

РЕЦЕНЗИЯ

по конкурс за заемане на академичната длъжност „Професор” по 4.3 биологични науки, научна специалност „Генетика”, шифър 01.06.06, обявен в „Държавен вестник” бр. 72 от 16.09.2011 г. за нуждите на секция „Приложна генетика” при ИФРГ към БАН, София с кандидат: Елисавета Стоименова Стоименова – д-р, доцент в Института по физиология на растенията и генетика /ИФРГ/ при БАН

Рецензент: проф. д-р Спаска Димитрова Петкова

На обявения в „Държавен вестник” бр. 72 от 16.09.2011 г. конкурс за професор по научната специалност „Генетика”, шифър 01.06.06 за нуждите на ИФРГ при БАН се е явил като единствен кандидат доц. д-р Елисавета Стоименова Стоименова от секция „Приложна генетика” към същия институт.

Доц. д-р Елисавета Стоименова Стоименова е родена на 22.04.1950 г. в София. Висшето си образование завършва в Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски”, специалност Биохимия и микробиология с придобита квалификация „Магистър” през 1973 г. В периода 1974 – 1976 г. работи в ИПАПД „Никола Пушкиarov”, ССА, София като специалист – биохимик; в клинична лаборатория към Медицинска академия, София /1976 – 1978 г./. Постъпва в редовна докторантура в Института по обща генетика, АНССС, Москва, СССР /1978 – 1982 г./, където успешно защитава дисертация на тема „Аттенуированные и патогенные штаммы вируса табачной мозаики и их взаимодействие в растениях – хозяевах” под ръководството на проф. д-р К. Сухов за присъждане на научната степен кбн /сега образователна и научна степен „Доктор”/

Чрез конкурс започва работа в Институт по генетика, БАН – секция „Имуногенетика” като научен сътрудник III степен през 1982 г. Последователно работи като н.с. II ст. /1982 – 1985 г./; н.с. I ст. /1985 – 1991 г./ в същия институт. Хабилитирана е като ст.н.с. II ст. в секция „Генетика на устойчивостта към болести” впоследствие в „Приложна генетика” на ИГ и като такъв работи в периода 1991 – 2010 г. От 2011 г. е доцент в същата секция, където продължава да работи и до настоящия момент. Владее добре руски и английски езици. Провежда успешни специализации в Tokyo University of Agriculture, Department of Plant Protection, Advanced Fellowship през 1988 г. /3 месеца/ и в Centro de investigaciones Biologicas, Plant Biological Department, Madrid, Spain /2002 г. в продължение на 10 месеца/.

Участва активно като ръководител в разработването на 2 бр. международни и 6 бр. български изследователски проекти и като участник в 2 бр. международни и 12 бр. национални. Консултант е на български проект. Общо 23 бр.

Членува в Съюза на учените в България, секция „Микробиология”. Член е на научните съвети към Института по генетика; сега към ИФРГ, БАН; Националната банка за промишлени микроорганизми и клетъчни култури. В рамките на един мандат /2003 – 2005 г./ е била член на Националната експертна комисия по биология към НФ „НИ – МОН”; член е на редакционната колегия на списание „Genetics and Plant Physiology”. Развива активна дейност и като докладчик на докторантура и на конкурси за хабилитация във ВАК; в качеството си на

рецензент на конкурси за хабилитиране; експерт – рецензент на национални проекти и отчети към НФ за НИ -МОН; рецензент на публикации за списания “Genetics and Breeding” /Bulgaria/; “Genetics and Physiology” и “J. Culture Collections”; рецензент на „Обща патология на растенията”, Й. Станчева, изд. Pensoft, - Москва – София, 2004 г.

В настоящия конкурс кандидатът участва с обща продукция от 119 публикации, в т.ч. обзори, в сборници от международни и български конференции и симпозиуми. Групираны по степени и звание те се разпределят както следва:

- преди защита на дисертацията извън номенклатурата на конкурса – 3 бр.
- публикации, включени в докторската дисертация – 6 бр.
- в конкурса за ст.н.с. II ст. /доцент/ - 26 бр.
- в конкурса за професор – 60 бр.
- невключени в конкурсите за хабилитация - 24 бр.

Подлежащата на рецензиране продукция, включва **60 бр.** публикации /59 научни статии и 1 обзор/, от които **14 броя** в международни и български списания със сумарен импакт фактор **7,096** и **46 броя** в чуждестранни и български списания без импакт фактор.

В 5 публикации / и обзор/ кандидатът е самостоятелен автор; в 23 – първи; в 16 – втори; в 9 – трети и в 7 – четвърти и др автор.

В продължение на 29 години доц. Елисавета Стоименова провежда интензивна и сериозна изследователска работа в изключително актуална във фундаментално и приложно отношение област, свързана с различни аспекти на взаимодействието между културните растения от сем. Solanaceae и вирусите, причиняващи икономически важни болести при тях. Необходимостта от провеждането на подобен род изследвания е продиктувана от невъзможността за ефективна реализация на потенциалната продуктивност на сортовете поради огромните загуби в резултат на тяхната чувствителност към болести. Използването на химически средства за борба с тях оскъпява производството и довежда до замърсяване на продукцията и околната среда. Тези средства освен това са практически неефективни за борба с вирусите пренасяни по контактен път и гъбите, разпространяващи се чрез водата и почвата. Те бързо губят ефикасността си и поради развитието на устойчивост към тях във вредителите /патогени, вектори и плевели/. В България при пипера повсеместно разпространени и икономически важни са краставичномозаичния вирус /CMV/ и някои тобамовируси – тютюнево и доматеномозаичния вирус /TMV, ToMV/, които причиняват съответно заболяванията тютюнева и краставична мозайка. При тази важна в икономическо отношение зеленчукова култура загубите, причинени от CMV при отглеждане в полски условия са огромни, поради възможност за заразяване до 80 – 90 % от растенията и понижаване на добива повече от 60 %. Тобамовирусите на полето се срещат по-рядко, но са най-разпространените и вредоносни вируси при оранжерийен пипер /Stoimenova E., 1995/.

Фитофтората е разпространена в някои от най-важните за зеленчукопроизводството райони, където производството на пипер е почти невъзможно /Gloser et al., 2008/

Всички български сортове пипер са чувствителни на краставичномозаичния вирус, тобамовируси, *Phytophthora Capsici* Leonian /*P. capsici*/ и други причинители

на болести. По този показател те отстъпват на чуждите сортове пипер и все повече се изместват от тях /Cal et al., 2003; Suzuki et al., 2003; Thabuis et al., 2004; Savada et al., 2005/.

На настоящия етап внедряването на сортове културни растения с комплексна устойчивост към икономически важните за съответната култура болести лежи в основата на ефективното селскостопанско производство. Наличието на комплексна устойчивост гарантира добри икономически резултати при висок инфекциозен натиск на патогените.

Преценена от позицията на горепосочените аргументи, научноизследователската проблематика на доц. Е. Стоименова продължава да бъде актуална и целенасочена и понастоящем.

Реализацията на творческите търсения на кандидата е свързана с изследването в различни аспекти на взаимодействието между културните растения от сем. Solanaceae и вирусите, причиняващи важни икономически болести. Получени са огромно количество експериментални резултати с научен и научноприложен характер по отделните направления, в т.ч. и с потвърдителен характер.

1. Видово и щамово разнообразие на тобамовирусите и CMV при културните растения от сем. Solanaceae и тяхното съхранение.

- Интензивният международен обмен на семена, постоянно променящият се сортов състав на културата, внедряването на устойчиви сортове и изменението на климата води до появата на нови патогени. Проследени са промените в популациите на тобамовирусите в резултат на внедряване в практиката на устойчиви сортове. При пипера са установени два нови вируса /вирус на меката мозайка по паприката и РММoV /вирус на меката мозайка по пипера/, преодоляващи устойчивостта, детерминирана от гените L1 и L1.2 съответно /1, 19, 30, 45, 58/. Щам Р 101е най-близък до РаММV, но се размножава безсимптомно в домати и тютюн сорт Samsun N'N', което го отличава от описаните в литературата щамове на РаММV /39, 47/. При домати е доказан ТоMV /доматовомозаичен вирус/ от патотип Р1 и некротичен щам на CMV – CMV-NB, който самостоятелно предизвиква некротизация при домати и е атенуиран в различна степен за краставици, тютюн, пипер /32/. Електрофоретичното изследване доказва наличието на 5-та РНК - сателитна, движеща се по-бързо от останалите 4 РНК-и /34/. Авторите предполагат наличие на мутации при CMV-NB, довела до увеличаване на отрицателните повърхностни заряди на вирионите /38/. Получените резултати доказват, че болестта жилкова некроза по домати се причинява от некротични щамове на CMV, съдържащи 5-та РНК - сателитна.

- Установяването на видовото и популационно разнообразие на причинителите на болести при съответната култура е необходимо за провеждане на ефективен фитопатологичен контрол и за създаване на устойчиви сортове.

- Популациите на TMV щамовете, неразличими с класически вирусологични методи се променят след многократни последователни пасажи в толерантни към тобамовирусите домати. Под селекционния натиск на ген Tm – 1 популациите на част от ТоMV щамове от патотип Р0 се променят и дават началото на появата на щамове от патотип Р1. При TMV щамовете същият селекционен

натиск води до промяна във вида на вируса, последвана и от промяна на патотипа – ToMV P1 /42,44/.

- Определени са параметрите за вакуумно-сублимационно сушене на фитопатогенни вируси, които са внедрени като рутинна практика в НБПМКК за лиофилно консервиране. Създаден е модел за прогнозиране дълготрайността на лиофилизирани проби растителни вируси. От изключителна важност тук е подбора на температурите /28, 37 и 45°C / и периода на тестиране от 4 месеца за да се получат стойности, описващи се достатъчно добре с уравнението на Св. Арениус. Установено е, че устойчивостта към вакуумно-сублимационно сушене и съхранение в различните лиофилни форми на тобамовирусите – листа, протектиран пречистен препарат и сок със и без протектор /41/, а при CMV – листа и протектиран сок /5/ е видово и щамово специфична /5, 9, 55/.

2. *Характеризиране на устойчивостта към CMV при пипер*

Линии L 113 и L 57 са създадени след дългогодишен отбор по устойчивост към CMV – линия L 113 в продължение на 7 години от разпадащ се по този признак холандски материал и L 57 от български, с консолидиране на устойчивостта след 6-годишно тестване /52/.

F₁ растенията от кръстоските на L 113 и L 57 с чувствителния сорт Златен медал ms – 8 реагират на заразяване със CMV като съответния устойчив родител с тази разлика, че при тях по-често се наблюдават случаи на системно разпространение на вируса. Фенотипните прояви на F₁ растенията от кръстоските с чувствителния родител доказва доминантния характер на наследяването. Показателна е появата обаче на отделни растения системно заразени както в L 113 и в L 57, така и в F₁ кръстоските с чувствителния родител, което е доказателство за непълна експресия /пенетрантност/ на устойчивостта при доминантен тип на наследяване. Фенотипната проява на устойчивостта /липса на системно заразяване с CMV/ в този случай не се наблюдава при 100% от растенията, независимо от наличието на гените, детерминиращи устойчивостта.

Във F₂ разпадането и при двата типа кръстоски е приблизително 1:1 /Златен медал ms 8 x L 113/ и 40% устойчиви и 60% чувствителни растения / Златен медал ms 8 x L 57/. Проследено е разпадането по устойчивост в F₃ поколението на F₂ устойчиви растения поотделно за всяко от тях. Във всяко едно от тези отделни F₃ поколения, получени от F₂ устойчиви растения е наблюдавано разпадане с преобладаване на устойчивите растения. Първите неразпадащи се по този признак поколения са установени в F₄.

Прецизно проведенният генетичен анализ категорично показва, че унаследяването е полигенно доминантно с пенетрантен тип на фенотипната проява на устойчивостта към CMV /16/.

Показано е също, че процента на растенията, експресиращи фенотипно устойчивостта към CMV зависи от температурата на отглеждане, фазата на развитие на растенията, в която се осъществява заразяването, концентрацията и количеството на внесен вирус.

Основната разлика между създадените две линии са наличие на HR /свръхчувствителна реакция/ при L 113, и отсъствието ѝ при L 57 както и фактът, че L 113 е устойчива на двойно по-висока концентрация на вируса в инокулума /50 µg/ml/ в сравнение с L 57 /25 µg/ml/. При L 113 рядко се наблюдава системна

некротизация и ако тя достигне растежния връх той загива По-късно се образуват 1 – 2 безсимптомни разклонения, които се развиват нормално с липса на вирус в тях. Ако CMV се разпространи системно в L 57 се появяват типични симптоми на краставична мозайка, т.е. при L 57 за разлика от L 113 не се наблюдава „оздравяване” на растенията.

Тези добре дефинирани по отношение на устойчивостта линии са надеждна основа за провеждане на по-нататъшни изследвания на кандидата върху биохимичния отговор на заразяване със CMV устойчиви на вируса линии пипер.

Свръхчувствителната реакция на заразяване със CMV при L 113 се предшества от натрупване на водороден пероксид, което може да бъде обяснено с участие на пероксидазата в процесите на уплътняване на клетъчната стена. Лигнификацията и вторичното клетъчно удебеляване инхибират разпространението на вируса от местата на първоначалната инфекция.

В CMV инокулираните листа на L 113 и L 57 протича удебеляване на слоя на мезофилните /палисадни и спонгиозни клетки/, което позволява по-високо ниво на фотосинтеза в тази райони. В петурата и дръжките на CMV заразените устойчиви линии пипер се наблюдават структурни промени, доказващи тяхното ускорено стареене, което е причина за установените промени в нивото на фотосинтеза /26/.

Описаната фенотипна характеристика на устойчивостта при линия L 113 показва, че тя е изключително подходящ донор на устойчивост за селекционните програми при пипера. L 57 освен устойчивост към CMV притежава и много добри стопански качества, отговаря по форма на плода на изискванията на българския пазар и представлява интерес за селскостопанското производство.

3. Системна придобита устойчивост - SAR

Установено е, че тобамовирусите индуцират SAR при домати и пипер, която ограничава развитието на листните бактериални патогени. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* и *Xantomonas vesicatoria*, а SAR се продуцира от съвместими или несъвместими щамове на вирусите.

Научно-приложни приноси

1. Кръстосана защита /ваксинация/.

Създадената от кандидата ваксина В – 5 е единствената растителна противовирусна защита в страната с практическо приложение. Представлява щам на ToMV, който не предизвиква появата на мозайка и не влияе върху добива и развитието на растенията. При ваксинация с В – 5 освен защита от родствени вируси е налице и индуцирана SAR не само по отношение на листните бактериални патогени, но и спрямо гъби - *Phytophthora infestans* и *Alternaria solani*.

2. Излъчване на линии домати източници на комплексна устойчивост на болести

– Съвместно с Хр. Георгиев в 13 линии, получени от кръстоските посочени в справката, е установено, че над 80% от растенията притежават комплексна устойчивост към TSWV, TMV и ToMV /ген Tm -1/.

– В линии домати от тригеомния хибрид /*L. esculentum* – *L. chilense* – *L. peruvianum* var. *humifusum*/ и неговата кръстоска с *Okitso sozai* кандидатът е провел отбор по устойчивост и са установени растения, устойчиви на CMV и ToMV.

– Установено е разпадане по устойчивост на CMV във всички тествани $F_nBC_2P_1/L. esculentum$ x $L. peruvianum$ var. $humifusum$ / - чужда селекция.

3. Създаване на линии пипер с комплексна устойчивост на болести.

При линия L 113 устойчивостта към CMV, ToMV и TMV се наследява като скачени признаци, и се предава на всички кръстоски, в които линията е използвана като източник на устойчивост.

Линия L 57 е устойчива на CMV; линия 113 – на CMV, ToMV и TMV и толерантна на *X. vesicatoria*; линия 114 - на CMV, ToMV и TMV; линия 64 – на CMV, TMV, ToMV, PaMMV, PMM0V /P/ и толерантна на *X. vesicatoria* PT; L 14 - CMV, TMV, ToMV и *P. capsici*; линия 16 - CMV, TMV, ToMV, *P. capsici* и толерантна на *X. vesicatoria* PT и OkalR – $F_nBC_1/L 114$ x Okal/ на CMV, TMV и ToMV.

Освен като източници на комплексна устойчивост към важни икономически болести част от създадените линии пипер и домати могат да бъдат използвани и като донори на ценни стопански качества в селекционните програми на двете култури.

Заслужава внимание и предадената от кандидата колекция от характеризирани щамове на CMV и тобамовируси в НБПМКК, изолирани от производствени площи на културните растения от сем. *Solanaceae*. Те се използват за търсене на източници на устойчивост и за създаване на линии и сортове, устойчиви на съответните болести. Част от авторските щамове са включени във вирусологични изследвания в страната и чужбина.

В представеното резюме на основните научни постижения, отразени в публикациите за участие в конкурса за професор, дефинираното направление „Молекулярни маркери за селекция на линии пипер, устойчиви на икономически важни болести и притежаващи ценни стопански качества” е изключително перспективно, но за съжаление, то не е подплатено с достатъчно експериментални резултати може би поради обстоятелството, че са представени само данни от първоначалните изследвания /22/. Използваният подход, както и авторите сами отбелязват е неинформативен по отношение разграничаването на устойчиви и неустойчиви линии пипер поради малки разлики в разпределението на /AAT/n повторите в изследваните линии, но може да бъде използван за сравнителна характеристика на растителните видове.

Отделни места в справката за приносите имат характера на изводи.

Висока образователна стойност има и представения обзор на тема „Генетика на устойчивостта към вирусни болести”. Той ще бъде особено полезен за младите кадри, работещи в областта на генетиката на устойчивостта, растителната защита и вирусологията.

Независимо от това е необходимо някои места да бъдат прецизирани в терминологично отношение: написано „малка част от моногенните гени...” – такава класификация не съществува, моногенен контрол на унаследяването – да; „алелна серия от независими гени” – тук определението алелна серия е съвсем неуместно, тъй като тя представлява една поредица от различни състояния на един и същи ген /мутации на един и същи локус/.

Значимостта на представената за конкурса обща продукция се потвърждава от справката за цитирания. Общият брой цитирания на цялостната продукция на

доц. д-р Елисавета Стоименова възлиза на 160, а на трудовете представени за конкурса – 62, от които 21 в каталога на НБПМКК и 38 в чуждестранни списания. Цитирани са 66 статии, а в продукцията за конкурса – 26 броя.

Паралелно с научноизследователската дейност доц. д-р Елисавета Стоименова е осъществила ръководство на трима успешно защитили дипломанти. Била е ръководител на двама докторанти, отчислени с право на защита. Има авторски свидетелства за утвърдени 4 сорта /виж справката/ и за „Метод за получаване на растителна противовирусна ваксина България 5 срещу обикновената тютюнева мозайка при домати“.

Заклучение

Научната продукция, свързана с конкурса, цялостната изследователска дейност, приносят за обогатяване на колекцията на НБПМКК с охарактеризирани щамове на CMV и тобамовируси, създадените линии пипер с комплексна устойчивост на болести, представят доц. д-р Е. Стоименова като сериозен и продуктивен изследовател, познаващ основните тенденции в областта на генетиката на устойчивостта към вирусни болести при растенията. Получените експериментални резултати предоставят възможности за включване на нови източници за устойчивост в селекционните програми при две основни за страната зеленчукови култури – пипер и домати.

Въз основа на горепосоченото, обема, публичната значимост и приносите с научен и научно-приложен характер считам, че научната продукция отговаря на профила на конкурса и напълно покрива изискванията на Закона и Правилника за развитие на академичния състав в Р. България, поради което препоръчвам на членовете на Научното жури и Научния съвет на ИФРГ да присъдят на доц. д-р Елисавета Стоименова Стоименова академичната длъжност „професор“ по научната специалност „Генетика“, шифър 01.06.06 за нуждите на секция „Приложна генетика“ към същия институт.

06.01.2012 г.

Рецензент:

София

/проф. д-р Спаска Петкова/