

РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен “доктор”

Автор на дисертационния труд: Биляна Стоилова Григорова, задочен докторант в ИФРГ – БАН

Тема на дисертационния труд: “Биохимични, физиологични и морфологични промени при пшенични растения под влияние на засушаване, висока температура и тяхната комбинация”

Рецензент: Лиляна Георгиева Гилова, доц. д-р, ИФРГ – БАН

Дисертационният труд на Биляна Григорова обхваща 115 стандартни страници, включително 33 фигури и 4 таблици. Структуриран е в 8 глави (Увод, Литературен обзор, Цел и задачи, Материали и методи, Резултати и обсъждане, Заключение, Изводи и приноси, Използвана литература), с правилна пропорция между тях. Литературният списък съдържа 188 заглавия.

Засушаването, високите температури и комбинацията от тях са все по-често срещани се природни условия, които причиняват големи щети на селското стопанство, тъй като повлияват силно негативно растежа, развитието и добива на растенията. Въпреки, че механизмите на въздействие на тези абиотични стресови фактори и развитите от растенията защитни механизми са обект на дългогодишни изследвания, те са все още ненапълно изяснени. Особено ограничени са познанията за ефекта на комбинираното действие на засушаване и висока температура и отговорите на растенията, в частност на пшеницата, която е сред основните стопански култури. Стремешът към изясняване на стратегиите за оцеляване, към намиране на специфични маркери за толерантност към стресовите въздействия (особено комбинирани) не е самоцелен, той е свързан със създаването на устойчиви сортове, практическото използване на които ще увеличи добивите от важни за изхранване на все по-нарастващото население на планетата ни селскостопански култури. Това определя актуалността и значимостта на дисертационния труд – получените резултати от проведените комплексни изследвания върху влиянието на засушаването, високата температура и тяхната комбинация върху млади растения от два сорта пшеница, различаващи се по своята устойчивост към засушаване, допринасят както за

обогаляване на фундаменталните познания, така и за решаване на важен стопански проблем.

Литературният обзор обхваща 32 страници и отразява основните съществуващи знания по разработваната тематика. Проличава добрата литературна осведоменост на докторантката за установените ефекти на интересуващите я абиотични стресови фактори върху растенията на биохимично, физиологично и морфологично ниво, както и за разнообразните, някои видово-специфични, защитни механизми, които растенията са развили за преодоляване на отделните видове стрес. Особено внимание е отделено на топлинно шоките белтъци – тяхната класификация, вътреклетъчна локализация, структура, основни функции и организацията им в единна функционална мрежа. Този акцент е направен и в самата дисертационна разработка и е уместен, като се има предвид, че за растенията, като неподвижни организми, топлинно шоките белтъци имат решаващо значение за преодоляване на стресовите условия, за адаптиране и устойчивост към стрес.

Въз основа на добрата литературна осведоменост, проявената способност да анализира наличната информация и да забелязва дискуссионните и неизяснени въпроси по проучваната проблематика, Биляна Григорова обосновава и формулира ясно целта на своя научен труд, както и конкретните задачи за постигане на поставената цел.

Безспорно достойнство на дисертационния труд е приложеният комплексен изследователски подход – отговорът на растенията към приложените стресови фактори е проследен на физиологично, биохимично, морфологично и молекулно ниво. Този подход е свързан с овладяване и успешно използване от докторантката на адекватни, многобройни и разнообразни класически и модерни методи.

Логично подредените резултати и тяхното обсъждане са изложени на 41 страници. Резултатите са добре онагледени на 16 графики, 4 снимки, 6 снимки допълнени с графично изразени количествени анализи и 3 таблици. Показан е фенотипът на млади пшенични растения от сортовете Катя и Садово, подложени на засушаване, висока температура, комбинация от двете и след прилагане на възстановителен режим. Проследен и илюстриран е ефектът на трите вида стрес върху биометричните показатели, водния статус на растенията и целостта на клетъчните мембрани. Изследвани са качествени и количествени стрес-индуцирани промени в мезофилната клетъчна ултраструктура на пшенични листа и установените междусортови различия са демонстрирани на три електронно-микроскопски снимки и 3 графики. Въздействието върху информативни фотосинтетични параметри е онагледено

на 7 графики и 2 таблици. Промените в относителното количество на избрани топлинно шокови белтъци и на генните им транскрипти са документирани на 4 снимки на гелове след електрофореза и 1 снимка на мембрани след имуноблот, всяка придружена от графика. Чрез адекватен статистически анализ, за който са използвани съвременни статистически програми и специализиран софтуер е доказана достоверността на получените резултати. Резултатите са убедителни, интерпретирани компетентно, а направената на базата на собствените и на литературни данни дискусия е добре аргументирана и логична.

Придобитите опит и знания са позволили на Биляна Григорова да обобщи резултатите от проведените научни изследвания и да формулира ясно изводите от тях, както и научните си приноси.

В дисертационния труд са направени редица оригинални научни и научно-приложни приноси, по-значимите от които са:

- 1) За първи път е направена сравнителна, комплексна характеристика на физиологични, морфологични и биохимични промени, които настъпват в млади растения от два сорта пшеница под комбинираното действие на засушаване и висока температура. Показано е, че ефектът на това стресово въздействие се изразява в потискане на растежа, нарушаване на мембранната цялост и на хлоропластната и митохондриална ултраструктура, понижаване на общото хлорофилно съдържание, фотохимичната активност на ФСII и скоростта на фотосинтеза. Ефектът е по-силно изразен при приетия за по-чувствителен, в сравнение с устойчивия на засушаване сорт;
- 2) За първи път е направен подробен морфометричен анализ на митохондрии, хлоропласти и пластоглобули в мезофилни клетки на растения от двата сорта пшеница, подложени на комбиниран стрес от засушаване и висока температура, даващ количествен израз на настъпилите в следствие на въздействието промени;
- 3) Установено е, че в сравнение с изследваните биохимични и физиологични параметри, индуцираните от трите вида стрес ултраструктурни изменения най-силно зависят от генотипа (чувствителен и устойчив). Този факт показва, че нивата на промените в мезофилната клетъчна ултраструктура (брой и размер на хлоропласти, митохондрии и пластоглобули и нивата на повредите във фината структура на хлоропластите и митохондриите) могат да служат като надеждни маркери за оценяване на толерантността на даден сорт към определен стрес;

4) Друг важен оригинален принос е установената промяна в нивото на транскрипция успоредно на четири *Hsp* гена (*Hsp* 17.8, *Hsp* 26.3, *Hsp* 70 и *Hsp* 101b) при растения от два сорта пшеница, под влияние на самостоятелно приложени засушаване, висока температура и тяхната комбинация. Показано е, че с поликлонално антитяло срещу α B-кристалин могат успешно да се детектират растителни (при пшеница) smHSPs;

5) Несъмнен принос е разкриването на специфична комбинация от защитни механизми при пшенични растения, подложени на комбинирано въздействие на засушаване и висока температура – повишаване на синтеза на smHSPs и HSP60, намаляване на хлорофилното съдържание, увеличаване на количеството на каротиноидите, както и увеличаване на размера на митохондриите, броя на хлоропластите, броя и размера на пластоглобулите.

В дисертационния труд са направени и редица приноси с потвърдителен характер:

- Показано е, че стресът предизвикан от комбинираното действие на два фактора (в случая засушаване и висока температура) се различава от тези при самостоятелно прилагане на двата фактора и може да се счита за нов вид стрес.

- Потвърден и допълнен с нови експериментални данни е фактът, че сорт Катя е по-устойчив на засушаване от сорт Садово, което има практическо значение за селективното отглеждане на сортовете.

- Получени са нови научни факти, утвърждаващи повишеният синтез на HSPs като един от основните механизми за преодоляване на силните стресови въздействия при растенията. Чрез имунодетекция са установени значително завишени нива на smHSPs, HSP60 и HSP70 при пшенични растения, подложени на засушаване и комбинирането му с висока температура.

- Установено е, че нивата на нискомолекулните HSPs и HSP70 са високи при отсъствие на стрес и в периода на възстановяване след стресови въздействия. Това е доказателство, че шапероновите функции на тези белтъци са необходими в ранните, но и в критични етапи от развитието на пшеничните растения.

- Потвърдено е наблюдението, че при пшенични растения, фотосинтетичните параметри, свързани с газообмена са по-чувствителни и информативни за оценяване ефекта на стресови въздействия върху фотосинтезата, в сравнение с първичните

фотохимични реакции. Доказано е, че това се отнася и за стрес, предизвикан от комбинацията от силен воден дефицит и високи температури;

Намирам за уместно да направя следните препоръки, които се отнасят до текста, но не и до същността на дисертационния труд:

- Извод 9, обобщаващ едни от най-важните резултати с приносен характер се нуждае от по-прецизно формулиране. Добре е още в началото на текста да се подчертае, че тази комбинация от защитни механизми при пшеничните растения се включва само при комбинирано въздействие на засушаване и висока температура. Има несъответствие между посочените в текста проценти и резултатите на фигури 20d и 21b.

- Добре е, да не се употребяват неточни термини и изрази. На няколко места в текста са използвани например, терминът „топлинен” вместо „високо температурен” (стрес/шок/третиране), изразът „дихателна редукция” вместо „намаляване на дишането”.

Дисертационният труд в голяма степен е лично дело на докторантката, което става очевидно след запознаване с публикациите във връзка с дисертацията. Една от статиите е обзорна, публикувана като глава от книга (издателство Nova Publishers), с единствен автор Биляна Григорова. В други 3, отпечатани в международни списания с импакт фактор: *Biologia Plantarum* (IF₂₀₁₁=1.974), *Acta Physiologia Plantarum* (IF₂₀₁₁=1.639) и *Journal of Plant Interactions* (IF₂₀₁₁=0.641), тя е първи автор. Две от публикациите са цитирани до този момент общо от 8 чужди автора или авторски колективи плюс 2 полуавтоцитата, 1 е цитирана в статия на български и чужди автори, като всички забелязани цитирания са в международни издания. Този факт, както и представянето на резултатите на научни форуми у нас и в чужбина (3 устни доклада - на международна и национална конференции и на национален семинар, както и 3 постерни доклада – 2 на международни конференции и 1 на международен конгрес) ги прави добре разпознаваеми в научните среди и е показателно за актуалността на тематичната насоченост на изследванията и значимостта на получените резултати.

Авторефератът е оформен според изискванията и отразява правилно основните резултати и научните приноси на дисертационния труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Считам, че по актуалност на разработваната проблематика, оригиналност, прецизност и качество на проведените изследвания, значимост на приносите за науката

и практиката, дисертационният труд отговаря напълно на изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България и Правилника за неговото приложение, както и Правилника за специфичните условия за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в ИФРГ. Биляна Григорова е ерудиран, логично и аналитично мислещ млад учен, със значителен научно-изследователски опит в областта на растителната биохимия, физиология и морфология и по моя оценка безспорно заслужава да ѝ бъде присъдена образователната и научна степен “доктор”

02.11.2012 г.

София

РЕЦЕНЗЕНТ:

(доц. д-р Л. Гигова)