

Рецензия

върху дисертационния труд за придобиване на образователната и научна степен “доктор” по биология

автор на дисертационния труд: Биляна Стоилова Григорова

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

Рецензент: Нина Тодорова Бакърджиева, професор, доктор на науките, пенсионер

Представения дисертационен труд на Биляна Григорова е добре оформен и структуриран и дава добра представа за задачите и изпълнението на извършените изследвания. Изложението обхваща 100 страници и 33 фигури, на които са представени снимки и графики, понякога в комбинация. Допълнително на 15 страници са посочени използваните литературни източници, общо 190, предимно от чуждестранни автори, които са точно и акуратно посочени. Последователно на около 31 страници е представен литературен обзор, който обхваща публикации на автори, тясно свързани с тематиката на дисертационния труд. Обхваната е информацията за ефекта и характера на стресовите фактори засушаване, висока температура и особено на тяхното комбинирано въздействие. Разгледани са известните данни за възможните отговори на растенията при съответните стресови ситуации, както и механизмите на физиологично и биохимично ниво, които им позволяват да преодолеят вредните последици. Особено внимание е отделено на промените, настъпващи на биохимично и молекулно ниво и по-специално на ролята на топлинно шоките белтъци с тяхните разновидности, което е и един от централните въпроси на разработките на авторката. Внимание е отделено и на промените във фотосинтетичния апарат, настъпващи под влияние на стресовите фактори. Прави впечатление доброто познаване на разработките на цитираните автори и точното им и компетентно интерпретиране. Литературния обзор към дисертационния труд ясно и последователно въвежда читателя към характера и изследователската цел, която Б. Григорова си е поставила. В него се дава добра

основа за представянето и интерпретирането на конкретните резултати в изследванията на дисертантката. На 15 страници са изложени постановката на опитите, използвания растителен обект - два сорта пшеница, както и приложените при експерименталната работа методики. Получените от изследванията резултати са представени, обсъдени и онагледени на 42 страници.

Изследванията в дисертационния труд са посветени на много важен от научна и практическа гледна точка проблем. Съвременното ни е богато на различни стресови фактори в околната среда, на които растенията реагират по различен начин и преодоляват различно. Сушата и високите температури са най-често срещаните между тях, които най-често се срещат в комбинация и нанасят големи вреди и върху растителните видове, обект на селскостопанската практика и имат важно икономическо значение за осигуряване на хранителни ресурси. Това ясно показва актуалността на изследването. В този смисъл разкриването на физиолого-биохимичните и молекулни механизми на реакцията на растенията, в конкретния случай пшеницата, е особено ценно като научна информация и е основа за практическата дейност за преодоляване вредните последици от конкретната стресова ситуация. Проучването – обект на дисертационния труд е дял от изследователската дейност на секцията, ръководена до скоро от проф. дбн К. Демиревска, и може да се каже, че е налице школа, разработваща конкретни аспекти на проблема на стреса при растенията. Това е фактор, който повишава стойността на представения дисертационен труд.

Казаното по-горе е позволило на Биляна Григорова ясно и конкретно да формулира целите и задачите на проведената експериментална работа. Към решаването им се пристъпва последователно и целенасочено. Обектът на изследване и приложените експериментални техники са много добре подбрани. Използвани са както класически за физиологията и биохимията на растенията методики, не загубили стойността си до днес, така и съвременни техники, позволяващи да се достигне до решаване на проблемите на молекулно ниво. Ефектът на стреса, причинен от високата температура, засушаването и тяхната комбинация върху два по своята устойчивост сорта пшеница е проследен в няколко аспекта, което е направено, както личи от изложението, с необходимата

прецизност. Описанието на приложените експериментални техники дава ясна представа за хода на експерименталната работа, като се започне от отглеждането на растенията, взимането на пробите, проследяването на биометричните показатели и последвалите физиолого-биохимични проучвания. Характеризирани са показателите водно съдържание, мембранна пропускливост, електронно микроскопски анализ на клетъчната ултраструктура, промени в белтъците, общо и конкретно на термошоковите белтъци с тяхните разновидности (приложена е едномерна електрофореза на полиакриламиден гел при денатуриращи условия и имуноблотинг). Промените във фотосинтетичния апарат са показани чрез съдържанието на пигменти, флуоресценцията на хлорофил *a* и други. По подходящ начин е проследена експресията на определени видове термошокови белтъци при подложените на стрес пшенични растения. Електронно микроскопските снимки са много ясни и позволяват доброто сравняване на отделните варианти. Описанието на методите на изследване е направено ясно и прецизно, което дава основание да се приеме, че дисертантката ги владее добре и получените данни могат да бъдат обект на представяне и обсъждане, а също и да дадат отговор на поставените за решаване в дисертацията изследователски задачи.

В разглежданата дисертация на Б. Григорова се показва едно задълбочено проучване върху влиянието на три вида стрес върху пшеничните растения, което е обсъдено на различни нива – морфологично, клетъчно, ултраструктурата на клетката, промените във фотосинтетичния апарат и термошоковите белтъци, а също генната експресия на определени по-важни с оглед на проучването представители. Това прави изложените резултати още по-ценни и прави анализа им по-интересен и пълноценен. Сравняването на данните за ефекта на засушаването и високата температура, както и на комбинацията от тях откроява достатъчно ясни различия между вариантите, получени при два различни по устойчивост сорта пшеница с практическо значение. Основателно е да се приеме твърдението, че комбинирания стрес може да се разглежда като отделен стресов фактор. Опитните резултати са представени на графики, таблици и снимки. Дисертантката ги тълкува адекватно и точно. Постепенно и логично се стига до

формулирането на по-важните резултати, направено в раздела “Обсъждане”. Там тя разглежда и обобщава основните резултати от изследванията си. Те са съпоставени с данните на други автори, но тук искам да направя забележката, че е допуснато известно увлечение при цитирането на голям брой автори, което не допринася за тълкуването на собствените резултати. Независимо от това направеното обобщаване насочено води до формулирането на основните изводи и приноси в дисертационния труд.

В изследователската работа на Б. Григорова ударението пада върху два раздела. Единият е този в който се проследяват промените в хлоропластите, митохондриите и пластоглобулите в мезофилни клетки на двата сорта пшеница, подложени на трите вида стрес. Получени са отчетливи резултати, а направеният морфометричен анализ позволява сравнението между опитните варианти да се открие по-ясно. Констатирана е ясна генотипна зависимост в ултраструктурните промени на наблюдаваните между устойчивия на стрес и почувствителния сорт пшеница. Установените по-характерни разлики дават основание на дисертантката да счита, че те могат да се използват като маркери за оценка на стресовата ситуация. В другия раздел се проследява влиянието на трите вида стрес върху протеиновите профили и експресията на избрани класове топлинно шокови протеини. Съществен резултат е показаното повишено количество на HSPs, особено на три от нискомолекулните представители, което аргументирано се тълкува в дисертационния труд като указание за тяхната роля в механизмите на устойчивост към стрес. Тези данни, съпоставени с резултатите за промените във фотосинтетичните пигменти и други физиологични показатели рисуват ясна картина на клетъчните механизми за преодоляването на стреса при засушаване, висока температура и тяхното сложно комбинирано действие. Формулираните от дисертантката изводи и приноси са добре и прецизно представени и отразяват същността на направените изследвания. Самите приноси представят най-новото и оригиналното от тях. Това ми дава основание да ги приема без забележки.

Определено може да се каже, че е представен един стойностен дисертационен труд, представляващ последователно и задълбочено проучване

на стреса при два различни по устойчивост сорта пшеница. Те могат да се определят като доказване с нови средства и съвременни методи на съществен научен проблем. Получените резултати обогатяват познанията ни за механизмите, които растенията използват за преодоляване на стресовите въздействия и дават допълнителна характеристика на самите изследвани видове стрес. Това е важен и актуален проблем на съвременната биологична наука. Изследванията имат и научно-практическа стойност с посочването на маркери на клетъчно и молекулно ниво за преценка състоянието на растенията при стресови ситуации. Тази преценка е от голямо значение за селскостопанската практика.

Резултатите от разработката на проучваната тема – обект на дисертационния труд са публикувани в три статии в международни списания с импакт фактор, а именно *Biologia Plantarum*, *Acta Physiologia Plantarum*, *Journal of Plant Interactions*. Те са в съавторство с 3-5 автори, с участието на ръководителката на дисертантката проф К Демиревска, колеги от секцията по Молекулярна биология на растителния стрес и проф. Фелер от Университета в Берн, Швейцария. Това е полезно сътрудничество, изразено и в изпълнението на два съвместни изследователски проекта – единият финансиран от SCOPES (Scientific Cooperation between Eastern Europe and Switzerland), а вторият от МОН. Трябва да се отбележи, че и в трите статии Б. Григорова е първи автор, което сочи, че тя има определен личен дял при изследванията. Освен това публикуван е и един обзор върху термошоковите белтъци и тяхната роля като шаперони при нормални и стресови условия при растенията в международен сборник, издаден от Nova Publishers, самостоятелно от Григорова. Посочените четири статии по дисертационния труд са публикувани през 2011 година, но вече през 2012 се появяват първите цитати. Те са 11 на брой и са предимно от чуждестранни автори, както и от български автори в съавторства с учени от други страни. Цитатите са отразени в статии и сборник, международни издания с ИФ. Десет от тях посочват две от статиите с участието на Григорова, един от цитатите се позовава на обзорната статия. Това показва наличието на отзвук на представените резултати в научните среди.

Представеният автореферат от Биляна Григорова отговаря на съдържанието на дисертационния труд и може да даде на заинтересувания читател достатъчно добра информация за извършената експериментална работа и получените резултати от изследванията.

Извършеното експериментално изследване на ефекта от засушаването, високата температура и тяхната комбинация върху млади пшенични растения е направено на съвременно ниво, обсъдено е компетентно от дисертантката и дава нови данни към един от основните въпроси на актуалната тема за проучване стресовите фактори при растенията. Централен въпрос на физиологията и биохимията на растенията днес е изясняване все по-дълбоко на механизмите чрез които растенията реагират на стреса и евентуално го преодоляват. От извършената работа проличава, че Биляна Григорова е напълно подготвен специалист в тази област, притежаващ необходимите експериментални умения и способността да обсъжда резултатите и ги съпоставя с литературните източници. С представените публикации и посочените цитати тя напълно отговаря на изискванията в Правилника за реда и условията за придобиване на научни степени в Института по физиология на растенията и генетика при БАН както и на Правилника за прилагане на ЗРАСРБ, правилниците за условията и реда за придобиване на научни степени за заемане на академични длъжности в БАН. Казаното по-горе ми дава основание убедено да препоръчам на дисертантката Биляна Григорова да бъде дадена образователната и научна степен “доктор”.

Рецензент:

(проф. дбн Н. Бакърджиева)