СЕЛСКОСТОПАНСКА АКАДЕМИЯ
СОФИЯ
Вх. №. АЛ-20
8.04. 2021 г.

РЕЦЕНЗИЯ

от **проф. д.с.н. Дияна Лилова Светлева**, пенсионер от Аграрен университет – Пловдив на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен **"доктор"** в област на висше образование **6. Аграрни науки и ветеринарна медицина**; професионално направление: **6.1. Растениевъдство**; научна специалност: **"Селекция и семепроизводство на културните растения"** към Института по зеленчукови култури „Марица", гр. Пловдив, Научен отдел "Селекция"

Автор: редовният докторант **Жана Вълчева Иванова**

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

Научни ръководители: доц. д-р Станислава Грозева
доц. д-р Николай Велков

Със заповед № 05-18 /04.03.2021 г. на Председателя на Селскостопанска академия съм определена за член на научното жури във връзка с процедура за защита на дисертационен труд на тема: **"Обогатяване на генетичното разнообразие при пъпеша (*Cucumis melo* L.) чрез прилагане на биотехнологични и конвенционални методи на селекция"** на редовния докторант към Института по зеленчукови култури „Марица", гр. Пловдив - **Жана Вълчева Иванова**.

Приложени са общо 10 документа, изготвени съгласно изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за неговото приложение и Правилника на Селскостопанска академия, гр. София за провеждане на процедури за присъждане на научни степени.

В комплекта с документи са включени протоколи от проведените минимуми по специалността.

Във връзка с разработената дисертация докторантът е представил 5 научни публикации.

Съгласно Правилника за приложение на ЗРАСРБ тези публикации покриват минималните изисквания от 30 т. (събира общо 30,83 т.) за допускане до защита на дисертационен труд за образователната и научна степен „доктор".

1. Обща характеристика на дисертационния труд – обем и структура.

От докторанта – Жана Иванова, е използвана класическата структура за оформяне на дисертационния си труд, при която след преглед и анализ на публикуваните литературни източници по проблема са описани целта и задачите за изпълнение, методологичните подходи, представени са получените резултати и е направено тяхното обсъждане. В края са формулирани изводи, приноси, използвана литература и 8 броя приложения, които включват 12 снимкови пана с много хубаво и ясно качество, както и доста подробна "Анкетна карта за определяне на предпочитанията на българския консуматор към пъпешите".

Анкетната карта е изградена основно на базата на част от разработените дескриптори по линия на UPOV за характеризиране на признаците при пъпешите.

Дисертационният труд е представен много елегантно. Той отговаря на възприетите и утвърдени изисквания, посочени в чл. 27 ал. 2 от Правилника за прилагане на ЗРАСРБ. Има общ обем от 203 страници и включва 8 основни раздела (Увод; Литературен преглед; Цел и задачи на изследването; Материали и методи; Резултати и обсъждане; Изводи; Приноси; Списък на цитираната литература и Приложение).

Включени са 55 таблици, 25 фигури от (които 14 пана със снимки) и приложение от 6 пана със снимки на растителен материал, които са с много добро качество.

2. Кратки биографични данни на докторантката.

Редовният докторант Жана Вълчева Иванова е родена на 07.03.1985 г. в гр. Пловдив.

През 2004 г. завършва средно образование в гимназия „Св. Св. Кирил и Методий с хуманитарен профил

Висшето си образование получава в Аграрния университет, гр. Пловдив - през 2009 г. със степен „бакалавър" по специалността "Растителна защита ", а през 2010 г. със степен „магистър" по специалността „Екология на селищни системи".

Професионалното й развитие като агроном е през периода 2013 – 2017 г. Била е агроном във фирма „Гимел" в с. Звъничево, Пазарджишка област, в агроаптека в с. Труд, Пловдивска област и в Института по зеленчукови култури „Марица", гр. Пловдив.

През 2017 г., след успешно издържан конкурс, е зачислена като редовен докторант към Института по зеленчукови култури „Марица", гр. Пловдив, Научен отдел "Селекция".

За повишаване на квалификацията си докторант Иванова посещава различни обучителни семинари и курсове. Още като студент провежда студентска практика в Лаборатория по тъканни култури при ИЗК „Марица", по проект BG051PO001/07/3.3-02/109 "Студентските стажове във висшето аграрно образование – връзка между обучение, наука и бизнес".

Като докторант през периода 2017 - 2019 г. посещава организираните в Аграрния университет, Пловдив курсове - „Методика на обучението", „Бази данни" и „Обработка на експериментални данни", които са част от докторантския й план за изпълнение.

Докторант Иванова е провела едно краткосрочно научно посещение във Франция, в институт INRA Авиньон, за обмяна на опит в областта на приложението на конвенционалните и биотехнологични методи в селекцията на пъпешите.

Взела е участие като член в разработването на два научни проекта единият, от които е по програми за двустранно сътрудничество България – Франция, „Генетично разнообразие и унаследяване на полови и плодови характеристики при пъпеша".

Докторантът Жана Иванова е представила резултатите от своите проучвания в 6 международни конференции и младежки форуми. Получила е награда за участие в Младежкия форум „Наука, технологии, иновации, бизнес", проведен през пролетта на 2019 г. в „Дома на науката и техниката", Пловдив, при участието й с постер на тема: „Screening of melon genotypes for resistance to *Verticillium wilt*, *Fusarium wilt* and *Downy mildew*".

Има публикувани общо 8 статии, 5 от които са във връзка с разработването на дисертацията.

Притежава добри компютърни умения и работи свободно с различни софтуерни програми.

Владее писмено и говоримо английски език на много добро ниво и френски език на добро ниво.

Член е на Научно-техническия съюз – клон Пловдив.

3. Актуалност на разработения дисертационен труд.

Актуалността на разработения от докторанта Жана Иванова дисертационен труд се обуславя от следните особености:

- Пъпешите са сред икономически важните зеленчукови култури, които принадлежат към семейство тиквови (*Cucurbitaceae*);
- Те притежават много добри хранителни и вкусови качества на плодовете, както и голямо разнообразие от форми и окраски на плодовете;
- В света се създават нови технологии за отглеждане на растенията, с цел повишаване на добивите;
- Консуматорските предпочитания към формата, вкуса и окраската на плодовете силно варират през годините, което налага създаването на нови сортове с определени изисквания към тях;
- Проучването на генетичните ресурси и начина на наследяване на признаците дават възможност селекционните програми да се базират на по-точна научна преценка, което може да доведе до скъсяване на селекционния процес;
- Все по-голямо значение придобива необходимостта от създаването на най-подходящия модел на сорт, който да съчетава всички важни биологични, технически и технологични характеристики за дадена култура;
- Умелото съчетаване на конвенционалната селекция с различни биотехнологични методи и рекомбинантни ДНК технологии създава много по-големи възможности за по-дълбоко и осъзнато разбиране на особеностите при проучваните селскостопански култури, в т.ч. и при пъпешите.

Докторантът Жана Иванова много точно е определила тази актуалност на дисертационния труд още в самия увод. След това в литературния обзор я доразвива съвсем умело и с получените резултати я подкрепя съвсем успешно.

Основната цел на дисертационната работа е ясно определена: Да се изследват възможностите за обогатяване на генетичното разнообразие при пъпеша чрез прилагане на биотехнологични и конвенционални методи на селекция.

Поставените за изпълнение шест основни задачи и четири подзадачи са свързани с използването на различни методологии, техники и анализи. Всички задачи са изпълнени по време на изведените експерименти.

По мое мнение подзадачите можеха да се обединят към съответната задача. Така представянето им щеше да бъде по-стегнато.

4. Литературна осведоменост и теоретична подготовка.

Литературната справка включва 373 източника, от които 11 на кирилица и 362 на латиница.

Цитираната литература, публикувана през последните 10 години, е 104 заглавия (27,88%). Десет публикации (2,68%) са отпечатани в периода от 1859 до 1959 г.

Литературният преглед е написан на 28 стандартни машинописни страници. Обхваща 3 основни раздела и значителен брой подраздели. Той е сравнително

добре структуриран и има надграждане на анализа, подкрепен с необходимите литературни източници.

По мое мнение доста от подзаглавията можеха да се обединят. Така текстът щеше да бъде по-цялостен и по-лесен за четене.

На базата на литературните данни докторантът издига хипотези и прави заключения относно най-верния път за постигане на точния резултат при своите собствени изследвания.

Изключително добро впечатление ми направи фактът, че литературният преглед приключва с добре синтезирано обобщение, от което ясно изкристализира поставената цел и задачи за изпълнение.

5. Методика на изследването.

Методиката на изследванията е описана подробно на 13 страници. Тя е правилно подбрана и адекватна. Позволява да се постигане поставената цел и да се решат точно задачите, свързани с осъществяването на тази цел.

Използваните методи са описани коректно. Избраната методология съответства на поставените цел и задачи, което дава основание да се заключи, че получените резултати са достоверни и значими.

Експерименталната работа е проведена през периода 2017 - 2020 г. в Лабораторията по тъканни култури и експерименталните оранжерийни съоръжения при ИЗК „Марица" – Пловдив.

Докторантът Жана Иванова е извършила огромен обем от експерименти, които се отнасят към две основни групи на изследване – биотехнологични и селекционни.

Растителният материал, който е включила в своите изследвания, е изключително разнообразен. Потърсени са възможности за проучване и разширяване генетичното разнообразие при пъпешите чрез биотехнологични и конвенционални селекционни методи.

При биотехнологичните проучвания са включени четири генотипа пъпеши от колекцията на ИЗК „Марица", Пловдив, които принадлежат към различни вариетети и имат различен тип на цъфтеж.

Двата генотипа BG14 и SV3-14 принадлежат към var. *cantalupensis,* но са с тип на цъфтеж - *gynoecious* и *monoecious*. Другите два генотипа са с *andromonoecious* тип на цъфтеж. От тях генотипът K052 принадлежи към var. *makuwa*, (той е с произход от Китай), а 5-1-2 е от var. *reticulatus*.

Приложено е облъчване на експланти в *in vitro* условия, както и въвеждане в *in vitro* култура на ембриа от пъпеши, получени чрез изкуствена хибридизация на растения с облъчен с γ-лъчи ^{60}Co полен.

За характеризиране на различни признаци при пъпешите на ниво цели растения са проведени оранжерийни изследвания.

В експерименталната работа са включени 50 генотипа пъпеши с различен произход (България, САЩ, Франция, Китай, Турция, Израел и Индия), които са представители на шест вариетета: *cantalupensis, reticulatus, inodorus, makuwa, aimeri* и *momordica*, от колекцията на ИЗК „Марица".

Докторантът е снел изключително голям набор от параметри при извършване на оранжерийните експерименти. Проведените диалелни анализи са довели до получаване на важни резултати относно варирането и наследяването на някои важни качествени и количествени признаци при пъпешите.

Достоверността на получените резултати е доказана чрез прилагане на вариационен, трифакторен дисперсионен анализ и Duncan's Multiple Range Test. Използвана е стандартна компютърна програма SPSS 16.

За по-пълното характеризиране на получените резултати са приложени голям брой статистически методи - клъстерен анализ и факторен анализ на основните компоненти. Чрез използване на програмата GENES (Cruz, 2013) са обработени резултатите от проведените диалелни анализи, установено е варирането и наследяването на проучените качествени и количествени признаци при пъпешите.

Хетерозисният ефект е установен по формулите на Hallauer and Miranda (1988).

6. Значимост и убедителност на получените резултати, интерпретациите и изводите.

По мое мнение, представената от докторантката Жана Иванова дисертация притежава всички изисквания към такъв вид разработки, което се обуславя от проведената целенасочена експериментална дейност. Получените резултати са коментирани точно и ясно, а цялостното изложение следва своята логична последователност.

На общо 115 страници в глава "Резултати и обсъждания" са представени получените резултати. Тук проличава компетентността на докторанта да анализира и обобщава данните от изследването в светлината на съвременните научни постижения.

За **убедителността на резултатите** свидетелства фактът, че чрез своите изследвания тя потвърждава някои от получените резултати в тази област от други изследователи, а също така обогатява съществуващите схващания с допълнителна информация.

На базата на проведения задълбочен анализ на получените резултати в края на дисертационния си труд докторантът формулира 17 изводи. От тях пет (№ 1 - 5) са свързани с биотехнологичните проучвания (29,41% от общия брой). Останалите 12 извода (70,59% от общия брой) касаят конвенционални селекционни и генетични проучвания, както и изследвания свързани с устойчивост към брашнеста и същинска мана.

Направена е анкета за проучване предпочитанията на българския консуматор по отношение на формата на плода, неговата повърхност и оцветяване.

Четири от изводите (№ 9, 11, 13 и 15) се отнасят за действието и взаймодействието между адитивни и неадитивни гени.

В изводите с № 10, 11, 14 и 15 се отразяват получените особености при проучване на общата (ОКС) и специфичната комбинативна способност (СКС) при проучваните генотипи, което има важно значение за провежданата селекция при пъпешите.

В три от представените изводи се конкретизират получените резултати за такива важни явления като хетерезозис (№ 12 и 16) и трансгресия (№ 17), а други три извода (№ 6, 7 и 8) са формулирани на базата на получените резултати за устойчивост на проучваните генотипи на брашнеста и същинска мана, както и за консуматорските предпочитания към някои признаци на пъпешите.

7. Характер на научните приноси.

Приемам справката за приносите, представена от докторанта. Тя е изтъкнала 12 приноса, които по мое мнение могат да се формулират по следния начин:

I. ОРИГИНАЛНИ ПРИНОСИ.

✓ Определено оригинално постижение на докторската дисертация е изпитването при диалелна схема на кръстосване на селекционни линии пъпеши и

техните хибридни комбинации с различен тип на цъфтеж - *gynoecious* (образуват само женски цветове) и *hermaphrodite* (образуват само хермафродитни цветове).

✓ Определени са основните параметрите за модела на сорта чрез които могат да се установят предпочитанията на българския консуматор към плодовете на пъпешите.

✓ Установени са генетичните параметри и параметрите на отбора в популация от кръстоската AGY x 5-1-2, които могат да послужат при подобряване на изходните растения.

✓ Установено е голямо генетично разнообразие в изследваната колекция от пъпеши по отношение на различни качествени и количествени признаци. Това ще позволи в бъдеще тези форми да се използват за включване в нови селекционни програми.

✓ Оптимизирани са условията за индуциране на калусогенеза и регенерация при български линии пъпеш. Доказано е влиянието на вида експлант и взаимодействието генотип и вид експлант, обуславящи различния отговор.

✓ След опрашване на растения с облъчен полен и доразвитие на ембриата *in vitro* са получени различни форми пъпеши с ценни стопански признаци – по-висока продуктивност; различен хабитус и по-високо съдържание на сухо вещество в плодовете, в сравнение с изходните генотипи. Получените дихаплоидни линии пъпеши са подходящи за използване като родителски форми в селекцията.

II. НАУЧНИ ПРИНОСИ.

✓ Успешно е приложена „гама индуцираната партеногенеза" в съчетание с ембриокултурата, като ефективен метод за получаване на хаплоидни и дихаплоидни растения от пъпеш. Доказана е водещата роля на генотипа в процеса на формиране на ембриа.

✓ Изпитани са линии пъпеши с различен тип на цъфтеж (*monoecious, andromonoecious* и *gynoecious*) при условията на частично диалелна схема на кръстосване. Установени са генните действия при експресията на девет количествени признака на растенията и пет на плодовете, което допринася за повишаване ефективността на селекционната програма.

III. ПРИЛОЖНИ ПРИНОСИ.

✓ Установени са пет генотипа пъпеши (12-1/5, 11/9KS5, A11/9KS6, 5-1-2 и PI414723) с комбинирана устойчивост към причинителите на брашнеста мана (*Podosphaera xanthii* раса 1) и същинска мана (*Pseudoperonospora cubensis*), които са подходящи донори за създаване на устойчиви сортове.

✓ Линиите и хибридните комбинации 5-1-2, AGY, BK/1-5-5, K15/6, AGY x 5-1-2, BK/1-5-5 x 5-1-2 и K15/6 x 5-1-2 отговарят най-пълно и комплексно на критериите добивност, устойчивост, морфологични и вкусови качества на плодовете. Линия BK/1-5-5 е подходяща за донор на гени при подобряване на признаците височина на растението, брой междувъзлия, листна площ, добив от растение, дни от поникване до масов цъфтеж, дни до узряване на плода, вегетационен период, дължина на плода, ширина на плода и маса на плода. Линия AGY е подходящ донор за признака междувъзлие на което е образуван 1-ви плод, а линия 5-1-2 като донор за подобряване на признака сухо вещество и устойчивост към причинителите на брашнеста и същинска мана.

✓ В F_2 популацията на кръстоската AGY x 5-1-2 са установени трансгресивни форми при 12 от изследваните 14 признака, отличаващи се с висока степен на

унаследяване, което допринася за ефективността на отбора още в началните разпадни генерации.

✓ В резултат от приложените биотехнологични и конвенционални методи на селекция, наличната колекция от пъпеши е обогатена с нови генотипи с променени признаци, които успешно могат да се включат в селекционната програма на тази култура.

8. Оценка на качеството на публикуваните научни трудове във връзка с дисертационната разработка.

Докторантът е представил списък с 5 научни публикации.

❖ Една от статиите е публикувана в научното списание Journal of BioScience and Biotechnology 6(2): 99-104, (ISSN:1314-6246), което се реферира и индексира в световноизвестни бази данни с научна информация.

❖ Друга статия е публикувана в научното списание Agricultural Science and Technology.

❖ Останалите три публикации са представени на международна конференция и на младежки научни форуми. Те са публикувани в Сборници от тези форуми.

❖ От представените във връзка с разработването на дисертацията публикации, едната е самостоятелна. Останалите 4 са в съавторство, като докторантът е първи автор.

Не са посочени цитирания на тези публикации, но като се има предвид, че те са отпечатани основно през периода 2017 - 2020 год. е твърде рано за това.

9. Лично участие на докторанта.

Приемам, че представеният дисертационен труд е лично дело на докторанта.

10. Автореферат.

Авторефератът е добре оформен в обем от 45 страници. Той е структуриран добре и отразява в резюмиран вариант структурата и съдържанието на дисертацията. Онагледен е с 33 таблици и 6 фигури, от които 2 и 3-та са 2 пана със снимков материал.

Авторефератът е ясно написан и добре отразява получените резултати на дисертационния труд. Представен е според всички изисквания на закона за такава публикация.

11. Критични бележки, въпроси и препоръки.

Към докторанта имам следните въпроси и препоръки:

Въпроси и бележки:

@ На страница 35 е записано „Два до три дни експлантите са пасажирани". Няма такъв термин. Преди години се използваше чуждицата „пасирани". Българският термин е „прехвърлени на хранителна среда".

@ На каква база е прието експериментите *in vitro* да се извършват с експланти – котиледони, хипокотили и същински лист, а не с други? В литературата е описано, че и други автори са работили с такива експланти, но това ли е доводът? От обсъждането не става ясно.

@ В различните експерименти са включвани различни генотипи. На каква база е ставал подборът? Ако се работеше с едни и същи генотипи можеха да се направят по-генерални изводи.

@ За определяне нивото на плоидност е използван индиректен метод – чрез изброяване на хлорофилните зърна в устичните клетки. По-точно е под микроскоп да се изброява броя на хромозомите най-малко в 100 клетки.

@ Имаше ли разлика във формата на семената при хаплоидните и диплоидните пъпеши?

@ Заглавията на разделите - III.2.7. (стр. 45) и IV. (стр. 46) са идентични, което е малко объркващо.

@ Облъчването на експлантите с петриевите блюда в хранителна среда ли се извършва или на сухо? Това може да окаже влияние върху отговора след облъчването. Има значение и от какъв материал са направени петриевите блюда – стъклени или пластмасови.

@ Считам, че разделите включващи проучванията за устойчивост на брашнеста мана, както и проведената анкета за предпочитанията на консуматорите към някои признаци на пъпешите не се подчиняват много на темата на дисертацията и научното направление, по което ще се защитава докторската разработка.

@ Според мен трябва да се уточни терминологията. На страница 29 в заглавието I.3.4. е записано „същинска" мана, а в последния абзац на този раздел се говори за „обикновена" мана. В литературата се описва, че оомицетната гъба - *Pseudoperonospora cubensis* причинява Кубинска мана с характерните симптоми.

@ Таблиците с № 17, 37, 39 и 47 са с много дребни цифри и не се виждат добре.

@ Фигурите с № 22, 23 и 24 са много дребни и неясни.

@ В литературата са посочени само 11 научни публикации от български автори. На какво се дължи това – слаб интерес към проучваната тематика или само тесен кръг от селекционери разработват този проблем?

@ Има допуснати някои терминологични неточности и технически грешки.

Препоръка:

@ Някои от посочените литературни източници са отпечатани в периода от 1859 до 1959 год. Сигурна съм, че докторантът не ги е намерил в оригинал. Като се има предвид, че публикациите от 1859 г. е на френски, а тази от 1924 г. е на немски език, това е абсолютно сигурно. В бъдещите си разработки е по-правилно докторантът да цитира литературният източник и авторите, които през последните години са цитирали тези публикации.

Представената ми за рецензиране дисертация на редовния докторант Жана Иванова съдържа важна, интересна и в някои аспекти нова научна информация за селекционните програми при пъпешите. Посочените бележки и препоръки не намаляват важността и значението на представения дисертационен труд. Те са направени с цел подобряване работата на докторанта при бъдещите му изследвания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определено считам, че представеният за рецензиране дисертационен труд съдържа научни, научно-приложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за неговото прилагане и съответния Правилник на Селскостопанска академия.

Дисертационният труд показва, че редовният докторантът Жана Иванова притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научната специалност „Селекция и семепроизводство на културните растения", като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научни изследвания.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **ПОЛОЖИТЕЛНА ОЦЕНКА** за проведеното изследване, представено в рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и предлагам на почитаемото научно жури също да гласува положително и да присъди образователната и научна степен **„доктор"** на **редовния докторант Жана Вълчева Иванова** в област на висше образование: **6. Аграрни науки и ветеринарна медицина**; професионално направление: **6.1. Растениевъдство**; научна специалност: **"Селекция и семепроизводство на културните растения".**

05.04.2021 год.
Гр. Пловдив

Изготвил рецензията:
(проф. д.с.н. Д. Светлева)

REVIEW

by **Prof. Diana Lilova Svetleva, Dr. Sci.**, retired from the Agricultural University – Plovdiv, on a thesis for award of educational and scientific degree **"Doctor (Doctor of philosophy – Ph.D.)"** in the field of higher education **6. Agricultural Sciences and Veterinary Medicine**; professional direction: **6.1. Plant growing**; Scientific specialty: **"Breeding and seed production of cultivated plants"** at the „Maritsa" Vegetable Crops Research Institute, Plovdiv – Scientific Department of "Plant Breeding"

Author: full-time Ph.D. student **Zhana Valcheva Ivanova**

Title of Doctoral thesis: "Enrichment of genetic diversity in melons (*Cucumis melo* L.) through the application of biotechnological and conventional methods of breeding"

Scientific advisers: Assoc. Prof. Dr. Stanislava Grozeva
Assoc. Prof. Dr. Nikolay Velkov

By order of the President of the Agricultural Academy in Sofia № 05-18 /04.03.2021, I was appointed as a member of the Scientific jury in connection with the procedure for defense of a Doctoral thesis titled: **"Enrichment of genetic diversity in melons (*Cucumis melo* L.) through the application of biotechnological and conventional methods of breeding"** of the full-time Ph.D. student at the „Maritsa" Vegetable Crops Research Institute, Plovdiv - **Zhana Valcheva Ivanova**.

A total of 10 documents are attached, prepared in accordance with the requirements of the Law on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria, the Regulations for its implementation and the Regulations of the Agricultural Academy, Sofia for conducting procedures for awarding scientific degrees.

The set of documents includes protocols from the conducted minima on the specialty.

Referring to Doctoral thesis development the Ph.D. student has presented 5 scientific publications.

According to the Regulations for application of the Law on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria, these publications cover the minimum requirements of 30 points (she collects a total of 30,83 points) for admission to the defense of a Doctoral thesis for the educational and scientific degree "Doctor (Doctor of philosophy – Ph.D.)".

1. General characteristics of the thesis - volume and structure.

The Ph.D. student - Zhana Ivanova used the classical structure for the formation of her Doctoral thesis, in which after reviewing the published literature on the problem are described the purpose and objectives of implementation, methodological approaches, presented results and discussions. At the end, conclusions, contributions, used literature are formulated also 8 applications which include 12 photo panels with very good and clear quality, as well as a very detailed "Questionnaire to determine the preferences of the Bulgarian consumer to melons".

The Questionnaire is based mainly on some of the descriptors developed by UPOV to characterize the characteristics of melons.

Doctoral thesis is presented very elegantly. It meets the accepted and approved requirements specified in Art. 27 para. 2 of the Regulations for application of the Law on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria. It has a total volume of 203 pages and includes 8 main sections (Introduction; Literature review; Purpose and objectives of the study; Materials and methods; Results and discussion; Conclusions; Contributions; List of cited literature and Appendix).

Included are 55 tables, 25 figures from (which 14 panels with photos) and an application of 6 panels with photos of plant material, which are of very good quality.

2. Brief biographical data of the Ph.D. student.

The full-time doctoral student Zhana Valcheva Ivanova was born on March 7, 1985 in the city of Plovdiv.

In 2004 she graduated from high school "St. St. Cyril and Methodius" with a humanitarian profile.

She received his higher education at the Agricultural University, Plovdiv - in 2009 with a "bachelor's" degree in "Plant Protection", and in 2010 with a "master's" degree in "Ecology of Settlement Systems".

Her professional development as an agronomist was in the period 2013-2017. She was an agronomist in the company "Gimel" in the village of Zvanichevo, Pazardzhik region, in an agro-pharmacy in the village of Trud, Plovdiv region and in the Institute of Vegetable Crops "Maritsa", town Plovdiv.

In 2017, after successfully passing a competition, she was enrolled as a full-time Ph.D. student at the Institute of Vegetable Crops "Maritsa", Plovdiv, Scientific Department of "Plant Breeding".

To improve her qualification, Ph.D. student Ivanova attends various training seminars and courses. As a student she conducted a student internship in the Laboratory of Tissue Crops at the „Maritsa" Vegetable Crops Research Institute in Plovdiv, under project BG051PO001 / 07 / 3.3-02 / 109 "Student internships in higher agricultural education - the relationship between education, science and business."

As a Ph.D. student in the period 2017 - 2019 she attended the courses organized at the Agricultural University, Plovdiv - "Teaching Methodology", "Databases" and "Experimental Data Processing", which are part of her doctoral plan for implementation.

Ph.D. student Ivanova conducted a short-term scientific visit to France, to the INRA Avignon Institute, to exchange experiences in the field of application of conventional and biotechnological methods in melon breeding.

She has participated as a member in the development of two research projects, one of which is under bilateral cooperation programs Bulgaria - France, "Genetic diversity and inheritance of sexual and fruit characteristics in melon."

Ph.D. student Zhana Ivanova presented the results of her research in 6 international conferences and youth forums. She received an award for participation in the Youth Forum "Science, Technology, Innovation, Business", held in the spring of 2019 in the "House of Science and Technology", Plovdiv, with her participation in a poster session on the topic: "Screening of melon genotypes for resistance to *Verticillium* wilt, *Fusarium* wilt and Downy mildew".

There are a total of 8 articles published, 5 of which are related to the development of the dissertation work.

She has good computer skills and works freely with various software programs.

She is fluent in written and spoken English at a very good level and French at a good level.

She is a member of the Scientific and Technical Union - Plovdiv branch.

3. Relevance of the developed dissertation.

The relevance of the thesis, developed by the Ph.D. student Zhana Ivanova is determined by the following features:

- Melons are among the economically important vegetable crops that belong to the pumpkin family (*Cucurbitaceae*);
- They have very good nutritional and taste qualities of the fruits, as well as a wide variety of shapes and colors of the fruits;
- New technologies for growing plants are being created in the world in order to increase yields;
- Consumer preferences for the shape, taste and color of the fruits vary greatly over the years, which necessitates the creation of new varieties with certain requirements for them;
- The study of genetic resources and the way of inheriting the traits allow the breeding programs to be based on a more accurate scientific assessment, which can lead to a shortening of the breeding process;
- The need to create the most appropriate model of a variety that combines all the important biological, technical and technological characteristics of a crop is becoming increasingly important;
- The skillful combination of conventional selection with various biotechnological methods and recombinant DNA technologies creates much greater opportunities for a deeper and more conscious understanding of the peculiarities of the studied crops, including in melons.

The Ph.D. student Zhana Ivanova has very precisely defined this topicality of the dissertation still in the introduction. Then in the literary review she developed it very skillfully and with the obtained results she supported it quite successfully.

The main goal of the dissertation is clearly defined: To study the possibilities for enrichment of genetic diversity in melon by applying biotechnological and conventional methods of breeding.

The six main tasks and four subtasks are related to the use of different methodologies, techniques and analyzes. All tasks were performed during the performed experiments.

In my opinion, the subtasks could be combined for the respective task. This would make their presentation tighter.

4. Literary awareness and theoretical training.

The literature reference includes 373 sources, of which 11 in Cyrillic and 362 in Latin.

The cited literature published in the last 10 years is 104 titles (27.88%). Ten publications (2.68%) were printed between 1859 and 1959.

The literature review is written on 28 standard typewritten pages. It covers 3 main sections and a significant number of subsections. It is relatively well structured and has an upgrade of the analysis, supported by the necessary literature sources.

In my opinion, many of the subheadings could be combined. This would make the text more complete and easier to read.

Based on the literature data, the Ph.D. student raises hypotheses and draws conclusions about the best way to achieve the correct result in his own research.

I was extremely impressed by the fact that the literature review ends with a well-synthesized summary, which clearly crystallizes the goal and objectives for implementation.

5. Research methodology.

Research methodology is described in detail on 13 pages. It is properly selected and adequate. It allows to achieve the set goal and to solve exactly the tasks related to the realization of this goal.

Methods used are described correctly. The chosen methodology corresponds to the set goals and objectives, which gives grounds to conclude that the results obtained are reliable and significant.

Experimental work was conducted in the period 2017 - 2020 in the Laboratory of Tissue Crops and Experimental Greenhouse Facilities at the „Maritsa" Vegetable Crops Research Institute, Plovdiv.

Ph.D. student Zhana Ivanova has performed a huge amount of experiments that belong to two main groups of research - biotechnological and breeding.

Plant material she has included in her research is extremely diverse. Opportunities have been sought to study and expand the genetic diversity of melons through biotechnological and conventional selection methods.

Biotechnological studies included four genotypes of melons from the collection of the „Maritsa" Vegetable Crops Research Institute, Plovdiv, which belong to different varieties and have different types of flowering.

Both genotypes BG14 and SV3-14 belong to var. *cantalupensis*, but have a type of flowering - *gynoecious* and *monoecious*. The other two genotypes have an *andromonoecious* type of flowering. Of these, the genotype K052 belongs to var. *makuwa*, (he is originally from China), and genotype 5-1-2 is from var. *reticulatus*.

Irradiation of explants in *in vitro* conditions was applied, as well as introduction into *in vitro* culture of melon embryos obtained by artificial hybridization of plants with γ-irradiated ^{60}Co pollen.

Greenhouse studies have been performed to characterize various traits in melons at the plant level.

Experimental work included 50 genotypes of melons of different origins (Bulgaria, USA, France, China, Turkey, Israel and India), which are representatives of six varieties: *cantalupensis, reticulatus, inodorus, makuwa, aimeri* and *momordica*, from the collection of the „Maritsa" Vegetable Crops Research Institute, Plovdiv.

Ph.D. student has taken an extremely large set of parameters when performing greenhouse experiments. Conducted diallel analyses have led to important results regarding the variation and inheritance of some important qualitative and quantitative traits in melons.

Reliability of the obtained results was proved by applying variation, three-factor analysis of variance and Duncan's Multiple Range Test. Standard computer program SPSS 16 was used.

For a more complete characterization of the obtained results, a large number of statistical methods have been applied - cluster analysis and factor analysis of the main components. Using the GENES program (Cruz, 2013) the results of the conducted diallel analyses were processed, the variation and inheritance of the studied qualitative and quantitative traits in melons was established.

Heterosis effect was established by the formulas of Hallauer and Miranda (1988).

6. Significance and persuasiveness of the obtained results, interpretations and conclusions.

In my opinion, the dissertation presented by the Ph.D. student Zhana Ivanova has all the requirements for this type of development, which is determined by the purposeful experimental activity. The obtained results are commented accurately and clearly, and the overall presentation follows its logical sequence.

A total of 115 pages in the chapter "Results and discussions" present obtained results. Here the competence of the Ph.D. student to analyze and summarize the research data in the light of modern scientific achievements is evident.

The persuasiveness of the results is evidenced by the fact that through her research it confirms some of the results obtained in this area by other researchers, and also enriches the existing concepts with additional information.

Based on the conducted in-depth analysis of the obtained results at the end of her dissertation, the Ph.D. student formulates 17 conclusions. Five of them (№ 1 - 5) are related to biotechnological studies (29.41% of the total number). The remaining 12 findings (70.59% of the total) concern conventional breeding and genetic studies, as well as studies related to resistance to powdery mildew.

A survey was conducted to study the preferences of the Bulgarian consumer regarding the shape of the fruit, its surface and color.

Four of the conclusions (№ 9, 11, 13 and 15) refer to the action and interaction between additive and non-additive genes.

The conclusions with № 10, 11, 14 and 15 reflect the peculiarities obtained in the study of the general (ACS) and the specific combinatorial ability (SCS) in the studied genotypes, which is important for the sbreeding in melons.

Three of the presented conclusions specify the results obtained for such important phenomena as heterosis (№ 12 and 16) and transgression (№ 17), and three other conclusions (№ 6, 7 and 8) are formulated on the basis of the obtained results for resistance to the studied genotypes of powdery mildew, as well as the consumer preferences for certain traits of melons.

7. Nature of scientific contributions.

I accept the report on the contributions presented by the Ph.D. student. She highlighted 12 contributions, which in my opinion can be formulated as follows:

I. ORIGINAL CONTRIBUTIONS.

✓ A definite original achievement of the doctoral dissertation is the testing in a dialistic scheme of crossing melon breeding lines and their hybrid combinations with different types of flowering - *gynoecious* (form only female flowers) and *hermaphrodite* (form only hermaphrodite flowers).

✓ Main parameters for the model of the melon's variety are determined, through which the preferences of the Bulgarian consumer to the fruits of the melons can be established.

✓ Genetic parameters and parameters of selection in population of the cross AGY x 5-1-2, which can be used to improve output plants, have been established.

✓ There is a great genetic diversity in the studied collection of melons in terms of different qualitative and quantitative traits. This will allow in the future these forms to be used for inclusion in new breeding programs.

✓ Conditions for induction of callusogenesis and regeneration in Bulgarian melon lines are optimized. The influence of the explant type and interaction of genotype and explant type, determining the different response, has been proven.

✓ After pollination of plants with irradiated pollen and further development of embryo *in vitro*, different forms of melons with valuable economic characteristics were obtained – with higher productivity; different habit and higher dry matter content in the fruit compared to the original genotypes. The resulting dihaploid melon lines are suitable for use as parental forms in breeding.

II. SCIENTIFIC CONTRIBUTIONS.

✓ "Gamma-induced parthenogenesis" has been successfully applied in combination with embryo culture as an effective method for obtaining haploid and dichaploid plants from melons. The leading role of the genotype in the process of embryo formation has been proven.

✓ Melon lines with different types of flowering (*monoecious, andromonoecious* and *gynoecious*) were tested under the conditions of a partial diallel crossing scheme. Genetic actions have been identified in the expression of nine quantitative traits of plants and five of fruits, which contributes to increasing the efficiency of the breeding programs.

III. APPLIED CONTRIBUTIONS.

✓ Five genotypes of melons (12-1/5, 11/9KS5, A11/9KS6, 5-1-2 and PI414723) have been identified with combined resistance to powdery mildew (*Podosphaera xanthii* race 1) and true powdery mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) which are suitable donors for the creation of sustainable varieties.

✓ Lines and hybrid combinations 5-1-2, AGY, BK/1-5-5, K15/6, AGY x 5-1-2, BK/1-5-5 x 5-1-2 and K15/6 x 5-1-2 most fully and comprehensively meet the criteria of yield, stability, morphological and taste qualities of the fruit. Line BK/1-5-5 is suitable for gene donor in improving the traits: plant height, number of internodes, leaf area, plant yield, days from germination to mass flowering, days to fruit ripening, growing season, length of fruit, fruit width and fruit weight. Line AGY is a suitable donor for the trait of internodes on which the 1st fruit is formed, and line 5-1-2 as a donor for improving the trait dry matter and resistance to the causes of powdery mildew and true powdery mildew.

✓ In the F_2 population of the cross AGY x 5-1-2 transgressive forms were found in 12 of the studied 14 traits, characterized by a high degree of inheritance, which contributes to the effectiveness of the selection in the initial decay generations.

✓ As a result of the applied biotechnological and conventional methods of breeding, the available collection of melons has been enriched with new genotypes with changed traits, which can be successfully included in the breeding programs of this crop.

8. Evaluation of the quality of the published scientific works in connection with the Doctoral thesis.

The Ph.D. student presented a list of 5 scientific publications.

❖ One of the articles was published in the scientific journal Journal of BioScience and Biotechnology 6 (2): 99-104, (ISSN: 1314-6246), which is referenced and indexed in world-famous databases of scientific information.

❖ Another article was published in the scientific journal Agricultural Science and Technology. The other three publications were presented at an international conference and at youth scientific forums. They are published in Proceedings of these forums.

❖ Of the publications presented in connection with the development of the dissertation, one is independent. The other 4 are co-authored, with the Ph.D. student being the first author.

There are no citations to these publications, but given that they were printed mainly in 2017-2020, it is too early for that.

9. Personal participation of the Ph.D. student in conducted investigations.
I accept that the presented dissertation is a personal work of the Ph.D. student.

10. Author's abstract.
The abstract is well formatted in a volume of 45 pages. It is well structured and reflects in summary version the structure and content of the dissertation. It is illustrated with 33 tables and 6 figures, of which 2 and 3 are 2 panels with photographic material.
The abstract is clearly written and well reflects the results of the dissertation. It is presented according to all the requirements of the law for such publication.

11. Critical remarks, questions and recommendations.
I have the following questions and recommendations to the Ph.D. student:

Questions and notes:
- On page 35 it is written "Two to three days the explants are transported". There is no such term. Years ago, the foreign word "passage" was used. The Bulgarian term is "transferred to the nutrient medium".
- On what basis is it accepted to perform in vitro experiments with explants - cotyledons, hypocotyls and true leaf, and not with others? It is described in the literature that other authors have worked with such explants, but is this the argument? It is not clear from the discussion.
- Different genotypes were included in the different experiments. What is the basis to select genotypes for the different experiments? If you worked with the same genotypes, more general conclusions could be drawn.
- An indirect method was used to determine the level of ploidy - by counting the chlorophyll grains in the stomatal cells. It is more accurate to count the number of chromosomes in at least 100 cells under a microscope.
- Was there a difference in the shape of the seeds in haploid and diploid melons?
- The headings of the sections - III.2.7. (p. 45) and IV. (p. 46) are identical, which is a bit confusing.
- Is the explants irradiated with petri dishes in a nutrient medium or dry? This may affect the response after irradiation. It also matters what material the petri dishes are made of - glass or plastic.
- I believe that the sections including studies on the resistance of powdery mildew and true powdery mildew, as well as the survey of consumer preferences for some signs of melons are not very relevant to the topic of the dissertation and the scientific field in which the doctoral thesis will be defended.
- In my opinion, the terminology needs to be clarified. On page 29 in the title I.3.4. "real" mildew is recorded, and the last paragraph of this section refers to "ordinary" mildew. The literature describes that the oomycete fungus - *Pseudoperonospora cubensis* causes Cuban blight with characteristic symptoms.
- Tables № 17, 37, 39 and 47 have very small numbers and are not clearly visible.

@ The figures with № 22, 23 and 24 are very small and obscure.

@ Only 11 scientific publications by Bulgarian authors are cited in the literature. What is the reason for this - low interest in the research topic or only a small circle of breeders develop this problem?

@ There are some terminological inaccuracies and technical errors in the text.

Recommendation:

@ Some of the mentioned literature sources were printed in the period from 1859 to 1959. I am sure that the Ph.D. student did not find them in the original. Considering that the publication of 1859 is in French and that of 1924 is in German, this is absolutely certain. In here in the future works it is more correct to cite the literary source and the authors who have cited these publications in recent years.

Doctoral thesis of the full-time Ph.D. student Zhana Ivanova presented to me for review contains important, interesting and in some aspects new scientific information about the breeding programs for melons. These notes and recommendations do not diminish the importance and significance of the presented dissertation work. They are made in order to improve the work of the Ph.D. student in her future research.

CONCLUSION

I definitely believe that the Doctoral thesis submitted for review contains original, scientific and applied results, which represent an original contribution to science and meet the requirements of the Law on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria, the Regulations for its implementation and the relevant Regulations of the Agricultural Academy, Sofia.

The Doctoral thesis shows that the Ph.D. student Zhana Ivanova has in-depth theoretical knowledge and professional skills in the scientific specialty "Breeding and seed production of cultivated plants" by demonstrating qualities and skills for independent research.

Due to the above, I confidently give my **POSITIVE EVALUATION** for the conducted research in the above peer-reviewed Doctoral thesis, author's abstract, results and contributions, and I suggest to the esteemed Scientific jury to vote positively and award the educational and scientific degree **"Doctor (Doctor of philosophy – Ph.D.)"** to the full-time Ph.D. student **Zhana Valcheva Ivanova** in the field of higher education: **6. Agricultural Sciences and Veterinary Medicine**; professional direction: **6.1. Plant growing** and Scientific specialty: **"Breeding and seed production of cultivated plants"**

Date: 05th of April, 2021
Plovdiv

Reviewer:
(Prof. D. Svetleva, Dr. Sci.)