

Рецензия

върху дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен доктор по научна специалност Биологически науки - Биохимия

Автор на дисертационния труд: Веселин Атанасов Стойчев, ИФРГ, БАН

Тема на дисертационния труд: „Белтъчни промени при заблацияване на бяла (*Trifolium repens* L.) и червена (*Trifolium pratense* L.) детелина”

Рецензент: проф. д-р Мариела Константинова Оджакова-Баитошева, Биологически факултет, Софийски Университет „Св. Климент Охридски”

Обща характеристика на дисертационния труд.

Дисертационният труд е написан на 99 страници, илюстриран е с общо 22 фигури и 4 таблици. Трудът е разпределен в 9 раздела: Използвани съкращения – 1 стр.; Въведение – 2 стр.; Литературен обзор – 34 стр.; Цел и задачи – 2 стр.; Материали и методи – 10 стр.; Резултати – 36 стр.; Дискусия – 11 стр.; Изводи и приноси – 2 стр.; Използваната литература включва 166 източника, от които повече от половината са от последните десет години. Структурата на дисертацията съответства на изискванията за придобиване на образователната и научна степен „Доктор”.

В дисертационният труд при описанието на различните аспекти на заблацияването в литературния обзор са включени три фигури. Три фигури са използвани като илюстративен материал в раздел „Материали и методи”, а получените резултати са визуализирани с 16 фигури и 4 таблици.

Значение и актуалност на проблема

Представеният за рецензия дисертационен труд разглежда един интересен проблем с важно значение както от икономическа, така и от екологична гледна точка. Дисбалансът на климатичните условия заедно с индустриализацията и антропогенната дейност предизвикват заблацияване на огромни площи, което от своя страна води до сериозни загуби за селското стопанство в световен мащаб, както и до нарушаване на естественото биоразнообразие (растително и животинско). Най-засегнати от преоводняване са тревистите фуражи - важни както за зърнопроизводството, така и за животновъдството. Стресовите фактори, в това число и заблацияването, предизвикват промени в редица физиологични и биохимични процеси в растенията (нарушения във фотосинтетичния апарат, хипоксия, аноксия и др.). Метаболизмът при растенията се променя в отговор на стреса, като най-общо те

преустановяват натрупването на суха маса, променят и намаляват синтеза на белтъци до нива нужни само за поддържане на жизнените им функции. Възстановяването на метаболитните функции след прекратяване на влиянието на преоводняването не става изцяло. По тази причина насочените изследвания на стресови белтъци и промените им в условия на стрес и възстановяване, и сравнителният им анализ при различни сортове фуражни растения е както с фундаментално значение за изясняване на динамиката на метаболизма им, така и с икономическо приложение в селското стопанство за оптимизиране на насажденията в терените, застрашени от заблацияване.

Изборът на детелината (бяла (*Trifolium repens* L.) и червена (*Trifolium pratense* L.) за обект на изследванията в настоящия труд е удачен, тъй като тя е сред растителните видове, подходящи като култури за засяване при биоремедиацията на различни терени – било то ливадни или земеделски площи. Някои видове детелини имат и повишена устойчивост при заблацияване, а и са на водещи позиции по хранителна стойност сред тревните фуражи. Всичко това ги прави изключително подходящ модел за изучаване на механизмите на толерантност и отговор на стреса при заблацияване, като предоставя и перспектива за устойчиви фуражи отговарящи на принципите на екологичното равновесие и биоземеделieto.

Анализ на дисертационния труд

Въведението насочва към актуалността и значимостта на проблематиката, посочвайки основни характеристики и негативни ефекти на заблацияването като се акцентира върху растителните видове. Направена е и препратка към настоящото изследване и неговата значимост.

Литературният обзор е разделен на 5 глави с подзаглавия, което много подпомага логичната връзка между различните подтеми при прочит.

Описан е подробно и целенасочено процеса на заблацияване и неговите негативни инфраструктурни, екологични и биологични ефекти. Дадени са и възможностите за борба и превенция срещу него.

Детайлно са описани двата вида детелини използвани като експериментални обекти в изследването.

Подробно са дадени основните видове протеази с тяхната биохимична характеристика, функционално значение и локализация в растителните клетки, както и регулацията и контрола върху тяхното действие.

Считам, че литературният обзор е изчерпателен, последователен и целенасочен, написан стегнато и с професионализъм. Нямам забележки и въпроси.

Цел и задачи.Целта на дисертацията е формулирана ясно и за постигането ѝ са поставени 5 конкретни задачи.

Разделът „**Материали и методи**“ включва пълно описание на използваните материали и методи, което позволява възпроизвеждане на експериментите без необходимост от допълнителна методична литература. Личи, че докторантът прилага с лекота широка гама съвременни и актуални биохимични, молекулярно биологични и други техники, което говори за добрата методична подготовка при изграждането на изследователския потенциал на докторанта. Считам, че подбраните методики са подходящи и адекватни за анализите в изследването. Силно положително впечатление прави цитирането на методи и техни модификации където е необходимо, както и детайлното описание на използваните техники.

Раздел „**Резултати**“ е много добре структуриран в няколко глави и получените данни са целенасочено и систематизирано описани. Очевидно е, че експериментите са коректно планирани, проведени и целящи решаване на поставените задачи, анализите са извършени задълбочено и с разбиране от докторанта. Проведени са разнообразни и комплексни изследвания и са получени много и съществени резултати. Изложението е стегнато и ясно.

По-интересните и значими резултати могат да се обобщат както следва:

Сухата листна маса се повишава при заблätяване на всички растения, като при възстановяване няма големи разлики. Значително намаляване на общите разтворими белтъци след заблätяване се наблюдава само при червената детелина.

Наблюдаван е съществен спад в съдържанието на каротеноиди и хлорофил *a/b* в резултат на стреса, а възвръщане на контролните нива е налично само при бялата детелина.

Не е наблюдавано значително влияние на заблätяването върху максималната ефективност на ФСII. По-силно изразени разлики (намаляване) има при квантовата ефективност на фотохимията на ФСII, но със статистическа достоверност само при червената детелина.

Значително се повишава нефотохимичното гасене на флуоресценцията при стресирани растения, като този параметър се възстановява след премахване на стресовия фактор.

Червените детелини при заблацияване показват две ивици съответстващи на RSS при SDS-PAGE и две изоформи на RA, потвърдени от имуноблот анализа.

Протеолитичната активност на разтворими листни белтъци се повишава при стрес, като най-значимо това е при червената детелина. Повишаването се запазва и след възстановяване.

При червените детелини се наблюдават 6 позиции с протеолитична активност при заблацияване в гел с желатин, а при белите – само 5. След възстановяване се наблюдава загуба на протеолитична активност в някои позиции.

Успешно са идентифицирани 48 белтъка след MALDI-TOF/TOF анализ като 22 – от червена и 26 – от бяла детелина, разпределени в шест метаболитни групи. Установени са и промените им при стрес и възстановяване.

Открити са пет типа на белтъчна количествена динамика след възстановяване – пълно, непълно, свръхвъзстановяване, прогресивно намаляване и неповлияване.

„*Дискусията*” е задълбочено и аналитично изготвена. Дискутирани и интерпретирани са критично резултатите и се обсъждат в светлината на наличните данни в литературата. Обосновават се евентуалните причини за получените резултати и се сравняват с данните на други автори, както от потвърдителна гледна точка, така и тези които са противоречиви. Направен е успешен опит те да се разтълкуват и да бъдат отнесени към състоянието и отговора на стрес при използвания експериментален модел.

При дискутирането на резултатите е обогатена информацията по отношение на стреса от заблацияване по творчески и ползотворен начин като тя допринася за възможността за пълно и комплексно изясняване на стресоустойчивостта при различни сортове растения. В допълнение получените резултати дават възможност за дефиниране на потенциални маркери за устойчивост към заблацияването като стресов фактор, което би било от полза за селекционерите.

Липсва *заключение*, в което би могло кратко да се обобщат резултатите от всички направени анализи, което би показало възможностите на докторанта да систематизира информацията от получените данни.

Изводите са свързани тясно с резултатите от проведените изследвания.

Приемам посочените *научни приноси*, които имат оригинален характер. Предметът на дисертацията е в синхрон с Националния и Европейски приоритет за устойчиво земеделие, а получените резултати са включени в научни статии. Информацията относно динамиката на белтъчното съдържание (например на

Цитохром b6/f комплекса и визуализираните чрез анти-РА поликлонални антитела ивици с относителна маса около 110 kDa), както и за общата протеолитична активност, която се увеличава в пъти повече при заблатени червени в сравнение с бели детелини, могат да се използват като маркери за устойчивост към този вид стрес. Информацията би била полезна за селекционерите, чиято дейност е свързана със сравнителна оценка и селекция на стресоустойчиви сортове. По този начин резултатите биха намерили бъдещо практическо приложение.

Публикации във връзка с дисертационния труд

По темата на дисертацията са публикувани три научни труда. От тях два са публикации в престижни международни списания и един е глава от книга в международно издателство. Представен е списък с 3 публикации от чуждестранни автори, цитиращи статии на Стойчев. Докторантът е участвал с два постера в международни конференции и два постера в научни форуми в България. Участвал е в три научни проекта.

Автореферат

Авторефератът е изготвен по модела, по който е изработена дисертацията като в съкратен вид са представени най-важните моменти от всички раздели (без литературния обзор). Информацията, включена в автореферата вярно отразява съдържанието на дисертационния труд.

Придобита компетентност съобразно изискванията на образователната и научна степен “доктор”

В хода на изпълнението на експерименталната работа и оформянето на дисертационния труд Веселин Стойчев е придобил компетенции и умения, които напълно съответстват на образователната и научна степен „доктор”: Разширил е своята теоретична компетентност в областта на растителната биохимия и физиология; придобил е умения да работи с научна литература и база данни, да анализира и обобщава данни, както и да ги използва умело при коментара на получените резултати; надградил е методичната си подготовка чрез уменията за избор на съвременни методи и тяхното прилагане при решаването на конкретни задачи, свързани с изпълнението на дисертационната тема; придобил е умения

самостоятелно да оформя и дискутира резултатите от своя труд, да изказва хипотези и да прави съответните изводи.

Изработването и оформянето на дисертационния труд, включващо представянето на резултатите, тяхното дискутиране и илюстративен материал ми дават основание да смятам, че в процеса на докторантурата Веселин Стойчев е придобил теоретични знания и практически умения напълно съответстващи на третата степен на обучение.

Заклучение

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд съдържа значими научни приноси и заслужава висока оценка. Дисертацията е написана ясно и стегнато. Обемът на извършената работа е внушителен, направени са много анализи, а резултатите са оформени по много добър начин. Изказани са интересни хипотези, които са предпоставка за бъдещи разработки. Въз основа на гореизложеното, убедено считам, че настоящият труд отговаря на изискванията за докторска дисертация, оценявам го положително и препоръчвам на Научното жури да присъди образователната и научна степен “Доктор” на Веселин Стойчев.

28.07.2015г.

София

Рецензент:

/проф. д-р М. Оджакова/