СЕЛСКОСТОПАНСКА АКАДЕМИЯ
СОФИЯ
Вх. №: НЛ1-19
8.04. 2021 г.

# РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за получаване на образователната и научна степен **"доктор"** по: област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.1. Растениевъдство, научната специалност Селекция и семепроизводство на културните растения

**Автор на дисертационния труд:** Жана Вълчева Иванова
редовен докторант към научен отдел „Селекция, сортоподдържане и интродукция" към Институт по зеленчукови култури „Марица", гр. Пловдив

**Тема на дисертационния труд:** „Обогатяване на генетичното разнообразие при пъпеши (*Cucumis melo* L.) чрез прилагане на биотехнологични и конвенционални методи на селекция"

**Рецензент:** Проф. д-р Николай Димитров Панайотов, Аграрен университет-Пловдив, област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.1. Растениевъдство, научната специалност Зеленчукопроизводство
определен за член на научното жури със заповед № РД 05 – 18/04.03.2021 г. на Председателя на ССА

## 1. Кратко представяне на кандидата.

Жана Вълчева Иванова е родена на 7.03.1985 год. в гр. Пловдив. Средното си образование получава в Гимназия с хуманитарен профил „Св. Св. Кирил и Методий", през 2004 год. В периода 2004- 2009 година завършва като бакалавър специалност Растителна защита в Аграрен университет-Пловдив, а през 2010 и магистърска степен по специалност „Екология и селищни системи" в същия университет. От 2013 г. до 2104 г. работи като агроном във фирма „Гимел", с. Звъничево, Пазарджишко. През следващите две години е агроном в агроаптека в с. Труд, Пловдивско. Започва работа, като агроном в ИЗК „Марица" през 2016 г., а от 2017 до 2020 г. е редовен докторант в същия институт. През този период е взела участие в два научни проекти, свързани с темата на дисертацията ѝ. Квалификацията си е повишила още чрез участието ѝ в студентски практики, впоследствие в различни специализирани курсове: по Английски език, Методика на обучението, Бази данни и Обработка на експериментални данни. Провела е краткосрочно научно посещение INRA, гр. Авиньон, Франция.

Публикувала е 8 статии, като 5 от тях са във връзка с дисертацията. Взела е участие в шест научни конференции, две от които международни. Наградена е от Младежки форум „Наука, технологии, иновации, бизнес". На много добро ниво владее английски и на добро френски езици. Има добра компютърна компетентност. Член е на Научно техническите съюзи.

## 2. Актуалност на проблема.

Пъпешите са една от традиционните култури за българското зеленчукопроизводство с добра икономическа ефективност. Освен това те се характеризират и с висока биологична и хранителна стойност. В нашата страна съществува разнообразие от местни популации и генотипи. В последно време, обаче запазването на тези местни образци, както и извършване на целенасочена селекционна дейност и научни изследвания в областта на технологиите при тази култура са изключително ограничени. Ето защо избраният обект на дисертационния труд е много подходящ и от особена важност.

Стабилното производство на дадена култура, а също така и успешната селекция са много пряко свързани с наличието на голямо генотипно разнообразие с подходящи образци, отговарящи на съответните условия и насока на отглеждане. От значение са и предпочитанията на консуматора и пазара. Това определя и необходимостта от постоянно подобряване на съществуващите сортове и селекциониране на нови. За отговаряне на тези изисквания е нужно да се провежда системна селекционна работа, която изисква наличието на голям набор от образци и генотипи и тяхното включване в селекционния процес. Постигането на всичко това е възможно чрез прилагане, както на конвенционалните методи на селекция, така и посредством използването на биотехнологични подходи, като комбинативната селекция позволява да се съчетават важни агрономически признаци в един генотип.

## 3. Цел, задачи, хипотези и методи на изследване.

Проучвателната дейност в настоящата дисертация се основата на използването на генотипи пъпеши с различна природа и произход и стремежът е чрез прилагане на подходящи методи, да се постигне увеличаване на разнообразие от образци, форми и генотипи при тази култура. В този смисъл поставената основна цел е формулирана правилно, а именно да се изследват възможностите за обогатяване генетичното разнообразие при пъпеша чрез прилагане на биотехнологични и конвенционални методи на селекция. В тази връзка се набелязват и се разработват десет задачи, които позволяват напълно да бъде постигната тази цел. По важните от тях са свързани с индуциране на мутантни форми, фенотипиране в колекционния питомник, създаване на хибридно поколение и проследяване унаследяването на признаците, прилагане на диалелен анализ на хибридни комбинации, изследване на варирането.

Включените в изследването генотипи са с различна природа и произход, което осигурява, нужното разнообразие на генетичния материал. Подбрани са удачни методи за провеждане на изследванията, както утвърдени, така и съвременни, които отговарят на залегналите задачи и дават възможност за разрешаване на основната цел на дисертацията. Методите за *in vitro* отглеждане

на растенията и въвеждане на ембриа в култура, установяването на регенерационния потенциал, както и използваните конвенционални методи за селекция и тестовете за установяване на устойчивостта към мана и брашнеста мана са приложени правилно и са подходящи за областта на проучване. Фенотипирането е извършено акуратно и характеризирането на растенията е съгласно международните тестовете на UPOV. Статистическата обработка на данните също е осъществена чрез широко използвани и подходящи за изследването анализи. По този начин докторантката е имала възможност да усвои различни способи и начини на изследване и на залагане на полски и лабораторни експерименти и да е в състояние сама да извършва научна дейност.

## 4. Онагледеност и представяне на получените резултати.

Дисертационният труд се състои от 203 стандартни страници и осем приложения. Написан е на много добър и изискан научен стил, с точно боравене с терминологията и е структуриран правилно съобразно възприетите съотношения на отделните раздели. Съдържа 55 таблици и 25 фигури и осем приложения със снимков материал. Формата на таблиците и на фигурите е подбрана, съобразно посочваните в тях резултати и улеснява тяхното възприемане в детайли. По този начин онагледяването на дисертацията е много добро. Мога да подчертая и използването на цветни фотоси, с което още по-прецизно се представя извършената научна работа и получените от това данни.

## 5. Обсъждане на резултатите и използвана литература.

Направеният литературен обзор е подробен и обхваща проблеми свързани с изследваната тематика. В по-голямата си част се основава на използване на съвременна научна литература. Проучваната литература е от 373 заглавия, като само 11 са на кирилица, което още веднъж показва необходимостта за нашата страна от проведеното изследване. Освен това литературните източници много умело са използвани и при дискутиране на получените данни, както за обяснение на получените тенденции, така и за потвърждаване на установени резултати. Това показва, че докторантката Жана Иванова, познава в детайли научните достиженията в проучваната в нейната дисертация област.

В дисертацията се представят резултати от три годишни проучвания, взаимно допълващи се и свързани с поставената цел. Изследванията са проведени с генотипи с различен начин на цъфтеж и характеристики, което позволява, в резултат на извършената селекционна работа, да се получи по-голямо генетично разнообразие. Индуцирането на калусогенеза и органогенеза при пъпешите е извършено задълбочено, чрез използване на шест различни хранителни среди. Това е предпоставка за по-задълбочена оценка на най-подходящите варианти за осъществяване на тези процеси при пъпешите.

Логическо продължение е и извършеното облъчване на експланти в условия *in vitro* с γ-гама лъчи $^{60}Co$.

Детайлни са проучванията и за въвеждане в култура *in vitro* на ембриа от пъпеши, получени вследствие на хибридизация, с което се увеличават възможностите за обогатяване на генетичното разнообразие при този вид и се достига до извода, че формирането на хаплоидно ембрио след опрашване с облъчен полен е генетично детерминирано. Много добре са коментирани резултатите от фенотипирането на растенията-регенеранти.

Прилагането на конвенционалните методи на селекция се основава на наличната в ИЗК „Марица" колекция, която е проучена много подробно и в резултат на това е извършен йерархичен клъстърен анализ и генотипите са разпределени в четири основни клъстера. Внимание заслужват и установените корелационни зависимости между отделни признаци. Установено е и значително вариране на продуктивните признаци и по тези признаци проучваните петдесет генотипа се групират в четири клъстера и също са определени корелационни коефициенти.

Изключителен интерес във връзка с оценка на генотипното разнообразие е проучването за предпочитанията на консуматора. Прилаганите диалелни и частично диалелни схеми предоставят по-пълна представа за селекционната значимост на изходните, родителски форми и получените хибриди. Значението на това проучване се засилва и от обстоятелството, както подчертава и докторантката, че женският тип на цъфтеж при пъпеша не е добре проучен и съвсем естествено усилията са насочени към изследване на генотипи от тип gynoecious и hermaphrodite. С голямо научно и стопанско значения са проучванията свързани с устойчивостта на пъпеша към мана и същинска мана. Важна част от дисертацията е осъществената подробна характеристика на плодовете, като продуктивна част, при пъпеша. От селекционна гледна точка установеното вариране и унаследяване на признаците е изключително важно и то е доста прецизно и позволява по-точно извършване на отборите.

Дисертацията завършва с формулиране на 17 извода, които отразяват в пълнота проведените проучвания и постиганите резултати. Същевременно в тях много добре се открояват и установените тенденции.

## 6. Приноси на дисертационния труд.

Приемам напълно посочените приноси от дисертацията. Те са обединени в три групи: оригинални научни приноси – шест, с потвърдителен характер са два, а научно-приложните - са четири. Бих си позволил да посоча по-съществените от тях.

### Научни приноси

1. Оптимизирани са условията за индуциране на калусогенеза и регенерация на пъпеши и се установява влиянието на вида на

експланта и взаимодействието генотип и вид експлант.

2. Изпитвани са линии с gynoecious и hermaphrodite тип на цъфтеж и техни хибриди при диалелно кръстосване с оглед установяване на тяхната обща и специфична комбинативна способности.
3. Като ефективен метод за получаване на хаплоидни и диплоидни растения от пъпеши е приложена гама индуцирана партеногенеза в съчетание с ембриокултура.

### Научно-приложни приноси

1. Установени са пет генотипа пъпеши с комплексна устойчивост към брашнеста мана и същинска мана.
2. В резултат на приложените методи е обогатена колекцията от пъпеши с нови генотипи с променени признаци.

## 7. Критични бележки и въпроси.

Нямам сериозно забележки към дисертационния труд. Написана е в стегнат научен стил и в повечето случай терминологията е правилно използвана. Все пак мога да посоча някои пропуски и допуснати неточности:

- При представяне на фенологичното развитие по-редно е и фазата „узряване“ да се отчита в „дни след поникване“;
- По-прецизно е извеждането на полските експерименти, независимо, че са в култивационни съоръжения, да се извършва най-малко в три повторения;
- Не са посочени източниците, където подробно са описани технологиите на отглеждане на пъпешите;
- Не са посочени и методите, по които са извършени агрохимическите анализи на почвата.

Всички тези забележки не намаляват високите достойнства на представената дисертация, а само целят да подпомогнат докторантката в бъдещата ѝ научна дейност.

С оглед по-пълно изясняване на проучваните в дисертацията проблеми, към докторантката имам следните въпроси:

1. На каква основа са подбрани изпитваните дози на облъчване с γ-лъчи $^{60}Co$?
2. През какъв интервал, в посочения период в продължение на 90 дни, са отчитани, изследваните показатели за определяне на регенерационния капацитет?
3. С какво може да се обясни факта, че при използване на хипокотилни експланти органогенния отговор е с най-ниска честота?

## 8. Публикувани статии и цитирания.

С материали от дисертацията са публикувани пет научни статии, като на всички докторантката е първи автор, а една е самостоятелна. Три от тях са в научни списания, а две на Младежки научен форум.

Не се посочват цитирания във връзка с дисертацията

Представеният автореферат отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Въз основа на научените и приложените, от докторантката, различни методи на изследване, правилно изведените експерименти, направените обобщения и изводи считам, че представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на Селскостопанска академия за неговото приложение, което ми дава основание да го оценя **ПОЛОЖИТЕЛНО**.

Позволявам си да предложа на почитаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на Жана Вълчева Иванова образователната и научна степен "***доктор***" по научната специалност Селекция и семепроизводство на културните растения.

**Дата:** 5. 04. 2021 год.
гр. Пловдив

**РЕЦЕНЗЕНТ:** .....
(Проф. д-р Николай Панайотов)

# REVIEW

Of the PhD thesis for obtaining of education and scientific degree "**Doctor**" in field of higher education 6. Agrarian sciences and veterinary medicine. Professional fields 6.1. Plant growing, scientific specialty Breeding and seed production of cultivated plants

Author of thesis: Zhana Valcheva Ivanova, full-time PhD student at the scientific department "Breeding, variety maintenance and introduction" in Institute of vegetable crops "Maritsa Vegetable Crops Research Institute", Plovdiv

**Title of the thesis:** „Enrichment of the genetic diversity in melons (*Cucumis melo* L.) by applying of biotechnological and conventional breeding methods"

**Reviwer:** Prof. Dr. Nikolay Dimitrov Panayotov, Agricultural University-Plovdiv field of higher education 6. Agrarian sciences and veterinary medicine. Professional fields 6.1. Plant growing, scientific specialty Vegetable crops
appointed as a member of the scientific jury by order № RD 05 - 18 / 04.03.2021 of the Chairman of the Agricultural Academy

## 1. Briefly presentation of the candidate.

Zhana Valcheva Ivanonova was born on March 7, 1985 in the city of Plovdiv. She received her secondary education at the High School with a humanitarian profile "St. St. Cyril and Methodius ", in 2004. In the period 2004-2009 she graduated as a bachelor with a degree in Plant Protection at the Agricultural University of Plovdiv, and in 2010 as a master's degree in" Ecology and Settlement Systems "at the same university. From 2013 to 2104 she worked as an agronomist in the company "Gimel", Zvanichevo, Pazardzhik region. For the next two years she was an agronomist in an agricultural pharmacy in the village of Trud, Plovdiv region. She started working as an agronomist at the Maritza Institute in 2016, and from 2017 to 2020 she was a full-time PhD student at the same institute. During this period she took part in two research projects related to the topic of her dissertation. She has further improved her qualification through her participation in student internships, subsequently in various specialized courses: in English, Teaching Methods, Databases and Experimental Data Processing. She paid a short scientific visit to INRA, Avignon, France.

She has published 8 articles, 5 of which are related to her dissertation. She has participated in six scientific conferences, two of which are international. She was awarded by the Youth Forum "Science, Technology, Innovation, Business". She speaks English very well and French fluently. Has good computer competence. She is a member of the Scientific and Technical Unions.

## 2. Relevance of the problem.

The melons are one of the traditional crops for Bulgarian vegetable production with good economic efficiency. In addition, they are characterized by high biological and nutritional value. In our country there is a variety of local populations and genotypes. Recently, however, the preservation of these local specimens, as well as the implementation of targeted selection activities and research in the field of technology in this culture are extremely limited. That is why the chosen object of the dissertation is very appropriate and with special importance.

The stustainable production of a given crop, as well as the successful breeding, are very directly related to the presence of a large genotypic diversity with suitable accessions, corresponding to the respective conditions and scope of cultivation. The preferences of the consumer and the market are also important. This determines the need for continuous improvement of existing varieties and breeding of new ones. To meet these requirements it is necessary to conduct systematic selection work, which requires the presence of a large set of accessions and genotypes and their inclusion in the breeding process. Achieving all this is possible through the application of both conventional breeding methods and through the use of biotechnological approaches, as combinatorial selection allows to combine important agronomic traits in one genotype.

## 3. Aim, task, hypothesis and methods of the study.

The research activity in the present thesis is based on the use of genotypes of melons of different nature and origin and the striving is through the application of the appropriate methods to to achieve an increase in the variety of accessions, forms and genotypes. In this sense, the main goal is formulated correctly, namely to explore the possibilities for enriching the genetic diversity of melons by applying the biotechnological and conventional methods of breeding. In this regard, ten tasks are identified and developed, which allow to fully achieve this goal. The most important of them are related to induction of mutant forms, phenotyping in the collection nursery, creation of a hybrid generation and tracking the inheritance of traits, application of diallel analysis of hybrid combinations, study of variation.

The genotypes included in the study are of different nature and origin, which provides the necessary diversity of genetic material. Suitable methods for conducting the research, both approved and modern, have been selected, which correspond to the underlying tasks and give the opportunity to solve the main goal of the thesis. The methods for *in vitro* cultivation of plants and introduction of embryos into culture, the establishment of regeneration potential, as well as the conventional breeding methods used and the tests for establishing resistance to mildew and powdery mildew have been applied correctly and are appropriate for the field of study. Phenotyping was performed accurately and plant characterization was according to UPOV international tests. Statistical data

processing was also performed by widely used and appropriate for the study analyzes. In this way, the PhD student had the opportunity to learn different ways and means of research and the implementation of fields and laboratory experiments and to be able to carry out scientific activities on their own.

## 4. Visualization and presentation of the obtained results.

The thesis consists of 203 standard pages and eight appendices. It is written in a very good and refined scientific style, with precise use of terminology and it structured correctly according to the accepted relations of the individual sections. It contains 55 tables and 25 figures and eight appendices with photo material. The form of the tables and figures is selected according to the results indicated in them and facilitates their perception in detail. In this way the illustration of the dissertation is very good. I can also emphasize the use of color photos which presents even more accurately the scientific work done and the data obtained from it.

## 5. Discussion of the results and used literature.

The literature review is detailed and covers problems related to the research topic. For the most part it is based on the use of modern scientific literature. The studied literature consists of 373 titles, and only 11 are in Cyrillic, which once again shows the need for our country from this study. In addition, the literature is very skillfully used in discussing of the data obtained, both to explain the trends and to confirm the findings. This shows that the PhD student Zhana Ivanova knows in detail the scientific achievements in the field studied in her thesis.

The dissertation presents the results of three years of research, complementary and related to the goal. The research was carried out with genotypes with different types of flowering and characteristics, which allows, as a result of the performed breeding work, to obtain greater genetic diversity. The induction of callusogenesis and organogenesis in melons was performed in depth using six different nutrient media. This is a prerequisite for a more in-depth assessment of the most appropriate options for carrying out these processes in melons. The performed irradiation of explants in vitro with γ-gamma rays $^{60}Co$ is a logical continuation.

The studies for *in vitro* culture of melon embryo, obtained as a result of hybridization are also detailed, which increases the possibilities for enrichment of the genetic diversity in this species and concludes that the formation of a haploid embryo after pollination with irradiated pollen is genetically determined. The results of the phenotyping of regenerating plants are very well commented.

The application of the conventional breeding methods is based on the collection available in the Maritza Institute, which has been studied in great detail and as a result a hierarchical cluster analysis has been performed and the genotypes are divided into four main clusters. The established correlations between individual traits also deserve

attention. Significant variation of the productive traits was also found and according to these traits the studied fifty genotypes were grouped into four clusters and correlation coefficients were also determined.

Of particular interest in assessing genotypic diversity is the study of consumer preferences. The applied dialysis and partially dialysis schemes provide a more complete picture of the breeding significance of the initial, parental forms and the obtained hybrids. The importance of this study is enhanced by the fact, as the Ph student emphasizes, that the female flowering type of melon is not well studied and quite naturally the efforts are focused on the study of genotypes of gynoecious and hermaphrodite. Of great scientific and economic importance are the studies related to the resistance of melons to powderly mildew and mildew. An important part of the thesis is the detailed description of the fruit, as a productive part, in the melon. From a breeding point of view, the established variation and inheritance of the traits is extremely important and it is quite precise and allows more accurate performance of the selection.

The thesis ends with the formulation of 17 conclusions, which fully reflect the studies conducted and the results achieved. At the same time, the established tendencies stand out very well in them.

## 6. Contributions of the thesis.

I fully accept the contributions from the thesis. They are united in three groups: original scientific contributions - six, with confirmatory nature are two, and scientific-applied - are four. I would allow my self to point out the more important ones.

### Scientific contributions

1. The conditions for induction of callusogenesis and regeneration of melons are optimized and the influence of the explant type and the interaction of genotype and explant type are establishing.
2. Lines with gynoecious and hermaphrodite type of flowering and their hybrids in diallel crossing were tested in order to establish their general and specific combinatorial abilities.
3. Gamma-induced parthenogenesis in combination with embryo culture has been applied as an effective method for obtaining haploid and diploid plants from melons.

### Scientific-applied contributions

1. Five genotypes of melons with complex resistance to powdery mildew and mildew have been identified.
2. As a result of the applied methods the collection of melons is enriched with new genotypes with changed traits

## 7. Critical remarks and questions.

I have no serious remarks on the thesis. It is written in a concise scientific style and in most cases the terminology is used correctly. However, I can point out some omissions and inaccuracies:

- When presenting the phenological development, it is more appropriate to report the "ripening" phase in "days after sprouting";
- It is more precise to perform the field experiments, regardless of whether they are in cultivation facilities, in at least three replications;
- The sources are not indicated, where the technologies of melons growing are described in detail;
- The methods by which the agrochemical analyzes of the soil were performed are not indicated either.

All these remarks do not diminish the high merits of the presented thesis, and only aim to assist the PhD student in her future scientific activity.

In order to more fully clarify the problems studied in the thesis, I have the following questions to the PhD student:

1. What is the basis on which the tested doses of γ-rays 60Co are selected?
2. During what interval, in the specified period of 90 days, are the studied indicators for determining the regeneration capacity are reported?
3. How can the fact that when using hypocotyl explants the organogenic response has the lowest frequency be explained?

## 8. Published articles and citations.

Five scientific articles have been published with materials from the thesis, and the PhD student is the first author of all of them, and one is an independent one. Three of them are in scientific journals and two at the Youth Scientific Forum.

No citations are given in connection with the dissertation

The presented abstract objectively reflects the structure and content of the dissertation.

## CONCLUSION:

Based on the different research methods learned and applied by the PhD student, the correctly performed experiments, the summaries and conclusions made, I think that the presented PhD thesis meets the requirements of the Law on

the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria and the Regulations of the Agricultural Academy for its implementation which gives me a reason to give to evaluate it a **POSITIVE**.

I allow myself to suggest to the esteemed Scientific Jury also to vote positively and to award Zhana Valcheva Ivanova the educational and scientific degree "Doctor" in the scientific specialty Selection and seed production of cultivated plants.

**Date:** 5. 04. 2021
Plovdiv

**Reviwer:** .....
(Prof. Dr. Nikolay Panayotov)