

РЕЦЕНЗИЯ

Върху дисертационен труд за **получаване на научната и образователна степен „доктор”**

Автор на дисертационния труд: Туан Ан Чан

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

Рецензент: проф., дбн Лиляна Тодорова Масленкова

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд на редовен докторант Туан Ан Чан е изработен в секция «Фотосинтеза» на Институт по физиология на растенията и генетика на БАН и е по специалността *Физиология на растенията* (шифър 01.06.16). Дисертацията е написана на английски език на 99 печатни страници и е структурирана по класическата схема. Уводът и литературният обзор заемат 33 страници, на 2 страници са обосновани целта и задачите на изследването, разделът «Материали и методи» е изложен на 7 страници, а резултатите и тяхното обсъждане са представени на 27 страници и обобщени в кратко заключение. Илюстративният материал е представен от 12 фигури, 4 таблици и две снимки. Обширната библиографската справка се основава на 328 литературни източника и отразява коректно съвременното състояние на изучавания проблем.

Към материалите по защитата е представен списък от четири статии по темата на дисертацията, публикувани в *Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A: Science* (IF 0.029) – 1; *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences* (IF 0.210) – 1; *Turkish Journal of Botany* (IF 1.991) - 2. Докторантът е първи автор в три от публикациите. Върху два от трудовете по дисертационната тема, които са с обзорен характер, са забелязани 3 цитата.

Дисертационният труд представлява комплексно изследване на въздействието на екзогенно приложен донор на азотен оксид, натриев нитропрусид, върху основни структурни, физиологични и биохимични показатели на стресирани с кадмий грахови растения *с цел* тестване ролята на газообразния фитохормон NO в индуциране на защитни механизми, повишаващи толерантността на растенията към токсичните ефекти на тежкия метал. Изследването е естествено продължение и разширяване на традиционната за секция «Фотосинтеза» тематика, свързана с изучаване на важни както

в теоретично, така и в практическо отношение въпроси за протекторната роля и стрес-сигнална функция на АБК, жасмонова киселина, салицилова киселина и изопрен върху структурата и функционалната активност на фотосинтетичния апарат като стратегия за преодоляване на стресови въздействия на околната среда, в това число и металната токсичност.

Актуалността на темата е добре обоснована от подробния преглед на литературата. Обзорът е разделен тематично на две части, в които е направен аналитичен преглед на съществуващите в литературата данни, отнасящи се до ролята на кадмия и на азотния оксид в растенията. Подробно са разгледани факторите, определящи натрупването на тежкия метал в почвата, поглъщането и разпределението му по органи, биологичните функции и токсичните ефекти на кадмия в растенията. Специално внимание е отделено на ефектите на кадмия върху растежа и развитието на растенията, както и върху структурата и активността на фотосинтетичния апарат. Във връзка с целта на дисертационното изследване е направен задълбочен преглед на съществуващите данни за ефектите на кадмия върху генерирането на активни кислородни форми, индуцирането на стресови белтъци и на предполагаемите механизми на увреждане и адаптация към стресовото въздействие. Втората част на литературния обзор разглежда химичните свойства и биосинтезата на азотния оксид, като поставя акцент върху не достатъчно изяснените въпроси за биологичните функции на този нетрадиционен растежен регулатор, проявяващ двойствена природа. Посочено е, че от една страна газообразната му природа позволява свободна дифузия през мембраните и предполага ролята му на сигнална молекула, осъществяваща връзка между стресове на околната среда и физиологичния отговор на растенията. Същевременно, физиологичните промени при екзогенното прилагане на донори на NO наподобяват тези при стресови въздействия, в съответствие с високата му реактивност и потвърждавайки природата му на силен оксидант.

За изясняване ролята на азотния оксид при преодоляване на кадмиевата токсичност са формулирани *конкретни експериментални задачи*, свързани с детайлно характеризиране на промените в някои структурни, физиологични и биохимични показатели, произтичащи от самостоятелното или в комбинация третиране с 25 мкмол кадмий и две концентрации натриев нитропрусид (500- и 1000 мкмол) към хранителния разтвор на грахови растения в самото начало на развитието им. Предимството на тази експерименталната схема е в доближаване до природните

условия.

Чрез използване на комплексен методичен подход, основаващ се на прилагане на взаимно допълващи се микроскопски, физиологични, биохимични и електрофоретични методи са идентифицирани ефектите на кадмия и донора на NO *върху*: растежа и развитието на третираните грахови растения; анатомията и морфологията на листата и устичния апарат; листния газообмен; промените в съдържанието на някои основни стресови маркери, като пероксиди, малондиалдехид и пролин, степента на електролитно изтичане и в активността и изоформите на антиоксидантните ензими супероксид дисмутаза, пероксидаза, каталаза и аскорбатпероксидаза.

Резултатите са систематизирани във формулираните девет извода, които като цяло интерпретират правилно получените в дисертационния труд експериментални данни. *Приносите* от проучванията по дисертационната тема на Туан Ан Чанса са главно с фундаментален характер, като получените оригинални и потвърдителни научни факти допринасят за разширяване на познанията ни относно ролята на азотния оксид за преодоляване на кадмиевата токсичност и биха послужили като теоретична основа за възможно приложение на донори на NO в практиката.

Като приноси с *оригинален характер* бих открито резултатите от прецизните структурни изследвания на листната анатомия и морфологията на устичния апарат, удостоверяващи защитното действие на азотния оксид спрямо индуцираните от високите концентрации на кадмий негативни влияния и даващи една възможност за интерпретиране на установения стабилизиращ ефект на този фитохормон върху параметрите на листния газообмен – скоростта на CO₂ асимилация, транспирацията и устичната проводимост.

Резултатите от проучването на възможната роля на азотния оксид в антиоксидантната защита на растенията *потвърждават* съществуващото в литературата становище за решаващото влияние на приложените концентрации на донори на NO, вида и възрастта на растенията и разнообразието от биотични и абиотични фактори за проявлението на двойствената природа на азотния оксид като силен оксидант или като ефективен антиоксидант.

Към дисертационния труд имам следните бележки, въпроси и препоръки:

- Обширната литературна справка несъмнено е доказателство за компетентно навлизане на докторанта в темата на изследване. Оформен като две отделни

статии с обзорен характер представеният подробен и аналитичен преглед на литературните данни върху ролята на кадмия и азотния оксид в растенията намира вече заслужено признание чрез посочените цитирания. Много подробности обаче, нямат пряко отношение към целта на изследването и биха могли да бъдат избегнати.

- Има ли проведени изследвания за влиянието на подобрите две концентрации SNP върху параметрите на стресовите маркери при по-ниски стойности на кадмия, където може да се очаква по-добро проявяване на антиоксидантните функции на NO? Добре би било да се представят и концентрационните зависимости на избран от дисертанта най-информативен показател от екзогенно приложения донор на NO. Също считам за по-информативно представянето на стойностите на пигментите на сухо тегло.
- Тъй като не е представена статистическа обработка на данните за електролитното изтичане, предполагам че повишената стойност за контролния вариант е изключение, което води до некоректно тълкуване като понижаване на стойностите при всички варианти на самостоятелно и комбинирано третиране. Това от своя страна поставя под съмнение заключението за подобряване на мембрания интегритет на стресираните с кадмий растения под влияние на азотния оксид.
- Някои от изводите могат да бъдат обединени, например №5 и №8, като една част от заключенията на извод 8 се нуждаят от прецизиране в съответствие с експерименталните данни (пролин, пероксидаза, антиоксидантна система).
- Като препоръка за бъдещи изследвания по тази интересна и перспективна тематика е включването на неинвазивни биофизични техники при изследване на механизмите на стабилизиращия ефект на NO върху фотосинтетичния апарат. Това ще даде допълнителна ценна информация и за ролята на светлинните фотосинтетични реакции. Препоръчително е и включването на флуоресцентните техники за определяне ендогенното съдържание на NO.

Авторефератът съдържа основните резултати и изводи и по обем и съдържание отговаря на изискванията.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценявам положително дисертационния труд на докторант Туан Ан Чан, като считам, че по съдържание и научни приноси той отговаря напълно на изискванията на ЗРАСРБ и приетия от НС на ИФРГ Правилник за неговото приложение. Добрата методична подготовка, задълбочените теоретични знания и натрупания експериментален опит на докторанта в областта на съвременната стресова физиология и биохимия на растенията са отлична предпоставка за успешното му развитие като учен и преподавател в родната му страна. Всичко това ми дава основание убедено да препоръчам на членовете на уважаемото Научно жури да присъди на **Туан Ан Чан**, образователната и научна степен „**доктор**”.

25.06.2013 г.

София

Рецензент:

(проф. дн Л. Масленкова)