

Starpatskaite

par līgumdarba

**“Meža koku selekcijas pētījumi ģenētiski
augstvērtīga reproduktīvā materiāla atlasei”**

izpildi



Izpildītājs

**Latvijas Valsts Mežzinātnes institūts “Silava”
Meža selekcijas, sēklkopības un ģenētikas projektu grupa**

2011. gads

Kopsavilkums

Starpatskaite sagatavota saskaņā ar 2011. gada 13. aprīlī noslēgto līgumu par zinātniski pētnieciskā līgumdarba "**Meža koku selekcijas pētījumi ģenētiski augstvērtīga reproduktīvā materiāla atlasei**" 2011. gada darba uzdevumu izpildi.

Darba gaitā turpināta parastās priedes klonu identifikācija ar ģenētiskajiem marķieriem, papildinot un precizējot informāciju, kura iegūta iepriekšējos gados, kā arī identificējot jaunus klonus kontrolētās krustošanas vajadzībām, nākotnē plānotiem ar ziedēšanu un sēklu ražas parametru novērtēšanu saistītiem eksperimentiem, jaunu sēklu plantāciju ierīkošanai un jau ierīkoto sēklu plantāciju atestācijai.

Veikta parastās priedes kontrolētā krustošana Sāvienas sēklu plantācijas Misas un Smiltenes blokā, iegūta 41 krustojumu kombinācija, kas varētu nodrošināt pietiekamu sēklu skaitu eksperimentu ierīkošanai. Papildus ievākti, izžāvēti, sijāti un uzglabāšanā novietoti putekšņi no 102 kloniem (Misa, Smiltene, Bauska, Tukums, Ugāle u.c.), lai nodrošinātu iespējas sekmīgākai kontrolētās krustošanas izpildei nākamajā gadā. Ievākti čiekuri no 2010. gada kontrolētās krustošanas Dravu plantācijā. 20 krustojumu kombinācijām čiekuru skaits ir pietiekams, lai būtu iespējams iegūt vajadzīgo daudzumu sēklu eksperimentu ierīkošanai. Veikta čiekuru paraugu ievākšana un vērtēšana 54 Misas un 30 Smiltenes kloniem, kaltēšana un atvēršanās vērtēšana 4 ballu skalā, kas ir viens no rādītājiem klonu vērtēšanā to piemērotībai sēklu rūpnieciskajai ražošanai.

Veikta parastās egles pēcnācēju pārbaužu eksperimentu uzmērīšana, vērtēšana un rezultātu analīze. Papildinot pārskata periodā iegūtos rezultātus ar iepriekšējos gados analizētajiem eksperimentu rezultātiem, ir iespējams sagatavot klonu sarakstu 2. kārtas sēklu plantācijas ierīkošanai Rietumu provenienču reģionam, rekomendējot, līdzīgi kā parastajai priedei, kombinēt 2. kārtas (pēcnācēju pārbaudītu vecāku) un 3. kārtas (fenotipiski izvēlētu labāko pēcnācēju brīvapputes ģimeņu stādījumos) materiālu.

Analizējot parastās egles sēklu plantāciju klonu pēcnācēju pārbaužu rezultātus pluskoku izcelsmes reģionu līmenī, konstatētas būtiskas atšķirības starp eksperimenta ierīkošanas vietām – eksperimentā Nr. 767 (Kuldīga) kā produktīvākie ir Saldus un Cēsu, savukārt Nr. 766 (Andrupene) – Rēzeknes klonu un arī Rēzeknes mežaudzes pēcnācēji. Abās eksperimenta vietās augstu produktivitāti uzrāda Raņķu (bijusī Ogres MRS teritorija) mežaudzes pēcnācēji.

Analizējot eksperimenta Nr. 787 (Skutuļi) klonu vērtēšanas rezultātus, sagatavoti priekšlikumi tā ģenētiskajai retināšanai un izmantošanai kā sēklu plantācija.

Uzsākta kārpainā bērza brīvapputes pēcnācēju ģimeņu uzmērīšana un vērtēšana eksperimentā Nr. 54 (Rembate).

Ierīkoti plānotie kārpainā bērza brīvapputes un kontrolēto krustojumu, apšu un bērzu hibrīdu izmēģinājumu stādījumi ģeogrāfiski atšķirīgās vietās Zinātniskās izpētes mežos – MPS Kalsnavas, Jelgavas, Mežoles, un Auces mežu novados 25 ha platībā. Veikta pirmā gada saglabāšanās uzskaitē un pirmās mērīšanas un vērtēšanas jaunajos eksperimentālajos stādījumos.

Turpināta augstvērtīgu parastās egles Zviedrijas klonu pavairošanas iespēju izpēte ar somatiskās embriogēneses metodi. Uzsākta Latvijas egļu klonu pavairošanas iespēju izpēte.

Pārskata periodā veikta apšu hibrizācija uz nogrieztiem zariem, iegūtas 9 krustojumu kombinācijas. Nodrošināta apšu hibrīdu klonu un Amerikas apses klonu arhīva (98 vienības) uzturēšana, kā arī uzsākta nepārbaudīto klonu pavairošana salīdzinošo stādījumu ierīkošanai.

Pārskats sagatavots datorsalikumā uz 22 lpp. ar 6 tabulām un 7 pielikumiem.

Saturs

Kopsavilkums	2
Saturs	3
1. Parastās priedes klonu identifikācija (ģenētiskie marķieri), ziedēšanas fenoloģijas novērtēšana, krustošana	4
2. Parastās egles B grupas selekcijas materiāla – klonu un pluskoku brīvapputes pēcnācēju pārbaužu izvērtēšana, datu analīze sēklu plantācijas klonu komplekta saraksta sagatavošanai.....	5
3. Pēcnācēju pārbaužu stādījumu ierīkošana un uzturēšana	7
4. Augstvērtīgu parastās egles klonu pavairošanas iespēju izpēte ar somatiskās embriogēzes metodi	9
4.1. Darbs ar Zviedrijas un vietējās izcelsmes 2010. gadā iniciētajām šūnu līnijām	9
4.2. Pieredzes uzkrāšana	10
4.3. Darbs ar Latvijas izcelsmes parastās egles sēklu materiālu	11
4.4. Zviedrijas izcelsmes šūnu līniju atjaunošanas iespējas	11
4.5. Šūnu līniju ieguves iespējas no Latvijas izcelsmes parastās egles pumpuriem.....	11
4.6. Secinājumi	11
5. Apšu starpsugu hibrīdu ieguve	13
Pielikumi.....	14

1. Parastās priedes klonu identifikācija (ģenētiskie marķieri), ziedēšanas fenoloģijas novērtēšana, krustošana

Ievākti un ar ģenētiskajiem marķieriem analizēti 120 paraugi no rametiem Silvas plantācijā – papildinot un precizējot informāciju, kura iegūta iepriekšējos gados, kā arī identificējot jaunus klonus un klonus citos blokos gan kontrolētās krustošanas vajadzībām, gan nākotnē plānotiem ar ziedēšanu un sēklu ražas parametru novērtēšanu saistītiem eksperimentiem.

Kontrolētā krustošana:

1) veikta kontrolētā krustošana Sāvienas sēklu plantācijas Misas un Smiltenes blokā, izpildīti fenoloģijas novērojumi, ziedu izolācija (5-6 izolācijas maisi klonam), krustošana ar mērķi iegūt 75 neradniecīgas krustojumu kombinācijas. Veiktas 2 krustošanas rezultātu apsekošanas, vērtējot čiekuru aizmetņu veidošanos un saglabāšanos, kā arī sagatavots un uz zariem uzlikts marķējums. Inventarizācijā 15. decembrī konstatēts, ka 6 un vairāk čiekuru aizmetņi (kas varētu nodrošināt pietiekamu sēklu skaitu no krustojumu kombinācijas) ir 41 kombinācijai.

2) lai nodrošinātu iespējas sekmīgākai kontrolētās krustošanas izpildei nākamajā gadā, papildus iepriekš plānotajām aktivitātēm ievākti, izžāvēti, sijāti un uzglabāšanā novietoti putekšņi no 102 kloniem (Misa, Smiltene, Bauska, Tukums, Ugāle u.c.), lielākajai daļai klonu putekšņu daudzums pietiekams pat vairāku krustojumu kombināciju sagatavošanai vai izmantošanai vairākus gadus pēc kārtas.

Kopumā veikto krustojumu skaits atbilst selekcijas programmā plānotajam, tomēr krustošanas sekmes ir zemākas, nekā tika paredzēts. Nepieciešams veikt lielāku krustojumu skaitu nākamajos 2 gados, lai sasniegtu plānoto rezultātu.

Ievākti čiekuri no 2010. gada kontrolētās krustošanas Dravu plantācijā. 20 krustojumu kombinācijām čiekuru skaits ir pietiekams, lai būtu iespējams iegūt vajadzīgo daudzumu sēklu eksperimentu ierīkošanai.

Ņemot vērā samazināto iegūto paraugu skaitu, to apstrādei paredzētie, bet neizmantojie līdzekļi izmantoti papildus darba – priežu klonu čiekuru atvēršanās atšķirību vērtēšana – veikšanai. Čiekuru atvēršanās kaltē ir nozīmīgs rādītājs, kas iespaido pie viena un tā paša ieguldītā darba iegūstamo sēklu apjomu – reizē ar to – sēklu pašizmaksu. Jau iepriekšējā gadā konstatētas nozīmīgas atšķirības čiekuru atvēršanās intensitātē kaltē. Pārskata periodā nodrošināta čiekuru paraugu ievākšana un vērtēšana 54 Misas un 30 Smiltenes kloniem, kaltēšana LVM čiekurkaltē Kalsnavā (sadarbībā ar LVM speciālistiem, saskaņā ar parasti lietoto kaltēšanas procedūru) un atvēršanās vērtēšana 4 ballu skalā, kā arī čiekuru garumu mērīšana. Rezultātu matemātiskā apstrāde liecina, ka atšķirības čiekuru atvēršanās pakāpē starp kloniem ir statistiski būtiskas un līdzīgas kā iepriekšējā gadā konstatētās.

Statistiski būtiska ietekme konstatēta arī čiekuru izmēriem – mazākos čiekuros ne tikai ir mazāk sēklu, bet tie arī atveras sliktāk.

2. Parastās egles B grupas selekcijas materiāla – klonu un pluskoku brīvapputes pēcnācēju pārbaūžu izvērtēšana, datu analīze sēklu plantācijas klonu komplekta saraksta sagatavošanai

Veikta marķējuma atjaunošana, uzmērīšana un kvalitatīvo pazīmju vērtēšana eksperimentos:

1. Nr. 766, atrodas Dagdas novada Andrupenes pagasta teritorijā (Dienvidlatgales VM), un Nr. 767, atrodas Kuldīgas novada Īvandes pagastā (Dienvidkurzemes VM). Abi eksperimenti uzsākti 1994. gadā un tajos iekļauti 109 Suntažu, Remtes un Liepas sēklu plantāciju un klonu arhīva klonu brīvapputes pēcnācēji, kā kontroli izmantojot 4 (Nr. 766) vai 2 (Nr. 767) mežaudžu vidējos sēklu paraugus. Stādījuma sākotnējais biežums 2222 koki ha⁻¹ (3×1,5 m);
2. Nr. 787, kurš uzsākts 1988. gadā un atrodas Kuldīgas novada Rumbas pagastā (Dienvidkurzemes VM). Tajā iekļauti 118 atlasītu klonu veģetatīvie pēcnācēji (spraudenstādi). Stādījuma sākotnējais biežums 625 koki ha⁻¹ (8×2 m);
3. Nr. 783, kurš uzsākts 1980. gadā un atrodas Ventspils novada Ugāles pagastā.

Eksperimentos uzmērīts katra dzīvā koka caurmērs (cm), augstums (m) un resnākā zara diametrs (mm) līdz 2 m augstumam. Vizuāli novērtēts stumbra taisnums. Stumbra taisnums novērtēts 3 ballu skalā, kur 1 – pilnīgi taisns, 2 – viens līkums, 3 – divi un vairāk līkumi, par līkumu uzskatot tādu stumbra izliekumu, kura maksimālā novirze no taisnas līnijas ir vismaz 5 cm. Novērtētas koku vainas – divi stumbri, divas galotnes, padēli, dzīvnīeku bojājumi, sasveļojums stumbra celma daļā (iespējams sakņu trupes sākums), plaisas stumbra garenvirzienā. Eksperimentā Nr. 766 vērtēts arī plaukšanas relatīvais laiks (1 – agrs, 2 – vidējs, 3 – vēls). Koku vecums vērtēšanas laikā – 17 (Nr. 766), 18 (Nr. 767) un 24 (Nr. 787) gadi.

Analizējot eksperimentu Nr. 766 (Andrupene) un Nr. 767 (Kuldīga) rezultātus un salīdzinot pa pluskoku vai mežaudžu izcelsmes reģioniem (2.1. tabula), var konstatēt, ka abās eksperimenta vietās augstāko produktivitāti uzrāda Raņķu (bijusī Ogres MRS teritorija) mežaudzes pēcnācēji, arī zaru relatīvais resnums ir vidējs (Kuldīga) vai tievāks par vidējo (Andrupene). Produktīvākie klonu pēcnācēji Kuldīgas eksperimentā ir Saldus un Cēsu, bet Andrupenes – Rēzeknes. Andrupenes eksperimentā arī Rēzeknes mežaudzes pēcnācēji ir produktīvi un ar relatīvi smalku zarojumu.

2.1. tabula

Dažādu izcelsmes reģionu klonu pēcnācēju produktivitāte un zarojuma kvalitāte eksperimentos Nr. 766 un Nr. 767

Izcelsmes reģions/variants	Nr. 766 (Andrupene)		Nr. 767 (Kuldīga)	
	Stumbra vid. tilpums V, m ³	Zaru relatīvais resnums, %	Stumbra vid. tilpums V, m ³	Zaru relatīvais resnums, %
Raņķi, mežaudze	0,021	19	0,029	17
Rēzekne, mežaudze	0,019	19	-	-
Rēzekne Liepa	0,017	19	0,023	16
Saldus Remte	0,016	19	0,027	15
Cēsis Liepa	0,016	19	0,025	16
Kalupe, mežaudze	0,015	19	-	-
Aizpute Liepa	0,015	20	0,021	17
Talsi Liepa	0,015	21	0,020	17
Rēzekne, ģen. res. mežaudze	0,014	18	0,022	17
Daugavpils Liepa	0,014	21	0,019	17
Ogre Suntaži	0,014	20	0,023	17
Dobeles Liepa	0,011	21	0,021	15
vidēji:	0,015	20	0,026	16

Pēcnācēju analīzes rezultātā atlasītas ģimenes ar augstāko selekcijas vērtību. Tās ranžētas pēc produktivitātes, vērtēta stumbra un zarojuma kvalitāte, stumbra un zarojuma vainu esamība, relatīvais plaukšanas laiks (eksperimentā Nr.766). Eksperimentā Nr. 766 (Andrupene), izmantojot 10% atlases intensitāti (11 ģimenes), to produktivitāte ir 41% virs vidējās (2.2. tabula), izmantojot 30% atlases intensitāti (35 ģimenes) – 22% virs vidējās.

Ģimenes ar augstāko selekcijas vērtību eksperimentā Nr. 766 (Andrupene)

Ģimene	Stumbra vid. tilpums V, m ³	Relatīvais plaukšanas laiks	Koku skaits ar vainām (pad+2st+2gal), %	Stumbra taisnums	Zaru relatīvais resnums, %
Saldus 95	0,028	1,55	39	1,97	17
Saldus 18	0,023	1,60	36	1,89	17
Rēzekne 11	0,022	1,96	54	2,24	17
Saldus 19	0,021	2,12	44	2,07	17
Saldus 14	0,021	1,42	36	1,92	18
Raņķi, mežaudze	0,021	1,94	40	1,91	19
Cēsis 15	0,021	1,91	65	2,03	17
Saldus 7	0,020	1,26	37	1,89	17
Saldus 40	0,020	1,49	34	1,72	18
Saldus 16	0,020	1,48	34	2,05	17
Cēsis 6	0,020	1,43	47	1,98	18
vidēji	0,015	1,55	47	1,99	20

Iekrāsojums – ģimene ar augstu selekcijas vērtību abos eksperimentos

Stumbra taisnums vērtēts ballēs 1 – taisns, 2 – viens neliels līkums, 3 – vairāki līkumi.

Eksperimentā Nr. 767 (Kuldīga), izmantojot 10% atlasē intensitāti (7 ģimenes), to produktivitāte ir 41% virs vidējās (2.3. tabula), izmantojot 30% atlasē intensitāti (21 ģimene) – 22% virs vidējās.

2.3. tabula

Ģimenes ar augstāko selekcijas vērtību eksperimentā Nr. 767 (Kuldīga)

Ģimene	Stumbra vid. tilpums V, m ³	Koku skaits ar vainām (pad+2st+2gal), %	Stumbra taisnums	Zaru relatīvais resnums, %
Saldus 95	0,040	54	2,18	14
Saldus 15	0,035	45	2,15	14
Saldus 20	0,034	46	2,22	15
Suntaži 9	0,034	48	2,07	15
Saldus 17	0,031	62	2,04	16
Rēzekne 15	0,031	66	2,00	14
Saldus 97	0,031	58	2,12	14
vidēji	0,026	49	2,10	16

Iekrāsojums – ģimene ar augstu selekcijas vērtību abos eksperimentos

Stumbra taisnums vērtēts ballēs 1 – taisns, 2 – viens neliels līkums, 3 – vairāki līkumi.

Eksperiments Nr. 787 (Skutuļi) sākotnēji ierīkots kā sēklu plantācija, izmantojot dažādas atlasē intensitātes un dažādas vērtības pārbaudītus spraudņstādu klonus. Klonu vērtēšanas rezultāti 24 gadu vecumā ir pielietojami ģenētiskās retināšanas veikšanai, ja eksperimentu ir plānots reģistrēt un apsaimniekot kā sēklu plantāciju. Atlasot 30% vērtīgākos klonus (teorētiski retināšana 6×8 m koku izvietojumam), to produktivitāte ir 24% virs vidējās eksperimentā.

3. Pēcnācēju pārbaūžu stādījumu ierīkošana un uzturēšana

Ierīkoti plānotie kārpainā bērza brīvapputes un kontrolēto krustojumu pēcnācēju pārbaūžu stādījumi ģeogrāfiski atšķirīgās vietās Zinātniskās izpētes mežos Kalsnavas, Auces, Mežoles un Jelgavas mežu novados. Auces mežu novadā ierīkoti apses hibrīdu *P.tremuloides*×*P.tremula* klonu un ģimeņu eksperimentālie stādījumi, nelieli bērza hibrīdu *Betula platyphylla var.japonica*×*Betula pendula* klonu eksperimentālie stādījumi ierīkoti Jelgavas, Kalsnavas mežu novados un Ķeguma novada Rembates pagasta „Vecrumbās” (3.1. tab.). Veikta stādījumu inventarizācija, shēmu pārbaude, precizēšana un datorizēta apstrāde. Stādījumi reģistrēti LVMI „Silava” Ilglaicīgo izmēģinājumu reģistrā.

3.1. tabula

2011. gadā ierīkotie pēcnācēju pārbaūžu stādījumi

Eksperimenta Nr.	Suga, stādīšanas shēma	Kopējā platība, ha	Stādi kopā, gab.	Kalsnavas mežu novads	Mežoles mežu novads	Jelgavas mežu novads	Auces mežu novads	Ķeguma nov. Rembate
3003200000754	B (vienkoku parces)	2,7	5780				27.kv. 34., 37. nog.	
3003200000755	B (bloku parces)	4,8	9540					
3003200000756	B (bloku parces)	1,43	2870		50.kv. 22., 27. nog			
3003200000757	B (bloku parces)	0,4	820	196.kv. 2. nog.				
3003200000758	B (vienkoku parces)	2,57	5040					
3003200000759	B (bloku parces)	1,3	2860	266.kv. 1., 3. nog.				
3003200000760	B (vienkoku parces)	2,7	5280					
3003200000761	B (bloku parces)	1,7	3400			38.kv. 6., 7. nog.		
3003200000762	B (vienkoku parces)	3,0	5930					
	Bērzs kopā	20,6	41520					
3003200000763	A hibrīdi (vienkoku parces)	1,44	1644					
3003200000764	A hibrīdi (bloku parces)	0,23	260				114.kv. 51.nog.	
3003200000765	A hibrīdi (bloku parces)	2,9	3417					
	Apses hibr. kopā	4,57	5321					
3003200000784	B hibrīdi	0,05	105	224.kv. 18.nog.				
3003200000785	B hibrīdi	0,05	105			44.kv. 6.nog.		
3003200000786	B hibrīdi	0,056	90					„Vecrumbas”
	Bērza hibrīdi kopā	0,156	300					

3.2. tabula

2011. gadā ierīkoto izmēģinājumu stādījumu kopsavilkums

Suga	Kopējā platība, ha	Stādi kopā, gab.	t.sk. Kalsnavas mežu novadā		t.sk. Mežoles mežu novadā		t.sk. Jelgavas mežu novadā		t.sk. Auces mežu novadā		t.sk. Rembatē	
			ha	stādi	ha	stādi	ha	stādi	ha	stādi	ha	stādi
Bērzs	20,6	41520	6,97	14000	1,43	2870	4,7	9330	7,5	15320	-	-
Apses hibrīdi	4,57	5321	-	-	-	-	-	-	4,57	5321	-	-
Bērza hibrīdi	0,156	300	0,05	105			0,05	105			0,056	90
Pavisam kopā	25,326		7,02		1,43		4,75		12,07		0,056	

Stādu izaudzēšanai, turpmāko pēcnācēju pārbaužu stādījumu ierīkošanai, 2011.gada pavasarī iesēti parastās priedes Latvijas sēklu plantāciju un mežaudžu dažādu ražas gadu vidējie sēklu paraugi, kā arī Igaunijas, Lietuvas, Somijas, Zviedrijas un Polijas sēklu plantāciju un mežaudžu dažādu ražas gadu parastās priedes sēklu vidējie paraugi, kopā 141 paraugs. Iesēts viens paraugs no Vēžinieku un Liepas melnalkšņa sēklu plantāciju 2010.gada ražas sēklām.

4. Augstvērtīgu parastās egles klonu pavairošanas iespēju izpēte ar somatiskās embriogēzes metodi

4.1. Darbs ar Zviedrijas un vietējās izcelsmes 2010. gadā iniciētajām šūnu līnijām

2011. gada janvārī LVMI Silava Augu fizioloģijas laboratorijas embriogēno audu kolekcijā proliferācijas stadijā tika uzturēti 90 Zviedrijas izcelsmes kloni (4.1. tabula).

4.1. tabula

Zviedrijas izcelsmes kloni

0951	0952	0953	0954	0955	0956	0957	0959	0960	0961	0962	0963
51:05	52:01	53:01	54:01	55:06	56:04	57:03	59:01	60:01	61:19	62:04	63:03
51:12	52:03	53:06	54:02	55:07	56:05	57:04	59:03	60:02	61:37		63:04
51:13	52:04	53:18	54:09	55:08	56:07	57:07	59:04	60:08			63:08
51:17	52:05	53:19	54:15	55:15	56:13	57:10		60:11			63:10
51:21	52:06	53:21	54:17	55:22	56:17	57:12		60:14			63:11
51:26	52:07	53:28	54:18	55:26	56:21	57:13		60:17			63:16
51:30	52:09		54:19		56:25	57:14		60:22			
	52:16		54:20		56:28	57:15					
	52:17				56:32	57:21					
	52:18				56:34	57:25					
	52:30				56:38						
	52:37				56:43						
	52:38				56:59						
	52:41										
	52:42										
	52:51										
	52:74										
	52:75										
	52:76										
	52:77										

No šī materiāla tika atlasītas 20 apmierinošu vairošanās spēju saglabājušas šūnu līnijas, kas līdz 2011. gada martam savairotas maksimāli iespējamā daudzumā. Atlasītās līnijas tabulā ir iekrāsotas zaļā krāsā.

Tā kā līnijas kallusaudu vairošanās potence ir ģenētiski nosacīta, atsevišķas līnijas (52:74, 57:15) tika savairotas līdz 100 Petrī platēm (katrā platē 9 šūnu kopas), daļai proliferācijas spējas bija nelielas, tās savairotas tikai 5-6 Petrī plašu apjomā. Jau iepriekšējā gada atskaitē tika norādīts, ka optimāls šūnu līniju kultivācijas laiks ir aptuveni gads. Pēc tam šūnu līnijas pakāpeniski zaudē proliferācijas un reģenerācijas spējas.

Sākot ar 2011. gada martu, visas savairotās un reģenerācijai paredzētās šūnu līnijas (4.1. tabula, zaļš iekrāsojums) sagatavotas un novietotas uz barotnes, kas aizgūta no Zviedrijas Lauksaimniecības Universitātes Augu fizioloģijas laboratorijas, tās autore Dr. biol. S. von Arnolds, nobriešanai. Līdz maijam 8 nedēļu laikā iegūti vairāk kā 11 000 dīgļu no sekojošām šūnu līnijām jeb kloniem: 51:30, 52:03, 52:04, 52:05, 52:74, 52:76, 55:07, 56:59, 57:15, 60:03, 60:08, 63:08. Šos dīgļus pārvietoja uz diedzēšanas barotnes (Shenk & Hildebrandt pamatsastāvs, S. von Arnolds modifikācija). Teorētiski dīgšana un apsākšanās notiek nākošo 6-8 nedēļu laikā. Neskatoties uz visu personīgajos kontaktos un literatūras studijās ieteikto apstākļu un rekomendāciju ievērošanu, jau 3.-4. nedēļā sākās dīgļu vitrificēšanās, nenormālu dīgļlapu veidošanās, kas noslēdzās ar nekrotizēšanos un atmiršanu.

Paralēli darbam ar Zviedrijas izcelsmes šūnu līnijām, 2010. gadā tika iegūta viena Latvijas izcelsmes līnija Remte 191:1, kuras kallus vizuāli un mikroskopiski bija kvalitatīvs, proliferācija apmierinoša, līdz ar to tas tika savairots līdz 60 Petrī plašu apjomam. Arī ar šo klonu vēlākajos embriogēzes posmos piedzīvojām neveiksmi: 60% plašu dīgļus neveidoja vispār, no iegūtajiem 1000 dīgļiem vairums bija ar divām dīgļlapām piecu vietā, kas diedzējot veidoja kroplus augus.

Rezultātā līdz stādīšanai substrātā izdzīvoja vien niecīga daļa no visu šūnu līniju augiem,

ieskaitot vietējo šūnu līniju, – 500 augu, kas tika nodoti a/s „Latvijas Valsts Meži” struktūrvienības „Sēklas un stādi” kokaudzētavai Kalsnavā.

4.2. Pieredzes uzkrāšana

Sākot darbu pie parastās egles somatiskās embriogēzes procesu apgūšanas, tika nodibināti kontakti ar Zviedrijas Mežsaimniecības Institutu. Pētījumi veikti pēc vadošā pētnieka un SE laboratorijas vadītāja Dr. biol. K.A. Hogberg ieteikumiem un laboratorijā izmantotās metodikas. Jāatzīst, ka arī šajā Zviedrijas laboratorijā ir dažādas problēmas (a/s LVM konsultanta S. Carlsson personīgi sniegtie dati), informācijas apmaiņa starp abām laboratorijām nebija pietiekama.

Apzinoties kļūdas un praktiskās pieredzes nepietiekamību, pētniecei Dacei Auzenbahai tika rasta iespēja atkārtoti apmeklēt prof. Dr. biol. Y.S. Park vadīto Kanādas Meža Dienesta Nūbrunsvikas štata Kompetences centra Somatiskās embriogēzes laboratoriju un privātas kompānijas Irving Forest Ltd SE laboratoriju laikā no 2011.gada 26. marta līdz 2. aprīlim (2010. gadā šo laboratoriju, pateicoties S. Carlsson kontaktiem, LVM un LVMI Silava pārstāvjiem izdevās apmeklēt īsas iepazīšanās vizītes ietvaros). Šī komandējuma mērķis bija strādāt laboratorijā norādītajā laikā nepieciešamos darbus un apgūt pieredzi augstas ģenētiskās vērtības parastās egles stādu audzēšanā, tās pavairošanā izmantojot somatiskās embriogēzes metodi.

Gan Kompetences centra (KC), gan Irving Forest somatiskās embriogēzes (SE) laboratorijas izvietotas vienā ēkā un to darbība ir kooperatīva. KC laboratorijā notiek pētnieciskais darbs, embriogēzes iniciācija (parastā, Kanādas, melnā un sarkanā egle, 6 priežu sugas, starp kurām diemžēl nav parastā priede), privātuzņēmumam piederošā laboratorija nodarbojas ar pavairošanu un augu reģenerāciju kompānijas vajadzībām. KC laboratorijā iegūtās šūnu līnijas tiek sasaldētas šķidrā slāpekļī un uzglabātas -180°C temperatūrā, atkausētas un izmantotas, kad rodas nepieciešamība. Kriolaboratorija pieder Irving Forest, bet tajā tiek uzglabāts arī viss KC atlasītais šūnu līniju materiāls un kopīgā gēnu bankā ir vairāk kā 2000 vienību. Laboratoriju vadītāji prof. Y.S. Park (KC, SE pētniecības pasaules koordinators) un Dr. biol. A. M'Cartney (Irving) dalījās praktiskajā pieredzē dažādu SE etapu nodrošināšanas tehnoloģisku paņēmieni pielietošanā, bija iespējas izvērtēt laboratoriju aprīkojumu. Lai samazinātu milzīgo roku darba apjomu un līdz ar to arī laminārboksu noslodzi, embriju izklidei pirms nobriešanas tiek izmantota specifiski pielāgota vakumfiltrācijas metode, kas netiek izmantota Zviedrijā. Darbību atvieglošanai un laika ekonomijai izmanto arī citas pašdarinātas ierīces (embriju izsēšana diedzēšanai).

Kriosaglabāšanas iekārtas kopīgi lieto abas laboratorijas, uzglabāšanas metožu pamatprincipi līdzīgi jebkura bioloģiskā parauga glabāšanas protokolam (pilnu kriosaglabāšanas protokolu šobrīd Latvijā ievieš LU Biomedicīnas centrs, konsultants un piegādātājs a/s Diamedica- Fisher Termoscientific, Nunc un Nalgene pārstāvis Latvijā).

Irving Forest kokaudzētavās plaši tiek izmantotas kaitēkļu bioloģiskās apkaršanas metodes, tādēļ A. M'Cartney vadītajā laboratorijā tiek ražots arī mikrobioloģisks (sēņu) preparāts cīņai pret zāglapsenēm (budworm).

No embrijiem diedzētie augi tiek apsākoti vienā no Irving Forest kokaudzētavām. Apsākšana notiek standarta konteineros, kādus izmanto rūpnieciski sējot egli. Siltumnīcā automatizēti tiek nodrošināta $+22^{\circ}\text{C}$ - $+23^{\circ}\text{C}$ temperatūra, gaisa relatīvais mitrums apmēram 90%. Trūdodiņa (kaitēklis sastopams visā pasaulē, arī pie mums nodara bojājumus, apsākņojot *in vitro* audzētus augus) izskaušanai tiek izmantota nematode, kas iznīcina oda sadētās olas. Šūnu un aļģu apkaršanai, aptuveni divas nedēļas pēc augu iepiķēšanas, konteineru virsma tiek apbērtā ar ļoti sīkām akmens šķembām. Apsāknot izdodas aptuveni 60-80% augu, bet šis skaitlis ir atkarīgs no šūnu līniju ģenētiskajām īpašībām. 2011. gadā ar SE metodi saražoti aptuveni 100 000 dažādu sugu skuju koku reģenerantu, tajā skaitā apmēram 20 000 parastās egles (*Picea abies*). Ar SE metodi pavairots stādmateriāls meža atjaunošanai tiek izmantots kopš 1992. gada, patlaban notiek šo platību izvērtēšana.

Laboratorijā pavadītajā laikā bija unikāla iespēja vērot un piedalīties dažādu vietējo sugu SE kultūru iniciācijas uzsākšanā, apgūt vakumfiltrācijas metodes pielietošanu somatisko embriju izklidei nobriešanas fāzē, sagatavot preparātus kriosaglabāšanai un piedalīties jauno augu izstādīšanā substrātā. Iegūtās informācijas apjoms un kvalitāte ir nenovērtējams, lai turpinātu risināt SE vadīšanas problemātiskos posmus LVMI Silava laboratorijā. Kā norādīja S. Carlsson

un Y.S. Park, KC Ņūbrunsvikas štata SE laboratorija ir vienīgā zinātniskā laboratorija, kas dažādu valstu pētniekiem ļauj brīvu piekļuvi saviem pētniecības materiāliem un protokoliem.

4.3. Darbs ar Latvijas izcelsmes parastās egles sēklu materiālu

Izmantojot Y.S. Park izstrādāto SE iniciācijas protokolu un barotņu sastāvus, 2011. gada maijā- decembrī iegūtas 40 Suntažu, Remtes, Sventes sēklu plantāciju dažādu koku šūnu līnijas. Šis darbs ir sākumstadijā. Iegūtās šūnu līnijas nepieciešams nostabilizēt *in vitro* kultūrā. Tas nozīmē, ka jāiegūst tīra, pēc krāsas dzeltenbalta, viendabīga kultūra, kas vienas pasāžas, 14 dienu laikā, dubultojas apjomā. Kad tas sasniegts, pēc 3-4 pasāžām jāmikroskopē, lai pārlicinātos, vai iegūtajos attēlos ir reģenerēties spējīgas šūnas. Vadoties pēc dažādiem informācijas avotiem, no iegūtajām šūnu līnijām, aptuveni 8-10% ir tādas, kas izmantojamas jaunu augu reģenerācijai. Laika izteiksmē darbs pie vienas šūnu līnijas ievadīšanas, iegūšanas, sākotnējas proliferācijas aizņem 8-10 mēnešus. Spriežot pēc vizuālajām pazīmēm, šobrīd no 40 līnijām, 3-5 varētu būt piemērotas tālākam pētniecības darbam. Lai iegūtu 40 šūnu līnijas, pēc Y.S. Park iniciācijas protokola noteikumiem zem 4x palielinājuma ir preparētas 1440 sēklas, no katra koka 6 atkārtojumi pa 6 sēklām katrā Petri platē.

4.4. Zviedrijas izcelsmes šūnu līniju atjaunošanas iespējas

Izmantojot Kanādas kolēģu izstrādāto metodiku ir atjaunotas sekojošas šūnu līnijas: 51:05, 51:30, 52:03, 52:04, 52:05, 52:74, 52:76, 55:07, 56:59, 57:15, 60:03, 60:08, 60:17, 63:08. Lai būtu iespējama atjaunošana, no uzrādītajām līnijām iegūti dīgļi, kas novietoti uz iniciācijas barotnes, atkārtoti iziet kallusa veidošanas stadiju. Par to, cik kvalitatīvs un noderīgs atkārtoti iegūtais materiāls būs reģenerantu ieguvē, atskaites nodošanas brīdī ir grūti spriest, jo pārbaudes jāveic nākošajā gadā.

4.5. Šūnu līniju ieguves iespējas no Latvijas izcelsmes parastās egles pumpuriem

2011. gada aprīlī-oktobrī veikti priekšizmēģinājumi šūnu līniju ieguvei no veģetatīvajiem pumpuriem. Ierosme un metodika šim darbam gūta, iepazīstoties ar Kanādas Meža Dienesta Laurentijas Mežsaimniecības Centra pētnieci Dr. biol. Kristīnu Klīmaševsku un viņas publikācijām. Zinātniece 12 gadus ir strādājusi, mēģinot iegūt embriogēnos audus no SE ceļā pavairotu Kanādas egļu 2-3 miettura zaru apikālajiem un sānpumpuriem, kas arī ir izdarīts. Darba pārskats pirmo reizi publicēts 2011. gada janvārī.

Embriogēno audu ieguvei izmantoti 7 astoņgadīgu izmēģinājumu stādījuma Nr. 748 koku veģetatīvie pumpuri, kā arī 3 četrdesmitgadīgu Suntažu sēklu plantācijas koku veģetatīvie pumpuri. Priekšizmēģinājumos izmantoti 10 koku 360 pēc protokola sagatavoti un preparēti pumpuri, katram kokam 6 atkārtojumi, pa 6 pumpuriem katrā platē. Pirmo reizi pumpuri preparēti 2011. gada aprīlī un maijā. Otru reizi izmēģinājums atkārtots oktobrī.

Mērķis bija noskaidrot, vai ģeneratīvi pavairotu parasto egļu pumpuri vispār reaģē uz Kanādiešu kolēģes izmantotajām barotnēm. Diemžēl pirmā pieredze un rezultāti liecina, ka četrdesmitgadīgo koku pumpuri vispār neuzsāka attīstību. No astoņgadīgajiem kokiem ņemtie pumpuri uz hormonālajām barotnēm veidoja audu masas, kam nav nekādas līdzības ar embriogēnajām šūnām. Tas nozīmē to, ka izmēģinājumi tiks atkārtoti ar 1-2 gadus vecu, juvenīlu augu pumpuriem, kuru potences sākt attīstību *in vitro* teorētiski ir daudz augstākas. Iespējams, nepieciešama barotņu modifikācija, kā arī citi, tikai personīgā pieredzē apgūstami risinājumi. Šis ir jauns SE attīstības virziens, par kuru samērā plašajā, tēmai veltītajā literatūras klāstā, šobrīd atrodama tikai viena publikācija.

4.6. Secinājumi

1. Vislielākā kļūda, neesot praktiskai pieredzei intensīvu proliferācijas un citu SE etapu vadīšanā, bija darba sākumā iegādātais lielais Zviedrijas izcelsmes šūnu līniju skaits (170). Etapu vadīšanas apguves vietā, 90 % laika un materiālu tika tērēts vēlmei saglabāt izejmateriālu.
2. Bez iespējām ilgstoši uzglabāt materiālu sasaldētā stadijā, darbs notiek haotiski, ar iegūto šūnu līniju regulāru zaudēšanu. Katra šūnu līnija ir ilgstoša, sarežģīta un dārga darba rezultāts, bez tam, tā ir unikāls ģenētiskais materiāls, kas identisks otrreiz vairs nav iegūstams.

3. Jāturpina darbs pie veģetatīvo pumpuru embriogēno audu iegūšanas izpētes, jo šajā gadījumā tiek strādāts ar atkārtojamu, konkrētu, jau selekcionāru aprobētu ģenētisko materiālu.
4. Izmantojot Kanādā apgūto pieredzi, ir nomainītas visos SE etapos izmantojamās barotnes uz efektīvākām, vienkāršāk pagatavojamām. Iegādāta vaakumfiltrācijas iekārta, kura tiks pielietota 2012. gada februārī –martā, kad sāksies embriju nobriešanas etaps.

5. Apšu starpsugu hibrīdu ieguve

Pārskata periodā veikta apšu hibrīdizācija uz nogrieztiem zariem, izmantojot J. Smilgas aprobēto tehnoloģiju. Klonu arhīvos Katlešos un Kalsnavā konstatēts, ka Kalsnavā zied tikai 2 sievišķās apses, tādēļ veikta ziedošu apšu pluskoku atlase mežaudzēs. Rezultāta atrastas viens ziedošs apses pluskoks Varakļānu mežniecības teritorijā. No atlasītajiem kokiem ievākti zari ar ziedpumpuriem un veikta hibrīdizācija kontrolētos apstākļos. Katru sievišķo parastās apses pluskoku krustoja ar 2 Amerikas apses putekšņiem. Rezultātā iegūtas 9 krustojumu kombinācijas (5.1. tabula). No iegūtajām sēklām izaudzēti 2900 apšu hibrīdu stādi. Daļa no iegūtajām sēklām izžāvētas un ieliktas saldētavā ilgstošai uzglabāšanai, nodrošinot iespēju nepieciešamības gadījumā apmainīties ar selekcijas izejmateriālu.

5.1. tabula

2011. gadā iegūtās krustojumu kombinācijas

Mātes koks P.tremula	Tēva koks P.tremuloides	Apzīmējums
12-IX-4	T-3-02	11505
12-IX-4	XT-22-56-5-4	11506
KxG	T12-67	11501
KxG	T-10-60	11504
Vec	T-20-60	11503
Vec	T-28-63	11502
KxG	polikross	11507
12-IX-4	polikross	11509
Vec	polikross	11508

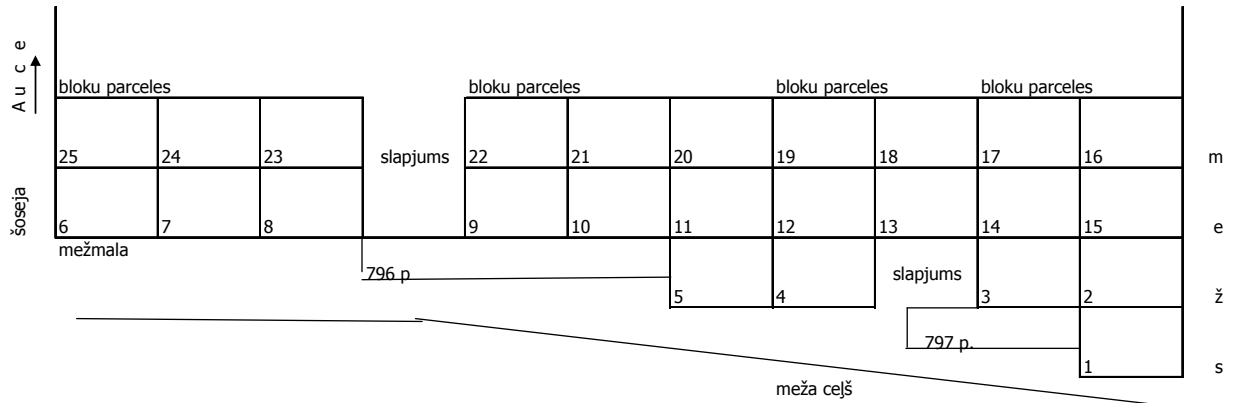
Apšu hibrīdu klonu salīdzinošo stādījumu veikšanai izaudzēti 8000 stādu no 52 apšu hibrīdu kloniem. MPS eksperimentālajā kokaudzētavā ierīkots 20 apšu hibrīdu klonu mātesdārzs pavairošanas iespēju ar sakņu spraudņiem pētījumu turpināšanai.

LVMI „Silava” Augu fizioloģijas laboratorijā nodrošināta apšu hibrīdu klonu un Amerikas apses klonu arhīva (98 vienības) uzturēšana, kā arī uzsākta nepārbaudīto klonu pavairošana salīdzinošo stādījumu ierīkošanai.

Pielikumi

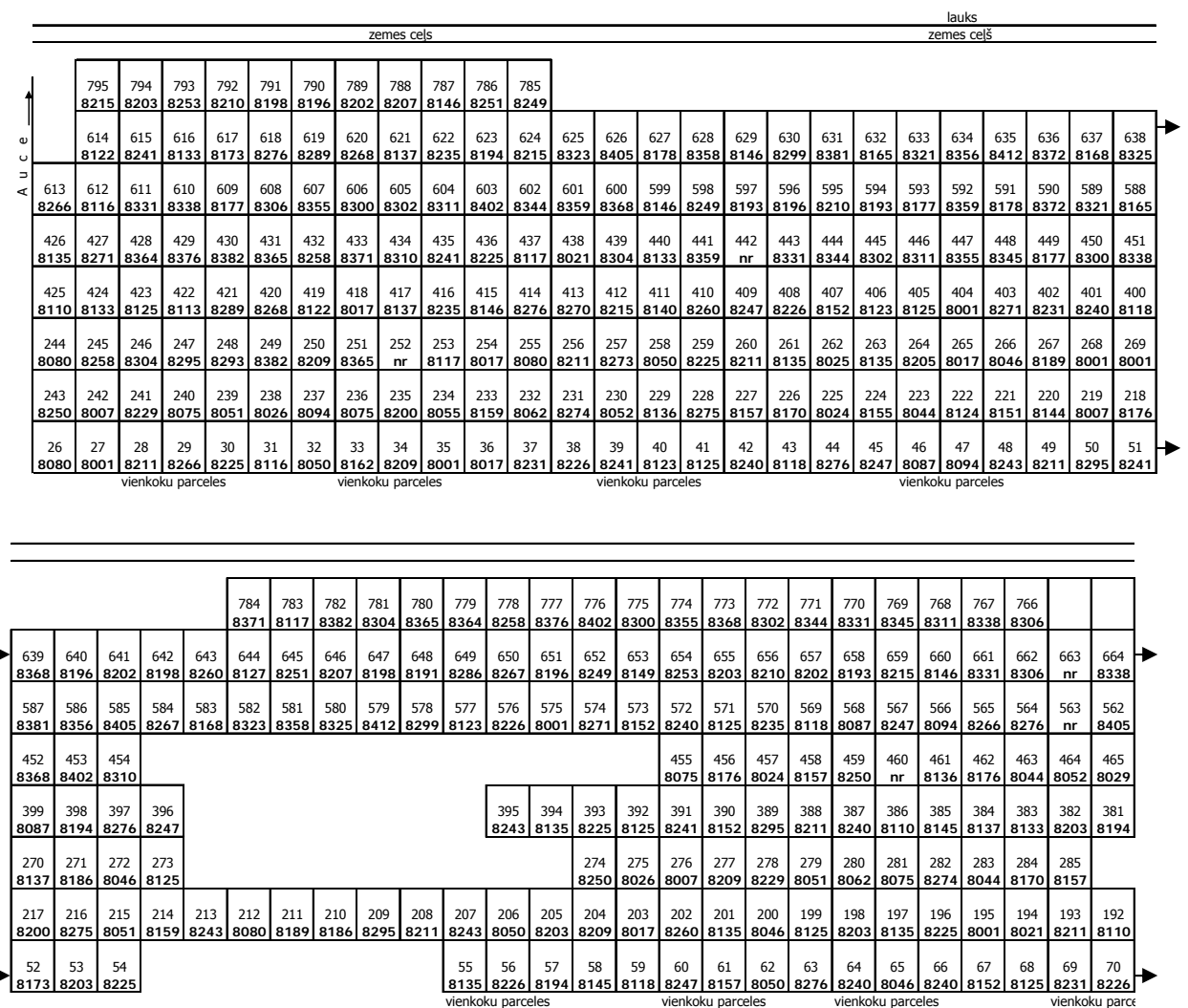
1. pielikums

Parceļu izvietojuma shēma 2011.gada bērza kontrolēto krustojumu un brīvapputes ģimeņu pēcnācēju izmēģinājumu stādījumā Nr.3003200000754 Auces MN, 27.kv.
34.; 37. nogabals, platība 2,7 ha



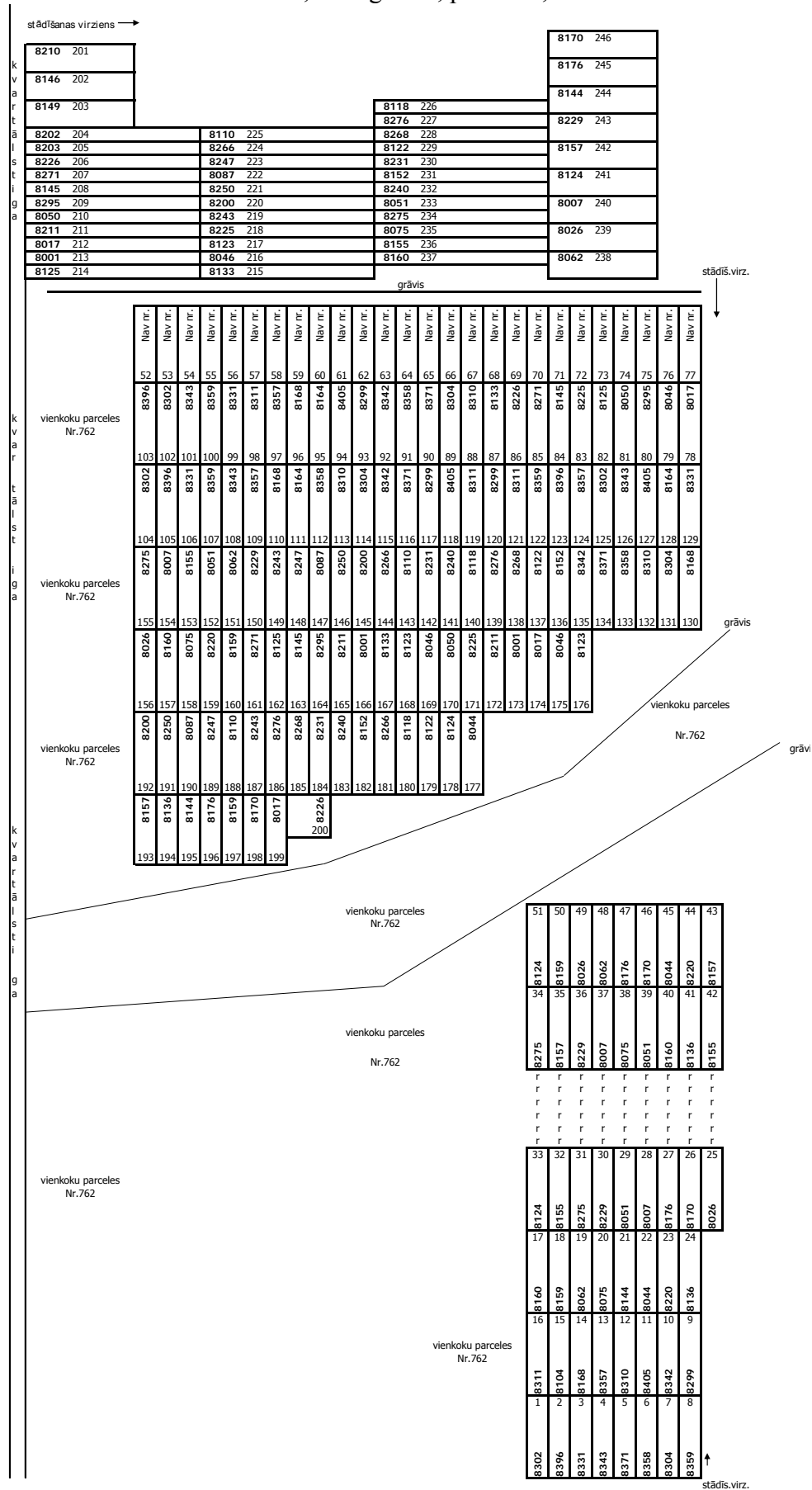
2. pielikums

Parceļu izvietojuma shēma 2011. gada bērza kontrolēto krustojumu un brīvapputes ģimeņu pēcnācēju izmēģinājumu stādījums Nr.3003200000755 Auces MN 27.kv.
34.,37. nogabals, platība 4,8 ha



3. pielikums

Parceļu izvietojuma shēma 2011. gada bērza kontrolēto krustojumu un brīvapputes ģimeņu pēcnācēju izmēģinājumu stādījumā Nr.3003200000761 un 762 Jelgavas MN 38.kv. 6., 7. nogabals, platība 1,7 ha



4. pielikums

Parceļu izvietojuma shēma 2011. gada bērza kontrolēto krustojumu un brīvapputes ģimeņu pēcnācēju izmēģinājumu stādījumos
 Nr.3003200000759 un 760 Kalsnavas MN 266.kv. 1.; 3. nogabals, platība 4 ha

mežmala										
25	209	bloku parces						192	bloku parces	
	220							182	191	
24	219	bloku parces						145	bloku parces	
		146							181	134
24	218	23	220	230	240	21	122	133		
		22	229	239	21	121	110			
17	217	23	228	238	20	98	109			
		18	227	19	237	20	109			
16	215	15	226	236	13	97	86			
		14	225	235	13	74	85			
9	214	10	224	11	234	73	62			
		11	223	233	12	50	61			
8	212	7	222	232	5	49	38			
		6	221	3	231	26	37			
1	210	2	221	3	231	4	26	37		
kvartālīga jaunaudze										
268.kv.										

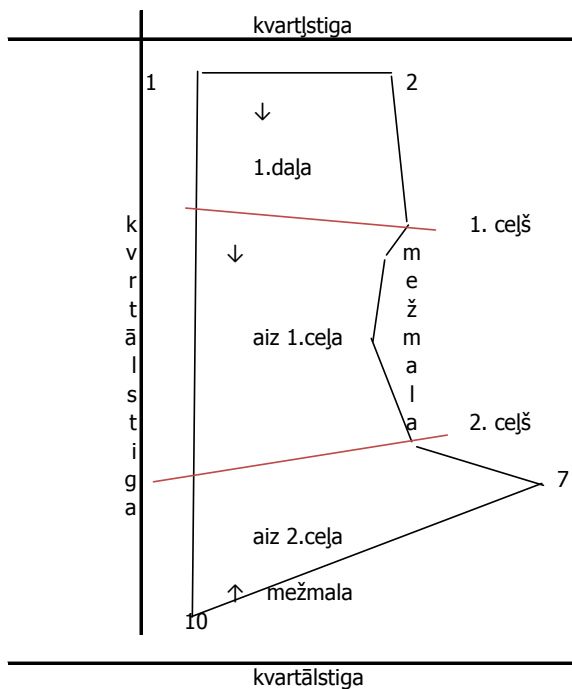
kvartālīga

265.kv.

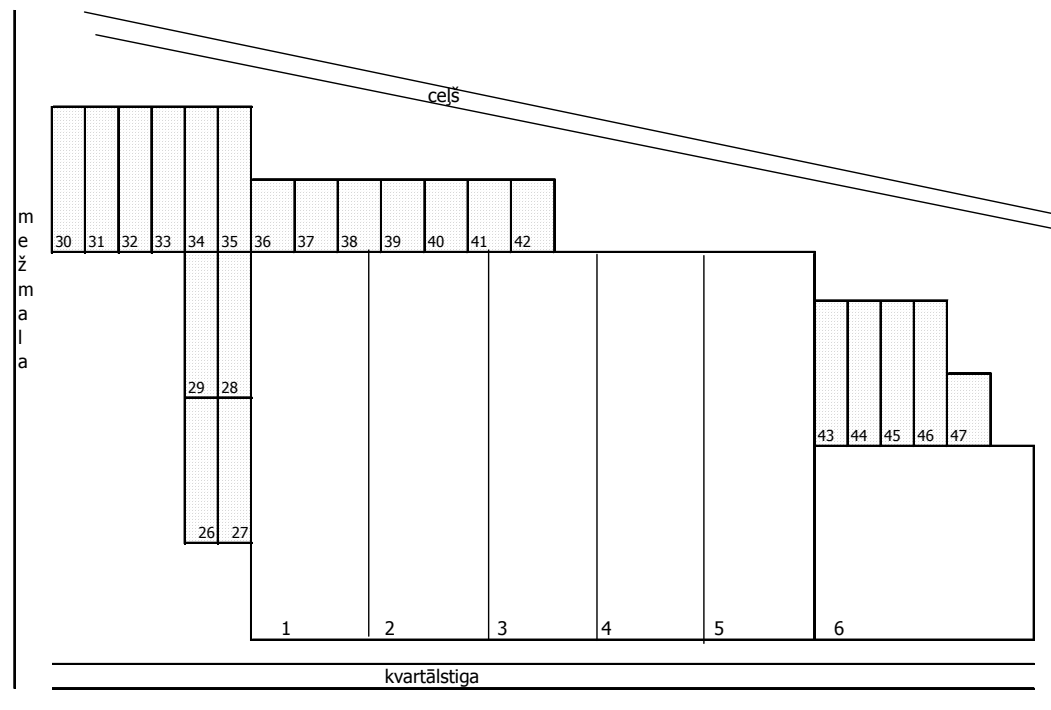
5. pielikums

Parceļu izvietojuma shēma 2011. gada bērza kontrolēto krustojumu un brīvapputes ģimeņu pēcnācēju izmēģinājumu stādījumos
 Nr.3003200000757 un 758 Kalsnavas MN 196.kv. 2. nogabals, platība 2,97 ha

Kopējā stādījuma shēma

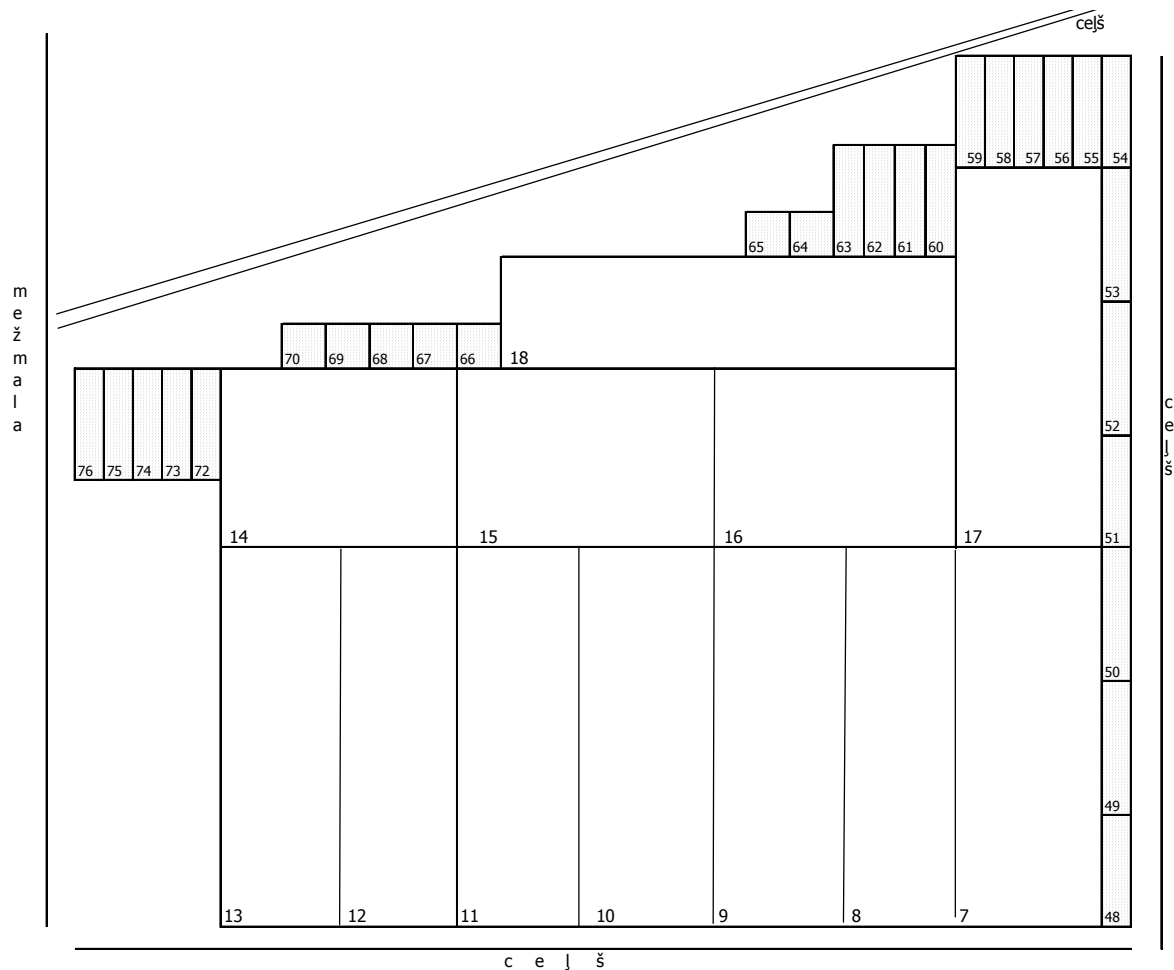


Stādījuma 1. daļa



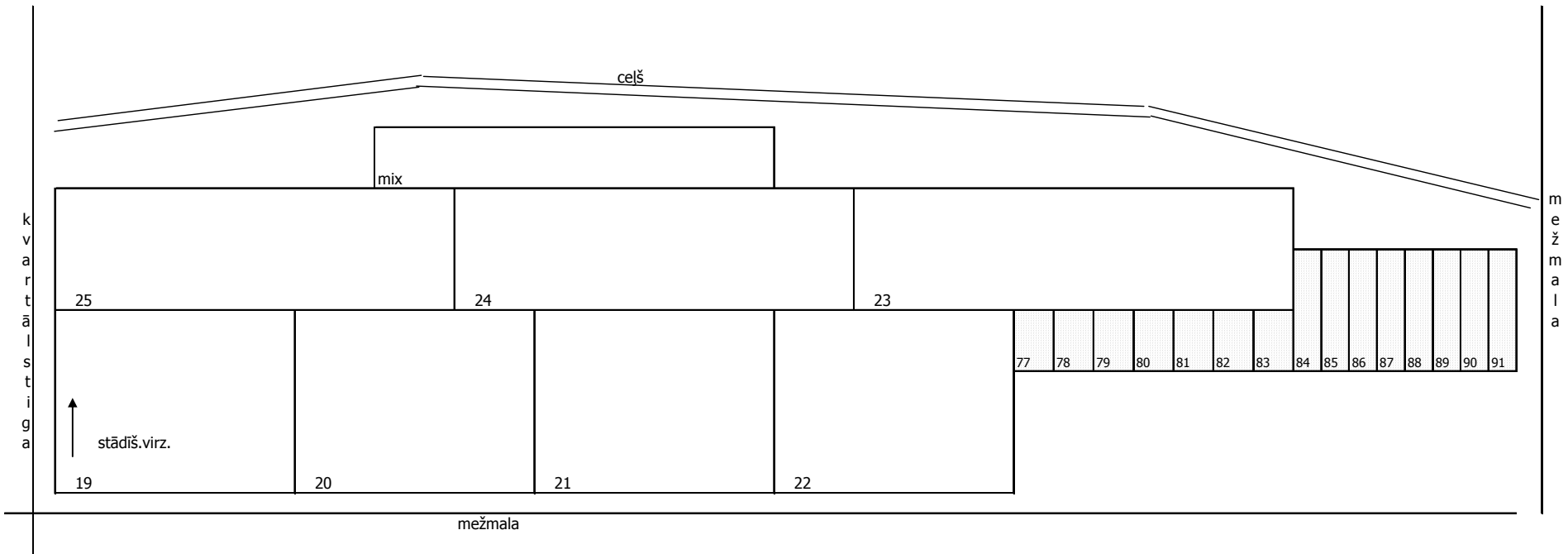
5. pielikuma 1. turpinājums

Stādījuma daļa aiz 1. ceļa



5. pielikuma 2. turpinājums

Stādījuma daļa aiz 2. ceļa



6. pielikums

Parceļu izvietojuma shēma 2011. gada bērza kontrolēto krustojumu un brīvapputes ģimeņu pēcnācēju izmēģinājumu stādījumā Nr.3003200000756 Mežoles MN 50.kv. 22., 27.nogabals, platība 1,43 ha

8266 210	8136 209	8116 208	8062 207	8044 206	8151 205	8152 204	8247 203	8226 202	8231 201	8306 200	8117 199	8144 198	8026 197	8044 196										
8266 182	8062 183	8271 184	8247 185	8116 186	8240 187	8226 188	8118 189	8026 190	8371 191	8117 192	8151 193	8044 194	8345 195											
		8271 181	8359 180	8345 179	8118 178	8240 177	8271 176	8116 175	8247 174	8231 173	8240 172	8118 171	8226 170											
				8144 161	8229 162	8151 163	8136 164	8044 165	8117 166	8371 167	8306 168	8359 169												
				8271 160	8359 159	8306 158	8144 157	8229 156	8271 155	8125 154	8240 153	8152 152	8001 151	8046 150	8123 149	8050 148	8275 147	8102 146						
8371 123	8151 124	8149 125	8149 126	8050 127	8046 128	8001 129	8102 130	8275 131	8152 132	8266 133	8062 134	8026 135	8136 136	8275 137	8275 138	8001 139	8123 140	8046 141	8050 142	8203 143	8267 144	8229 145		
8062 122	8266 121	8026 120	8345 119	8136 118	8229 117	8116 116	8247 115	8118 114	8231 113	8226 112	8152 111	8240 110	8203 109	8267 108	8149 107	8127 106	8196 105	8193 104	8198 103	8173 102	8146 101	8251 100	8260 99	8050 98
8125 76	x	8001 77	8125 78	8123 79	8046 80	8102 81	8050 82	x	8275 83	8275 84	8240 85	8117 86	8371 87	8151 88	x	8118 89	8116 90	8266 91	8044 92	8123 93	8240 94	8050 95	8125 96	8271 97
		8231 75	8226 74	8118 73	8146 72	8198 71	8149 70	8193 69	8173 68	8306 67	8359 66	8345 65	8247 64	8231 63	8026 62	8151 61	8144 60	8136 59	8275 58	8152 57	8226 56	8203 55	8173 54	8198 53
				8229 34	8152 35	8116 36	nr 37	8247 38	8044 39	8136 40	8144 41	8251 42	8193 43	8260 44	8146 45	8267 46	8203 47	8127 48	8173 49	8198 50	8196 51	8149 52		
		8146 33	8193 32	8251 31	8127 30	8260 29	8149 28	8196 27	8267 26	8198 25	8173 24	8193 23	8203 22	8146 21	8149 20	8267 19	8196 18	8198 17	8127 16	8251 15				
							8001 1	8046 2	8102 3	8123 4	8125 5	8149 6	8193 7	8203 8	8050 9	8102 10	8123 11	8046 12	8001 13	8125 14				

← pienāk pie cirsma
` 200 m no 50./51.kv.stigas

 k
v
a
r
t
ā
l
s
t
i
g
a

k
v
a
r
t
ā
l
s
t
i
g
a

7. pielikums

Parceļu izvietojuma shēma 2011.gada apšu hibrīdu klonu salīdzināšanas stādījumā Nr.3003200000763, 764, 765
 Auces MN 114.kv.51.nog., platība 4,57 ha

