

## РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за получаване на научната степен "доктор на науките" по: област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност Генетика.

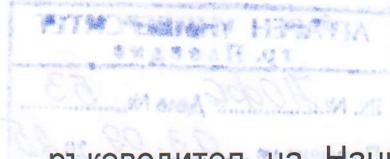
**Автор на дисертационния труд:** Божин Максимов Божинов, докторант на самостоятелна подготовка към катедра „Физиология на растенията, биохимия и генетика“ при Аграрен университет, гр. Пловдив

**Тема на дисертационния труд:** Използване на молекуларни маркери в изследвания на генетичното разнообразие и за ДНК профилиране

**Рецензент:** акад., дн Атанас Иванов Атанасов, СГЦ, СУ „Кл. Охридски“, БАН, област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност Генетика определен за член на научното жури със заповед № РД-16-801/24.06.2025 год. от Ректора на АУ.

### 1. Кратко представяне на кандидата.

Проф. Божинов е роден на 30.11.1965 г. Завърши висше образование през 1990 г. в тогавашния Висш селскостопански институт „В. Коларов“ (сега Аграрен университет-Пловдив). Същата година започва научната си кариера в Институт по памук и твърдата пшеница гр. Чирпан като селекционер по памук с профил Растителни биотехнологии като за период от 5 години израства от н.с. III ст. до н.с. I ст. В този период провежда и 15 месечна специализация в областта на растителните биотехнологии в Католическия университет гр. Лювен, Белгия. От 1995 г. до сега работи в АУ-Пловдив като преминава през всички нива на академично развитие – асистент, старши асистент, главен асистент, доцент и професор. Междувременно провежда две дългосрочни специализации в областта на растителните биотехнологии (9 месеца в Лабораторията по клетъчна биология във Версай, Франция) и генетиката (12 месечна стипендия Мария Кюри за работа в CIRAD, Монпелие, Франция), както и няколко краткосрочни (1-3 месеца) специализации в областта на генетиката, образователните технологии и лидерството във Франция и САЩ. Автор и съавтор на над 90 научни публикации и 5 сорта растения. Ръководител на редица научни проекти, финансиирани от АУ-Пловдив, МАГАТЕ и Фонд „Научни изследвания“, както и на над 20 дипломанти и 3 докторанти. Натрупва административен опит през своите два мандата като Ръководител катедра и два мандата като Декан на Факултета по агрономство на АУ-Пловдив. Внедрява нови методи на обучение в АУ-Пловдив като създател и



ръководител на Национален демонстрационен център за нови технологии в земеделието, финансиран от Фондация „Америка за България“.

## 2. Актуалност на проблема.

От 90-те години на миналия век Омикс технологиите основани на геномиката, транскриптомиката, протеомиката и метаболомиката навлязоха постепенно и широко в генетичните и селекционни изследвания при растенията. Геномиката е базирана най-вече на ДНК молекуларните маркери, чиято ефективност се усъвършенствува непрекъснато, за да се достигне в днешно време до нейното рутинно приложение при различни диви и културни растения и животни, така и при изследване същността и разнообразието при микроорганизмите. Идентифицирана и добре документирана е способността им да улеснят както конвенционалната селекция, така и усилията, насочени към ускорено създаване на нови форми организми, които да отговарят по-добре на бързо променящите се условия на околната среда и изисквания на пазара. В резултат на това редица маркерни системи от години се използват за ускоряване на селекционния процес, гарантиране генетичната идентичност на размножителните материали и защита на интелектуалната им собственост в големи и по-малки селекционни компании.

В България добрият пример в тази област на генетико-селекционни изследвания през споменатият период бе положен успешно от Агробиоинститута към ССА при лозата, розата, меката и твърда пшеница, ечемика, царевица и слънчоглед, които допринесога съществено за непрекъснатото подобряване на техните генетични карти. От Аграрните университети авторът на настоящата докторска работа бе първият, който показа актуалността и перспективата на прилагането на ДНК базираните маркери при редица растения и животни и най-ясно изразена при памука, където оригиналността на този вид изследвания е най-добре демонстрирана. Поради високата първоначална цена на приложение, използването на тези маркерни системи от селекционни колективи, разчитащи на публично финансиране в нашата страна, до неотдавна беше ограничено. С развитието на технологиите за ДНК секвениране и амплификация себестойността на използването им намалява съществено и понастоящем този инструментариум е лесно достъпен както от финансова, така и от технологична гледна точка. Учудващо е обаче, че в българските държавни институти и университети, ангажирани със селекционни задачи, използването им продължава да бъде твърде ограничено, което е съществена причина за редуциране на тяхното използване в широката земеделска практика. Същото важи и за институциите, отговорни за регистрацията и контрола на посевния и посадъчен материал (ИАСАС) и размножителен материал при животните (ИАСРЖ). В основата на проблема стои липсата на стандартизация на използваните системи и протоколи между двете групи институции, дължаща се и на различаващите се изисквания към функционирането на всяка от тях.

Ето защо считам определено, че с настоящият труд се прави сериозна крачка за преодоляване на този критично важен недостатък, който е съществена пречка за прогреса на българската селекция.

### **3. Цел, задачи, хипотези и методи на изследване.**

Целта на представения ми за рецензиране дисертационен труд е да бъде установена молекулярна маркерна система и същата да бъде предложена за надеждно и възпроизведимо идентифициране на генетичното разнообразие, както в растителни, така и при животински форми и микроорганизми. **Основната хипотеза** на автора е, че от множеството известни маркерни системи може да бъде подбрана такава, която да позволява ефективно използване както за селекционни цели, така и за целите на контрола при сортотипизирането и семепроизводството при културните растения, така и при развъждането и поддържането на генетичният статус местни породи.

За постигане на поставената цел са формулирани следните задачи за изпълнение:

1. Да се проведе сравнително изпитване на набор от маркерни системи за идентифициране на генетичното разнообразие при растителните видове (памук, домати, тютюн, ечемик и др.), еукариотните фитопатогени (фитофторови и фузариийни гъби) и животни (кози).
2. Да се установят възможностите за прилагане на изследваните маркерни системи за откриване на локуси за количествени признаки със специфична важност за местните популации.
3. Да се характеризират възможностите за прилагане на подбраните маркери в сортотипизирането, сортоподдържането и съхранението на съществуващото биоразнообразие на местни растителни форми и породи животни.

Материал и методи са точно, ясно и логично отразени в дисертационния труд. Широкият спектър от различни видове еукариотни организми (растения – памук, тютюн, домати, пипер, ечемик, пшеница, царевица; растителни патогени – фитофторови гъби и фузариум и кози като представители на животинските организми) и разнообразие от съвременни молекулярни маркери като RFLP, AFLP, SSR и ISSR показва, че автора търси общото и принципно начало между молекулярните маркери, които биха могли да се окажат най-удачни и ефективни при изследваните организми.

Адекватни на използваните методи са избраните статистически анализи и използван софтуер.

### **4. Онагледеност и представяне на получените резултати.**

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд е онагледен със 17 снимки, 63 фигури и 33 таблици, които добре представят както методиката и резултатите от прилагането на различните молекулярни техники, използвани в дисертацията, така и вариациите във фенотипните проявления на признаците при различните видове организми. Особено полезни по отношение провежданата дискусия са представените генетични карти и групирания на индивиди от различни типове популации при различните организми, които дават ясна представа именно за приложимостта на различните маркерни системи в контекста на българските генотипове.

## **5. Обсъждане на резултатите и използвана литература.**

Поради значителния си обем, включващ използването на няколко маркерни системи при 11 вида организми, представянето на резултатите, което заема 95 страници, е целесъобразно отделено от дискусията върху тях (37 страници). Това дава възможност в рамките на дискусията да се изведат обобщения, които са с валидност за цялата група изследвани организми. Тъй като самите организми са представители на много различни филогенетични групи (растения, животни, еукариотни микроорганизми), представените резултати и направената дискусия имат по-широва валидност и значимост, което прави защитата на представената хипотеза добре аргументирана. Представените от автора аргументи са обсъдени в контекста на значителен обем национални и международни изследвания, включени в списъка от 280 заглавия литература.

Както стана ясно, настоящото изследване представя разликите в приложението на няколко вида молекулни маркери. По-специално, то демонстрира способността на ISSR като инструмент за идентифициране на сортове в редица култури и две автохтонни породи кози. Тъй като ISSR системата е предложена отдавна, но не е достатъчно проучена досега в български контекст, тук е направена оценка на капацитета на набор от праймери да произвеждат полиморфизъм в основни за страната местни култури и породи. Независимо от това ще са необходима допълнителна изследвания за прецизиране на параметрите на техниката, преди тя да може да бъде приложена в пълния си капацитет и рутинно при РХС (различимост, хомогенност и стабилност) тестванията при одобряването на сортовете от ИАСАС, защита на правата на селекционерите, сортиране на колекции на селекционери при доказване ценността и стойността на генни банки при растения, животни, микроорганизми и други видове.

## **6. Приноси на дисертационния труд.**

### **Научни приноси**

1. Въз основа на редица параметри (полиморфно информационно съдържание, равномерност на разпределението по дълбината на геномите, възпроизвеждимост, надеждност и др.) е идентифицирана молекуларна маркерна система, имаща капацитет да изпълнява изискванията на различните направления на използване.
2. Разработени са методики за използването на ISSR маркерната система при редица културни растения, два еукариотни фитопатогена и две автохтонни породи животни.
3. В рамките на настоящия труд за първи път в известната ни литература е доказана способността на ISSR маркерната система да идентифицира вътревидово разнообразие при фитофторови гъби, с което се разкриват нови възможности за разработването на по-ефективни системи за детекция и идентификация на тази група фитопатогени.
4. Характеризирана е способността на набор от доминантни (т.е. AFLP, ISSR, CAPS) и ко-доминантни (RFLP, SSR) молекуларни маркерни системи за идентифициране на генетичното разнообразие в редица растителни и

животински организми с местен произход.

5. Чрез използването на сравнителен анализ са установени предимствата и недостатъците на всяка една система в зависимост от планираната насока на използване – за селекционни, развъдни или за целите на регистрирането и поддържането на биоразнообразието на съответните организми.

## Научно-приложни приноси

1. Идентифицирана е молекулярна маркерна система (ISSR), която има широк диапазон на приложение в селекционните програми на местни форми растения и животни, както и за детекцията и идентификацията на фитопатогенни организми.
2. Демонстрирана е приложимостта на ISSR маркерната система за анализ на генетичното разнообразие при голям набор от растителни, микроорганизми и животински организми, като така е доказана нейната универсалност по отношение използването при еукариоти в такъв контекст.
3. Чрез извеждането на сравнителни анализи е доказана ефективността на приложението на ISSR маркерната система в селекционните програми на редица култури с национално значение и в две автохтонни породи кози.
4. Демонстриран е потенциалът на ISSR маркерната система за ефективно използване както за целите на селекцията, така и за целите на държавното сортозпитване, апробация и семеконтрол (при растенията) и за независимата сертификация и развъждане на местни породи животни.
5. Детайлно е характеризирано съответствието на ISSR маркерната система на системата от критерии, използвана от UPOV, за определяне приложимостта на различни маркерни системи за целите на РХС тестирането, като така е доказана нейната приложимост в системите на ИАСАС и ИАСРЖ.
6. Получени са нови асоцииации маркер/признак за редица стопански ценни признания при местни сортове памук и домати.
7. Картирани са значителен брой молекулярни маркери при памука като така значително е обогатена съществуващата генетична карта с локуси, имащи съществени ефекти в местните агроекологични условия.
8. Идентифицирани са съществен брой локуси за количествени признания в местни образци, при което са установени и такива с плейотропни ефекти върху редица качествени и количествени признания.
9. Характеризирано е генетичното разнообразие в две автохтонни породи (Българска виторога дългокосместа и Калоферска дългокосместа) кози на ниво наследствен материал като са дадени препоръки за бъдещото развъждане на двете породи, така че да се намалят рисковете от близкородствено кръстосване, потенциално водещи до инбредна депресия.

С направените приноси автора на настоящият дисертационен труд убедително показва, как трябва да се развиват съвременните генетико-селекционни изследвания и университетското образование не само в Аграрния

университет на г. Пловдив. Това прави докторанта изявен и авторитетен учен и преподавател и добър пример за следване от по-младата генерация от учени в тази област в нашата страна.

## **6. Критични бележки и въпроси.**

По същество нямам критични бележки и въпроси към автора на настоящия дисертационен труд.

## **8. Публикувани статии и цитирания.**

Във връзка с представения дисертационен труд авторът е представил 19 публикации, в 13 от които той е водещ или единствен автор. В представеният списък с цитирания са посочени 152 цитирания на 1 статия. В допълнителен списък (на приложените в пълен текст цитиращи публикации) са представени още 12 цитирания на други 8 статии. Така общият брой на представените във връзка с дисертацията цитирания става 164 (на 9 публикации).

Представеният автореферат отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:**

Въз основа на изследваните и приложените, от докторанта, различни методи на изследване, правилно изведените експерименти, направените обобщения, формулирани в съответни изводи и приноси считам, че представеният дисертационен труд отговаря напълно на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на Аграрния университет за неговото приложение, което ми дава нужното основание да го оценя **ПОЛОЖИТЕЛНО**.

Позволявам си да предложа на почитаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на Божин Максимов Божинов научната степен "доктор на науките" по научната специалност Генетика.