

## Diversity of the Polish isolates of *Potato virus Y* (PVY) from tomato

### Zróżnicowanie polskich izolatów wirusa Y ziemniaka (*Potato virus Y*, PVY) z pomidora

Beata Hasiów-Jaroszewska<sup>1</sup>, Julia Minicka<sup>1</sup>, Joanna Stachecka<sup>2</sup>, Natasza Borodynko<sup>1</sup>, Dorota Piękna-Paterczyk<sup>1</sup>, Henryk Pospieszny<sup>1</sup>

#### Summary

In 2012 and 2013 the presence of *Potato virus Y* on tomato in greenhouses and fields was analyzed. A total number of 176 samples displaying different type of symptoms: deformation, discoloration, necrosis of leaves and growth retardation were collected. The presence of viral infection using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and transmission electron microscopy (TEM) was confirmed in 147 samples. Biological and genetic diversity of the virus isolates was also analyzed. The analyses revealed that the particular strains cause different symptoms on the tested plants such as *Solanum lycopersicum* cv. Moneymaker, *S. melongena* and *Datura innoxia*. In contrast to previous years, in which only isolates belonging to PVY<sup>N</sup>Wi-P strains were observed, four different strains were identified: PVY<sup>N</sup>Wi-P, PVY<sup>N</sup>N242, PVY<sup>NTN</sup> and PVY<sup>O</sup>. The isolates belonging to PVY<sup>N</sup>Wi-P strain remained dominant in the population.

**Key words:** PVY; *Solanum lycopersicum*; RT-PCR; identification; diversity

#### Streszczenie

W latach 2012 i 2013 przeprowadzono monitoring występowania wirusa Y ziemniaka na pomidorze. Pozyskano 176 prób z pomidora szklarniowego i gruntowego, charakteryzujących się różnymi objawami chorobowymi w postaci deformacji blaszek, przebarwień, nekroz liści oraz karłowacenia pędów. W 147 próbach potwierdzono obecność wirusa za pomocą testu immunoenzymatycznego oraz transmisyjnej mikroskopii elektronicznej. Analizowano zróżnicowanie biologiczne i genetyczne pozyskanych izolatów. Wykazano, iż poszczególne szczepy mogą powodować odmienne objawy chorobowe na roślinach testowych: *Solanum lycopersicum* cv. Moneymaker, *S. melongena* oraz *Datura innoxia*. W przeciwieństwie do lat ubiegłych, w których obserwowano jedynie izolaty należące do szczepu PVY<sup>N</sup>Wi-P, w badanym materiale zidentyfikowano cztery różne szczepy PVY: PVY<sup>N</sup>Wi-P, PVY<sup>N</sup>N242, PVY<sup>NTN</sup> i PVY<sup>O</sup>. Izolaty należące do szczepu PVY<sup>N</sup>Wi-P pozostały dominujące w populacji.

**Słowa kluczowe:** PVY; *Solanum lycopersicum*; RT-PCR; identyfikacja; zróżnicowanie

<sup>1</sup> Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy  
Zakład Wirusologii i Bakteriologii  
Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań  
B.Hasiow@iorpib.poznan.pl

<sup>2</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii  
Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań

## Wstęp / Introduction

Wirus Y ziemniaka (*Potato virus Y*, PVY) należy do rodzaju *Potyvirus*, w rodzinie Potyviridae (Hall i wsp. 1998) i jest jednym z najgroźniejszych patogenów wirusowych porażających rośliny ziemniaka. Szacuje się, że ponad 40% bulw wczesnego ziemniaka w Polsce może być porażonych przez tego wirusa (Pospieszny i wsp. 2009). Wirus poraża również inne rośliny z rodziny Solanaceae, jak: pomidor, tytoń czy paprykę (Aramburu i wsp. 2006; Loebenstein i Lecoq 2012). PVY jest przenoszony przez mszyce w sposób nietrwały, na klujące owada. Początkowo przenoszony był głównie przez mszyce ziemniaczane (*Myzus persicae*, *Aphis nasturtii* i *A. frangulae*) (Harrington i wsp. 1986; Piron 1986), ale zmiany w strukturze populacji mszyc żerujących na ziemniaku oraz okresie ich żerowania spowodowały, że obecnie PVY przenoszony jest również przez 20 innych gatunków mszyc, dla których ziemniak nie jest głównym żywicielem (Kostiw i Robak 2008). Wirus przenosi się także mechanicznie.

PVY powoduje zróżnicowane objawy chorobowe na porażanych roślinach, zależne od szczepu wirusa, warunków środowiska czy gatunku gospodarza (Tribodet i wsp. 2005). Na ziemniaku może wywoływać objawy – od mozaiki i przebarwień poprzez nekrotyczne plamy na liściach i bulwach, aż po karłowacenie roślin i opadanie liści, co znacząco wpływa na pogorszenie jakości plonów (Beczner i wsp. 1984). Podobnie w przypadku pomidora objawy powodowane przez tego wirusa mogą być zróżnicowane: od łagodnej mozaiki, poprzez przewężanie i wydłużanie pędów oraz blaszek liściowych, deformację, zahamowanie wzrostu czy nierównomierne wybarwienie się owoców.

Materiał genetyczny wirusa stanowi pojedyncza, sensowna nić RNA o długości około 9700 nukleotydów. Na końcu 5' związane jest białko VPg, pełniące rolę w translacji oraz podczas syntezy RNA, natomiast na końcu 3' znajduje się ogon poliA. Genom wirusa zawiera jedną ramkę odczytu (ORF – open reading frame), a produktem translacji jest poliproteina, z której w wyniku cięcia trzema wirusowymi proteazami (P1-Pro, HC-Pro oraz NIa-Pro) powstaje dziesięć białek (P1-Pro, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, Vpg, NIa-Pro, NIb RdRp, CP). Ponadto, w wyniku zmiany ramki odczytu w cistronie P3 powstaje dodatkowe, jedenaste białko P3N-PIPO (Cuevas i wsp. 2012). Częstki wirusa są nitkowate o długości około 730 nm i średnicy 11 nm (Dougherty i Carrington 1988). Dotychczas opisano występowanie trzech głównych szczepów wirusa (PVY<sup>O</sup>, PVY<sup>N</sup> i PVY<sup>C</sup>) (Glais i wsp. 2002) oraz licznych rekombinantów. Spośród rekombinantów najliczniejszą grupę w Polsce stanowią izolaty należące do szczepów PVY<sup>N</sup>Wi (Chrzanoska 1991) z dwoma podgrupami: PVY<sup>N</sup>Wi-P oraz PVY<sup>N</sup>N242, a także izolaty należące do szczepu PVY<sup>NTN</sup>.

Do 2000 roku PVY w Polsce występował sporadycznie na roślinach pomidora. Pierwsze masowe występowanie wirusa obserwowano w latach 2002 i 2008 na pomidorach szklarniowych w Wielkopolsce (Pospieszny 2003; Pospieszny i wsp. 2009). Obserwowano wówczas wyraźne objawy chorobowe przyczyniające się do znaczących strat

w plonach. Wśród badanych izolatów na porażonych pomidorach odnotowano obecność jednego szczepu PVY<sup>N</sup>Wi-P.

W roku 2012 ponownie zaobserwowano nasilenie występowania PVY na roślinach pomidora (Borodynko i Hasiów-Jaroszevska 2012). Jednak w przeciwieństwie do lat ubiegłych wirusa stwierdzono zarówno w uprawach pomidora szklarniowego, jak i gruntowego.

Celem pracy była charakterystyka biologiczna i genetyczna polskich izolatów wirusa pozyskanych z roślin pomidora.

## Materiały i metody / Materials and methods

### Monitoring występowania wirusa w uprawie pomidora i test biologiczny

W latach 2012 i 2013 przeprowadzono monitoring występowania wirusa w uprawie pomidora szklarniowego i gruntowego. Próby pobierano w miesiącach letnich (lipiec/sierpień) w województwach: wielkopolskim, kujawsko-pomorskim, lubuskim, mazowieckim oraz dolnośląskim. Zebrano łącznie 176 prób (86 w roku 2012 oraz 90 w roku 2013) z roślin pomidora z widocznymi objawami chorobowymi w postaci deformacji blaszek, przebarwień, nekroz liści oraz karłowaceniem pędów. Wszystkie pozyskane próby pasażowano na 14 gatunków roślin testowych w celu potwierdzenia obecności wirusa, określenia zakresu roślin gospodarzy oraz powodowanych symptomów. Zakres roślin testowych stanowiły: *Capsicum annum*, *Chenopodium quinoa*, *Datura innoxia*, *Nicotiana benthamiana*, *N. occidentalis*, *N. tabacum* cv. Samsun, *N. tabacum* cv. White Burley, *N. tabacum* cv. Xanthi, *Physalis floridana*, *Solanum lycopersicum* cv. Beta Lux, *S. lycopersicum* cv. Grace, *S. lycopersicum* cv. Malinowy Ożarówski, *S. lycopersicum* cv. Moneymaker oraz *S. melongena*. Rośliny inokulowano mechanicznie zawiesiną wirusa w soku pochodzącym z zebranych prób pomidora rozartym w 0,05 M buforze fosforanowym (pH 8,0) w stosunku 1:1 (W/V) i utrzymywano w warunkach szklarniowych. Przez kolejne 3 tygodnie obserwowano objawy chorobowe, sugerujące wystąpienie infekcji wirusowej.

### Identyfikacja serologiczna wirusa

Obecność wirusa we wszystkich roślinach testowych potwierdzono za pomocą testu serologicznego ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) (Clark i Adams 1977), z zastosowaniem komercyjnych przeciwciał i koniugatu przeciwko PVY (Bioreba). Do każdej studzienki nanoszono 100 µl gamma-globuliny rozcieńczonej w buforze węglanowym i inkubowano przez 4 godziny w temperaturze 37°C. Po inkubacji przeciwciała usuwano, a płytkę płukano trzykrotnie przez 3 minuty buforem PBS zawierającym 0,05% Tween-20 (PBS-T), w objętości 200 µl na każdą studzienkę. Fragmenty liści pochodzące z roślin testowych rozcierano w buforze ekstrakcyjnym w moździerzu i tak przygotowany sok roślinny nanoszono w objętości 100 µl do każdej studzienki. Dla każdej próbki wykonano dwa powtórzenia. Jako kontrolę negatywną

nanoszono sok roślinny przygotowany ze zdrowych roślin. Płytkę inkubowano przez noc w temperaturze 4°C. Po inkubacji płytkę płukano trzykrotnie w buforze PBS-T i do każdej studzienki dodawano 100 µl gamma-globuliny sprzęgniętej z alkaliczną fosfatazą rozcieńczonej w buforze ekstrakcyjnym. Po czterech godzinach inkubacji w temperaturze 37°C płytkę płukano i wywoływano reakcję barwną stosując wywołujący fosfatazy zawierający p-nitrofenylofosforan (Sigma-Aldrich) w objętości 1 mg/ml. Pomiaru absorbancji dokonano za pomocą czytnika ELX800 (Bio-Tek Instruments INC).

### Analiza w transmisyjnym mikroskopie elektronowym

Wszystkie pozyskane próby pomidora ze szklarni i gruntu, jak również rośliny testowe wykazujące objawy chorobowe, były sprawdzane pod kątem obecności nitkowatych cząstek wirusowych o długości około 730 nm w transmisyjnym mikroskopie elektronowym (TEM, Hitachi 7700). Fragmenty blaszek liściowych o wielkości około 2 × 2 cm rozcierano na szkiełku podstawowym w kilku kroplach wody destylowanej. Uzyskany sok roślinny nanoszono na siatki miedziane (Polysciences) pokryte warstwą formvaru i inkubowano 30 sekund. Warstwę soku odsączano za pomocą bibuły, nanoszono kroplę barwnika, odpowiednio 2% kwasu fosforowolframowego (PTA) o pH 7,2 lub 2% octanu uranylu (UA) o pH 7,2 (Sigma) i ponownie inkubowano. Obserwacje prowadzono w transmisyjnym mikroskopie elektronowym przy napięciu przyspieszającym 80 kV.

### Identyfikacja szczepów PVY techniką RT-PCR

Całkowite RNA izolowano z fragmentów liści szczytowych wszystkich wstępnie zweryfikowanych roślin za pomocą kitu RNAeasy Plant Mini Kit (Qiagen) zgodnie z dołączoną procedurą. Dla każdej próby wykonano trzy odrębne reakcje RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction) z trzema parami starterów (Rigotti i Gugerli 2007). Reakcje przeprowadzono przy użyciu zestawu DreamTaq PCR Master Mix (Thermo Scientific) w objętości 50 µl. Do każdej reakcji użyto 1 µl odpowiedniego RNA o stężeniu 100 ng/µl, 200 nM startera 5' i 3', 25 µl 2x DreamTag PCR Master Mix oraz 1 µl RevertAid Reverse Transcriptase (200 U/µL) i 22 µl wody. Najpierw przeprowadzono odwrotną transkrypcję przez 20 minut w temperaturze 42°C, a następnie wstępną denaturację – 3 minuty w temperaturze 95°C. Amplifikację prowadzono w 30 cyklach obejmujących: denaturację: 45 sekund w temperaturze 94°C, przyłączanie starterów: 45 sekund w temperaturze 57°C i wydłużanie nici: 60 sekund w temperaturze 72°C. Reakcję zakończono w temperaturze 72°C przez 5 minut. Obecność otrzymanych produktów amplifikacji obserwowano na 1% żelu agarozowym w świetle UV. Na podstawie rozdziału elektroforetycznego produktów uzyskanych w wyniku reakcji RT-PCR uzyskane izolaty klasyfikowano do poszczególnych szczepów. Wielkość produktów RT-PCR powstających w reakcji dla każdego ze szczepów zamieszczono w tabeli 1.

Tabela 1. Identyfikacja szczepów PVY za pomocą reakcji RT-PCR (Rigotti i Gugerli 2007)

Table 1. Identification of PVY strains using RT-PCR reaction (Rigotti and Gugerli 2007)

Szczepy Strains	Wielkość produktów RT-PCR [kbp] Size of the RT-PCR products [kbp]		
	PVY c3/f	PVY 3+/-	CP2+/-
PVY <sup>N</sup>	0,44	1,11	–
PVY <sup>NTN</sup> niezrekombinowany PVY <sup>NTN</sup> nonrecombinant	0,44	1,11	–
PVY <sup>NTN</sup> zrekombinowany PVY <sup>NTN</sup> recombinant	0,44	–	–
PVY <sup>O</sup>	0,66	–	0,53
PVY <sup>N</sup> Wi(PVY <sup>N</sup> Wi-P)	–	–	0,53
PVY <sup>N</sup> Wi(PVY <sup>N</sup> N242)	0,44	–	0,53
PVY <sup>C</sup>	0,66	–	–

### Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Spśród 176 zebranych prób, w 147 (69 w roku 2012 oraz 78 w roku 2013) potwierdzono obecność wirusa. Podobne nasilenie występowania PVY na pomidorze szklarniowym obserwowano w latach 2002 oraz 2008 (Pospieszny 2003; Pospieszny i wsp. 2009). Wydaje się, że na takie zmiany w porażaniu roślin przez wirusa – naprzemienne nasilenie i ograniczanie jego występowania, mogą mieć wpływ zmienne warunki klimatyczne. Ciepła, długa wiosna oraz ciepłe lato są korzystne dla rozwoju mszyc, które w sprzyjających warunkach mogą efektywniej przenosić wirusa, co skutkuje jego nasilonym występowaniem. Po przeniesieniu pozyskanych izolatów na rośliny testowe obserwowano objawy chorobowe charakterystyczne dla PVY. W przypadku 3 roślin testowych (*D. inoxia*, *S. lycopersicum* cv. Moneymaker oraz *S. melongena*) symptomy chorobowe różniły się zależnie od szczepu wirusa. Wszystkie testowane odmiany tytoniu wykazywały systemiczne objawy chorobowe, specyficzne dla infekcji PVY (tab. 2). W początkowym etapie porażenia wirusem obserwowane były przejaśnienia wzdłuż nerwów, przechodzące kolejno w silne deformacje blaszki liściowej. Odnotowywano również zamieranie starszych porażonych liści, a także zahamowanie wzrostu i karłowacenie roślin. Wyraźne objawy chorobowe rejestrowano również w przypadku roślin *D. inoxia*, *S. melongena* oraz wszystkich odmian pomidora (tab. 2). Na roślinach *D. inoxia* obserwowane objawy chorobowe w postaci przebarwień i deformacji blaszek liściowych występowały jedynie w przypadku porażenia przez izolaty należące do trzech szczepów wirusa: PVY<sup>N</sup>Wi-P, PVY<sup>N</sup>N242 oraz PVY<sup>NTN</sup>. W przypadku porażenia roślin *D. inoxia* przez izolaty należące do szczepu PVY<sup>O</sup> infekcja była bezobjawowa. Odwrotną sytuację obserwowano dla roślin oberżyny. Jedynie w wyniku porażenia przez izolaty należące do szczepu PVY<sup>O</sup> widoczne były objawy chorobowe w postaci deformacji blaszek liściowych oraz zahamo-

Tabela 2. Objawy na roślinach testowych powodowane przez różne szczepy PVY  
Table 2. Symptoms on tested plants caused by different strains of PVY

Rośliny – Plants	Szczepy – Strains			
	PVY <sup>N</sup> Wi-P	PVY <sup>N</sup> N242	PVY <sup>N</sup> NTN	PVY <sup>O</sup>
<i>Nicotiana benthamiana</i>	d	d	d	d
<i>N. occidentalis</i>	d, z, zm	d, z, zm	d, z, zm	d, z, zm
<i>N. tabacum</i> cv. Samsun	pn, d, zm, z	pn, d, zm, z	pn, d, zm, z	pn, d, zm, z
<i>N. tabacum</i> cv. Xanthi	pn, d, zm, z	pn, d, zm, z	pn, d, zm, z	pn, d, zm, z
<i>N. tabacum</i> cv. White Burley	pn, d, zm, z	pn, d, zm, z	pn, d, zm, z	pn, d, zm, z
<i>Physalis floridana</i>	–	–	–	–
<i>Datura innoxia</i>	d, p	d, p	d, p	(s)
<i>Chenopodium quinoa</i>	–	–	–	–
<i>Solanum lycopersicum</i> cv. Beta Lux	d	d	d	d
<i>S. lycopersicum</i> cv. Grace	d	d	d	d
<i>S. lycopersicum</i> cv. Moneymaker	d	d	d, n	d
<i>S. lycopersicum</i> cv. Malinowy Ożarowski	d	d	d	d
<i>Capsicum annuum</i>	(s)	(s)	(s)	(s)
<i>S. melongena</i>	(s)	(s)	(s)	z, d

d – deformacje, z – zahamowanie wzrostu, skarlłowacenie roślin, zm – zamieranie liści, pn – przejaśnienia nerwów, (s) – infekcja utajona, n – nekrozy, p – przebarwienia blaszek, „–” – brak infekcji  
d – deformation, z – stunting of the plants, zm – plants death, pn – veins clearing, s – symptomless infection, n – necrosis, p – discoloration of the leaf blades, „–” – no infection

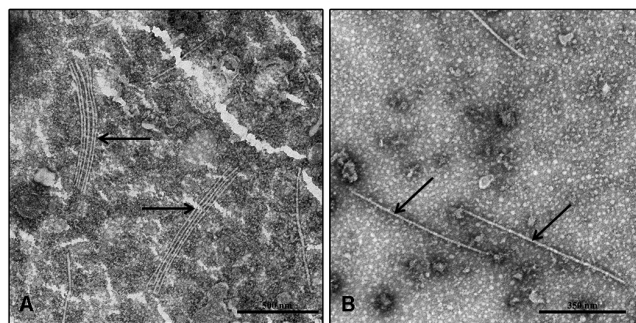
wania wzrostu. W wyniku infekcji wirusem wszystkich testowanych odmian pomidora pojawiały się deformacje blaszki liściowej, zwijanie brzegów blaszki liściowej oraz zahamowanie wzrostu (tab. 2). Ponadto, na roślinach pomidora odmiany Moneymaker, po około 2 tygodniach od inokulacji obserwowano nekrotyczne plamy na blaszkach liściowych, powodowane przez izolaty zaklasyfikowane później do szczepu PVY<sup>NTN</sup>. Izolaty należące do tego szczepu uważane są za główne czynniki wywołujące PTNRD (Tuber Necrotic Ringspot Disease) na ziemniaku (Chikh Ali i wsp. 2007).

Obecność wirusa w roślinach testowych potwierdzono za pomocą testu immunoenzymatycznego ELISA z komercyjną surowicą specyficzną dla PVY, a także wykorzystując transmisyjny mikroskop elektronowy. Przeprowadzony test ELISA pozwolił na potwierdzenie obecności wirusa w materiale biologicznym pochodzącym z roślin testowych, zarówno w roślinach z wyraźnymi objawami chorobowymi, jak i w roślinach, u których nie obserwowano objawów takich, jak: *C. annuum*, *S. melongena* oraz *D. innoxia* (tab. 2). Rośliny testowe, na których wystąpiły objawy chorobowe typowe dla PVY sprawdzano pod kątem obecności cząstek nitkowatych o długości 730 nm, typowych dla wirusów z rodzaju *Potyvirus*. We wszystkich przypadkach w soku roślinnym potwierdzono obecność infekcji wirusowej (rys. 1A, B).

Na podstawie wielkości produktów uzyskanych w wyniku RT-PCR (rys. 2) wszystkie izolaty przyporządkowano do konkretnych szczepów (tab. 1). Wykazano, że spośród 147 wstępnie zweryfikowanych izolatów 76 należy do szczepu PVY<sup>N</sup>Wi-P, 30 do szczepu PVY<sup>N</sup>N242, 27 do szczepu PVY<sup>N</sup>NTN, natomiast 14 do szczepu PVY<sup>O</sup>.

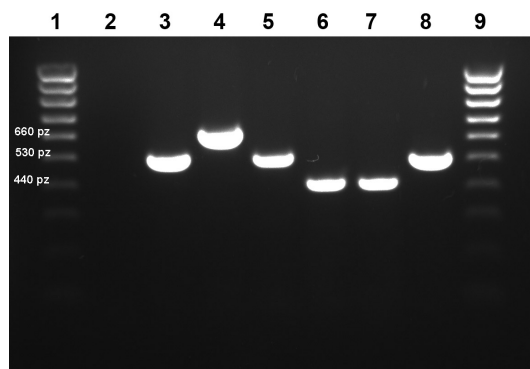
Dodatkowo, w niektórych próbach obserwowano obecność infekcji mieszanych.

Dotychczas na pomidorze w Polsce obserwowane były jedynie izolaty wirusa należące do szczepu PVY<sup>N</sup>Wi-P (Pospieszny i wsp. 2009). W latach 2012–2013 stwierdzono występowanie różnych szczepów wirusa (PVY<sup>N</sup>Wi-P, PVY<sup>N</sup>N242, PVY<sup>N</sup>NTN i PVY<sup>O</sup>), stąd struktura populacji wirusa pochodzącego z pomidora bardziej przypomina tę występującą na ziemniaku. Jak wynika z przeprowadzonych analiz zdecydowaną większość zidentyfikowanych izolatów w Polsce na pomidorze stanowią te należące do szczepu PVY<sup>N</sup>Wi-P, podobnie jak ma to miejsce w roślinach ziemniaka (Golnik i wsp. 2007), natomiast najmniej jest izolatów należących do szczepu PVY<sup>O</sup>.



Rys. 1A, B. Nitkowate cząstki wirusa [strzałki] w soku pochodzącym z porażonych roślin

Fig. 1A, B. Filamentous virus particles [arrows] in sap from the infected plants



Rys. 2. Rozdział elektroforetyczny produktów reakcji RT-PCR  
 Fig. 2. Electrophoretic separation of RT-PCR products  
 1, 9 – marker HyperLadder IV (Bioline); 2 – kontrola negatywna; 3, 4 – PVY<sup>O</sup>; 5, 6 – PVY<sup>N</sup>N242; 7 – PVY<sup>NTN</sup>; 8 – PVY<sup>N</sup>Wi-P; 4, 6, 7 – startery PVY c3/f; 3, 6, 8 – starter 2+/1–  
 1, 9 – HyperLadder IV (Bioline); 2 – negative control; 3, 4 – PVY<sup>O</sup>; 5, 6 – PVY<sup>N</sup>N242; 7 – PVY<sup>NTN</sup>; 8 – PVY<sup>N</sup>Wi-P; 4, 6, 7 – PVY c3/f primers; 3, 6, 8 – CP2+/1– primer

Z tego względu można wnioskować, że źródłem infekcji jest ziemniak, którego bulwy są w około 40% porażone przez PVY. Ponadto, na zdecydowany wzrost porażenia roślin pomidora przez tego wirusa może mieć wpływ zmiana w strukturze populacji mszyc, a także

wcześniejsze rozpoczęcie wiosennej migracji przez ich „nieziemniaczane” gatunki (Kostiw i Robak 2008; Pospieszny i wsp. 2009). Z uwagi na wzrost znaczenia mszyc nieziemniaczanych wydaje się, że zagrożenie wirusem upraw pomidora będzie wzrastało.

## Wnioski / Conclusions

1. W latach 2012 i 2013 zaobserwowano liczne występowanie wirusa Y ziemniaka na roślinach pomidora szklarniowego i gruntowego w różnych regionach Polski.
2. Znaczącej zmianie uległa struktura populacji tego wirusa na pomidorze. Stwierdzono obecność czterech różnych szczepów wirusa: PVY<sup>N</sup>Wi-P, PVY<sup>N</sup>N242, PVY<sup>NTN</sup> oraz PVY<sup>O</sup>, w stosunku odpowiednio 52, 20, 18 i 10%, co odpowiada strukturze populacji wirusa występującej na ziemniaku.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2012/07/N/NZ9/01751.

## Literatura / References

- Aramburu J., Galipienso L., Matas M. 2006. Characterization of potato virus Y isolates from crops in northeast Spain. *Eur. J. Plant Pathol.* 115: 247–258.
- Borodynko N., Hasiów-Jaroszewska B. 2012. Wirus Y ziemniaka na pomidorze. *Hasło Ogrodnicze* 10: 84–86.
- Beczner L., Horváth J., Romhányi I., Förster H. 1984. Studies on the etiology of tuber necrotic ringspot disease in potato. *Potato Res.* 27: 339–352.
- Chikh Ali M., Maoka T., Natsuaki K.T. 2007. A point mutation changes the serotype of a Potato virus Y isolate; genomic determination of the serotype of PVY strains. *Virus Genes* 35 (2): 359–367.
- Chrzanowska M. 1991. New isolates of the necrotic strain of Potato virus Y (PVYN) found recently in Poland. *Potato Res.* 34 (2): 179–182.
- Clark M.F., Adams A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475–483.
- Cuevas J.M., Delaunay A., Visser J.C., Bellstedt D.U., Jacquot E., Elena S.F. 2012. Phylogeography and molecular evolution of Potato virus Y. *PLoS ONE* 7 (5): e37853. doi:10.1371/journal.pone.0037853
- Dougherty W.G., Carrington J.C. 1988. Expression and function of potyviral gene products. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26: 123–143.
- Glais L., Tribodet M., Kerlan C. 2002. Genomic variability in Potato potyvirus Y (PVY): evidence that PVY<sup>N</sup>W and PVY<sup>NTN</sup> variants are single to multiple recombinants between PVY<sup>O</sup> and PVY<sup>N</sup> isolates. *Arch. Virol.* 147 (2): 363–378.
- Golnik K., Syller J., Chrzanowska M., Sztangret-Wiśniewska J. 2007. Metody identyfikacji szczepów wirusa Y ziemniaka. [Methods for recognition *Potato virus Y* (PVY) strains]. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 47 (2): 94–96.
- Hall J.S., Adams B., Parsons T.J., French R., Lane L.C., Jensen S.G. 1998. Molecular cloning, sequencing, and phylogenetic relationships of a new potyvirus: sugarcane streak mosaic virus, and a reevaluation of the classification of the potyviridae. *Mol. Phylogenet. Evol.* 10: 323–332.
- Harrington R., Katis N., Gibson R.W. 1986. Field assessment of the relative importance of different aphid species in the transmission of potato virus Y. *Potato Res.* 29: 67–76.
- Kostiw M., Robak B. 2008. Skład gatunkowy, termin migracji i dynamika liczebności mszyc „nieziemniaczanych” w uprawie ziemniaka w różnych rejonach kraju. [Species composition, migration period and dynamics of number of non potato colonizing aphids in different regions of Poland]. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 48 (3): 881–888.
- Loebenstein G., Lecoq H. 2012. Viruses and virus diseases of vegetables in the Mediterranean basin. *Adv. Virus Res.* 84: 212–216.
- Piron P.G.M. 1986. New aphid vectors of Potato virus Y. *Netherlands J. Plant Pathol.* 92: 223–229.
- Pospieszny H. 2003. Nasilonie występowanie chorób wirusowych pomidora szklarniowego w Wielkopolsce, w roku 2002. [Increased occurrence of viral diseases on greenhouse tomatoes in Wielkopolska in 2002]. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 43 (1): 321–324.
- Pospieszny H., Borodynko N., Hasiów-Jaroszewska B. 2009. Wirus Y ziemniaka (*Potato virus Y*, PVY) na pomidorze szklarniowym. [*Potato virus Y* (PVY) on the greenhouse tomato]. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 49 (3): 1327–1330.
- Rigotti S., Gugerli P. 2007. Rapid identification of potato virus Y strain by one-step RT-PCR. *J. Virol. Methods* 140: 90–94.
- Tribodet M., Glais L., Kerlan C., Jacquot E. 2005. Characterization of Potato virus Y (PVY) molecular determinants involved in the vein necrosis symptom induced by PVYN isolates in infected *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi. *J. Gen. Virol.* 86: 2101–2105.