

СТАНОВИЩЕ

от проф. дн Невена Стоянова Богацевска Селскостопанска академия, Институт по почвознание, агротехнологии и защита на растенията „Н. Пушкаргов”, София

на дисертационен труд, представен за защита за получаване на образователната и научна степен „доктор” по Професионално направление 4.3 Биологични науки, (Микробиология)

Автор на дисертационния труд: Йоана Красимилова Кижева

Тема на дисертационния труд: Фитопатогенни бактерии от род *Xanthomonas* по *Solanum lycopersicum*

1. Актуалност и значимост на дисертационната тема

Фитопатогенните бактерии от род *Xanthomonas* се развиват и размножават в тъканите на растението симптомно или безсимптомно, колонизират епифитно и ендофитно гостоприемници и негостоприемници, съхраняват популацията си в хипобиотично състояние и отново се размножават, загиват, преместват се и се възпроизвеждат. Таксономичната характеристика на ксантомонасите е обект на изследвания в течение на дълъг период от време, т.к. род *Xanthomonas* е биохимично несигурна група, а видовете му са в тясно филогенетично родство. Естествената популация на ксантомонасите, причинители на бактериен струпясване по домати, разпространена широко по всички континенти е хетерогенна, различава се по симптоматична картина, видов състав (*Xanthomonas vesicatoria*, *X. euvesicatoria*, *X. perforans*, *X. gardneri*), фенотипна характеристика, генетично разнообразие, патотип и раси. Заболяването у нас е известно от 1935г и от тогава е обект на научни изследвания. Стриктното определяне на видовия и расов състав на ксантомонасите - патогени по домати в България - заема важно място при: изучаване генетиката на устойчивостта; създаване на сортове с комплексна устойчивост към отделните видове и раси; разработване на система от мероприятия за ограничаване развитието на заболяването и получаване на качествена продукция. Изложените факти много добре мотивират правилния избор на темата, нейната актуалност и значимост - диференциране на видов и расов състав на ксантомонасите, причинители на бактериен струпясване по домати в България в съответствие с актуалния таксономичен статус на фитопатогенните бактерии; вътревидово и генетично разнообразие на българските щамове и разработване на метод за идентификация и разграничаване на отделните патогени.

2. Оценка на структурата на дисертационния труд, получените резултати и приносите

Целта на дисертацията и поставените конкретни задачи са формулирани ясно и точно. Дисертационният труд е написан на 155 стандартни А4 формат страници и включва 13 таблици и 54 фигури. Структуриран и балансиран е по класическата схема. Приятно впечатление прави естетическото оформяне на работата с оригинални цветни фигури и снимки. Докторантката допълнително включва в дисертацията: списък на таблиците, фигурите и използваните съкращения, резюме и обобщение, което придава напълно завършен и оформен вид на първия самостоятелен научен труд.

Дисертацията е написана на правилен български език с подчертан научен стил и прецизно използване на специфичната терминология, което показва задълбочени познания в областта на микробиологията и фитобактериологията.

При формирането на целите и задачите, разработване на методичната част, провеждане на експериментите, обсъждане и интерпретиране на получените резултати

докторантът е подпомогнат от много добрата литературна осведоменост. Цитирани са общо 283 автора от които 11 на кирилица и 274 на латиница. Познаването на научните достижения, отразени в литературните източници у нас и в чужбина позволяват на Кижева да открие неизследвани пространства и да постави дискуссионни въпроси относно таксономията на ксантомонасите, причинители на бактериен струпясване по домати в България; взаимозависимост между метаболитен профил и амилотична активност на идентифицираните видове; връзка между патогенната и резидентна популация на *X. vesicatoria*; вътревидово фенотипно и генетично разнообразие на патогенните бактерии.

Разделът “материал и методи” е представен систематизирано, точно е детерминирана целта на извежданите опити. Използван е богат набор от методи за: изолиране на бактериите; диференциране на патотип и раси; идентифициране на патогенните (фенотипни и молекулярни PCR - RFLP анализ на 16S-23S ITS; PCR-амплификация с видово - специфични праймери, макрорестракционен анализ с ендонуклеази *XbaI*, *SpeI*; секвениране на 16S-23S ITS на типовата култура на *X. euvesicatoria*); чувствителност към антибиотици и медни йони.

В разработения от Кижева дисертационен труд е включен голям експериментален материал, обработен с умение, точност и прецизност с класически микробиологични, генетично - молекулярни и статистически методи. Стриктното изпълнение на методичния план е гаранция за получаването на убедителни научни резултати, лично дело на докторантката.

Много добро впечатление прави, задълбоченото обсъждане и интерпретиране на получените данни, умело анализирани и сравнени от Кижева със световните научни достижения в областта на таксономията на фитопатогенните бактерии от род *Xanthomonas* през последните години.

Позволявам си да отбележа следните научни и теоретични приноси:

Извършено е цялостно проучване на видов и расов състав на естествената популация на причинителите на бактериен струпясване по *S. lycopersicum* в България.

Идентифицирани са видовете *X. vesicatoria*, *X. euvesicatoria* и *X. gardneri* по фенотипни и генотипни признаци в съответствие с новата таксономия и рекласификация на фитопатогенните бактерии. *X. euvesicatoria* и *X. gardneri* се съобщават за първи път в България като причинители на бактериен струпясване по домати.

Доказано е, че патогенната популация на *X. vesicatoria* по основния гостоприемник не се различава по биологична характеристика от резидентната по плевелната асоциация типична за културата. Резидентните плевелни гостоприемници са потенциален резервоар за натрупване, съхранение и разпространение на бактериалната инфекция.

Разработен е оригинален алтернативен метод на основата на PCR - RFLP анализ на 16S-23S ITS рДНК, чрез който точно се идентифицират и разграничават видове *X. vesicatoria*, *X. euvesicatoria*, *X. perforans* и *X. gardneri*.

За първи път в световната фитопатологична литература се доказва вътревидовото фенотипно и генотипно разнообразие в природната популацията на *X. vesicatoria*. Съобщава се нов PFGE профил на този патоген, неопишван до момента в научната литература.

Високо оценявам направените научни и теоретични приноси от докторантката, които имат съществено значение при създаването на устойчиви образци и разработването на система от мероприятия за контрол на бактериен струпясване по домати у нас.

3. Участие на докторанта в изработването на дисертацията

Представеният дисертационен труд е лично дело на редовния докторант Йоана Кижева. Провеждането, изпълнението, отчитането и анализа на опитите са осъществени от докторантката. Написването, оформянето и дизайна на дисертацията и автореферата са лично дело и принос на Кижева. Моята задача като научен ръководител се състоеше във въвеждането и запознаването на докторанта с използваните методи във

фитобактериологията, както и разкриване на особеностите в жизнения цикъл на фитопатогенните бактерии.

4. Препоръки и забележки

Единствената ми препоръка към Йоана Кижева е да продължи и задълбочи научната си работа върху фитопатогенните бактерии. Натрупаните знания и богат опит при полифазната идентификация на видовете от род *Xanthomonas* и род *Burkholderia* (дипломна работа), прецизното изпълнение на експериментите, проявеното трудолюбие, отдаденост и отговорност са гаранция за бъдеща успешна научна кариера, която, като научен ръководител, от сърце ѝ пожелавам.

5. Публикации във връзка с дисертационния труд

Резултатите от настоящия дисертационен труд са отразени в четири колективни научни статии, три публикувани в списания с импакт фактор: *Biotechnology and Biotechnological Equipment* (2011-IF-0,760), *Bul.J. Agric.Sci.*(IF-0,190), където Кижева е първи автор (общ IF-1,71). Първата статия е цитирана два пъти в списание с импакт фактор и дисертация. През периода на редовната докторантура участва активно в национални и международни форуми с представянето на 6 постера. Разработва и изпълнява 5 научни проекта.

6. Автореферат

Авторефератът отговаря на изискванията и отразява цялостно получените резултати, изводи и научни приноси. Отлично е структуриран и илюстриран с фигури, таблици и оригинални снимки.

7. Придобита компетентност и съответствие с изискванията на образователната и научна степен „доктор”

В хода на изпълнението на експерименталната работа и оформянето на дисертационния труд докторантът Йоана Кижева разширява своята теоретична компетентност, изгражда умения за работа със специализирана литература, да анализира и обобщава научната информация, да използва разностранни методи, самостоятелно да оформя, дискутира и обобщава резултатите в изводи и заключения.

8. Заключение

Дисертационният труд представен от Йоана Кижева отговаря на изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за неговото приложение и Правилника на СУ „Св. Кл. Охридски”.

Високо оценявам направените научни и теоретични приноси, които ми дават основание убедително да гласувам положително и да препоръчам на научното жури да присъди научната и образователна степен „доктор” по професионално направление 4.3. Биологични науки (Микробиология) на Йоана Красимилова Кижева.

15.04.2014г

София

Подпис:

(проф. дн Н.Богацевска)