

Analiza wiromu upraw roślin strączkowych w Polsce

Julia Minicka¹, Martyna Szkatulska¹, Beata Komorowska², Beata Hasiów-Jaroszewska¹

j.minicka@iorpib.poznan.pl



¹ Zakład Wirusologii i Bakteriologii, Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Poznań, Polska;
² Pracownia Fitopatologii, Instytut Ogrodnictwa – Państwowy Instytut Badawczy, Skierniewice, Polska.

WSTĘP

Rośliny strączkowe są integralnym składnikiem ekosystemu, który zapewnia bezpieczeństwo żywieniowe i przyczynia się do zrównoważonego rozwoju rolnictwa na całym świecie. Do najważniejszych roślin strączkowych uprawianych na świecie należą: fasola zwyczajna (*Phaseolus vulgaris*), groch siewny (*Pisum sativum*), ciecierzycy (*Cicer arietinum*), soczewica (*Lens culinaris*), orzeszki ziemne (*Arachis hypogaea*) i soja (*Glycine max*). W Polsce, podobnie jak na całym świecie, uprawa roślin strączkowych systematycznie rośnie i obecnie zajmuje ponad 400 tys ha., głównie obejmując groch, fasolę, łubin, bób i soję. Gatunki uprawne roślin z rodziny *Fabaceae* są podatne na zakażenia wieloma patogenami wirusowymi. Jak dotąd znanych jest 168 gatunków wirusów infekujących rośliny strączkowe. Do najczęściej występujących patogenów wirusowych w uprawach roślin strączkowych należą: *Enamovirus PEMV* (pea enation mosaic virus 1, PEMV1), *Umbravirus pisi* (pea enation mosaic virus 2, PEMV2), *Potyvirus pisumsemenportati* (pea seed-borne mosaic virus, PSBMV), *Potyvirus phaseovulgaris* (bean common mosaic virus, BCMV), *Potyvirus phaseolus* (bean yellow mosaic virus, BYMV) oraz *Cucumovirus CMV* (cucumber mosaic virus, CMV). Większość tych wirusów jest przenoszona przez owady, głównie mszyce, co ma istotne znaczenie dla epidemiologii tych patogenów. Ponadto, zmieniające się warunki klimatyczne sprzyjają zwiększeniu populacji mszyc, które obecnie stanowią jedną z głównych dróg rozprzestrzenienia się wirusów na polach uprawnych. W dobie rosnącego handlu międzynarodowego, globalizacji produkcji, a także zmieniających się warunków klimatycznych, ryzyko rozprzestrzeniania się wirusów i ich wektorów na polach uprawnych jest wysokie. Dlatego dobór szybkiej i czułej diagnostyki patogenów ma kluczowe znaczenie dla utrzymania zdrowego materiału roślinnego i zapobiegania rozprzestrzeniania się epidemii. W Polsce wiedza na temat występowania wirusów w uprawach roślin strączkowych jest ograniczona i opiera się jedynie na starszych doniesieniach, gdzie w badaniach wykorzystywano głównie techniki serologiczne. Celem prowadzonych przez nas badań był monitoring upraw roślin strączkowych w Polsce oraz identyfikacja wirusów z wykorzystaniem sekwencjonowania wysokoprzepustowego.

MATERIAŁY I METODY

W latach 2020, 2023 i 2024 przeprowadzono monitoring upraw roślin strączkowych (grochu, łubinu i bobiku) pod kątem występowania wirusów. Próbki zbierano w różnych regionach Polski (województwo wielkopolskie, kujawsko-pomorskie, podkarpackie i zachodnio-pomorskie). Łącznie zebrano ponad 100 próbek roślin, w tym 82 próbki grochu, 20 próbek łubinu, oraz 4 próbki bobiku. Rośliny charakteryzowały się zróżnicowanymi objawami chorobowymi, w postaci: mozaiki, deformacji liści, chlorozy i nekrozy (Fig. 1A-D). Spośród zebranych próbek wyselekcjonowano 12 próbek zbiorczych, w tym 10 próbek grochu, 1 próbkę łubinu oraz 1 próbkę bobiku do sekwencjonowania wysokoprzepustowego. Próbki rozcierano w ciekłym azocie, izolowano RNA i oczyszczano chlorkiem litu. Otrzymane RNA sprawdzano jakościowo i ilościowo, a wybrane próbki poddano sekwencjonowaniu wysokoprzepustowemu na platformie Illumina NovaSeq 6000 (WeSeq.it, Polska). Otrzymane dane analizowano pod względem jakościowym, a następnie mapowano do bazy danych NCBI virus RefSeq (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>) przy pomocy programu CLC Genomics Workbench wersja 20.0.3 (Qiagen).

Numer próbki zbiorczej	Całkowita liczba odczytów	Liczba odczytów zmapowanych do sekwencji referencyjnej	Procent pokrycia genomu	Nazwa wirusa
G1/2020 (groch)	54925378	23212186	99.96%	PEMV1
		8038908	99.89%	PEMV2
		3025953	99.6%	PEMV sat
		1915919	99.97%	PSBMV
		8038908	84.43%	TuYV
G2/2020 (groch)	59834676	38478096	99.96%	PEMV1
		11423130	99.86%	PEMV2
		2302991	99.93%	PSBMV
		104194	78.69%	BYMV
		11920	98.8%	CMV1
		5919	98.65%	CMV2
		37168	99.27%	CMV3
		832	99.3%	PEMV sat
		14095568	99.94%	PEMV1
		13264305	99.76%	PEMV2
G3/2020 (groch)	54077308	1124912	99.96%	PSBMV
		148874	84.86%	BYMV
		1476654	97.85%	TuYV
		3062487	99.58%	PEMV sat
		2670373	99.95%	PSBMV
		319989	85.79%	BYMV
		36393650	99.95%	PEMV1
		9338642	99.88%	PEMV2
		6902	99.58%	PEMV sat
		1164	83.1%	TuYV
G4/2020 (groch)	66054806	3633	99.88%	CMV1
		4187	99.54%	CMV2
		8155	99.46%	CMV3
		1913202	99.98%	PSBMV
		32536610	99.95%	PEMV1
		19733309	99.86%	PEMV2
		137817	82.88%	BYMV
		20283772	99.77%	PEMV1
		17233274	99.88%	PEMV2
		4881294	99.58%	PEMV sat
P1G/2023 (groch)	52074186	3090952	99.96%	PSBMV
		533095	95.57%	BYMV
		14216553	99.67%	PEMV1
		5884546	99.86%	PEMV2
		1143151	93.63%	TuYV
P7G/2023 (groch)	32624690			
P8G/2023 (groch)	50624536	922767	99.99%	PSBMV
		240153	99.58%	PeMV sat
		27218232	5702/5706	PEMV1
		11022571	4248/4253	PEMV2
		1497009	99.58%	PeMV sat
BB/2024 (bobik)	53100098	1589398	94.13%	TuYV
		474564	99.99%	PSBMV
		14173034	99.93%	PEMV1
		18392009	99.69%	PEMV2
		845435	97.55%	BYMV
		442142	99.99%	CIYVV
		122110	100%	PNYDV DNA S
		80616	98.18%	PNYDV DNA N
		56245	100%	PNYDV DNA U1
		29549	100%	PNYDV U4
LB/2024 (lubin)	53412762	25496	100%	PNYDV DNA R
		21240	99.79%	PNYDV U2
		7205	99.89%	PNYDV DNA M
		5364	99.89%	PNYDV DNA C
		1682	100%	PNYDV sat
		12 440 525	97.41%	BYMV
GP/2024 (groch)	52737798	31 177 493	99.95%	PEMV1
		6 226 257	99.93%	PEMV2
		4467370	99.44%	PEMV sat
		1 313 660	85.69%	CMV 3
		576 221	99.99%	PSBMV
		262479	85.7%	CMV 1
		175047	78.59%	CMV 2
		76071	95.09%	BYMV
		23 869 185	99.87%	PEMV1
		7062027	99.88%	PEMV2
GG/2024 (groch)	53514058	736735	99.58%	PEMV sat
		5611	100%	PNYDV DNA S
		5128	99.89%	PNYDV DNA U1
		5089	100%	PNYDV DNA N
		2425	100%	PNYDV DNA M
		2291	99.79%	PNYDV DNA C
		1592	100%	PNYDV U4
		1510	100%	PNYDV DNA U2
		1099	100%	PNYDV R

Tabela 1. Wirusy zidentyfikowane w zbiorczych próbkach roślin strączkowych przy użyciu sekwencjonowania wysokoprzepustowego (HTS) z odpowiadającym numerem próbki, całkowitą liczbą odczytów, liczbą odczytów zmapowanych dla poszczególnych sekwencji referencyjnych wirusa i procentem zmapowanego genomu.

WNIOSKI

Przeprowadzone badania wykazały duże zróżnicowanie w populacji wirusów porażających uprawy roślin strączkowych. Chociaż zdecydowaną większość stanowiły mieszane infekcje wirusów powszechnie występujących w uprawach roślin strączkowych takich jak: kompleks PEMV, PSBMV, czy BYMV, zaobserwowano również obecność nowych wirusów takich jak PNYDV czy CIYVV. Obecność nowych wirusów, jak również zdecydowana przewaga mieszanych infekcji w stosunku do pojedynczych infekcji, może stwarzać zagrożenie dla upraw roślin strączkowych. Co więcej, większość wykrytych wirusów jest przenoszona przez mszyce, co ma może mieć istotne znaczenia w epidemiologii tych chorób w uprawach roślin strączkowych w przyszłości.



Fig. 1 Rośliny strączkowe z objawami infekcji wirusowych: A-B) groch siewny z objawami chlorozy, mozaiki, deformacji i zwijania liści; C) bobik z objawami deformacji liści, mozaiki i nekrozy; D) łubin z objawami nekrozy liści

WYNIKI

Zebrane próbki grochu, łubinu i bobiku połączono w obrębie poszczególnych gospodarzy tworząc próbki zbiorcze i sekwencjonowano przy użyciu sekwencjonowania wysokoprzepustowego. We wszystkich próbkach zbiorczych pochodzących z grochu (*P. sativum*) i bobiku (*V. faba*) stwierdzono obecność mieszanych infekcji wirusowych, z przewagą kompleksu wirusów PEMV1 i PEMV2, którym w niektórych próbkach towarzyszyła obecność satelitarnego RNA (PEMV satRNA) (Tabela 1., Fig. 2). PSbMV również występował powszechnie w populacji roślin strączkowych i został wykryty we wszystkich próbkach zbiorczych grochu pochodzącego z 2020 i 2023 roku oraz w jednej próbce zbiorczej pochodzącej z 2024 roku. W niektórych próbkach grochu stwierdzono również obecność BYMV, CMV oraz *Polerovirus TUYV* (turnip yellows virus, TuYV). W zbiorczej próbce łubinu białego (*L. albus*) stwierdzono jedynie obecność pojedynczej infekcji powodowanej przez BYMV. Ponadto, zidentyfikowano dwa nowe wirusy: *Nanovirus necropisi* (pea necrotic yellow dwarf virus, PNYDV) i *Potyvirus trifolii* (clover yellow vein virus, CIYVV) w próbce zbiorczej bobiku zebranego w 2024, oraz PNYDV w próbce zbiorczej grochu pochodzącego z 2024 roku (Tabela 1, Fig. 2).

Większość spośród zidentyfikowanych wirusów w uprawie roślin strączkowych przenoszona jest przez mszyce, z sąsiadujących chwastów i roślin dzikorosnących, które mogą stanowić rezerwuuar wirusów. Znaczenie epidemiologiczne nowo zidentyfikowanych wirusów dla obszaru Polski jest jak dotąd mało poznane.

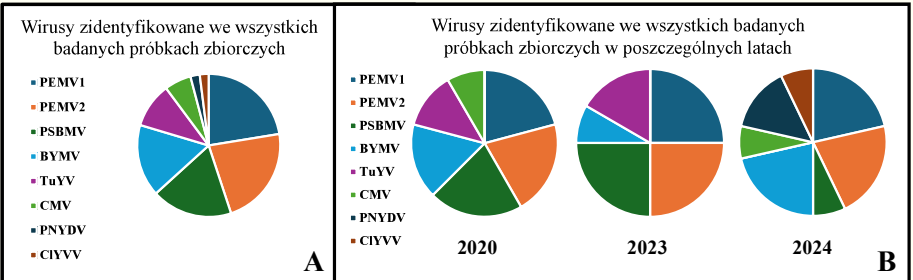


Figura 2. Wykresy przedstawiające zidentyfikowane wirusy we wszystkich badanych próbkach zbiorczych (A), w poszczególnych badanych latach (B)

Badania były finansowane z Dotacji Celowej MRIRW, Zadanie 1.12
Monitorowanie występowania nowych agrofagów w produkcji roślinnej.