

**„*Ribes* ģints augu, *Cecidophyopsis* pumpurērcu un upeņu reversijas vīrusa izpēte
ilgtspējīgai *Ribes* ģints ogulāju rezistences selekcijai un audzēšanai”**

1.1.1.1/18/A/026

Projekta īstenošanas progress (01.09.2020. – 30.11.2020.)

Darbības Nr.1 ietvaros pabeigta pumpurērcu elektronu mikroskopija, attēlu iegūšana un morfoloģisko parametru dokumentēšana. Uzsākta iegūto morfoloģijas datu analīze. Veikta nukleīnskābju izdalīšana no ērcu indivīdiem pēc elektronu mikroskopijas, multipleksa PCR amplifikācija sugu noteikšanai, ITS/5.8S/28S PCR amplifikācija un sagatavošana sekvenčēšanai. BMC veikta PCR fragmentu garumu analīze multipleksa PCR paraugiem uz ģenētiskā analizatora ABI PRISM 3130xl sugu noteikšanai, izmantojot iepriekš izveidoto, automatizētās analīzes protokolu un veikta ITS/5.8S/28S sekvenčēšana ar Sangeru metodi. Veikta ITS/5.8S/28S sekvenču kvalitātes pārbaude un datu failu izveide tālākām analīzēm. Veikta visu atlasīto ērcu paraugu COX1 PCR amplifikācija, sagatavošana sekvenčēšanai un sekvenčēšana BMC ar Sangeru metodi. Uzsākta iegūto sekvenču kvalitātes pārbaude. Turpināta BRV noteikšana ērcu indivīdu DNS/RNS paraugos, lai skaidrotu sugu iesaisti vīrusa pārnēsē. Veikta BRV CP amplifikācijas praimeru teorētiskā izstrāde un to piemērotības praktiskā pārbaude.

Darbības Nr.2 ietvaros turpināts darbs pie apskata raksta sagatavošanas par šķirņu rezistences pret *Cecidophyopsis* un BRV un to savstarpējo mijiedarbību pētījumiem, sagatavots raksta manuskripts iesniegšanai.

Darbības ietvaros turpināts darbs pie rezistences *Ce* gēnam specifisko amplifikācijas fragmentu sekvenču analīzes. Turpināts publikācijas melnraksta pilnveidošanas darbs par *Ribes* ģenētisko resursu SSR marķieru genotipēšanas rezultātiem, iesaistot dažādu projekta aktivitāšu ekspertus. Pabeigta hloroplastu molekulāro marķieru (cpSSR) genotipēšana *Ribes* augu materiālam ar mērķi skaidrot starpsugu krustojumu iespējamo sugu struktūru. Materiāla tālākā analīze veikta BMC, kur pabeigta 23 hloroplastu molekulāro marķieru PCR fragmentu garumu analīze (3818 paraugi) uz ģenētiskā analizatora ABI PRISM 3130xl un izveidoti automatizēti analīzes protokoli katram marķierim.

Sagatavotas maijā ievākto un pie -80°C uzglabāto vēreņu (*Ribes alpinum*) invadēto un kontroles paraugu NGS bibliotēkas sekvenčēšanai uz DNBSEQ-G400 (ieriekš MGISEQ2000). Nosekvenētas sagatavotās 2019. gada maijā ievākto upeņu (šķirne ‘Mara Eglite’) invadēto un kontroles paraugu 12 NGS bibliotēkas un četras 2019. gada maijā ievākto vēreņu (*Ribes alpinum*) NGS bibliotēkas uz DNBSEQ-G400. Veikta primārā datu statistiskā analīze upeņu paraugu RNA-Seq datiem. Veicot gēnu transkripcijas statistisko analīzi, 1. inficēto augu grupā tika identificēti 573 gēnu transkripti, 2. inficēto augu grupā – 769 gēnu transkripti, bet 3. inficēto augu grupā – 574 gēnu transkripti. Lai atlasītu kandidātģēnus, logFC bāzes līnijas vērtība tika izvēlēta 3. Vadoties pēc šī kritērija 1. grupā ar paaugstinātu ekspresijas līmeni tika atlasīti 10 gēni (*At3g45310*, *NPC1*, *GOLS2*, *CP*, *ZIP10*, *GOLS1*, *PPDK*, *GOLS4*, *PPD*, *STC*), bet ar pazeminātu - trīs gēni (*CHSA*, *CHS*, *CHS1*), 2. grupā paaugstināta ekspresija bija 14 gēniem (*At3g45310*, *NPC1*, *GOLS2*, *CP*, *ZIP10*, *GOLS1*, *PPDK*, *GOLS4*, *PPD*, *O2390*, *PLT5*, *PDR1*, *CAX3*, *SIGE*), bet pazemināta – pieciem (*At1g48100*, *CHSA*, *CHS*, *SKU5*, *P14009*), savukārt 3. grupai paaugstināta ekspresija bija 21 gēnam (*Os08g0191100*, *At1g60710*, *At3g45310*, *O23920*, *MSRB1*, *LWD1*, *NPC1*, *GOLS2*, *NPF3.1*, *ABCC10*, *FDH1*, *PECS-2.1*, *AND1*, *APX3*, *SCE1*, *ABCC3*, *PLT5*, *OPR11*, *CP*, *GOS2*, *UBC9*), bet pazemināta 17 gēniem (*At4g15545*, *matK*, *ndhI*, *psaJ*, *ndhE*, *psbK*, *psbW*, *ART2*, *cemA*, *RRT15*, *ndhG*, *PSBS2*, *CHS*, *RRF*, *ATP6*, *RPS17*, *PSRP3*). Turpinās darbs pie no maijā ievākto un pie -80°C uzglabāto jāņogu (šķirne ‘Kodu Suur Valge’ (‘Hele’)) invadēto un kontroles paraugu NGS bibliotēku sagatavošanas.

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.

Pārskatot un apkopojot informāciju par *Ribes* augu vietējiem ģenētiskajiem resursiem datu bāzēs un kolekcijās, sastādīts konsolidēts un atjaunināts *Ribes* ģenētisko resursu saraksts, kas iesniegts iekļaušanai valsts ģenētisko resursu sistēmā. Turpināta vietējo ģenētisko resursu izvērtēšana. Izveidota otrā gada datu kopa par nesen iegūto, vēl neizvērtēto vietējo *Ribes* genotipu izvērtēšanas rezultātiem. Turpināta ģenētiskajos resursos iekļauto genotipu aprakstīšana pēc RIBESCO deskriptoriem un uzsākta to aprakstīšana pēc EURISCO deskriptoriem. Izstrādāta uzlabota metodoloģija pumpurērcu bojājumu intensitātes un reversijas vērtēšanai lauka apstākļos. Audu kultūru laboratorijā turpināta rūpnieciskiem pētījumiem un ģenētisko resursu kodolkolekcijas izveidošanai nepieciešamo augu saglabāšana un pavairošana *in vitro*.

Par projekta norisi, rezultātiem un vietējas izcelsmes *Ribes* ģenētiskajiem resursiem sagatavotas divas populārzinātniskas publikācijas:

- 1) Moročko-Bičevska I., Stalažs A., Lācis G., Laugale V. (2020) *Ribes* ģints augu, *Cecidophyopsis* pumpurērcu un upeņu reversijas vīrusa izpēte ilgtspējīgai *Ribes* ģints ogulāju rezistences selekcijai un audzēšanai. Zinātniski praktiskās konferences “Līdzsvarota Lauksaimniecība” 20.02.2020., LLU, Jelgava, Latvija rakstu krājums, 120-122.

http://www.lf.llu.lv/sites/lf/files/2020-09/Latvia-lidzsvarota-lauksaimniec_rakstu_krajums_2020.pdf

- 2) Laugale V. (2020) Krūmogulāju ģenētiskie resursi Latvijā, to izpēte un saglabāšana. “Profesionālā Dārzkopība” 3 (13): 20-24.

https://fruittechcentre.eu/sites/default/files/2020-11/Profesionala_DARZKOPIBA_13.pdf

Informācija sagatavota 30.11.2020.