



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-18-0005

Analýza faktorov ovplyvňujúcich odpoveď plodiny na infekciu potyvírusmi na molekulárnej a bunkovej úrovni.

Zodpovedný riešiteľ **Ing. Miroslav Glasa, DrSc.**

Príjemca **Biomedicínske centrum SAV, v. v. i. - Virologický ústav**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Virologický ústav, Biomedicínske centrum SAV, Bratislava
Žilinská Univerzita v Žiline, Výskumný ústav vysokohorskej biológie

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

UMR 1332 Biologie du Fruit et Pathologie, Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE), Villenave d'Ornon, France (neformálna spolupráca)
Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Institut Valencia d'Investigacions Agraries (IVIA) Valencia, Spain (neformálna spolupráca)

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

žiadne

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

Hajizadeh M, Gibbs AJ, Amirnia F, Glasa M (2019): The global phylogeny of Plum pox virus is emerging. Journal of General Virology 100, 1457-1468, <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001308>

Tomašechová J, Hančinský R, Predajňa L, Kraic J, Mihálik D, Šoltys K, Vávrová S, Bohmer M, Sabanadzovic S, Glasa M (2020): High-throughput sequencing reveals Bell pepper endornavirus infection in pepper (Capsicum annum) in Slovakia and enables its further molecular characterization. Plants 9, 41. <https://doi.org/10.3390/plants9010041>

Tomašechová J, Predajňa L, Sihelská N, Kraic J, Mihálik D, Šoltys K, Glasa M (2020): First report of Pepper cryptic virus 2 infecting pepper (Capsicum annum) in Slovakia. Plant Disease 104, 1565. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-19-2577-PDN>

Hančinský R, Mihálik D, Mrkvová M, Candresse T, Glasa M (2020): Plant viruses infecting Solanaceae family members in the cultivated and wild environments: A review. Plants 9, 667. <https://doi.org/10.3390/plants9050667>

Šubr Z, Predajňa L, Šoltys K, Bokor B, Budiš J, Glasa M (2020): Comparative transcriptome analysis of two Cucumber cultivars with different sensitivity to cucumber mosaic virus

infection. Pathogens 9, 145. <https://doi.org/10.3390/pathogens90201452>

Nováková S, Šubr Z, Kováč A, Fialová I, Beke G, Danchenko M (2020) Cucumber mosaic virus resistance: Comparative proteomics of contrasting Cucumis sativus cultivars after long-term infection. Journal of Proteomics 214, 103626. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103674>

Cejnar P, Kučková Š, Šantrůček J., Glasa M, Komínek P, Mihalík D, Slavíková L, Leišová-Svobodová L, Smirnova T, Hynek R, Kundu JK, Ryšánek P (2020): Efficient Confirmation of Plant Viral Proteins and Identification of Specific Viral Strains by nanoLC-ESI-Q-TOF Using Single-Leaf-Tissue Samples. Pathogens 9, 966. <https://doi.org/10.3390/pathogens9110966>

Glasa M, Hančinský R, Šoltys K, Predajňa L, Tomašechová J, Hauptvogel P, Mrkvová M, Mihalík D, Candresse T (2021): Molecular characterization of Potato virus Y (PVY) using high-throughput sequencing: Constraints on full genome reconstructions imposed by mixed infection involving recombinant PVY strains. Plants 10, 753. <https://doi.org/10.3390/plants10040753>

Achs A, Glasa M, Alaxin P, Šubr ZW (2022): Suitability of different plant species for experimental agroinfection with Plum pox virus-based expression vector for potential production of edible vaccines. Acta Virologica 66 (1), 95-97. https://doi.org/10.4149/av_2022_111

Achs A, Glasa M, Šubr Z (2022): Plum pox virus genome-based vector enables the expression of different heterologous polypeptides in Nicotiana benthamiana plants. Processes 10 (8), art. no. 1526. <https://doi.org/10.3390/pr10081526>

Slavíková L, Ibrahim E, Alquicer G, Tomašechová J, Šoltys K, Glasa M, Kundu JK (2022): Weed hosts represent an important reservoir of Turnip yellows virus and a possible source of virus introduction into oilseed rape crop. Viruses 14 (11), art. no. 2511. <https://doi.org/10.3390/v14112511>

Mrkvová M, Hančinský R, Predajňa L, Alaxin P, Achs A, Tomašechová J, Šoltys K, Mihalík D, Olmos A, Ruiz-García AB, Glasa M (2022): High-throughput sequencing discloses the cucumber mosaic virus (CMV) diversity in Slovakia and reveals new hosts of CMV from the Papaveraceae family. Plants 11 (13), art. no. 1665. <https://doi.org/10.3390/plants11131665>

Morán F, Olmos A, Glasa M, Silva MBD, Maliogka V, Wetzell T, Ruiz-García AB (2023): A Novel and highly inclusive quantitative Real-Time RT-PCR method for the broad and efficient detection of Grapevine leafroll-associated virus 1. Plants 12 (4), art. no. 876. <https://doi.org/10.3390/plants12040876>

Khalili M, Candresse T, Koloniuk I, Safarova D, Brans Y, Faure C, Delmas M, Massart S, Aranda MA, Caglayan K, Decroocq V, Drogoudi P, Glasa M, Pantelidis G, Navratil M, Latour F, Spak J, Pribylova J, Mihalik D, Palmisano F, Saponari A, Necas T, Sedlak J, Marais A (2023): The expanding menagerie of Prunus-infecting luteoviruses. Phytopathology 113 (2): 345-354. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-22-0203-R>

Uplatnenie výsledkov projektu

Rýchla a spoľahlivá molekulárna detekcia významných vírusov plodovej zeleniny (PVY, BYMV, CMV, BPEV-1, PCV2...) ako súčasť kontroly patogénov a plánovanie efektívnejších stratégií ochrany plodín voči vírusovej infekcii.

Epidemiologické poznatky (molekulárna variabilita, hostiteľský okruh, geografické rozšírenie...) využiteľné pri hodnotení rizík vírusových patogénov rastlín (pest risk assessment).

Obohatenie zbierky molekulárne a biologicky charakterizovaných vírusových izolátov (Európsky vírusový archív).

Experimentálne zhodnotenie odrodovej citlivosti kolekcie slovenských genotypov uhoriek voči infekcii vírusom žltej mozaiky cukety (ZYMV).

Zavedenie vysoko účinnej metódy introdukcie infekčných klonov PPV prostredníctvom *Agrobacterium tumefaciens* do rastlín, vrátane drevitých hostiteľov (*Prunus domestica*).

Využitie infekčného potyvírusového (PPV) klonu na heterológnu expresiu cudzorodých polypeptidov v rastlinách (pre každý prípad potrebná špecifická optimalizácia)

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

Aplikáciou sekvenácie novej generácie (NGS) sme dokázali, že viróm analyzovaných plodín je širší a komplexnejší, než sa pôvodne predpokladalo. Celogenómová charakterizácia viacerých potyvírusov (PVY, PPV, ZYMV, WMV, BYMV) odhalila ich vysokú variabilitu a existenciu divergentných a rekombinantných foriem unikajúcich rutínnej diagnostike. V zmiešaných infekciách sme spolu s potyvírusmi identifikovali aj patogény z iných vírusových rodov (carlavírus, luteovírus, cucumovírus, endornavírus ...), pričom viaceré z nich boli na Slovensku zachytené po prvýkrát alebo patria k takzvaným vynárajúcim sa (emerging) patogénom. Na príklade PVY sme ukázali, že bioinformatickú analýzu NGS dát komplikuje aj heterogenita vírusových populácií v rastline na vnútroduhovej úrovni (koinfekcia rastliny príbuznými rekombinantnými kmeňmi toho istého vírusu). Získané molekulárne dáta boli použité na optimalizáciu RT-PCR detekcie vírusov a následné epidemiologické štúdie v intenzívne pestovaných rastlinách alebo v agroekologickom rozhraní. Pripravený infekčný potyvírusový (PPV) klon bol úspešne využitý na heterológnu expresiu viacerých cudzorodých polypeptidov v rastlinách (vrátane antigénov vírusu chrípky typu A alebo SARS-CoV-2). Na transkriptomickú a proteomickeú úroveň sme porovnali vplyv vírusovej infekcie pri dvoch odrodách uhorky s odlišnou reakciou voči vírusu mozaiky uhorky (CMV). Hlavné rozdiely v konštitutívnej transkripčnej aktivite spočívali v zmenách expresie génov zodpovedných za metyláciu, fosforyláciu, organizáciu bunkovej steny a metabolizmus uhľohydrátov (prevládajúce pri odolnej odrode), alebo kondenzácii chromozómov a biosyntéze glukánov pri citlivej odrode). Porovnanie proteómov potvrdilo, že rezistentné rastliny mali početnejšie zastúpenie stresových a obranných proteínov. Zistená a predpovedaná účasť génov v rôznych fenotypoch môže byť po potvrdení biologickými experimentmi použitá v šľachtiteľských programoch zameraných na získanie plodín rezistentných voči vírusom.

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

By applying next-generation sequencing (NGS), we proved that the virome of the analyzed crops is wider and more complex than originally thought. Genome-wide characterization of several potyviruses (PVY, PPV, ZYMV, WMV, BYMV) revealed their high variability and the existence of divergent and recombinant forms escaping routine diagnosis. In mixed infections, along with potyviruses, we also identified pathogens from other virus genera (carlavirus, luteovirus, cucumovirus, endornavirus...), while several of them were detected in Slovakia for the first time or belong to the so-called emerging pathogens. Using the example of PVY, we showed that the bioinformatic analysis of NGS data is also complicated by the heterogeneity of virus populations in the plant at the intraspecies level (co-infection of the plant with related recombinant strains of the same virus). The obtained molecular data were used to optimize RT-PCR detection of viruses and subsequent epidemiological studies in intensively cultivated plants or in the agroecological interface. The prepared infectious potyvirus (PPV) clone was successfully used for the heterologous expression of several foreign polypeptides in plants (including antigens of influenza A virus or SARS-CoV-2). At the transcriptomic and proteomic level, we compared the effect of virus infection in two cucumber cultivars with different response to cucumber mosaic virus (CMV). The main differences in constitutive transcriptional activity consisted in changes in the expression of genes responsible for methylation, phosphorylation, cell wall organization and carbohydrate metabolism (predominant in the resistant variety), or chromosome condensation and glucan biosynthesis in the sensitive variety). Comparison of proteomes confirmed that resistant

plants had a higher representation of stress and defense proteins. The detected and predicted involvement of genes in different phenotypes can be used in breeding programs aimed at obtaining virus-resistant crops after being confirmed by biological experiments.