

РЕЦЕНЗИЯ

Върху дисертационния труд на ас. Гургана Кирилова Михайлова, докторант към секция „Фотосинтеза” Институт по физиология на растенията и генетика, БАН за присъждане на образователната и научна степен „доктор” по научната специалност Биологически науки шифър 4.2.(01.06.10 Биохимия)
на тема:

Засушаване на възкръсващото растение *Haberlea rhodopensis* в условия на висока температура и различни светлинни режими

от проф. Диана Христова Петкова, д.б.н, Институт по биофизика и биомедицинско инженерство, БАН

Значение и актуалност на проблема

Световната банка за храни предупреждава , че поради глобалното затопляне , пред което е изправено човечеството е много вероятно да настъпи световна хранителна криза. По настоящем голяма част от човешката популация обитава райони, със сух климат, които се характеризират с високи температури на въздуха и недостиг на вода в почвата. Ето защо създаването на устойчиви сортове културни растения към засушавания е един много актуален момент за избягване на хранителната криза в такива райони и за бъдещото благоприятно развитие на човечеството. Създаването на такива сортове растения изисква провеждането на фундаментални изследвания, които да изяснят интимните механизми за аклиматизация на растенията към неблагоприятни климатични условия и воден дефицит. Ето защо считам, че дисертацията е посветена на един много актуален и глобален проблем, а именно изясняване на молекулните механизми за аклиматизация на растенията към воден дефицит комбиниран с високи температури и промени в интензитета на светлината. Целта е много точно и ясно формулирана и изборът на конкретните задачи чрез решаването, на които да се даде отговор на поставения проблем са много добре подбрани. За провеждане на предвидените изследвания много удачно е използвано като модел възкръсващото растение *Haberlea rhodopensis* – един ендемичен вид за българската флора, за който

независимо от многобройните изследвания проведени до сега все още не са изяснени причините за устойчивостта на това растение при екстремни условия на засушаване. Считам, че поставените задачи за реализиране на целта на дисертационния труд са напълно адекватни и логично следват предвидените изследвания за изясняване на основния проблем залегнал в този научен труд.

Структура на дисертационния труд

Дисертационният труд обхваща 143 стр, от които 2 стр. Увод, 25 стр. Литературен обзор, 2 стр. Цел и задачи, 17 стр. Материали и методи, 49 стр. Резултати и дискусия, 4 стр. Заключение, 2 стр Изводи и 25 стр. Списък на цитираната литература. Дисертацията е оформена отлично като за илюстрация на: класификацията на растенията толерантни към десикация; ареалите на обитаване на изследвания растителен вид; сравнение на структурата на мембраните на устойчивите и чувствителни към засушаване растения при различна степен на засушаване са приложени 4 фиг. Резултатите са илюстрирани с 42 фиг. Съотношението между отделните раздели е добре спазено и отговаря на изискванията за структура на дисертационен труд.

Анализ на дисертационния труд

Литературата е систематизирана в няколко глави. Описани са и са характеризирани местообитанията, произхода и видовете възкръсващи растения. Обърнато е специално внимание на механизмите за устойчивост на растенията към екстремно засушаване на организмово, клетъчно, субклетъчно и молекулярно ниво. Разгледани са и механизмите на защита срещу окислителен стрес, протективната роля на различни молекули и макромолекули като захари, LEA-протеините, нискомолекулните термошокови протеини, неспецифичните липидпренасящи протеини. Отделено е и внимание на процесите на рехидратиране при различни физични фактори поотделно и в комбинация. Обзорът е написан много добре. Отделните глави следват логично една след друга. Трябва да се отбележи, че дисертантката очевидно е запозната със състоянието на проблема и за това

проследявайки литературата тя отбелязва къде има още неизяснени факти въз основа на това да формулира конкретната цел и задачите, които да използва за решаването ѝ.

Литературният обзор е написан ясно и показва критично тълкуване на известните до сега литературни данни. Това говори, че Гергана Михайлова е добре подготвен в теоретично отношение учен. По-голямата част от цитираната литература е след 2005 г., което е доказателство, че авторката познава много добре съвременното състояние на проблема.

Използваният материал е третиран при лабораторни условия с различни физични фактори като температура, светлина, които са много детайлно описани. Прави добро впечатление, че са изследвани и растения от различни местообитания, които се характеризират с различни условия на температура и осветяване и това е помогнало на дисертантката да докаже, че получените данни при изкуствени условия не се разминават от тези при естествени условия.

За изпълнение на поставената цел са използвани съвременни физиологични, биохимични и молекулярно-биологични методи. Всички методи са много подробно описани и могат да бъдат възпроизведени без да се използва допълнителна литература. Считам, че подобрените методики са абсолютно адекватни за решаване на посочените задачи. Многобройните методи, които са използвани показват, че дисертантката е един много добре изграден експериментатор в областта физиология и биохимия на растенията.

В глава Резултати и Дискусия са описани данните от експериментите проведени за решаване на поставените задачи.

А. Засушаване в условията на висока температура

- Наблюдавани са обратими промени в процеса на засушаване и последваща хидратация на ниво цяло растение, органи, клетка, субклетъчни фракции и е доказано, че продължителността на възстановяване зависи от температурата, при която протичат процесите.

- Изследването на фотосинтетичната активност при лабораторни условия близки до тези на естествените местообитания на растението доказва, че се наблюдават промени само в нивото на каротеноидите, което е обяснено с протективните свойства на тези пигменти, обратимо се възстановява количеството на отделения кислород поради слаби промени в броя на кислородотделящите центрове, интегритета на хлороплатните мембрани се запазва. Съществени промени са наблюдавани във фотохимичната активност на ФС2, тъй като протичат процеси на разпрягане на двете ФС и намаление

на активните реакционни центрове. Установени са процеси на регулиране на фотоинхибирането. Доказано, че ФС1 е по-слабо чувствителна на тези стресови въздействия. Молекулно-биологичните експерименти за поведението на белтъците на фотосинтетичния реакционен център на ФС2 и светосъбиращия комплекс са потвърдили характеристиката на *Haberlea Rhodopensis* като хомеохлорофилно растение. Доказано е, че това растение се характеризира с много устойчиви антиоксидантни ензими. Чрез имуноблот анализ е установено, че нискомолекулните термошокови белтъци са много чувствителни към условията на засушаване, при което чрез активация на процесите на посттранслационните модификации се синтезират специфични изоформи за всяка температура.

Б. Изследвана е и чувствителността на фотосинтезата към фотоинхибиране при протичане на засушаването при различни температури.

- Светлинните криви на отделянето на кислорода говорят за активиране на този процес при повишение интензитета на светлината, но тази активация силно зависи от температурата. Доказано е, че в същност тези промени се дължат на регулаторни процеси възникващи в растението с цел предпазване от силния интензитет на светлината. Чрез изследване на алтернативните електронни потоци е установено, че при тези условия тъмнинното дишане преобладава над фотосинтезата, което е защитен механизъм срещу активните форми на кислорода, които биха се образували при евентуална засилена фотосинтеза.

- Друг механизъм за предпазване на растенията от силния светлинен интензитет е наблюдаваната понижена активност на ФС2, увеличението на дела от светлината, която не се използва за фотохимия, а се извършва термална десипация на енергията на възбуждане. Наблюдавано е и понижено адсорбиране на светлина от инфрачервената област. Всички тези активирани процеси са с цел предпазване на фотосинтетичния апарат срещу силния интензитет на светлината.

В. Влияние на светлината в процеса на засушаване.

За да се проучат молекулните механизми на тези процеси и да се докаже, че те съществуват в естествени условия много удачно са използвани растения растящи в различни местообитания характеризиращи се с различен интензитет на светлината.

- Доказано е, че растения събрани от слънчеви ареали се характеризират с по-високо съдържание на малонилдиалдехид. При сенчестите растения са наблюдавани някои различия в количеството на пигментите в сравнение с тези растящи в осветени райони - хлорофилното съдържание е по-високо за разлика от нивото на

каротеноидите , което не търпят съществени различия. Слънчевите растения се характеризират с по-висока фотосинтетична активност и при засушаване се редуцира устичната проводимост с цел регулиране на въглеродния метаболизъм. Ефективността на електронния транспорт през ФС2 е с по-голяма ефективност при слънчевите растения. При засушаване се редуцира нефотохимичното гасене на хлорофилната флуоресценция при сенчестите растения, докато при слънчевите растения се повишава, но тази разлика се губи при силен воден дефицит. При рехидратация се възстановява фотохимичната активност , както на слънчевите така и на сенчестите растения, което показва, че инхибирането на ФС2 е обратимо.

Бих искала да задам няколко въпроса на докторантката:

1. Как може да се обясни запазването на интегритета на тилкоидните мембрани при повишени стойности на прекисното окисление, за което се знае че променя силно структурата на мембраните?
2. Повишението на електролитното изтичане се дължи на промени в организацията на мембранната структура. Чрез какви процеси може да се обясни обратимото възстановяване на структурата на мембраните ?

Основният принос на докторантката е разкриване на молекулните механизми на някои страни от устойчивостта на уникалното растение *Haberlea Rhodopensis* . към екстремни засушавания. Голяма част от получените резултати имат приносен характер, защото са получени за пръв път и задълбочават и дават нови данни за природата на фотосинтетичния апарат на този растителен вид. Искам да отбележа, че дисертацията е резултат от един много логично замислен експеримент.

Изводите са добре оформени, но според мен 1 и 2 извод можеше да бъдат обединени.

Дисертацията е оформена много добре. Срещат се малък брой печатни грешки. Използваните статистически обработки доказват, че получените резултати се отличават със статистическа значимост. Според мен някои фигури биха спечелили ако са представени с цветни криви. като фиг. 19, фиг. 31, фиг 32 .

Резултатите от дисертацията са публикувани в 3 научни статии (две от които в списания с ИФ) и един доклад в пълен текст от международен конгрес, 8 научни форума у нас и в чужбина. Забелязани са и 3 цитата на публикуваните статии.

Авторефератът включва основните резултати от проведените изследвания и напълно отговаря на структурата на дисертацията. Според мен би било по-добре да се

представят всички необходими фигури и да не се дискутират фигури, които са само в дисертацията, а ги няма в автореферата, защото авторефератът е самостоятелен научен труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение искам да кажа, че са получени оригинални резултати за молекулните основи на стабилността на уникалното растение *Haberlea Rhodopensis* към екстремни зашувания публикувани в списания с ИФ и специализирани научни издания. Забелязани са и цитати, което говори за стойността на получените резултати. Поради всичко казано до тук предлагам на членовете на научното жури назначено със заповед No 422/03.05.2012 г. на Директора на Института по физиология на растенията и генетика да присъди на ас. Гургана Кирилова Михайлова научната и образователна научна степен „доктор” по специалност Биологически науки шифър 4.2.(01.06.10 Биохимия).

04.06.2012 г.

Рецензент:

Проф.. Диана Петкова