

РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за получаване на образователната и научна степен “доктор” по: област на висше образование „Аграрни науки и ветеринарна медицина”, професионално направление 6.1. “Растениевъдство”, научна специалност 04.01.05 – “Селекция и семенпроизводство на културните растения”

Автор на дисертационния труд: гл.ас. Ирена Аспарухова Голубинова, задочен докторант към отдел “Селекция и семенпроизводство на фуражните култури” при Института по фуражни култури гр. Плевен.

Тема на дисертационния труд: “Проучване на възможностите за обогатяване на генетичното разнообразие при суданската трева (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.) чрез индуциране на мутации с гама-лъчи”.

Рецензент: проф. дсн Димитър Дойнов Генчев от Добруджански земеделски институт, гр. Генерал Тошево, определен за член на научното жури със заповед № НП-08-72 / 02.08.2012 г. на Председателя на ССА; област на висше образование „Аграрни науки и ветеринарна медицина”, професионално направление 6.1. “Растениевъдство”, научна специалност 04.01.05 – “Селекция и семенпроизводство на културните растения”.

1. КРАТКО ПРЕДСТАВЯНЕ НА КАНДИДАТА

Ирена Аспарухова Голубинова е родена на 12.02.1974 г. в гр. Свищов, обл. Ловешка. През 1998 г. завършва Висшия селскостопански институт – Пловдив, специалност “Агроинженерство-агроекология”, квалификация “Магистър”; придобива втора специалност “Растителна защита”, квалификация “Магистър”; и допълнителна квалификация: по “Педагогика” и “Борсови посредници-брокери и дилъри”, квалификация “Специалист”. Преминава обучение по английски език първо-трето ниво в Центъра за подготовка на кадри при НЦАН и цитогенетични анализи в Института по физиология на растенията и генетика – София.

През 2001 г. е избрана за научен сътрудник III ст. към Института по фуражни култури гр. Плевен, през 2006 г. за н.с. II ст. и 2009 г. за н.с. I ст. В момента работи като гл. асистент към същия институт. Гл. асистент Голубинова има 9 години научен стаж, като от 08.2002 г. до 08.2004 г. е по майчинство.

Със заповед № РД-16-24 от 12.03.2008 г. н.с. Ирена Аспарухова Голубинова е записана в задочна докторантура по научна специалност – Селекция и семенпроизводство на културните растения, шифър 04.01.05 към Института по фуражни култури, гр. Плевен, считано от 10.03.2008 г. до 10.03.2012 г. За научен ръководител е определен ст.н.с. I ст. дбн Костадин Иванов Гечев. Със заповед № РД-16-35 от 17.06.2008 г. е допълнена заповед № РД-16-24 от 12.03.2008 г. с темата на дисертационния труд “Проучване на възможностите за обогатяване на генетичното разнообразие при суданската трева (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.) чрез индуциране на мутации с гама-лъчи”.

Гл. асистент Голубинова е била включена и е включена в следните изследователски проекти:

- **2002-2005 г. ПРОЕКТ** “Мутационна селекция, междувидова хибридизация и екологогенетична оценка на генотиповете в селекционния процес при сорго, люцерна и райграс”.

- **2006-2007 г. ПРОЕКТ** “Изследване на растителните и генетични ресурси за подобряване на сортовия състав при фуражните треви”.
- **2008-2010 г. ПРОЕКТ** “Подобряване сортовия състав на фуражните треви”.
- **2011-1013 г. ПРОЕКТ** “Селекция и сортоподдържане на нови сортове фуражни култури с повишена продуктивност, качество и адаптивност”.
- **2011-2013 г. ПРОЕКТ №ПОЗМ140** “Разработване и приемане на технологични критерии за биологично производство при нови сортове фуражни култури (люцерна, грах, фий, нетрадиционни фуражи), създаване и лицензиране на биологично поле за семепроизводството им”.

2. ОБЩА ХАРАКТЕРИСТИКА НА НАУЧНИЯ ТРУД

Дисертационният труд съдържа общо 153 страници, от които 2 стр. увод, 28 стр. литературен преглед, 1 стр. цел и задачи, 10 стр. материал и методи, 6 стр. почвено-климатична характеристика за районите на изследване, 84 стр. резултати и обсъждане, 3 стр. изводи, 2 стр. приноси и 18 стр. литература. От посоченото по-горе се вижда, че дисертационният труд е структуриран правилно, като отделните раздели са добре балансирани по обем.

3. АКТУАЛНОСТ НА ПРОБЛЕМА

Суданската трева [*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf] е една от перспективните фуражни култури в районите с топъл климат и недостатъчно валежи, може да бъде използвана за паша, надробен зелен фураж, за сено, силаж, характеризираща се с добър вкус, а също така е перфектен фураж за рибите в рибовъдните стопанства. Сеното от суданка, прибрано в подходящ момент, съдържа голям процент листа и има високи хранителни качества. Може да се отглежда с успех и в смес с други едногодишни фуражни растения и особено с бобови, с което се подобрява хранителната стойност на фуража. Поради добрите си хранителни качества суданската трева е ценна храна за всички домашни животни. Добивите, които се получават от суданската трева, са доста високи. Средният добив на зелена маса се движи между 20-30 тона или 5-8 тона сено от хектар. При благоприятни условия добивът на зелена маса достига 40-50 тона или 12-15 тона сухо сено от хектар. От типичните едногодишни житни растения суданската трева се отличава с *голямата си способност да брати*, като образува нови братя не само от подземните, но и от надземните възли на стъблото. Благодарение на тази особеност след всяка коситба или изпасване растенията бързо се съвземат и дават нови стъбла и листа, така че от нея се получава свежа зелена маса през цялото лято до настъпването на студовете. Това я прави *незаменим компонент на зеления конвейер*.

От началото поставено от Stubbe през 1928 г. до днес чрез използване на експерименталния мутагенезис са създадени хиляди сортове културни растения (царевица, пшеница, грах, соя, фасул, хризантеми, далии, цитросови, ябълки, круши и др.) комбиниращи ценни стопански качества. Или, експерименталният мутагенезис е бърз и продуктивен селекционен метод за обогатяване на генетическото разнообразие на растителните видове.

Всичко посочено по-горе ми дава достатъчно основание да отбележа, че темата на разработената дисертация е актуална и полезна.

4. ЛИТЕРАТУРНА ОСВЕДОМЕНОСТ ПО НАУЧНИЯ ПРОБЛЕМ

Литературният обзор е изчерпателен и засяга всички аспекти на индуцирания мутагенезис и подобряването на културните растения. Цитирани са 300 литературни източника, от които 66 са на кирилица и 234 на латиница. Те обхващат 83 годишен период (от 1928 година), но значителна част от тях (124 източника (41.3%) са публикувани след 2000-ната година, 64 източника (21.3%) са публикувани в периода 1991 - 2000 г., 47 изт. (15.7%) в периода 1981-1990 г., 35 изт. (11.7%) в периода 1971-1980 г. и т.н.

Литературният обзор е написан на добър стил. Не се отбелязват пунктуални и технически грешки. Източниците са цитирани правилно както в текста, така и в списъка на литературата.

Докторантът с лекота коментира и анализира мненията на различните автори по отношение създаването на генетическо разнообразие.

Целта на изследването е мотивирана ясно и точно, след задълбочен анализ и обобщение на литературните източници. За изпълнението ѝ са формулирани четири задачи.

5. ОЦЕНКА НА МЕТОДИЧНАТА ЧАСТ

Методически опитите са поставени и изведени правилно в лабораторни, оранжерийни и полски условия.

На географски принцип са подбрани три сорта суданска трева: **Kazitachi** (произход от Япония), **Vercors** (произход от САЩ) и **Воронежская 9** (произход от Русия).

Експерименталната работа е извършена в *два етапа*.

В първия етап е определена радиочувствителността на сортовете суданска трева към въздействието на различни дози гама лъчи. За установяване на радиочувствителността на три сорта (**Kazitachi**, **Vercors** и **Воронежская 9**) суданска трева при лабораторни, оранжерийни и полски условия са облъчени сухи семена с широк диапазон от дози гама лъчи от 200 до 2000 Gy, със стъпка 200 Gy.

За оценка на биологичната реакция на суданската трева към приложените дози гама-лъчи са използвани следните показатели и индекси:

- *При лабораторни условия* – кълняемост, дължина на кълна и корена, маса на кълна и корена, и индекс на развитие на растенията.
- *При оранжерийни условия* – кълняемост, преживяемост на растенията от поникване до 8^{-ия}, 16^{-ия} и 24^{-ия} ден спрямо съответния контролен вариант.
- *При полски условия* – кълняемост, преживяемост и височина на централното стъбло по фенофази, стерилност, братимост и височина на братята.

Въз основа получените резултати от изведените лабораторни, съдови и полски опити, направената комплексна оценка на радиочувствителността и определените стойности на LD₅₀ на трите сорта суданска трева е подбран набор от дози гама лъчи за облъчване на семената за извеждане на полските опити, целящи обогатяване на генетичното разнообразие при суданската трева.

Във втория етап е обогатено генетичното разнообразие при суданската трева чрез индуциране на мутации с гама лъчи. Мутантните форми потвърдили M₃ признаците са засети в M₄ за характеризиране в сравнителен опит.

Използвани са формули за скорост на нарастване и натрупване на свежа биомаса, индекс за развитие на растенията, индекс за аридност на Marton и на Red, ефективност и ефикасност по формулите на Konzak, коефициентът на ефективност на Krausse.

Получените резултати са обработени статистически чрез използване на еднофакторен, двуфакторен и трифакторен анализи, регресионен анализ, корелационен анализ и кластерен анализ.

За доказване на различните хипотези са използвани "F_φ" критерия на Fisher, корелационното отношение " η^2 ", корелационните коефициенти на Pearson и детерминационния коефициент " R^2 ".

Използвани са софтуерните продукти: "TRIMED SPEARMAN KARBBER METHOD Ver. 1.5; MS/DOS-STDTA; BIOSTAT Ver. 1.0; STATGRAPHICS Plus for Windows Ver. 2.1. и Microsoft Office Excel 2003.

6. АНАЛИЗ И ОЦЕНКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Резултатите от проведените изследвания са представени на 56% от обема на дисертационния труд. Те са обобщени в пет раздела:

- 1 **Определяне радиочувствителността на сортове суданска трева към въздействието на различни дози гама лъчи при лабораторни, оранжерийни и полски условия** – *Облъчването с гама лъчи в диапазона от 200 до 2000 Gy не оказва статистически значимо влияние върху лабораторната кълняемост, но оказва значимо влияние върху кълняемостта (при оранжерийни и полски условия), преживяемостта и динамиката на нарастване и натрупване на свежа биомаса при оранжерийни условия. При полски условия облъчването с дози гама лъчи до 400 Gy инхибира преживяемостта и продължителността на вегетационния период, а дозите над 400 Gy водят до пълна леталност при всички сортове. Биологическият ефект се изразява в понижаване височината на централното стъбло, увеличение на стерилността и продължителността на вегетационния период. Изчислени са регресионни модели за влиянието на гама лъчите върху кълняемостта при лабораторни, оранжерийни и полски условия, и преживяемостта при оранжерийни и полски условия.*
- 2 **Цитогенетични проучвания – анализ на хромозомните аберации** – *Резултатите от кариотипния анализ на соматични коренови клетки от коренова меристема на сортовете суданска трева, използвани в изследването показват, че в прометафаза и метафаза хромозомите са с много малки размери и доста сходна морфология. Поради тази причина са анализирани честотата и спектъра на хромозомните аберации в анафаза. Доста голяма част (8.5% – 10.2%) от гама индуцираните аберации при суданската трева се оказват от хроматиден тип. Установено е, че значителна част от меристемните клетки на сухите семена са влезли в синтетичния стадий (S) на интерфазата по време на облъчването, което е необичайно за клетъчна популация на спящи семена, която се очаква да е синхронизирана в предсинтетичния стадий (G₁) от интерфазата.*
- 3 **Влияние на гама лъчите върху развитието на растенията в M₁ поколение** – *В M₁ е налице доказано намаление броя на поникналите, преживелите и фертилни растения с нарастване дозите на облъчване от 100 до 400 Gy. С увеличение дозите на облъчване доказано нараства процента радиоморфози до 8.87% и достига максимум при доза 400 Gy. От проучените количествени признаци най-чувствителни на облъчване са признаците маса на зърната от една метлица, маса на оронена метлица и брой на зърната от метлица. От селекционните признаци надеждни прогнозни критерии за действието на гама*

лъчи са: полска кълняемост, преживяемост, стерилност, маса на зърната от метлица в M_1 и мутационна честота във второ мутантно поколение.

- 4 Характер на мутационния процес в M_2 поколение. Честота и спектър на индуцираните видими мутации** – С увеличение дозите на облъчване честотата на видимите мутации в M_2 , изразена чрез броя мутации на 100 M_1 растения и броя на мутантите на 100 M_2 растения нараства статистически доказано, съответно от 9.1% до 17.3%, и от 0.60% до 2.31%. Наблюдаваните хлорофилни мутации са *albina*, *aurea*, *lutea*, *chlorina* и *viridissima* от група **CHLOROHOM** и *xanthotigrina*, *xanthoviridis* и *alboviridis* от група **CHLORODIV**. Морфологичните изменения засягат **хабитуса** (моцни, тревисти), **листата** (широки, тесни, набръчкани, редуцирана и разцепена листна петура, восъчен нален), **метлицата** (продуктивна и видоизменена), **вегетационния период** (ранозрели и късно зрели) и **фертилността** на растенията (стерилни и полустерилни). Установените корелационни зависимости между честотата на хлорофилните мутации и честотата на морфологичните мутации в M_2 дават основание хлорофилните мутации да се използват, като приблизителен критерий за оценка мутабилността при изследваните сортове суданска трева.
- 5 Анализ на мутационните изменения в M_3 и M_4** - В този раздел е представена характеристика на наблюдаваните мутации с ценни стопански качества: хлорофилни, морфологични, физиологични и засягащите фертилността. Представена е също така и характеристика на **20 перспективни мутанта** с ценни стопански качества. С помощта на кластерния анализ е установена генетическата близост на перспективните мутанти, на групи по трите изходни сорта.

Прави впечатление много добрата структура на представяне на резултатите в таблици, графици и снимки в зависимост от тяхната специфика.

7. ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Приемам представената справка за приносите, които могат да бъдат обобщени по следния начин:

Теоретично-приложни приноси

1 Установени са *корелационни зависимости* между мутационната честота в M_2 и полската кълняемост, преживяемост, стерилност, масата на зърната от метлица, масата на оронена метлица и броя зърна от метлица в M_1 . Тези зависимости дават основание тези показатели да бъдат използвани като **надеждни прогнозни критерии** при определяне на оптималните дози на облъчване за целите на мутационната селекция.

2 Установени са *регресионните модели* за въздействието на различни дози гама-лъчи върху кълняемостта на семената и преживяемостта на растенията при лабораторни, оранжерийни и полски условия. Тези модели дават възможност за прогнозиране на мутагенния резултат при дози на гама-лъчите, които не са обект на това изследване.

3 Установени са *честотата и спектъра на хромозомните аберации в анафаза* при изследваните сортове суданска трева. Доста голяма част (8.5% – 10.2%) от гама индуцираните аберации при суданската трева се оказват от **хроматиден тип** и по време на облъчването е налице **асинхронност на клетъчната популация в сухите**

семена по отношение фазите на клетъчния цикъл, като популацията се очаква да е естествено синхронизирана в предсинтетичния стадий (G_1) на интерфазата.

4 Установен е **спектъра и честотата на фенотипните мутации** при трите изследвани сорта суданска трева.

Приложни приноси

1 Установени са **стойностите на LD₅₀ на гама-лъчите** за всеки сорт при оранжерийни и полски условия, които заедно с дозите получени с регресионните модели служат като база при избора на оптимални дози за облъчване на сухи семена при суданската трева за постигане на възможно максимално количество полезни мутанти от селекционна гледна точка.

2 Селекционирани и охарактеризирани са 20 перспективни мутантни линии, превишаващи доказано изходните сортове с **два до десет признака** от 18 стопански важни признаци. Те са **отличен изходен селекционен материал с: 10 признака** (M-300/114), **9 признака** (M-200/86), **8 признака** (M-300/43, M-200/255, M-200/256) и т.н. Мутантните форми **M-300/69** и **M-300/114** с произход сорт Vercors, **M-200/286** и **M-300/43** – произход сорт Kazitachi, **M-200/255** и **M-200/256** – произход Воронежская 9 превъзхождат изходните сортове с най-доброто съчетание на комплекс от стопански ценни показатели.

Посочените приноси съчетано с комбинативната селекция позволяват целенасочено планиране и реализиране на селекционен процес за създаване на сортове с определени качества, и при това за възможно най-кратък срок.

8. КРИТИЧНИ БЕЛЕЖКИ И ВЪПРОСИ

8.1. Критични бележки

- Както в дисертационния труд, така и в публикациите липсват груби, компрометиращи крайните резултати методични и други грешки. По съществена със случаен характер е грешката с наличието на математическите знаци + и – в един и същи пункт на някои регресионни модела в табл.33 на дисертацията и табл.17 на автореферата.

8.2. Въпроси

- Какво е различieto в понятията ефективност и ефикасност?
- По кой модел са изчислени LD₅₀ стойностите – пробит или логически модел?
- Кой мутанти бихте използвали в селекционно-подобрителната работа и практиката, и в кои случаи?
- В автобиографията са посочени 12 цитирания, за които не е посочена справка, кои публикации са цитирани и къде. Въпросът е дали има цитиране на публикации във връзка с дисертационния труд?

9. ПУБЛИКУВАНИ СТАТИИ И ЦИТИРАНИЯ

Във връзка с дисертационния труд са публикувани 4 научни статии, две в съавторство и две самостоятелно. Три от статиите са публикувани (две статии в сп. “Селскостопанска наука” и една в сп. “Bulgarian Journal of Agricultural Science”), а четвъртата е приета за печат (сборник “Научни трудове на АУ”/ сп. “Аграрни науки” бр. 10, 2012 г, като е приложена служебна бележка. Важен наукометричен критерий

при оценката на научни статии са цитиранията на публикациите от други автори. Научните публикации (9 бр.) на гл. ас. Ирена Голубинова са цитирани 12 пъти, 6 в международни и чуждестранни научни списания и 6 в наши реферирани научни списания. Като се има предвид кога са публикувани статиите във връзка с дисертационния труд трудно може да се очаква да са цитирани, но е възможно някои от тях да са цитирани.

Представеният автореферат отразява обективно съдържанието на дисертационния труд.

10. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

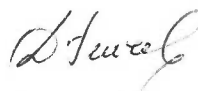
Въз основа на научените и приложени, от докторантката, различни методи на изследване, правилно изведените експерименти, направените обобщения и изводи считам, че представеният дисертационен труд на тема “Проучване на възможностите за обогатяване на генетичното разнообразие при суданската трева (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.) чрез индуциране на мутации с гама-лъчи” отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на ССА за неговото приложение, което ми дава основание да го оценя **ПОЛОЖИТЕЛНО**. Той е едно отлично ръководство за използване на експерименталния мутагенезис в селекционно-подобрителната работа на културните растения.

Позволявам си да предложа на почитаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на гл.ас. Ирена Аспарухова Голубинова образователната и научна степен “**доктор**” по научна специалност – “Селекция и семепроизводство на културните растения”, шифър 04.01.05.

24.09.2012 г.

ДЗИ гр. Генерал Тошево

РЕЦЕНЗЕНТ:



/проф. дсн Димитър Генчев/