



Информация за изпълнение на етап на проект

Наименование на конкурса:
Конкурс за финансиране на научни изследвания - 2017 г.
Основна научна област:
СЕЛСКОСТОПАНСКИ НАУКИ
№ на договор: ДН16/7
Начална и крайна дата на проекта: 11.12.2017 - 11.06.2019
Заглавие на проекта:
Проучвания на икономически важни вирусни патогени по череша и вишна
Базова организация:
АгроБиоИнститут (АБИ), София, България
Партньорски организации:
Институт по Земеделие (ИЗ), Кюстендил
Ръководител на научния колектив (академична длъжност, научна степен, име):
Проф. дсн Иванка Любенова Каменова
Общ размер на отпуснатото финансиране за първи етап:
60 000 лв.
Интернет страница на проекта (ако има такава):
-
Научни публикации по проекта:
1. Kamenova I., Borissova A., Popov A., 2019. The incidence and genetic diversity of Prune dwarf virus in sweet and sour cherry in Bulgaria - приета за публикуване: <i>Biotechnology and Biotechnological Equipment</i> - издаден сертификат от списанието.
2. Kamenova I., Borissova A., Popov A. Occurrence of Ilarviruses in sweet and sour cherry in Bulgaria. Готова за <i>Bulgarian Journal of Agricultural Science</i> .



Описание на очакваните резултати по проекта (до 1 стр. в рамките на полето по-долу):

Очаквани резултати

Работен пакет 1: Проучвания на PNRSV, PDV и ArMV (Har - вирусна група).

Дейност 1.1 Визуално обследване на дървета от производствени и опитни насаждения от череша и вишна. Вземане на проби, описание на симптомите и фотодокументиране. Съхранение.

Очакван резултат: Морфологична диагностика: наличие/отсъствие на характерните за отделните патогени симптоми или регистриране на нови, и не наблюдавани до момента такива при отделните видове/сортове.

Дейност 1.2 Серологични анализи.

Очакван резултат: Установяване на степента на заразеност с PNRSV, PDV и ArMV в различни по възраст насаждения и райони; Маркиране на дървета с единични и/или смесени инфекции и установяване на тяхното влияние.

Дейност 1.3 Молекулярен анализ:

Очакван резултат: Молекулярно доказване и на трите причинителя;

Получаване на секвенции, на данни за ниво на идентичност между български изолати и референти такива, и на данни за еволюционни взаимоотношения.

Установяване на наличието/отсъствието на ArMV в полен, семена и части на семето.

Дейност 1.4 Биологични тестове на отбрани, молекулярно доказани изолати от PNRSV и PDV:

Очакван резултат: Установяване на наличие/отсъствие на биологични различия между изолати на вирусите.

Работен пакет 2: Проучвания на LChV-1 и LChV-2 (Clostero - вирусна група) - причинители на болестта "дребноплодие"

Дейност 1.1. Визуално обследване на дървета от производствени и опитни насаждения от череша и вишна. Вземане на проби, описание на симптомите и фотодокументиране. Съхранение.

Очакван резултат: Морфологична диагностика: наличие/отсъствие на характерните за болестта симптоми или регистриране на нови, и не наблюдавани до момента такива при отделните видове/сортове.

Дейност 1.2. Молекулярен анализ.

Очакван резултат: Разграничаване на LChV-1 и LChV-2;

- Установяване на LChV-1и LChV-2 в страната и степен на заразеност с всеки един;

- Получаване на секвенции, на данни за ниво на идентичност между български изолати и референти такива, и на данни за еволюционни взаимоотношения.



Дейност 1.3. Инокулиране (chip-budding) на български сортове череша и вишна, селекция на ИЗ, гр. Кюстендил с LChV-1и LChV-2;
Очакван резултат: Определяне на възможността българските сортове да бъдат заразени с причинителите на болестта “дребноплодие.

Членове на научния колектив

Организации/участници¹	Бележка²
Базова организация:	
АгроБиоИнститут, гр. София	



Ръководител на научния колектив	
Проф. д-р Иванка Любенова Каменова	
Участници:	
Здравка Милкова Моллова – докторант	отчислена на 16.01.2019г. по здравословни и семейни причини
Грозденка Василева Варадинова - техник	
Катя Славова Добрева- техник	
Партньорска организация:	
Институт по Земеделие, гр. Кюстендил	
Участници:	
Доц. д-р Анелия Здравчова Борисова - Крумова	
Доц. д-р Николай Димчов Христов	
Даниела Асенова Атанасова- агротехник	
Партньорска организация:	
Участници:	
Партньорска организация:	
Участници:	

1 Отбележете академичната длъжност, научната степен, име и фамилия на всеки участник като включите и участниците, които са работили по проекта не през целия период за изпълнение на проекта

2 Отбележете дали участникът в колектива е млад учен (МУ), постдокторант (ПД), докторанти (ДО) или студенти (СТ), или учен от чужбина (УЧ).



Постигнати резултати от изпълнението на проекта и кратък анализ на тяхната приложимост (до 1 стр. в рамките на полето по-долу)

В рамките на работен пакет 1 проведохме **визуални обследвания** на черешови и вишневи дървета в 43 производствени насаждения в районите на Петрич, Сандански, Симитли, Кюстендил, Сливен, Пловдив и Кранево, гр. Троян, в три колекционни насаждения (Институт по Земеделие (ИЗ) и Институт по планинско земеделие и животновъдство, (ИПЗЖ) гр. Троян), както и на единично растящи дворни дървета в районите гр.София, гр. Стрелча и гр. Елена. Бяха взети общо 2090 листни проби със/или без вирусно-подобни симптоми за серологични и молекулярни анализи.

Данните от **серологичните тестове** показваха, че средното ниво на инфекция с PNRSV и PDV в насажденията от череша и вишна в обследваните райони е 19.2%. Преобладаващ вирус по череша е PDV, докато вишната е заразена основно от PNRSV.

След екстракцията на тотална РНК от листа на череша заразени с PDV и от листа на череша и вишна заразени с PNRSV проведохме **двустепенния вариант на RT-PCR метод.** Четиринадесет изолата на PDV от череша бяха секвенирани в областта кодираща капсидния протеин. Сравнителният анализ на нуклеотидните и аминокиселинните последователности на изолатите показва, че те са, съответно 87-100%^{BO} и 93-100%^{BO} идентични. Нуклеотидните и аминокиселинни последователности на българските PDV изолати депозирахме в NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) и същите получиха номера за достъп, съответно **МК139682-МК139693 и МК392155-МК392156.**

Четиринадесет изолата на PNRSV от череша и вишна секвенирахме в областта кодираща капсидния протеин и получените нуклеотидни и аминокиселинни последователности депозирахме в NCBI, и същите получиха номера за достъп, съответно **МК392157- МК392171.** Резултатите от сравнителният анализ на нуклеотидните и аминокиселинни последователности на изолатите на PNRSV показаха сравнително широк диапазон на нуклеотидна идентичност (79% 100%), докато на ниво аминокиселинен състав те са 98%-100%^{BO} идентични. Получените секвенции в областта кодираща капсидния протеин на анализираните изолати на PDV и PNRSV анализирахме филогенетично с изолати на двата вируса от други географски области. Болшинството от българските изолати на PDV сформират група с изолати на вируса от Европа, САЩ и Канада. Във филогенетично отношение българските изолати на PNRSV към втора с представител PV96. Смята се, че изолатите принадлежащи към група PV96 индуцират по инфектираните дървета слаби симптоми (хлоротични и/или некротични петна, като често инфекцията е и латентна), което е в съответствие с наблюдаваните от нас симптоми по заразените дървета.

Работен пакет 2: В резултат на проведеното обследването в



черешовите насаждения в районите на Кюстендил, Сливен и Симитли бяха взети общо 31 листни проби от дървета показващи признаци подобни на тези причинявани от LChV-1 и LChV-2. След изолиране на тотална РНК беше проведен двустепенният вариант на RT-PCR метод с праймерни двойки за двата вируса специфични за фрагментите от гена кодиращ methyltransferase от ORF1a. Получените резултати показаха наличието на LChV-1 в една проба от череша от района на гр. Кюстендил. Този изолат на вируса беше секвениран и получената нуклеотидна и аминокиселнна последователности депозирахме в NCBI, под номер за достъп **MG458879**.