

Становище

върху дисертационния труд: „ Генетични проучвания върху устойчивостта на пипера към краставичномозаичния вирус и създаване на линии с комплексна устойчивост към икономически най-важните болести“, представен от БИСТРА СТ. МИХАЙЛОВА, редовен докторант към Институт по физиология на растенията и генетика – БАН, за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ по професионално направление 4.3 „Биологични науки“ от област на висше образование 4 „Природни науки, математика информатика“ (докторска програма Генетика, шифър 01.06.)

От: доц. д-р Маргарита Топашка-Анчева, ИБЕИ-БАН, професионално направление 4.3 „Биологични науки“ от област на висше образование 4 „Природни науки, математика информатика“, назначена за член на журито със Заповед №443 от 21.04.2016 г. на Директора на ИФРГ – БАН

Описание на представените материали

Дисертационен труд, оформен съгласно изискванията за придобиване на образователна и научна степен „доктор“, Автореферат,

Публикации, като част от дисертационния труд – 3 публикации – отпечатани -3, една от които е отпечатана в специализирано списание с импакт фактор, както и участие в научна конференция с награда от международно жури.

Оценка на Дисертационния труд

Темата на дисертационния труд е актуална и позволява да се съчетаят в едно практическа значимост и възможност за овладяване и прилагането на съвременни генетични методи за решаването на практически задачи, чрез създаване на устойчиви на болести сортове, което, освен че повишава икономическата конкурентоспособност на селскостопанските производители, има важно значение за екологично чистото земеделско производство и за опазване на околната среда. Изследването е насочено към създаване на линии пипер с типични за българските сортове стопански характеристики и в същото време с устойчивост на икономически най-важните болести. Положителните резултати от това изследване са от изключителна важност и с големи перспективи за земеделието в страната.

Дисертацията съдържа 157 страници текст, 14 таблици и 14 фигури голяма част, от които цветни. Списъкът на цитираната литература е много обемен и съдържа 347 заглавия на изследвания, проведени и съобщени предимно през последните десет години.

Дисертацията е структурирана в 7 основни раздела: Увод, Цели и задачи, Материали и методи, Резултати и обсъждане, Изводи, Приноси и Списък на цитираната литература.

В Увода към изследването, което е написано компетентно и с много добро познаване на теоретичните и практически подходи към подобен род проучвания, докторантката излага теоретичната и практическа необходимост от създаване на нови линии пипер с типичните стопански характеристики и притежаващи комплексна устойчивост спрямо най-важните болести, засягащи тази важна за нашето селскостопанско производство култура.

Целта, която е поставени в основата на научното дирене на Бистра Михайлова, е постижима и оттам и поставените, макар и доста значителни по обем 4 задачи са изпълними и това се потвърждава и от крайните резултати, получени от дисертационния проект.

Задачите включват идентифициране на източници на устойчивост към CMV (*Cucumber Mosaic Virus*) и създаване на неразпадащи се по посочения признак линии пипер, установяване на генетичния контрол на устойчивостта към CMV и тобамовирусите в новите линии пипер, пирамидизиране на устойчивостта към CMV, тамбовируси и *Phytophthora capsici* в няколко генотипа пипер. Особено амбициозна и изискваща много усилия и време е задачата за създаване на нови линии пипер тип капия, притежаващи комплексна устойчивост към болести и стопански ценни качества.

В изследването са използвани 11 щама от 4 тобамовируса и 4 щама от CMV. Всички наименования, произход, наличие на инфекция и симптоми са представени в обобщителна таблица. Подробно са посочени използваните сортове пипер, като са включени техните основни характеристики по отношение на устойчивостта им към съответните вируси.

В частта Методи в дисертационния труд, Б. Михайлова подробно описва размножаването и получаването на пречистени препарати на тобамовирусите и CMV, подготвяне на инокулум и механично заразяване с вируси и *P. capsici*. Отговорно може да се твърди, че прилагането на тези техники е свързано с извършването на огромна по обем лабораторна работа, изискваща прецизност и много добра методична подготовка. Анализи за устойчивост са извършени чрез прилагане на молекулярно-биологичния ELISA метод, включващ в конкретния случай специфични CMV-PV заешки IG и техния конюгат с алкална фосфатаза.

В разработването на един съвременен, логично аргументиран научен проблем, прилагайки добре обосновани експериментални подходи, дисертантката е получила и представила надлежно резултати, които ѝ позволяват да направи аргументирани изводи. Осъществен е скрининг за устойчивост към CMV в местните форми на пипера. Докторантката установява, че 88.5% от събраните семенни проби дават растения чувствителни към вируса и само в две проби е установила значим процент устойчиви растения. Осъществила е отбор на устойчивост чрез заразяване с CMV и отбиране на устойчивите потомци. След засиления вирусен натиск (2-кратно въвеждане на вируса) само в две потомства се наблюдава достоверно повишаване на броя на устойчивите растения. При изследване на устойчивостта на холандския селекционен материал е установено че, устойчивостта на растенията към CMV се влияе в много по-малка степен от увеличаване на инфекциозен натиск и температурните условия в сравнение с №57.

Получени са значителни по обем резултати за устойчивостта на различните линии пипер спрямо тобамовируси. Силно впечатление прави идентифицирането на гени за устойчивост към тези вируси в различни изследвани линии, включително и в унгарския сорт Novaris. Въз основа на получените резултати дисертантката заключава, че изследваният L113 е устойчив само по два и чувствителен по останалите тобамовируси и вероятно притежава в генотипа си ген L1, докато унгарският сорт Novaris е устойчив на всички щамове на TMV, но е чувствителен на тези от патотип P1.2.3. Тези резултати ѝ позволяват да направи заключението, че сорт Novaris вероятно носи ген L3.

В резултат на своята разработка Б. Михайлова е създавала линиите L55 и L113, които са устойчиви на CMV и произлизат съответно от българска и холандска популация едроплоден пипер. L113 реагира с HR на заразяване с CMV и устойчивостта ѝ е по-стабилна от тази на L57. Чрез разработката убедително се доказва, че основният механизъм на устойчивост към CMV е свързан с предотвратяване проникването на вирионите във флоема и транспорта на вируса на дълги разстояния; показано е, че фенотипната експресия на устойчивостта зависи от дозата на гена, геномния бекграунд, температурата на отглеждане, концентрацията и количеството на внесения вирус. Установено е, че устойчивостта към CMV в L113 се контролира от един доминантен ген Smv11.3, разположен в хромозома 11, в непосредствена близост с ген L1, контролиращ устойчивост към тобамовируси от патотип P0. Двата гена се наследяват като скачени и са частично свързани с ген за устойчивост към *P. capsici*, разположен в същия кълъстер. Доказано е, че в L57 устойчивостта към

CMV се наследява непълно доминантно, кодира се от един ген *Cmv11.4*, разположен в 11 хромозома, който е частично свързан с ген *L+*. Генът е скачен с локуса на един от гените за устойчивост към *P. capsici*, но в отблъскваща (*repulsion*) фаза. Устойчивостта към патогени на линия L113 е интродуцирана в мъжкостерилната линия Златен медал *ms-8* и е получена линия L114, която е устойчива на CMV, TMV, ToMV и *P. capsici* (разпространявана чрез почвата). Пирамидизирана е устойчивостта към патогени от L114 и тази към *P. capsici* на линии Алфи и Залфи, съответно в линии L16 и L14. Те са устойчиви на CMV, TMV, ToMV и *P. capsici* (разпространена по почвен и въздушен път). Интродуцирана е устойчивостта към патогени от L114 в безантоциановата, оранжева двустенна капия OKaI и е създадена линия OKaIR, устойчива на CMV, TMV, ToMV и *P. capsici*, която е аналог по вкусови и стопански качества на OKaI.

Особено внимание заслужава фактът, че за първи път генът за клейстогамия *cf* е интродуциран в едроплодна линия пипер и е получена линия OKaIR-*cf*, която не се различава по устойчивост на болести и стопански показатели от родителската линия OKaIR, но е със затворени цветове, което гарантира самоопрашване и улеснява нейното семепроизводство. Важно е да се отбележи, че всички новосъздадени линии не отстъпват на стандартните сортове пипер по добив, брой и морфологични показатели на плодовете, а по количество на сухо вещество, витамин С, ликопен и β -каротен в плодовете ги превъзхождат.

Разработката е несъмнен принос в областта на генетичните проучвания върху устойчивостта на пипера спрямо икономически важни болести и ще послужи като основа за бъдещи изследвания в тази насока.

Авторефератът е оформен съгласно класическата схема за оформяне на такъв тип документи и отразява съдържанието на дисертацията.

Приемам, че дисертационният труд е лично дело на дисертантката, но държа да отбележа безспорната роля на научния ръководител – проф. Е. Стоименова в определянето на подходяща актуална тема, успешното провеждане на самите изследвания и при крайното оформяне на представения ръкопис. Трябва да се отбележи също, че настоящата дисертация не е самоцелна разработка, а е важна част от проект по **Двустранно международно сътрудничество България-Македония и от четири Национални научни програми.**

В заключение:

Дисертационният труд на Бистра Ст. Михайлова по обем и качество на извършената работа надхвърля изискванията за получаване на образователната и научна степен „доктор“. Предложеният за оценка ръкопис представя докторантката като изграден изследовател, усвоил и успешно приложил надеждни и съвременни методи в генетичните и селекционни изследвания. Получените резултати и направените изводи съответстват на поставените задачи. Представените текстове са написани професионално, научно вярно и убедително. Направените изводи произтичат от получените резултати и посочените приноси с оригинален и потвърдителен характер са напълно достатъчни, за да получи оценяваната разработка висока оценка. Убедено предлагам на почитаемото научно жури да гласува положително и да присъди на Бистра Станишева Михайлова образователната и научна степен „доктор“.

10.06.2016 г

Доц. Д-р М. Топашка-Анчева