



СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Станислава Йорданова Грозева-Тилева, научна специалност „Селекция и семепроизводство на културните растения“, професионално направление 6.1. Растениевъдство, ИЗК „Марица“, Пловдив, член на научното жури, назначена със Заповеди №№ НП-08-85/11.08.2017 год. и НП-05-73/24.08.2017 год.

Относно: Дисертационен труд на тема: „Молекулярно характеризиране на колекция от мутанти и близкородствени форми пипер“, за придобиване на образователна и научна степен „доктор“ в професионално направление 6.1. Растениевъдство, научна специалност „Селекция и семепроизводство на културните растения“.

Автор на дисертационния труд: Величка Володиева Спасова-Апостолова – докторант в редовна форма на обучение, към научен отдел: „Селекция, сортоподдържане и интродукция“, при ИЗК „Марица“, Пловдив.

Научни ръководители: проф. д-р Нася Борисова Томлекова – ИЗК „Марица“, Пловдив и доц. Ивелин Йорданов Панчев – СУ „Св. Климент Охридски“, София.

1. Актуалност на проблема

Съвременната селекция все повече се нуждае от методи, ускоряващи и улесняващи процеса на създаване на нови сортове, отговарящи на нуждите на съвременното общество. В тази връзка дисертационният труд е част от една от най-актуалните области на селекцията, а именно молекулярната селекция.

Мутагенезисът е в основата на създаване на генетично разнообразие чрез индуцирането на промени в генома. Ефективността на мутационната селекция значително се увеличава чрез прилагането на молекулярни техники за оценка, особено при идентифицирането и характеризирането на промените в стопански ценни признаци. Разработването на подходящи ДНК базирани маркери намалява нуждата от фенотипна изява и дава възможност за ранно откриване на желаните признаци. От друга страна, то позволява изучаване на генетичния потенциал на различни систематични нива.

Проведените в дисертационния труд експерименти са насочени към прилагане на молекулярно-маркерни системи за изследване степента на полиморфизъм при пипер, както и за молекулярно-генетично характеризиране на мутантна линия пипер с повишена концентрация на β -каротен. Получената в тази насока информация има голямо практическо приложение в селекцията на линии пипер с повишено ниво на вещества с антиоксидантни свойства.

2. Познаване на проблема

В литературната справка са цитирани 261 заглавия, от които само 10 са на кирилица и 251 на латиница. Над 30% от литературните източници са от последните 10 години, което още веднъж потвърждава актуалността на разработваната тематика.

Литературният обзор включва два основни раздела: молекулярно-маркерни системи за оценка на генетичното разнообразие и генетичен контрол при биосинтезата на каротеноиди и свързани с нея генни мутации. Задълбочеността и последователността в този раздел показва добрата осведоменост на докторантката по проблемите, над които работи. Това ѝ е позволило да включи натрупаните познания при обобщаване и интерпретиране на получените в дисертационния труд резултати.

3. Методика на изследването

Методите представени в дисертационния труд са съвременни, адекватни и отговарящи на поставената цел. Използвани са ДНК базирани маркерни системи за установяване на полиморфизъм (SINE-базирани ISAP реакции, RAPD анализи), избрани въз основа на приложимостта им при различни растителни видове, в това число и представители на сем. *Solanaceae*. За идентифициране на мутация в генома на пипера, свързана с повишени нива на β -каротен, са приложени още, ген-специфични PCR реакции, RT-PCR реакции, клониране и секвениране.

Проведените изследвания са извършени със 74 генотипа пипер, включващи колекция от културни, диви и мутантни форми и осем български сорта картофи.

Репрезентативността на получените резултати е постигната чрез прилагане на биоинформатични програми и бази данни. Клъстерен анализ е приложен за групиране и онагледяване на полиморфните профили при пипер и картофи.

4. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите.

Дисертационният труд е представен на 162 стандартни страници и включва 19 таблици и 41 фигури. Разделен е съгласно възприетите изисквания, като раздели „Резултати” и „Обсъждане” заемат по обем най-голяма част – 81 страници (50%). Таблици с растителния материал, праймерни секвенции и секвенции и резултати от секвениране на гените *CrtZ_{chr03}* и *CrtZ_{chr06}* са представени в отделно приложение от 161 страници. Научните резултати са адекватно отразени в пет извода и осем приноса.

Поставената цел, а именно подбор на молекулно-генетични маркерни системи за оптимизиране и улесняване на селекционния процес при пипера, както и молекулярно-генетично характеризирание на мутантен сорт пипер с повишена концентрация на β -каротен е постигната в пет добре оформени задачи.

Използвани са две молекулно маркерни системи (ISAP и RAPD) за характеризирание на генитичното разнообразие при пипер и картофи. В резултат на оптимизиране на условията за PCR-реакциите са отделени три праймерни двойки, чрез които всички изследвани български сортове картофи са генотипирани с характерен ISAP профил. Правилно, като се има предвид генетичната близост между двата вида, тези SINE-базирани ISAP реакции са приложени при пипер. С две от праймерните двойки SolS-II-F/SolS-II-R и SolS-V-F/SolS-V-R е постигнато разделяне на видово ниво – представителите на вида *C. annuum* от *C. baccatum*.

С цел постигане на разграничаване на вътревидово ниво (изходни генотипи от индуцирани мутанти от вид *C. annuum*), докторантката е приложила друга молекулно-маркерна техника – RAPD. С четири от 19-те изследваните праймери – A13, A18, B01 и B10, са разграничени: генотип Златен медал *ms* 8 от мутант 1929 и Пазарджишка капия 749 от близко родствения мутантен генотип Оранжева капия.

Втората основна група изследвания в дисертационния труд са насочени към гена β -каротен хидроксилаза - ключов в синтеза на β -каротен. Извършено е амплифициране, клониране и секвениране на *CrtZ_{chr03}* и *CrtZ_{chr06}* гените, а чрез последващ биоинформатичен анализ е доказван типа на мутацията в генотип Оранжева капия. Установена е делеция на гена *CrtZ_{chr03}* на 3^{та} хромозома, водеща до нарушение в каротеноидния биосинтетичен път и като резултат е оранжевият цвят на плода и натрупването на високи нива β -каротен в плодовете.

Обсъждането на получените резултати, връзката с други автори, показва, че докторантката добре е запозната с изследванията в съответните области. Това ѝ дава свобода да прави заключения и обобщения, които от една страна обясняват получените в настоящия

труд резултати, а от друга – чертаят насоки за бъдещи експерименти. Като най-съществен принос с конкретно практическо значение, освен идентифицирането на специфични профили при картофите, е прилагането на молекулен маркер за ранен отбор на растения с мутация, водеща до високи нива на β -каротен. Това би ускорило селекционна работа при пипера, при създаване на нови сортове, съчетаващи висока продуктивност, устойчивост на болести и високи нива на вещества с антиоксидантни свойства.

5. Публикации

Във връзка с дисертационния труд са публикувани в колектив четири научни публикации. Три от тях са на английски език в списания с импакт фактор и една – в сборник с научни трудове.

6. Автореферат

Предоставеният автореферат е изготвен съгласно изискванията и отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд.

7. Бележки и препоръки

- Легендите под някои от фигурите, например - 8, 9 10, 12, 13, 14, 16, 30, са много дълги. Текстът под тях повтаря отраженото на самата фигура, което е видимо и ясно, и излишно утежнява дисертацията.

- Съществува ли признат сорт Оранжева капия?

- Какъв подход, вече от позицията на извършена изследователска дейност, би използвала докторантката за генотипиране на различни сортове пипер?

8. Заключение

Представените ми за рецензия материали по дисертационния труд напълно отговарят на изискванията за придобиване на образователната и научна степен „доктор”, съгласно ЗРАСРБ и Правилника за приложението му към ССА.


Докторантката е усвоила и приложила съвременни молекулярни методи, с помощта на които е характеризирала колекция от мутантни и близкородствени форми пипер. Големият по обем литературен преглед показва добро познаване на материята. Налице е задълбочено интерпретиране на получените резултати. Приносителите и изводите произтичат логично от извършената експериментална дейност и позволяват бъдещото успешно прилагане на молекулните маркери в селекцията на пипер.

Всичко това ми дава основание на оценка **ПОЛОЖИТЕЛНО** дисертационния труд.

Позволявам си да предложа на почитаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на докторант Величка Володиева Спасова-Апостолова образователната и научна степен „доктор” в професионално направление 6.1. Растениевъдство, научна специалност „Селекция и семепроизводство на културните растения“.

21.09.2017 год.

Изготвил становището:


/доц. д-р Ст. Грозева-Тилева/