

## РЕЗЮМЕТА

на научните трудове

на доц. д-р Николай Кирилов Христов

за участие в конкурс за заемане на академичната длъжност “професор” по научна специалност "Генетика", професионално направление 4.3 Биологически науки, Област 4. Природни науки, математика и информатика  
обявен в ДВ бр. 103 от 12.12.2023г.

B.4.1 G. Ganeva, V. Korzun, S. Landjeva, Z. Popova, **N. K. Christov**, Genetic diversity assessment of Bulgarian durum wheat (*Triticum durum* Desf.) landraces and modern cultivars using microsatellite markers, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 57:2, 273-285, 2010, ISSN: 0925-9864, DOI: <https://doi.org/10.1007/s10722-009-9468-5>, Ref IF (1.538-2010), WoS Q2 (Plant Sci.), SJR (0.872-2010), **Q1** (Plant Science)

EN **Abstract:** The genetic diversity in a *Triticum durum* Desf. collection, consisting of 102 Bulgarian landraces, nine Bulgarian and 25 introduced cultivars was studied using 14 highly polymorphic microsatellite markers. A total of 100 alleles were identified, with an average of 7.14 alleles per marker. The gene diversity values ( $H_e$ ) of the markers for the total samples ranged from 0.23 (WMS357 and WMS631) to 0.77 (WMS46), with an average of 0.52. Within the landraces that were collected from 18 sites in Southern Bulgaria showed 2-11 alleles per locus with an average of 6.07. The microsatellite analysis suggests that the genetic diversity among landraces is lower compared to the diversity levels for durum wheat in countries close to the main centers of wheat domestication. Breeding activities have caused significant reduction of the allelic polymorphism, elimination of rare alleles, and increase in the number of common alleles and the frequency of dominating alleles.

BG **Резюме:** Генетичното разнообразие в *Triticum durum* Desf. колекция, състояща се от 102 български местни популации, девет български и 25 интродуцирани сорта, е изследвано с помощта на 14 високо полиморфни микросателитни маркера. Идентифицирани са общо 100 алела, средно 7,14 алела на маркер. Стойностите на генетичното разнообразие ( $H_e$ ) на маркерите за цялата анализирана колекция варират от 0.23 (WMS357 и WMS631) до 0.77 (WMS46), със средна стойност 0.52. В местните популации, събрани от 18 места в Южна България, са установени от 2 до 11 алела, средно 6,07 алела на локус. Микросателитният анализ предполага, че генетичното разнообразие в местните популации е по-ниско в сравнение с нивата на разнообразие за твърда пшеница в страни, близки до основните центрове на одомашняване на пшеницата. Селекционния процес е довел до значително намаляване на алелния полиморфизъм, елиминиране на редки алели и увеличаване на броя на общите алели и честотата на доминиращите алели.

B.4.2	<p>S. Tsonev, M. Velichkova, E. Todorovska, V. Avramova, <b>N. K. Christov</b>, Development of multiplex primer sets for cost efficient ssr genotyping of maize (<i>Zea mays</i>) mapping populations on a capillary sequencer, <i>Bulgarian Journal of Agricultural Science</i>, 19:2, 5-9, 2013, ISSN: 1310-0351 (print) 2534-983X (online), <a href="http://www.agrojournal.org/19/02-01s.pdf">http://www.agrojournal.org/19/02-01s.pdf</a>, Ref IR, JCR (0.162-2013) <b>Q3</b> (Agricultural and Biological Sciences)</p>
EN	<p><b>Abstract:</b> Because of their accessibility, genomic abundance and high level of polymorphism SSRs are often markers of choice in many QTL mapping studies. To obtain a good mapping resolution one have to genotype large number of individuals in a large number of marker loci, which is both labour-intensive and expensive task. The multiplex-ready PCR technique (MRT™) provides possibility for fast optimisation with simultaneous amplification and fluorescent labelling of several amplicons in one reaction tube. In this study, we propose a low-cost protocol for optimising high-throughput genotyping of maize mapping populations using SSR markers and capillary electrophoresis. The method is based on MRT™ and consists of three stages.</p> <p>In the first stage, the parental lines and F1 were screened in 176 public SSR loci. Fifty-four of the analysed loci were found to be polymorphic between parental lines. In the second stage, primer concentrations were optimised in uniplex reactions. In the third stage, the polymorphic markers were grouped in 17 multiplex reactions containing 2 to 5 primer pairs and tested for successful amplification in multiplex PCR reactions. Using the optimised protocol, a maize DH population consisting of 192 individuals was genotyped. The cost and effort benefits of the proposed method are discussed.</p>
BG	<p><b>Резюме:</b> Микросателитните (SSR) маркери често са предпочитани в много изследвания за картиране на QTL поради тяхната достъпност, изобилието им в геномите и високото им ниво на полиморфизъм. За получаване на добра разделителна способност при QTL картирането, е необходимо да се генотипират голям брой индивиди в много маркерни локуси, което е едновременно трудоемка и скъпа задача. Мултиплексната PCR технология (multiplex ready technology, MRT™) предоставя възможност за бързо оптимизиране за едновременна амплификация и флуоресцентно маркиране на няколко PCR фрагмента в една реакционна епруветка. В това изследване предлагаме икономичен протокол за оптимизиране на високопроизводително генотипиране на картиращи популации царевица, чрез използване на SSR маркери и капиларна електрофореза. Методът се основава на MRT™ технологията и се състои от три етапа.</p> <p>В първия етап родителските линии и F1 са скринирани за полиморфизми в 176 публични SSR локуса. Установено е, че петдесет и четири от анализирани локуси са полиморфни между родителските линии. Във втория етап концентрациите на праймерите са оптимизирани в униплексни реакции. В третия етап маркерите са групирани в 17 мултиплексни комбинации, съдържащи 2 до 5 двойки праймери и са тествани за успешна амплификация в мултиплексни PCR реакции. Чрез прилагане на оптимизирания протокол е генотипирана дихаплоидна (DH) популация царевица, състояща се от 192 индивида. Обсъждат се ползите от намаляване на разходите и трудоемкостта на предложения метод.</p>

B.4.3	B. Assenov, <b>N. K. Christov</b> , S. Tsonev, D. Vasilev, M. Ilchovska, E. Todorovska, Identification of SNP mutations in MYBE-1 gene involved in drought stress tolerance in maize, Bulgarian Journal of Agricultural Science, 19, 181-185., 2013, ISSN, <a href="http://www.agrojournal.org/19/02-01.pdf">http://www.agrojournal.org/19/02-01.pdf</a> , Ref IR, JCR (0.162-2013) <b>Q3</b> (Agricultural and Biological Sciences)
EN	<p><b>Abstract:</b> As one of the most important agricultural crops, maize is a staple diet for a large portion of the continuously growing world's human population. Unfortunately, its production is severely affected by adverse environmental stresses such as drought, salt, low and high temperatures. The mechanisms of drought stress tolerance in maize are quite complex and involves a signaling network of genes that controls its adaptation to the stress. Recently, many transcription factors (TFs) for tolerance to drought stress have been identified in maize. In this study, specifically designed primers were used to identify functional single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the MYB-like protein E1 (MYBE1) gene of 26 tolerant and sensitive maize inbred lines from the gene banks of Maize Research Institute "Zemun Polje", Serbia and Maize Research Institute, Kneja, Bulgaria by PCR amplification and direct sequencing. Multiple alignments of the sequenced fragments to the drought sensitive US maize inbred B73 and other inbred lines, representing the functional diversity of maize, from the Panzea database (<a href="http://www.panzea.org/">http://www.panzea.org/</a>) was performed. The sequence alignment revealed several SNPs in inbred lines object of this study, one of which unique to the drought tolerant Serbian inbreds T3, T5, T6, T7 and T8. In these lines, the A→G transition, located in the acidic Ser/Thr – rich region of the gene, leads to amino acid change from Tryptophan to Alanine at the corresponding position of the protein. This replacement does not affect the binding site of MYBE-1 transcription factor, but possibly reflects the spatial conformation through changing of its functional activity. This study will contribute the identification of functional markers in genes implicated in the development of drought stress tolerance and their further use for genomic improvement in the national maize selection programs.</p>
BG	<p><b>Резюме:</b> Като една от най-важните земеделски култури, царевичата е основна храна за голяма част от непрекъснато нарастващото население на света. За съжаление производството на царевича е силно засегнато от неблагоприятни екологични фактори като суша, засоляване на почвите, ниски и високи температури. Механизмите на толерантност към засушаване при царевичата са доста сложни и включват сигнална мрежа от гени, която контролира нейната адаптация към стреса. В последните няколко години бяха идентифицирани голям брой транскрипционни фактори (TFs) за толерантност към засушаване при царевичата. В настоящото изследване са използвани специално проектирани праймери за идентифициране на функционални единични нуклеотидни полиморфизми (SNP) в гена на MYB-подобен протеин E1 (MYBE1) на 26 толерантни и чувствителни инбредни линии на царевича от генните банки на Института по Царевичата „Земун Поле“, Сърбия и Институт по царевичата, Кнежа, България чрез PCR амплификация и директно секвениране. Извършено е множествоно подравняване на секвенираните фрагменти към чувствителната към суша американска линия царевича B73 и други инбредни линии, представящи функционалното разнообразие на царевичата, от базата данни Panzea (<a href="http://www.panzea.org/">http://www.panzea.org/</a>). Подравняването на ДНК последователнос-</p>

тите разкрива няколко SNPs в инбредни линии, обект на това изследване, един от които е уникален за толерантните на засушаване сръбски инбредни линии T3, T5, T6, T7 и T8. В тези линии преходът A→G, разположен в богатата на аминокиселините Ser/Thr област на гена, води до промяна на аминокиселината от триптофан към аланин в съответната позиция на протеина. Това заместване не засяга мястото на свързване на транскрипционния фактор MYBE-1 към ДНК, но вероятно променя пространствената конформация на протеина, което се отразява на функционалната му активност.

Това изследване допринася за идентифицирането на функционални маркери в гени, участващи в проявата на толерантност към сушев стрес и тяхното последващо използване за геномно подобряване в националните програми за селекция на царевица.

B.4.4 E. Todorovska, A. Dimitrova, L. Stoilov, N. Christov, D. Vassilev, K. Gecheff, Molecular variability in barley structural mutants produced by gamma irradiation, Plant Mutation Reports, 3:1, 4-8, 2013, ISSN: 1011-2650, [http://inis.iaea.org/search/search.aspx?orig\\_q=RN:44087025](http://inis.iaea.org/search/search.aspx?orig_q=RN:44087025), WoS (All databases)

EN **Abstract:** Single Sequence Repeat (SSR) and Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) markers were used to survey gamma ray induced genetic variation in a set of 13 originally produced structural barley (*H. vulgare* L.) mutants from cv. Freya; including 8 single translocation lines, 3 double translocation lines and 2 multiple reconstructed karyotypes. Both marker systems contributed to the evaluation of the radiation induced DNA alterations and revealed in general 0.49% polymorphisms in the studied genotypes. AFLPs were observed with 3 out of 10 PstI/MseI primer combinations. Transmissible microsatellite instability at loci with perfect (AT)<sub>n</sub> repeats located in the introns of the *rubisco activase* and *waxy* was documented in three mutant lines. The results emphasize that in addition to point mutations, small indels (2bp) form the major group of the gamma induced DNA alterations.

BG **Резюме:** Маркерните системи, микросателити (SSR) и полиморфизъм по дължината на амплифицирани фрагменти (AFLP), са използвани за изследване на индуцираната от гама лъчи генетична вариация в набор от 13 оригинално създадени структурни ечемични (*H. vulgare* L.) мутанти от сорт Freya; включително 8 линии с единична транслокация, 3 линии с двойна транслокация и 2 множествено реконструирани кариотипа. И двете маркерни системи допринесоха за оценката на радиационно индуцираните ДНК промени и разкриха общо 0,49% полиморфизми в изследваните генотипове. AFLP са наблюдавани при 3 от 10-те PstI/MseI праймерни комбинации. При три мутантни линии е установена трансмисивна микросателитна нестабилност в локуси с перфектни (AT)<sub>n</sub> повтори, разположени в интроните на гените *rubisco activase* и *waxy*, Резултатите подчертават, че в допълнение към точковите мутации, малките инсерции/делеции (2bp) формират основната група от гама-индуцирани ДНК промени.

B.4.5	<p>E. G. Todorovska, S. Kolev, <b>N. K. Christov</b>, A. Balint, G. Kocsy, A. Vagujfalvi, G. Galiba, The expression of CBF genes at Fr-2 locus is associated with the level of frost tolerance in Bulgarian winter wheat cultivars, <i>Biotechnol Biotechnol Equip</i>, 28:3, 392-401, 2014, ISSN: 1310-2818 (Print) 1310-2818 (Linking), <a href="https://doi.org/10.1080/13102818.2014.944401">https://doi.org/10.1080/13102818.2014.944401</a>, Ref IF (0.300-2014), WoS Q4 (Biotechnology &amp; Applied Microbiol.), SJR (0.173-2014) <b>Q4</b> (Biotechnology)</p>
EN	<p><b>Abstract:</b> The regulation of the majority of cold-regulated genes in plants is mediated by CBF (C-repeat binding factors) transcription factor family. Natural differences in frost tolerance (FT) of wheat have been mapped to the Fr-2 (Frost Resistance-2) locus on chromosome group 5 and are associated with variation in threshold induction temperatures and/or transcript levels of CBF genes. This study used real-time reverse-transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) to compare the relative expression levels of four <i>T. aestivum</i> CBF genes (<i>TaCBF15.2</i>, <i>TaCBFA19</i>, <i>TaCBFA2</i> and <i>TaCBFD21</i>) in crown tissue of two Bulgarian hexaploid winter wheat cultivars (Milena and Russalka) with distinct levels of low-temperature (LT) tolerance but same vernalization requirement, and the spring cultivar Chinese Spring. The transcription profiles of the selected <i>TaCBF</i> genes showed that they are induced by cold treatment at 2 degrees C. Analysis of transcript abundance revealed that the four <i>TaCBF</i> genes were expressed at higher levels in the frost tolerant Milena than in the susceptible Russalka. Largest differences (fivefold and fourfold) in expression levels between both winter cultivars were observed in two of the analysed genes, <i>TaCBF15.2</i> and <i>TaCBFA19</i>, respectively. The higher steady-state expression levels of <i>TaCBF</i> genes before the onset of the LT treatment in Milena, combined with stronger induction by cold treatment, suggest that these molecular responses to LT are associated with superior FT development capacity. The results expand our understanding of the molecular mechanisms underlying LT acclimation in Bulgarian wheat and can be used for development of functional markers for improvement of FT wheat-breeding programmes.</p>
BG	<p><b>Резюме:</b> Голяма част от регулираните от нискотемпературен стрес гени при растенията се контролира от семейството транскрипционни фактори CBF (фактори свързващи се С-повтори). Природни вариации в устойчивостта на измръзване (FT) при пшеницата са картирани в Fr-2 (Frost Resistance-2) локус на хромозомна група 5 и са свързани с разлики в праговете индукционни температури и/или нива на транскрипция на CBF гените. В настоящото изследване е използвана полимеразна верижна реакция с обратна транскрипция в реално време (qRT-PCR), за да се сравнят относителните нива на експресия на четири CBF гена от <i>T. aestivum</i> (<i>TaCBF15.2</i>, <i>TaCBFA19</i>, <i>TaCBFA2</i> и <i>TaCBFD21</i>) във възела на братене на две български хексаплоидни зимни сортове пшеница (Милена и Русалка) с различни нива на толерантност към измръзване (LT), но еднакви изисквания за яровизация, и пролетният сорт China Spring. Транскрипционните профили на избраните <i>TaCBF</i> гени показаха, че те се индуцират чрез третиране с ниски температури при 2 °C. Анализът на нивата на транскрипция разкри, че и четирите <i>TaCBF</i> гена се експресират по-силно в устойчивия на измръзване сорт Милена, в сравнение с чувствителния Русалка. Най-големи разлики (петкратни и четирикратни) в нивата на експресия между двата зимни сорта се наблюдават в два от анализирания гени, съответно <i>TaCBF15.2</i> и <i>TaCBFA19</i>. По-високите нива на базова експресия на <i>TaCBF</i></p>



гените преди началото на нискотемпературното третиране в Милена, в комбинация с по-силната индукция при нискотемпературното третиране, предполагат, че тези молекулярни отговори към нискотемпературен стрес са свързани с повишения капацитет за развитие на устойчивост към измръзване на този сорт. Резултатите разширяват нашето разбиране за молекулярните механизми, лежащи в основата на аклиматизацията към ниски температури при българската пшеница и могат да бъдат използвани за разработване на функционални маркери за подпомагане програмите за селекция на зимоустойчивост при пшеницата.

**B.4.6** S. Tsonev, E. Todorovska, **N. Christov**, A versatile fluorescence-based multiplexing assay for combined genotyping of SSR and insertion-deletion polymorphism (IDP) markers on capillary electrophoresis systems, Bulgarian Journal of Agricultural Science, 21:4, 843-850, 2015, ISSN: 1310-0351 (print) 2534-983X (online), DOI, <http://www.agrojournal.org/21/04-23.pdf>, Ref IR, SJR (0.229-2015) **Q3** (Agricultural and Biological Sciences)

**EN** **Abstract:** During the last decade the number of the IDP markers and their utilization in laboratory practice are constantly growing. Their combination with SSR markers can facilitate saturation of genetic maps. The main disadvantage of both types of markers is the low degree of automation. Although, SSR and IDP markers share similar properties and way of detection, information on multiplexing both types of markers in a single PCR reaction has not been described. Therefore, the present study aimed at increased throughput of the PCR marker assays on a capillary sequencer by simultaneous amplification and fluorescent labeling of SSRs and redundant set of IDP markers in a single closed tube format. Ninety six co-dominant markers, with allele sizes suitable for multiplexing with SSRs, were selected from a public set of 1229 maize IDP markers. Twenty seven of them were polymorphic between the parental lines of a double-haploid population derived from F1 cross of a mutant maize inbred with its progenitor line. Seventeen of the polymorphic IDPs together with nineteen SSRs were used to develop a versatile fluorescence-based multiplexing assay for combined genotyping on capillary electrophoresis systems. Both IDP and SSR markers were successfully co-amplified and fluorescently labeled in 11 multiplex PCR reactions that included up to 4 primer pairs. The robustness of the method was validated by genotyping and map construction in the DH mapping population. The proposed multiplexing method will provide advantages for enrichment of target regions in fine mapping and map-based cloning projects as well as in marker assisted selection. With the increased availability of genome information and genome sequences of multiple varieties, the method could be successfully applied in other model and crop plant species.

**BG** **Резюме:** През последното десетилетие броят на InDel (инсерция/делеция) полиморфизъм (IDP) маркерите и тяхното приложение в лабораторната практика непрекъснато нарастват. Комбинацията им със микросателитни (SSR) маркери може да подобри насищането на генетичните карти. Основен недостатък и на двата вида маркери е ниската им степен на автоматизация. Въпреки че SSR и IDP маркерите споделят сходни свойства и начин на детекция, досега в литературата не е описано мултиплексиране на двата вида маркери в една PCR реакция. Следователно, нас-

тоящото изследване е насочено към увеличаване на производителността на PCR маркерните анализи при използване на капилярна секвенатор чрез едновременна амплификация и флуоресцентно маркиране на SSR и допълнителен набор от IDP маркери в една епруветка. От публикуван набор съставляващ 1229 царевични IDP маркера бяха избрани 96 ко-доминантни маркера, с размери на алелите, подходящи за мултиплексиране със SSR маркерите. Двадесет и седем от тях се оказаха полиморфни между родителските линии на дихаплоидна популация, получена от F1 кръстосване на мутантна линия царевица с нейната изходна линия. Седемнадесет от полиморфните IDP маркери заедно с деветнадесет SSR маркера бяха използвани за разработване на многофункционален, базиран на флуоресценция, мултиплексен анализ за комбинирано генотипиране чрез капилярна електрофореза. Както IDP, така и SSR маркерите бяха успешно ко-амплифицирани и флуоресцентно белязани в 11 мултиплексни PCR реакции, които включват до 4 двойки праймери. Устойчивостта на метода е валидирана чрез генотипиране и конструиране на генетична карта на дихаплоидната картираща популация. Предложеният метод за мултиплексиране предоставя предимства за обогатяване на целевите региони при проекти за фино картиране и клониране, базирано на карта, както и при маркер асистирана селекция. С натрупването на достатъчно геномна информация и геномни последователности за голям брой видове и сортове, методът може успешно да бъде приложен и при други моделни и културни растителни видове.

B.4.7 P. Christova, R. Batchvarova, **N. Christov**, Expression of four transgenes in one tobacco line, Bulgarian Journal of Agricultural Science, 22:3, 437-441, 2016, ISSN: 1310-0351 (print) 2534-983X (online), DOI, <http://www.agrojournal.org/22/03-14.pdf>, Ref IR, SJR (0.229-2016) **Q3** (Agricultural and Biological Sciences)

EN **Abstract:** Pyramiding of four transgenes in one tobacco line led to a complex resistance against two viruses (TSWV, PVY) and one bacterial pathogen (*Pseudomonas syringae* pv. tabaci), as well as the herbicide Glean®. Expression analyses of the corresponding transgenes (Np, CP, ttr and ahas 3R) were performed with selected tobacco lines of the cross 2002. The RNA gel blot hybridization analyses of all tested tobacco plants showed an expression of the ahas 3R gene, but no signal was detected for the other three transgenes. Expression of the Np, CP and ttr genes was detected by RT-PCR analyses, suggesting low level of accumulation of the corresponding mRNAs in the transgenic tobacco lines. Involvement of RNA silencing as a mechanism of resistance to plant pathogens is discussed.

BG **Резюме:** Пирамидирането на четири трансгена в една тютюнева линия доведе до комплексна устойчивост срещу два вируса (TSWV, PVY) и един бактериален патоген (*Pseudomonas syringae* pv. tabaci), както и към хербицида Glean®. Експресионни анализи на съответните трансгени (Np, CP, ttr и ahas 3R) бяха извършени с избрани тютюневи линии от кръстоска 2002. РНК гел блот хибридационните анализи на всички тествани тютюневи растения показаха експресия на ahas 3R гена, но за другите три трансгена сигнал не бе открит. Експресията на Np, CP и ttr гените беше доказана чрез RT-PCR анализи, което предполага ниско ниво на натрупване на съответните иРНК в трансгенните линии тютюн. Обсъжда се участието

на заглушаване на РНК като механизъм на резистентност към растителни патогени.

B.4.8 E. Baranova, N. Christov, L. Kurenina, M. Khaliluev, E. Todorovska, E. Smirnova, Formation of atypical tubulin structures in plant cells as a nonspecific response to abiotic stress, Bulgarian Journal of Agricultural Science, 22:6, 987-992, 2016, ISSN: 1310-0351 (print) 2534-983X (online), DOI, <http://www.agrojournal.org/22/06-17.pdf>, Ref IR, SJR (0.229-2016) Q3 (Agricultural and Biological Sciences)

EN **Abstract:** In response to abiotic and biotic stress factors the production of reactive oxygen species (ROS) in plant cells is increased and series of cascade reactions for their neutralization are being triggered. Targets of ROS in cells can be various biochemical and physiological processes, as well as cellular organelles including the cytoskeleton. Many abiotic stress factors, by provoking increase of the level of ROS in plant cells, elicit reorganization of the microtubules leading to disruption of mitosis. The reorganization of interphase and mitotic microtubule system was proposed to be an integral part of the response of cells to external stimuli. The state of microtubule system (tubulin cytoskeleton) under various abiotic stresses, including salinity, low temperatures, Al toxicity and flooding, was analysed in cells of representatives of family Solanaceae (*S. lycopersicum* L., *S. tuberosum* L. and *N. tabacum* L.) and cereals (*T. aestivum* L. and *H. vulgare* L.) by using transmission electron microscopy. Various tubular structures that were structurally different from microtubules were observed in plant cells subjected to abiotic stress. Fibrillar bundles with different densities of their constituent components, macrotubules, orderly packed paracrystalline aggregates and strands having hexagonal packing in cross sections, were observed in potato leaf mesophyll cells under low positive temperature stress, wheat root cells subjected to flooding stress, barley root cells under Al toxicity stress, as well as in root cells of tomato and tobacco under salinity stress imposed by NaCl or Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. The structure of these cytoskeletal elements is identical to stable atypical tubulin polymers induced by different chemical treatments. The presented data suggests that the formation of abnormal tubulin structures in plant cells is a common and non-specific response to various abiotic stress factors.

BG **Резюме:** В отговор на абиотични и биотични стресови фактори се увеличава производството на реактивни кислородни видове (ROS) в растителните клетки и се задействат серии от каскадни реакции за тяхното неутрализиране. Мишените на ROS в клетките могат да включват различни биохимични и физиологични процеси, както и клетъчни органели, включително цитоскелета. Чрез провокиране на повишени нива на ROS в растителните клетки, голяма част от абиотичните стресови фактори, предизвикват реорганизация на микротубулите, водеща до прекъсване на митозата. Предполага се, че реорганизацията на интерфазната и митотичната микротубулна система е неразделна част от отговора на клетките на външни стимули. Състоянието на микротубулната система (тубулинов цитоскелет) при различни абиотични стресове, включително солеви стрес, ниски температури, алуминиева токсичност и наводняване, е анализирано в клетки на представители на семейство Solanaceae (*S. lycopersicum* L., *S. tuberosum* L. и *N. tabacum* L.) и зърнени култури (*T. aestivum* L. и *H. vulgare* L.) чрез използване на трансмисионна



електронна микроскопия. Различни тубулни структури, които са структурно различни от микротубулите, се наблюдават в растителни клетки, подложени на абиотичен стрес. Фибрилари снопове с различна плътност на съставните им компоненти, макротубули, подредени паракристални агрегати и нишки с хексагонално опаковане в напречни сечения, се наблюдават в мезофилни клетки на листа от картофи при температурен стрес с ниски положителни температури, клетки от корен на пшеница, подложени на стрес от наводняване, клетки на корен от ечемик при стрес от алуминиева токсичност, както и в коренови клетки на домати и тютюн при солеви стрес, причинен от NaCl или Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Структурата на тези цитоскелетни елементи е идентична на стабилните атипични тубулинови полимери, индуцирани при третирания с различни химически реагенти. Представените данни предполагат, че образуването на аномални тубулинови структури в растителните клетки е общ и неспецифичен отговор на различни фактори на абиотичния стрес.

B.4.9 E. Baranova, I. Chaban, N. Kononenko, M. Khaliluev, **N. Christov**, A. Gulevich, E. Todorovska, Ultrastructural organization of the domains in the cell nucleus of dicotyledonous and monocotyledonous plants under abiotic stress, Russian Agricultural Sciences, 43:3, 199-206, 2017, ISSN: 1068-3674, DOI: <https://doi.org/10.3103/S1068367417030041>, WoS (All databases)

EN **Abstract:** The transformation of the structural organization of interphase nuclei of a plant cell, depending on the type of tissue, ploidy, and the action of abiotic factors of the medium, has been studied by light and transmission electron microscopy. It is shown that the location and the quantitative relationship between condensed and decondensed chromatin, the presence and localization of nuclear bodies in the plant nucleus, and the presence of invaginations of the nuclear membrane and inclusions depend on the tissue type and cell age as well as the intensity, time, and type of exposure to abiotic factors. Examples of different degrees of chromatin condensation in one plant organism are given. It has been established that the degree of chromatin condensation and decondensation, the state of other domains and nonspecific inclusions of the cell nucleus can be artificially modeled for research purposes or subsequent modification. The issue of application of such technologies for the creation and selection of stable forms of agricultural plants taking into account the controlled modification of their genome is discussed. A possible mechanism for incorporation of nonspecific inclusions in a nuclear compartment is proposed.

BG **Резюме:** Чрез светлинна и трансмисионна електронна микроскопия е изследвана трансформацията на структурната организация на интерфазните ядра на растителни клетки в зависимост от вида на тъканта, пloidността и въздействието на абиотични фактори на средата. Показано е, че местоположението и количествената връзка между кондензиран и декондензиран хроматин, наличието и локализацията на ядрени тела в растителното ядро и наличието на инвагинации на ядрената мембрана и инклузии зависят от вида на тъкан и възрастта на клетката, както и от интензивността, времето на въздействие и вида на абиотични средови фактори. Дадени са примери за различни степени на кондензация на хроматина в един растителен организъм. Установено е, че степента на кондензация и декондензация на хрома-

тина, състоянието на други домени и неспецифични инклузии на клетъчното ядро могат да бъдат изкуствено моделирани за изследователски цели или последваща модификация. Обсъжда се въпросът за прилагането на такива технологии за създаване и селекция на стабилни форми на селскостопански растения, като се вземе предвид контролираната модификация на техния геном. Предложен е възможен механизъм на включване на неспецифични инклузии в ядрото.

B.4.10 P. K. Christova, **N. K. Christov**, R. Imai, R. B. Batchvarova, A wheat phytocystatin increase resistance to fusarium oxysporum of a model plant *Arabidopsis thaliana*, *Rasteniiev'dni Nauki / Bulgarian Journal of Crop Science*, 55:3, 37-46, 2018, ISSN: 0568-465X, DOI, [https://crops-science-bg.org/page/en/details.php?article\\_id=676](https://crops-science-bg.org/page/en/details.php?article_id=676), WoS (All databases)

EN **Abstract:** Antifungal activities of the wheat cystatin TaMDC1 were analyzed by a heterologous expression of the protein in a model plant *Arabidopsis thaliana*. The floral buds of *Arabidopsis*, ecotype Columbia, were transformed *in vivo* by *Agrobacterium tumefaciens* using a “Floral dip” method. The putative transformed seeds were selected on MS media supplemented with kanamycin. The integration of the TaMDC1 gene was proved in T1 plants by PCR analyses. Segregation of the gene in T2 and T3 generations was analyzed and homozygous *Arabidopsis* lines with a single copy of the TaMDC1 gene were selected. Antifungal activities of the TaMDC1 were evaluated by inoculation of plants from selected *Arabidopsis* lines with phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. All tested lines were more resistant to the pathogen compared to the wild type *A. thaliana*. The highest resistance to inoculation with *F. oxysporum* was shown by the lines Cys 9-3-4, Cys 14-2-5 and Cys 18-6-3.

BG **Резюме:** Антигъбните свойства на пшеничния цистатин TaMDC1 са изследвани чрез хетероложно експресирание на гена в моделното растение *Arabidopsis thaliana* с помощта на биотехнологични подходи. Цветни пъпки от *Arabidopsis*, екотип Колумбия, са трансформирани *in vivo* с помощта на *Agrobacterium tumefaciens* чрез използване на т. н. “Floral dip” метод. Семената, получени от трансформираните цветни пъпки, са селектирани чрез засяване на агарова MS среда, съдържаща канамицин. Интеграцията на ген TaMDC1 в устойчивите на антибиотика растения от поколение T1 е доказана чрез PCR анализ. Проследено е унаследяването на селективния маркерен ген за устойчивост към канамицин в T2 и T3 поколение и са отбрани хомозиготни линии *Arabidopsis*, носещи единично копие на гена TaMDC1. Антигъбните свойства на пшеничния цистатин TaMDC1 са изследвани чрез инокулиране на растения от селектирани линии *Arabidopsis* с фитопатогенната гъба *Fusarium oxysporum*. Всички анализирани линии демонстрират по-висока степен на устойчивост към заразяване с патогена в сравнение с изходната линия *A. thaliana*. Най-устойчиви на инокулиране с *F. oxysporum* са линиите Cys 9-3-4, Cys 14-2-5 и Cys 18-6-3.

B.4.11	<p><b>N. K. Christov</b>, S. Tsonev, V. Todorova, E. G. Todorovska, Genetic diversity and population structure analysis – a prerequisite for constructing a mini core collection of Balkan <i>Capsicum annuum</i> germplasm, <i>Biotechnology &amp; Biotechnological Equipment</i>, 35:1, 1010-1023, 2021, ISSN: 1310-2818, 1314-3530, DOI: <a href="https://doi.org/10.1080/13102818.2021.1946428">https://doi.org/10.1080/13102818.2021.1946428</a>, Ref IF (1.632-2020), WoS Q4 (Biotechnology &amp; Applied microbiology), SJR (0.42-2020) <b>Q3</b> (Biotechnology)</p>
EN	<p><b>Abstract:</b> Pepper (<i>Capsicum annuum</i> L.) is one of the most important vegetable crops worldwide. The Balkans, including Bulgaria, are considered as the secondary centre of pepper diversity especially for <i>C. annuum</i>, where local forms with diverse phenotypes and qualities have formed due to the specific agro-climatic conditions and breeding traditions. Evaluation of the genetic diversity and structure of a pepper collection is an important tool for further development of new varieties and the maintenance of sustainable agriculture. In this study, a set of 179 <i>C. annuum</i> accessions collected from different locations in the Balkan Peninsula was genotyped with 21 simple sequence repeat (SSR; microsatellite) markers. In total, 146 alleles were amplified among which the majority were with low frequencies (&lt;5%). The mean He, Ho and PIC for the 21 SSR loci in the whole set were 0.531, 0.249 and 0.483, respectively. Model-based structure analysis divided the collection into 3 main clusters (<math>K=3</math>) that grouped accessions with distinct fruit traits like shape, size, pungency. Further genetic structure analysis at increasing <math>K</math>s suggested the presence of sub-clustering within the three main clusters. A Balkan <i>C. annuum</i> mini core collection was constructed based on the allelic diversity and the inferred genetic structure. As far as the mini core collection captured substantial part of the allele richness, genetic and phenotypic diversity of the analysed 176 non-redundant accessions, while maintaining good representativeness, we believe it will be of high interest to pepper breeders and germplasm conservation specialists.</p>
BG	<p><b>Резюме:</b> Пипера (<i>Capsicum annuum</i> L. ) е една от най-важните зеленчукови култури в световен мащаб. Балканите, включително България, се считат за вторичен център на генетично разнообразие от пипер, особено за <i>C. annuum</i>, където локални форми с различни фенотипове и качества са се формирали в резултат на специфичните агроклиматични условия и традиции в селекционните практики. Оценка на генетичното разнообразие и структура в колекцията от пипер е важен инструмент за селекцията на нови сортове и поддържането на устойчиво земеделие. В това изследване, колекция от 179 образци <i>C. annuum</i>, събрани от различни локации на Балканския полуостров, е генотипирана с помощта на 21 прости повторени последователности (SSR; микросателитни ) маркери. Амплифицирани са общо 146 алела, по-голямата част от които с ниски честоти в извадката ( &lt; 5% ). Средните He, Ho и PIC за 21 SSR локуса в цялата колекция са съответно 0,531, 0,249 и 0,483. Моделният анализ на структурата раздели колекцията на 3 основни клъстера (<math>K=3</math> ), които групират образци с различни плодови признаци като форма, размер, лютивина. По-нататъшен анализ на генетичната структура при увеличаване <math>K</math> предположи наличието на подгрупиране в трите основни клъстера. Въз основа на алелното разнообразие и изведена генетична структура е конструирана Балканска mini core колекция от <i>C. annuum</i>. Тя ще е полезна за селекционерите на пипер и специалистите по опазване и съхраняване на зародишната плазма, доколкото mini core колекцията, обхваща значителна част от алелното богатство, генетичното и фе-</p>

нотипното разнообразие на анализираниите 176 образци, запазвайки представителността на цялата core колекция,

Г.7.1 C. Weider, P. Stamp, **N. Christov**, A. Husken, X. Foueillassar, K. H. Camp, M. Munsch, Stability of cytoplasmic male sterility in maize under different environmental conditions, *Crop Science*, 49:1, 77-84, 2009, ISSN: 0011-183x, DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.12.0694>, Ref IF (1.735-2009), WoS Q2 (Agronomy), SJR (1.215-2009) **Q1** (Agronomy and Crop Science)

EN **Abstract:** Cytoplasmic male sterility (CMS) is a maternally transmitted trait, whereby a plant is unable to produce viable pollen. Studies have revealed that this trait is a tool for enabling efficient and reliable coexistence between genetically modified (GM) and non-GM cultivation by biocontainment of GM maize (*Zea mays* L.) pollen. Maize has three types of male-sterile cytoplasm (T, S, and C), the fertility of which can be restored by nuclear *rf* genes or by interactions with the environment. Twenty-two CMS versions of modern European maize hybrids were evaluated in 17 environments in Switzerland, France, and Bulgaria, with two or three sowing dates, in 2005 and 2006. Stable and unstable male sterility occurred in all three CMS types. T-cytoplasm hybrids were the most stable, while S-cytoplasm hybrids often showed partial restoration of fertility. C-cytoplasm was similar to T-cytoplasm with regard to maintaining male sterility. Climatic factors, especially air temperature, evapotranspiration, and water vapor, during the 10 d before anthesis as well as during anthesis, were correlated positively or negatively with the partial reversion to male fertility of CMS hybrids, indicating an interaction between genetic and climatic factors. This study illustrates that T- and C-cytoplasm in particular open up viable prospects for containing transgenic pollen, especially for Bt-maize.

BG **Резюме:** Цитоплазмената мъжка стерилност (ЦМС) е фенотипен признак, предаван от майката, при която растението не е в състояние да произведе жизнеспособен полен. Нашите изследвания разкриха, че този признак е инструмент за осигуряване на ефикасно и надеждно съвместно съществуване между генетично модифицирани (ГМ) и не-ГМ култури чрез биоограничаване на разпространението на полен от ГМ царевица (*Zea mays* L.). Царевицата има три типа мъжко-стерилна цитоплазма (Т, S и С), чиято фертилност може да бъде възстановена чрез ядрени *rf* гени или при взаимодействие с околната среда. Двадесет и две ЦМС версии на съвременни европейски царевични хибриди са оценени през 2005 и 2006 г. в 17 различни екологични среди в Швейцария, Франция и България, при две или три дати на сеитба. Стабилна и нестабилна мъжка стерилност се наблюдава и при трите вида ЦМС. Т-цитоплазмените хибриди са най-стабилни, докато хибриди с S-цитоплазма често показват частично възстановяване на фертилността. С-цитоплазмата е подобна на Т-цитоплазмата по отношение на стабилността на мъжката стерилност. Климатичните фактори, особено температурата на въздуха, евапотранспирацията и водните пари, 10 дни преди цъфтежа, както и по време на цъфтежа, корелират положително или отрицателно с частичното връщане към мъжка фертилност на ЦМС хибридите, което показва взаимодействие между генетични и климатични фактори. Това изследване илюстрира, че ЦМС и в частност Т- и С-цитоплазмата отварят жизнеспособни перспективи за ограничаване разпрост-

ранението на трансгенен полен, особено при Bt-царевица.

Г.7.2 М. А. Munsch, P. Stamp, **N. K. Christov**, X. M. Foueillassar, A. Husken, K. H. Camp, C. Weider, Grain yield increase and pollen containment by plus-hybrids could improve acceptance of transgenic maize, *Crop Science*, 50:3, 909-919, 2010, ISSN: 0011-183x, DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.03.0117>, Ref IF (2.020-2010), WoS **Q1** (Agronomy), SJR (1.255-2010) **Q1** (Agronomy and Crop Science)

EN **Abstract:** Maize (*Zea mays* L.) Plus-Hybrids are a blend of cytoplasmic male-sterile (CMS) hybrids and unrelated male-fertile hybrids ensuring pollination of the whole stand. Combining potential benefits of male sterility (CMS effect) and allo-pollination (xenia effect), they often outperform the corresponding male-fertile sib-pollinated hybrids in terms of yield. The combining abilities of five CMS hybrids and eight pollinators were investigated in a factorial split-plot design in 12 environments in four countries and two years. The plant material from different breeders represented the three types of male-sterile cytoplasm. Plus-Hybrids increased grain yield, on average, by 10% or more and by up to 20% in specific environments. Three highly responsive CMS hybrids and four generally good pollinators were identified. The Plus-Hybrid effect affected both yield components, CMS leading mainly to a higher number of kernels (KN) and the xenia effect mainly to an increase in the thousand kernel weight (TKW). Despite some differences in the response of the three types of CMS, the effect of the cytoplasm was not significant. While the CMS effect depended strongly on environment, the xenia was consistent in all environments but its extent varied. As well as increasing yield, we can expect that Plus-Hybrids can make a large contribution to the coexistence of transgenic and conventional maize by biocontainment, that is, eliminating or reducing the release of transgenic pollen in *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize or herbicide-tolerant (HT) maize.

BG **Резюме:** Системата Плюс-Хибрид при царевицата (*Zea mays* L.) е смес от хибриди с цитоплазмена мъжка стерилност (ЦМС) и неродствени мъжко фертилни хибриди, осигуряващи опрашването на целия посев. Комбинирайки потенциалните ползи от мъжката стерилност (ЦМС ефект) и кръстосано опрашване (ефект на ксеня), Плюс-Хибридите често превъзхождат съответните самоопрашени мъжко фертилни хибриди по отношение на добива. Комбинативната способност на пет ЦМС хибрида и осем фертилни опрашителя са изследвани във факторен сплит-плот дизайн в 12 екологични условия в четири страни и две години на изпитване. Растителният материал от различни селекционери представя и трите типа мъжко-стерилни цитоплазми. Установено е, че Плюс-Хибридите повишават добива на зърно средно с 10% или повече, стигащи до 20% при специфични екологични условия. Идентифицирани са три силно реагиращи ЦМС хибрида и четири добри опрашители. Комбинираният Плюс-Хибрид ефект влияе и на двата компонента на добива, като ЦМС ефекта води главно до по-голям брой зърна (KN), а ефектът на ксеня (xenia) главно до увеличаване на теглото на хиляда зърна (TKW). Въпреки някои различия в отговора на трите вида ЦМС, ефектът на типа на цитоплазмата не е статистически значим. Докато ефектът на CMS е силно зависим от екологичните условия, ефекта на ксеня се проявява в различна степен при всички изслед-



вани екологични условия. В допълнение на увеличаването на добива, можем да очакваме, че Плюс-Хибридите ще имат голям принос за съвместното съществуване на трансгенна и конвенционална царевица чрез биоограничаване водещо до елиминирание или намаляване на разпространението на трансгенен полен от ГМО (*Bacillus thuringiensis* (Bt) царевица или хербицид- толерантна (ХТ) царевица).

Г.7.3 C. Njontie, X. Foueillassar, **N. K. Christov**, A. Hüsken, The impact of GM seed admixture on the non-GM harvest product in maize (*Zea mays* L.), *Euphytica*, 180:2, 163-172, 2011, ISSN: 0014-2336, 1573-5060, DOI: <https://doi.org/10.1007/s10681-010-0341-6>, Ref IF (1.554-2011), WoS **Q1** (Horticulture)

EN **Abstract:** Recently, the introduction of GM maize in agricultural production in the EU and elsewhere has raised the issue of adventitious presence of GM seeds in conventional seed lots. Adventitious presence may occur in all arable farming, and at any step in the production of seeds or grain, or in processing of harvested product in the food/feed chain. As of today, there are no official thresholds governing the adventitious presence of GM seeds in conventional seed lots in Europe. However, it is assumed that GM admixture in seed lots could have a considerable influence on the level of adventitious presence in the non-GM harvested product. The experiments highlighted in this paper aim at the consequences of adventitious presence of GM maize seeds in conventional seed lots. It is shown for varieties belonging to the same maturity group that the final GM rate (% seeds) in the harvest product is nearly same as the initial seed admixture (% seeds). This corresponds to Hardy-Weinberg expectations. The variation depends mainly on the flowering coincidence, the site and climatic conditions. In cases where the admixed seeds are of different maturity group, the level of cross-pollination in the harvest product is reduced. Furthermore a comparison between the visual GM seed detection and real-time PCR detection was done. It is evident that the result of the real-time PCR detection method has a more variable uncertainty associated with its results than the visual seed testing method. The accuracy of prediction from % GM seed to % GM DNA depends on the reference material used for calibration curves.

BG **Резюме:** Въвеждането на ГМ царевица в селскостопанското производство в ЕС и на други места по света повдига въпроса за случайното присъствие на ГМ семена в партии от конвенционални семена. Случайно присъствие може да възникне във всяко земеделско стопанство и на всеки етап от производството на семена или зърно, или при обработката на събрания продукт във веригата за производство и доставка на храни/фураж. Към днешна дата в Европа няма официални прагове, регулиращи случайното присъствие на ГМ семена в партии от конвенционални семена. Въпреки това се предполага, че ГМ примесите в партидите семена биха могли да имат значително влияние върху нивата на случайно присъствие в не-ГМО реколтата. Експериментите, представени в тази статия, са насочени към последствията от случайното присъствие на семена от ГМ царевица в партии от конвенционални семена. За хибриди, принадлежащи към една и съща група на зрялост е установено, че случайното присъствие на ГМ (% семена) в продукта от реколтата е почти същата като първоначално добавените семена (% семена) в семенните партии. Това отговаря на очакванията според закона на Харди-Вайнберг. Варирането

зависи главно от съпадението на цъфтежа, локацията и климатичните условия. В случаите, когато смесените семена са от различна група на зрялост, нивото на кръстосано опрашване в реколтата се намалява. Освен това беше направено сравнение между визуалното откриване на ГМ семена и откриването им чрез PCR в реално време. Доказано е, че резултатът от метода за откриване чрез PCR в реално време показва по-променлива несигурност на резултатите, отколкото метода за визуално тестване на семена. Точността на прогнозата от % ГМ семена до % ГМ ДНК зависи от референтния материал, използван за калибрационните криви.

Г.7.4 P. K. Christova, **N. K. Christov**, P. V. Mladenov, R. Imai, The wheat multidomain cystatin TaMDC1 displays antifungal, antibacterial, and insecticidal activities in planta, *Plant Cell Rep*, 37:6, 923-932, 2018, ISSN: 1432-203X (Electronic), 0721-7714 (Linking), DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-018-2279-4>, Ref IF (3.499-2018), WoS Q1 (Plant Sci.)

EN **Abstract:** Cystatins are the polypeptides with cysteine proteinase inhibitory activities. Plant cystatins or phytocystatins are known to contribute to plant resistance against insect pests. Recently, increasing data proved that some of the phytocystatins also have antifungal activities *in vitro*. Here, we functionally characterized a wheat multidomain cystatin, TaMDC1, using *in planta* assays. Expression of *TaMDC1* in wheat seedlings is up-regulated in response to methyl jasmonate and salicylic acid, indicating that TaMDC1 is involved in biotic stress responses mediated by these plant hormones. The *TaMDC1* cDNA was integrated in tomato genome and expressed under cauliflower mosaic virus 35S promoter. Four transgenic plants that show high level of the transgene expression were selected by RNA gel blot and immunoblot analysis and utilized to assess biotic stress resistance against the bacterial pathogen *Pseudomonas syringae*, the fungal pathogens *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata*, and the insect pest Colorado potato beetle (CPB, *Leptinotarsa decemlineata*). Detached leaf inoculation assays revealed that the tomato plants expressing TaMDC1 showed high levels of resistance against *P. syringae* and *A. alternata*, and elevated tolerance against *B. cinerea*. Sustainance of *L. decemlineata* larvae to the transgenic plants demonstrated inhibition of CPB larvae growth. Inhibitory activity of TaMDC1 against selected pathogens was also demonstrated by *in vitro* assays with total protein extracted from transgenic tomato plants. Taken together, the presented data suggest that TaMDC1 is involved in a broad spectrum biotic stress resistance in planta.

BG **Резюме:** Цистатините са полипептиди с инхибиторна активност към цистеиновите протеинази. Известно е, че растителните цистатини или фитоцистатини допринасят за устойчивостта на растенията срещу насекоми вредители. Напоследък все повече данни доказват, че някои от фитоцистатините също имат противогъбно действие *in vitro*. В настоящето изследване е функционално характеризирани пшеничен многодоменен цистатин, TaMDC1, чрез *in planta* анализи. Експресията на TaMDC1 в пшеницата се повишава в отговор на третиране с метил жасмонат и салицилова киселина, което показва, че TaMDC1 участва в реакции на биотичен стрес, опосредствани от тези растителни хормони. *TaMDC1* кДНК е интегрирана в генома на домати и е експресирана под контрола на 35S промотор от мозаечен ви-

рус по карфиол. Четири трансгенни растения, показващи високо ниво на трансгенна експресия, бяха избрани чрез РНК гел блот и имуноблот анализ и използвани за оценка на устойчивостта към биотичен стрес срещу бактериалния патоген *Pseudomonas syringae*, гъбните патогени *Botrytis cinerea* и *Alternaria alternata* и колорадски бръмбар (СРВ, *Leptinotarsa decemlineata*). Тестовите за инокулиране на откъснати листа разкриха, че доматиените растения, експресиращи ТаМDC1, показват високи нива на устойчивост срещу *P. syringae* и *A. alternata* и повишена толерантност срещу *B. cinerea*. Храненето на ларви на *L. decemlineata* с трансгенните растения показаха потискане на растежа им. Инхибиторната активност на ТаМDC1 срещу избрани патогени също беше демонстрирана чрез *in vitro* анализи с общ протеин, извлечен от трансгенни доматиените растения. Взети заедно, представените данни предполагат, че ТаМDC1 участва в широкоспектърна устойчивост на биотичен стрес *in planta*.

Г.7.5 Е. Todorovska, N. A. Mhadi, N. Christov, V. Bozhanova, A. Atanassov, Cereal genetics and genomics in Bulgaria—Challenges and perspectives, Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences, 71:2, 143-160, 2018, ISSN: 1310-1331 (print) 2367-5535 (online), DOI: <https://doi.org/10.7546/crabs.2018.02.01>, Ref IF (0.321-2018), WoS Q4 (Multidisciplinary), SJR (0.21-2018) Q2 (Multidisciplinary)

EN **Abstract:** Despite the substantial gain in production, food deficit and poverty are still troubling concern in many regions of the world. Today's agriculture faces numerous challenges, including biodiversity and soil fertility loss, global warming, water availability and diminishing of labour. Genomics technologies in plants provide a major opportunity to address the responsibilities of agricultural production to human society. In the whole history of humankind, plants have been and will continue to be one of the most important resources for economic prosperity, environmental sustainability, healthier foods and medicines. Today's agricultural genomics researchers have many technologies at their disposal. Both array-based SNP genotyping and next generation sequencing are used as a discovery and screening tools to assist in breeding decisions. The objective of the present review paper is to provide an overview of the major challenges facing the global food and agricultural system in the 21st century. The focus will be given to the use of genetics and genomics strategies as most promising tools for cereal improvement in Bulgaria and expanding the research for some specific challenges of climate change (drought, cold and salinity) and their impact on cereal crops.

BG **Резюме:** Въпреки значителното нарастване на производството, дефицитът на храни и бедността все още предизвикват безпокойство в много региони на света. Днешното селско стопанство е изправено пред множество предизвикателства, включително загуба на биоразнообразие и почвено плодородие, глобално затопляне, недостиг на вода и намаляване на работната сила. Геномните технологии в растенията предоставят възможност за справяне с отговорностите на селскостопанското производство към човешкото общество. През цялата история на човечеството растенията са били и ще продължават да бъдат един от най-важните ресурси за икономически просперитет, екологична устойчивост, по-здравословни храни и лекарства. Изследователите в областта на геномиката селското стопанство разпо-

лагат с много нови технологии. Както базираното на хибридизационни чипове SNP генотипиране, така и целогеномното секвениране се използват като инструменти за откриване и скрининг за подпомагане на селекционния процес.

Целта на настоящия обзор е да предостави анализ на основните предизвикателства, пред които е изправена глобалната хранителна и селскостопанска система през 21 век. Фокусът ще бъде съсредоточен върху използването на генетични и геномни стратегии като най-обещаващите инструменти за подобряване на зърнените култури в България и разширяване на изследванията на някои специфични предизвикателства от изменението на климата (засушаване, студ и засоляване) и тяхното въздействие върху зърнените култури.

Г.7.6 I. Tsvetkov, A. Atanassov, M. Vlahova, L. Carlier, **N. Christov**, F. Lefort, K. Rusanov, I. Badjakov, I. Dincheva, M. Tchamitchian, G. Rakleova, L. Georgieva, L. Tamm, A. Iantcheva, J. Herforth-Rahmé, E. Paplomatas, I. Atanassov, Plant organic farming research – current status and opportunities for future development, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32:2, 241-260, 2018, ISSN: 1310-2818 1314-3530, DOI: <https://doi.org/10.1080/13102818.2018.1427509>, Ref IF (1.097-2018), WoS **Q3** (Biology & Biochemistry), SJR (0.39-2018) **Q3** (Biotechnology)

EN **Abstract:** This paper reviews the recent development of the scientific, legislative, economic and environmental aspects of plant organic farming. The impact of organic farming on biodiversity and soil fertility is discussed in comparison with conventional systems. A significant barrier for wide application and future development of organic farming is the existing diversity of national and international policy instruments in this sector. Special attention is paid to up-to-date research techniques that could help solve a number of the problems typically faced in plant organic farming. It is argued that organic farming is still not productive enough to be considered fully sustainable. This underlines the necessity of strong support for more effective implementation of scientific research innovations and improvement of the networking between all stakeholders – organic producers, scientists and corresponding policy makers at the national and international level.

BG **Резюме:** Тази статия представя обзор на най-новото в развитието на научните, законодателни, икономически и екологични аспекти на органичното растениевъдство. Неговото влияние върху биоразнообразието и почвеното плодородие се обсъжда в сравнение с конвенционалните системи. Значително препятствие за широкото приложение и бъдещо развитие на биологичното земеделие представлява съществуващото разнообразие от национални и международни инструменти на политиката в този сектор. Специално внимание е отделено на съвременните изследователски техники, които биха могли да подпомогнат решаването на редица проблеми, обикновено срещани в органичното земеделие. Твърди се, че органичното земеделие все още не е достатъчно продуктивно, за да се счита за напълно устойчиво. Това подчертава необходимостта от силна подкрепа за по-ефективно прилагане на научноизследователски иновации и подобряване на работата в мрежа от всички заинтересовани страни – биологични производители, учени и съответни политици на национално и международно ниво.

Г.7.7	<p><b>N. K. Christov</b>, The role of epistasis and its interaction with environment in fine-tuning heading time in barley, <i>Journal of Experimental Botany</i>, 71:3, 743-746, 2020, ISSN: 0022-0957, DOI: <a href="https://doi.org/10.1093/jxb/erz503">https://doi.org/10.1093/jxb/erz503</a>, Ref IF (5.908-2019), WoS <b>Q1</b> (Plant Sci.)</p>
EN	<p><b>Abstract:</b> Time to heading is an important target in barley breeding programs due to its high correlation with grain yield. Using genetic analysis of an eight-parent barley MAGIC (multi-parent advanced generation inter-cross) population and phenotype data from two semi-controlled and two field environments, <a href="#">Afsharyan et al. (2020)</a> identified a novel flowering-delaying quantitative trait locus (QTL) allele on chromosome 1H. This novel QTL, known as <i>HvHeading</i>, shows strong epistatic interactions with QTL regions overlapping with prominent flowering time genes, including <i>Vrn-H3</i>, <i>Vrn-H1</i>, and <i>Ppd-H1</i>. The results suggest that studying epistasis among QTL loci, and QTL×environments, and epistasis×environments interactions in high-resolution mapping populations (such as MAGIC) is a promising approach for detecting and identifying novel regulators that act in concert with the large effect QTLs to fine-tune the flowering time and yield formation in response to the changing environment.</p>
BG	<p><b>Резюме:</b> Времето до изкласяване е важна цел в селекционните програми на ечемика поради високата му корелация с добива на зърно. Използвайки генетичен анализ на ечемчна MAGIC (междудулейна кръстоска с много родители в напреднало поколение) популация получена от осем родители и данни за фенотип от два частично контролирани и два полски експеримента, Afsharyan et al. (2020) идентифицира нов алел в локус контролиращ количествен признак (QTL), забавящ цъфтежа, разположен върху хромозома 1H. Този нов QTL, известен като <i>HvHeading</i>, показва силни епистатични взаимодействия с QTL райони, припокриващи се с основните гени контролиращи времето на цъфтеж, включително <i>Vrn-H3</i>, <i>Vrn-H1</i> и <i>Ppd-H1</i>. Резултатите предполагат, че изучаването на епистазиса между различни QTL локуси и взаимодействията QTL×среда и епистазис×среда в картиращи популации с висока разделителна способност (като MAGIC) е обещаващ подход за откриване и идентифициране на нови регулатори, които действат съгласувано с основните QTL с голям ефект за фина настройка на времето за цъфтеж и формиране на добива в отговор на променящата се среда.</p>
Г.7.8	<p>S. Tsonev, <b>N. K. Christov</b>, G. Mihova, A. Dimitrova, E. G. Todorovska, Genetic diversity and population structure of bread wheat varieties grown in Bulgaria based on microsatellite and phenotypic analyses, <i>Biotechnology &amp; Biotechnological Equipment</i>, 35:1, 1520-1533, 2021, ISSN: 1310-2818, 1314-3530, DOI: <a href="https://doi.org/10.1080/13102818.2021.1996274">https://doi.org/10.1080/13102818.2021.1996274</a>, Ref IF (1.632-2020), WoS <b>Q4</b> (Biotechnology &amp; Applied microbiology), SJR (0.42-2020) <b>Q3</b> (Biotechnology)</p>



EN

**Abstract:** Determining the genetic diversity and population structure of the modern hexaploid wheat varieties currently grown in Bulgaria is fundamental for selection of genotypes with desirable traits resilient under climatic fluctuations and development of successful crop improvement programmes. In this study, simple sequence repeat (SSR) markers were used to characterize a population of 117 modern wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) from Bulgaria and several Western, Central and Eastern European countries. The genetic diversity was higher in the Western and Central European varieties than in the Bulgarian and the remaining Eastern European ones. Model-based population structure analysis defined 2 sub-populations ( $K=2$ ) dividing the Central and Western European varieties from the Bulgarian ones. Subsequent genetic structure analysis at  $K=3$  revealed an additional separation of the Bulgarian varieties in two distinct sub-populations. The phenotypic diversity among the varieties was evaluated in the fields of Dobrudzha Agricultural Institute, G. Toshevo in North-Eastern Bulgaria for three consecutive years. The distribution of the varieties in the biplot analysis in terms of grain yield and its components revealed differences in their adaptation to the agro-climatic conditions of North Bulgaria according to their geographical origin. These results and the prevalence of specific SSR alleles in the sub-populations suggest distinct adaptive mechanisms to specific agro-ecological regions. The data will be of interest for both breeders and farmers and could serve as a basis for wheat improvement programmes and further association mapping for important agronomic traits expressed under different environmental conditions.

BG

**Резюме:** Установяването на генетичното разнообразие и популационната структура на съвременните сортове хексаплоидна пшеница, отглеждани понастоящем в България, е от ключово значение за подбора на генотипове с желани фенотипни признаци, устойчиви при климатични вариации, както и за разработването на успешни селекционно-подобрителни програми. В това изследване са използвани микросателитни (SSR) маркери за характеризиране на популация от 117 съвременни сорта пшеница (*Triticum aestivum* L.) от България и няколко страни от Западна, Централна и Източна Европа. Генетичното разнообразие в западноевропейските и централноевропейските сортове е по-високо, в сравнение с тези от България и останалите източноевропейски страни. Моделно базирания анализ на популационната структура дефинира 2 подгрупи ( $K=2$ ), които разделят централно-западноевропейските сортове от българските. Последващ анализ на генетичната структура при  $K=3$  разкри допълнително разделяне на българските сортове в две отделни подгрупи. Фенотипното разнообразие между сортовете е оценено в експерименталното поле на ДЗИ, Г. Тошево в Североизточна България в продължение на три последователни години. Разпределението на сортовете в би-плот анализа по отношение на добива на зърно и неговите компоненти разкри различия в адаптирането им към агроклиматичните условия на Северна България според техния географски произход. Тези резултати и разпространението на специфични SSR алели в подгрупите предполагат различни адаптивни механизми към специфични агроекологични региони. Резултатите ще представляват интерес както за селекционерите, така и фермерите, и биха могли да послужат като основа за селекционни програми при пшеницата и бъдещо асоциативно картиране на важни агрономически признаци, проявяващи се при различни екологични условия.

Г.7.9 G. Mihailova, **N. K. Christov**, E. Sarvari, A. Solti, R. Hembrom, K. Solymosi, A. Keresztes, M. Velitchkova, A. V. Popova, L. Simova-Stoilova, E. Todorovska, K. Georgieva, Reactivation of the Photosynthetic Apparatus of Resurrection Plant *Haberlea rhodopensis* during the Early Phase of Recovery from Drought- and Freezing-Induced Desiccation, *Plants* (Basel), 11:17, 2185, 2022, ISSN: 2223-7747 (Print), 2223-7747 (Electronic), 2223-7747 (Linking), DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11172185>, Ref IF (4.658 -2021), WoS **Q1** (Plant Sciences), SJR (0.77-2021) **Q1** (Plant Science)

EN **Abstract:** *Haberlea rhodopensis* is a unique desiccation-tolerant angiosperm that also survives winter frost. As, upon freezing temperatures, *H. rhodopensis* desiccates, the taxon is proposed to survive low temperature stress using its desiccation tolerance mechanisms. To reveal the validity of this hypothesis, we analyzed the structural alterations and organization of photosynthetic apparatus during the first hours of recovery after drought- and freezing-induced desiccation. The dynamics of the ultrastructure remodeling in the mesophyll cells and the restoration of the thylakoid membranes shared similarities independent of the reason for desiccation. Among the most obvious changes in thylakoid complexes, the proportion of the PSI-LHCII complex strongly increased around 70% relative water content (RWC), whereas the proportion of Lhc monomers decreased from the beginning of rehydration. We identified enhanced levels of cyt *b<sub>6</sub>f* complex proteins that contributed to the enhanced electron flow. The high abundance of proteins related to excitation energy dissipation, PsbS, Lhcb5, Lhcb6 and ELIPs, together with the increased content of dehydrins contributed to the preservation of cellular integrity. *ELIP* expression was maintained at high levels up to 9 h into recovery. Although the recovery processes from drought- and freezing-induced desiccation were found to be similar in progress and time scale, slight variations indicate that they are not identical.

BG **Резюме:** Измежду устойчивите на изсъхване покритосеменни растения, *Haberlea rhodopensis* е уникална с това, че оцелява и при замръзване през зимата. Тъй като при замръзване *H. rhodopensis* изсъхва, се предполага, че таксонът оцелява при нискотемпературен стрес, използвайки механизмите си за устойчивост на изсушаване. За да проверим на тази хипотеза, анализирахме структурните промени и организацията на фотосинтетичния апарат през първите часове на възстановяване след изсушаване, предизвикано от воден дефицит и замръзване. Динамиката на ремоделирането на ултраструктурата в мезофилните клетки и възстановяването на тилакоидните мембрани споделя много прилики, независимо от причината за изсушаване. Сред най-очевидните промени в тилакоидните комплекси, дялът на комплекса PSI-LHCII силно се увеличава при около 70% относително водно съдържание (RWC), докато дялът на Lhc мономерите намалява от началото на рехидратацията. Ние идентифицирахме повишени нива на cyt *b<sub>6</sub>f* комплексни протеини, които допринасят за повишения електронен поток. Голямото изобилие от протеини, свързани с разсейването на енергията на възбуждане, PsbS, Lhcb5, Lhcb6 и ELIPs, заедно с повишеното съдържание на дехидрини допринася за запазването на клетъчната цялост. Експресията на *ELIP* гените се поддържа на високи нива до 9 часа след началото на възстановяването. Въпреки констатацията, че

процесите на възстановяване от изсушаване, предизвикано от воден дефицит и замръзване, са сходни по последователност и времева скала, леки вариации показват, че те не са идентични.

Г.7.10 **N. K. Christov**, S. Tsonev, R. Dragov, K. Taneva, V. Bozhanova, E. G. Todorovska, Genetic diversity and population structure of modern Bulgarian and foreign durum wheat based on microsatellite and agronomic data, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 36:1, 637-652, 2022, ISSN: 1310-2818, DOI: <https://doi.org/10.1080/13102818.2022.2116999>, Ref IF (1.762-2021), WoS Q4 (Biotechnology & Applied microbiology), SJR (0.377-2021) **Q3** (Biotechnology)

EN **Abstract:** The genetic variation and population structure of a panel of 90 durum wheat (*Triticum durum* desf.) consisting of 62 varieties and breeding lines originating from two agro-ecological zones in Bulgaria (Northern and Southern Bulgaria) and 28 introduced varieties from South-western, Central and Eastern Europe, and the USA were determined by 34 microsatellite markers (SSR). The genetic diversity in the modern durum wheat was 0.5612 with 6.88 alleles per locus. Model-based population STRUCTURE analysis identified two sub-populations ( $K = 2$ ) separating the South Bulgarian varieties (SP1) from all others (SP2), including South-Western, Central-Eastern European and North Bulgarian ones. Subsequent genetic structure analysis at  $K = 4$  revealed an additional division of each sub-population into two (SP1-2, SP1-4, SP2-1, SP2-3). DAPC analysis and UPGMA dendrogram based on SSR data were in excellent agreement with the Subpopulations defined by STRUCTURE analysis. The Principal Component Analysis (PCA) revealed that among the studied 5 agronomically important traits the correlation between grain yield and plant height was the highest and distinguished 10 varieties and advanced breeding lines from Southern Bulgaria (SP1-2 and SP1-4) as most promising in regard to yield stability. This study showed a good relationship between the genetic and phenotypic population structures according to the division of the genotypes by their agro-geographical origin. It will be useful for both breeders and farmers and could serve as a fundament for durum wheat improvement programs under drought prone environmental conditions.

BG **Резюме:** Генетичното вариране и популационната структура на панел от 90 образци твърда пшеница (*Triticum durum* desf. ), състоящ се от 62 сорта и селекционни линии, произхождащи от две агроекологични зони в България (Северна и Южна България ) и 28 интродуцирани сортове от Югоападна, Централна и Източна Европа, и САЩ са изследвани с помощта на 34 микросателитни маркера (SSR). Генетичното разнообразие в съвременната твърда пшеница е 0,5612, средно 6,88 алела на локус. Моделният анализ на популационната структура идентифицира две подгрупи ( $K = 2$  ) и разделя южно българските сортове ( SP1 ) от всички останали ( SP2 ), включително югозападни, централноизточноевропейски и северно български. Последващ анализ на генетичната структура при  $K = 4$  разкри допълнително разделяне на всяка от първоначално идентифицираните подгрупи на две субструктури ( SP1-2, SP1-4, SP2-1, SP2-3 ). DAPC анализът и UPGMA дендрограмата въз основа на SSR данните показаха отлично съвпадение със субпопулации-

те, дефинирани от анализа на популационната структура. Анализът на основните компонентите (РСА) разкри, че връзката между добива зърно и височината на растението е най-силна сред изследваните 5 агрономически важни признака и отличава 10 сорта и напреднали селекционни линии от Южна България ( SP1-2 и SP1-4 ) като най-обещаващи по отношение на стабилността на добива. Това изследване демонстрира добра връзка между генетичната и фенотипна структура на популацията според разделянето на генотиповете спрямо агрогеографския им произход. Представените резултати ще бъдат полезни както за селекционерите, така и фермерите, и могат да послужат като фундамент за селекционни програми насочени към подобряване на твърдата пшеница за екологични райони предразположени към суша.

Г.7.11 | E. Kumanova, G. Mihailova, E. G. Todorovska, K. Georgieva, S. Tsonev, **N. K. Christov**, Oligo-dT anchored cDNA-SRAP and cDNA-SCoT aided identification of transcripts differentially expressed during the early stages of recovery of resurrection plant *Haberlea rhodopensis* Friv. from freezing-induced desiccation, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 37:1, 2023, ISSN: 1310-2818, 1314-3530, DOI: <https://doi.org/10.1080/13102818.2023.2229450>, Ref IF (1.4-2022), WoS Q4 (Biotechnology & Applied microbiology), SJR (0.32-2022) **Q3** (Biotechnology)

EN **Abstract:** Resurrection plants are a unique group of flora showing an extraordinary ability to survive extreme water shortages. Among them, the Bulgarian endemic plant *Haberlea rhodopensis* Friv. has been used as a model to study the mechanisms underlying desiccation tolerance induced by water and low temperature stress. Although extensive transcriptome data, including two RNAseq experiments, are available for drought induced desiccation and recovery, the gene expression during recovery after freezing-induced desiccation (RAF) remains largely unexplored. In this study we performed a differential screening using a new approach, based on oligo-dT anchored cDNA-SRAP (copy DNA sequence-related amplified polymorphism) and a modified oligo-dT anchored cDNA-SCoT (copy DNA start codon targeted) assays to provide new information on genes involved in the tolerance to low temperature stress and the recovery of *H. rhodopensis*. The putative functions of 19 identified transcript derived fragments were established by searching for homology with known sequences in public databases and the expression of 10 of them during the early stages of recovery was confirmed by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction. Some of the identified genes have known functions in the response to abiotic stress in other plant species including resurrection plants, which confirms the effectiveness of the approach used in the present study. The results of this study will contribute to obtaining new information on the defence mechanisms in the recovery process of *H. rhodopensis*, especially at the early stages of recovery, which is the most vulnerable period for plants.

BG **Резюме:** Възкръсващите растения са уникална растителна група, показваща изключителна способност да оцеляват при екстреман воден дефицит. Сред тях, българското ендемично растение *Haberlea rhodopensis* е използвано като модел за изучаване на механизмите, лежащи в основата на устойчивостта към изсушаване, предизвикано от воден дефицит и нискотемпературен стрес. Въпреки наличието

на обширни транскриптомни данни за индуцирано от воден стрес изсъхване и възстановяване, включително два RNAseq експеримента, генната експресия при изсушаване, предизвикано от замразяване остава до голяма степен неизследвана. В това изследване извършихме диференциален скрининг, чрез прилагане на нов подход, базиран на олиго dT закотвен cDNA-SRAP (Sequence-Related Amplified Polymorphism) и модифицирани олиго dT закотвен cDNA-SCoT (Start Codon Targeted) анализи, които да предоставят нова информация за гените, участващи в толерантността към нискотемпературен стрес и възстановяването на *H. rhodopensis*. Предполагаемите функции на 19 новооткрити фрагмента, получени от транскрипти (TDFs), са установени чрез търсене на хомология с известни последователности в публични бази данни и експресията на 10 от тях, по време на ранните етапи на възстановяване, е потвърдена чрез qRT-PCR. За някои от идентифицираните гени вече са доказани функции, свързани с отговора към абиотичен стрес в други растителни видове, включително възкръсващи, което потвърждава ефективността на подхода, използван в настоящото изследване. Резултатите от това изследване ще допринесат за получаване на нова информация за защитните механизми в процеса на възстановяване на *H. rhodopensis*, особено в ранните етапи на възстановяване, когато растенията са най-уязвими.

Г.8.1	<p><b>N. K. Christov</b>, D. Ilchovska, K. N. Hristov, 8. Chemical mutagenesis, mutation breeding and quantitative genetic analyses of maize mutants: from theory to practice, in <i>Mutagenesis: Exploring Genetic Diversity of Crops</i>, N. B. Tomlekova, N. B. Kozgar and M. R. Wani (Ed.), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, NL, 2014, 2: 169-196, ISBN/ISSN: 978-90-8686-796-7; 978-90-8686-244-3, DOI: <a href="https://doi.org/10.3920/978-90-8686-796-7_8">https://doi.org/10.3920/978-90-8686-796-7_8</a></p>
-------	---

EN	<p><b>Abstract:</b> Large numbers of new varieties in different crops have been developed worldwide using both physical and chemical mutagens. Chemical mutagenesis techniques have been optimized as a promising tool for generating wider desirable variability than classical breeding. However, there are only few examples in the literature describing successful applications of chemical mutagenesis in maize breeding. The present chapter will attempt to fill this gap by describing the approach taken by Maize Research Institute (MRI)-Kneja, Bulgaria. A brief review of the rise, development and applications of chemical mutagenesis, and the phenomenon called ‘seeds ageing during storage’ in maize mutation breeding is a critical retrospection of 1970-1990 research on experimental mutations induction by chemical mutagens and mutation breeding, conducted in Ukraine, USSR and MRI-Kneja, Bulgaria. For the first time, a detailed description of a technology, for induction of mutant variations, affecting quantitative traits and combining ability, their fixation in homozygous state and use in maize breeding programme to develop hybrids is given. This technology is based on the phenomenon called ‘uniformly altered M<sub>2</sub> and M<sub>3</sub> families’ that are stabilized into maize inbred lines as early as in M<sub>4</sub> generation. The technology, known as ‘Reciprocal Recurrent Mutation Selection’ (RRMS), combines traditional ideas of reciprocal recurrent selection with chemical mutagenesis and mutation breeding. It was developed and experimentally tested in MRI-Kneja during the period 1970-2000. Implementation of this technology is illustrated with results on breeding and quantitative genetics of maize mutant inbred lines and their test</p>
----	---



cross hybrids. Applications of Heyman, Griffing and Savchenko methods for assessment of general and specific combining ability (GCA and SCA respectively) are demonstrated using data from mutant inbreds and test-cross hybrids trials. The success of the RRMS technology is further demonstrated by the descriptions of a number of mutant maize hybrids listed in the Bulgarian State Variety List including the first maize mutant hybrid that combines high grain yield with high grain protein content, registered by the official state variety testing authority back in 1980.

**BG Резюме:** Чрез прилагане както на физични така и химични мутагенни фактори са създадени голям брой нови сортове при различни култури по целия свят. Техниките за химически мутагенез са били оптимизирани като обещаващ инструмент за генериране на по-високо желано генетично разнообразие в сравнение с класическата селекция. Въпреки това, в литературата има само няколко примера, описващи успешни приложения на химически мутагенез в селекцията на царевица. Настоящата глава ще се опита да запълни тази празнина, като опише подхода, възприет от Института по царевицата (ИЦ) - Кнежа, България. Краткият преглед на възхода, развитието и приложенията на химическия мутагенез и явлението, наречено „стареене на семената по време на съхранение“ в мутационната селекция на царевица, дава критична ретроспекция на изследванията от 1970-1990 г. върху експерименталната индукция на мутации от химически мутагени и мутационната селекция, проведени в Украйна, СССР и ИЦ-Кнежа, България. За първи път е дадено подробно описание на технология за индуциране на мутации, влияещи върху количествените признаци и комбинативната способност, фиксирането им в хомозиготно състояние и използването им в селекционната програма на царевица за създаване на хибриди. Тази технология се основава на феномена, наречен „еднообразно изменени потомства в  $M_2$  и  $M_3$ , които се стабилизират в инбредни линии при царевицата още в  $M_4$  поколение. Технологията, известна като „Рекурентна Реципрочна Мутационна Селекция“ (РРМС), съчетава традиционните идеи за рекурентна реципрочна селекция с химическия мутагенез и мутационната селекция, е разработена и експериментално тествана в ИЦ-Кнежа в периода 1970-2000 г. Прилагането на тази технология е илюстрирано с резултати от селекцията и количествената генетика на мутантни инбредни линии царевица и техните тесткросни хибриди. Приложенията на методите на Heyman, Griffing и Savchenko за оценка на общата и специфичната комбинирана способност (съответно ОКС и СКС) са демонстрирани с помощта на данни от мутантни линии и опити с тесткросни хибриди. Успехът на технологията РРМС се демонстрира допълнително от описанията на редица мутантни царевични хибриди, включени в Българската държавна сортова листа, включително първия царевичен мутирал хибрид, който съчетава висок добив на зърно с високо съдържание на протеин в зърното, регистриран от официалното държавно сортоизпитване през 1980 г.