



АГРАРЕН УНИВЕРСИТЕТ – ПЛОВДИВ
ЦЕНТЪР ЗА НАУЧНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ, ТРАНСФЕР НА ТЕХНОЛОГИИ И ЗАЩИТА
НА ИНТЕЛЕКТУАЛНАТА СОБСТВЕНОСТ

Пловдив 4000; бул. Менделеев № 12; e-mail: nic_au_plovdiv@abv.bg

Тел. +359/32/654420; 654427, www.au-plovdiv.bg

AGRICULTURAL UNIVERSITY - PLOVDIV

Bulgaria, 4000 Plovdiv, 12 Mendleev Str., e-mail: nic_au_plovdiv@abv.bg

Tel. +359/32/654420; 654427, www.au-plovdiv.bg

Информационен лист

за научните проекти, финансирани целево от държавния бюджет

1. Тема на проекта

Молекулярна идентификация, биохимично характеризиране и *in vitro* изследване на антимицробната активност на представителите от род *Beauveria* срещу фитопатогени

2. Научен колектив

Научен ръководител: ас. д-р Величка Спасова - Апостолова

Членове:

доц. д-р Йорданка Карталска

доц. д-р Младен Найденов

гл. ас. д-р Мариана Петкова

гл. ас. д-р Славея Петрова

3. Цел и задачи на проекта

Целта на настоящето проучване е да се изследва взаимодействието между избрани представители на ентомопатогенните гъби от род *Beauveria* към представители от род *Fusarium*, род *Alternaria* и род *Rhizoctonia*, причиняващи заболявания по някои стопански значими култури в *in vitro* условия и молекулярното им изследване с оглед идентифициране, генотипиране и възможност за бъдещото им приложение в биологичното земеделие.

За постигане на поставената цел се изпълниха следните задачи:

- Изследване на антимицробната активност на изолатите от род *Beauveria* към представители от род *Fusarium*, род *Alternaria* и род *Rhizoctonia* в *in vitro* условия.
- Първоначален скрининг за ензимна активност (протеолитична, липолитична, хитиназна, синтез на сидерофори и ИОК) на представителите от род *Beauveria*.
- Молекулярно характеризиране на изолатите.
 - Секвениране на уникални региони от генома на изследваните микроорганизми.
 - PCR- анализи със SCAR маркери за идентифициране на представителите от род *Beauveria*.
 - Провеждане на iPBS и ISSR реакции за генотипиране.

4. Основни резултати

Общо 23 изолата от *Beauveria* spp. бяха изследвани *in vitro* срещу *Alternaria solani*, *Fusarium graminearum* и *Rhizoctonia solani* чрез четири култивационни метода. В резултат са установени различни нива на противогъбична активност срещу тествани фитопатогени. Най-висока противогъбична активност на изолатите от род *Beauveria* е отчетена по метода на

съвместно култивиране. По отношение на тестваните фитопатогени най-висока обща противогъбична активност е отчетена срещу *Alternaria solani*.

Изследваните 23 изолата проявяват различни нива на протеолитична, липолитична и хитиноподобна активност. Общо 48% от изследваните изолати проявяват висока протеолитична активност. При 13 % е отчетена най-висока липолитична активност. Установена е висока хитиноподобна активност при 43% от изследваните изолатите. В настоящето проучване е изследван и *Bbchit1* гена, кодиращ хитиназа, чрез праймери, позиционирани в секвенцията му. В резултат фрагмент с очаквана дължина е амплифициран при повечето изследвани представители от род *Beauveria*.

От тестваните за производство на сидерофор изолати най-голям синтез е отчетен при 501, 644, 648 и 733.

Изследвани са и концентрациите на индол-3-оцетна киселина на представителите от род *Beauveria*. Най-висока концентрация на индол-3-оцетна киселина е измерена при изолати 270, 561, 743 и 759, а най-ниска - при изолат 501.

За да се тества възможността за използването на SCAR маркери за гъби от род *Beauveria*, при изследваните изолати са проведени PCR реакции с трите двойки SCAR праймера. В резултат SCAR маркер 445 bp води до амплифициране на фрагменти с очаквана дължина само при 9 изолата. SCAR маркер 441 bp показва най-ниска специфичност и се амплифицира фрагмент с очаквана дължина при 17 от изследваните изолати. SCAR маркер 677 bp води до амплифициране на фрагмент с очаквана дължина при 14 от изследваните изолати. При 8 от изолатите (623, 626, 629, 640, 648, 717, 733 и 759) се амплифицират специфични фрагменти и с трите двойки SCAR маркери.

За секвениране на специфични D1/D2 и ITS региони на изследваните представители от род *Beauveria* са използвани ITS 5 и обратния NL 4 праймери, обхващащи и двата региона. Извършен е сравнителен анализ на резултатите от секвенирането чрез BLAST в NCBI база данни за определяне на идентичността им спрямо наличните секвенции. От проведения секвенционен анализ е установено, че около 80% от секвенираните изолати показват най-голямо сходство с аотираниите секвенции на *B. bassiana*.

В настоящето изследване освен ISSR е въведена и използвана и ретритранспозон базирана молекулно маркерна техника iPBS.

За установяване на ефективността и избора на най-подходящите за изследваните изолати праймери са проведени 20 iPBS и 7 ISSR реакции с избрани представители. При използваните PCR условия в различните реакции се амплифицират от 2 до 14 фрагмента с различни дължини в диапазон от 75 bp до 3000 bp.

iPBS молекулно маркерната техника е ефективна за изследване на представители от род *Beauveria* и води до генериране на голям брой фрагменти и до амплифициране на полиморфни профили.

5. Публикации за отчетния период, свързани с работата по проекта/отпечатани или под печат/, с библиографско описание на статиите*.

Velichka V. Spasova-Apostolova, Veselina B. Masheva, Mariana K. Petkova, Nurettin T. Tahsin., Endophytic Colonization of Tobacco Plants (*N. tabacum*, L., ssp. *Orentalis*) by the Strain 538 of Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences, Vol 74, № 6, pp. 928-936.

Реферирано в Scopus и WEB of Science

*след библиографското описание на статиите се посочва, кои от тях са реферирани в Scopus и/или WEB of Science.