

DR NATASZA BORODYNKO¹, DR WACŁAW WIŚNIEWSKI²

Doctor

¹Institute of Plant Protection, Miczurina 20, PL - 60-318 POZNAŃ

²KWS Polska Sp.z o.o., Chlebowa 4/8, PL - 61-003 POZNAŃ

Original language: English

LOCATION AND IDENTIFICATION OF BNYVV AND OTHER SOIL-BORNE VIRUSES OF SUGAR BEETS IN POLAND

Abstract

Since 1999, *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) is becoming one of the most important viruses of sugar beet in Poland. BNYVV was identified in sugar beet plants from several fields in Western and Southern Poland. In 2005 year, in greenhouse studies, sugar beets were grown in the soil from one of these fields to bait soil-borne viruses. Of 200 sugar beet plants, five developed symptoms of vein clearing, vein banding, and mosaic. Total RNA was extracted from roots of the symptomatic plants and used in a mRT-PCR assay. Two mRT-PCR products amplified with the primers specific to BNYVV and BSBV (*Beet soil-borne virus*, BSBV) were obtained and sequenced. A 376 bp amplicon sequence had 98% nucleotide and 98% amino acid sequence with the German BSBV isolate. During the Fall of 2005, five plants of a cultivar susceptible to rhizomania (cv. Alyssa) and five resistant to rhizomania (cv. Henrietta) were collected from field in the Western Poland where BSBV and BNYVV had been previously identified and were tested for BVQ. All samples were analyzed using a double antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) with antiserum against BNYVV. Rhizomania was identified only in sugar beet samples of the susceptible variety. Then, the same samples were tested using a triple antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay (TAS-ELISA) with commercial antisera against BSBV/BVQ and BSBV. Nine sugar beet plants gave positive reactions with antiserum against BSBV/BVQ and negative reactions with antiserum specific to BSBV. Total RNA extracted from roots of ten beet samples was then tested using a mRT-PCR and specific primers designed to amplify a fragment of the RNA2 for BNYVV and BVQ. The primers specifically amplified fragments of 545 bp and 291 bp of the BNYVV and BVQ, respectively. The presence of BVQ was confirmed in nine of the sugar beet plants, and the RT-PCR products were sequenced. Sequence analysis of the 206-nt amplicon sequence of the Polish isolate of BVQ indicated 97% nucleotide and 94% amino acid sequence identity with the previously published sequence of BVQ. During the Summer of 2006, we have found a lot of samples of BSBV associated with BVQ, in the North and Central part of Poland.

LOCALISATION ET IDENTIFICATION DU VIRUS BNYVV ET D'AUTRES VIRUS DU SOL DE LA BETTERAVE SUCRIERE EN POLOGNE

Abrégé

Depuis l'année 1999 le virus du jaunissement nécrotique des nervures de la betterave (*Beet necrotic yellow vein virus*, BNYVV) est devenu l'un des plus graves virus de la betterave sucrière en Pologne. Le BNYVV a été identifié sur plusieurs champs en Pologne de l'Ouest et du Nord. En 2005, dans un essai de serre, on a cultivé des betteraves sur le sol qu'on a prélevé dans ces champs, dans le but de déclencher une infection. Parmi 200 plantes on a choisi 5, sur lesquelles on a constaté un éclaircissement des nervures et marbrures sur les feuilles. On a isolé l'ARN entier de ces plantes, qui a ensuite été utilisé dans l'analyse mRT-PCR. A l'aide de 2 paires d'amorces spécifiques pour les virus BNYVV et BSBV (*Beet soil-borne virus*, BSBV) en réaction avec mRT-PCR, on a obtenu des produits qu'on a coupé en séquences. On a constaté que la séquence du produit de taille de 376 bp a une ressemblance de 98% avec l'isolé allemand BSBV au niveau des nucléotides et des aminoacides. En automne 2005, sur les champs de Pologne de l'Ouest, sur lesquels ont été détectés auparavant les virus BNYVV et BSBV, on a récolté respectivement 5 plantes de betterave sucrière - d'une variété sensible à la rhizomanie (ALYSSA) et d'une variété tolérante à la rhizomanie (HENRIETTA) – dans le but de les analyser du point de vue de la présence du virus Q de la betterave (*Beet virus Q*, BVQ). Tous les échantillons ont été testés à l'aide du test DAS-ELISA avec le sérum

contre le virus BNYVV. La rhizomanie n'a été constatée que dans les plantes de la variété sensible. Ensuite on a testé les mêmes échantillons à l'aide du test TAS-ELISA avec le sérum contre BSBV/BVQ et BVQ. Le résultat était positif sur 9 plantes (test avec le sérum contre BSBV/BVQ); aucun résultat positif n'a été constaté dans le test avec le sérum contre BSBV. On a extrait l'ARN entier de toutes les racines de betterave testées, lequel a été ensuite utilisé dans l'analyse mRT-PCR avec des amorces amplificatrices pour BNYVV et BVQ. Les produits obtenus avaient respectivement la taille de 545 bp et 291 bp. Sur 9 plantes on a constaté la présence du virus BVQ. Le produit obtenu a été disséqué et comparé avec des isolés de BVQ accessibles. On a constaté, que l'isolé polonais de BVQ montre une homologie de 97% au niveau des nucléotides et une homologie de 94% au niveau des aminoacides. En été 2006 on a identifié au centre et au nord de Pologne de nombreux champs infestés de BSBV et de BVQ.

AUFTRETEN UND IDENTIFIKATION DES BNYVV VIRUS UND ANDERER BODENVIREN DER ZUCKERRÜBE IN POLEN

Kurzfassung

Seit 1999 wurde in Polen das *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) zu einem der gefährlichsten Viren der Zuckerrübe. BNYVV wurde auf vielen Feldern West- und Nordpolens identifiziert. 2005 wurden in einem Gewächshausversuch Zuckerrüben auf dem Boden von diesen befallenen Feldern angebaut, mit dem Ziel, eine Infektion auszulösen. Aus 200 Pflanzen wurden 5 ausgewählt, bei denen das Aufhellen der Blattadern und gelbe Chlorosen zu beobachten waren. Aus diesen Pflanzen wurde die gesamte RNA extrahiert, die daraufhin in der mRT-PCR Analyse benutzt wurde. Mit 2 Paaren spezifischen Primer für BNYVV und BSBV (*Beet soil-borne virus*, BSBV) in der Reaktion mit mRT-PCR wurden Produkte erzielt, die sequenziert wurden. Es wurde festgestellt, dass die Sequenz des Produkts von der Größe 376 bp auf der Aminosäure- und Nukleotidebene zu 98% Ähnlichkeit mit dem deutschen Isolat des Virus BSBV aufweist. Im Herbst 2005 wurden von einem Feld in Westpolen, auf dem BNYVV und BSBV festgestellt wurden, jeweils 5 Rübenpflanzen von einer BNYVV anfälligen Sorte (Alyssa) und von einer BNYVV toleranten Sorte (Henrietta) entnommen, um das Vorhandensein des Virus Q der Zuckerrübe zu überprüfen (*Beet virus Q*, BVQ). Alle entnommenen Proben wurden mit dem DAS-ELISA Test getestet (BNYVV - Serum). Rizomania wurde nur in den Pflanzen der anfälligen Sorte festgestellt. Ferner wurden dieselben Proben mit dem TAS-ELISA Test mit den Seren gegen die Viren BSBV/BVQ und BVQ getestet. Beim Test mit dem Serum gegen BSBV/BVQ war das Ergebnis bei 9 Pflanzen positiv, beim Test mit dem Serum gegen BSBV wurde kein positives Ergebnis festgestellt. Aus allen getesteten Rübenwurzeln wurde die gesamte RNA extrahiert, die daraufhin in der mRT-PCR Analyse unter der Anwendung der Amplifikationsprimer für BNYVV und BVQ benutzt wurde. Die erhaltenen Produkte hatten die Größe von 545 bp und 291 bp. Das Virus BVQ wurde in 9 Pflanzen nachgewiesen. Das Produkt wurde sequenziert und mit den zugänglichen Isolaten BVQ verglichen. Es wurde festgestellt, dass das polnische Isolat BVQ auf der Nukleotidebene zu 97% und auf der Aminosäureebene zu 94% homolog ist. Im Sommer 2006 wurde ein gleichzeitiges Auftreten der Viren BSBV und BVQ auf zahlreichen Feldern im Nord- und Zentralpolen festgestellt.