

РЕЦЕНЗИЯ

Върху дисертационния труд за придобиване на образователната и научна степен „доктор”

Автор на дисертационния труд: Туан Ан Чан

Тема на дисертационния труд: „Защитна роля на азотния оксид върху фотосинтезата и антиоксидантния капацитет на грахови растения при кадмиев стрес”

Рецензент: Юлиана Костадинова Марковска, д-р, доцент в Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски”

Тежките метали са естествена съставна част на земната кора и се срещат в различна степен във всички компоненти на околната среда. Минното и индустриално производство, битовото замърсяване, селското стопанство и др. повишават тяхното ниво в екосистемите, а това води до сериозни екологични и здравословни проблеми. Наднормените концентрации на тежки метали в почвите и водите увреждат в различна степен отглежданите растения, понижават добивите от тях, а получената продукция е замърсена. Кадмият е един от най-токсичните тежки метали, който има канцерогенен ефект върху здравето на човека. Независимо, че изучаването на ефектите от въздействието му върху човека, животните и особено върху растенията е особено интензивно, детайлното проучване на молекулярните и биохимични механизми на толерантност и акумулиране на високи концентрации от този тежък метал в растителните тъкани с оглед ефективното приложение на по-голям набор от растения за пречистване на редица замърсени райони и постепенното възстановяване на екологичното равновесие продължава да бъде актуално. Ролята на азотния оксид в качеството на сигнална молекула и неговото влияние върху биологичните функции се проучва усилено едва през последните години. Независимо, че част от физиологичните функции, които изпълнява при растенията са добре известни, остава недостатъчно проучено неговото участие в механизмите на приспособителните реакции на растителните организми към стресови условия.

Темата на дисертационния труд е актуална – с ясна научно-приложна насоченост като се изучава въздействието на кадмия и азотния оксид поотделно и в съчетание върху физиолого-биохимичните реакции на грахови растения, отгледани при хидропонни условия. Получените резултати при разработването на дисертационния труд могат да бъдат сравнени с такива, които се отнасят за реакциите на други растителни видове,

отгледани при подобни условия. Чрез тях се дава ясен отговор за наличието на протекторно действие на екзогенно приложения азотен оксид с цел намаляване токсичното действие на кадмия в ранните стадии от развитието на граховите растения.

Дисертационният труд е написан по установения образец с общ обем 99 печатни стр. като е онагледен с 2 снимки, 12 фигури и 4 таблици, а цитираната литература включва 328 източника.

Литературният обзор (30 стр.) е много подробен. В него се съдържат данни за химичната природа, разпространение, биологични функции и влиянието на кадмия върху растежа и развитието на растенията, фотосинтезата, минералното хранене и защитните механизми, проявявани от растенията за намаляване на кадмиевата токсичност. Подробно е разгледано влиянието на някои растежни регулатори (салицилова киселина, АБК, азотен оксид) в качеството на протектори срещу кадмиев стрес. Тази част от литературния обзор е оформена като самостоятелна публикация в международно списание – *Turkish Journal of Botany*. Във втората част на обзора са представени данни за откриването, природата, биосинтезата на азотния оксид и неговите биологични функции. Тази част от обзора може да бъде по-кратка, като бъдат засегнати ефектите от прилагането му само върху физиологичните функции на растенията. Независимо от това, представената допълнителна информация за влиянието на азотния оксид в качеството на сигнална молекула и при животинските организми е изключително любопитна и дава представа за широката биологична култура на докторанта. Литературният материал е оценен творчески, като са разгледани различни хипотези за участието на азотния оксид в индукцията на защитния отговор на растенията срещу абиотични и биотични стресови въздействия. Втората част от литературния обзор също е публикувана като самостоятелна статия в списание с импакт фактор – *Iranian Journal of Science and Technology*.

Целта и задачите на настоящия дисертационен труд са ясно и точно формулирани. Използван е широк набор от изследователски техники (микроскопски наблюдения, измерване параметрите на газовия обмен, електрофоретични и ензимни методи, спектрофотометрични методи), с чиято помощ се дава отговор за ролята на азотния оксид в защитния отговор, предизвикан от кадмиев стрес.

Разделът „Материали и методи” (7 стр.) дава информация за физиологичната част на опитите – получаване на растителен материал и извеждане на опити с течни хранителни среди. Подробно са описани методите за определяне на основни физиологични и биохимични показатели на стреса – скорост на фотосинтеза, количество на фотосинтетични пигменти, количествено определяне на стресови маркери (водороден пероксид, малондиалдехид, пролин, електролитно изтичане), на ключови за стреса ензимни активности (супероксид дисмутаза, аскорбат пероксидаза, гваякол пероксидаза, каталаза) и са характеризирани изоформите им след разделяне по метода на едномерна електрофореза. Определянето на съдържанието на кадмиеви йони в корени и листа е извършено след киселинна хидролиза на растителния материал с помощта на атомноабсорбционен спектофотометричен анализ. Статистическата обработка е извършена по метода на Student.

Разделът «Резултати и обсъждане» е написан на 17 стр. и съдържа 2 снимки, 12 фигури и 4 таблици.

Заклучението обхваща 3 стр. и са представени 9 извода върху получените резултати.

Считам, че въз основа на получените резултати от приложения изследователски подход могат да се очертаят някои основни научно-приложни приноси:

1/ Установена е концентрацията на кадмий, която инхибира растежа на корените и листата и натрупването на биомаса от граховите растения. Приложените концентрации на натриев нитропрусид в качеството на екзогенен донор на азотен оксид не предизвикват стрес и не увреждат растенията.

2/ Установени са анатомо-морфологичните промени, които настъпват в корените и особено в листата на третираните с кадмий грахови растения и са причина за понижаване на CO_2 асимилацията и транспирацията. Третирането с натриев нитропрусид води до повишаване стойностите на CO_2 асимилацията.

3/ Удачно е направен подборът на стресовите маркери за характеризиране на окислителния стрес, който предизвиква третирането на растенията с кадмий.

4/ Установено е защитното действие на азотния оксид срещу кадмиев стрес, което се изразява в подобрен растеж на корените, листата и тяхната морфология, както и в повишаване стойностите на CO_2 асимилацията и транспирацията.

5/ Установено е, че защитното действие на азотния оксид не се проявява единствено чрез положителното въздействие върху антиоксидантната ензимна система, а и чрез включване на допълнителни механизми на устойчивост на граховите растения към кадмиев стрес. Доказателство за това е повишаването на концентрацията на неговия йон в корените на растенията.

Това дава основание да се предположи, че натриевият нитропрусид може да бъде успешно прилаган в практиката за преодоляване на вредното въздействие на кадмия върху растежа, развитието и фотосинтетичните показатели на грахови растения.

Получени са и са доказани нови факти за обхвата на действие на азотния оксид в качеството на сигнална молекула при растенията. Съдейки по прецизно направения литературен обзор и умелото интерпретиране на получените резултати, съпоставяйки ги с тези на други изследователи, считам, че те са до голяма степен дело на самия докторант. Освен двете обзорни публикации, резултатите от дисертационния труд са включени в други две публикации в списания с импакт фактор – *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences* и *Turkish Journal of Botany* (под печат), където докторанта е първи автор. Забелязани са общо три цитирания на публикуваните литературни обзори.

Авторефератът е изготвен съгласно изискванията и напълно отразява основните положения и научни приноси на дисертационния труд.

Към представеният ми за рецензия дисертационен труд и докторанта могат да бъдат отправени следните забележки и въпроси с цел неговото прецизиране:

1/ Не е приложена статистическа обработка на данните, представени в табличен вид;

2/ В таблица 2 са представени промените в общото количество на хлорофилните пигменти при третиране на растенията с кадмий и азотен оксид поотделно и в комбинация. При третирането с кадмий са установени по-високи стойности на този параметър в сравнение с контролния вариант. Как бихте интерпретирали резултата при положение, че

при това третиране са установени най-ниски стойности на скоростта на фотосинтезата (фигура 7А)?

3/ В същата таблица са представени стойностите на общото количество разтворим белтък. След третиране с кадмий са установени най-високи стойности на този параметър за листата в сравнение с контролата. Какво обяснение бихте дали, сравнявайки с отчетените най-ниски стойности на супероксид дисмутазна, каталазна и аскорбат пероксидазна активности при това третиране?

4/ В таблица 4 са представени стойностите за съдържание кадмий в листата и корените на третирани растения. Правят впечатление високите стойности на кадмий в корените на третираните с 500 μM натриев нитропрусид растения, докато при по-високата концентрация, използвана за третиране количеството на кадмия в корените намалява. На какво се дължи това?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Представен е достатъчен по обем и по дълбочина на изследване експериментален материал. Получени са резултати, които могат да послужат като основа за по-нататъшна разработка и навлизане в още по-големи детайли на изследването. Независимо от факта, че ролята на азотния оксид в качеството на сигнална молекула се изяснява усилено особено през последните години, дисертационният труд предлага достатъчно нови за литературата данни, както във физиологичен аспект, така и в приложен аспект. Публикуваните научни публикации в чуждестранни списания с импакт фактор са с безспорно висок научен рейтинг. Посочените по-горе приноси в голяма степен са лично дело на докторанта. Той е първи автор в три от общо четирите публикации, публикувани в международни списания.

Всичко това ми дава основание да препоръчам на уважаемото научно жури да присъди на докторанта образователната и научна степен «доктор».

6.06.2013 г.

доц. д-р Ю.К. Марковска