

GENETICKÁ VARIABILITA VIRŮ RYBÍZU BLACKCURRANT REVERSION VIRUS (BRV) A GOOSEBERRY VEIN BANDING ASSOCIATED VIRUS (GVBAV) V ČESKÉ REPUBLICE

GENETIC VARIABILITY OF BLACKCURRANT REVERSION VIRUS (BRV) AND GOOSEBERRY VEIN BANDING ASSOCIATED VIRUS (GVBAV) IN THE CZECH REPUBLIC

Josef Podlipný, Lucie Valentová, Martina Rejlová, Radek Čmejla

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.,
Holovousy 128, 508 01 Hořice

e-mail: radek.cmejla@vsuo.cz

ABSTRAKT

BRV a GVBAV patří celosvětově mezi nejvýznamnější viry ovlivňující produkci rybízu. Předmětem této práce je studium genetické variability virů rybízu Blackcurrant reversion virus (BRV) a Gooseberry vein banding associated virus (GVBAV) na území České republiky. U BRV byla pro srovnání použita 3'UTR oblast a pro GVBAV byla analyzována oblast ORF3. Celkem se z RT-PCR pozitivních vzorků na přítomnost viru BRV (103) a GVBAV (82) podařilo získat 155 sekvencí (74 BRV; 81 GVBAV). Na základě fylogenetických analýz vytvořených programem MEGA X bylo definováno 38 různých genotypů viru BRV a 30 různých genotypů viru GVBAV, které byly u obou virů rozděleny do dvou hlavních klastrů (A a B) a následně podskupin (A1 a A2, v případě BRV i B1 a B2). Nejčastěji se vyskytujícím genotypem viru BRV byl genotyp B2.16 (33,8 % izolátů), v případě viru GVBAV to byl genotyp B.4 (26,3 % izolátů). Celkově byla vnitrodruhová variabilita viru BRV vyšší než u GVBAV. BRV byl nejčastěji detekován v produkčních výsadbách (84,2 % pozitivních rostlin), virus GVBAV (74,2 %) naopak výrazně dominoval v neprodukčních výsadbách. Nejčastějším hostitelem pro BRV byl černý rybíz, GVBAV byl častěji nalezen u červeného a bílého rybízu.

Klíčová slova: BRV, GVBAV, rybíz, RT-PCR, sekvenování

ABSTRACT

BRV and GVBAV are the most important viruses affecting currant production worldwide. The subject of this work was to study genetic variability of Blackcurrant reversion virus (BRV) and Gooseberry vein banding associated virus (GVBAV) in the Czech Republic using 3'UTR and ORF 3 regions, respectively. In total, 155 sequences

were obtained (74 for BRV; 81 for GVBaV) from a set of 103 BRV and 82 GVBaV RT-PCR-positive samples. Based on phylogenetic trees created in a MEGA X program, 38 different BRV genotypes and 30 GVBaV genotypes were defined. In both viruses, genotypes could be divided into two main clusters (A and B), and further subdivided into A1 and A2 subgroups, and B1 and B2 subgroups for BRV only. The most common BRV genotype was B2.16 (33.8 % of BRV-infected plants), and the GVBaV genotype B.4 (26.3 % of GVBaV-infected plants). Overall, an intraspecies variability in BRV was higher than in GVBaV that was generally low. BRV was found most frequently in production fields (84.2 % positive plants), while GVBaV was identified predominantly in non-production plantings. Black currant was the most frequent host of BRV, while GVBaV was mostly identified in red and white currants.

Keywords: BRV, GVBaV, currant, RT-PCR, sequencing

ÚVOD

Blackcurrant reversion virus (BRV) a gooseberry vein banding associated virus (GVBaV) patří mezi nejvýznamnější viry ovlivňující kvalitu plodů různých druhů (kultivarů) rybízu Evropy, Ameriky, Asie, Austrálie a Nového Zélandu (Špak *et al.* 2021). Virus BRV, jehož genom je tvořen dvěma segmenty (+)ssRNA, je řazen do čeledi Secoviridae (rod *Nepovirus*). GVBaV patří do čeledi Caulimoviridae (rod *Badnavirus*) a jeho genom je reprezentován cirkulární dsDNA.

BRV je přenášen roztočem vlnovníkem rybízovým (*Cecidophyopsis ribis*), popřípadě vegetativním množením, roubováním či očkováním. Jde o první virus rodu *Nepovirus* (primárně přenášený nematody), který je přenášen roztočem (Mazeikiene *et al.* 2019). Onemocnění způsobené virem BRV bylo v Československu pozorováno poprvé v roce 1930 (Příbylová *et al.* 2008) a jeho původce se později podařilo izolovat z rostlin černého rybízu pěstovaných na území Finska (Lemmetty *et al.* 1997). BRV se vyskytuje ve dvou symptomaticky odlišných formách, kterými jsou E-forma a R-forma. E-forma se běžně vyskytuje v rámci celé Evropy a projevuje se změnou typického tvaru listu napadené rostliny (menší počet laloků, užší a protáhlejší, nerovnoměrně zoubkovaný okraj), snížením hustoty chloupků na pupenech, zvýšením pigmentace květů, snížením vitality a následné sterility rostliny (Jones 2002). Rostlina se tedy vzhledem listů podobá původním divokým formám rybízu, proto pojmenování „reversion virus“ (Latvala *et al.* 1997). Oblastí výskytu závažnější R-formy je Skandinávie (Bremer a Heikinheimo 1980), východní Evropa a státy bývalého Sovětského svazu. R-forma se projevuje stejnými, avšak závažnějšími symptomy než častější E-forma. V případě R-formy navíc dochází k silné deformaci květů. Popsané symptomy jsou většinou méně nápadné u červeného rybízu než u rybízu černého (Jones 2002).

Mezi hlavní přenašeče viru GVBaV patří mšice, zejména *Aphis grossulariae*, *Nasonovia ribisnigri* a *Hyperomyzus* spp. (Jones a McGavin 2001). Virus je přenášen semipersistentním způsobem, pro který je charakteristická delší doba infekčnosti vektoru bez latentní periody a potřeba delšího sání z infikované rostliny. Původce onemocnění lze také přenést prostřednictvím vegetativního množení, roubováním

nebo očkováním (Xu *et al.* 2011). Přítomnost viru GVBaV se projevuje charakteristickými symptomy, mezi které patří chlorotické lemování listové žilnatiny, zpomalení růstu a snížení výnosu u některých kultivarů rybízu. GVBaV napadá také rostliny angreštu, u kterých jsou symptomy výraznější než v případě napadení rybízu (Jones a McGavin 2001). Virus GVBaV je rozšířen po celé Evropě a na území Severní Ameriky, Asie, Austrálie a Nového Zélandu (Xu *et al.* 2011).

V rámci České republiky byly již v minulost izolovány, sekvenovány a následně srovnávány sekvence 3'UTR (RNA-2) regionu viru BRV. Toto srovnání na území České republiky však bylo vypracováno pouze na malém souboru vzorků (Příbylová *et al.* 2008). Podobné analýzy dosud nebyly provedeny pro virus GVBaV. Cílem naší práce bylo zmapování genetické variability virů BRV a GVBaV s využitím velkého souboru odebraných vzorků v rámci České republiky.

MATERIÁL A METODY

Testováno bylo celkem 204 vzorků (souborů listů) rybízu odebraných z vybraných typů výsadeb, a to zejména v oblasti Královéhradeckého kraje. Odběry byly prováděny z genofondových sbírek a materiálu určeného pro výzkumné účely VŠÚO, nakoupené sadby, produkčních a neprodukčních výsadeb, aby bylo zachyceno co nejvíce rostlin pozitivních na přítomnost virů BRV a GVBaV. Vybírány byly jak rostliny asymptomatické, tak přednostně rostliny symptomatické. Protože se viry BRV a GVBaV mohou v hostitelské rostlině vyskytovat nerovnoměrně, byly listy odebírány ze čtyř různých stran (4–8 listů celkem), aby byl získán reprezentativní vzorek. Odebrané listy byly pomocí tekutého dusíku v třecí misce rozmělněny tloučkem na jemný prášek, ze kterého byla pomocí kitu Ribospin™ Plant firmy GeneAll izolována celková RNA. Ze získané RNA byla následně pomocí reverzní transkriptázy M-MLV Reverse Transcriptase (firma Thermo Fisher Scientific) s využitím náhodných hexanukleotidů (Roche) připravena cDNA, která byla dále využita pro detekci sledovaných virů prostřednictvím PCR a gelové elektroforézy. Pro detekci viru BRV byl amplifikován úsek 3'UTR oblasti o délce 632 bp s využitím primerů BRV_UTR-F03 (GRGGTTTCAAGGGATGTCATCA) a BRV_UTR-R02 (ATCAGGCTCGGAAGCAGTARACC). Detekce viru GVBaV byla provedena pomocí primerů GVBaV_ORF3-F02 (AGCTGCGGTTTCGGGAGATG) a GVBaV_ORF-R02 (CGAATCATTTATGGTGAAGTCATCC) ohraničujících úsek o délce 222 bp v ORF3 oblasti, která představuje nejčastěji sekvenovanou oblast virového genomu. Primery byly navrženy pomocí programu Geneious Prime (Biomatters). Pro BRV byly použity referenční genomy z databáze GenBank NC_003509 pro RNA 1 a NC_003502 pro RNA 2; pro GVBaV byl použit referenční genom NC_018105. PCR probíhala v cykleru C1000 (Bio-Rad) pro každý virus zvlášť, teplotní a časový profil byl identický pro oba sledované viry: úvodní denaturace 95 °C 5 min; 40 cyklů 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s; 1 cyklus 72 °C 5 min a finální chlazení 8 °C. Po PCR byly produkty separovány gelovou elektroforézou s využitím 2–3% agarózového gelu. Získané amplikony byly purifikovány pomocí kitu Expin™ Combo GP firmy GeneAll a použity k sekvenační PCR s využitím kitu BigDye Terminator RR v3.1 podle návodu výrobce (Thermo Fisher Scientific). Následovala samotná sekvenace v osmikapilárovém genetickém

analyzátoru – AB3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific). Získané sekvence byly analyzovány v programu Chromas 2.6.6. a zpracovány v programu MEGA X (Kumar *et al.* 2018).

VÝSLEDKY A DISKUSE

V souboru 204 testovaných rostlin byl detekován alespoň jeden virus u 69,6 % vzorků; 29,4 % vzorků bylo pozitivních na přítomnost BRV, 19,1 % rostlin bylo infikováno GVBaV a u 21,1 % rostlin byly potvrzeny oba viry. Rozložení nálezů podle původu materiálu ukazuje Tabulka 1. Přítomnost virů rybízu byla nejčastěji zaznamenána v komerčních výsadbách (skoro 90 % vzorků), a to zejména virem BRV (60,5 % vzorků), GVBaV zde byl naopak detekován s nejnižší četností (u 5,3 % vzorků). Nejméně virů bylo pak nalezeno v nakoupené sadbě (30 %), kde se vyskytoval pouze GVBaV. Přesto je tento nález znepokojivý a je nutné více kontrolovat zdravotní stav rozmnožovacího materiálu a jeho původ. Virus GVBaV samotný nebo v koinfekci naopak dominoval ve vzorcích z neprodukčních výsadeb, kde byl nalezen v 74,2 % vzorků. Koinfekce oběma viry byla zaznamenána v rozmezí 23 % – 32 % dle původu rostlin (mimo nakoupené sadby). Výskyt infikovaných rostlin v nakoupené sadbě by vysvětloval zvýšený záchyt viru GVBaV v neprodukčních výsadbách (např. zahrady), do kterých se může dostávat nákupem rostlin rybízu v hobby marketech, a také obecně nižším používáním insekticidů, tudíž GVBaV má vhodnější podmínky k šíření prostřednictvím vektorů (mšice), které mohou být infekční i několik dní (Ng a Falk 2006). Naopak intenzivnější aplikace insekticidů v komerčních výsadbách zjevně šíření GVBaV omezuje. K vyššímu procentu vzorků pozitivních na přítomnost BRV v produkčních výsadbách může také přispívat častější používání vegetativního množení rostlin, které je primární cestou přenosu viru (Moročko-Bičevska *et al.* 2021).

Výskyt BRV a GVBaV dle druhu rybízu zobrazuje Tabulka 2. U černého rybízu se nejčastěji vyskytoval samotný BRV (47,7 %), nálezy GVBaV a koinfekcí byly méně časté. To je v souladu se skutečností, že symptomy zvratu rybízu byly popsány u černého rybízu a BRV byl z tohoto druhu poprvé i izolován a asociován s tímto onemocněním (Lemmetty *et al.* 1997). U červeného a bílého rybízu se naopak viry vyskytovaly častěji v koinfekci než samostatně. Zvlášť byla vyčleněna odrůda červeného rybízu 'Gabreta'. Jedná se o starou odrůdu z šumavského česko-německého pomezí (*Ribes x gonduini* Jancz), která byla nedávno předána do genofondových sbírek (Kissling a Kissling 2020). Zajímavé je, že u této odrůdy byl pouze ve 27 % vzorků nalezen GVBaV, zatímco u ostatních druhů se celková promořenost viry pohybovala od 69 % do 80 %. Pokud by se potvrdilo, že tato odrůda je obecně odolnější vůči infekci BRV i GVBaV, mohla by se stát případným donorem rezistence při šlechtění odolných odrůd rybízu.

Z celkového počtu vzorků pozitivních na přítomnost viru BRV (103) či GVBaV (82) se podařilo získat celkem 155 (83,7 %) sekvencí (74 BRV; 81 GVBaV). Některé slabě pozitivní vzorky BRV se nepodařilo osekvenovat, nebo kvalita získaných sekvencí byla nedostatečná. Sekvence byly zvlášť pro oba viry vzájemně porovnány a na základě získaného fylogenetického stromu byly nalezené genotypy BRV a GVBaV rozděleny do klastrů (Obrázek 1, Obrázek 2). Celkem bylo identifikováno 38 různých genotypů

viru BRV a 30 různých genotypů viru GVBaV, jejichž sekvence budou uloženy v databázi GenBank. Pro oba viry byly získány dva hlavní klastry, A a B. Tyto klastry byly u viru BRV rozděleny na podskupiny A1, A2, B1 a B2, z nichž podskupina B byla detekována nejčastěji (73 %) a z ní kladr B2 (64,9 %). Ze všech analyzovaných izolátů BRV byl nejčastější genotyp B2.16 (33,8 %), a z hlavního kladru A to byl genotyp A1.3 (6,8 %, podskupina A1) (viz Tabulka 3). Přestože se jedná o nejčastější genotypy, databáze GenBank jejich sekvence neobsahuje.

Genotypy viru GVBaV byly rozděleny do dvou podskupin A1 a A2, kladr B nevytvářel žádné další distinktní podskupiny. Z Tabulky 3 vyplývá, že nejčastěji detekovaným genotypem viru GVBaV byl B.4 (25,9 %), patřící do kladru B (80,2 %). Z druhého kladru GVBaV byl nejčastější genotyp A2.1 (8,6 %) z kladru A2 (11,1 %). Zatímco sekvence genotypu B.4 není v databázi GenBank uvedena, přestože byla nalezena u čtvrtiny izolátů, nejčastější genotyp z kladru A (A2.1) je v databázi reprezentován sedmi izoláty, z nichž tři pochází z České republiky (izoláty původem z červeného a černého rybízu; Petrzik *et al.* 2012), a po jednom z Austrálie, Kanady, Velké Británie a Nizozemí (izoláty z červeného i černého rybízu, angreštu).

Po srovnání s fylogenetickým stromem Příbylové *et al.* (2008), ve kterém byly jednotlivé genotypy viru BRV rozděleny do čtyř hlavních kladrů (každá ze šesti až devíti genotypy), byl fylogenetický strom vytvořený v rámci této práce vyhodnocen jako více heterogenní s vysokou vnitrodruhovou variabilitou (viz Obrázek 1). Nejvíce heterogenní je v případě BRV kladr A, který obsahuje 14 z 38 identifikovaných genotypů (37 %). Oblast 3'UTR se používá pro fylogenetické analýzy, protože je konzervovaná a lze podle ní provést asociaci s fenotypem a případně geografickým původem (Lehto *et al.* 2004).

Ve srovnání fylogenetického stromu viru GVBaV, který byl v rámci České republiky v tomto rozsahu vytvořen poprvé, s fylogenetickým stromem viru BRV, byl virus GVBaV vyhodnocen jako silně homogenní s nízkou vnitrodruhovou variabilitou, čemuž odpovídá i skutečnost, že jeden z GVBaV genotypů (A2.1) byl identifikován na nejrůznějších místech světa. K podobnému závěru dospěli ve své studii i Petrzik *et al.* (2012).

ZÁVĚR

Výskyt viru BRV napříč různými druhy výsadeb byl poměrně vyrovnaný až na produkční výsadby, ve kterých bylo šíření pravděpodobně podpořeno vegetativním množním rostlin. Virus GVBaV dominoval v neprodukčních výsadbách, k čemuž mohlo přispět i použití infikované sadby a méně častá aplikace insekticidů. BRV byl nejčastěji zachycen u rostlin černého rybízu, zatímco GVBaV byl nejčastěji nalezen u červeného a bílého rybízu. Obecně lze říct, že všechny typy výsadeb jsou významně promořeny oběma viry, ať již jednotlivě nebo v kombinaci. V rámci mapování variability virů BRV a GVBaV bylo popsáno celkem 38, respektive 30 různých genotypů. Pro virus BRV byla zjištěna vysoká vnitrodruhová variabilita, zatímco v případě viru GVBaV byla vnitrodruhová variabilita vyhodnocena jako nízká.

PODĚKOVÁNÍ

Výzkum byl realizován za podpory projektu RO1521 Ministerstva zemědělství České republiky. Poděkování patří také laborantkám paní Lence Tůmové a paní Lence Křivohlávkové za precizně odvedenou práci v průběhu studie.

POUŽITÁ LITERATURA

- BREMER, K. a O. HEIKINHEIMO. Problems of the reversion disease of Ribes in Finland. *Acta Horticulturae*. 1980, (95): 87–91. DOI: 10.17660/ActaHortic.1980.95.12.
- JONES, A. T. Important virus diseases of Ribes their diagnosis detection and control. *Acta Horticulturae*. 2002, (585): 279–285. ISSN: 0567-7572.
- JONES, A. T., W. J. MCGAVIN, A. D. W. GEERING a B. E. L. LOCKHART. A new badnavirus in Ribes species, its detection by PCR, and its close association with gooseberry vein banding disease. *Plant Disease*. 2001, **85**(4):417–422. ISSN: 0191-2917.
- KISSLING, P. a J. KISSLING. 'Gabreta' saved from the ruins of oblivion. 2020. hal-02520264.
- KUMAR, S., G. STECHER, M. LI, C. KNYAZ a K. TAMURA. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 2018, **35**(6): 1547–1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096.
- LATVALA, S., P. SUSI, A. LEMMETTY, S. COX, A. T. JONES a K. LEHTO. Ribes host range and erratic distribution within plants of blackcurrant reversion associated virus provide further evidence for its role as the causal agent of reversion disease. *Annals of Applied Biology*. 1997, **(131)**2: 283–295. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1997.tb05157.x.
- LEHTO, K., LEMMETTY, A. a M. KERANEN. The long 3' non-translated regions of Blackcurrant reversion virus RNAs are highly conserved between virus isolates representing different phenotypes and geographic origins. *Archives of Virology*. 2004, **149**(9): 1867–1875. DOI: 10.1007/s00705-004-0295-x.
- LEMMETTY, A., S. LATVALA, A. T. JONES, P. SUSI, W. J. MCGAVIN a K. LEHTO. Purification and properties of a new virus from black currant, its affinities with nepoviruses, and its close association with black currant reversion disease. *Phytopathology*. 1997, **87**(4): 404–413. ISSN: 0031-949X.
- MAZEIKIENE, I., A. D. JUSKYTE a V. STANYS. Application of marker-assisted selection for resistance to gall mite and Blackcurrant reversion virus in Ribes genus. *Zemdirbyste-Agriculture*. 2019, **106**(4): 359–366. ISSN: 1392-3196.
- MOROČKO-BIČEVSKA, I., A. STALAŽS, G. LĀCIS, V. LAUGALE, I. BAĻĶE, N. ZUĻĶE a S. STRAUTIŅA. Cecidophyopsis mites and blackcurrant reversion virus on Ribes hosts: Current scientific progress and knowledge gaps. *Annals of Applied Biology*. 2021, s. 1–18. DOI: 10.1111/aab.12720.

- NG, J. C. K. a B. W. FALK. Virus-vector interactions mediating nonpersistent and semipersistent transmission of plant viruses. *Annual Review of Phytopathology*. 2006, **44**: 183–212. DOI: 10.1146/annurev.phyto.44.070505.143325.
- PETRZIK, K., PRIBYLOVA, J. a SPAK, J. Molecular analysis of gooseberry vein banding associated virus. *Acta Virol*. 2012, **56**(2): 119–124.
- PŘIBYLOVÁ, J., ŠPAK, J., PETRZIK, K., KUBELKOVÁ, D. a V. ŠPAKOVÁ. Sequence comparison and transmission of Blackcurrant reversion virus isolates in black, red and white currants with black currant reversion disease and full blossom disease symptoms. *European Journal of Plant Pathology*. 2008, **121**(1): 67–75. DOI: 10.1007/s10658-007-9245-2.
- ŠPAK, J., I. KOLONIUK a I. E. TZANETAKIS. Graft-Transmissible Diseases of Ribes—Pathogens, Impact, and Control. *Plant disease*. 2021, **105**(2): 242–250. ISSN: 0191-2917.
- XU, D., R. MOCK, G. KINARD a R. LI. Molecular analysis of the complete genomic sequences of four isolates of Gooseberry vein banding associated virus. *Virus Genes*. 2011, **43**(1): 130–137. DOI: 10.1007/s11262-011-0614-8

TABULKY A GRAFY

Tabulka 1. Souhrnné výsledky testování virů BRV a GVBaV dle původu rostlin

Table 1. Summary results of BRV and GVBaV testing according to the origin of plants

Původ materiálu ¹⁾	Počet ²⁾	Infekce pouze BRV ³⁾	Infekce pouze GVBaV ⁴⁾	Koinfekce BRV a GVBaV ⁵⁾	Infekce celková ⁶⁾
Produkční výsadby ⁷⁾	38	60,5 %	5,3 %	23,7 %	89,5 %
Neprodukční výsadby ⁸⁾	31	6,5 %	41,9 %	32,3 %	80,6 %
Materiál pro výzkumné účely ⁹⁾	31	25,8 %	16,1 %	22,6 %	64,5 %
Nakoupená sadba ¹⁰⁾	30	0,0 %	30,0 %	0,0 %	30,0 %
Genofondové sbírky ¹¹⁾	74	36,5 %	13,5 %	23,0 %	73,0 %
Celkem¹²⁾	204	29,4 %	19,1 %	21,1 %	69,6 %

1) Material origin, 2) Number, 3) BRV infection only, 4) GVBaV infection only, 5) Coinfection of BRV and GVBaV, 6) Overall infection, 7) Production plantation, 8) Non-production plantings, 9) Material for research purposes, 10) Purchased seedlings, 11) Germplasm accessions, 12) Total

Tabulka 2. Souhrnné výsledky testování virů BRV a GVBaV s ohledem na druh (kultivar) rybízu

Table 2. Summary results of BRV and GVBaV testing in currant species (cultivar)

Původ materiálu ¹⁾	Počet ²⁾	Infekce pouze BRV ³⁾	Infekce pouze GVBaV ⁴⁾	Koinfekce BRV a GVBaV ⁵⁾	Infekce celková ⁶⁾
Černý rybíz ⁷⁾	86	47,7 %	10,5 %	10,5 %	68,6 %
Červený rybíz ⁸⁾	88	18,2 %	26,1 %	31,8 %	76,1 %
Bílý rybíz ⁹⁾	15	20,0 %	20,0 %	40,0 %	80,0 %
cv. Gabreta	15	0,0 %	26,7 %	0,0 %	26,7 %
Celkem¹⁰⁾	204	29,4 %	19,1 %	21,1 %	69,6 %

1) Material origin, 2) Number, 3) BRV infection only, 4) GVBaV infection only, 5) Coinfection of BRV and GVBaV, 6) Overall infection, 7) Black currant, 8) Red currant, 9) White currant, 10) Total

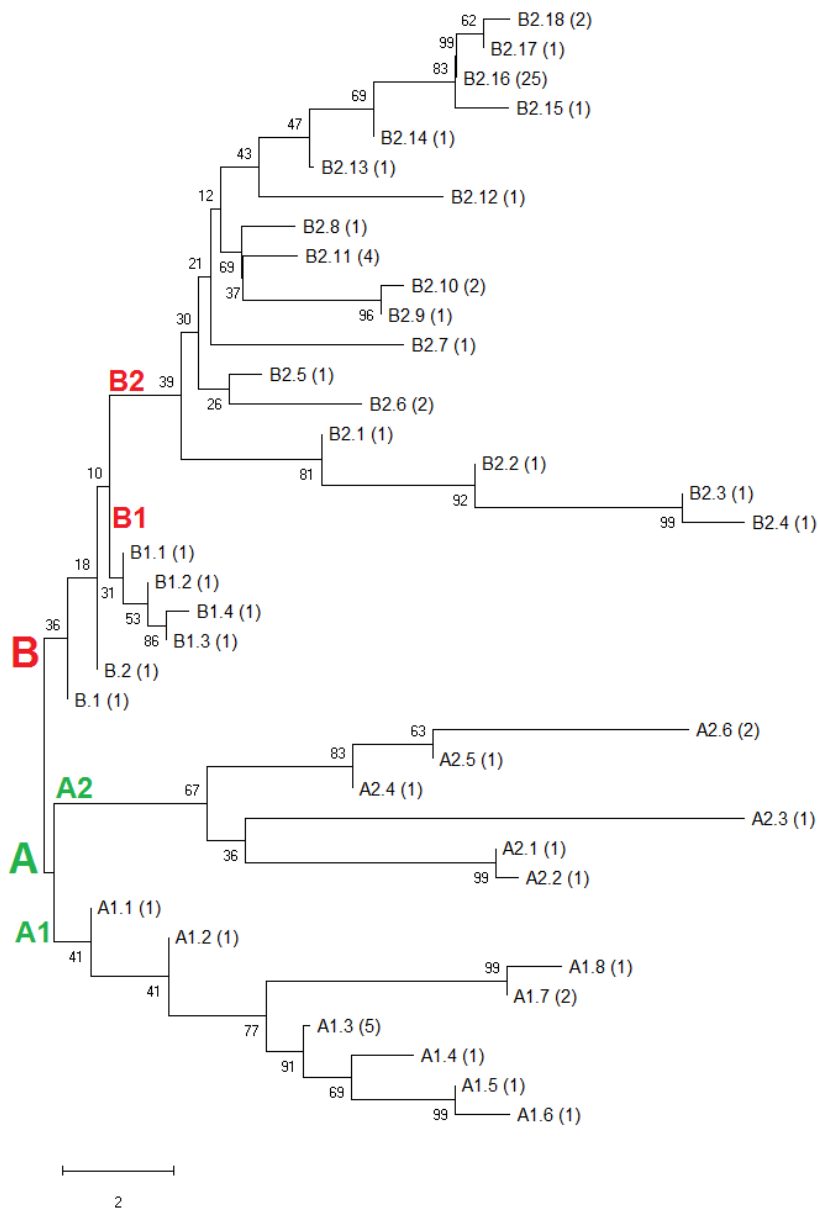
Tabulka 3. Frekvence výskytu identifikovaných genotypů BRV a GVBaV

Table 3. Frequency of identified BRV and GVBaV genotypes

BRV				GVBaV											
A	27 %	A1	17,6 %	A1.1	1,4 %	A	18,5 %	A1	7,4 %	A1.1	1,2 %				
				A1.2	1,4 %					A1.2	1,2 %				
				A1.3	6,8 %					A1.3	1,2 %				
				A1.4	1,4 %					A1.4	1,2 %				
				A1.5	1,4 %					A1.5	1,2 %				
				A1.6	1,4 %					A1.6	1,2 %				
				A1.7	2,7 %					A2.1	8,6 %				
				A1.8	1,4 %					A2.2	2,5 %				
		A2	9,5 %	A2.1	1,4 %			B	80,2 %	B.1	1,2 %				
				A2.2	1,4 %					B.2	1,2 %				
				A2.3	1,4 %					B.3	1,2 %				
				A2.4	1,4 %					B.4	25,9 %				
				A2.5	1,4 %					B.5	1,2 %				
				A2.6	2,7 %					B.6	2,5 %				
		B	73 %	B.1	1,4 %					B	80,2 %	B.7	1,2 %		
												B.8	1,2 %		
				B1	5,4 %							B1.1	1,4 %	B.9	6,2 %
												B1.2	1,4 %	B.10	1,2 %
B1.3	1,4 %					B.11	1,2 %								
B1.4	1,4 %					B.12	1,2 %								
B2	64,9 %			B2.1	1,4 %	B.13	1,2 %								
				B2.2	1,4 %	B.14	2,5 %								
				B2.3	1,4 %	B.15	4,9 %								
				B2.4	1,4 %	B.16	1,2 %								
				B2.5	1,4 %	B.17	1,2 %								
				B2.6	2,7 %	B.18	2,5 %								
				B2.7	1,4 %	B.19	1,2 %								
				B2.8	1,4 %	B.20	4,9 %								
				B2.9	1,4 %	B.21	13,6 %								
				B2.10	2,7 %	B.22	1,2 %								
				B2.11	5,4 %										
				B2.12	1,4 %										
		B2.13	1,4 %												
		B2.14	1,4 %												
B2.15	1,4 %														
B2.16	33,8 %														
B2.17	1,4 %														
B2.18	2,7 %														

Obrázek 1. Fylogenetický strom identifikovaných genotypů BRV dle úseku 3'UTR oblasti. Fylogenetický strom byl vytvořen pomocí metody neighbor-joining. Délky větví odpovídají evolučním vzdálenostem vypočítaných metodou počtu rozdílů. Procento fylogenetických stromů, ve kterých byly příbuzné taxony sdruženy v rámci bootstrap testu (1000 opakování) je zobrazeno vedle vývojové větve. V závorce je uveden počet zaznamenaných genotypů.

Picture 1. The phylogenetic tree of identified BRV genotypes according to the part of 3'UTR region. The phylogenetic tree was created using the neighbor-joining method. The lengths of the branches correspond to the evolutionary distances calculated by the method of the number of differences. The percentage of phylogenetic trees in which related taxa clustered together in the bootstrap test (1000 replicates) is shown next to the branches. The number of detected genotypes is given in the brackets.



Obrázek 2. Fylogenetický strom identifikovaných genotypů GVBaV dle úseku ORF 3 oblasti. Fylogenetický strom byl vytvořen pomocí metody neighbor-joining. Délky větví odpovídají evolučním vzdálenostem vypočítaných metodou počtu rozdílů. Procento fylogenetických stromů, ve kterých byly příbuzné taxony sdruženy v rámci bootstrap testu (1000 opakování) je zobrazeno vedle vývojové větve. V závorce je uveden počet zaznamenaných genotypů.

Picture 2. The phylogenetic tree of identified GVBaV genotypes according to the part of ORF 3 region. The phylogenetic tree was created using the neighbor-joining method. The lengths of the branches correspond to the evolutionary distances calculated by the method of the number of differences. The percentage of phylogenetic trees in which related taxa clustered together in the bootstrap test (1000 replicates) is shown next to the branches. The number of detected genotypes is given in the brackets.

