

СТАНОВИЩЕ

Върху дисертационния труд за придобиване на образователната и научна степен „Доктор” – професионално направление 4.3. Биологични науки (научна специалност 01.06.06 „Генетика”)

Автор на дисертационния труд: гл. ас. Мария Иванова Петрова, в Институт по физиология на растенията и генетика, БАН

Тема на дисертационния труд: **“Биотехнологични подходи за размножаване, съхраняване и получаване на биомаса от hairy roots при *Arnica montana* L.”**

от доц. д-р Марина Станилова, Институт по биоразнообразие и екосистемни изследвания, БАН

Темата на дисертационния труд на Мария Петрова е актуална, насочена към преодоляване ресурсния дефицит на вида *Arnica montana*, включен в списъка на застрашените лечебни растения в Европа (приложение на Резолуция №338/1997 на Европейския съюз) чрез приложение на съвременни биотехнологични методи. Целта на разработката е ясно дефинирана, за изпълнението ѝ са определени адекватни задачи. Методологията е ориентирана към създаването на две технологии – от една страна, за ускорено *in vitro* размножаване и култивиране на *Arnica montana* като предпоставка за интродуциране на лечебния вид в някои планински райони на България, от друга страна за получаване на бързорастяща коренова биомаса като източник на ценни метаболити. В тази връзка са приложени различни *in vitro* техники: ускорено микроразмножаване, калусогенеза от листни експлантати с последваща индиректна органогенеза и регенерация на цели растения, временни имерсионни култури (TIS), *in vitro* вкореняване, *ex vitro* адаптация и аклиматизация при планински условия, индуциране на бързорастяща култура от нетипични корени (hairy roots) чрез трансформация с *Agrobacterium rhizogenes*; изпитани са многобройни агарови и течни хранителни среди с различен състав, съдържащи различен въглехидратен източник и растежни регулатори в различни комбинации и концентрации, подходящи за бързо нарастване или за дългосрочно съхраняване на селектирани клонове при забавен растеж. Обемът на експерименталната работа е впечатляващ, включен е и фитохимичен анализ (спектроскопски, GC, GC/MS) за количествено определяне на сескитерпенови лактони и идентифициране на някои компоненти в *in vitro* култури и в *in vivo* растителен материал, както и PCR анализ на трансгенни корени. Достоверността на резултатите е гарантирана чрез статистическа обработка на данните с one-way ANOVA анализ.

Поставените задачи са изпълнени и целта е изцяло постигната. Определени са оптималните условия на всеки етап от проучването, като са сравнени и изследваните произхода (Украйна, Германия и Австрия). Резултатите са убедителни, представени в табличен вид или графични фигури и богато илюстрирани със снимков материал.

Значимостта им е безспорна, а приложението им би могло да допринесе за опазване на вида и интродуцирането му в България. Дискусията и големият брой цитирани източници показва отлично познаване на литературата по темата. Изводите са коректно направени.

Посочените 4 приноса са с оригинален характер: За първи път в България е създадена цялостна технология за ускорено микроразмножаване, регенерация чрез индиректен органогенезис, *ex vitro* адаптиране и аклиматизация при планински условия на застрашения лечебен вид *Arnica montana*. Разработен е протокол за *in vitro* съхраняване на ценни клонове в условия на бавен растеж, при субкултивиране през шест месеца. Селектиран е бързорастящ трансгенен клон hairy roots (TR4), продуциращ флавоноиди, фенолни киселини, органични киселини, захари и др. метаболити, подходящ за мащабно култивиране в биореактор. Размножението чрез *in vitro* методи растителен материал е с доказано по-високо съдържание на сескитерпенови лактони в листата и цветовете в сравнение с това на конвенционално размножените растения.

Публикуваните в периода 2011-2013 научни трудове във връзка с дисертационния труд се отличават с високо качество, като три от тях са в списания с IF и един в сборник от международен симпозиум в чужбина. В потвърждение на това са и забелязаните 7 цитата на една от публикациите. Докторантката е участвала и в три международни и един национален научен форум. Авторефератът отразява основните положения и научните приноси на дисертационния труд.

Като препоръка може да се отбележи да се използват утвърдените термини регенерационен потенциал, размножителен коефициент, растежен индекс, а не да се заменят с начина на отчитането им, особено в анкетите на таблиците (% експлант с развитие, % индуцирани калуси, среден брой регенеранти на експлант, респ. среден брой пъпки на калус и т.н.). Би било добре при оценката на растежа на кореновите култури под влияние на различни въглехидратни източници да се сравни и процента на сухото вещество. Тези забележки в никакъв случай не намаляват стойността на труда.

В заключение, безспорно дисертационният труд отговаря на всички изисквания, отличава се със задълбочени и коректни изследвания и ясен изказ, показва висок професионализъм, а стойността му е както от научен, така и от научно-приложен характер, поради което препоръчвам на членовете на уважаемото научно жури да оценят по достойнство и да присъдят на гл. ас. Мария Иванова Петрова образователната и научна степен „Доктор” по научно направление 4.3. Биологични науки (научна специалност 01.06.06 „Генетика”).

София, 20.11.2013г.

Подпис:
(доц. д-р М. Станилова)