

**ZAKLJUČNO POROČILO
O REZULTATIH OPRAVLJENEGA RAZISKOVALNEGA DELA
NA PROJEKTU V OKVIRU CILJNEGA RAZISKOVALNEGA
PROGRAMA (CRP) »KONKURENČNOST SLOVENIJE 2006 – 2013«**

I. Predstavitev osnovnih podatkov raziskovalnega projekta

1. Naziv težišča v okviru CRP:

Povezovanje ukrepov za doseganje trajnostnega razvoja	Prejeto: 25-09-2008	Sig. z.: 015
Šifra zadeve:	63113-243/2006	Pril.: 9

2. Šifra projekta:

V4-0324

3. Naslov projekta:

Karakterizacija patotipov rumene krompirjeve ogorčice *Globodera rostochiensis* in ovrednotenje raznolikosti (polimorfizmov) virulentnih genov

3. Naslov projekta

3.1. Naslov projekta v slovenskem jeziku:

Karakterizacija patotipov rumene krompirjeve ogorčice *Globodera rostochiensis* in ovrednotenje raznolikosti (polimorfizmov) virulentnih genov

3.2. Naslov projekta v angleškem jeziku:

Yellow potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* pathotype characterization and determination of the virulent genes polymorphism

4. Ključne besede projekta

4.1. Ključne besede projekta v slovenskem jeziku:

krompirjeve ogorčice, rumena krompirjeva ogorčica, *Globodera rostochiensis*, nematoda, patotip, virulence, polimorfizem, genetska raznolikost, virulentni geni

4.2. Ključne besede projekta v angleškem jeziku:

potato cyst nematode, yellow potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, nematode, pathotype, virulence, genetic polymorphism, virulence genes

5. Naziv nosilne raziskovalne organizacije:

Kmetijski inštitut Slovenije

5.1. Seznam sodelujočih raziskovalnih organizacij (RO):

/

6. Sofinancer/sofinancerji:

Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano

7. Šifra ter ime in priimek vodje projekta:

20069

Barbara Gerič Stare

Datum: 22.09.2008

Podpis vodje projekta:

dr. Barbara Gerič Stare



Podpis in žig izvajalca:

doc. dr. Andrej Simončič

II. Vsebinska struktura zaključnega poročila o rezultatih raziskovalnega projekta v okviru CRP

1. Cilji projekta:

1.1. Ali so bili cilji projekta doseženi?

- a) v celoti
- b) delno
- c) ne

Če b) in c), je potrebna utemeljitev.

1.2. Ali so se cilji projekta med raziskavo spremenili?

- a) da
- b) ne

Če so se, je potrebna utemeljitev:

2. Vsebinsko poročilo o realizaciji predloženega programa dela¹:

Različne populacije krompirjeve ogorčice so različno virulentne za različne sorte krompirja (gostiteljska rastlina). Znotraj vrste *G. rostochiensis* ločimo pet patotipov (Ro1-Ro5), znotraj *G. pallida* pa tri (Pa1-Pa3), ki jih določimo glede na zmožnost razmnoževanja na določenih kultivarjih in hibridih iz rodu Solanum (Kort, 1974; EPPO, 1981).

1. V sklopu določitve razširjenosti patotipov *G. rostochiensis* na območju Slovenije smo uvedli klasično biološko metodo za določanje patotipa *G. rostochiensis* s testiranjem odpornosti / občutljivosti na različnih kultivarjih rodu Solanum (krompir). Vpeljali smo postopek, kjer s pomočjo koreninskega eksudata spodbudimo izleganje ličink *G. rostochiensis*. Izležene ličinke druge razvojne stopnje smo uporabili v zasnovanih biotestih. V Sloveniji smo potrdili navzočnost patotipa Ro1 vrste *G. rostochiensis*.

Zahteve Evropske Unije o obvladovanju krompirjevih ogorčic so bile opisane v Direktivi 69/465/EEC. Direktivo je nadomestila nova Direktiva 2007/33/EC dne 11.06.2007, vsebinsko je bila dodana zahteva, da je potrebno vsako na novo ugotovljeno populacijo krompirjevih ogorčic identificirati do ravni patotipa hkrati pa določiti tudi virulenco oz. virulenčno skupino. Izkazalo se je namreč, da standardna shema Korta in sodelavcev (1977), ki razvršča populacije v patotipe ni vedno zadostna, saj se določene populacije krompirjevih ogorčic lahko razmnožujejo tudi na rezistentnih kultivarjih in klonih krompirja. Zato so poleg patotipa ali biološke rase uvedli še dodaten termin: virulanca. Virulanca krompirjevih ogorčic populacije se meri s stopnjo razmnoževanja na specifičnem kultivarju ali klonu krompirja. Nova direktiva tako predpisuje nov postopek ovrednotenja vsake novo najdene populacije.

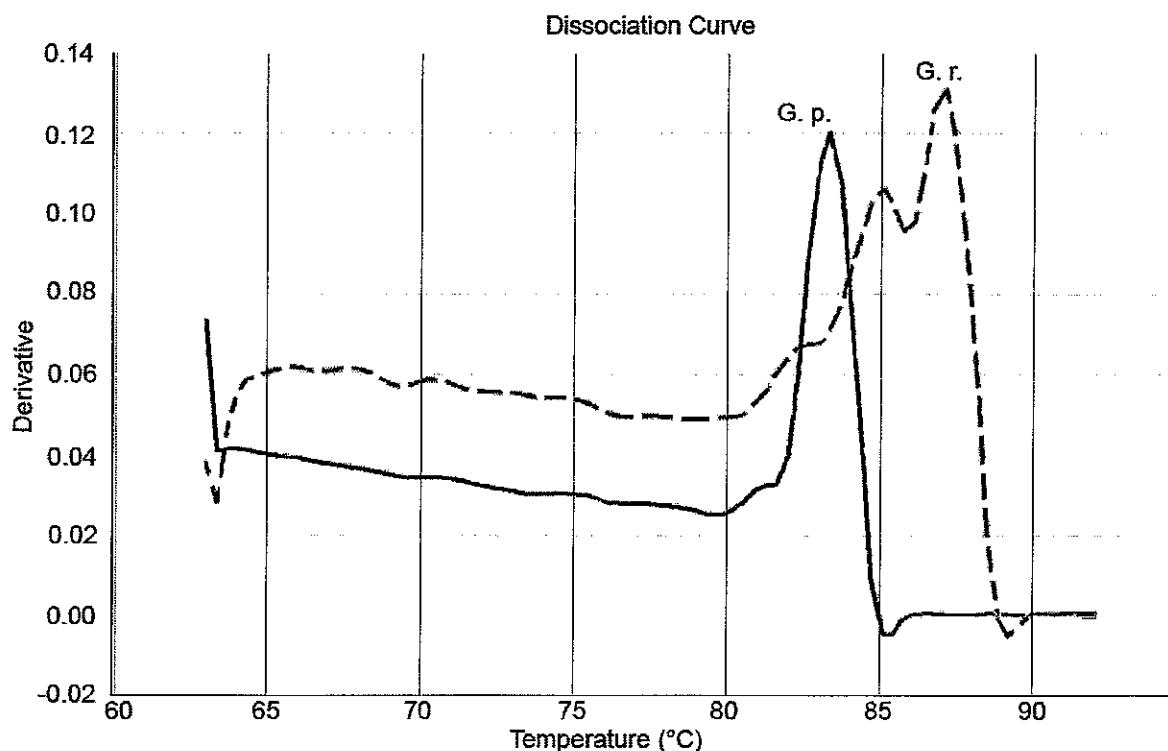
Preučili smo tudi možnost izvedbe biotestov namesto v lončnih poskusih na agarnih ploščah, kar bi pospešilo in pocenilo tovrstne bioteste. Bioteste je sicer moč izvesti na agarnih ploščah, vendar za potrebe uradne determinacije nova evropska direktiva izrecno predpisuje izvedbo biotestov v lončnih poskusih.

V sklopu projekta smo se vključili v mednarodni projekt Euphresco z naslovom Potato cyst nematodes: ring testing methods for identification and resistance testing (1.10.2008-30.09.2009), kjer bomo nadgrajevali in usklajevali metodologijo določanja patotipa in virulence kot jo določa nova direktiva. Glavni namen tega projekta je validacija izbrane metode identifikacije vrste ter poenotenje metodologije določanja virulence krompirjevih cistotvornih ogorčic oz. rezistence kultivarjev krompirja kot to predpisuje nova EU direktiva.

2. V okviru uvedbe molekularnih metod za identifikacijo vrst *G. rostochiensis* in *G. pallida* smo uvedli novo, hitro molekularno-biološko metodo, ki temelji na principu verižne reakcije s polimerazo in detekciji v realnem času (real-time PCR) (slika 1). Prisotnost posamezne vrste testiramo ločeno z vrstno specifičnim parom začetnih

¹ Potrebno je napisati vsebinsko raziskovalno poročilo, kjer mora biti na kratko predstavljen program dela z raziskovalno hipotezo in metodološko-teoretičen opis raziskovanja pri njenem preverjanju ali zavračanju vključno s pridobljenimi rezultati projekta.

oligonukleotidov (za *G. rostochiensis* ITS5 (White in sod., 1990) in PITSp3 (Bulman & Marshall, 1997), za *G. pallida* ITS5 (White in sod., 1990) in PITSp4 (Bulman & Marshall, 1997). Metoda je primerna tudi za identifikacijo mešanih vzorcev cist obeh vrst. DNA smo pomnoževali z aparaturom Applied Biosystems 7500 Real Time PCR System, detekcijo v realnem času je omogočalo barvilo sybr green, rezultate pa smo analizirali z računalniškim programom Sequence Detection Software v1.3 (Applied Biosystems).

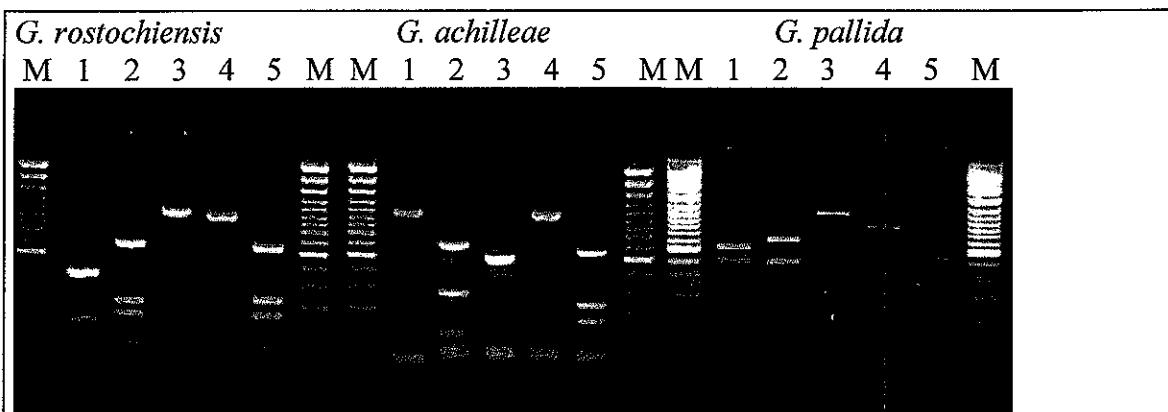


Slika 1: Vrh disociacijske krivulje $87.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ pomeni prisotnost vrste *G. rostochiensis*, $83.3 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ pa prisotnost vrste *G. pallida* v vzorcu.

Novo metodologijo uporabljamo pri rutinski diagnostiki, postopek smo opisali v internem dokumentu, ki je pripravljen v skladu s standardom ISO 9001: »MET-NEM-010 Molekularna identifikacija *Globodera rostochiensis* in *G. pallida* s qPCR.doc«.

Rezultate identifikacije pridobljene po taki metodi smo opisali v članku: BAČIĆ, Jasmina, GERIĆ STARE, Barbara, ŠIRCA, Saša, UREK, Gregor. Analyses of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* populations from Serbia by morphometrics and real-time PCR. *Russian journal of nematology*, 2008, vol. 16, no. 1, str. 63-65.

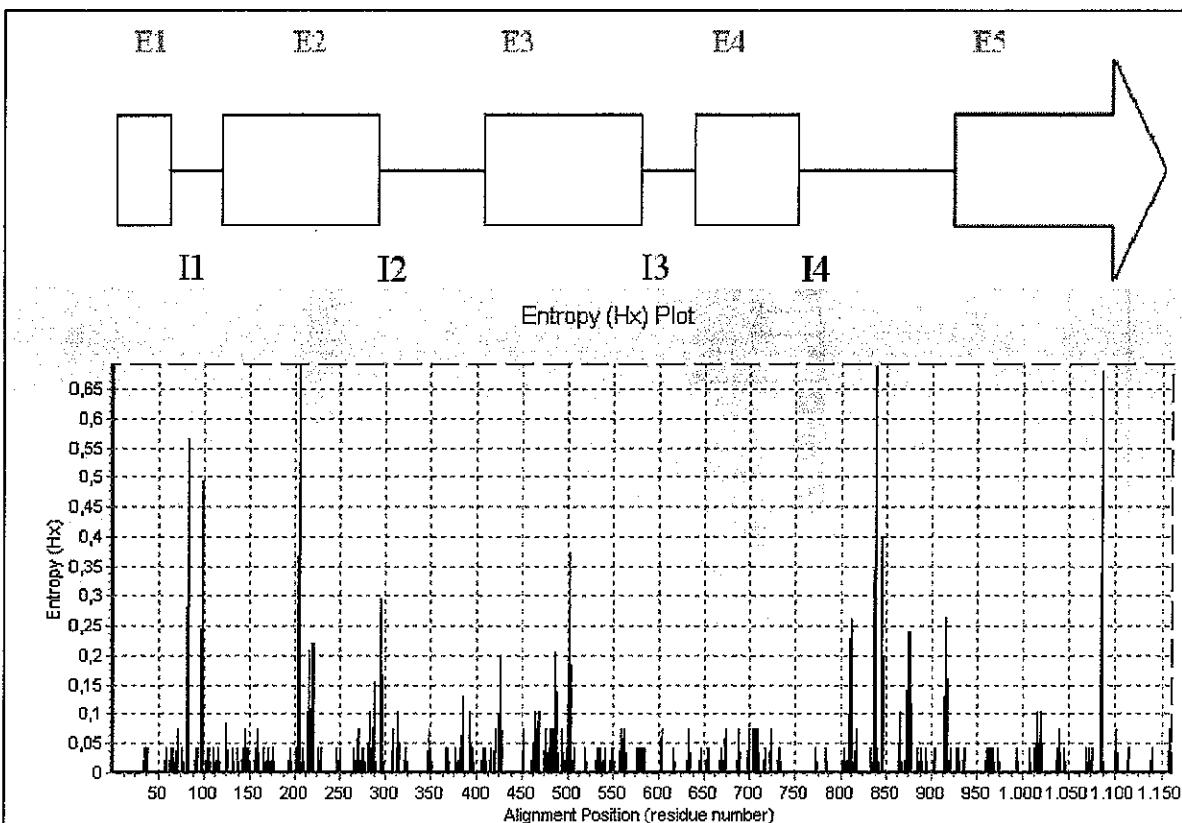
Dodatno smo v sklopu molekularnega dela razvili PCR-RFLP metodo, s katero lahko ločimo med vrstami krompirjevih ogorčic *G. rostochiensis* in *G. pallida* ter z ekonomskega vodika neškodljivo vrste *G. achilleae* (slika 2). V PCR reakciji smo pomnoževali ITS regijo rDNA. Namnožene fragmente smo razrezali s 5 restriktijskimi encimi in tako uspeli ločiti med omenjenimi vrstami ogorčic. Rmanova ogorčica *G. achilleae* je razmeroma pogosto zastopana na pridelovalnih površinah širok po Sloveniji in zato bo novo molekularno orodje pripomoglo k ločevanju med vrstami, ki so paraziti krompirja in neškodljivo vrsto.



Slika 2: RFLP analiza ITS regije loči vrste *G. rostochiensis*, *G. achilleae* in *G. pallida*. Alul (1), Rsal (2), Mspl (3), Hinfl (4), Mbol (5), oznčevalec 100 bp (M).

3. V okviru določanja genetske variabilnosti parazitskih dejavnikov *G. rostochiensis* smo izvedli naslednje raziskave. Na osnovi oznak izraženih zaporedij (ESTs) smo razvili začetne oligonukleotide in uspešno pomnožili dele osem virulenčnih genov (gen za pektat liazo, ekspanzin, superoksid dizmutazo, peroksiredoksin, glutation peroksidazo, dva različna proteina RanBMP ter verjetni virulenčni dejavnik z oznako AW506406). Za nadaljnje raziskave smo izbrali dva ključna gena za proces parazitiranja, gen za ekspanzin B2 in gen za superoksid dizmutazo, za katera smo z reakcijo RT-PCR pokazali tudi prepis v mRNA, torej verjetno izražanje izbranih genov. Ekspanzin B2 je encim, ki zrahlja nekovalentne vezi celuloznih vlaken, pomaga pri razgradnji rastlinske celične stene in tako omogoči parazitski ogorčici prodom v rastlino. Superoksid dizmutaza je encim, ki katalizira pretvorbo strupenega superoksidu (O_2^-) v vodikov peroksid (H_2O_2). Rastline se branijo pred vdorom tujih škodljivih organizmov z oksidativnim izbruhom, ogorčica pa ta napad nevtralizira z izoblikami encima superoksid dizmutaza. Odseke izbranih genov smo pomnožili z reakcijo PCR, nato pa amplikone vstavili v plazmidni vektor ter namnožili v modelnem organizmu *E. coli*. S sekvenčno reakcijo smo določili nukleotidno zaporedje izbranega odseka parazitskega faktorja in analizirali podatke s pomočjo različnih programskega orodij (Bioedit, BLAST, ClustalX, Mega). Testirali smo deset izbranih populacij *G. rostochiensis* različnih patotipov iz Evrope ter Južne Amerike (Slovenija, Nemčija, Bolivija, Venezuela), za vsako populacijo in vsak gen pa smo določili približno 15 zaporedij iz različnih klonov. Preverili smo tudi ponovljivost metode določanja nukleotidnega zaporedja in pokazali 100% ponovljivost naših rezultatov. Analiza sekvenc je razkrila variabilnost med populacijami, znotraj populacije ter celo variabilnost znotraj posameznega osebka.

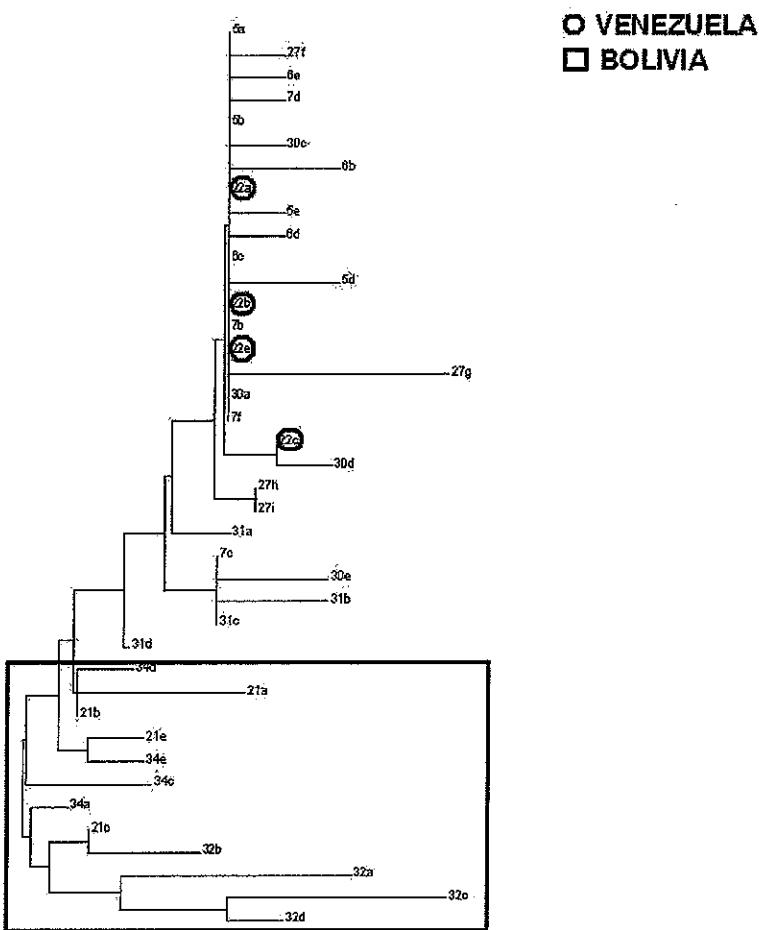
Zaporedja obeh proučevanih genov so variabilna vzdolž celotnega proučevanega odseka, tako v intronih (nekodirajočih predelih genov) kot v eksonih (kodirajočih predelih genov) (slika 3).



Slika 3. Shematski prikaz dela gena *expB2* v *G. rostochiensis* ter grafični prikaz entropije v 138 zaporedjih tega dela gena razkriva variabilnost tako v intronih (I1-4) kot v eksonih (E1-5).

Sekvence *expB2* so razkrile 95% ali večjo identičnost. Večina variabilnosti je bila na račun enobaznih zamenjav, manjši del pa na račun manjših (do nekaj baznih parov dolgih) insercij ali delecijs, večinoma v intronih. Nobena od navedenih raznolikosti v nukleotidnih zaporedjih ni bila značilna za določeno populacijo oz. patotipom, saj smo pokazali veliko variabilnost tako med populacijami, kot tudi znotraj posamezne populacije.

S konstrukcijo dendrograma 138 zaporedij dela gena *expB2* smo analizirali, katere sekvence so si bolj ter katere manj podobne med seboj. Zaporedja šestih evropskih populacij, ki zajemajo različne znane patotipe ter zaporedja venezuelske populacije se prepletajo, zaporedja treh bolivijskih populacij pa tvorijo ločeno, manj sorodno skupino (slika 4). Zaporedja dveh testiranih slovenskih populacij ne tvorijo ločene skupine. Evropske populacije *G. rostochiensis* zajemajo le del genetske variabilnosti, ki jo lahko najdemo v Južni Ameriki. Podobne rezultate so predhodno pokazali tudi za druge molekulske označevalce in niso presenetljivi ob dejstvu, da so krompirjeve cistotvorne ogorčice avtohtone v Južni Ameriki, v Evropo pa so bile prinesene s krompirjem verjetno v sredini 19. stoletja. Vnos v Evropo predstavlja ozko grlo, ki je zmanjšalo genetsko raznolikost zajedavca.



Slika 4: Dendrogram na osnovi 40 reprezentativnih zaporedij dela gena *expB2* prikazuje enako razporeditev in tendence kot dendrogram vseh 138 zaporedij: zaporedja evropskih populacij in venezuelske populacije se prepletajo, zaporedja bolivijskih populacij pa tvorijo ločeno, manj sorodno skupino.

Oznake izraženih zaporedij (ESTs) so pokazale prisotnost dveh genov za ekspanzin pri *G. rostochiensis*: gena za ekspanzin B1 (*expB1*) in ekspanzin B2 (*expB2*). V naši raziskavi smo se omejili na *expB2* in pripravili začetne oligonukleotide, ki so specifični za ta gen. Ko smo izolirali genomsko DNA iz posameznega osebka (ličinke druge stopnje) in določili zaporedje pri 15 klonih, smo dobili 10 različnih zaporedij z 99,1% ali večjo identičnostjo. Ta rezultat nakazuje obstoj genske družine – prisotnost več podobnih genov za podobne molekule ekspanzina B2 v posameznem organizmu. Podobno je bil obstoj genske družine že pokazan za gen *expB1* pri *G. rostochiensis* in drugih rastlinsko parazitskih ogorčicah (Kudla in sod., 2005).

Analiza zaporedja genomske DNA je razkrila prisotnost štirih intronov v proučevanem zaporedju *expB2* pri *G. rostochiensis*. Zelo zanimiv rezultat pa smo dobili, ko smo isti par začetnih nukleotidov uporabili pri sorodni vrsti *G. pallida*. V bazi oznak izraženih zaporedij (ESTs) pri *G. pallida* ni znanega zaporedja, ki bi kazalo značilno podobnost z geni za ekspanzin. Vendar smo v našem poskusu vseeno dobili amplikon, čeprav bistveno

manjši kot pri vrsti *G. rostochiensis*. Analiza sekvence je razkrila, da je to zaporedje zelo podobno zaporedju *expB2* pri *G. rostochiensis*, vendar manjkajo vsi širje introni (GT...AG) (slika 5). Navadno imajo sorodne vrste ohranjeno število in mesto intronov v genih, znani pa so tudi redki primeri, ko so introni prisotni v določeni vrsti in odsotni v sorodni vrsti (Kent & Zahler, 2000). Iz poravnave med samo dvema zaporedjema sicer ni moč določiti, ali gre za izgubo ali pridobitev intronov, ki se je zgodila v evoluciji po ločitvi dveh vrst, vendar se po hipotezi introni lahko izgubijo med popravljanjem napak v dvojni vijačnici DNA.

Intron 1 > <i>G. pallida</i> 151 97 bp	ATCCGAACGAATCTT-----	-GCATGGGCTG
> <i>G. rostochiensis</i> 5d	ATCCGAACGAATCTTGATAAAAATAAATTTAAATTTATCATGAAATTTCATAGGCATGGGCTG	
Intron 2 > <i>G. pallida</i> 151 146 bp	GCCTTGACGCCGGCA-----	-AGCCCCAAAT
> <i>G. rostochiensis</i> 5d	GCCTTGACGCCGGCAAGGTCAAGAGTCAGTCCTGAAATTCAATTAGGCCAAAT	
Intron 3 > <i>G. pallida</i> 151 54 bp	GACTACAAAGGGAAAG-----	-AGTCTGACCG
> <i>G. rostochiensis</i> 5d	GACTACAAAGGGAAAGGGTGCCTAAATTGGTTTCCTGAAACCCCTGAAAGTCGACCG	
Intron 4 > <i>G. pallida</i> 151 294 bp	TGGGCAAAGCAACCGG-----	-GCGCTACGCT
> <i>G. rostochiensis</i> 5d	TGGGCAAAGCAACGGTTAGAATTACATATGTCATGAAATTACAAATTATTTAGGCCCTACGCT	

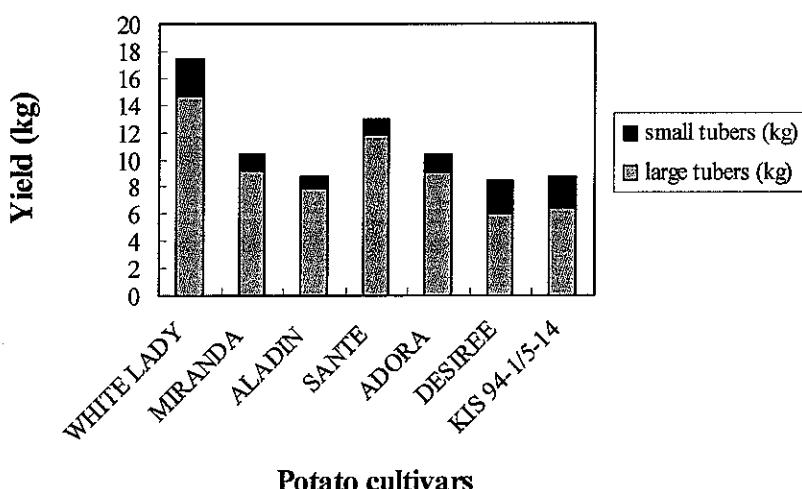
Slika 5: Primerjava zaporedja za gen ekpanzin B2 razkriva odsotnost intronov pri vrsti *G. pallida*.

Podobne analize smo naredili tudi na delu gena za izoencim superoksid dizmutazo. Rezultati so tudi tu pokazali veliko medpopulacijsko kot tudi znotraj populacijsko variabilnost in niso razkrili molekulske označevalcev, ki bi jih lahko uporabili za nedvoumno določitev pripadnosti določeni populaciji oz. patotipu. Proučevano zaporedje za superoksid dizmutazo vsebuje tri introne pri obeh vrstah krompirjevih cistotvornih ogorčic, je pa drugi intron za 80 bp krajsi pri vrsti *G. pallida* kot pri *G. rostochiensis*.

Rezultate tega dela nadgrajujemo v sodelovanju z raziskovalno skupino dr. Erica Grenierja v okviru znanstveno tehnološkega sodelovanja s francosko republiko, program INRA, 2007-2008, naslov projekta Molekulska raznolikost faktorjev patogenosti pri krompirjevih ogorčicah *Globodera pallida* in *G. rostochiensis*. Medtem, ko smo se mi posvetili proučevanju raznolikosti virulenčnih genov pri vrsti *G. rostochiensis*, vrsti, ki se pojavlja v slovenskih tleh, francoska skupina proučuje homologne in druge virulenčne gene pri ozko sorodni vrsti *G. pallida*, ki prav tako napada krompir.

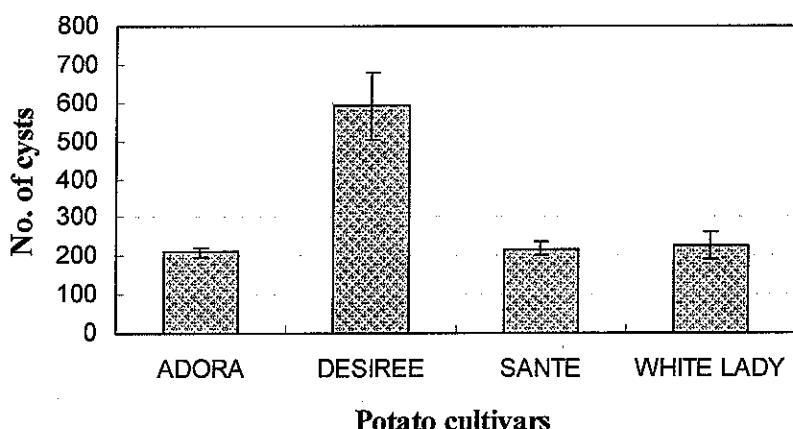
- Izvedli smo poskus za ovrednotenje vpliva različnih slovenskih tolerantnih sort krompirja na dinamiko populacije *G. rostochiensis*. Biološki poskus smo izvedli na njivi v Trenti, ki je bila enakomerno napadena z vrsto *G. rostochiensis* patotip Ro1/4, zasnovan pa je bil v petih naključnih blokih. Za njivski poskus v nasprotju z lončnim poskusom smo se odločili, ker tako zasnovan poskus bolje odraža dejansko stanje, ki ga lahko pričakujemo pri kmetijskem gojenju. Znano je namreč, da je pridelek odvisen tako od gostote populacije krompirjevih ogorčic v zemlji (Seinhorst, 1965) kot tudi od drugih okoljskih dejavnikov kot je recimo tip zemlje (Trudgill, 1986). V poskus smo vključili naslednje sorte: na *G. rostochiensis* patotip Ro1/4 občutljivo sorto krompirja Desiree ter odporne sorte White lady, Miranda, Aladin, Sante in Adora; v preizkušanje smo vključili tudi križanec KIS 94-1/5-14. Na koncu rastne sezone smo ovrednotili vpliv rumene krompirjeve ogorčice *G. rostochiensis* na pridelek preskušanih sort krompirja. Ugotovili

smo, da *G. rostochiensis* ne vpliva le na količino pridelka krompirja, temveč tudi na kakovost pridelka oziroma na velikost krompirjevih gomoljev (slika 6). Najbolj se je izkazala sorta White Lady, ki je dala statistično značilno največji pridelek, njej pa so sledile sorte Sante, Miranda, Adora in Aladin. Najslabši pridelek smo ugotovili pri klonu KIS 94-1/5-14 in sorti Desiree. Pozni sorte White Lady in Sante ter zgodnja sorta Adora so se izkazale kot primerne za gojenje v dolini Trente.

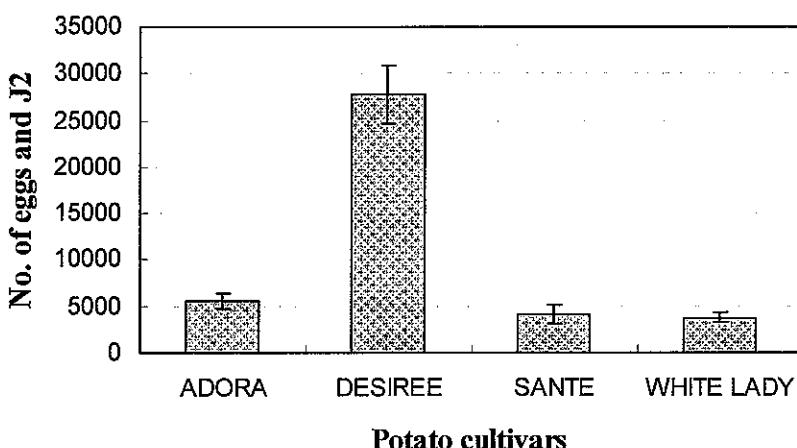


Slika 6: Pridelek krompirja pri različnih sortah krompirja

Ovrednotili smo rezultate študije vpliva na populacijsko dinamiko in ugotovili, da različne sorte krompirja vplivajo na populacijsko gostoto in vitalnost *G. rostochiensis*. Medtem, ko se je število cist *G. rostochiensis* pri sorti Desiree po izkopu krompirja povečalo na 396 % začetne populacije, se je njihovo število pri sortah White Lady, Sante in Adora zmanjšalo na 54 %, 59% oziroma 79% začetne populacije (slika 7). Poleg števila cist smo določili tudi skupno število viabilnih jajčec in ličink druge stopnje (slika 8). Pri občutljivi vrsti Desiree je začetna populacija bistveno narasla, pri odpornih sortah pa se je zmanjšala. Naši rezultati nakazujejo možnost gojenja odpornih sort krompirja kot strategijo gospodarjenja na napadenih območjih.



Slika 7: Skupno število cist *G. rostochiensis* / 100 cm³ vzorca zemlje (začetna populacija Pi = 208 ±50).



Slika 8: Skupno število viabilnih jajčec ter ličink druge stopnje vrste *G. rostochiensis* / 100 cm³ vzorca zemlje (začetna populacija Pi = 7013 ± 2340).

Rezultate smo opisali v članku UREK, Gregor, ŠIRCA, Saša, GERIČ STARE, Barbara, DOLNIČAR, Peter, STRAJNAR, Polona. The influence of potato cyst nematode *G. rostochiensis* infestation on different potato cultivars. *Journal of central european agriculture*. [Online ed.], 2008, vol. 9, no. 1, str. 71-76, graf. prikazi. <http://www.agr.hr/jcea/issues/jcea9-1/index.php>. [COBISS.SI-ID 2706024]

Literatura

Bulman S.R., Marshal J.W. 1997. Differentiation of Australasian potato cyst nematode (PCN) populations using the polymerase chain reaction (PCR). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 25, 123-129.

EPPO. 1981. Data sheets on quarantine organisms No. 125, *Globodera rostochiensis*. EPPO Bulletin 11 (1).

Kent & Zahler, 2000. Conservation, Regulation, Synteny, and Introns in a Large-scale *C. briggsae*-*C. elegans*. Genomic Alignment. *Genome Res.* 10:1115-1125.

Kort J. 1974. Identification of pathotypes of the potato cyst nematode. *EPPO Bulletin* 4, 511-518.

Kort J., Ross H., Rumpenhorst H. J., Stone A.R. 1977. An international scheme for identifying and classifying pathotypes of potato cyst-nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Nematologica*. 23, 333-339.

Kudla U, Qin L, Milac A, Kielak A, Maissen C, Overmars H, Popejus H, Roze E, Petrescu A, Smant G, Bakker J, Helder J., 2005. Origin, distribution and 3D-modeling of Gr-EXPB1, an expansin from the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *FEBS Lett.* 579 (11):2451-2457.

Seinhorst, J. W. (1965). The relation between nematode density and damage to plants. *Nematologica* 11, 137-154.

Trudgill, D. L. (1986). Yield losses caused by potato cyst nematodes: a review of the current position in Britain and prospects for improvement. *Annals of Applied Biology*, 108, 181-198.

3. Izkoriščanje dobljenih rezultatov:

- 3.1. Kakšen je potencialni pomen² rezultatov vašega raziskovalnega projekta za:
- a) odkritje novih znanstvenih spoznanj;
 - b) izpopolnitev oziroma razširitev metodološkega instrumentarija;
 - c) razvoj svojega temeljnega raziskovanja;
 - d) razvoj drugih temeljnih znanosti;
 - e) razvoj novih tehnologij in drugih razvojnih raziskav.
- 3.2. Označite s katerimi družbeno-ekonomskimi cilji (po metodologiji OECD-ja) sovpadajo rezultati vašega raziskovalnega projekta:
- a) razvoj kmetijstva, gozdarstva in ribolova - Vključuje RR, ki je v osnovi namenjen razvoju in podpori teh dejavnosti;
 - b) pospeševanje industrijskega razvoja - vključuje RR, ki v osnovi podpira razvoj industrije, vključno s proizvodnjo, gradbeništvom, prodajo na debelo in drobno, restavracijami in hoteli, bančništvom, zavarovalnicami in drugimi gospodarskimi dejavnostmi;
 - c) proizvodnja in racionalna izraba energije - vključuje RR-dejavnosti, ki so v funkciji dobave, proizvodnje, hranjenja in distribucije vseh oblik energije. V to skupino je treba vključiti tudi RR vodnih virov in nuklearne energije;
 - d) razvoj infrastrukture - Ta skupina vključuje dve podskupini:
 - transport in telekomunikacije - Vključen je RR, ki je usmerjen v izboljšavo in povečanje varnosti prometnih sistemov, vključno z varnostjo v prometu;
 - prostorsko planiranje mest in podeželja - Vključen je RR, ki se nanaša na skupno načrtovanje mest in podeželja, boljše pogoje bivanja in izboljšave v okolju;
 - e) nadzor in skrb za okolje - Vključuje RR, ki je usmerjen v ohranjevanje fizičnega okolja. Zajema onesnaževanje zraka, voda, zemlje in spodnjih slojev, onesnaženje zaradi hrupa, odlaganja trdnih odpadkov in sevanja. Razdeljen je v dve skupini:
 - f) zdravstveno varstvo (z izjemo onesnaževanja) - Vključuje RR - programe, ki so usmerjeni v varstvo in izboljšanje človekovega zdravja;
 - g) družbeni razvoj in storitve - Vključuje RR, ki se nanaša na družbene in kulturne probleme;
 - h) splošni napredok znanja - Ta skupina zajema RR, ki prispeva k splošnemu napredku znanja in ga ne moremo pripisati določenim ciljem;
 - i) obramba - Vključuje RR, ki se v osnovi izvaja v vojaške namene, ne glede na njegovo vsebino, ali na možnost posredne civilne uporabe. Vključuje tudi varstvo (obrambo) pred naravnimi nesrečami.

² Označite lahko več odgovorov.

3.3. Kateri so **neposredni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

- Učinkovitejši nadzor škodljivca *Globodera rostochiensis* v Sloveniji in doprinos h gospodarnejši pridelavi krompirja.
- Vpeljava metod za identifikacijo vrst in patotipov karantensih vrst *G. pallida* in *G. rostochiensis*; za potrebe Fitosanitarne uprave RS.
- Navezovanje stikov s podobnimi laboratoriji v drugih državah.

3.4. Kakšni so lahko **dolgoročni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

- Učinkovitejši nadzor škodljivca *Globodera rostochiensis* v Sloveniji.
- Temeljna znanstvena odkritja in spoznanja s področja variabilnosti parazitskih dejavnikov so osnova za nadaljnje raziskave.

3.5. Kje obstaja verjetnost, da bodo vaša znanstvena spoznanja deležna zaznavnega odziva?

- a) v domačih znanstvenih krogih;
- b) v mednarodnih znanstvenih krogih;
- c) pri domačih uporabnikih;
- d) pri mednarodnih uporabnikih.

3.6. Kdo (poleg sofinancerjev) že izraža interes po vaših spoznanjih oziroma rezultatih?

Raziskovalna skupina dr. Erica Grenierja z inštituta INRA, Rennes, Francija.

3.7. Število diplomantov, magistrov in doktorjev, ki so zaključili študij z vključenostjo v raziskovalni projekt?

dr. Saša Širca

4. Sodelovanje z tujimi partnerji:

4.1. Navedite število in obliko formalnega raziskovalnega sodelovanja s tujimi raziskovalnimi inštitucijami.

1. Sodelovanje z raziskovalno skupino dr. Erica Grenierja na Institut scientifique de recherche agronomique, Rennes, Francija, v okviru Znanstveno tehnološko sodelovanje s francosko republiko, program INRA, 2007-2008, naslov projekta Molekulska raznolikost faktorjev patogenosti pri krompirjevih ogorčicah *Globodera pallida* in *G. rostochiensis*.
2. Sodelovanje z raziskovalno skupino dr. Vivian Blok na Scottish Crop Research Institute, Invergowrie, Dundee, Škotska, delovni obisk od 05.02 – 16.02.2007 sofinanciral The Royal Society of Edinburgh.
3. Sodelovanje z različnimi nematološkimi laboratoriji (Avstrija, Belgija, Francija, Grčija, Irska, Italija, Izrael, Nemčija, Nizozemska, Norveška, Poljska, Portugalska, Španija, Švedska, Švica, Turčija, Velika Britanija) v okviru projekta COST 872: Exploiting genomics to understand plant–nematode interactions.
4. Sodelovanje z različnimi nematološkimi laboratoriji (Avstrija, Belgija, Bolgarija, Češka, Francija, Grčija, Irska, Italija, Nemčija, Nizozemska, Španija, Turčija, Velika Britanija) v okviru projekta Euphresco z naslovom Potato cyst nematodes: ring testing methods for identification and resistance testing (1.10.2008-30.09.2009).

4.2. Kakšni so rezultati tovrstnega sodelovanja?

1. Sodelovanje z raziskovalno skupino dr. Erica Grenierja, INRA: izmenjava znanja, izkušenj ter skupno snovanje nadaljnjih raziskav parazitskih dejavnikov pri ogorčicah iz rodu *Globodera*.
2. Sodelovanje z raziskovalno skupino dr. Vivian Blok na SCRI: delovni obisk od 05.02 – 16.02.2007, izmenjava znanja in izkušenj dela z ogorčicami in molekularno metodo real-time PCR.
3. Projekt COST 872: obisk srečanja vseh vključenih raziskovalnih skupin 1. 2007 ter organizacija takšnega srečanja 1. 2008 v Sloveniji.
4. Projekt Euphresco se šele začenja, glavni namen pa je ovrednotenje izbrane metode identifikacije vrste krompirjevih cistotvornih ogorčic ter vpeljava nove metodologije določanja virulence oz. rezistence kultivarjev krompirja kot to predpisuje nova EU direktiva.

5. Bibliografski rezultati³ :

Za vodjo projekta in ostale raziskovalce v projektni skupini priložite bibliografske izpise za obdobje zadnjih treh let iz COBISS-a) oz. za medicinske vede iz Inštituta za biomedicinsko informatiko. Na bibliografskih izpisih označite tista dela, ki so nastala v okviru pričajočega projekta.

V PRILOGI

³ Bibliografijo raziskovalcev si lahko natisnete sami iz spletnne strani:<http://www.izum.si/>

6. Druge reference⁴ vodje projekta in ostalih raziskovalcev, ki izhajajo iz raziskovalnega projekta:

dr. Barbara Gerič Stare in dr. Saša Širca člana upravnega odbora projekta COST 872.

⁴ Navedite tudi druge raziskovalne rezultate iz obdobja financiranja vašega projekta, ki niso zajeti v bibliografske izpise, zlasti pa tiste, ki se nanašajo na prenos znanja in tehnologije.
Navedite tudi podatke o vseh javnih in drugih predstavivah projekta in njegovih rezultatov vključno s predstavivami, ki so bile organizirane izključno za naročnika/naročnike projekta.

