

Становище

от доц. д-р Марияна Христова Гозманова
Катедра „Физиология на растенията и молекулярна биология“,
Пловдивски Университет „Паисий 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: Ина Димитрова Кирилова

Тема: „Търсене на ключови гени, регулиращи ранните етапи на взаимодействие на растения - гостоприемници с паразитни растения от сем. Orobanchaceae (Воловодецови)“

Научен ръководител: Проф. д-р Илия Димитров Денев - ПУ „П. Хилендарски“

1. Общо описание на представените материали

Със заповед № № Р 33-4365/23.07.2019г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ) съм определена за член на научното жури за провеждане на процедура за защита на дисертационен труд на Ина Кирилова на тема „Търсене на ключови гени, регулиращи ранните етапи на взаимодействие на растения - гостоприемници с паразитни растения от сем. Orobanchaceae (Воловодецови)“ 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, научна специалност „Молекулярна биология“.

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 издания с импакт фактор, 5 броя публикации извън темата на дисертацията, както и 3 участия в конференции.

Основната част на изследванията, представени в дисертацията са изработени в катедрата по „Физиология на растенията и молекулярна биология“ и СГЦ при СУ „Св. Климент Охридски“, но са предстени и данни, получени от специализациите на докторантката в лабораториите на Проф. Антония Пухеадас и Др. Бегония Перес, Кордоба, Испания и проф. James Westwood, лаборатория по молекулярна фитопаталогия, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blackbuck, VA, USA.

Ина Кирилова е редовен докторант към катедра „Физиология на растенията и молекулярна биология”, с научен ръководител проф.д-р Илия Денев.

Представеният от Ина Кирилова комплект материали на хартиен носител е в съответствие с чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ и включва следните документи:

- молба до Ректора на ПУ за откриване на процедурата за защита на дисертационен труд;
- автобиография по европейски формат;
- нотариално заверено копие на диплома за ОКС ‘бакалавър’ и ‘магистър’
- протоколи от катедрени съвети, докладващи готовност за откриване на процедурата и предварително обсъждане на дисертационния труд;
- автореферат;
- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;
- справка за спазване на специфичните изисквания на съответния факултет;
- списък на научните публикации по темата на дисертацията;
- дисертационен труд;
- копия на научните публикации;
- заповед за зачисляване и отчисляване от докторантура
- заповеди за комисии за провеждане на изпити от индивидуалния план на докторанта и протоколи за издържани изпити

Докторантката е приложила 2 броя публикации с импакт фактор като и в двата тя е водещ автор.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Ина Кирилова придобива образователна степен „бакалавър” по специалност „Молекулярна биология“ в Биологичния факултет на Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ през 2011 г, със защита на дипломна работа свързана с молекулярната таксономия и механизмите на взаимодействие на представители на сем. Воловодецови с техните растения гостоприемници. През 2012 г. защитава магистърска степен „Медицинска биология“ в Пловдивски университет с отличен успех. По време на обучението си докторантката придобива съществени теоретични знания в областта на Молекулярната и Медицинска биология и практически умения в прилагането на техники за молекулно-генетични анализи. Тя натрупва значителен професионален опит работейки като молекулярен биолог по научно-изследователски проекти след дипломирането си както и от специализациите си в чужбина през периода 2012-2013г. В научната работа се представя като

упорит, амбициозен и отговорен млад учен, което ѝ позволява успешно да напредне в кариерното си развитие.

От март 2014г. е зачислена в редовна докторантура към катедра „Физиология на растенията и молекулярна биология” на Биологически факултет, ПУ „Паисий Хилендарски”.

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

Биоразнообразието, устойчивостта и продуктивността на агроecosystemите са съществено застрашени от множество фитопатогени като нематоди, гъби, вируси, вироиди и паразитни растения. Развитието на ефективни подходи за борба с тях както и повишаване на резистентността на гостоприемниците изисква по-задълбочено познаване на жизнения цикъл на патогените и техните комуникации с растенията. Представителите на род *Orobanchе* и *Phelipanche* паразитират върху редица стопански значими култури в световен мащаб, където причиняват съществена редукция в добивите от тях. В тази връзка представеният дисертационен труд е много актуален и значим за опазване на растителното здраве на стопански ценните за страната ни растителни видове.

4. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд на Ина Кирилова е представен на 115 страници и илюстриран с 6 таблици и 27 фигури. Цитирани са 220 литературни източника, като преобладават заглавия, публикувани през последното десетилетие.

4.1 Литературен обзор

Литературният обзор описва в детайли специфичните особености на синята китка като холопаразит, нейния жизнен цикъл и връзка с гостоприемника. Акцент в анализа на сложните взаимоотношения паразит-гостоприемник е необходимостта от доброто им познаване с цел контрол на инфекцията и ограничаване на щетите върху стопански ценни културни видове. Много добро впечатление прави аргументацията на докторанта върху избора на *Orobanchеceae* като обект на изследване базиран на еволюцията на паразитизма, систематиката и таксономията на семейството и загубите в селското стопанство. Посочени са основните видове защита срещу паразита, като два от подходите за активна защита: промяна в нивата на стимуланти на покълване и/или промяна в нивото на експресия на ключови гени, участващи в защитния отговор или комуникациите между паразита и гостоприемника са заложени за изследване в дисертационния труд. Използването на моделното растение *A. thaliana* за гостоприемник на синята китка е свързано с познаването на генома му и прилагането на

метода activation tagging за създаване на мутантни генотипове, сред които докторантката търси устойчиви на опаразитяване линии.

4.2 Цел и задачи

Целта на дисертацията е провеждане на молекулярно-генетичен анализ на мутантни линии *A.thaliana*, показали устойчивост към *P. ramosa* и *P. mutelli* за идентифициране на гени, които участват в ранните етапи на взаимодействие на тези паразити с гостоприемника. Поставените задачи реализират целта на дисертационната работа.

4.3 Материали и методи

В раздела Материали и методи докторантът показва добро познаване на тестовете за определяне на жизнестойност и кълняемост на семената от синя китка и приложението на статистическата обработка на получените данни. Показва отлично владение на методите за изолиране на ДНК и РНК от растения и техния анализ посредством PCR, RT-PCR, qRT-PCR; изолиране на PCR фрагменти от гел, прилагане на протокола за differential display; хибридизационни и клониращи техники.

4.4 Резултати и дискусия

Докторантът докладва сериозна теренна работа, свързана със събиране на семена от синя китка на територията на Южна България, което високо оценявам. Проведен е огромен по обем скрининг на индивидуални линни активационни мутанти на *Arabidopsis* за устойчивост към синя китка в три последователни поколения и са селектирани 36 индивидуални генотипа, при което е потърсена промяна в продукцията на стимуланти на покълване или блокиране на формирането на хаусториума. След проверка на броя на Т-ДНК инсерти за последващ анализ чрез PCR и qPCR са използвани 32 линии. Получените резултати са илюстрирани с 20 фигури и 5 таблици. В седем линии е намерена промяна в експресията и продукцията на стимуланти на покълване, което се свързва с активирането на хлоропластно локализираните E-beta carotenyl synthase синтазен ген или гена, кодиращ терпеноид циклаза. При линиите без промяна в продукцията на стимулатори на покълването, устойчивостта е асоциирана с активация на гена, кодиращ цитохром P450 монооксигеназа или с дезактивацията на гена за Auxin Response Factor 16. Тези резултати представляват оригиналните приноси на докторантката. Направените изводи съответстват на целта и задачите на дисертацията.

5. Приноси

Докторантката е обобщила проведената по дисертацията си научно-изследователска работа в седем приноси, от които четири са с оригинален характер, един принос е с потвърдителен характер, един с методичен характер и един е научно-приложен принос.

6. Публикации свързани с дисертацията

Представени са две публикации с водещ автор докторантката, които са свързани със задачите поставени в дисертацията, с което са покрити изискванията на Биологическия факултет, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ.

7. Автореферат

Авторефератът е изготвен в съответствие с изискванията и отразява съдържанието на дисертацията.

8. Критични забележки и препоръки

Препоръки: Протоколът за qRT-PCR е представен в раздел Резултати, а би трябвало заедно с използваните праймерни секвенции да бъдат включени в раздел Материали и методи. Препоръчвам по-внимателно използване на английски думи и техния превод на български език (напр. ресийвъри).

Забележки: На фиг. 8 в раздел Резултати няма цифрово обозначение на ординатна ос за преценка процента на кълняемост на семената. Подобен проблем има и при фиг. 21, 22, 24, 25 и 26, където се затруднява преценката на размера на фрагментите, анализирани на геловете. Резултатите от qRT-PCR представени в таблица 6 би трябвало да се представят със стойности за количествена преценка на относителната генна експресия на идентифицираните гени в устойчивите на опаразитяване активационни линии *A. thaliana*, придружени от статистическа обработка.

9. Заключение

Дисертационният труд на Ина Кирилова е с оригинален характер и съществено практическо приложение в молекулярна фитопатология. Той показва компетентност и зрялост на докторантката като млад учен в дизайна и разработката на цялостно научно изследване както и използването на статистически и биоинформатични инструменти за процесирание на биологични бази от данни.

Дисертационният труд на Ина Кирилова отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ

и Правилника на Пловдивски Университет „Паисий Хилендарски“, както и на специфичните изисквания на Биологическия Факултет, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ.

Въз основа на това, убедително давам своята **положителна оценка** и препоръчам на Уважаемото Научно жури да присъди на докторантката Ина Кирилова образователната и научна степен „Доктор“ по докторска програма „Молекулярна биология“, област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки.

07.09.2019 г.

Подпис:

доц. д-р Марияна Гозманова