

„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/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 Uzsākta 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 augļaugu atveseļošanas paņēmieni un patogēnu diagnostikas komponentu izstrādei

ITurpināta/uzsākta 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/uzsākta:

- 1) BRV molekulārās diagnostikas metodes One step RT-PCR adaptācija pētījumu laboratorijas apstākļos un uzsākta 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 augļaugu 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:

- 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.