

РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за получаване на
образователната и научна степен „Доктор”
научна специалност 01.06.06 - Генетика

Автор на дисертационния труд: **Красимира Недялкова Ташева**

Тема на дисертационния труд: *In vitro* култури при *Rhodiola rosea* L. –
проучване възможностите за размножаване и съхранение на вида и за
продуциране на биологично активни вещества

Рецензент: **Венета Михова Капчина-Готева, доцент, д-р**

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд е написан на 204 страници, в които са включени 33 таблици, 42 фигури и в приложение - 6 таблици. Структурата на дисертационния труд е аналогична на утвърдения модел за докторска дисертация: Въведение; Преглед на литературата; Цел, и задачи; Материал и методи; Резултати и обсъждане; Изводи; Приноси; Литература и Приложение (Пълните резултати от проведения биоинформатичен анализ).

Литературната справка включва 326 заглавия, от които 34 на кирилица и 292 на латиница, като около 30% са от последните години. От литературния преглед личи добрата осведоменост на докторантката за общото разпространение; ботаническа характеристика и биологични особености на *Rodiola rosea* L.; проучване и опазване на ресурсите в България; фармакологично приложение, особености при използване на различни типове *in vitro* култури; биотехнологичен подход за консервация и получаване на вторични метаболити. Особено добро впечатление прави познаването и дискутирането на публикации и на български изследователи по темата на дисертацията, независимо от годината на публикуване.

Значителните промени в състоянието на растителните местообитания през последните години на ценни за фармацевтичната растителни видове, налага създаване и оптимизиране на ефективни системи за *in vitro* регенерация и *ex vitro* адаптация за опазване на редки, застрашени и изчезващи растителни видове. Избраната тема е актуална, а обектът на изследване златен корен (*Rhodiola rosea* L.), е ценен за фармацевтичната вид, включен в Червената книга. Целта на дисертацията е добре формулирана с правилно поставени задачи.

В дисертационния труд е използван достатъчно по обем изходен материал за въвеждане в култура.

Детайлно са разработени схеми за оптимизиране основните фази на микроразмножаване: въвеждане в култура, мултипликация, вкореняване и адаптация *ex vitro*, директна или индиректна регенерация на стъбла, което включва:

- установяване на оптимална стерилизация чрез използване на пълен набор от стерилизанти;

- подбор на експлант – семена, експлант от коренища, върхни и аксиларни пъпки, стъблени и листни експлант;

- хранителна среда – оптимизирани са основните компоненти с цел повишаване на размножителния коефициент, количеството и качеството на синтезираните *in vitro* вторични метаболити, вкореняване и адаптация;

- доказване генетичната идентичност на размножените *in vitro* с донорните растения;

- усвоени и успешно приложени са редица модерни методи за цитологичен и фитохимичен анализ (общо количество на вторични метаболити, антиоксидантна активност, идентификация на основни метаболити чрез спектрофотометрични методи и HPLC);

- за пръв път при *in vitro* размножаване на златен корен са приложени редица биоинформатични методи;

- статистическата обработка е извършена чрез подходящи програми, което осигурява висока степен на достоверност на получените от докторантката резултати.

Според представените в дисертацията резултати е извършена изключително голяма по обем работа, подкрепена от убедителни резултати, представени в добре оформени таблици и фигури. Глава „Резултати и обсъждане” е значителна част от дисертационния труд.

В резултат на проведените обширни и целенасочени изследвания дисертанката Красимира Ташева е получила убедителни резултати. Оптимизирани са основните фази на микроразмножаването. Изпитването на различни стерилизанти е осигурило висок процент на стерилни растения за следващата фаза мултипликация при използване на “свежи” семена (96%) и връхни пъпки (100%). При използване на растителен материал и семена от диви растения са изпитани значителен брой (21) комбинации, но неудовлетворителните резултати насочват изследванията към използване на експланти от *in vitro* растения за индуциране на калусогенез, органогенез, регенерация и ризогенез. Комбинацията между бензиламинопурин и 2,4-Д е най-ефективна за инициация на калусогенез (63-73% в зависимост от приложените концентрации). Установени са добри възможности за дългосрочно култивиране на калусни култури от българския екотип на родиола с високи количества на вторични метаболити, т.н. „long-term” култури. Установено е, че съдържанието на вторични метаболити и антиоксидантната активност в калусни тъкани е по-ниска от регенерантите, но може да се търси оптимизиране.

Основен проблем за възстановяване на златния корен в природата е изключително ниската кълняемост на семената (2-35%). Макар и с потвърдителен характер интересни са резултатите от стимулиращото действие върху покълването на семената на гиберелиновата киселина (до 96.78%). При добавяне на зеатин и ИОК в хранителната среда е установена висока регенерационна ефективност (до 78%) и добър размножителен коефициент с ясно изразен пик през летните месеци. Установен е неочаквано добър ризогенез при варианта с 5 мг/л гиберелинова киселина – над 85%.

Един от важните раздели в дисертацията е адаптация и фитохимично охарактеризиране на растенията – установен е много добър процент на адаптирани растения след едногодишно култивиране на растения в местността Беглика. Установена е идентичност на *in vitro* получените растения с донорните, както и по-високо количество на вторични метаболити в *ex vitro* растенията, в сравнение с *in vitro*, което прави микроразмножаването перспективен метод за набавяне на суровина от родиола.

Критични бележки.

1. Изключително големия обем информация без изписани варианти в таблиците и фигурите затруднява коментирането на получените резултати.
2. Използвани са различни термини – медицински растения, лечебни растения и билки.
3. Използване на растителни фиторегулатори, растителни регулатори, природни и синтетични фиторегулатори – растежни регулатори.

4. Известни неточности: ТДЗ – силен растителен фиторегулатор?, наличие на силния цитокинин 2-IP?

5. Какво разбира под *in vitro* експланти от диви растения?

Докторантката Красимира Ташева за пръв път прилага биоинформационни методи при *in vitro* култивиране на *Rhodiola rosea*. Установени са най-перспективните хранителни среди, което е оригинален принос за намаляване на емпиричната част в областта на *in vitro* изследванията. Приноси едно и две са с потвърдителен характер с практическо значение, но са оригинални за вида *Rhodiola rosea*. Приноси три и четири са оригинални.

Съществен принос на дисертацията е стратегията на докторантката разработката да обхване всички фази на микроразмножаването: от въвеждане в култура, повишаване на размножителния коефициент и количеството на вторични метаболити, до адаптация на растения, което много рядко се среща в това направление (принос с приложно значение за създаване на индустриални плантации или възстановяване на застрашени или изчезващи естествени находища).

Изводите и формулираните приноси отразяват напълно и точно получените резултати в дисертационния труд.

Резултатите от дисертационния труд са обобщени в 6 публикации. Две в научни списания, една от тях с IF 0.915. Две от публикациите са в сборници от научни конференции и две са кратки съобщения и постери от конференции. В 4 от публикациите докторантката е на първо място, в една на второ, което е неоспорим факт за личния принос на докторантката, както в изработването, така и в публикуването на получените резултати.

По публикациите на дисертанката има осем цитата.

За мен Красимира Ташева е перспективен млад учен в областта на растителните биотехнологии.

Авторефератът напълно отразява целта, материалите и методите на работа, получените резултати, изводите и приносите описани в дисертацията.

Заключение.

Дисертационният труд на Красимира Ташева представлява съвременно научно изследване в областта на растителните биотехнологии, в което по подходящ начин са комбинирани методи за *in vitro* култивиране, цитологични, хроматографски и биоинформатични методи.

Дисертационният труд и справката за приносите показват доброто познаване както на българската, така и на чуждестранната литература в научната област на изследването, добре подбрани съвременни и модерни методи. Анализите на получените данни са логични, основани на сериозна статистическа обработка. Получени са приноси с оригинален и потвърдителен характер. Докторантката е изградена като самостоятелен изследовател, необходимо условие за придобиване на образователната и научна степен „доктор”. Всичко това ми дава основание да препоръчам на членовете на журито да гласуват за присъждане на образователната и научна степен „доктор” на Красимира Недялкова Ташева.

05.06.2011 г.

Рецензент:

/доц.д-р Венета Капчина/