



Становище за ОНС „Доктор“

## СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Нася Борисова Томлекова

член на научното жури, назначена със Заповед №№ НП-08-85/11.08.2017 год.

Институт по зеленчукови култури „Марица“, Пловдив

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“, в област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.1 Растениевъдство, научна специалност – „Селекция и семепроизводство на културните растения“.

**Автор:** Величка Володиева Спасова-Апостолова

**Форма на докторантурата:** редовна форма на обучение към научен отдел: „Селекция, сортоподдържане и интродукция“, при ИЗК „Марица“, Пловдив

**Тема:** „Молекулярно характеризирание на колекция от мутанти и близкородствени форми пипер“

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

### Общо представяне на процедурата и докторанта

Величка Спасова-Апостолова е завършила висше образование - бакалавър по Молекулярна биология и Магистър по Микробни биотехнологии към Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“. Владее немски и английски език. Като докторант тя взема участие в национални проекти към ССА, към ДФНИ и международни проекти към МААЕ. Докторантът участва в национална научна конференция. Член е на Съюза на учените в България.

Представеният от Величка Спасова-Апостолова комплект материали на хартиен носител по дисертацията е в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в РБ и Правилника за неговото приложение.

#### 1. Актуалност на тематиката

Пиперът е втората по значимост зеленчукова култура за България, подложена на интензивна селекция. Чрез мутационна селекция, биотехнологии, отдалечена хибридизация, индивидуален и масов отбор са индуцирани мутации или е извършен пренос на гени, кодиращи ценни признаци, определящи високото му качество. В настоящата дисертация са характеризирани мутантни линии от *Capsicum annuum* (индуцирани и спонтанни), българските сортове пипер и образци от различни видове от род *Capsicum*, култивирани в местата на произход на вида и колекционирани и поддържани като генетичен резерв за бъдещото подобряване на културата.

#### 2. Познаване на проблема

Литературната справка се състои от 261 съвременни литературни източника, от които 251 на латиница. Изчерпателната и целенасочено събраната информация в този раздел



потвърждава факта, че докторантката е много добре осведомена по основните постижения, свързани с разработваните проблеми в дисертацията.

### 3. Методика на изследването

В методиката на изследването са подбрани анализи, проведени с методи (стандартни или нови, прилагани за първи път при пипера), описани и успешно усвоени от докторанта:

- **Изолиране на ДНК и РНК**, необходими за последващите молекулярни анализи, което е проведено със СТАВ протокол, както и с китове;
- **PCR амплификации чрез SINE-базирани ISAP реакции**. Проведени са в колекция от различни образци пипер, подбрана така, че да осигури разнообразие за изпитване ефективността на молекулярната техника. Изследваните образци са групирани като: (1) видове и подвидове от род *Capsicum*, различни от *C. annuum*, индуцирани мутанти, спонтанни мутанти, сортове, образци с чуждестранен произход, местни образци от *C. annuum*. Съставени са профили на фрагментите за всяка една от реакциите, генерирани при всички изследвани образци пипер. За сравнение ISAP реакции са проведени също и при българските сортове картофи. При този вид, принадлежащ към същото семейство Solanaceae, както и пиперът, след пълното секвениране на генома чрез биоинформатични инструменти са установени SINE фамилиите. От секвенциите на SINE елементите са конструирани праймери за провеждане на ISAP реакции, което се извършва за първи път в колекцията от разнородни културни форми от *Capsicum*.
- **Проведени са RAPD анализи** в една от групите на изследваните образци пипер – индуцираните мутанти.
- **Ген-специфични PCR амплификации** на целеви гени, както и на фрагменти в близост до тях от извънгенните региони, кодиращи двете хидроксилази при пипера, осъществяващи превръщането на бета-каротен в бета-криптоксантин в биосинтетичния път на каротеноидите. Проведени са поредица от реакции на амплификация за сравнение между мутант (с *bc* мутация), изходен (родителски) генотип и сорт от колекцията.
- **Клонирание и секвениране** на амплифицираните припокриващи се фрагменти. Изолирани са фрагменти от двата гена, кодиращи хидроксилазите при сортовете (*CrtZ<sub>chr03</sub>* - при изходен и друг немутантен от колекцията на ИЗК „Марица“, но който не е изолиран при мутанта; *CrtZ<sub>chr06</sub>* – при трите изследвани сорта – мутантен и немутантни).
- **Биоинформатичен анализ** за конструиране на праймери, както и за анализ на получените данни от секвенирането.

### 4. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Поставената цел, разгърната в пет добре формулирани задачи, е постигната: прилагане на молекулно-маркерни системи за оптимизиране и улесняване на селекционния процес при пипера чрез откриване на нови образци - източници за подобряване качеството



на пипера, а също и молекулярно характеризирани на мутантен сорт пипер с повишена концентрация на  $\beta$ -каротен.

В голяма степен постиженията при прилагането на молекулярни техники за установяване на анонимни молекулни маркери и молекулярно характеризирани в тази дисертация са направени благодарение включването на подходящи растителни материали, в т. ч. различни видове от род *Capsicum* и индуцирани мутанти с благоприятни за селекцията признаци. Те са за генотипирани, установени са характерни молекулярни профили, отличаващи ги от останалите образци.

Извършен е молекулярен анализ на мутацията, водеща до завишени нива на бета-каротен, който съответства на предварителните биохимични анализи, въз основа на които е изградена хипотезата и правилно са насочени молекулярните анализи. Анализът на секвенциите дават възможност да се допусне делеция на хромозома 3, включваща ген *CrtZ<sub>chr03</sub>*, а секвенцията на *CrtZ<sub>chr06</sub>* на хромозома 6 остава незасегната.

Оригиналността на дисертацията произтича и от установените резултатите, респ. изводи. Индуцираните мутантни генотипи се характеризират с много добър наследствен потенциал за повишаване на бета-каротена, биологичноактивно вещество – генетичен резервоар за подобряване на качествените показатели. Изследванията в дисертационния труд скъсяват пътя за целенасочената селекция на подходящи линии с подобро качество, а това позволява да се посрещнат местните селекционни предизвикателства.

Дисертацията е правилно структурирана по раздели, стилово издържана. Резултатите, онагледени с 19 таблици и 41 фигури, са дискутирани във връзка с постиженията на други автори по проблема и са интерпретирани умело. Правилно формулирани, научните изводи съответстват на целите, резултатите и дискусията. От тук научните приноси са постигнати по отношение на наличните алели - наследствените фактори, отбраните перспективни линии, които са добра перспектива за бъдещото подобряване на пипера. Ценно е също така и въвеждането на нова технология (ISAP) за характеризирани на генетичното разнообразие на представителите на пипера.

#### **6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта**

Величка Спасова-Апостолова представя четири публикации в реферирани издания. Първата публикация е на български език, а другите три - на английски, като те са в научно списание с импакт фактор.

#### **7. Автореферат**

Авторефератът съответства на представените в дисертацията резултати и изводи и е оформен съгласно изискванията.

#### **8. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати**

Научната стойност на дисертационния труд насочва вниманието към внедряване на оценените мутантни линии в селекцията и регистриране на мутантен сорт. Растителните ресурси, характеризирани с нови благоприятни алели, имат потенциала да се разшири

спектъра на полезни качества и биха послужили за решаване на други проблеми в селекционната практика.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В дисертационния труд целите и задачите са изпълнени. Постигнатите научни и научно-приложни резултати представляват оригинален и значим принос в науката и отговарят на всички изисквани критерии според Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ССА, София. Представените материали и резултати в дисертацията напълно съответстват на специфичните изисквания на ИЗК „Марица“ за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд доказва, че докторантката Величка Спасова-Апостолова притежава знания, експериментален опит и професионални качества за целенасочено и самостоятелно провеждане на научни изследвания на високо теоретично ниво. Напълно подкрепям кандидатурата на Величка Спасова-Апостолова да получи научната и образователна докторска степен в посочената област.

Въз основа на гореизложеното, като член на научното жури убедено давам своята *положителна оценка* за проведеното изследване, представено от дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси и *предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“* на Величка Володиева Спасова-Апостолова в област на висше образование: 6.1 Растениевъдство, научна специалност „Селекция и семепроизводство на културните растения“.

21.09.2017 год.

Изготвил становището: ..... 

/проф. д-р Нася Б. Томлекова/