

Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu **APVV51-0402-07****Molekulárna epidemiológia vírusu šarky slivky (PPV) a identifikácia genetických determinantov virulencie vírusu v špecifickom hostiteľovi**Zodpovedný riešiteľ **Ing. Miroslav Glasa, PhD.**Príjemca **Virologický ústav SAV Bratislava**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

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

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. UMR GDPP INRA Bordeaux, Francúzsko (neformálna spolupráca)
2. CSIC Madrid, Španielsko (neformálna spolupráca)
3. UMR BGPI INRA Montpellier, Francúzsko (neformálna spolupráca)

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. Šubr Z, Kamencayová M, Nováková S, Nagyová A, Nosek J, Glasa M (2010): A single amino acid mutation alters the capsid protein electrophoretic double-band phenotype of the Plum pox virus strain PPV-Rec. Archives of Virology 155: 1151-1155.
2. Glasa M, Predajňa L, Šubr Z (2010): Competitiveness of different Plum pox virus isolates in experimental mixed infection reveals rather isolate- than strain-specific behaviour. Journal of Plant Pathology 92: 267-271.
3. Predajňa L, Nagyová A, Šubr Z (2010): A simple and efficient biolistic procedure of plant transfection with cDNA clones of RNA viruses. Acta Virologica 54: 303-306.
4. Decroocq V, Salvador B, Sicard O, Glasa M, Cosson P, Svanella-Dumas L, Revers F,

García J.A, Candresse T (2009): The determinant of potyvirus ability to overcome the RTM resistance of *Arabidopsis thaliana* maps to the N-terminal region of the coat protein. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 22: 1302–1311.

5. Dallot S, Glasa M, Jevremovic D, Kamenova I, Paunovic S, Labonne G (2011) Mediterranean and central-eastern European countries host two different clades within the Plum pox virus strain M. *Archives of Virology* 156 (accepted)

Uplatnenie výsledkov projektu

Získané údaje o primárnej štruktúre vírusu šarky slivky sú priamo využiteľné pri vývoji molekulárnej diagnostiky vírusu. Detailná kmeňová charakteristika vírusu a poznatky o genetickej a biologickej variabilite sú využiteľné pri plánovaní efektívnejších stratégií kontroly vírusu šarky slivky. V širšom meradle prispievajú získané poznatky k pochopeniu evolúcie a epidemiológie potyvírusov.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

Vírus šarky slivky (PPV, rod Potyvirus) spôsobuje hospodársky najvýznamnejšie vírusové ochorenie ovocných druhov z rodu *Prunus* – šarku sliviek. Sekvenčná analýza 75 PPV izolátov zozbieraných z rôznych oblastí Slovenska potvrdila prítomnosť izolátov patriacich do 3 hlavných PPV kmeňov – PPV-M, D a Rec. Vnútrokmeňová nukleotidová diverzita pri jednotlivých kmeňoch bola približne rovnaká a dosahovala 1-2%. Potvrdili sme rozdelenie PPV-M kmeňa na 2 subkmene, ktoré korelujú s geografickým pôvodom izolátov. Zistili sme rôznu vnímavosť sliviek (*Prunus domestica*) a broskyň (*P. persica*) na PPV infekciu s ohľadom na kmeňovú variabilitu vírusu, čo naznačuje odlišnú hostiteľskú adaptáciu PPV kmeňov. Experimenty potvrdili existenciu biologickej variability v rámci jednotlivých kmeňov pri zmiešanej infekcii rôznych kmeňov. Vyvinula sa zjednodušená a lacná metóda biolistickej transfekcie bylenných experimentálnych rastlín infekčnými cDNA klonmi a natívnymi inokulami vírusov. S cieľom mapovať úseky genómu zodpovedné za symptomatologický prejav, príp. virulenciu na hostiteľských rastlinách sa pripravilo viac než 20 medzikmeňových chimér PPV. Zistili sme, že typ a intenzita príznakov pozorovaných na experimentálnych rastlinách boli viazané na 5'-proximálne neštruktúrne gény vírusu (P1-C1). Pomocou cielenej mutagenézy génu kódujúceho obalový proteín sme presne zmapovali aminokyselinovú zmenu (Gly66Arg), ktorá spôsobuje zmenu elektroforetického fenotypu PPV-Rec. Výsledky získané pri riešení projektu poskytli poznatky nevyhnutné na pochopenie geografickej dynamiky a genetického vývoja PPV a môžu byť využité pri spracovaní aktualizovaných diagnostických postupov a fytoosanitárnych opatrení vírusu zameraných na kontrolu šarky slivky.

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

Plum pox virus (PPV, genus Potyvirus) is a causal agent of the economically most important viral disease of stone fruit trees – sharka. Sequence analysis of 75 PPV isolates collected from various regions of Slovakia has confirmed the presence of isolates belonging to 3 main PPV strains – M, D and Rec. Intra-strain nucleotide diversity within respective strains was similar and reached 1-2%. We have confirmed the splitting of PPV-M to 2 substrains, correlating with their geographical origins. We have detected different susceptibility of plums (*Prunus domestica*) and peaches (*P. persica*) to PPV infection regarding the strain variability of virus, which led to suggest distinct host adaptability of PPV strains. Our experiments have confirmed the existence of biological variability within PPV strains during mixed infection of plant. A simplified and cost-effective method of biolistic transfection of herbaceous experimental plants by infectious cDNA and native viral inocula has been developed. With the aim to map the genomic portions responsible for symptomatological expression or virulence of virus on host plants, we have prepared a set of 20 interstrain PPV chimeras. Type and intensity of symptoms observed on experimental plants have been linked to the

5´nonstructural virus genes (P1-CI). Using a site-directed mutagenesis of capsid protein gene, we have precisely mapped a single aminoacid substitution (Gly66Arg), causing the change of electrophoretic phenotype of PPV-Rec. The results of project have contributed to the understanding of the geographical dynamic a genetic evolution of PPV and can be used to establish an updated diagnosis procedures and phytosanitary strategies aimed to sharka control.

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

Zodpovedný riešiteľ

Ing. Miroslav Glasa, PhD.

V Bratislave 26. 01. 2011

Štatutárny zástupca príjemcu

MVDr. Juraj Kopáček, DrSc.

V Bratislave 26. 01. 2011

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu