

## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-14-0055**

**Efektívna diagnostika vírusov ohrozujúcich produkciu rajčiaka jedlého na Slovensku**

Zodpovedný riešiteľ **Ing. Jozef Gubiš, PhD.**

Príjemca **Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum - Výskumný ústav rastlinnej výroby**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav rastlinnej výroby  
Biomedicínske centrum SAV - Virologický ústav  
Žilinská univerzita v Žiline - Výskumný ústav vysokohorskej biológie v Tatranskej Javorine  
Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave - Fakulta prírodných vied

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

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta chemicko-inžinierska, Ústav počítačové a řídicí techniky, Technická 3, Praha 6 – Dejvice 166 28, Česká republika – bez finančnej účasti

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

V rámci riešeného projektu neboli udelené patenty a ani podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré by boli výsledkami projektu.

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

N. Sihelská, L. Predajňa, A. Nagyová, K. Šoltys, J. Budiš, J. Gubiš, M. Mrkvová, J. Kraic, D. Mihálik, M. Glasa (2016): Detection and molecular characterization of Slovak tomato isolates belonging to two recombinant strains of potato virus Y. In: Acta virologica, vol. 60, No. 4, pp. 347 – 353,

Sihelská N, Vozárová Z, Predajňa L, Šoltys K, Hudcovicová M, Mihálik D, Kraic J, Mrkvová M, Kúdela O, Glasa M (2017): Experimental infection of different tomato genotypes with Tomato mosaic virus led to a low viral population heterogeneity in the capsid protein encoding region. In: Plant Pathology Journal 33, no. 5, p. 508-513.

Predajňa L, Šoltys K, Kraic J, Mihálik D, Glasa M (2017): First report of potato virus S infecting tomato in Slovakia. In: Journal of Plant Pathology 99, no. 3. p. 811

Glasa M, Predajňa L, Sihelská N, Kraic J, Mihálik D (2017): Application of next generation sequence technology for study of plant virus diversity. In Applied Natural Sciences 2017, Conference proceedings of the 6th Biennial international scientific conference (Miština J, Jurinová J, eds), University of SS. Cyril and Methodius in Trnava, 27.-29.9.2017, p. 22-25, ISBN 978-80-8105-547-8.

Odovzdávací protokol č.1/2017: Metodika RT-PCR detekcie vírusu zemiaka S s využitím primerov PVS7833F / PVS8386R

Odovzdávací protokol č.2/2017: Metodika RT-PCR detekcie vírusu zemiaka Y (PVY) s

využitím primerov PVY9063F/ PVY9534R

Glasa M, Šoltys K, Predajna L, Sihelska N, Budis J, Mrkvova M, Kraic J, Mihalik D, Ruiz-Garcia AB (2019): High-throughput sequencing of Potato virus M from tomato in Slovakia reveals a divergent variant of the virus. In: Plant Protection Science 55, no. 3, p. 159-166  
Tomašechová, J., Šubr, Z., Predajňa, L., Sihelská, N., Gubiš, J., Kraic, J., Mihálik, D., Glasa, M.: Molekulárna diagnostika vybraných vírusových patogénov rajčiaka jedlého (*Solanum lycopersicum*) vyskytujúcich sa na území Slovenskej republiky. (Metodika) Biomedicínske centrum SAV, 2019, 27 s., ISBN: 978-80-972111-4-1, [http://www.biomedcentrum.sav.sk/wp-content/uploads/2019/07/Metodika\\_detekcie\\_virusov\\_APVV14-0055\\_.pdf](http://www.biomedcentrum.sav.sk/wp-content/uploads/2019/07/Metodika_detekcie_virusov_APVV14-0055_.pdf)

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Ukončený projekt bol projektom aplikovaného výskumu, kde odberateľom výsledkov bola firma Zelseed, s.r.o. Na analyzovaných rastlinných materiáloch pochádzajúcich z portfólia boli identifikované vírusy, ktoré boli prvýkrát popísané na našom území a majú významný potenciál negatívne ovplyvniť kvantitu a kvalitu rajčiakov. Detekcia patogénov je obmedzená dostupnosťou reagensov a kitov, nakoľko komerčne dostupné kity môžu byť vysoko špecifické pre detekciu epitopov/molekulárnych motívov z krajiny pôvodu, pričom ich krížová reaktivita s izolátmi vyskytujúcimi sa na našom území je obmedzená. V rámci riešenia ukončeného projektu sme prostredníctvom pokročilých techník molekulárno – biologického výskumu identifikovali viacero vírusov napadajúcich rastliny čeľade ľuľkovité, ktoré sú hlavným portfóliom odberateľa výsledkov (vírus zemiaka Y, vírus zemiaka S, vírus zemiaka M, vírus mozaiky uhorky). Bola pripravená protilátka, ktorej parametre vysoko prekračujú možnosti komerčne dostupných protilátok, pomocou ktorej možno detekovať prítomnosť vírusu ToMV už v počiatočnej fáze infekcie a tak možno zabrániť jej šíreniu. Aplikácia protilátky bola optimalizovaná a je možné použiť výsledky projektu aj na komerčné účely. Pre molekulárnu detekciu vyššie uvedených vírusov sme optimalizovali protokoly, vhodné pre rýchly skrining ich prítomnosti pomocou štandardnej alebo multiplex RT-PCR.

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

Ukončený projekt APVV-14-0055 sa zaoberal prípravou efektívnych diagnostických postupov identifikácie fytopatogénov vírusového pôvodu pri rajčiaku jedlom. Vzhľadom na fakt, že súčasná dostupná diagnostika nie je dostatočne účinná, bolo modernými molekulárno-biologickými postupmi identifikovaných viacero vírusových fytopatogénov, pričom bola zhodnotená ich molekulárna variabilita na úrovni parciálnych alebo úplných genomických sekvencií. Prvýkrát bol popísaný a bližšie charakterizovaný na našom území nový patotyp vírusu mozaiky rajčiaka (ToMV SL-1). V rámci riešenia projektu bol pripravený imunochemicko detekčný systém, ktorého detekčné schopnosti významne prevyšujú komerčne dostupné detekčné kity. Vyvinutý detekčný systém dokáže identifikovať prítomnosť vírusových častíc už počas včasnej fázy infekcie na rozdiel od komerčne dostupných diagnostík. Diagnostika a výsledky testovania odolnosti domácich odrôd voči infekcii ToMV bude využívaná odberateľom výsledkov, firmou Zelseed. Počas riešenia projektu boli identifikované aj nové patotypy/izoláty vírusu mozaiky uhorky, vírusu zemiaka S, vírusu zemiaka Y a vírusu zemiaka M, ktorých prítomnosť a vnútrodrohová genetická diverzita ešte nebola na našom území popísaná. Tieto výsledky značne obohacujú doterajšie poznatky o molekulárnej variabilite vírusov a v prípade PVY ukazujú na významnú úlohu rekombinácie v evolučnej histórii vírusu. Optimalizovali sme RT-PCR detekciu (v štandardnom alebo multiplex usporiadaní), zohľadňujúcich regionálnu diverzitu, pre rýchlu a citlivú diagnostiku týchto vírusov. Okrem 5 vedeckých publikácií sú výsledkom riešenia projektu 2 dizertačné práce a 5 diplomových prác. Získané diagnostiká majú vysoký potenciál pre ich komercializáciu. Počas riešenia projektu boli získané projekty, ktoré budú nadväzovať na výsledky ukončeného projektu.

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

The completed project APVV-14-0055 dealt with the preparation of effective diagnostic procedures for the identification of tomato viral phytopathogens. Due to the fact that currently available diagnostics is not sufficiently effective, several viral phytopathogens have

been identified by modern molecular biology procedures assessing their molecular variability at the level of partial or complete genomic sequences. For the first time, a new pathotype of the tomato mosaic virus (ToMV SL-1) has been described and characterized in our territory. Within the project, there was prepared an immunochemical detection system whose detection capabilities significantly exceeds the commercially available detection kits. The developed detection system can identify the presence of viral particles already during the early phase of infection, as opposed to commercially available diagnostics. The diagnostics and the results of testing resistance of domestic varieties to ToMV infection will be used by the result subscriber, Zelseed. During the solution of the project, there were also identified new pathotypes/isolates of the cucumber mosaic virus, the potato virus S, potato virus Y and potato virus M whose presence and intraspecies genetic variability has not been described in our territory before. These results greatly enrich the current knowledge of the molecular variability of viruses and, in the case of PVY, indicate a significant role of the recombination in the evolutionary history of the virus. We have optimized RT-PCR detection (in standard or multiplex arrangement), taking into account regional diversity, for rapid and sensitive diagnostics of these viruses. In addition to 5 scientific publications, the results of the project are 2 dissertations and 5 theses. The acquired diagnostics have a high potential for their commercialization. During the project implementation, projects that will follow the results of the completed project were obtained.