



Wykrywanie i identyfikacja wirusów infekujących paprykę w Polsce

Julia Minicka¹, Agnieszka Taberska¹, Daria Budzyńska¹, Natasza Borodynko-Filas², Karolina Kaźmińska³, Grzegorz Bartoszewski³, Beata Hasiów-Jaroszewska¹

¹ Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Wirusologii i Bakteriologii, ul. Wł. Węgorka 20, 60-318 Poznań

² Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Klinika Chorób Roślin i Bank Patogenów, ul. Wł. Węgorka 20, 60-318 Poznań

³ Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Katedra Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

e-mail: j.minicka@iorpib.poznan.pl

Konferencja Polskiego Towarzystwa Fitopatologicznego
„Nowoczesne spojrzenie na fitopatologię” Poznań (online), 7-8 września 2022 r.



WSTĘP



Choroby wirusowe są jednym z głównych czynników ograniczających uprawę *Capsicum annuum* L. na całym świecie. Jak dotąd zidentyfikowano 68 gatunków wirusów porażających paprykę, z których 20 powoduje realne straty w jakości i ilości plonu. Najczęściej w uprawach papryki potwierdzana jest obecność wirusa mozaiki ogórka (cucumber mosaic virus, CMV) (Fig. 1a), wirusa łagodnej pstrości papryki (pepper mild mottle virus, PMMoV) (Fig. 1e), wirusa brązowej plamistości pomidora (tomato spotted wilt virus, TSWV) (Fig. 1c), wirusa mozaiki pomidora (tomato mosaic virus, ToMV) (Fig. 1b) czy wirusa Y ziemniaka (potato virus Y, PVY) (Fig. 1d)

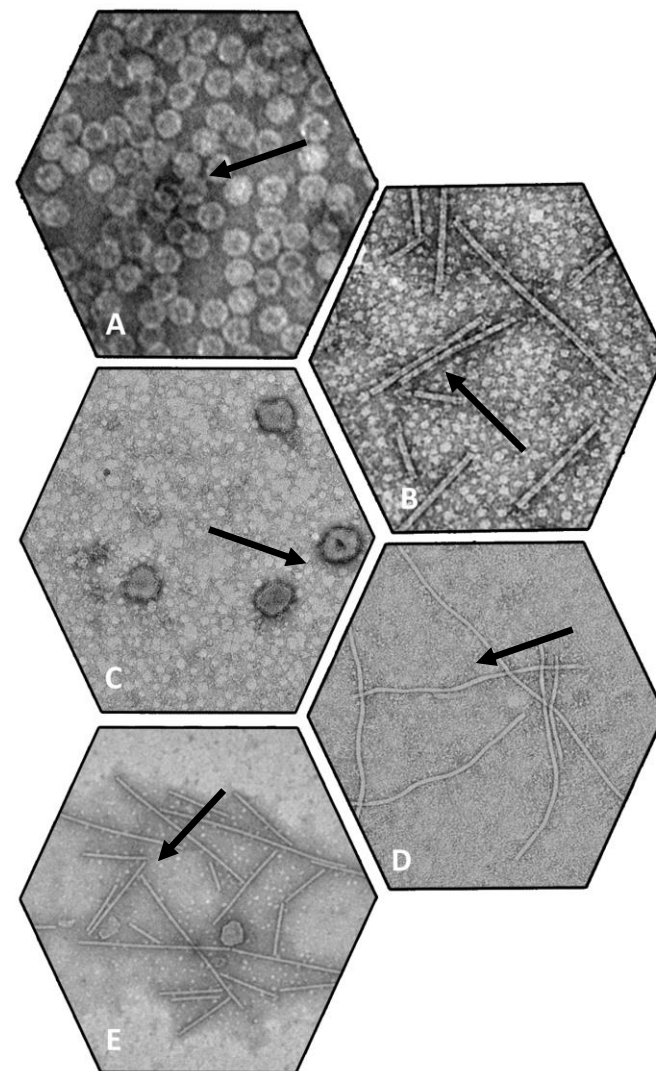


Fig. 1 Cząstki wirusów infekujących paprykę (*Capsicum annuum* L.) obserwowane w transmisyjnym mikroskopie elektronowym: A. wirusa mozaiki ogórka; B. wirusa mozaiki pomidora; C. wirusa brązowej plamistości owoców; D. wirusa Y ziemniaka; E. wirusa łagodnej pstrości papryki. Strzałkami zaznaczono cząstki wirusów. A,B,D,E - fot. J. Minicka; C – fot. A. Zarzyńska-Nowak

CEL

Analiza populacji wirusów porażających uprawy papryki w Polsce

METODY

- Sekwencjonowanie następnej generacji (NGS) wybranych próbek papryki
 - Monitoring upraw papryki w Polsce
 - RT-PCR, sekwencjonowanie Sangera

Sekwencjonowanie następnej generacji

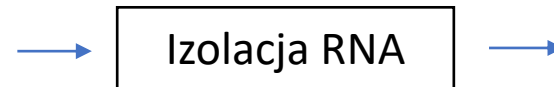


Fig. 2 Rośliny papryki z widocznymi objawami chorobowymi. fot. K Kaźmińska

Roślina	Number of Total Raw Reads	Number of Reads Mapped to Corresponding Reference Sequence from Viral RefSeq	Zidentyfikowane wirusy
<i>Capsicum annuum</i>	77794948	231267,14 145702,25 430495,54 72739,34 383,97 578,82	1. cucumber mosaic virus RNA1 2. cucumber mosaic virus RNA 2 3. cucumber mosaic virus RNA3 4. pepper mild mottle virus 5. bell pepper endornavirus 6. pepper cryptic virus 2



Monitoring upraw



W latach 2020-2022 łącznie przebadano 30 próbek owoców polskiej papryki słodkiej (*Capsicum annuum* L.) pochodzących z różnych sieci handlowych i przydomowych ogródków. Próbki charakteryzowały się zróżnicowanymi objawami chorobowymi, między innymi w postaci malformacji powierzchni, przebarwień, nekrozy, pierścieni widocznych pod skórką (Fig. 3a-d). Ze wszystkich próbek wyizolowano RNA, a następnie wykonano reakcję RT-PCR ze starterami specyficznymi do wykrywania CMV, ToMV, PVY, PMMoV, TSWV, BPEV oraz PCV2. Produkty RT-PCR rozdzielano elektroforetycznie na 1% żelu agarozowym. Uzyskane produkty sekwencjonowano metodą Sanger (Genomed S.A.).

Fig 3. Objawy obserwowane na zainfekowanych owocach papryki w postaci: przebarwień, deformacji powierzchni, pierścieni na powierzchni skórki.

Nazwa wirusa	Starter	Sekwencja 5'-3'	Referencje
cucumber mosaic virus	CMVCPF/R	GCTTCTCCGCGAG/GCCGTAAGCTGGATGGAC	Bashir i wsp. 2006
tomato mosaic virus	ToMVF/R	CGACATCAGCCGATGCAGC/ACCGTTTTCGAACCGAGACT	Kumar i wsp. 2011
potato virus Y	PVYCPF/R	AACTGGAAGAATTGGCGGCCGAGGAATTTTTTTTTTTTT/RCYTTCACTGAAATGATGG	Boonham i wsp. 2002
pepper mild mottle virus	PMMoV-F/R	ACTTCGGCGTTAGGCAATC/GGAGTTGTAGCCCAGGTGAG	Alwabli et al. 2017
tomato spotted wilt virus	TS1-F/R	GCCTATGGATTACCTCTTG/GTTTCACTGTAATGTTCCA	Zarzynska-Nowak i wsp. 2018
bell pepper endornavirus	dBPEVF/R	ATGACCAAyGGGCAAGTACC/CTGTATCTTCCCAGAGACTC	Tomašechová i wsp. 2020
pepper cryptic virus 2	PCV2F/R	TCATCCGTCCAGCTAACGTA/CGTCTCTTTTCTGAGCGGTA	Sabanadzovic i Valverde 2011

Tab. 1 Startery wykorzystane podczas prowadzenia doświadczeń



Monitoring upraw

		CMV	TMV	PVY	PMMoV	TSWV	BPEV	PCV2
1	1NB/21	+	-	-	-	-	-	-
2	2NB/21	+	-	-	-	-	+	-
3	3NB/21	+	-	-	-	-	+	-
4	4NB/21	+	-	-	+	-	+	-
5	5NB/21	+	-	-	-	-	+	-
6	6NB/21	+	-	-	+	-	-	-
7	7NB/21	+	-	-	-	-	-	-
8	8NB/21	+	-	-	+	-	+	-
9	9JM/21	+	-	-	-	-	+	-
0	10JM/21	-	-	-	-	-	+	-
11	P2B/21	+	-	-	-	-	+	-
12	P3B/21	-	-	-	-	-	+	-
13	P4N/21	-	-	-	-	-	+	-
14	P5N/21	+	-	-	-	-	-	-
15	SZ1/21	-	-	+	-	-	-	-

		CMV	TMV	PVY	PMMoV	TSWV	BPEV	PCV2
16	SZ2/21	-	-	+	-	-	-	-
17	C1/21	-	-	-	+	-	+	-
18	H1/21	-	-	-	+	-	-	-
19	BHJ1/22	-	-	-	-	-	+	-
20	BHJ2/22	-	-	-	-	-	+	-
21	BHJ3/22	-	-	-	-	-	+	-
22	BHJ4/22	-	-	-	-	-	+	-
23	L1/22	-	-	-	-	-	+	-
24	L2/22	-	-	-	-	-	+	-
25	L3/22	-	-	-	-	-	+	-
26	L4/22	-	-	-	-	-	+	-
27	N1/22	-	-	-	-	-	+	-
28	N2/22	-	-	-	-	-	+	-
29	S1/22	-	-	-	-	-	+	-
30	S2//22	-	-	-	-	-	+	-

Tab. 2 Wyniki reakcji RT-PCR

Podsumowanie

- Po raz pierwszy w Polsce stwierdzono obecność bell pepper endornavirus (BPEV) i pepper cryptic virus 2 (PCV2).
- Wykazano obecność licznych pojedynczych i mieszanych infekcji w populacji papryki w Polsce, z przewagą obecności wirusa mozaiki ogórka i nowo zidentyfikowanego BPEV.





Badania finansowane z tematu statutowego WIB 03 „Identyfikacja nowych zagrożeń w uprawach roślin rolniczych oraz opracowanie nowoczesnych technik wykrywania różnych patogenów roślinnych jako efektywnych sposobów ograniczania ich występowania”

Literatura:

1. Alwabli A, et al. 2017. Biological, Serological and Molecular Characterization of Pepper Mild Mottle Virus Isolated from West Region of Kingdom of Saudi Arabia. *Res J Infect Dis* 5(1): 1-11.
2. Bashir NS, et al. 2006. Detection, Differentiation and Phylogenetic Analysis of Cucumber Mosaic Virus Isolates from Cucurbits in the Northwest Region of Iran. *Virus Genes* 32, 277–288.
3. Boonham N, et al. 2002. Biological and sequence comparisons of Potato virus Y isolates associated with potato tuber necrotic ringspot disease. *Plant Pathol.* 51:117-126.
4. Kumar S, et al. 2011. Detection of Tobacco Mosaic Virus and Tomato Mosaic Virus in Pepper and Tomato by Multiplex RT–PCR. *Lett. Appl. Microbiol.* 53, 359–363
5. Sabanadzovic i Valverde 2011. Properties and detection of two cryptoviruses from pepper (*Capsicum annuum*). *Virus Genes* 43: 307-312
6. Tomašechová J, et al. 2020. High-Throughput Sequencing Reveals Bell Pepper Endornavirus Infection in Pepper (*Capsicum annuum*) in Slovakia and Enables Its Further Molecular Characterization. *Plants* 9(1): 41.
7. Zarzyńska-Nowak A, et al. 2018. A Multiplex RT-PCR Assay for Simultaneous Detection of Tomato Spotted Wilt Virus and Tomato Yellow Ring Virus in Tomato Plants. *Can. J. Plant Pathol.* 40, 580–586.

Dziękuję za uwagę!

