

## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-0042-10**

**Výskum faktorov hostiteľskej preferencie vírusu šarky slivky vzhľadom na reálnu variabilitu jeho populácie na území Slovenskej republiky**

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Zdeno Šubr, CSc.**

Príjemca **Virologický ústav SAV**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Virologický ústav SAV
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

### Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. All-Russian Plant Quarantine Center, Moscow, Rusko
2. INRA, Bordeaux, Francúzsko
3. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Valencia, Španielsko

### Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

- 1.
- 2.
- 3.

### Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. Nagyová, A., Kamencayová, M., Glasa, M., Šubr Z.W. (2012): The 3'-proximal part of the Plum pox virus P1 gene determinates the symptom expression in two herbaceous host plants. *Virus Genes* 44: 505-512
2. Predajňa, L., Šubr, Z., Candresse, T., Glasa M. (2012): Evaluation of the genetic diversity of Plum pox virus in a single plum tree. *Virus Research* 167, 112-117
3. Glasa M., Prikhodko Y., Predajňa L., Nagyová A., Shneyder Y., Zhivaeva T., Šubr Z., Cambra M., Candresse T. (2013): Characterization of sour cherry isolates of Plum pox virus from the Volga basin in Russia reveals a new cherry strain of the virus. *Phytopathology* 103, 972-979

4. Vozárová Z., Kamencayová M., Glasa M., Šubr Z. (2013): Plum pox virus accumulates mutations in different genome parts during a long-term maintenance in Prunus host plants and passage in Nicotiana benthamiana. Acta Virologica 57, 369 -372
5. Z. Šubr, M. Kamencayová, M. Glasa (2014): Experimental mixed infection by Plum pox virus strains confirms their natural host preference. Acta Horticulturae, in press

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Získané poznatky budú využité najmä pri ďalšej experimentálnej práci základného výskumu. Objav kmeňa PPV-CR viedol k vývoju špecifickej detekčnej metódy pre diagnostiku izolátov tohto kmeňa. Založenie laboratória pre in vitro kultúry drevín umožnilo pravidelný prísun rastlín pre biologické experimenty. Získali sme významné praktické skúsenosti potrebné pre reprezentatívny zber vzoriek rastlinného materiálu a optimalizovali účinnú biolistickú transfekciu bylín pomocou vzduchovej zbrane s použitím alternatívneho ekologického nosiča DNA (celit).

## **CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV**

### **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku** (max. 20 riadkov)

Vypracovali sme detailnú mapu výskytu PPV na území Slovenska. Podieľali sme sa aj na objave a popise nového kmeňa PPV-CR, ktorý je zrejme jednou z majoritných foriem vírusu vo východnej Európe a vyvinuli sme účinnú metódu jeho detekcie. Potvrdili sme hosťiteľskú preferenciu troch majoritných kmeňov PPV. Genetické determinanty adaptácie na hosťiteľa sa nepodarilo jednoznačne určiť, táto vlastnosť je pravdepodobne multigénovej povahy. Zjavnú úlohu pri interakcii s hosťiteľskými faktormi zohrávajú potyvírusové proteíny P1 a P3. Pre P1 sme priamo cieľenou mutagenézou dokázali, že jediná aminokyselina (arginín alebo tryptofán v pozícii 138) je schopná dramaticky ovplyvniť prejav príznakov ochorenia v bylinných hosťiteľoch. V dôsledku infekcie PPV dochádza k pozitívnej aj negatívnej regulácii rastlinných génov na úrovni transkripcie. V prípade systémového hosťiteľa *N. benthamiana* výsledky nasvedčujú, že vírus do značnej miery prebral kontrolu nad biosyntetickým a energetickým metabolizmom rastliny vo svoj prospech. Aplikácia dvojhybridného systému indikovala interakcie proteínu P1 (resp. P3) s viacerými rastlinnými proteínmi rôznej funkcie. Pre ich overenie sme nadprodukovali P1 v *E. coli* a optimalizovali jeho purifikáciu pre nadchádzajúce pull-down experimenty. Nezistili sme epidemiologické riziko spojené s šírením hosťiteľsky atypických izolátov PPV, naopak, samotná ich existencia je zrejme dôsledkom pretrvávajúceho tlaku z okolitých (hosťiteľsky typických) zdrojov infekcie. V podmienkach šarkou premoreného druhovo zmiešaného sadu boli nálezy hosťiteľsky atypického kmeňa PPV viazané na zmiešanú infekciu s typickým kmeňom, čo evokuje hypotézu transkomplementácie, ktorá by to umožňovala, resp. uľahčovala.

### **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku** (max. 20 riadkov)

A detailed map of PPV incidence in Slovakia was worked out. We participated in discovery and description of a new strain PPV-CR, probably one of major virus forms in Eastern Europe, and an efficient detection method was evolved. Host preference of three major PPV strains was confirmed. Genetic determinants of host adaptation could not be clearly located, this feature is probably multigenic. Potyviral proteins P1 and P3 play an evident role in interactions with host factors. As we showed by directed mutagenesis, one single P1 amino acid (arginine or tryptophane in position 138) dramatically influences the symptom manifestation in herbaceous hosts. PPV infection results in positive and negative regulation of plant genes on the transcription level. For the systemic host *N. benthamiana* the results showed, that the virus noticeably adopted control over the biosynthetic and energetic metabolism of the plant. Application of a two-hybrid system indicated P1 and P3 interactions with several plant proteins of various function. For further verification of the results with pull-

down experiments, P1 was overproduced in *E. coli* and its purification was optimized. We found no epidemiologic risk connected with spread of host-atypical PPV isolates. They arise probably due to long-term pressure from surrounding (host-typical) infection sources. Under conditions of a heavy sharka-contaminated mixed orchard the host-atypical and typical PPV strains were found mixed in individual trees, which evoked the hypothesis of trans-complementation.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

**Zodpovedný riešiteľ**

RNDr. Zdeno Šubr, CSc.

V Bratislave 01.08.2014

**Štatutárny zástupca príjemcu**

MVDr. Juraj Kopáček, DrSc.

V Bratislave 01.08.2014

.....  
podpis zodpovedného riešiteľa

.....  
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu