

РЕЦЕНЗИЯ

от доц. д-р Марияна Христова Гозманова

Катедра „Физиология на растенията и молекулярна биология“, ПУ „П. Хилендарски“. Тел.: +359 032 261 563; e-mail: mgozmanova@gmail.com.

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен **„Доктор“** в областта на висшето образование по **Природни науки**, професионално направление **Биология**, докторска програма: **„Молекулярна биология“**.

Автор: Николай Пламенов Аначков

Тема: „Използване на растителни микроспорови култури в молекулярно-биологични изследвания“.

Научни ръководители: Проф. д-р Алишер Тураев - Microscop GmbH и доц. д-р Галина Яхубян - ПУ „П. Хилендарски“.

1. Общо описание на представените материали

Участвам в научното жури за осъществяване на защита на дисертационен труд на тема: „Използване на растителни микроспорови култури в молекулярно-биологични изследвания“, за придобиване на образователната и научна степен **„Доктор“** в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма **„Молекулярна биология“**, на Николай Пламенов Аначков – докторант в редовна форма на обучение към катедра „Физиология на растенията и молекулярна биология“ (КФРМБ) на ПУ „П. Хилендарски“.

Представените от докторанта документи са в съответствие с Чл. 36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ. Приложени са и **2** броя публикации свързани с дисертацията в специализирани издание с импакт фактор, както и две участия в конференции.

Основната част на изследванията, представени в дисертацията са изработени в катедрата по Физиология на растенията и молекулярна биология, Лаборатория по микроспорови култури, макар, че има и данни, получени от специализациите на докторанта в чужбина.

2. Биографични данни за докторанта

Николай Аначков получава бакалавърска степен в Биологичния факултет на Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ по специалността „Молекулярна биология“ през 2009 г. със защита на дипломна работа в областта на регулация на експресията на хромметилаза 3 от микроРНК (миРНК). През 2011 г. получава магистърска степен в КФРМБ след обучение в магистратура „Молекулярна биология и биотехнология“ с дипломна работа в областта на определяне на транспозонни участъци в промотори на *Arabidopsis*, при различни екотипове на растението. И в двете степени

на обучение проявява желание за научна работа, упоритост и постоянство и оставя много добро впечатление в катедрата.

От 2012 е редовен докторант по „Молекулярна биология” към катедра „Физиология на растенията и молекулярна биология”, на Биологичния факултет на ПУ „П. Хилендарски”. Дисертацията му започва в новосформираната лаборатория по микроспорови култури, ръководена от Др. Алишер Тураев, който е водещ специалист в областта на микроспоровите култури. Научни ръководители на Н. Аначков са д-р Алишер Тураев и Проф. Галина Яхубян. По време на докторантурата си е специализирал в Холандия, Университета във Вагенинген при д-р Ким Бутилиер, едно от най-известните имена в областта на микроспорови култури. Основната работа, извършена от докторанта през този период е работа върху микроспорови култури от домати и рапица и оптимизиране на протоколите за получаване на микроспори и двойни хаплоиди.

Известно време Николай Аначков е прекарал и в лабораторията в Изследователския център за ядрени изследвания Сарайкьой в Анкара, Турция. Отзивите на приемащите страни за Николай Аначков са били винаги положителни.

Като член на катедрата ФРМБ имам впечатление, че цялостното му представяне във факултета и катедрата се оценява високо и Николай Аначков е считан за един от перспективните млади учени.

В момента Николай Аначков работи във фирма Биовет, Пещера.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Дисертационният труд на Николай Аначков е несъмнено актуален, като се има предвид научната значимост и практическата приложимост на тематиката на дисертационния труд, където се цели получаване на хаплоидни зародиши от микроспори на важни културни - селскостопански растения, в случая няколко важни аграрни култури – домати, пипер, рапица. Предизвикателството в тази работа е, че различните култури, както и различните им сортове са в различна степен податливи на получаване на хаплоидно ембрио от микроспори и в много случаи за тази цел се създават сложни постановки на въздействие, които включват различни варианти на хранителната среда и въздействие със стресиращи фактори – температура, светлина, химични реагенти. Съществуват видове зеленчукови култури (домати), при които и досега не е намерен подход за получаване на функционално хаплоидно ембрио. При други култури като пипер се налагат сложни комбинации от фактори за получаване на положителен резултат.

Друга важна задача, която докторантът е трябвало да изпълни е регенерация на получените хаплоидни зародиши в хаплоидни и особено в двойно хаплоидни растения. Последното е всъщност най-важното приложение на посочените подходи, тъй като ДН са подход за рязко ускоряване на селекционния процес на аграрните култури. ДН са неocenim изходен материал на биотехнологичните фирми за получаване на нови сортове.

4. Познаване на проблема

Докторантът показва както отлично теоретично познаване на механизмите на ембриогенезата и нейната регулация, така и на съществуващите в други лаборатории *in house* подходи и методики за получаване на хаплоидни зародиши и двойнохаплоидни растения.

Литературният преглед е много добре композиран и представлява солидна основа за по-нататъшното обсъждане на собствените резултати.

Докторантът е използвал много широк обхват значими публикации в областта.

5. Методика на изследването

В дисертационния труд са използвани широк набор от съвременни методични подходи в областта на *in vitro* култивирането, които докторантът е усвоил отлично по време на разработката на дисертацията.

Използваните обекти на изследване са различни сортове пипер, от които три български сорта (Хебър, Джулунска Шипка и Куртовска Капия), холандския сорт ALL предоставен от фирмата Rijk Zwaan (Холандия), тайландски декоративен лют пипер (ТД), домати от сорт Monney maker и рапица - сорт Топаз 4079. Включени са достатъчно на брой видове култури, които са с много различна податливост на получаване на хаплоидни зародиши и двойнохаплоидни растения. Върху тях Николай Аначков е прилагал различни стресови въздействия като индуциране на микроспорите към ембриогенеза в различни среди при висока температура (33°C); гладуване, различно рН, колхицин, култивиране на микроспорите за спорофитно делене при различни варианти на хранителни среди, въглехидратен източник, растителни хормони и плодници на тъмно.

Използвани са и методи като оцветяване с DAPI за установяване на подходящата фаза на развитие, оцветяване с FDA PI за оценка на жизнени/нежизнени микроспори; определяне честотата на вакуолизирани и делящи се микроспори, определяне на плоидността чрез метода на устичните клетки.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Като цяло постановката, поставените цели и задачи на изследване, подходът, анализът на получените резултати и получените изводи са в добър синхрон, което прави една добре обмислена и изпълнена дисертационна работа.

Използвани са няколко важни икономически важни растителни вида представени от различни сортове, за да се сравнят различните подходи на получаване на зародиши от микроспори и на двойнохаплоидни растения.

Работата е много добре онагледена със схеми и микрофотографии, което добре документира получените резултати и направените изводи.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Научните и практически приноси на дисертацията са добре дефинирани и отговарят на получените резултати. Като основен принос трябва да се изтъкне създаването на хаплоидни растения от рапица чрез оптимизиране на критични точки на

микроспоровата ембриогенеза, като в конкретният случай е използван сорт Toras 4079. Получени са суспензорни и конвенционални ембриони.

При пипера, култура, която се подава по-трудно на репрограмиране на микроспорите са получени жизнени хаплоидни зародиши. Това е постигнато чрез репрограмиране на ембриогенезата чрез различни съотношение на вещества в хранителните среди, като е установено значението на малтозата като основен въглероден източник в процеса на препрограмиране. Интересен е и полученият резултат, че добавени зародиши от пшеница могат да са инициращ фактор за получаване на хаплоидни зародиши.

При най-трудната култура – домат, не са наблюдавани зародиши, а само единични деления при репрограмираните микроспори, което също е голям успех имайки предвид че при този вид трудно се изолират живи микроспори. Получените резултати са обещаващи за по-нататъшни изследвания, на фона на това, че в световен мащаб това е все още нерешен проблем.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Публикационната активност е на добро ниво – докторантът има две статии с импакт фактор като в едната е водещ автор, с което дисертацията отговаря на специфичните изисквания на Биологичният факултет. Докторантът прилага и две съобщения от международни прояви.

9. Лично участие на докторанта

Личното ми впечатление е, че трудът в много голяма степен, особено практическото изпълнение и обсъждането на получените резултати, са лично дело на докторанта. Непосредственото ми впечатление е за висока самостоятелност и интелигентност на докторанта, който вече е напълно изграден млад учен.

10. Заключение

Дисертационният труд на Николай Аначков е на съвременно теоретично ниво и представлява определен принос за биологичната наука. Докторантът е вече самостоятелен изследовател, способен да провежда собствени изследвания в областта.

Работата напълно удовлетворява изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото прилагане и Правилника на ПУ „Паисий Хилендарски“ за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“.

Въз основа на това, препоръчвам да се присъди на Николай Аначков образователната и научна степен „Доктор“ в споменатата по-горе област „Биология“, „Молекулярна биология“.

01.06.2017

Доц. д-р Марияна Гозманова

Пловдив