„*Ribes* ģints augu, *Cecidophyopsis* pumpurērču un upeņu reversijas vīrusa izpēte ilgtspējīgai *Ribes* ģints ogulāju rezistences selekcijai un audzēšanai"
1.1.1.1/18/A/026

Projekta īstenošanas progress (01.03.2021. – 31.05.2021.)

Darbības Nr.1 ietvaros turpināta pumpurērču elektronu mikroskopijas attēlu un morfoloģisko parametru datu analīze. Uzsāktas ITS/5.8S/28S un COX1 sekvenču filoģenētiskās analīzes. Paralēli analizēta literatūra par iespēju izmantot ērču ģenitāliju morfoloģiju ģints ietvaros sugu atšķiršanai. Secināts, ka šīs pazīmes vairāk nozīmīgas ģinšu atšķiršanai, tāpēc nolemts tās tālāk neanalizēt, paliekot pie pazīmēm, kas sugu nošķiršanai ir izmantotas iepriekš.

Atkārtoti analizēti pozitīvie *Ribes* ģints augu paraugi ar praimeriem, kas ir specifiski vīrusa apvalka proteīna sekvencēm, lai veiktu paraugu atlasi BRV apvalka proteīna kodējošo sekvenču iegūšanai. Ar praimeriem P3233/P3643 amplificēts 410 bp fragmentu no BRV RNS2, kas noklāj BRV proteīna apvalka daļu no 3480nt līdz 3643 nt. Pārējā BRV proteīna apvalka fragmenta daļa amplificēta ar praimeriem P3673/P5236, kas amplificē 1563 bp garu fragmentu. Sekvencēšanai izmantoti četri praimeru pāri, kas noklāj BRV proteīna apvalka kodējošo daļu no 3673 nt līdz 5046 nt. Kopā sekvencēšanai sagatavoti 26 paraugi no upenēm, jāņogām, ērkšķogām, vērenēm, īvēm, lazdām un ērkšķogu un upeņu hibrīdiem. BMC veikta šo paraugu sekvencēšana uz ģenētiskā analizatora ABI PRISM 3130xl. Uzsākta iegūto BRV sekvenču analīze un kvalitātes pārbaude.

Darbības Nr.2 ietvaros veikti labojumi pēc recenzentu norādēm apskata rakstā par šķirņu rezistences pret *Cecidophyopsis* un BRV un to savstarpējo mijiedarbību pētījumiem, iesniegta labotā apskata raksta versija žurnālā "Annals of Applied Biology".

Pabeigts darbs pie pētījuma par *Ribes* ģenētisko resursu genotipēšanas analīzi, izmantojot SSR marķierus, raksts "Evaluation of blackcurrant (*Ribes nigrum*) germplasm structure by microsatellite-based fingerprinting for the diversification of the breeding material" (autori: Gunārs Lācis, Katrīna Kārkliņa, Irita Kota-Dombrovska, Sarmīte Strautiņa) akceptēts publicēšanai izdevumā *"Journal of Berry Research"* (https://www.iospress.nl/journal/journal-of-berry-research/). Turpināts darbs pie *Ribes* augu materiāla hloroplastu molekulāro marķieru (cpSSR) genotipēšanas datu analīzes, rezistences gēna *P* identifikācijas metodes izstrādes un NGS datu analīzes un apstrādes. Uzsākts darbs pie kopējās RNS izdalīšanas no 2019. gada augustā ievākto un pie -80°C uzglabāto upeņu (šķirne 'Mara Eglite') invadētajiem un kontroles paraugiem. Upeņu asociētā rhabdovīrusa 1 [*Black currant-associated rhabdovirus 1* (BCaRV)] izolāta Māra Eglīte pilnā genoma sekvence tika ievietota *European Nucleotide Archive* datu bāzē ar identifikācijas numuru OU015520-OU015520. Sagatavotais raksta manuskripts "First report of black currant-associated rhabdovirus 1 in blackcurrants in Latvia" ir iesniegts žurnālā "*Plant Disease*".

Turpināts darbs pie izstrādāto TEF 1-α un HSP70 praimeru PCR amplifikācijas protokolu pielietojuma praktiskās pārbaudes un to piemērotības izvērtēšana *Cecidophyopsis* sugu diagnostikas metodes izstrādei. Turpināts darbs pie COX1 sekvenču izvērtēšanas sugām specifisko praimeru izstrādei.

Aprīlī veikta invadēto pumpuru uzskaite dažādiem *Ribes* genotipiem rezistences novērtēšanas metodes pilnveidošanai, reģistrējot invadēto un veselo pumpuru skaitu pa augiem. Ierīkots jauns invadēšanas eksperiments ar mērķi pārbaudīt, vai no vienas augu grupas augiem ērces var invadēt citas augu grupas augus, tāpēc dažādu augu izcelsmes pumpurērces novietotas uz dažādu *Ribes* grupu in-vitro pavairotiem augiem, tajā skaitā zelta jāņogām (*Ribes aureum*) un ērkšķogām, kurām Latvijā pumpurērces līdz šim nav konstatētas.

Turpināta *Ribes* ģenētisko resursu lauka kolekciju vērtēšana, veicot aprakstīšanu pēc RIBESCO deskriptoriem. Ievākta trešā gada datu kopa par augu fenoloģisko un veģetatīvo attīstību, ziedēšanu, izturību pret salnām. Kolekcijā Pūrē veikta BRV izplatības un simptomu vērtēšana. Par upeņu šķirņu šķirņu izturību pret pumpurērcēm sniegts ziņojums Dārzkopības institūta organizētajā informatīvajā dienā ‘’Pavasaris 2021’’, kurā prezentēti projekta gaitā apkopotie rezultāti. Kolekcijā Pūrē ievākti paraugi jāņogām BRV noteikšanai laboratorijā, lai varētu precizēt vizuālās slimības pazīmes. Audu kultūru laboratorijā laboratoriskiem rezistences pētījumiem savairoti 14 *Ribes* genotipi no dažādām sugām. Atveseļotas genofonda kolekcijas veidošanai, pašlaik *in vitro* ievadīti un tiek saglabāti un 9 upeņu, 2 jāņogu un 5 ērkšķogu genotipi. Upenēm un ērkšķogām laboratorijā veikta testēšana uz vīrusiem atveseļošanas efektivitātes noteikšanai.

Informācija sagatavota 31.05.2021.