

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

1.1.1.1/18/A/026

Projekta īstenošanas progress (01.09.2019. – 30.11.2019.)

Darbības Nr.1 ietvaros turpināta pumpurērču DNS multiplex PCR amplifikācija, PCR produktu sagatavošana sugu noteikšanai ar fragmentu garumu analīzi (FGA) uz ģenētiskā analizatora. Veikta PCR fragmentu garumu analīze 725 sagatavotajiem pumpurērču DNS multiplekso PCR paraugiem uz ģenētiskā analizatora ABI PRISM 3130xl sugu noteikšanai, papildus tika izveidots automatizēts analīzes protokols alēļu identifikācijai un atasei. Veikta sākotnējā FGA datu analīze un noteiktas pumpurērču sugas ievāktajā materiālā. Turpināta nedestruktīvās elektronu mikroskopijas veidu un parametru piemērotības pārbaude pumpurērču sugu noteikšanai, tālākai nukleīnskābju izdalīšanai no vienas ērces un ērcu sugas un BRV noteikšanai, kā rezultātā izstrādāti optimālākie pielietojuma protokoli. Turpināta BRV RNS izdalīšanas un noteikšanas ar PCR metožu pārbaude un izvērtēšana, kā rezultātā izstrādāts optimālākais pielietojuma protokols tālākam darbam. Veikts teorētiskais darbs pie metodikas izstrādes pumpurērču ITS/5.8S reģiona amplifikācijai un klonēšanai, uzsākta pielietojuma protokolu praktiskā pārbaude laboratorijā.

Darbības Nr.2 ietvaros turpināta *Ribes* augu *Ce* un *P* rezistences gēnu identifikācijas metožu pilnveidošana iepriekšējos projekta posmos atlasītajā *Ribes* augu materiālā, kā arī iesaistot papildu *Ribes* paraugus. Turpināta molekulāro marķieru reakcijas apstākļu modificēšana stabilas gēniem specifisko fragmentu amplifikācijas nodrošināšanai. Atbilstoši projekta uzdevumiem, uzsākta esošās *Ribes* ģenētisko resursu ģenētiskās raksturošanas informācijas atase un apkopošana, esošo genotipēšanas datu izvērtēšana publikācijas manuskripta sagatavošanai. Iegūtā informācija nodrošinās zināšanas par ģenētisko resursu daudzveidību un savstarpējo radniecību. Esošo ģenētisko datu papildināšanai, pārskata periodā veikta zinātniskās literatūras izpēte un molekulāro marķieru (cpSSR jeb hloroplastu mikrosatelītu) atase *Ribes* augu materiāla starpsugu krustojumu struktūras skaidrošanai, ņemot vērā *Ribes* kultivēto augu, sevišķi upeņu sarežģīto izcelsmi un dažādu sugu iesaisti selekcijā, kas var ietekmēt to rezistenci.

Projekta partneris BMC darbības Nr.2 ietvaros turpināja kopējās RNS izdalīšanas optimizācijas eksperimentus no iepriekš ievāktajiem *Ribes* ģints sugu genotipu lapu paraugiem (upeņu šķirne ‘Mara Eglite’, jāņogu šķirne ‘Kodu Suur Valge’ (‘Hele’) un vērenes *Ribes alpinum* savvaļā ievākts genotips), kā arī veica izdalītās RNS, koncentrācijas, kvalitātes un integritātes (RIN) analīzi. Salīdzinot izdalītās RNS koncentrāciju, kvalitāti un RIN dažādos apstākļos uzglabātajiem paraugiem, tika secināts, ka no *RNA later* uzglabātajiem paraugiem pie +4°C un -20°C izdalītā RNS ir gan ar augstāku koncentrāciju, gan RIN, kas ir būtiski kvalitatīvas NGS bibliotēkas sagatavošanā. Savukārt pie -80°C uzglabātajiem paraugiem tika novērots pretējs efekts. Līdz ar to *RNA later* ir izmantojams augu paraugu uzglabāšanai pie augstākām temperatūrām. Izstrādātas optimālākās RNS izolēšanas metodes no *Ribes* ģints augu paraugiem – atlasot katram ģints sugas pārstāvim piemērotāko lizēšanas matriksu, optimālāko PVP koncentrāciju un izdalīšanas komplektu. Optimizētie RNS izdalīšanas apstākļi tiks izmantoti invadēto paraugu RNS izdalīšanai NGS bibliotēku sagatavošanai.

Turpināta esošo zināšanu apkopošana par *Ribes/Cecidophyopsis*/BRV savstarpējo mijiedarbību, apkopojot gan literatūrā publicēto zinātnisko informāciju, gan agrāk iegūtos

novērojumu rezultātus *Ribes* kolekciju izvērtēšanā Dārzkopības institūtā un uzsākta apkopojoša raksta sagatavošana. Turpināta datu uzskaitē un genotipu aprakstīšana pēc RIBESCO deskriptoriem *Ribes* ģenētisko resursu DI lauka kolekcijās Dobelē un Pūrē, lai varētu atlasīt vērtīgākos genotipus iekļaušanai nacionālajā ģenētisko resursu saglabāšanas datu bāzē un starptautiskajās datubāzēs. Uzsākta datu apkopošana par 2019. gada sezonu. Turpināts darbs pie novērtēšanas metožu pilnveides sadarbībā ar virusoloģijas un entomoloģijas speciālistiem. Veikta rūpnieciskiem pētījumiem nepieciešamo un izvēlēto vērtīgāko vietējās izcelsmes genotipu pavairošana un uzturēšana *in vitro*.

Par projekta norisi un sasniegtajiem rezultātiem informēti interesenti Eiropas zinātnieku nakts ietvaros, kur Dārzkopības institūta Augu patoloģijas un entomoloģijas laboratorijās populārzinātniskā veidā stāstīts par *Cecidophyopsis* pumpurērcēm, upeņu reversijas vīrusu un *Ribes* ģints augiem, tika rādīta plakāta prezentācija, kā arī tika nodrošinātas praktiskas demonstrācijas ērcu iepazīšanai. Informācija par informatīvajām aktivitātēm publicēta Dārzkopības institūta [Facebook](#) vietnē.



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

Projekta identifikācijas nr.: 1.1.1.1/18/A/026
Projekta izpildes termiņš: 2019. gada 1. marts – 2022. gada 28. februāris
Projekta kopējais finansējums: 522 994,99 EUR
Projekta zinātniskais vadītājs: Ph.D. Inga Morozko-Bilevska (Dārzkopības institūts)
Galvenie izpildītāji: Dr. agr. Arturs Stalts, Mg. biol. Neda Zūle, Ph.D. Gunārs Lācis, Dr. agr. Valdis Laugulis (Dārzkopības institūts)
Projekta partneris: Dr. biol. Ina Balke (Latvijas Biomedicīnas Pētījumu un Studiju Centrs)

Projekta kopasvilkums

Ilgtspējīga ģints *Ribes* augu audzēšana būs ietekmēta *Cecidophyopsis* ērces un upeņu reversijas vīrusa (RRV). Selekcijas programmas koncentrējas tikai uz *Cecidophyopsis* rībi un diviem rezistences ģenotipiem. Pētījumi parādā, ka arī citas *Cecidophyopsis* sugas ir plaši izplatītas, tā ietekmējot atbilstošās saimniecības rezistences pretvīrusus.

Projekta mērķis ir skaidrot *Cecidophyopsis*-RRV kompleksa mijiedarbību ar *Ribes* ģints augiem:

- 1) izpētīt *Cecidophyopsis* augu koncepciju un ģenētisko daudzveidību;
- 2) noskaidrot *Cecidophyopsis* sugas tīmu RRV plūsmu;
- 3) raksturojot rezistences reakcijas uz *Cecidophyopsis* un RRV, izmantojot NGS, ģenotipu ekspresiju un transkriptu analīzi;
- 4) izvērtējot un inventarizējot vietējo *Ribes* ģenofonu.

Iegūtās zināšanas, izvērtējot vietējo ģenofonu un vietējo genotipu vīrusu RRV *in vitro* kolekcija kalpo par bāzi ilgtspējīgai *Ribes* augu rezistences selekcijai un audzēšanai, sekmējot uz zināšanu balstītu lauksaimniecību.

Projekta īstenošana sniegs jaunus zināšanas ilgtspējīgai *Ribes* augu rezistences selekcijai un audzēšanai, veicinot pētījumu publikāciju skaitu starptautiskajās recenzējamajās žurnālos un attīstot zinātnisko kapacitāti lauksaimniecības un iestāžu entomoloģijā. Izpildītāji ir valsts pētītājus institūti, kas garantē rezultātu publikāciju pieejamību (zinātniskās publikācijas, ziņojumi zinātniskās konferences) un zināšanu izplatīšanu nozarei (populārzinātniskās publikācijas, prezentācijas semināros, informācija publikācijās datubāzēs). Projekts nodrošinās turpinājumu iesāktiem pētījumiem par *Cecidophyopsis* ērces un RRV un, sadarbības ar šādu institūciju, veicinot progresīvo pētījumu augu ģenētiskā, patoloģiskā, molekulārā bioloģijā un vides paraugu metagenomiskajā analīzē, nodrošinot pamatu recenzēto publikāciju sagatavošanai.

Ar vīrusu sīma upeņu. Normāls zieds (ap) un vīrusa ietekmētais zieds "tukšais zieds" (tūkstāns)

Programma Apvēršenis 2020
Apvēršenis 2020 projekts Nr. 819129
DĀRZKOPĪBAS INSTITŪTS
LABAKAS-NO-LABĀKA
BMC
Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs
Centrs ir pieņemts un atbalsta no ģenētiskās izpēti

Informācija sagatavota 28.11.2019.