



РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за получаване на образователната и научна степен "доктор" по област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.1. Растениевъдство, научната специалност Генетика

Автор на дисертационния труд:

Тодорка Ангелова Сребчева, редовен докторант към катедра "Физиология на растенията, биохимия и генетика"

Тема на дисертационния труд:

Анализ на гени, отговорни за синтеза на капсаицин, при пипера (род *Capsicum*)

Рецензент:

доц. д-сн Самир Изетов Наимов, ПУ „Паисий Хилендарски“, област на висше образование:4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление : 4.3 Биологически науки; научна специалност: Молекуларна генетика, определен за член на научното жури със заповед № РД-16/948/27.09.2022 год. от Ректора на АУ.

1. Кратко представяне на кандидата.

Докторантката Тодорка Сребчева е родена в гр. Куклен, област Пловдив. През 2001г, завършила сроденото си образование в строителния техникум в гр. Пловдив. В периода 2011-2016 е студентка в Аграрния университет, Пловдив, и получава образователна степен Бакалавър по специалността „Растителна защита“, като защитава дипломна работа към катедра „Генетика и селекция“, на тема: „Изследване на генетичното разнообразие на декоративни форми пипер с помощта на молекуларни маркери, с оглед устойчивостта им към вредители“, с научен ръководител доц. д-р Божин Божинов. През периода 2017-2018г придобива образователна степен магистър по „Молекуларна биология и биотехнология“ към катедра Физиология на растенията и молекуларна биология при биологическия факултет на ПУ „Паисий Хилендарски“. От 2018 до 2021г. е редовна докторантка по докторска програма по научна специалност „Генетика“ към Аграрен Университет – Пловдив. Междувременно завършила задължителните обучителни курсове: „Работа с научни бази данни“, „Методика на обучението“ и „Обработка на експериментални данни“ и полага успешно изпита по специалността. По време на обучението си участва в пет научни форума и два научни проекта финансираны от Фонд „Научни изследвания и НИЦ при Аграрен Университет.“

2. Актуалност на проблема.

Пиперът е зеленчукова култура с важно икономическо, кулинарно и дори културно значение. Към настоящия момент пиперът се нарежда на трето място по засадени площи и производство сред зеленчуковите култури, като тенденцията е за постепенно увеличаване на засадените площи. Плодовете на пипера са богати на важни за човека витамини, като А, Ц, Е и др. както и на редица антиоксиданти от фенолен тип, флаваноиди и минерали. Благодарение на интензивните селекционни програми агрономичните характеристики, вкусовите качества, формата, цвета и размера на плодовете при различните сортове варира в изключително широки граници. Един от важните параметри, обект на селекция при пипера е лютивината на плодовете. Към изследване на унаследяването на това качество е насочена и представената за рецензиране научна разработка. Темата се отличава с висока актуалност и практическа значимост, както от фундаментална научна гледна точка така и в приложен аспект, като инструмент за маркер асистираната селекция на пипер. Търсене научните бази данни по ключова дума „капсацин“ дава за резултат над 5000 научни публикации в областта, като публикациите от последната година са над 160. Въпреки, че близо 50% от публикациите са свързани с изследване на генетичните основи в унаследяването на белега само три от публикациите коментират възможностите на маркер-подпомогната селекция. Това още един индикатор за актуалността на разработената тематика и необходимостта от подобни изследвания.

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

При анализа на наличните към момента литературни данни, докторантката демонстрира добро познаване на предходните научни изследвания и това разбираемо допринася и за ясното и точно формулиране на целта на дисертационния труд, а именно: да се установи алелния състав на български форми пипер по отношение на локуси, определящи нивата на капсацин и да се идентифицира наличието на известни и/или нови локуси, модифициращи капсацин синтеза при тях. За постигане на поставената цел докторантката си поставя пет задачи както следва:

1. Установяване наличието на алели на гена *Pun1* (*pun1-1*, *pun1-2* и/или *pun1-3*) в родителските форми пипер.
2. Провеждане на насочени кръстоски между избрани родителски форми.
3. Проследяване на унаследяването в F1 и F2.
4. Проучване за наличие на допълнителни локуси с ефект върху капсацин синтеза.
5. Проследяване връзката между генетичната принадлежност и биосинтеза на капсацин при отделните родителски форми (*C. annuum* L. – сорт Пловдивска капия, *C. chinense* Jacq. – тип Хабанеро, *C. annuum* L. – сорт Фамилия, *C. frutescens* L., *C. annuum* L. – сорт ИЗК Деликатес), F1 и F2 на избрани кръстоски.

Свързаните, с постигане на целта на научното изследване, задачи са конкретни и ясно и добре формулирани.

4. Онагледеност и представяне на получените резултати.

Получените в хода на работа научни резултати са надлежно описани в главата „Резултати и обсъждане“. Детайлно са описани резултатите получените при изследване на рип1-1, рип1-2 и рип1-3 гените при български сортове пипер. За целта са проведени шест прости кръстоски с *C. chinense* (Jacq) и респективно с *C. frutescens* (L) както следва: 1) *C. apuum*, сорт Пловдивска капия x *C. chinense*, тип Хабанеро; 2) *C. apuum*, сорт Пловдивска капия x *C. frutescens*; 3) *C. apuum*, сорт Фамилия x *C. chinense*, тип Хабанеро; 4) *C. apuum*, сорт Фамилия x *C. frutescens*; 5) *C. apuum*, сорт ИЗК Деликатес x *C. chinense*, тип Хабанеро и 6) *C. apuum*, сорт ИЗК Деликатес x *C. frutescens*. Получени са анализирани F1 и F2 хибриди. Изведени са серия от морфологични, органолептични и молекулярно-биологични анализи. Същите са изведени с необходимата прецизност и задълбоченост на анализите. Резултатите са подложени на надлежна статистическа обработка и са построени съответстващи на ISSR анализите кладограми. При построяването на кладограмите са използвани актуални математически алгоритми и софтуерни продукти. За потвърждаване на идентичността на PCR ампликоните последните са секвенирани и сравнени с наличните такива в базите данни посредством BLAST анализ. Дисертационният труд е онагледен с общо 13 таблици и 47 фигури с високо качество. Голяма част от използваните фигури са очевидно авторски, което също следва да се отчете като позитив на работата.

5. Обсъждане на резултатите и използвана литература.

Литературният обзор, развит на 36 машинописни страници, предоставя обстоен преглед на основните аспекти свързани с унаследяване, качествен и количествен генетичен контрол върху лютивината на плодовете на пипера. Разгледани са основните климатични, физиологични и генетични фактори оказващи влияние върху изявата на белега. Успоредно с това са разгледани и теоретичните аспекти и резултатите получени при приложение на съвременните молекулярно-биологични методи, както класически така и *high throughput* методи. Литературния обзор дава необходимата на читателя информация за гени, транскрипционни фактори, QTL маркери и резултати от WGS и RNAseq резултати свързани с темата на дисертационния труд. Литературния обзор е добре структуриран, представен в добър научен стил, лесен и разбираем. Литературният обзор и обсъждането на получените резултати са базирани на 268 актуални научни публикации, всички на английски език. Получените от докторантката резултати са критично интерпретирани в светлината на последните в областта научни изследвания. При дискусията на собствените резултати докторантката демонстрира задълбочено познаване на научната фактология и професионална интерпретация на получените данни. На базата на получените резултати са формулирани осем извода, съответстващи на получените резултати и отговарящи на поставената цел и формулираните задачи. Изводите са формулирани внимателно и съответстват напълно на описаните резултати.

6. Приноси на дисертационния труд.

На базата на изведените научни изследвания и формулираните като следствие от тях изводи са формилирани пет научни и четири научно-приложни приноса, както следва:

Научни приноси

1. За първи път се определена алелното състояние на гена *Rup1* при българските сортове пипер – Пловдивска капия, Фамилия и ИЗК Деликатес, от вида *C. annuum* L.
2. За първи път се проследява унаследяването на гените и техните мутантни алели, отговорни за липсата на лютивина в F1 и F2 при кръстоските *C. annuum* L. – сорт Пловдивска капия x *C. chinense* Jacq. – тип Хабанеро, *C. annuum* L. – сорт Фамилия x *C. chinense* Jacq. – тип Хабанеро и *C. annuum* L. – сорт ИЗК Деликатес x *C. frutescens* L.
3. Хипотезите, относно унаследяването на лютивината и липсата на лютивина при изследваните пипери, валидирали посредством прилагане статистическият показател χ^2 могат да се използват в бъдещи изследвания и от други автори.
4. За първи път се изследва наличието на допълнителни локуси с ефект върху капсаицин синтеза при F2 популация на кръстоската *C. annuum* L. – сорт Пловдивска капия x *C. chinense* Jacq. – тип Хабанеро.
5. За провеждане на молекулярен ISSR анализ при пипера са модифицирани и адаптираны методики прилагани при други култури.

Научно-приложни приноси

1. За първи път е извършена успешна хибридизация между майчини растения от българските сладките сортове пипер Пловдивска капия, Фамилия и ИЗК Деликатес от вида *C. annuum* L. и лютиви бащини растения от видовете *C. chinense* Jacq. – тип Хабанеро и *C. frutescens* L.).
2. Анализираните видове и сортове пипер могат да бъдат използвани като потенциален донор в бъдещи селекционни програми.
3. Приложената методика за определяне на алелното състояние на гена *Rup1* е добра стратегия при тестване на партиди семена в програми за чистота и качество.
4. Получените от секвенирането и обработени чрез биоинформационните инструменти данни осигуряват основата, необходима за провеждане на допълнителни анализи на гените, отговорни за синтеза на капсаицин при пипера (род *Capsicum*).

6. Критични бележки и въпроси.

Нямам бележки по съдържанието и обема на представените научни данни, както и по начина на представяне и структурата на дисертационния труд. Има обаче какво да се желае по отношение на подготовката на документацията в нейната цялост. Вярвам, че в докторантката ще положи необходимите усилия и ще подобри административното оформление на документацията по евентуални последващи

процедури по академичното си израстване. Следва да се отбележи, че тази бележка по никакъв начин не е свързана с качеството на дисертационния труд и не го дискредитира по никакъв начин.

8. Публикувани статии и цитирания.

Във връзка с рецензирания дисертационен труд са представени четири научни публикации, както следва:

1. Srebcheva, T., & Bojinov, B. (2018). Genetic control of c in pepper (*Capsicum sp.*) *Ştiință Agricolă*, (2), 57-63.
2. Todorka, S., & Bojin, B. (2019). Identification of allelic State of the Pun-1 gene associated with the capsaicin synthesis in selected *Capsicum* (pepper) species. Научни трудове на Съюза на учените – Пловдив. Серия В: Техника и технологии, 17, 257-260.
3. Srebcheva, T., & Kostova, M. (2022). Influence of the pun1 gene on capsaicin synthesis in hybrid lines of the genus *Capsicum*. *Trakia Journal of Sciences*, 20(1), 37. DOI:10.15547/tjs.2022.01.005Corpus ID: 248190910, ISSN 1313-3551 (online).
4. Srebcheva, T., Kostova, M. (2022). Study of the inheritance of pungency in a hybrid pepper lines (genus *Capsicum*). Изследване унаследяването на лютивината в хибридна линия пипер (род *Capsicum*). *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans (JMAB)* *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 2022, 25 (1), 407-422 ISSN1311-0489 (Print), ISSN 2367-836 (Online).

Една от публикациите представлява миниrevю върху унаследяването на белезите свързани с органолептичните качества при пипер, а три са свързани директно с темата на дисертационния труд. И в четирите статии докторантката е първи автор, което отразява приноса и при изгитвяне на публикациите. Представените научни публикации покриват напълно изискуемите критерии за придобиване на научно-образователната степен „доктор“.

Към набора документи е представен и автореферат, който отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд. При анализа за plagiatство не съм установил такова, което ми дава основание да приема представените публикации и дисертационния труд за оригинални разработка на докторантката.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Представеният за рецензия дисертационен труд представлява завършено научно изследване с високо качество. Получените резултати се отличават с висока научна и научно-приложна значимост и предполагат последващо доразвиване и приложение в селекционната практика. На базата на това, както и въз основа на научените и приложените, от докторантката, различни методи на изследване, правилно изведените експерименти, направените обобщения и изводи считам, че представеният дисертационен труд е дисертабилен и отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на Аграрния университет за неговото приложение.

Това ми дава основание да го оцена ПОЛОЖИТЕЛНО. Позволявам си да предложа на почитаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на Тодорка Ангелова Сребчева образователната и научна степен "доктор" по област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.1. Растениевъдство, научната специалност Генетика.

Дата: 03. XI. 2022
гр. Пловдив

РЕЦЕНЗЕНТ:
(доц. дсн Самир Изетов Наимов)