

РЕЦЕНЗИЯ

Върху дисертационния труд на тема: **”Цитогенетично проучване върху геномните и хромозомни взаимодействия в анеуплоидни и алоплазмени форми между *Triticum* и *Secale*”** за присъждане на образователна и научна степен „Доктор”, по научна специалност „Генетика”, шифър 01.06.06.

Автор на дисертационния труд: гл. асистент Виолета Николова Късовска, докторант на самостоятелна подготовка в секция „Цитогенетика”, Институт по физиология на растенията и генетика, БАН, София

Рецензент: проф. д-р Спаска Димитрова Петкова

Дисертационният труд на Виолета Николова Късовска е посветен на проблема за геномните и хромозомни взаимодействия в анеуплоидни и алоплазмени форми между *Triticum* и *Secale*.

Независимо от това, че свързаните с този проблем въпроси са били в центъра на вниманието на големи изследователски колективи в света, поради специфичната си цитогенетична структура тритикале продължава да представлява интерес в теоретичен план на настоящия етап като модел за изучаване на структурнофункционалната еволюция на комплексния геном и сложните ядрено-цитоплазмени взаимоотношения.

На фона на непрекъснато увеличаващата се човешка популация в света нараства и консумацията на житни, както за директна консумация от човека, така и за фураж на животните. По тази причина създаването на нови сортове с по-висок добив и нови житни култури остава приоритетна задача в глобален мащаб.

Ограниченото сортово разнообразие при тази синтетична култура в сравнение с традиционните налага все повече необходимостта от създаването на нови сортове с ценни качества чрез успешно съчетаване на подходящи пшенични и ръжени генотипове с добра кръстосваемост и полиплоидизираща способност.

Въз основа на посочените аргументи актуалността и научната значимост на проведените изследвания в дисертационния труд не могат да бъдат подложени на никакви съмнения.

Дисертационният труд е написан на 182 машинописни страници и съдържа 19 фигури и 11 таблици. Библиографията обхваща 463 заглавия от които 16 на кирилица и 447 на латиница. Той е изграден по класическата схема и оформен в 5 глави, резюме, изводи и приноси и използвани литературни източници.

В литературния обзор компетентно са разгледани въпросите свързани с кръстосваемостта на наши и чужди пшенични сортове *T.aestivum*, техни анеуплоидни и алоплазмени линии с ръжта и жизнеспособността на хибридите им семена.

Авторът основателно акцентира върху цитологическата нестабилност, високата анеуплоидна честота, редуцираната фертилност и набръчкаността на семената силно изразени в първите създадени форми тритикале, което е станало отправна точка за преодоляване или редуциране на тези репродуктивни недостатъци в бъдещи експерименти на редица изследователи. Професионално са разгледани причините за неуспешната конюгация на хомеоложните хромозоми в новосъздадените форми първично тритикале; влиянието на ядрено-цитоплазменото взаимодействие върху нивото на конюгация в MI; ефекта на различните източници на цитоплазма върху мейотичното поведение на пшеничните и ръжените хромозоми; наличието на хетерохроматинови блокове в ръжените хромозоми като причина за получаване на аберантни ядра в ендосперма, водещи до празнини в него и набръчканост на семената.

Разгледани са и морфологичните характеристики на F₁ пшенично-ръжени хибриди.

Специално място е отделено на диференциалното C-бендинг оцветяване като най-подходящ метод за хромозомна идентификация при растенията и в частност при житните.

На отделни места са допуснати излишества по отношение историята на създаване на тритикале и описанието на мейотичното поведение. Като цяло обаче, литературният обзор разкрива солидна професионална култура и способност за компетентна интерпретация на получените експериментални резултати в областта на тритикале, превърнало се днес в традиционна житна култура със стопанско значение. Това е позволило на автора точно да дефинира целта на дисертационния труд. Поставените 2 основни задачи и 4 подзадачи спомагат за реализиране на поставената цел.

Раздел „Материали и методи“ впечатлява с богатството на включения в експерименталната работа растителен материал. Макар и да липсва конкретна обосновка на избора за изследване растителен материал / тя е представена в обобщен вид съобразно целите на дисертационния труд /, методическата постановка по същество се базира на широк набор от сортове мека пшеница, различни монозомни линии на сортове с ценни агрономически качества, алоплазмени пшенични линии, създадени в Добруджанския земеделски институт от проф. дсн Панайотов и диплоидни

ръжени инбредни линии, които са позволили изучаването на поставените в дисертационния труд въпроси в сравнителен аспект.

Прецизно са представени използваните методи за цитологически анализ както в дисертационния труд така и в автореферата.

Полиплоидизиращата способност след колхициново третиране на пшенично-ръжените хибриди е определена по метода на Linde-Laursen (1975). Диференциалното С-бендинг оцветяване е по метода на Gill et al. (1991) с някои модификации от автора. Идиограмите са начертани с програмата Corel Draw.

Свързаните с кръстосваемостта, мейотичното поведение на хромозомите в МІ, морфологическите характеристики и полиплоидизиращата способност резултати са обработени статистически като достоверността на разликите е определяна по *t* критерия на Стюдент. Класирането на цитоплазмите е съгласно Tsunewaki и Tsujimoto (1983).

До настоящия момент е провеждано диференциално С-бендинг оцветяване на отделни сортове и линии пшеница, ръж и тритикале, докато в дисертационния труд е направено цялостно оцветяване, като се започне от широкия набор изходни родителски генотипове и се стигне до новосъздадените амфидиплоиди, факт който заслужава особено внимание, тъй като този метод на оцветяване е приложен при форми с голям брой хромозоми и изисква преодоляването на редица методически затруднения. Високото качество на микроскопските снимки и репрезентивност на идиограмите са съпоставими с тези представени в реномирани списания в света и заслужават висока оценка. Не бива да се подценява и постигнатия успех с получаване на тритикале при голяма част от проведените кръстоски.

В резултат на огромната експериментална работа и богатата методическа постановка са получени интересни резултати с потвърдителен и оригинален характер в научен и научноприложен аспект.

В дисертационния труд убедително е показано, че монозомията по 1D, 3D и 5B хромозоми при сорт Chinese Spring (CS) довежда до намаляване на кръстосваемостта и с двете инбредни линии ръж, докато CSM4D и мутантната линия CSph1b не показват разлика в кръстосваемостта им с двете линии ръж в сравнение със стандарта CS. При сортовете M808, Z1 и Н монозомията по 3D хромозома понижава кръстосваемостта, а тази по 5B я повишава. Съгласно изследванията на Miller et al., (1983) трета хомеоложна група е включена в контрола на кръстосваемостта между пшеницата и ръжта с най-силно влияние на 3D и 3B хромозоми и по-точно на техните дълги рамена

3BL и 3DL (Romero and Cuadrado, 1992). Получените от докторантката резултати относно влиянието на 3D хромозома върху кръстосваемостта на M808, ZI и H потвърждават установеното от гореспоменатите автори по отношение на CS. Намаляването на дозата на гените в 3D хромозома, подпомагащи кръстосваемостта в моно3D линиите основателно довежда до по-нисък процент на кръстосваемост. Сортовете M808, ZI и H съдържат гена Kr1 локализиран в 5B хромозома в доминантно състояние с ясно изразено инхибиращо влияние върху кръстосваемостта, но в моно 5B линиите той е в намалена доза, което довежда до известно увеличаване на кръстосваемостта при тези сортове. Това обяснява липсата на корелация с CS по отношение на 5B хромозома. Тези резултати са нови факти за сортовете M808, ZI и H.

Цитоплазми от един и същ плазмен тип, но с различен произход оказват различно влияние върху кръстосваемостта – убедително показано при алоплазмените линии на Русалка с цитоплазми на *T. dicocum* и *T. dicoccoides* (оригинален характер).

Ефективността на генетичните системи локализирани в 5B хромозома по отношение на хомеоложната хромозомна конюгация е различна при различните хибриди и зависи от майчиния генотип. При сортовете CS и M808 тя е със значително по-голям ефект, отколкото при ZI и H. Същото се отнася и до системите локализирани в 3D хромозомите в проучваните сортове.

Цитоплазмите и ядрено-цитоплазменото взаимодействие оказват влияние върху хомеоложната хромозомна конюгация. Цитоплазми от един и същ плазмен тип, но с различен произход понякога са с противоположен ефект върху хомеоложната хромозомна конюгация. Това налага да се отчита и произхода на цитоплазмата. Тези данни потвърждават изследванията на Wang Tongchang et al.(1999) върху алоплазмени линии на CS.

В проучваните пшенично-ръжени хибриди единствено датата на изкласяване се контролира от пшеничните генотипове, със запазване разликата между сортовете и съответните еуплоидни, анеуплоидни и алоплазмени хибриди. Експресията на ръжените гени не повлиява този показател. Всички останали характеристики в хибридите се повлияват както от пшеничните така и от ръжени генотипове със запазване на различията между двете инбредни линии ръж и пшеничните сортове.

Произходът на цитоплазмите оказва различно влияние върху датата на изкласяване, дължината на стъблото и последното междувъзлие на главния брат и дължината на главния клас в алоплазмените линии на Русалка с цитоплазми на

Ae. crassa и *Ae. vavilovii* / и двете D^2 плазмен тип/ и съответните им алоплазмени хибриди с двете инбредни линии ръж / оригинален принос/.

С най-добра полиплоидизираща способност се отличават хибридите на сортовете CS и M808 с БНР. Положителен ефект върху тези показатели оказват 3D и 4D хромозоми / оригинален принос/.

За получаване на алоплазмени полиплоиди най-подходящи родителски генотипове са Русалка и БНР, а от цитоплазмените типове - S^V , D^2 и В, само при сполучливо съчетаване на майчините и бащини генотипове / оригинален принос/.

В дисертационния труд за първи път в C_0 е установено, че във всички еуплоидни, анеуплоидни и алоплазмени форми тритикале не се наблюдава промяна в диференциалното С-бендинг оцветяване на ръжените хромозоми в сравнение с изходните инбредни линии ръж. Ma and Gustafson (2006) с молекулярни методи установяват, че най-висока степен на ръжени секвенционални вариации се осъществяват в C_3 или по-късни генерации след хромозомното удвояване, но не в C_1 . На фона на тези изследвания установената липса на промени в диференциалното С-бендинг оцветяване в C_0 е обяснима поради обстоятелството, че С-бендинг техниката оцветява селективно всички региони на конститутивния хетерохроматин, съставен от високи повтори на ДНК, в които секвенционални вариации настъпват в C_3 или по-късни генерации.

Оригинален принос с практическо значение са създадените от докторанта алоплазмени линии тритикале 472-1, 1732-2 и 1737-1.

Към дисертационния труд могат да бъдат отправени някои критични бележки:

В терминологично отношение: стр.14- хромозомална вместо хромозомна проява; стр. 15- нуклеоларен генетичен състав, вместо ядрен; стр. 19 – запасни , вместо резервни протеини; стр. 30 – монозомна вместо нулизомна линия; стр. 39 – хомогаметен вместо моногаметен пол и др. Необходимо е прецизиране на понятията форми и линии, тъй като на места се създава впечатление за синонимна употреба.

В композиционно отношение: обособяването на резултати и обсъждане в самостоятелни раздели неминуемо довежда до излишни повторения. По-ясно биха се открили собствените експериментални данни ако резултатите и обсъждането бяха представени едновременно по глави.

По дисертационния труд са публикувани общо 7 статии, от които 3 в списания с импакт фактор / 2 в специализираното международно списание *Cereal Res. Commun. IF - 0.263* и 2 в *Compt. rend. Acad. Bulg. Sci*, 2000 и 2007 с IF - 0.106/; 1 – в *Genetics and*

Breeding / България/; 1- в Bulgarian Journal of Agricultural Science; една статия в Сборник от доклади на Научна конференция “Селекция и агротехника на културните растения”. Добрич, 9-10 юни 2004, общ IF 0.632.

Цитирани са две статии – една от български автор в Bulgarian Journal of Agricultural Science и втората в ревю, отпечатано в Int. J. Agr.& Biol от чуждестранен автор.

Авторефератът отразява основните раздели на дисертационния труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценен по съвкупност дисертационният труд представлява едно сериозно и цялостно проучване от кръстосваемостта на пшеницата и ръжта до получаването на нови оригинални първични еуплоидни, анеуплоидни и алоплазмени форми тритикале.

В резултат на огромен обем експериментална работа са получени резултати с потвърдителен и оригинален характер в научен и научно-приложен аспект, посочени в хода на рецензията. Прецизно извършеното С-бендинг оцветяване изяснява хромозомния състав на изходните родителски сортове и получените от автора оригинални форми първично тритикале. След 8 годишно реколтиране и подбор са изолирани 15 нови линии първично тритикале, отличаващи се с голямо разнообразие, някои от които по структурни елементи на добива са съизмерими със стандарта 7291, а лините 1732-65 и 1732-66 са с по-добри показатели, което е изключение за първично тритикале. Създадената богата колекция от докторанта е една солидна основа за получаване на нови продуктивни форми вторично тритикале със стопанско значение и бъдеща селекционна работа с тази култура.

Прецизно проведеното диференциално С-бендинг оцветяване на изходните пшенични и ръжени родителски линии и сортове, както и новосъздадените първични еуплоидни, анеуплоидни и алоплазмени първични форми тритикале ще даде възможност за проследяване на формообразователния процес и процеса на стабилизация в тритикале.

Въз основа на посоченото убедително препоръчвам на членовете на Уважаемото научно жури да присъдят на гл. асистент Виолета Николова Късовска научната и образователна степен „Доктор” по научна специалност Генетика, шифър 01.06.06.

12.06.2011 г.

София

Рецензент:

/проф. д-р Спаска Петкова/