

## РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд, представен пред научно жури, сформирано със заповед № РД 38-103/06.03.2014 г. на Ректора на Софийски Университет „Св. Климент Охридски“ за получаване на образователната и научна степен “доктор”

**Автор на дисертационния труд:** Йоана Красиминова Кижева

**Тема на дисертационния труд:** “ФИТОПАТОГЕННИ БАКТЕРИИ ОТ РОД *XANTHOMONAS* ПО *SOLANUM LYCOPERSICUM*”

**Рецензент:** проф. Мария Ангелова, дбн

Представителите от род *Xanthomonas* са част от големия световен проблем за сериозните икономически загуби от компрометиране на реколтата от фитопатогени бактерии. Те са обект на вниманието на изследователи, производители, търговци и дори политици. През 2014 г, по искане на Европейския съюз, European Food Safety Authority (EFSA) разработи становище относно значението на видовете от род *Xanthomonas* за развитие на селскостопанските култури на територията на ЕС, както и възможностите за превенция. За България, посоченият проблем има своето измерение при бактериите, патогени по домати. Създаването на стратегия за контролиране на заболяването включва на първо място идентифициране и охарактеризиране на регионално разпространените видове. В литературата все по-често се срещат обобщаващи изследвания за отделни региони или държави, в които се систематизират данни за представителите на род *Xanthomonas* на базата на молекулярно-биологични методи. Всичко казано до дук подчертава актуалността и значението на изследванията, включени в дисертацията на Йоана Кижева. У нас това е първата разработка, която цели да приведе видовата структура на фитопатогенните ксантомонади в региона в съответствие със съвременния таксономичен статус на тези бактерии. По своята актуалност дисертационният труд се вписва много точно в основните приоритети на страната и Европа. Искам да подчертая още, че докторантката и нейните научни ръководители, проф. П. Мончева и проф. Н. Богацевска, са си поставили сериозна научна задача с несъмнено приложно звучене.

Основната насоченост на изследването е свързана с получаване на нови знания относно причинителите на бактериалното струпяване по домати в теоретичен и приложен аспект.

Изследването, включено в дисертацията всъщност е първата задължителна стъпка от процеса за разработване на стратегия за борба с бактериозите по домати, т.е. база за приложни приноси.

Дисертационният труд е конструиран в традиционна форма със съответните раздели. Написан е на 155 стандартни компютърни страници, които включват 128 страници текст и 27 страници литература. Литературният обзор е изготвен целенасочено и конкретно и включва всички аспекти на изследването. В него са отразени 283 публикации (9 на кирилица и 274 на латиница), кореспондиращи с всяка една от поставените задачи. Над 45% от статиите са след 2000 г. Обзорът представя състоянието на проблема в исторически план и по настоящем, включва информация за проведените в България изследвания и доказва необходимостта от разработването на дисертационната теза.

Въз основа на анализа в литературния обзор е изведена целта на настоящата дисертация: да се получат нови знания относно причинителите на бактериалното струпяване по домати, разпространени в България със съвременни методи и подходи. За реализирането на тази цел са формулирани конкретни, взаимно обвързани и логически следващи задачи, които включват всички задължителни критерии за многостранното охарактеризиране на фитопатогенни бактерии.

Разделът "Материали и методи" демонстрира внушителен набор от методи, съобразени с конкретните изисквания на експеримента. Те са както рутинни, така и съвременни, микробиологични, биохимични, молекулярно-биологични и др. Освен това са разбираеми и дават възможност за коректно провеждане на експериментите и получаване на достоверни резултати. Много силно впечатление прави включването на PCR, PCR-RFLP, PCR амплификация с видово специфични праймери, секвениране на 16S-23S ITS фрагменти, расовата идентификация, анализите на патогенността, биохимичното охарактеризиране и др. Докторантката е усвоила умения да работи с фитопатогенни бактерии на молекулярно-биологично ниво. Искам да подчертая, че подходът на Кижева да използва няколко метода за да получи съпоставима информация в съответен експеримент, внася в разработката доказателство за достоверност и прецизност.

В раздел „Резултати и дискусия” е включен огромен експериментален материал, който се характеризира с логическа последователност. Отделните етапи са разработени обстойно. В експерименталната работа са обхванати всички райони в България, които се занимават с

промишлено производство на домати, а това вече е предпоставка за мащабността на изследването и за значението на получените резултати. Искам да отбележа и изключително дългият период от време (1985 – 2012 г) за събиране и обработване на проби, който дава възможност анализът на резултатите да стъпи на голям брой данни.

Следвайки логическата последователност на поставените задачи, докторантката получава нови данни за морфологичните и физиолого-биохимичните особености, за патогенността и расовия състав на популацията от представители на род *Xanthomonas*, характерна за българските сортове домати, както и за плевелите по тях. Идентификацията и съвременния таксономичен статус са постигнати с молекулярно-биологични методи. На базата на резултатите от системата BIOLOG е построена дендрограма, която разпределя изолатите в 6 групи при 80% подобие. Последващият PCR-RFLP анализ диференцира 4 вида – *Xanthomonas vesicatoria*, *X. euvesicatoria*, *X. gardneri* и *X. perforans*. Докторантката провежда нови изследвания и чрез PCR амплификация с видово специфични праймери потвърждава получените резултати и прави аргументиран анализ на видовия състав на патогенната популация за изследвания период.

Прави впечатление мащабната експериментална работа по определяне на метаболитния профил на основните компоненти на популацията – *X. vesicatoria* и *X. gardneri*. Масивът от данни позволява щамово разграничаване на изолатите във вида. Макрорестрикционният анализ на геномната ДНК на посочените два вида доказва генетичното разнообразие в популацията. В тези експерименти са използвани две ендонуклеази, но резултатите за едната от тях (*Xba*I) очертават макрорестрикционен профил, неописан до този момент.

Трябва да се отбележат и експериментите за ефекта на медните йони, резултатите от които са приложен принос към разработването на стратегия за контрол с химични средства. Въпреки че на пръв поглед изследванията относно антибиотичната чувствителност не са пряко свързани с превенцията (в България не се използват антибиотици за борба с бактериозите по растенията), получената информация има важно значение за типирание на изолираните щамове. Докторантката аргументирано изтъква своите съображения за този раздел и според мен те звучат убедително за читателя. Интерес представляват и експериментите за взаимоотношенията между видовете и расите. Получените резултати са база за следващи конкретни разработки.

Към достоинства на дисертацията трябва да се добави и умението на Кижева да отразява извършеното много ясно и коректно, да обсъжда получените резултати на фона на постигнатото от други автори. Дискусията е направена убедително въз основа на съвременни данни. Трябва да се подчертае стремежът на автора да търси обяснение, да предвижда евентуални въпроси от читателя и да дава отговор на тях в текста. Това, разбира се, е възможно благодарение на много доброто познаване на проблема и задълбочената научна разработка. Много добра идея е в края на дисертационния труд да бъде представен подраздел „Обобщение“. Всъщност това е анализ на най-важните резултати, което улеснява читателя при възприемане на постиженията на разработката.

Изводите са логично следствие от проведените експерименти. Според мен са формулирани коректно и подчертават постигнатото.

Трябва да се подчертае още, че дисертацията е написана в много добър научен стил и коректно отразява получените резултати. Доказателственият материал е оформен професионално в 12 таблици и 54 фигури (повечето комплексни и цветни). Снимките, дендрограмите и електрофорезите са с отлично качество. Таблиците, макар и някои от тях да включват голямо количество информация, са ясни и добре форматирани.

Към докторантката имам следните забележки и препоръки:

1. Някои от процедурите в „Материали и методи“ са описани с излишни подробности (стр. 58, 60, 64 и др), характерни за учебно помагало.

2. Според мен е по-логично подраздел 6 (генетичното разнообразие в популацията) да бъде преди подраздел 4.

3. Литературните източници от 2011, 2012 и 2013 г. са представени сравнително слабо.

4. Препоръчвам на автора да публикува получените данни за съвременния таксономичен статус на популацията от род *Xanthomonas* в България, в специализирани журналы, за да информира научната общност в чужбина и да присъедини българските резултати към световната база-данни.

Посочените забележки ни най-малко не намаляват стойността на дисертацията. Отбелязвам ги с презумпцията да бъде полезна за бъдещата работа на Йоанна Кижева. Още повече, че извършените изследвания дават възможност да се открият сериозни

теоретични приноси, както оригинални, така и потвърдителни. По същество, те се отнасят до следното:

1. Постигната е целта на разработката – видовата структура на фитопатогенните ксантомонади в региона е приведена в съответствие със съвременния таксономичен статус на тези патогени.

2. За първи път е направена пълна характеристика по фенотипни и генотипни признаци на популацията от представители на род *Xanthomonas*, причинители на струпяване по домати в България, което присъединява регионалните данни към световната базаданни.

3. За първи път се съобщава за участието на *X. gardneri* в популацията от ксантомонади, причинители на струпяване по домати в България. Доказан е неговият расов състав.

4. Разработен е алтернативен метод за диференциране и идентификация на видовете *X. vesicatoria*, *X. euvesicatoria*, *X. gardneri* и *X. perforans*.

5. За първи път е получена информация за вътревидовото разнообразие в популацията на патогена *X. vesicatoria* чрез съвременни молекулярно-биологични методи.

6. Установен е нов PGFE профил при вида *X. vesicatoria*, който не е описан в научната литература.

7. Получените нови данни за българската популация от род *Xanthomonas* допълва информацията за вътревидовото разнообразие на вида *X. vesicatoria*.

8. Получените данни са база за разработването на стратегия за контрол и превенция на тази бактериоза в районите на България, които развиват производството на домати.

Част от резултатите са включени в 4 научни публикации, 3 от тях са в списание с IF (2 са в VVEq с IF 0,76 и 1 Bulgarian Journal of Agricultural Science с IF 0,190) и 1 в сборник в пълен текст. Представени са резултати и на 6 научни форума, от които 4 международни. Йоана Кижева е на първо място в 3 статии и 4 доклада. Тези данни ми дават основание да направя извода, че в основната си част, резултатите са дело на докторантката.

Авторефератът отразява достоверно най-съществените резултати, получени при разработката на дисертационния труд.

В заключение искам да подчертая, че: материалът е дисертабилен, разработена е много актуалната тема, която предлага нова информация за разработване на стратегия за борба със загубите на земеделска продукция. Експериментите са поставени методично правилно, получените резултати са достоверни и са солидна база за следващи научни и приложни разработки. Извършена е огромна експериментална работа, като поставеният проблем е многостранно и детайлно проучен на съвременно ниво, направени са съществени приноси, получени са резултати, които пряко са адресирани към практиката.

Тук искам да добавя и своите положителни лични впечатления от научното развитие на Йоана Кижева като подготвен специалист в областта на фитопатогенните бактерии. Тя е усвоила голям брой съвременни методи, запознала се е основно с важен за науката и практиката проблем, получила е опит при интерпретиране на научни данни и всичко това ѝ дава квалификация на млад учен, достоен конкурент на колеги от известни лаборатории.

Въз основа на направения разбор и на доказаното израстване на докторантката, предлагам на уважаемите членове на научното жури, сформирано със заповед № РД 38-103/06.03.2014 г. на Ректора на Софийския Университет „Св. Климент Охридски”, да присъдят на Йоана Красимилова Кижева образователната и научна степен “доктор” по професионално направление 4.3 Биологични науки, специалност 01.06.12 Микробиология.

11. 04. 2014 г

София

Рецензент:.....

/проф. М. Ангелова, дбн/