/AEM.69.4.2356-2360.2003
- Mou B., Richardson K., Benzen S., Liu H.-Y. 2012. Effects of *Beet necrotic yellow vein virus* in spinach cultivars. *Plant Disease* 96 (5): 618–622. DOI: 10.1094/PDIS-09-11-0748
- Mroczkowska K., Kozłowska-Makulska A., Szyndel M.S. 2007. Detection and identification of Beet mild yellowing virus among beet Poleroviruses infecting red beet plants. *Phytopathologica Polonica* 46: 57–61.
- Muhire B.M., Varsani A., Martin D.P. 2014. SDT: a virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation. *PLoS ONE* 9 (9): e108277. DOI: 10.1371/journal.pone.0108277
- Nemchinov L.G., Hammond J., Jordan R., Hammond R.W. 2004. The complete sequence, genome organization, and specific detection of *Beet mosaic virus*. *Archives of Virology* 149: 1201–1214. DOI: 10.1007/s00705-003-0278-3
- Nizioł-Łukaszewska Z., Gawęda M. 2014. Changes in quality of selected red beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars during the growing season. *Folia Horticulturae* 26 (2): 139–146. DOI: 10.1515/fhort-2015-0005
- Osińska B., Szymczak-Nowak J., Nowakowska H., Paczuski R. 1989. Rizomania i jej występowanie w Polsce. *Ochrona Roślin* 8: 3–4.
- Prillwitz H., Schlösser E. 1993. Comparison of damage caused by beet necrotic yellow vein virus and beet soilborne virus 2. EPPO Global Database. <https://gd.eppo.int/reporting/article-4874> [dostęp: 11.07.2025].
- Roberts R., Botha W.J., Wolfaardt J.P., Jooste A.E.C. 2016. First report of Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) on red table beet in south Africa. *Plant Disease* 100 (5): 1025. DOI: 10.1094/PDIS-08-15-0919-PDN
- Rollwage L., Maiss E., Menzel W., Hossain R., Varrelmann M. 2023. Beet mosaic virus expression of a betalain transcription factor allows visual virus tracking in *Beta vulgaris*. *Molecular Plant Pathology* 24 (10): 1319–1329. DOI: 10.1111/mpp.13372
- Rush C.M., Liu H.-Y., Lewellen R.T., Acosta-Leal R. 2006. The continuing saga of rhizomania of sugar beets in the United States. *Plant Disease* 90 (1): 4–15. DOI: 10.1094/PD-90-0004
- Russell G. 1971. Beet mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 53. Wellesbourne, UK. Association of Applied Biologists, 4 ss.
- Scholten O.E., Lange W. 2000. Breeding for resistance to rhizomania in sugar beet: a review. *Euphytica* 112: 219–231. DOI: 10.1023/A:1003988003165
- Tamada T., Baba T. 1973. Beet necrotic yellow vein virus from rizomania-affected sugar beet in Japan. *Japanese Journal of Phytopathology* 39 (4): 325–332. DOI: 10.3186/jjphytopath.39.325
- Wintermantel W.M. 2005. Co-infection of Beet mosaic virus with Beet yellowing viruses leads to increased symptom expression on sugar beet. *Plant Disease* 89 (3): 325–331. DOI: 10.1094/PD-89-0325
- Yilmaz N., Altop E., Philippo C., Mennan H. 2016. New natural weed host *Raphanus raphanistrum* L. (Brassicaceae) for Beet necrotic yellow vein virus and its vector *Polymyxa betae* Keskin. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 40 (1): 120–126. DOI: 10.3906/tar-1410-113