

Авторска справка
за научните приноси на трудовете
на доцент д-р ЕЛЕНА ТОМОВА ЯКИМОВА

**във връзка с участие в конкурс за заемане на академичната длъжност „Професор” в Институт по
декоративни растения - София**

I. Научни приноси СЛЕД ХАБИЛИТИРАНЕ ЗА ДОЦЕНТ (от Списък А. на публикациите)

Приносите от научно-изследователската работа за периода след хабилитирането на д-р Елена Т. Якимова за доцент могат да бъдат систематизирани в следните основни направления: *проучвания върху процесите на програмирана клетъчна смърт като форма на реакция на растенията към абиотични стресови въздействия, като защитен механизъм при взаимодействията растение - патоген, като фактор на развитието при формирането на проводящата система (ксилогенеза) и при стареенето; приложение на растежни регулатори и други биологично активни вещества за контролиране на растежа и развитието на декоративни растения in vitro; стрес физиология; физиология на отрязан цвят; приноси от научно-приложни разработки.*

I. 1. Проучвания върху процесите на програмирана клетъчна смърт - нова научна област

Програмираната клетъчна смърт (ПКС) е процес на самоунищожение на клетките, който е неразделна част от естествените процеси на развитие и съпътства реакцията на еукариотните организми към стресови фактори. При растенията ПКС играе важна роля при формирането на тъкани и органи, при ембриогенеза, при абиотични стресови въздействия и като защитен механизъм в условия на биотичен стрес. Специфична форма на ПКС е реакцията на свръхчувствителност (РС) при нападение от патогени. Растението иницира програма на самозащита, която се изразява в ПКС на клетките атакувани от патогена. С този процес растението ограничава разпространението на инфекцията. РС лежи в основата на устойчивостта към болести. Форма на ПКС е и процеса на стареене на растителните клетки, тъкани и органи. Пример за ПКС при развитието е ксилогенезата (формиране на клетъчните елементи на ксилемната проводяща тъкан),

Поради това че са директно свързани с качеството на растителната продукция (репродукция, развитие, стареене, реакция към абиотичен и биотичен стрес, съхранение), проучванията върху ПКС са едно от най-приоритетните направления в агро-биологичните науки в световен мащаб.

С проучванията на доц. Е. Якимова върху ПКС в ИДР-София е обосновано ново научно направление. В периода 1999-2002 година Якимова е първият български автор на публикации в тази област на изследвания в растителната биология. Получените резултати представляват оригинален принос с фундаментален характер.

Научните изследвания обхващат проучвания върху морфологични, физиологични, биохимични и молекулярни механизми на ПКС и целят изясняване на някои ключови процеси в клетъчната сигнализация и регулация на процеса. Извършени са проучвания върху ПКС при: РС, в хода на ксилогенезата, при стареенето и в отговор на абиотичен стрес (нараняване, тежки метали) и др.

Научните разработки се отнасят до сравнителни дискуссионни въпроси, които понастоящем са обект на активни проучвания в чужбина и от някои работни групи у нас.

Проучванията са извършени в моделни системи от растителни клетъчни култури, интактни или изолирани органи на декоративни и други видове растения. В клетъчна култура от циния е изследвана ПКС като основен механизъм на процеса на ксилогенеза (публ. А: 10, 15); при венчелистчетата от гипсофила е проучвана ролята на ПКС при стареенето (А: 12, 19, 30); при интактни листа от ябълка е изследвана РС при заразяване с бактерията *E. amylovora*, причинител на огнен пригор при видове от сем *Rosaceae* (5); в изолирани листа от тютюн е проучвана РС в отговор на заразяване с *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (А: 34) и при инокулиране с токсини от гъбните патогени *Alternaria*

alternata (АТ токсин) (А: 13, 25) и ксиланаза от *Aspergillus awamori* (А: 13); в клетъчни култури от домати и тютюн са проучени редица патотипове на ПКС при третиране с тежки метали, гъбни и бактериални токсини и растителни алкалоиди, растителни хормони, антиоксиданти, модулатори на фосфолипидния метаболизъм и метаболизма на етилен и азотен оксид и други (А: 4, 10, 15, 16, 21 – 24, 26-28, 31, 36, 37, 41); при хламидомонас се проучени процеси на сигнализацията на ПКС индуцирана от токсин от оса (А: 6, 11, 17).

За изучаване на механизмите на ПКС са прилагани съвременни методи за анализ като: инхибиторен подход с използване на инхибитори на различни биохимични сигнализационни процеси, молекулярен анализ на ДНК и генна експресия на специфични ПКС ензими, високотехнологична светлинна, флуоресцентна и конфокална микроскопия, лазерно-базирани методи за определяне на етилен и азотен оксид, газова хроматография и др.

- В моделните системи от клетъчни култури от тютюн и домати са изследвани процесите на сигнализация и морфологичната проява на програмираната клетъчна смърт (ПКС) в отговор на индуктори с абиотичен и биотичен произход – етанол, фузонизин, камптотесин, тежките метали кадмий и алуминий и др. Получени са **нови** сведения за ролята на каспазо-подобни ензими (растителни функционални аналози на цистеиново аспартатните протеази (каспази) в животинските организми), оксидативния стрес, растителния хормон етилен, фосфолипидния метаболизъм. Резултатите са **принос към фундаменталните знания** за процесите на ПКС при растенията. Изследванията откриват възможност за по-нататъшни проучвания свързани с влиянието на химически съединения върху стрес реакцията при цели растения. Експерименталните данни могат да се приложат при създаването на растения за повишена устойчивост към абиотични и биотични стрес фактори. Това определя потенциал за **практическо** приложение на фундаменталните открития.
- Процесът на ксилогенезата е форма ПКС при развитието. В моделна система от ксилотенна клетъчна култура от мезофилни клетки от циния е установено **за първи път в света**, че каспазо-подобни ензими играят роля в контролирането на клетъчната смърт на трахеарните елементи (ТЕ) – мъртви клетки, които формират структурата на проводящата система. Показано е, че чрез инхибиране на каспазо-подобните протеази може да се забави процеса на ПКС, което води до нарастване на ТЕи и формиране на структури на проводящата система с по-големи размери. Получените сведения имат важно **фундаментално значение с потенциал за приложение** при генетични манипулации за създаването на сортове декоративни растения с подобрен воден баланс при съхранението на отрязания цвят и при интактни растения за възстановяване на водния поток след воден стрес.

За научна публикация отразяваща горепосочените изследвания във връзка с ксилотенезата ин витро, в сп. BMC Plant Biology, доц. Якимова е награждена с Ротарианско отличие за най-добро постижение на български учен в областта на растителната биология през 2010.

- **С фундаментално значение** са установените при стресиране на суспензионни клетки от едноклетъчното водорасло *Chlamydomonas reinhardtii* с мастопаран (токсин от оса и активатор на мембранните G протеини) нови форми на проява на ПКС при хламидомонас, като стимулиране на каспазо-подобен ензим, специфично разрушаване на структурата на ДНК и смесен тип морфология на клетъчната смърт. Изследването включва методи за ензимен анализ с използване на флуорогенен субстрат, Кометен анализ и ледъринг анализ на ДНК, флуоресцентна и конфокална микроскопия.
- Изследванията върху реакцията на свръхчувствителност (РС) (форма на ПКС) имат **фундаментален и научно-приложен** характер и представляват стъпка към разработването на принципно нов подход за борба с болестите при растенията, базиращ се на контролиране на процесите на ПКС. В **новоразработена** моделна система включваща точково инокулиране на интактни листа с бактерията *E. amylovora* РС е проучена в устойчиви, толерантни и чувствителни сортове ябълка и при тютюн. Установено е, че морфологичната проява на РС не се различава при сортовете ябълка с различна степен на чувствителност към огнен пригор и че растителният хормон етилен и активните кислородни форми (АКФ) участват активно в медиацията на клетъчната смърт при изпитаните устойчиви и чувствителни сортове. Установена е **за първи път** генна експресия на вакуоларно процесиращ ензим (ВПЕ), която се проявява само в устойчивия сорт ябълка. Тези сведения са **нова информация и предполагат, че генната експресия на ВПЕ може да служи за маркер на листна устойчивост** на ябълка към *E. amylovora*.
- Установено е, че развитието на инфекцията в изолирани листа от тютюн, инокулирани с *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, може успешно да бъдат подтиснати с инхибитори, специфични за процеси съпътстващи програмираната клетъчна смърт (пептидни инхибитори на каспазите, инхибитори на серинови протеази, инхибитор на калциевите канали). Показано е, че инхибирането на клетъчната смърт в зоната на пряко

попадение на бактерията се съпровожда от редуциране на количеството на водородния пероксид (индикатор за ограничаване на оксидативния стрес), намаляване на малондиалдехида (индикатор за степента на разрушаване на клетъчните мембрани) и снижаване на активността на протеазите (индикация за подтискане на протеолитични процеси).

- При заразяване на изолирани листа от тютюн с филтрат, съдържащ АТ токсин на *Alternaria alternata* е установено, че смъртта на клетките в зоната на инокулиране може да бъде подтисната с помощта на инхибитори на протеолизата, антиоксиданти и инхибитор на фосфолипаза С. Тези сведения дават информация за сигнализационни процеси при РС.
- Показано е, че токсинът ксиланаза изолиран от гъбата *Aspergillus awamori* предциква РС, която може да бъде подтисната чрез използване на инхибитори на синтеза на растителния хормон етилен.
- В моделна система от отрязани цветове от гипсофила е установено, че ПКС е ранен етап от генетичната програма на стареенето на венчелистчетата, който се съпътства от фрагментиране на ДНК (увеличаване броя на TUNEL позитивните ядра) още преди видимите прояви на увяхване.
- При отрязани листа от маруля е установено, че механичният стрес при нараняване води до ускоряване на процесите на стареене съпроводено с акумулиране на АКФ. Третирането на листата с азотен оксид води до значително подтискане на синтеза на АКФ, забавяне на процесите на стареене и удължаване на съхраняемостта. Получените сведения са **нови и са с фундаментален и научно-приложен характер**. (ръкопис е депозиран в списание с импакт фактор в чужбина).
- **Принос към обогатяване на знанията** по проблемите на ПКС са публикуваните две обзорни статии, които към момента на публикуването им обобщават най-съвременните постижения в областта на ПКС и РС при растенията (29, 31).

Като цяло, получените сведения по тематиката на ПКС са нови, допринасят за изясняване механизмите на клетъчната смърт и имат потенциал за прилагане на фундаменталните открития в практиката за подобряване качеството на растенията в условия биотични и абиотични стресогенни условия на околната среда.

Постиганията в това научно направление са публикувани в 28 научни статии (27 след хабилитиране за доцент и 1 преди това) в международни списания, предимно в чужбина, като по-голямата част от тях са с висок импакт фактор и трудовете са цитирани в множество изключително престижни чуждестранни научни издания. С материали свързани с проучванията върху ПКС доц. Якимова е участвала в 27 научни мероприятия – конференции, работни срещи, семинари у нас и в чужбина, от които за 11 доклада е била поканен лектор.

I. 2. Приложение на растежни регулатори и други биологично активни вещества за контролиране на растежа и развитието на декоративни растения

- Проучванията в това направление обхващат изследвания върху приложението на растежни регулатори от групата на цитокинините и ауксините и влиянието им върху физиолого-биохимични процеси при растителни тъканни култури и дават **допълнителни сведения** за специфичността на физиологичната реакция в зависимост от растителния вид.
- **Оригинални** са установените морфологични различия в структурата на хлоропластите при два сорта рози, различаващи се по степента на апикална доминантност (А: 35).
- При *in vitro* култивирана *Rosa hybrida* L., е показана по-висока активност на фенилкарбамидния цитокинин CPPU в сравнение с БА за преодоляване на апикалната доминантност и инхибиращият ефект на индолмаслената киселина (А: 42). Установено е, че стимулирането на растежа и развитието на експлантите е в корелация с повишаване активността на пероксидазата и α -амилазата и с намаляването на общата протеазна активност под влияние на приложените в хранителната среда цитокинини (А: 45). При тъканни култури от роза е показано, че нивата на свободните и свързани полиамини се влияят от добавените в хранителна среда цитокинини (А: 32). При мини роза е проучен ефекта на цитокинини от пуринов и фенилкарбамиден тип върху растежа и развитието *in vitro* (А: 18).
- **Нова информация** е получена при *in vitro* култивиране на персийска теменужка (*Exacum affine* Balf.) на хранителна среда с добавка на цитокинини. В контраст с резултатите при *in vitro* култивирана *Rosa hybrida* L., е установено че БА има по-силен стимулиращ ефект върху растежа и развитието на експлантите в сравнение с CPPU, без признаци на витрификация и в корелация с повишаване на активността на гваякол пероксидазата като индикатор за позитивния ефект на цитокинините върху снижаване на оксидативния стрес (А: 33).

- **Принос с научно-приложен и фундаментален характер** са изследванията върху ин витро размножаване на магнолия. Проучени са различни видове експлант и комбинации на растежни регулатори за въвеждане в култура, изпитани са редица основни хранителни среди, включително нетрадиционни за магнолия, както и различни комбинации и концентрации на пуринови и непуринови цитокинини и ауксини и е проучено влиянието им върху показател на растежа и развитието в етапите на мултипликация и вкореняване, Установена е специфичност на реакцията към компонентите на хранителната среда в зависимост от генотипа (А: 1, 2). **Научно-приложен принос** са оптимизирани хранителни среди за микроразмножаване на ясен и японска вишна (А: 9)

1. 3. Стрес физиология

Изследванията адресират физиологичния отговор на декоративни видове към абиотични и биотични стрес фактори

- **Теоретично-приложно значение** имат проучванията върху метаболизма на етилена при отрязан цвят от карамфил. Установено е нарастване на количеството на стресовия етилен при механично нараняване на изолирани плодници, стълбчета и венчелистчета от карамфил. Показано е, че инхибирането на синтеза на етилен води до удължаване на живота на отрязания цвят (А: 7).
- При заразяване на растения от лилиум с *Fusarium oxysporum f. sp. lilii* или *lily symptomless virus* и в отговор на третирането с хербицидите флуазифопбутил и куизалофопетил са получени резултати, показващи, че физиологичната стрес-реакция на растенията включва нарастване на съдържанието на свободен пролин, повишаване на активността на протеазите и намаляване на количеството на хлорофила (А: 38).
- За изучаване реакцията към засушаване е разработена ин витро стрес система с добавяне на полиетиленгликол в средата за мултипликация и е тестирана толерантността към воден стрес на нови български сортове мини карамфил. Установена е прогресираща дозова зависимост от концентрацията на ПЕГ като негативен ефект от стреса. Получените експериментални данни предоставят ценна информация за физиологичните механизми (**фундаментален принос**) и поведението на изследваните цветя в условия на воден стрес. Резултатите от ин витро анализите са с **научно-приложен характер** и които откриват възможност в ранен етап от развитието на растенията да се извършва отбор на устойчиви към засушаване генотипове (А: 20).
- При пшеница е установен антидотен ефект на фенилкарбамидния цитокинин 4-PU-30 срещу хербицида хлорсулфурон, което има **практическо значение** (А: 39).

1. 4. Физиология на отрязан цвят

Научно-изследователската работа в този раздел обхваща проучвания върху теоретични и приложни аспекти на стареенето на отрязан цвят от няколко декоративни култури: роза (*Rosa thea hybrida*), далия (*Dahlia variabilis* Desf.) и лилиум (*Lilium sp.*). Получените резултати **разширяват познанията** за физиолого-биохимичната характеристика на стареенето и **обогатява сведенията** за механизма на действие на някои фитоефектори с възможности за практическо приложение за забавяне на увяхването на отрязани цветя. Изследванията в това направление имат **фундаментално и приложно значение** (А: 40, 43, 44)].

1. 5. Други проучвания върху декоративни растения

Публикувана е научна статия за проучвания върху дивите видове от род *Limonium* (8). Статията описва състоянието на естествените находища от застрашени от изчезване видове от род *Limonium* в България и методика за опазването им включваща размножаване ин витро и култивиране *ex situ*.

1. 6. Други научни изследвания в областта на физиологията и биохимията на растенията

Принос към знанията за фармакологичните свойства на бялата мъртва коприва (*Lamium album* L.) е публикуваната обзорна статия в сп. Phytochemistry Reviews (3). Статията предоставя **нова информация** като обобщава последните сведения за химическата структура и биологичната активност на екстракти от различни органи на мъртвата коприва и описва редица приложения в медицината..

1. 7. Приноси от научно-приложни разработки

Доц. Якимова е учствала в разработването на 2 публикувани технологии – за отглеждане на гладиол и мини-карамфил за отрязан цвят.

II. Научни приноси ОТ ТРУДОВЕТЕ НА Д-Р Е. ЯКИМОВА ПРЕДИ ХАБИЛИТИРАНЕ ЗА ДОЦЕНТ (от Списък Б. на публикациите)

Приносите от научно-изследователската работа за периода **преди хабилитирането на д-р Е. Якимова за доцент** могат да бъдат систематизирани в следните основни направления: **Физиология на отрязан цвят; Приложение на растежни регулатори за контролиране на размножаването, растежа и развитието на декоративни растения; Проучвания върху програмна клетъчна смърт; Проучвания върху храненето и други физиологични и биохимични процеси при декоративни култури; Приноси от научно-приложни разработки**

II. 1. Физиология на отрязан цвят

Научно-изследователската работа в този раздел обобщава **комплексно проучване** върху теоретични и приложни аспекти на стареенето при отрязан цвят от редица декоративни видове (*Dianthus caryophyllus*, *Rosa thea hybrida*, *Chrysanthemum molifolium*, *Gerbera jamesonii*, *Mathiola incana*, *Freesia sp.*, *Calistephus sinensis*, *Dahlia variabilis* Desf., *Gladiolus sp.*, *Alstroemeria sp.*, *Iris holandica*. и др.), **разширява познанията** за физиолого-биохимичната характеристика на стареенето и **обогаत्या сведенията** за механизма на действие на някои биологично-активни вещества с възможности за практическо приложение.

Изследванията в това направление имат **фундаментално и приложно значение**.

- С цел регулиране на развитието и забавяне на стареенето на отрязани цветя са тествани около 20 биологично-активни вещества при повече от 15 вида и над 30 сорта растения. Получена е **нова информация** за забавяне на стареенето с помощта на растежни регулатори от групата на пуриновите и непуринови цитокинини, ретардант, фитоефектори с антиетиленово (сребърен нитрат, аминокиселина) и бактерицидно действие и други физиологично-активни вещества (Б. 2, 3, 5, 7, 9, 11, 16, 20). Изследвани са някои неизпитани в този аспект съединения – лавендотрицин (антибиотик), монохидразид на янтарната киселина (МХЯК), хидразин, хлорсулфурон (Глийн-75), фузамицин, фундазол и др. **Оригинален принос** са получените сведения за удължаване на жизнеността на цветовете при третирането им с лавендотрицина като заместител на сребърния нитрат при забавяне на увяхването при фрезия, матиола, гербера, карамфил, алстромерия, невен. Чрез използване на ретардантите Алар и ССС е постигнато забавяне на стареенето при хризантема, астри, ирис, гербера. **Фундаментално-приложен** характер имат резултатите за установената по-висока активност на хлорсулфурон за забавяне на пожълтяването на листата, стимулиране развитието на цветните пъпки и забавяне на стареенето при роза, гладиол, лилиум и др., в сравнение с използването на бензиламинопурин. Тези сведения дават **допълнителна информация** за по-високата активност на фенилкарбамидните цитокинини в сравнение с пуриновите и разглеждат дискуссионен въпрос за приликите и разликите в действието на тези групи цитокинини в зависимост от вида на растенията и моделната система.
- С **практическо значение** са препоръчаните третираня за съхранение на отрязани цветя и разработките за дългосрочно съхранение на цветна продукция.
- Характеризирани са физиологичните ефекти и са изяснени някои от механизмите на действие на растежни регулатори при стареенето. **С фундаментална значимост** в тази насока са изследванията върху **нови страни на механизма** на действие на някои конвенционални, нетрадиционни и нови фитоефектори. **Теоретичен принос** представлява проучването на влиянието на ефективни за забавяне на стареенето и неизползвани в това направление биологично-активни вещества върху основни физиологични показатели (активност на инвертаза, а-амилаза, съдържание на редуциращи захари, свободен пролин, количество на пластидни пигменти, скорост на фотосинтеза). Получена е **допълнителна информация** за метаболитната реакция и свързаните със стареенето изменения във физиологичния статус на растителни видове. Показано е, че активностите на а-амилазата и инвертазата се стимулират при третирането с цитокинини и захароза, като това е в съответствие със забавяне на процесите на стареене, стимулиране на въглеродния метаболизъм, запазване на съдържанието на хл. »а« и хл. »б«, повишаване на скоростта на фотосинтезата и забавяне на критичното повишаване на дишането при отрязани цветове (Б: 22, 26, 27).
- С помощта на метода на газовата хроматография, са получени **нови сведения** и е създадена по-цялостна картина на метаболизма на етилена в компонентни части на цветовете от карамфил, в зависимост от органната специфичност, стареенето, стресови фактори и екзогенно приложени растежни регулатори от

групата на ауксините (Б: 6).

- С **теоретично-приложен** характер са изследванията, показващи, че някои ензимни и неензимни стрес-маркери (α-амилаза, пролин) могат да се използват за индикатори на стрес-реакция при развитието на пъпките и стареенето на цветовете при мини-карамфил, хризантема, далия, гладиол, лилиум, алстромерия и др. (Б: 5, 7, 9, 11, 22, 23, 26, 27).

II. 2. Приложение на растежни регулатори за контролиране на размножаването, растежа и развитието на декоративни растения

Изследванията по тази тематика поставят на **ново научно равнище** и дават **допълнителна информация** за възможностите за използване на растежни регулатори в практиката с оглед повишаване устойчивостта към стресови фактори, за регулиране на хабитуса при саксийни растения, за повишаване на размножителния коефициент, за контролиране на времето на цъфтеж, за вкореняване и подобряване на качеството на различни видове растения.

- Установено е повишаване на размножителния коефициент на луковичите от лале (*Tulipa gesneriana*) при третирането им с препарати, чиято основна съставка е НОК. Получени са резултати, че янтарната киселина и кумарин стимулират вкореняването на резници от карамфил (Б: 24).
- **Теоретично-приложен** характер имат проучванията върху ефекта на полиамина ДЕТА и цитокинините 4-PU-30, тидиазурон и Глийн-75 при спатикулум (*Spathiphyllum hybridum*), където е показано, че прилагането на тези фитоефектори в ювенилна фаза от развитието води до повишаване на броя на страничните издънки и броя на листата и е подходящо за използване в практиката (Б: 18).
- При каланхое (*Kalanchoe blossfeldiana*) и саксийна хризантема и е установено, че листното третиране с ретарданти ефективно намалява височината на растенията, повишава броя на образуваните цветове и забавя времето на настъпване на цъфтежа. Получена е полезна за практиката **потвърдителна информация** за ефекта на паклобутразол, хлорхолинхлорид (ССС) и даминозид (Алар) (Б: 12).
- Пр ин витро размножена роза е проучен ефекта на пуринови и непорунови цитокинини върху активността на пероксидаза във връзка с преодоляване на апикалната доминантност (Б: 8). Получените резултати изясняват някои от механизмите на регулацията на апикалната доминантност и имат **фундаментален характер**.

II. 3. Проучвания върху програмирана клетъчна смърт

- Извършени са първите проучвания на д-р Якимова върху ПКС в моделна система от суспензионни клетки от домат и е получена **нова информация** показваща че стресирането на домати с алкалоида камптотеин води до проява на морфологични, биохимични и молекулярни маркери на ПКС (Б: 1)

II. 4. Проучвания върху храненето и други физиологични и биохимични процеси при декоративни видове

- Извършени са проучвания върху влиянието на различни субстрати и агрохимичната им характеристика върху растежа и качеството на каланхое и спатикулум. **Принос за практиката** и съществени от **екологична** гледна точка са резултатите за използването на многокомпонентни субстрати с намалено съдържание на торф (Б: 4, 10, 17, 19).
- Във връзка с интродуцирането на нови видове е получена информация за биологичната характеристика на растенията при отглеждане на нови за страната сортове лизиантус (*Lissiantus russelianum* Hook) и е изследван ефекта на различни температурни режими върху кълняемостта на семената [Б: 13, 14, 15].
- **Теоретично-приложен** характер имат проучванията върху възможността за колориметрично охарактеризиране на цвета на плодовете от пипер (*Capsicum annuum*) (Б: 28, 29, 30).

II. 5. Приноси от научно-приложни разработки

- **Принос с приложна значимост** са две **оригинални** технологии за дългосрочно съхранение на отрязан цвят от мини-карамфил и астри.
- В **научно-приложен аспект** важно значение имат разработената и одобрена от Европейския съюз интегрирана стратегия по съхранение на отрязан цвят в България (Б: 21)