

# Рецензия

върху

дисертационен труд за придобиване на образователната и научната степен доктор по професионално направление: 4.3. "Биологически науки", научна специалност: шифър 01.06.06. "Генетика"

Автор на дисертационен труд: **Марияна Стамова Георгиева**, докторант в Институт по Физиология на растенията и генетика, БАН

Тема на дисертационния труд:

## **"Молекулярно-цитогенетична характеристика на геномния интегритет при ечемика"**

**Рецензент:** **Атанас Иванов Атанасов**, академик, дн

Съвместен Геномен Център при Софийски Университет "Св. Климент Охридски"

Дисертационният труд на Марияна Георгиева е написан на 157 страници и е структуриран правилно, като включва разделите: увод (2 стр.); литературен обзор (30 стр.); цел и задачи (1 стр.); материал и методи (17 стр.); резултати и обсъждане (67 стр.); изводи (1 стр.); приноси (1стр.); литература (26 стр.), публикации по темата на дисертацията (2 страници) и приложение (5 страници), използвани съкращения на кирилица и латиница на 2 страници. Дисертационната работа е добре балансирана между отделните глави, като съвсем нормално е даден приоритет на глава V - "Резултати и обсъждане". Прави добро впечатление представянето на т.н. акценти или малки изводи съобразно съответните части на глава "Резултати и обсъждане". Броят на използваните литературни източници е 322, а небалансираното на пръв поглед отношение на броя на таблиците - 5 към фигурите - 60, е обяснимо свързано с естеството на дисертацията, изложените методи и използваните материали, както и дискусиата върху получените резултати.

Актуалността на разработваната в дисертационния труд тема е свързана с изследването на интегритета или цялостта на генома на ечемика неговата пластичност и възможност за репарации в контекста на използваните за целта линии и

генетични форми. Това са много важни характеристики на генома на ечемика, както от практическа, така и от еволюционна гледна точка. Изследването на признаци, имащи директно отношение към адаптивността на това растение е от изключително важна стопанска стойност, като оценка на чувствителността към взаимодействие с различни фактори на средата, така и възможността за възстановяване посредством различни рекомбинационни механизми.

Поддържането на геномната цялост е от съществено значение за организма, за неговото оцеляване и за предаване на наследствените характеристики в в поколенията. Геномна нестабилност е причинена от повреди в ДНК, грешки по време на процесите на репликация или по време на деленето на клетките. Това води до възникването на хромозомни аберации и генни мутации. Комбинирането на различни молекулярно-цитогенетични методи, както и използваните подходи за статистически анализ позволяват на докторантката да осъществи поставената цел в представения дисертационен труд, използвайки богат растителен материал от реконструирани кариотипове, притежаващи различни реконструкции.

Литературният обзор се състои от 6 раздела, посветени, съответно на: ядрения геном и организацията на ДНК в ядрото. Подробно е разгледана темата за геномния интегритет и факторите, водещи до геномна нестабилност, видовете репарационни механизми при растенията и някои основни подходи за анализ на поставената проблематика. В тази част от дисертационния труд ясно се виждат солидната теоретична подготовка и любознателността на докторантката. Тя разглежда много задълбочено, и с вещина проблема за геномния интегритет при еукариотите и в частност, при растенията, както и факторите, които могат да доведат до геномна нестабилност.

Целта и задачите на дисертационния труд са формулирани точно и ясно и са свързани с изследване влиянието на радиационно индуцирани повреди върху структурната организация и интегритета на генома на използваните реконструирани кариотипове ечемик.

Използваните методи са напълно адекватни на поставените задачи. Това се отнася както до експерименталната: молекулярно-цитогенетична част, така и до статистическите методи за анализ на получената информация. Използваният растителен материал е от интерес не само за конкретната дисертация, но има и добра практическа значимост и като пряко използване, и като продължение и

утвърждаване дългогодишната изследователска и селекционна работа в Института по Генетика на БАН. Използването на методи и протоколи основани на биологически знания с различен характер като подготовката на растенията, установените в такива изследвания цитогенетични методи на анализ посредством флуоресцентна *in situ* хибридизация (FISH) и базираните на този анализ последващи стъпки, описани в експерименталната част глава материал и методи методики, като анализ на изображенията посредством флуоресцентен микроскоп, третиранията с блеомицин, детерминираното облъчване с гама радиация, тестването за жизнеспособност, използването на молекулярни методи, подготовката и провеждането на кометния анализ говорят за не само за пълнотата на експерименталния дизайн на работата, но и за пълноценната подготовка и добрите знания на докторанта като биолог. Несъмнено добра оригиналност на работата дават различните използвани статистическите методи за анализ на експерименталните данни. Тук може да се подчертае както развитието и придобиването на знания и умения от докторанта в тази насока, така и на качествената работа на втория научен консултант. Всички тези добре премислени, удачно и оригинално използвани методи, протоколи и начини на анализ представляват една добре завършена и композирана методологическа част на работата, в която е много трудно да се намерят някакви слаби места.

Глава "Резултати и обсъждане" е най-подробна и най-голяма по обем, което и осмисля до голяма степен личното отношение и работа на докторантката в дисертационния труд. Първата част от тази глава представлява описание на молекулярно-цитогенетичен анализ на ДНК-локусите на повторените последователности GAA, Afa family, HvT01, pTa71 в стандартния кариотип, две транслокационни, една дупликационна и две мултиреконструирани линии на ечемика (*Hordeum vulgare L.*). Проведената флуоресцентна *in situ* хибридизация в митотични хромозоми ясно представя позицията на обменните локуси в изследваните линии. Направено е детайлно описание на наблюдаваните сигнали във всяка хромозома. Проведени са експерименти с използване на pTa71 проба, хибридираща с рибозомните гени. Резултатите от тези анализи представят типичните хибридизационни локуси, както и някои допълнителни сигнали. Този раздел от резултатите е описан и дискутиран подробно и смислено, с богат илюстративен материал.

Във втората и третата части от тази глава на дисертационния труд са представени резултатите от молекулярно-генетичния анализ на една транслокационна и дупликационна линия ечемик. Докторантката провежда кометен анализ при различни условия и определя количеството на двойноверижните и еднорежижните скъсвания, индуцирани от радиация с висок и нисък линеен пренос на енергия и след третиране с радиомиметика блеомицин. В този случай тя прави съпоставка от една страна за количеството на индуцираните повреди при изследваните линии от различните агенти, а от друга за типа на индуцираните скъсвания. Въз основа на изследванията си докторантката показва, че дупликационната линия губи репарационния си потенциал. Изказаното твърдение е в подкрепа и на други изследвания. Проведени са и експерименти, проследяващи възстановяването на повредите в кратки репарационни интервали при блеомицина, които са с изключително ценност.

Четвъртата част от главата засяга подробно приложение на статистическите подходи и анализ на статистическото разпределение при кометния анализ. Използването на обобщените линейни модели е подходящ и логичен статистически подход за анализ на направените експериментални изследвания. Могат да се кажат доста добри думи за нововъведенията при използването на различни модели, дискусиата на получените резултати и интересния подход за взаимно сравнение на резултатите от различни модели. Най-важното е, че използваните статистически подходи допринасят изключително много за доброто представяне на резултатите от работа и обясняването на експерименталната хипотеза. Не трябва да се отминава и фактът, че в това отношение докторантката е придобила определена самостоятелност и нови знания.

Определено може да се твърди, че цялата работна последователност на изследванията и анализите на работата създават нова форма на изследванията в областта, потвърждават се важни факти и се доказват нови такива.

Изводите от дисертационния труд (5 на брой) са формулирани точно и ясно и в пълно съответствие с получените резултати. Докторантката посочва 4 приноса, 3, от които имат оригинален характер. Те се отнасят до: адаптирането на метода кометен анализ, установяването на бърза възстановителна способност на индуцирани от блеомицин скъсвания и подробен анализ на статистическото разпределение на

параметъра % ДНК в опашката и използването на статистическия апарат на обобщените линейни модели за доказване на достоверност на изследванията.

Във връзка с дисертацията докторантката има публикувани три статии, отнасящи се до различните раздели в дисертационния труд, две от които са в *Biotechnol&Biotechnol.Eq.* с IF 0.7 и още една в *Environmental and Molecular Mutagenesis* с IF 2.8. И в трите публикации докторантката е водещ автор. Публикационната дейност е отразена много прецизно.

Авторефератът е написан съобразно изискванията и дава пълна представа за направеното и постигнатото в дисертационния труд.

Прави приятно впечатление, че активното участие на докторантката в шест международни и два български проекта, за което се съди и по нейната публикационна дейност. Допълнително научните ѝ познания в експерименталните области отразени в дисертацията се обогатяват, в резултат на двете специализации в Института по Селско Стопанство, Мартонвашар, Унгария, чиято научна дейност аз имам честта да познавам отблизо и който е един от водещите научни организации в тази област в Централна и Източна Европа.

Получените резултати от докторант Марияна Георгиева до голяма степен представляват ново продължение и дават нов импулс за продължаване работата на секцията "Молекулярна генетика" в Института по Генетика и Физиология на Растенията при БАН, чиято работа аз познавам от много години. Още по-доброто следствие от този изследователски процес е продължаването на работата на докторантката в контекста на формираните направления в дисертацията, в качеството си на мотивиран и знаещ изследовател. Това несъмнено има своето значение за дисеминацията и приложението на използваните методи и получените резултати от работата.

Като главни въпроси към предложения ми за рецензиране дисертационен труд могат да се отнесат:

- дефинитивното използване както на методите за анализ, така и на изследваните генетични форми в бъдеща изследователска работа и практическо им приложение;

- коментар на възможностите за проектно развитие на този несъмнено интересен труд в контекста на вътрешно и международно сътрудничество;

- с какво може да се допълни развитието на работата от гледна точка на съвременните биотехнологии и методи за геномен анализ.

Като техническа забележка към представеният ми за рецензиране труд бих могъл да отнеса някои аспекти на оформлението на дисертационния отнасящи се до композитивността на фигурите и обясненията към тях. От лексическа гледна точка езикът на дисертацията е изчистен и почти няма непреводими на български чуждици. Труд е извършено старателно и на добро ниво, но са допуснати и някои пропуски. Навлизането на чуждици в така наречения "научен български език" особено, когато се отнася за думи от специалната научна терминология приемам като нормален процес, но все пак ми се струва, че на места езикът може да се изчисти.

Имайки предвид написаното от мен дотук в тази рецензия, както и определените ми лични впечатления от внимателното прочитане на текста на дисертационния труд, без всякакво съмнение и с огромно удовлетворение предлагам на уважаемото научно жури да бъде присъдена научната и образователна степен доктор на Марияна Стамова Георгиева.

София 05.XII.2013

**академик Атанас Ив. Атанасов**