

**„Efektīvu augļaugu atveseļošanas paņēmieni un jaunu patogēnu diagnostikas komponentu izstrāde vīrusbrīva stādāmā materiāla iegūšanai”**

**ERAF projekts Nr. 2010/0261/2DP/2.1.1.1.0/10/APIA/VIAA/155**

**Projekta vadītāja:** Inga Moročko - Bičevska

**Realizācija:** 2011.gada 3.janvāris - 2013.gada 31.decembris

**Projekta mērķis** – izstrādājot efektīvus augļaugu atveseļošanas paņēmienus un jaunas patogēnu diagnostikas komponentes, izveidots un ieviests praksē vīrusbrīva, sertificēta augļaugu pavairojamā materiāla audzēšanas sistēmas pamatposms – etalonaugu kolekcijas.

**Paredzētās aktivitātes:**

- 1) Tehniski ekonomiskā pamatojuma izstrāde un projekta ieviešanas alternatīvu izvērtējums;
- 2) Ietekmējošo faktoru izpēte un analīze inovatīvu augļaugu atveseļošanas paņēmieni un patogēnu diagnostikas komponentu izstrādei;
- 3) Inovatīvu augļaugu atveseļošanas un patogēnu diagnostikas komponentu ieguves paņēmieni eksperimentāla izstrāde;
- 4) Pētniecības rezultātu publiskas pieejamības nodrošināšana;
- 5) Rūpnieciskā īpašuma tiesību nostiprināšana.

**Projekta īstenošanas rezultātā** tiks izstrādāti trīs inovatīvi paņēmieni augļaugu atveseļošanai, pavairošanai un patogēnu diagnostikas komponentu ieguvei, kuru īpašumtiesības tiks aizsargātas ar LR patentiem, kā arī būs izstrādātas seroloģiskā testa pamatkomponentes – poliklonālās antivielas, kas nodrošinās papildus iespējas vīrusu diagnostikai. Par pētījumu rezultātiem tiks sagatavotas un publicētas starptautiski atzītas zinātniskas publikācijas. Projekta noslēgumā būs izveidotas augļaugu etalonaugu kolekcijas, kas kalpos kā pamats vīrusbrīva, sertificēta stādmateriāla sistēmas ieviešanai valstī.

Projekts tiks īstenots, sadarbojoties LV Augļkopības institūtam (projekta iesniedzējs) ar APP ”Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs” (sadarbības partneris).

**1.pārskata periodā veiktās aktivitātes un sasniegtie rezultāti**

**1.aktivitāte: Tehniski ekonomiskā pamatojuma izstrāde un projekta ieviešanas alternatīvu izvērtējums**

Pārskata periodā izstrādāts tehniski ekonomiskais pamatojums un izvēlēta projekta ieviešanas efektīvākā alternatīva

**2.aktivitāte: Ietekmējošo faktoru izpēte un analīze inovatīvu augļaugu atveseļošanas paņēmieni un patogēnu diagnostikas komponentu izstrādei**

IUzsākta jaunākās literatūras izpēte par:

- 1) Upeņu reversijas vīrusa (BRV) ģenētisko daudzveidību un noteikšanas metodēm;



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ!



- 2) Aveņu pundurainības vīrusa (RBDV) celmu ģenētisko daudzveidību un noteikšanas metodēm;
- 3) RBDV rezistences gēna *Bu* identificēšanas iespējām *Rubus* ģints šķirnēs;
- 4) Upeņu reversijas vīrusa (BRV) R un E formu noteikšanu *Ribes* ģints augos;
- 5) Upeņu reversijas vīrusa (BRAV) molekulāro un strukturālo bioloģiju.

#### II Uzākta un veikta:

- 1) Dažādu DNS ekstrakcijas metožu no *Ribes* ģ. augiem pārbaudi ar mērķi izvēlēties efektīvāko;
- 2) Upeņu reversijas vīrusa (BRV) molekulārās diagnostikas metodes One step RT-PCR adaptācija pētījumu laboratorijas apstākļos;
- 3) BRV bioloģiskā vektora *Cecidophyopsis* ģints pumpurērču sugu un Latvijas populācijas daudzveidības noteikšana un raksturošana;
- 4) metodes adaptācija upeņu kopējās RNS izolēšanai no inficētiem augiem, un salīdzināšana ar komerciāli pieejamajiem RNS izdalīšanas reaģentu komplektiem.

Informācija apkopota 14.03.2011.

### **2.pārskata periodā veiktās aktivitātes un sasniegtie rezultāti**

#### **2.aktivitāte: Ietekmējošo faktoru izpēte un analīze inovatīvu auglaugu atveseļošanas paņēmieni un patogēnu diagnostikas komponentu izstrādei**

##### ITurpināta/uzākta jaunākās literatūras izpēte par:

- 1) Upeņu reversijas vīrusa (BRV) ģenētisko daudzveidību un noteikšanas metodēm;
- 2) Aveņu pundurainības vīrusa (RBDV) celmu ģenētisko daudzveidību un noteikšanas metodēm;
- 3) RBDV rezistences gēna *Bu* identificēšanas iespējām *Rubus* ģints šķirnēs;
- 4) Upeņu reversijas vīrusa (BRV) R un E formu noteikšanu *Ribes* ģints augos;
- 5) Upeņu reversijas vīrusa (BRAV) molekulāro un strukturālo bioloģiju;
- 6) SSR marķieru kopu pielietošanas iespējām somaklonālās mainības noteikšanai ābelēs un bumbierēs pēc *in vitro* pavairošanas un atveseļošanas pasākumiem.

##### II Turpināta/uzākta:

- 1) BRV molekulārās diagnostikas metodes One step RT-PCR adaptācija pētījumu laboratorijas apstākļos un uzākta paraugu analīze;
- 2) BRV bioloģiskā vektora *Cecidophyopsis* ģints pumpurērču sugu un Latvijas populācijas daudzveidības noteikšana un raksturošana;
- 3) BRV CP gēna pilnās kopijas klonēšanas eksperimenti baktēriju *E.coli* un raugu *S.cerevisiae* ekspresijas vektoros ar mērķi iegūt mākslīgus BRV virionus (VLP) no mikroorganismu šūnām.

Informācija apkopota 14.06.2011.

### **3.pārskata periodā veiktās aktivitātes un sasniegtie rezultāti**

#### **2.aktivitāte: Ietekmējošo faktoru izpēte un analīze inovatīvu auglaugu atveseļošanas paņēmieni un patogēnu diagnostikas komponentu izstrādei**



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ!



### 2.1. Turpināta jaunākās literatūras izpēte par:

- 1) Aveņu vīrusu izplatību pasaulē un to ģenētisko daudzveidību, kā arī to kontroli, kas pamatojas uz vīrusu bioloģijas izpēti un diagnostikas metožu validāciju;
- 2) Par sakarībām starp *Cecidophyopsis* ģ. pumpurērču sugu sastāvu un *Ribes* ģ. augu rezistenci;
- 3) Mikrosatelītu marķieru pielietojuma iespējām augu somaklonālās mainības noteikšanai;
- 4) Apkopota pieejamā zinātniskā informācija par BRV attīrīšanu no inficētiem augiem preparatīvos daudzumos.

### 2.3. Turpināta/uzsākta:

- 1) Upeņu reversijas vīrusa (BRV) R un E formu ģenētiskā raksturošana *Ribes* ģints augos;
- 2) Turpināta *Cecidophyopsis* ģints pumpurērču sugu un Latvijas populācijas daudzveidības noteikšana un raksturošana, izmantojot fragmentu garuma analīzi ar ģenētisko analizatoru.

### 2.4. Pārskata periodā veikts:

- 1) Uzsākta vīrusu diagnostika un pētījumiem piemērotu ābeļu, bumbieru, aveņu un upeņu kandidātaugu atlase;
- 2) Uzsākta ābeļu un bumbieru atveseļošana, izmantojot termoterapiju un tās ietekmes izvērtējumu uz vīrusu eliminācijas efektivitāti.

### 2.5. Pārskata periodā:

- 1) Uzsākta BRV virionu attīrīšanas protokola izstrāde no inficēta augu materiāla;
- 2) Pārbaudīta iespēja iegūt BRV preparātus tieši no inficētām upenēm, bez laboratorija testaugu inficēšanas etapa;
- 3) Klonētas BRV virsmas proteīna gēna pilnās kopijas dažādos un uzsāktas ekspresijas sistēmu pārbaudes.

## **4. aktivitāte. Pētniecības rezultātu publiskas pieejamības nodrošināšana**

Sagatavoti un iesniegti publicēšanai 3 zinātnisko rakstu manuskripti

Informācija apkopota 30.09.2011.

## **4. pārskata periodā veiktās aktivitātes un sasniegtie rezultāti**

### **2. aktivitāte: Ietekmējošo faktoru izpēte un analīze inovatīvu augļaugu atveseļošanas paņēmieni un patogēnu diagnostikas komponentu izstrādei**

#### 2.1. Turpināta jaunākās literatūras izpēte par:

- 1) RBDV rezistences gēna Bu identificēšanas iespējas *Rubus* ģints augos;
- 2) *Cecidophyopsis* ģ. un citas maurērces uz *Ribes* ģ. augiem.

2.2. uzsākta marķieru pielietojuma pārbaude Latvijas ābeļu un bumbieru genotipiem un pielietojuma metožu adaptācija.

#### 2.3. Turpināta/uzsākta:

- 1) RBDV diagnostikas metožu (RT-PCR) adaptācija.;
- 2) Turpināta BRV bioloģiskā vektora *Cecidophyopsis* ģints pumpurērču sugu noteikšana, izmantojot fragmentu garuma analīzi ar ģenētisko analizatoru;

#### 2.5. Pārskata periodā:



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ!



- 1) veiktas dažādu ekspresijas vektoru pārbaudes dažādos *E.coli* un *S.cerevisiae* celmos.;
- 2) veikta kultivēšanas apstākļu pārbaude;
- 3) veikta BRV vīrusiem līdzīgo daļiņu (VLP) veidošanās noteikšana.

### **3.aktivitāte. Inovatīvu augļaugu atveseļošanas un patogēnu diagnostikas komponentu ieguves paņēmieni eksperimentāla izstrāde.**

#### **3.3.Pārskata priodā uzsākta:**

- 1) BRV līdzīgo daļiņu attīrīšanas protokola izstrāde;
- 2) Laboratorijas dzīvnieku imunizācijas eksperimenti.

### **4.aktivitāte. Pētniecības rezultātu publiskas pieejamības nodrošināšana**

Sagatavoti un iesniegti publicēšanai zinātnisko rakstu manuskripti.

*Informācija apkopota 14.02.2012.*

## **5.pārskata periodā veiktās aktivitātes un sasniegtie rezultāti**

### **2.aktivitāte: Ietekmējošo faktoru izpēte un analīze inovatīvu augļaugu atveseļošanas paņēmieni un patogēnu diagnostikas komponentu izstrādei**

#### **2.1.Turpinātas/uzsāktas teorētiskās studijas par:**

- 1) *Cecidophyopsis* ģints pumpurērcu galvenajiem vektoriem Latvijā;
- 2) *In vitro* pavairošanas tehnoloģiju parametru ietekmi uz augu somaklonālo mainību;
- 3) *In vitro* pavairošanas tehnoloģiju parametru ietekme uz vīrusu eliminācijas efektivitāti.

#### **2.2.Turpināts/uzsākts darbs pie:**

- 1) Marķieru pielietojuma pārbaudes Latvijas ābeļu un bumbieru genotīpiem un metožu adaptācijas;
- 2) Dažādu ārējo faktoru un eksplantu izmēru ietekmes izvērtējuma uz ābeļu un bumbieru augu iniciāciju *in vitro*, proliferāciju un rizoģenēzi un optimālo kombināciju definēšanas.

#### **2.3.Turpināts/uzsākts darbs pie:**

- 1) BRV R un E formu ģenētiskās raksturošanas *Ribes* ģints augos.

#### **2.4.Turpināts/uzsākts darbs pie:**

- 1) Dažādu paņēmieni, to parametru un dažādu kombināciju ietekmes izvērtējuma uz vīrusu eliminācijas efektivitāti *in vivo*;
- 2) Dažādu paņēmieni, to parametru un dažādu kombināciju ietekmes izvērtējuma uz vīrusu eliminācijas efektivitāti *in vitro*.

#### **2.5. Pārskata periodā:**

- 1) veiktas ekspresijas vektoru pārbaudes dažādos *E.coli* un *S.cerevisiae* celmos un kultivēšanas apstākļu optimizācija.

### **3.aktivitāte. Inovatīvu augļaugu atveseļošanas un patogēnu diagnostikas komponentu ieguves paņēmieni eksperimentāla izstrāde.**

**3.3. Pārskata periodā turpināts/uzsākts darbs pie:** 1) Laboratorijas dzīvnieku imunizācijas eksperimentiem; 2) BRV attīrīšanas protokola izstrādes.

#### **4. aktivitāte. Pētniecības rezultātu publiskas pieejamības nodrošināšana**

Par pētījumu gaitā iegūtajiem rezultātiem ziņots 2 zinātniskās konferencēs un publicētas 1 konferenču tēzes.

*Informācija apkopota 14.06.2012.*

### **6. pārskata periodā veiktās aktivitātes un sasniegtie rezultāti**

#### **2. aktivitāte: Ietekmējošo faktoru izpēte un analīze inovatīvu augļaugu atveseļošanas paņēmieni un patogēnu diagnostikas komponentu izstrādei**

##### **2.1. Turpinātas teorētiskās studijas par:**

- 1) Sakarībām starp *Cecidophyopsis* ģ. pumpurērču sugu sastāvu un *Ribes* ģ. augu rezistenci;
- 2) Kopējo maurērču faunu uz jāņogu ģints un citiem augiem Latvijā.

##### **2.2. Turpināts/uzsākts darbs pie:**

- 1) Atlasīto marķieru pielietojuma pārbaudes Latvijas ābeļu un bumbieru genotipiem un metožu adaptācijas;
- 2) Dažādu ārējo faktoru un eksplantu izmēru ietekmes izvērtējuma uz ābeļu un bumbieru augu iniciāciju *in vitro*, proliferāciju un rizoģenēzi un optimālo kombināciju definēšanas;
- 3) Somoklonālās mainības pakāpes izvērtējums *in vitro* augu materiālā atkarībā no dažādiem ārējiem faktoriem un eksplantu izmēriem.

##### **2.4. Turpināts/uzsākts darbs pie:**

- 1) Vīrusu diagnostikas un pētījumiem piemērotu ābeļu, bumbieru, aveņu un upeņu kandidātaugu atlases;
- 2) Dažādu paņēmieni, to parametru un dažādu kombināciju ietekmes izvērtējuma uz vīrusu eliminācijas efektivitāti *in vivo*;
- 3) Dažādu paņēmieni, to parametru un dažādu kombināciju ietekmes izvērtējuma uz vīrusu eliminācijas efektivitāti *in vitro*.

##### **2.5. Pārskata periodā:**

- 1) Turpināti eksperimenti ar mērķi atrast optimālo ekspresijas sistēmu BRV VLP iegūšanai; 2) Pārbaudīta CP veidošanās bezšūnu sintēzes apstākļos un konstruēts vektors šim mērķim.

#### **3. aktivitāte. Inovatīvu augļaugu atveseļošanas un patogēnu diagnostikas komponentu ieguves paņēmieni eksperimentāla izstrāde.**

##### **3.3. Pārskata periodā turpināts darbs pie:**

- 1) Laboratorijas dzīvnieku imunizācijas eksperimentiem;
- 2) BRV attīrīšanas protokola izstrādes.

##### **3.4. Uzsākts darbs pie:**

- 1) Atveseļošanas shēmā ievadīto kandidātaugu testēšanas, izmantojot klasisko indikatoraugu metodi;
- 2) Atveseļošanas shēmā ievadīto ābeļu un bumbieru kandidātaugu testēšanas un atveseļošanas, izmantojot rūpnieciskajos pētījumos un eksperimentālajā izstrādē apgūtās zināšanas, metodes un paņēmienus;
- 3) Izmantojot rūpnieciskajos pētījumos un eksperimentālajā izstrādē apgūtās zināšanas, metodes un paņēmienus aveņu un upeņu šķirņu testēšanas un atveseļošanas.

#### **4.aktivitāte. Pētniecības rezultātu publiskas pieejamības nodrošināšana**

Par pētījumu gaitā iegūtajiem rezultātiem ziņots 2 starptautiskās zinātniskās konferencēs un publicētas 2 konferenču tēzes.

*Informācija apkopota 05.11.2012.*

#### **7.pārskata periodā veiktās aktivitātes un sasniegtie rezultāti**

#### **2.aktivitāte: Ietekmējošo faktoru izpēte un analīze inovatīvu augļaugu atveseļošanas paņēmieni un patogēnu diagnostikas komponentu izstrādei**

##### 2.1. Turpinātas teorētiskās studijas par:

- 1) mikrosatelītu (SSR) un citu marķieru kopu pielietojuma iespējām somaklonālās mainības noteikšanai ābelēs un bumbierēs pēc *in vitro* pavairošanas un atveseļošanas pasākumiem;
- 2) sakarībām starp *Cecidophyopsis* ģ. pumpurērču sugu sastāvu un *Ribes* ģ. augu rezistenci.

##### 2.2. Turpināts/uzsākts darbs pie:

- 1) Atlasīto marķieru pielietojuma pārbaudes Latvijas ābeļu un bumbieru genotipiem un metožu adaptācijas;
- 2) Dažādu ārējo faktoru un eksplantu izmēru ietekmes izvērtējuma uz ābeļu un bumbieru augu iniciāciju *in vitro*, proliferāciju un rizoģenēzi un optimālo kombināciju definēšanas;
- 3) Somaklonālās mainības pakāpes izvērtējuma *in vitro* augu materiālā atkarībā no dažādiem ārējiem faktoriem un eksplantu izmēriem.

##### 2.3. Turpināts/ uzsākts darbs pie:

- 1) RBDV S RB un B celmu ģenētiskās raksturošanas;
- 2) BRV R un E formu ģenētiskās raksturošanas *Ribes* ģints augos.

##### 2.4. Turpināts/uzsākts darbs pie:

- 1) Dažādu paņēmieni, to parametru un dažādu kombināciju ietekmes izvērtējuma uz vīrusu eliminācijas efektivitāti *in vivo*;
- 2) Dažādu paņēmieni, to parametru un dažādu kombināciju ietekmes izvērtējuma uz vīrusu eliminācijas efektivitāti *in vitro*.

2.5. Turpināts darbs pie eksperimentiem ar mērķi atrast optimālo ekspresijas sistēmu BRV VLP iegūšanai.

#### **3.aktivitāte. Inovatīvu augļaugu atveseļošanas un patogēnu diagnostikas komponentu ieguves paņēmieni eksperimentāla izstrāde.**

##### 3.1. Pārskata periodā uzsākts darbs pie:

- 1) Rūpnieciskajā pētījumā definēto optimālo ārējās vides parametru un eksplantu izmēru un SSR marķieru kopas kombināciju testēšanas visos augļaugu *in-vitro* pavairošanas posmos un apstākļos, kas modelēti kā komerciālas *in vitro* pavairošanas laboratorijā.

##### 3.2. Pārskata periodā turpināts darbs pie:

- 1) Inficēto aveņu un upeņu *in vitro* kultūru dažādu augšanas vides parametru kombināciju testēšanas un precizēšanas, panākot ārējās vides apstākļu un antivirālo preparātu sinerģisku mijiedarbību efektīvai RBDV, BRV un citu vīrusu eliminācijai;
- 2) Inficēto augļkoku komercšķirņu un klonaudžu potcelmu mikrospaužu *in vitro* un *in vivo* dažādu augšanas vides parametru kombināciju testēšana un precizēšana.

### 3.3. Turpināts/ uzsākts darbs pie:

- 1) BRV attīrīšanas preparatīvos daudzumos;
- 2) Laboratorijas dzīvnieku imunizācijas eksperimentiem.

### 3.4. Turpināts/ uzsākts darbs pie:

- 1) Atvaseļošanas shēmā ievadīto kandidātaugu testēšanas saskaņā ar spēkā esošo standartu obligātajām prasībām, izmantojot klasisko indikatoraugu metodi;
- 2) Atvaseļošanas shēmā ievadīto ābeļu un bumbieru kandidātaugu testēšanas un atvaseļošanas, izmantojot rūpnieciskajos pētījumos un eksperimentālajā izstrādē apgūtās zināšanas, metodes un paņēmienus;
- 3) Izmantojot rūpnieciskajos pētījumos un eksperimentālajā izstrādē apgūtās zināšanas, metodes un paņēmienus testētas un atvaseļotas aveņu un upeņu šķirnes;
- 4) Ābeļu, bumbieru, aveņu un upeņu etalonaugu (ciltsaugu) un bāzes materiāla eksperimentālo kolekciju izveides.

Informācija apkopota 28.02.2013.

## **8.pārskata periodā veiktās aktivitātes un sasniegtie rezultāti**

### **2.aktivitāte: Ietekmējošo faktoru izpēte un analīze inovatīvu augļaugu atvaseļošanas paņēmieni un patogēnu diagnostikas komponentu izstrādei**

#### **2.1.apakšaktivitāte**

Turpinātas teorētiskās studijas par:

- 1) sakarībām starp *Cecidophyopsis* ģ. pumpurērču sugu sastāvu un *Ribes* ģ. augu rezistenci .

#### **2.2.apakšaktivitāte**

Turpināts darbs pie:

- 1) Atlasīto marķieru pielietojuma pārbaudes Latvijas ābeļu un bumbieru genotipiem un metožu adaptācijas; 2) Dažādu ārējo faktoru un eksplantu izmēru ietekmes izvērtējuma uz ābeļu un bumbieru augu iniciāciju *in vitro*, proliferāciju un rizoģenēzi un optimālo kombināciju definēšanas;

#### **2.3.apakšaktivitāte**

Turpināts/uzsākts darbs pie:

- 1) *Cecidophyopsis* ģints pumpurērču sugu noteikšanas un metodes uzlabošanas;
- 2) RBDV S RB un B celmu ģenētiskās raksturošanas;
- 3) BRV R un E formu ģenētiskās raksturošanas *Ribes* ģints augos;
- 4) RBDV rezistences gēna *Bu* noteikšanas Latvijā audzētajās un selekcionētajās *Rubus* ģ. šķirnēs.

#### **2.4.apakšaktivitāte**

Turpināts/uzsākts darbs pie:

- 1) Dažādu paņēmieni, to parametru un dažādu kombināciju ietekmes izvērtējuma uz vīrusu eliminācijas efektivitāti *in vivo*; 2) Dažādu paņēmieni, to parametru un dažādu kombināciju ietekmes izvērtējuma uz vīrusu eliminācijas efektivitāti *in vitro*;
- 3) Dažādu vīrusu eliminācijas paņēmieni *in vivo*, to parametru un kombināciju ietekmes izvērtējums uz augļkoku somaklonālās mainības attīstību.

#### **2.5.apakšaktivitāte**

Turpināti eksperimenti ar mērķi atrast optimālo ekspresijas sistēmu BRV VLP iegūšanai.

### **3.aktivitāte. Inovatīvu augļaugu atveseļošanas un patogēnu diagnostikas komponentu ieguves paņēmieni eksperimentāla izstrāde.**

#### **3.3.apakšaktivitāte**

Turpināts/ uzsākts darbs pie:

- 1) Laboratorijas dzīvnieku imunizācijas eksperimentiem;
- 2) eksperimentu sērijas ar mērķi noskaidrot iegūto antivielu piemērotību inficētu upeņu lapu analīzēm.

#### **3.4.apakšaktivitāte**

Turpināts/ uzsākts darbs pie:

- 1) Atveseļošanas shēmā ievadīto kandidātaugu paralēlas testēšanas, izmantojot klasisko indikatoraugu metodi;
- 2) Atveseļošanas shēmā ievadīto ābeļu un bumbieru kandidātaugu testēšanas un atveseļošanas, izmantojot rūpnieciskajos pētījumos un eksperimentālajā izstrādē apgūtās zināšanas, metodes un paņēmienus;
- 3) Izmantojot rūpnieciskajos pētījumos un eksperimentālajā izstrādē apgūtās zināšanas, metodes un paņēmienus testētas un atveseļotas aveņu un upeņu šķirnes.

### **5.aktivitāte. Rūpnieciskā īpašuma tiesību nostiprināšana.**

Veikta patentu datu bāzu izpēte un informācijas atjaunošana, un veikta prasību izpēte patentu pieteikumu sagatavošanai.

*Informācija apkopota 14.06.2013.*

## **9.pārskata periodā veiktās aktivitātes un sasniegtie rezultāti**

### **2.aktivitāte: Ietekmējošo faktoru izpēte un analīze inovatīvu augļaugu atveseļošanas paņēmieni un patogēnu diagnostikas komponentu izstrādei**

#### **2.1.apakšaktivitāte**

Noslēgtas teorētiskās studijas par:

- 1) Sakarībām starp *Cecidophyopsis* ģ. pumpurērču sugu sastāvu un *Ribes* ģ. augu rezistenci; 2) *Cecidophyopsis* ģ. pumpurērču ģenētisko daudzveidību un filoģenēzi.

#### **2.2.apakšaktivitāte**

Noslēgts darbs pie:

- 1) Dažādu ārējo faktoru un eksplantu izmēru ietekmes izvērtējuma uz augu iniciāciju *in vitro*, proliferāciju un rizoģenēzi un veikta optimālo kombināciju definēšana;
- 2) Somoklonālās mainības pakāpes izvērtējuma *in vitro* augu materiālā atkarībā no dažādiem ārējiem faktoriem un eksplantu izmēriem.

#### **2.3.apakšaktivitāte**

Noslēgts darbs pie:

- 1) *Cecidophyopsis* ģints pumpurērču sugu noteikšanas, izmantojot fragmentu garuma analīzi, metodes precizēšanas un daudzveidības noteikšanas;
- 2) RBDV S RB un B celmu ģenētiskās raksturošanas;
- 3) BRV R un E formu ģenētiskās raksturošanas *Ribes* ģints augos;
- 4) RBDV rezistences gēna *Bu* noteikšanas Latvijā audzētajās un selekcionētajās *Rubus* ģ. šķirnēs.



#### **2.4.apakšaktivitāte**

Noslēgts darbs pie:

- 1) Dažādu paņēmienu, to parametru un dažādu kombināciju ietekmes izvērtējuma uz vīrusu eliminācijas efektivitāti *in vitro*;
- 2) Dažādu vīrusu eliminācijas paņēmienu *in vivo*, to parametru un kombināciju ietekmes izvērtējums uz augļkoku somaklonālās mainības attīstību.

### **3.aktivitāte. Inovatīvu augļaugu atveseļošanas un patogēnu diagnostikas komponentu ieguves paņēmienu eksperimentāla izstrāde.**

#### **3.1.apakšaktivitāte**

Uzsākts darbs pie rūpnieciskajā pētījumā definēto optimālo ārējās vides parametru, eksplantu izmēru un marķieru kopas kombināciju testēšanas visos augļaugu *in-vitro* pavairošanas posmos.

#### **3.2.apakšaktivitāte**

Uzsākts darbs pie:

- 1) Inficēto aveņu un upeņu *in vitro* kultūru dažādu augšanas vides parametru kombināciju testēšanas efektīvai vīrusu eliminācijai;
- 2) Inficēto augļkoku komercšķirņu un klonaudžu potcelmu *in vitro* un *in vivo* dažādu augšanas vides parametru kombināciju testēšana un precizēšana efektīvai patogēnu eliminācijai;
- 3) Termostabilu vīrusu eliminācijas un augļaugu atveseļošanas paņēmienu konceptuālas definēšanas un detalizētas tehniskās dokumentācijas sagatavošanas.

#### **3.3.apakšaktivitāte**

Turpināts/ uzsākts darbs pie:

- 1) Eksperimentiem ar mērķi atrast efektīvu ekspresijas sistēmu BRV vīrusiem līdzīgo daļiņu iegūšanai, izmantojot alternatīvu ekspresijas sistēmu, kura ir balstīta uz raugu šūnām *Pichia pastoris*;
- 2) Iegūto antivielu pārbaudes imunoblotu eksperimentu apstākļos;
- 3) Eksperimentu sērijas ar mērķi noskaidrot iegūto antivielu piemērotību inficētu upeņu lapu ELISA un „immunocapture” RT-PCR analīzēm.

#### **3.4.apakšaktivitāte**

Turpināts/ uzsākts darbs pie:

- 1) Atveseļošanas shēmā ievadīto kandidātaugu paralēlas testēšanas, izmantojot klasisko indikatoraugu metodi;
- 2) Atveseļošanas shēmā ievadīto ābeļu un bumbieru kandidātaugu testēšanas un atveseļošanas, izmantojot rūpnieciskajos pētījumos un eksperimentālajā izstrādē apgūtās zināšanas, metodes un paņēmienus;
- 3) Izmantojot rūpnieciskajos pētījumos un eksperimentālajā izstrādē apgūtās zināšanas, metodes un paņēmienus testētas un atveseļotas aveņu un upeņu šķirnes; 4) Ābeļu, bumbieru, aveņu un upeņu etalonaugu un bāzes materiāla eksperimentālo kolekciju izveides.

### **4.aktivitāte. Pētniecības rezultātu publiskas pieejamības nodrošināšana**

Par pētījumu rezultātiem ziņots starptautiskā konferencē, publicētas tēzes.

*Informācija apkopota 14.10.2013.*

## **10.pārskata periodā veiktās aktivitātes un sasniegtie rezultāti**



**IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ!**



### **3.aktivitāte. Inovatīvu augļaugu atveseļošanas un patogēnu diagnostikas komponentu ieguves paņēmieni eksperimentāla izstrāde.**

#### **3.1.apakšaktivitāte**

Turpināts un pabeigts darbs pie:

- 1) Rūpnieciskajā pētījumā definēto optimālo ārējās vides parametru (barības vielu un vides apstākļu), eksplantu izmēru un SSR marķieru kopas kombināciju testēšanas visos augļaugu *in-vitro* pavairošanas posmos un apstākļos, kas modelēti kā komerciālas *in vitro* pavairošanas laboratorijā;
- 2) Augļkoku somaklonālās mainības samazināšanas un agrīnas diagnostikas *in-vitro* materiālā paņēmiena novērtēšanas un tehnisko parametru precizēšanas;
- 3) Augļkoku somaklonālās mainības samazināšanas un agrīnas diagnostikas *in-vitro* materiālā paņēmiena konceptuālas definēšanas un detalizētas tehniskās dokumentācijas sagatavošanas.

#### **3.2.apakšaktivitāte**

Turpināts un pabeigts darbs pie:

- 1) Inficēto aveņu un upeņu *in vitro* kultūru dažādu augšanas vides parametru kombināciju testēšanas un precizēšanas;
- 2) Inficēto augļkoku komercšķirņu un klonaudžu potcelmu mikrospraudeņu *in vitro* un *in vivo* dažādu augšanas vides parametru kombināciju testēšanas un precizēšanas;
- 3) Termostabilu vīrusu eliminācijas un augļaugu atveseļošanas paņēmiena novērtēšanas un tehnisko parametru precizēšanas;
- 4) Termostabilu vīrusu eliminācijas un augļaugu atveseļošanas paņēmiena konceptuālas definēšanas un detalizētas tehniskās dokumentācijas sagatavošanas.

#### **3.4.apakšaktivitāte**

Turpināts un pabeigts darbs pie:

- 1) Atveseļošanas shēmā ievadīto kandidātaugu paralēlas testēšanas, saskaņā ar spēkā esošo standartu obligātajām prasībām izmantojot klasisko indikatoraugu metodi;
- 2) Atveseļošanas shēmā ievadīto ābeļu un bumbieru kandidātaugu testēšanas un atveseļošanas, izmantojot rūpnieciskajos pētījumos un eksperimentālajā izstrādē apgūtās zināšanas, metodes un paņēmienus;
- 3) Izmantojot rūpnieciskajos pētījumos un eksperimentālajā izstrādē apgūtās zināšanas, metodes un paņēmienus testētas un atveseļotas aveņu un upeņu šķirnes;
- 4) Ābeļu, bumbieru, aveņu un upeņu etalonaugu (ciltsaugu) un bāzes materiāla eksperimentālo kolekciju izveides.

### **4.aktivitāte. Pētniecības rezultātu publiskas pieejamības nodrošināšana**

Publicētas, iesniegtas un sagatavotas iesniegšanai 5 zinātniskās publikācijas.

### **5.aktivitāte. Rūpnieciskā īpašuma tiesību nostiprināšana.**

Sagatavoti un iesniegti LR Patentu valdē 3 patentu pieteikumi.

*Informācija apkopota 07.02.2014.*