



## РЕЦЕНЗИЯ

От: проф. дбн д-р Иванка Тодорова Йотова, катедра „Общо животновъдство, Секция „Генетика“, Ветеринарномедицински факултет, Тракийски университет, Стара Загора, понастоящем пенсионер.

Относно: дисертационен труд на редовен докторант Мария Желязкова за присъждане на ОНС „Доктор“ по научна специалност „Генетика“ професионално направление 6.3. „Животновъдство“, област на висше образование 6. „Аграрни науки и ветеринарна медицина“.

Рецензията представям в качеството ми на член в състава на научното жури по защита на дисертационния труд съгласно заповед №510 от 8.03.2021 г. на Ректора на ТРУ.

Автор на дисертационния труд: редовен докторант Мария Тодорова Желязкова

Тема на дисертационния труд: „Фенотипна и генетична характеристика на балканските ендемити Гризебахова (*Moehringia grisebachii* Janka) и Янкиева кутевка (*Moehringia jankae* Griseb.ex Janka)“.

Научен ръководител: проф. дн Светлана Георгиева

Научен консултант: доц. дн Нели Грозева

### 1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Докторантът се е обучавал по докторска програма към катедра „Генетика, развъждане и репродукция“ на АФ при ТрУ, гр. Ст. Загора по *научна специалност* „Генетика“. Обучението е осъществено в редовна форма, като е зачислен на 7.03.2017. за срок на обучение от три години и е отчислен с право на защита на 13.04.2020 г.

Представеният дисертационен труд е в съответствие със Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника за развитието на академичния състав на АФ при ТрУ, гр. Ст. Загора.

### 2. Кратки биографични данни за докторанта

Мария Желязкова е родена на 14.01.1986 г. През 2014 г. е завършила Висше образование, бакалавър, специалност „Екология и опазване на околната среда“ при ТрУ, гр. Ст.Загора, а 2016 магистърска степен - ПУ „Паисий Хилендарски“, гр. Пловдив, Биологически факултет. От 10.03.2017 – 13. 04. 2020 г. е редовен докторант в Тракийски университет, Аграрен

факултет, катедра „ Генетика, развъждане и репродукция“, секция „Генетика“.

Владее писмено и говоримо английски език и притежава високо ниво на компютърна грамотност. Има научно изследователски интереси в областта на Генетика на растенията, Кариология, ДНК анализи. Във връзка с дисертационния труд докторантът е представил 7 публикации, една от които е под печат.

### **3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи.**

Въпросът за опазването и съхранението на растителното биоразнообразие в света и у нас е от изключителна важност. Основните причини за загуба на биоразнообразие се дължат на климатични промени, човешка дейност, включваща унищожаване на хабитати, замърсяване, внедряване на екзотични видове, селскостопанска дейност и нарастването на човешката популация. Според FAO генетичното биоразнообразие на растенията, като фактор за бъдещото продоволствено осигуряване трябва да бъде запазено. Затова считам темата на настоящия дисертационен труд, в който са проучени двата вида *M. jankaе* и *M. Grisebachii*, Балкански ендемити, разпространени и в България, представляващи важна част от биоразнообразието за актуална. Още повече, че няма данни за генетичната и фенотипна характеристика на двата вида, което е обект на този дисертационен труд, като са обхванати популации и на двата вида, с местообитания в България.

Дисертационният труд е написан на 225 страници, онагледен с 47 таблици и 76 фигури, 10 извода, 3 теоретични приноси, 1 с научно-приложен характер и 4 препоръки. Проекта за дисертационен труд включва литературен указател с 346 лит. източника, от които 17 на кирилица и 229 на латиница, 30 приложения и 7 н. публикации във връзка с дисертацията.

Структурата на дисертационния труд е напълно съобразена с изискванията и е с пропорционално разпределение по обем на всеки от разделите. Написан е с добър научен стил.

СЪДЪРЖАНИЕТО е редуцирано, в сравнение с проекта за дисертация и е стегнато и прегледно.

#### **4. Литературен обзор**

Литературният обзор, представен на 44 стр. е обширен, демонстрира добрата осведоменост на автора и неговия подход към поставените проблеми, които отговарят на поставените задачи, като е ползвана съвременна и актуална литература в тази научна област.

Считам, че дисертанта се е съобразил с посочените забележки на разширен катедрен съвет за съкращаване и обединение на някои от разделите, поради което литературния преглед е придобил стегнат вид.

#### **5. Цел и задачи**

Целта и поставените 7 задачи ги оценявам като ясни и конкретни.

#### **6. Материал и методи**

Методите са точно и конкретно описани. Подбрани са методи, които са обективни и гарантират достоверност на получените резултати.

Направена е прецизна статистическа обработка на получените резултати.

#### **7. Резултати и обсъждане**

Резултатите са добре онагледени с фигури, таблици и снимки. Впечатляващи са и високо оценявам направената от дисертанта с приложен клъстърен анализ сравнителна фенотипна характеристика и сравнителен анализ на кариотипната изменчивост на *M. grisebachii* и *M. jankae*, и особено съпоставка на морфология, кариология и ДНК анализ при ендемитните видове, което представлява и същността на този дисертационен труд.

Обобщените резултати от всички проведени анализи на дисертанта, показват че вътрепопулационното разнообразие в популациите на двата вида е доминиращо. Популациите разпространени на територията на Средна гора показват повече различия в морфологията си, в сравнение с тези на територията Източна Стара планина. Това тя потвърждава с проведеният ДНК анализ чрез ISSR маркери.

Много ценно за мен и силно съм впечатлена от направеното от дисертанта обсъждане в т. V.4.4. Обсъждане на генетичното разнообразие отчетено с ISSR маркери, за влиянието както на местоположението, изолацията от скални масиви (скали югоизточно от местност Камилата),

така и на малката площ и численост на популациите върху вътрепопулационната диференциация.

Споделям също, че морфологичните анализи са важни като допълваща част към генетичните, но не могат да бъдат достатъчно надеждни, ако не са подкрепени от наличието на ДНК маркери, особено при ендемитни видове, които трудно оцеляват в екстремни условия. Това поражда голяма необходимост от спецификация на популациите. Ето това според мен прави тази дисертация ценна и потвърждава нейната актуалност. Подобно обсъждане, в което дисертанта изразява и собствените си разсъждения, подкрепени с литературни източници бих искала да видя и на предшестващите раздели.

Много неточности, които присъстваха в проекта за дисертация са изчистени, а текста е прецизиран, което прави добро впечатление.

### **8. Изводи, приноси и препоръки**

Те са конкретни и ясни и ги приемам безрезервно. Направените приноси в дисертационния труд още един път потвърждават неговата актуалност, като се представя карта на актуалното разпространение и екологично състояние на тези редки Балкански ендемити на територията на България.

За първи път в научната литература е определен хромозмият набор на *M. jankaе* и *M. Grisebachii*, като с това се допълват научните изследвания при тези 2 редки ендемитни видове, а това допринася за разкриване посоката на еволюция и диверсификация на тези видове, които са част от биологичното разнообразие. Това рефлектира и върху направения принос с научно-приложен характер, относно оценката на генетичното разнообразие на *M. jankaе* и *M. grisebachii*, която е важна за изготвянето на консервационни програми за опазване на редки и застрашени видове.

Така целта и задачите са изпълнени.

Въпреки главно теоретичния характер на дисертационния труд дисертанта прави и 2 основателни препоръки за разработване на консервационни програми на двата вида и интродукция на вида *M. grisebachii* в Средна гора с цел опазване и съхранение.

### **9. Оценка на автореферата**

Автореферата коректно и пълно отразява съдържанието на дисертационния труд.

### **10. Преценка на публикациите във връзка с дисертационния труд**

Представените 7 публикации са свързани с дисертационната тема, на 6 от които докторантът е първи автор. Шест са публикувани в *Trakia Journal of Sciences* и *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 4 от които в Suppl. и 1 в *Ecologia balkanica* (in press) е под печат.

### **11. Списък на използваната литература**

Общо 346 лит. източника. Направена е сериозна преработка на лит. източници в литературния списък, в сравнение с проекта за дисертация.

### **12. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати.**

Тъй като за първи път в научната литература са изследвани редица признаци на 2-та едемични вида *M. jankaе* и *M. grisebachii* препоръчвам:

1. Дисертанта да съдейства за осъществяването на двете си препоръки за разработването на консервационни програми с цел опазване и съхранение, както и за екологична интродукция на вида *M. jankaе* в Средна гора - с подобно географско положение и екологични условия.

2. В бъдещите изследвания дисертанта да се насочи към търсене на маркери, свързани с някои от нутритивните, фармацевтичните или козметични качества на тези 2 вида, което ще осмисли сегашните изследвания на дисертанта, откриващи голямо и интересно поле за бъдещи н. изследвания. Ясно ми е, че това е много трудно и изисква разрешение и одобрение от някои висши инстанции, но си заслужава и ще бъде одобрено в един Европейски проект.

### **13. ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Дисертационния труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват принос в науката и след коригиране на посочените забележки от членовете на Разширения катедрен съвет относно структурата той напълно съответства на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на АФ при ТрУ. Дисертационният труд показва, че докторантът притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по Научната специалност „Генетика“ като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване. Поради гореизложеното, убедено давам

своята положителна оценка на проведеното изследване, представено от постигнатите резултати и приноси и предлагам на почитаемото научно жури положителен вот за присъждането на ОНС “Доктор” на редовен докторант Мария Тодорова Желязкова.

20.04.2021 г.  
гр. Ст. Загора



проф. дбн И. Йотова



## Review

from **prof., DSc, Dr. Ivanka Todorova Yotova**, Department "General Livestock", Unit "Genetics", professional field 6.4 Veterinary Medicine, Trakia University, Stara Zagora, now retired.

Subject: dissertation of PhD student **Maria Zhelyazkova** for awarding the "Doctor" degree in the scientific specialty "Genetics" professional field 6.3. "Animal Husbandry", field of higher education 6. "Agricultural Sciences and Veterinary Medicine".

I present the review in my capacity as a member of the scientific jury for the defense of the dissertation according to order № 510 from 8.03.2021. of the Rector of TrU.

Author of the dissertation: PhD student Maria Todorova Zhelyazkova.

Topic of the dissertation: "**Phenotypic and genetic characteristics of the Balkan endemics *Grisebach (Moehringia grisebachii* Janka) and *Yankieva kutevka (Moehringia jankae* Griseb.ex Janka)".**

Scientific adviser: Prof. DSc Svetlana Georgieva

Scientific consultant: Assoc. Prof. DSc Nelly Grozeva.

### 1. General presentation of the procedure and the doctoral student

The doctoral student studied under a doctoral program at the Department of Genetics, Breeding and Reproduction of the AF, TrU, St. Zagora in the scientific specialty "Genetics". The training was carried out in a regular form and was enrolled on March 7, 2017 for a period of training of three years and was expelled on 13.04.2020.

The presented dissertation is in accordance with the Law for the development of the Academic staff in the Republic of Bulgaria and the Regulations for the development of the Academic staff of the AF at TrU, St. Zagora.

### 2. Brief biographical data about the doctoral student

Maria Zhelyazkova was born on January 14, 1986. In 2014 she graduated from the Higher Education, , specialty "Ecology and Environmental Protection" at Trakia University, Stara Zagora, and in 2016 she was graduated with a master's degree " Paisii Hilendarski University" of Plovdiv, Faculty of Biology. From 10.03.2017 - 13. 04. 2020 was a full-time PhD student at the Trakia University, Faculty of Agriculture, Department of Genetics, Breeding and Reproduction.

Fluent in written and spoken English and has a high level of computer literacy. She has research interests in Plant Genetics, Karyology, DNA Analysis. In connection with the dissertation, the doctoral student presented 7 publications, one of which is *in press*.

### **3. Relevance of the topic and expediency of the set goals and objectives.**

The issue of conservation and conservation of plant biodiversity in the world and in our country is extremely important. The main causes of biodiversity loss are due to climate change, human activity, including habitat destruction, pollution, introduction of exotic species, agricultural activity and the growth of the human population. According to the FAO, the genetic biodiversity of plants as a factor for future food security must be preserved. Therefore, I consider the topic of this dissertation, which examines the two species *M. jankae* and *M. grisebachii*, Balkan endemics, distributed in Bulgaria, representing an important part of biodiversity to be relevant. Moreover, there is no data on the genetic and phenotypic characteristics of both species, which is the subject of this dissertation, covering populations of both species with habitats in Bulgaria.

The dissertation is written on 225 pages, illustrated with 47 tables and 76 figures, 10 conclusions, 3 theoretical contributions, 1 with scientific-applied character and 4 recommendations. The project for dissertation work includes an used literature sources with 346 references, of which 17 in Cyrillic and 329 in Latin. Overall publication activity of Maria Zhelyazkova is with scientific 7 publications with the results from PhD study.

The structure of the dissertation is fully compliant with the requirements and has a proportional distribution by volume of each of the sections. It is written in a good scientific style.

THE CONTENT is reduced compared to the dissertation project and is concise and clear.

### **4. Literary review**

The literary review is presented on 44 pages and is extensive, demonstrates the good awareness of the author and his approach to the problems that meet the tasks, using modern and up-to-date literature in this field.

I believe that the dissertation has complied with the remarks of the extended department council for reduction and unification of some of the sections, due to which the literature review has acquired a concise form.

### **5. Purpose and tasks**

I evaluate the goal and the set 7 tasks as clear and specific.

### **6. Material and methods**

All the methods used are precisely described. Methods that have been applied are realistic, objective and guarantee the reliability of the results obtained.

Precise statistical processing of the obtained results has been made.

### **7. Results and discussion**

The results are well illustrated with figures, tables and photos. The comparative phenotypic characteristics and comparative analysis of the karyotype variability of *M. grisebachii* and *M. Jankae* made by the dissertation with applied cluster analysis are impressive and highly appreciated, and especially the comparison of morphology, karyology and DNA analysis in endemic species, which is the essence of dissertation work.



The summarized results of all analyzes of the dissertation show that the intrapopulation diversity in the populations of both species is dominant. The populations distributed on the territory of Sredna Gora show more differences in their morphology than those on the territory of the Eastern Stara Planina. This she confirmed with DNA analysis using ISSR markers.

Very valuable for me and I am very impressed by the discussion made by the dissertation in item V.4.4. Discussion of the genetic diversity reported with ISSR markers, for the influence of both the location, the isolation from rock massifs (rocks southeast of the Kamilata locality) and the small area and number of populations on the intrapopulation differentiation.

I also share that morphological analyzes are important as a complement to genetic ones, but they cannot be reliable enough if they are not supported by the presence of DNA markers, especially in endemic species that find it difficult to survive in extreme conditions. This raises a great need for population specification. This, in my opinion, makes this dissertation valuable and confirms its relevance. I would like to see a similar discussion in which the dissertation expresses its own reflections, supported by literary sources, in the previous sections.

Many inaccuracies that were present in the dissertation project have been cleared and the text has been refined, which makes a good impression.

#### **8. Conclusions, contributions and recommendations**

They are specific and clear and I accept them unreservedly. The contributions made in the dissertation work once again confirm its relevance by presenting a map of the current distribution and ecological status of these rare Balkan endemics on the territory of Bulgaria.

For the first time in the scientific literature, the chromosome set of *M. jankae* and *M. Grisebachii* has been determined, thus complementing the research in these 2 rare endemic species, and this contributes to revealing the direction of evolution and diversification of these species, which are part of biodiversity. This also reflects on the scientific and applied contribution made to the assessment of the genetic diversity of *M. jankae* and *M. grisebachii*, which is important for the preparation of conservation programs for the conservation of rare and endangered species.

Thus the goal and tasks are fulfilled.

Despite the mainly theoretical nature of the dissertation, the dissertation makes 2 reasonable recommendations for the development of conservation programs of both species and the introduction of the species *M. grisebachii* in Sredna Gora for conservation and conservation.

#### **9. Evaluation of the abstract**

The abstract correctly and completely reflects the content of the dissertation

#### **10. Evaluation of publications in connection with the dissertation**

The presented 7 publications are related to the dissertation topic, 6 of which the doctoral student is the first author. Six are published in the Trakia Journal of Sciences and the Bulgarian Journal of Agricultural Science, 4 of which in Suppl. and 1 in *Ecologia balkanica* (in press) is in press.

### **11. List of used literature**

A total of 346 scientific literature sources are used, as a serious revision of the used references has been made sources in the literature list, compared to the dissertation project.

### **12. Recommendations for future use of dissertation contributions and results.**

As a number of features of the 2 species *M. jankae* and *M. grisebachii* have been studied for the first time in the scientific literature, I recommend:

1. The PhD student M. Zhelyazkova to assist in the implementation of its two recommendations for the development of conservation programs for conservation and conservation, as well as for ecological introduction of the species *M. Jankae* in Sredna Gora - with similar geographical location and ecological conditions.
2. In future research, PhD student M. Zhelyazkova should focus on looking for markers related to some of the nutritional, pharmaceutical or cosmetic properties of these 2 types, which will give practical application of the current research of the dissertation, opening a large and interesting field for future research. It is clear to me that this is very difficult and requires permission and approval from some governmental authorities, but it is worth it and will be approved in a European project.

### **13. CONCLUSION**

The dissertation contains fundamental and applied scientific results, which are in contribution to science. It was corrected according to the remarks of the members of the Extended Department Council and fully complies with the requirements of the Law for development of the academic staff in the Republic of Bulgaria (application of ZRASRB) and the internal Rules of Trakia University. The dissertation shows that the PhD student has in-depth theoretical knowledge and professional skills in the scientific specialty "Genetics" by demonstrating qualities and skills for independent research. Due to the above, I confidently give my positive assessment of the study, presented by the results and contributions and offer the esteemed scientific jury a positive vote for the award of "Doctor" degree to Maria Todorova Zhelyazkova.

20.04:2021

Stara Zagora



Prof. DSc I. Yotova