

# **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: **Йорданка Александрова Иванова, професор, дбн**

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд е написан на 204 страници, в които са включени 33 таблици, 42 фигури и приложения от 6 таблици. Структуриран е съобразно изискванията и съдържа: въведение, преглед на литературата, цел и задачи, материали и методи, резултати и обсъждане, заключение, изводи, приноси, списък на цитираната литература.

Актуалността на дисертацията е свързана с факта, че се разработват два от интензивно проучваните въпроси на растителната биотехнология – микрочлоналното размножаване и използването на *in vitro* култури като продуценти на биологично активни вещества. Проучванията имат отношение и към екологичните проблеми и по-конкретно с опазването на растение продуцент на ценни за фармацията вещества, каквито са 25% от произвежданите лекарствени препарати, но включено в Червената книга на редки и застрашени растителни видове. Насочените в такъв аспект проучвания дават възможност за получаване на приноси с фундаментален и приложен характер.

Литературният обзор е изграден върху 326 източника, които включват както по-стари основополагащи публикации, така и такива, които отразяват съвременното състояние на проучванията по разработваните проблеми. Публикациите от последните 5 години представляват 28% от всички включени в списъка на цитираната литература. Съдържанието на обзора е тясно свързано с проблемите, които са предмет на проучванията. Вижда се, че дисертантът познава много добре състоянието на проблема и оценява творчески литературния материал.

Целта на проучванията е ясно формулирана. Задачите са конкретно и подробно описани и включват всички основни стъпки за постигане на целта при подобен род проучвания.

Материалите и методите, използвани при разработката на дисертацията, биха могли да бъдат отнесени към три категории. Към първата се отнасят широко използваните такива, свързани главно с оптимизиране на условията за култивиране *in vitro*. Към втората категория могат да се отнесът усвоените и успешно приложени от дисертантката над 10 методи за цитологичен, фитохимичен анализ и за антирадикалова активност. Всред тях има такива, познати повече от половин век, но използвани и сега (например метода за определяне на феноли) както и съвременни високо ефективни методи (като HPLC). Едно от основните биологично активни вещества, салидрозид, е изследвано с два метода – спектрофотометричен и с HPLC. Третата категория са биоинформатичните методи, които са изключително полезни при подобен род проучвания, но до сега не ми е известно да са прилагани в България при златен корен. Интересен, но сравнително рядко прилаган подход е и сравнението, което се прави между семена, регенеранти, диви растения и калусни култури. Общата оценката, която може да се направи е, че използваните материали и методи дават възможност да бъдат постигнати целите и решени задачите, поставени пред дисертанта. Представената статистическа обработка на експерименталните резултати говори за тяхната достоверност.

В резултат на проведените обширни и целенасочени изследвания дисертанката Красимира Ташева е получила значими и убедителни резултати. Оптимизирани са основните етапи в микроразмножаването на *Rhodiola rosea*. При обеззаразяване на връхна пъпка е постигнато 100% обеззаразяване при 100% развитие на експлантите, което за съжаление не е често явление при микрклоналното размножаване. За решаване на втората важна стъпка в микроразмножаването дисертанката включва в опитите си 21 комбинации от експлантите и хранителни среди. В резултат са селектирани най-добрите експлантите и хранителни среди за индуциране на калусогенез, органогенез, регенерация и ризогенез. Постигнат е добър коефициент на размножение и е установено влиянието на сезона. Постигнат е добър ризогенез, като необичайна и за това интересна е ролята на гибберелините. Постигнати са много добри резултати (68%) и при адаптирането на растенията и то при високопланински условия, при които проучванията са много ограничени. Направена е морфологична и цитологична характеристика на растенията регенеранти, с която е доказано сходството с дивия тип. При сравняване на регенеранти и диворастящи растения е установено по-високо съдържание у регенерантите на салидрозид, розарин, розавин, розин, което показва, че получените *in vitro* растения могат да бъдат използвани като суровина във фармацевтиката.

Тази част от проучванията на К. Ташева може да бъде основа за създаване на технологии за микроразмножаване на ценен и изчезващ вид какъвто е *Rhodiola rosea*.

Другата част от дисертацията на К. Ташева е свързана с проучване на възможностите за получаване на биологично активните вещества, които се синтезират в растението с методите и подходите на растителната биотехнология. И в тези проучвания се преминава през обичайните стъпки. Постигнат е сравнително висок процент на калусогенез, бърз растеж на калуса и до 13% сухо вещество. Получени са и „long-term” калусни култури от българския екотип. Установено е, че съдържанието на феноли, флавоноиди и антирадикаловата

активност в калусни тъкани е по-ниска от тази в регенерантите, но може да се оптимизира чрез промени в хранителната среда. Така калусът може да бъде използван също като продуцент на ценни вещества.

К. Ташева е първият български изследовател, който прилага *IN SILICO* (компютърни) методи в биотехнологични проучвания при *Rhodiola rosea*. Чрез него от 110 хранителни среди 13% са определени като най-перспективни, а освен това е получена и допълнителна информация, която липсва в резултатите от биологическите експерименти. При многофакторните изследвания, налагащи се в биотехнологията, прилагането на тези методи би спестило много време и средства и затова този принос на дисертанката трябва да бъде високо оценен. Тези резултати могат да бъдат използвани при разработката на технологии за получаване на синтезираните от растението биологично активни вещества с използването на *in vitro* култури.

Изводите отразяват достътъчно пълно и точно дисертационния труд.

Критични бележки.

1. Липсата на по-пълна информация за вариантите в таблиците и фигурите затруднява възприемането на материала.
2. В извод № 1 би следвало по-категорично да се подчертае най-добрия вариант.
3. На стр. 93 е написано „...тъй като в развиващите се семена съдържанието на гибберелини е високо, но в зрелите семена съдържанието им пада до нула” - не се цитира автор, а собствени данни дисертантката няма.
4. Допуска се известна неточност при някои термини. Например, вместо растежни регулатори се използва растителни регулатори, или растителни фиторегулатори. Вместо *in vitro* култури – клетъчни и тъканни култури.
5. На стр.130 е написано „...витамин С (който поддържа водните части на тялото)”.

Приноси едно и две са потвърдителни доколкото се използват подходи, характерни за този вид проучвания, но са оригинални доколкото са създадени протоколи за вида *Rhodiola rosea*. Приноси три и четири приемам за оригинални.

Във връзка с дисертацията има 6 публикации. Две от тях са в списания, едното от които е с IF 0.915. Две от публикациите са в сборници от научни конференции, от които едната е проведена в Чехия. Две са кратки съобщения и постери от симпозиуми, единият от които се е състоял в Унгария. Ташева е първи автор в четири от публикациите. По публикациите на дисертанката има осем цитата.

Личните ми впечатления от дисертанката са ограничени. За първи път се срещнах с нея на предварителната защита. От начина по който тя представи дисертацията си, от отговорите на въпросите и от разговорите ни при следващи срещи останах с впечатление, че изследванията, представени в дисертационния труд са нейно лично дело. За мен К. Ташева е перспективен млад учен много дълбоко навлязал в проблематиката и с нюх към новото.

Авторефератът вярно и пълно отразява целта, материалите и методите на работа, дискусиата на получените резултати и изводите, описани в дисертацията.

**Заключение.** Представеният ми за рецензиране дисертационен труд е изграден върху богат експериментален материал и третира актуални проблеми с фундаментално и приложно значение. Експерименталният материал е адекватно интерпретиран и с много добра литературна осведоменост. Получени са приноси с оригинален и потвърдителен характер. 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.

31.05.2011

София

Рецензент:

Проф. дбн Й. Иванова