

## РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Евгени Драганов Ананиев, Катедра „Физиология на растенията”,  
Биологически факултет при СУ „Св. Кл. Охридски”,  
на дисертационен труд на тема: „Микроразмножаване на бял риган (*Origanum vulgare ssp. Hirtum* (Link) Ietswaart и исоп *Hyssopus officinalis* L.) и оценка на тяхната цитотоксична активност”

Автор на дисертационния труд: Жени Димитрова Нанова, Факултет по природни науки при ШУ «К. Преславски».

Предмет на представения труд се явява микроразмножаване на известните медицински растения бял риган и исоп и последващия анализ на биологичната активност /цитотоксичен ефект/ на екстракти от *in vitro* формираните растения. В основата на изследването стои добре известния антибактериален, антивирусен и фунгициден ефект на етеричните масла на тези две растения. Впредвид нарастналите нужди от култивирането на лечебни растения за медицинската практика от една страна и запазването на естествения им ресурс от друга страна, избрания екологично щадящ метод на тяхното *in vitro* размножаване е напълно оправдан и е в съгласие със съвременните екологични норми за опазване на природната среда. В допълнение, темата на дисертационния труд е актуална и в светлината на известната способност на избраните две растения да повлияват развитието на други растения /т.н. алелопатичен токсичен ефект/.

Дисертационния труд е съставен от традиционния за този тип раздели. Увод /2стр./, Литературен обзор /24 стр./, Методи и метериали /17 стр./, Резултати и обсъждане /49 стр./, Заключение /3 стр./, Изводи /2 стр./ и Литература /27 стр./, включваща 352 цитирани източника, от които 14 на кирилица.

В литературния обзор се прави обстоен преглед на разпространението и биологичните характеристики на белия риган и исоба. Дава се подробна информация за състава и фармакологичните свойства на етеричните масла екстрахирани от двата вида, както и за начините за тяхното размножаване /вегетативно и от семена/. Естествено най-голямо внимание се отделя на *in vitro* микроразмножаването /етапи, среди/ като основен метод за натрупване на голямо

количество растителен материал. Като отделен подраздел, дисертантката подробно анализира алелопатичния потенциал на етеричномаслените растения и в частност на изследваните в тази работа бял риган и исоп. Трябва да се отбележи, че литературният обзор, като и целия труд са написани ясно и грамотно, като за това явно е спомогнала работата по проблема в основното научно звено и всички натрупвания получени в него.

В разделът «Методи и материали» е описана методиката на микраразмножаване в достатъчно подробности. Накратко, като изходен материал е използвано едно и също майчино растение, от което са взети стъблената меристема /вариант Ost) и цели млади /възраст 7 дни/ прорастъци от семена на същото растение, получени на по-ранен етап на развитие /варианти Og1, Og2и Og3/. Този подход гарантира запазването на ценните медицински свойства на първоначалния източник. Възниква въпросът за развитието на процеса на цъфтеж и оплождане във времето и запазването на интактен стъблен връх на растението първоизточник. Като *in vitro* среда за въвеждане и размножаване е използвана среда за захарно цвекло по Славова, 1988, модификация на Quogin et Lepoivre, 1977. Вкоренените експланти са пренасяни на почвена среда съдържаща различни торфени смеси и след адаптация са засаджани на опитното поле на Земеделския институт в Шумен. Като основен растителен материал за анализ на токсичния потенциал на екстракти от бял риган и исоп са използвани 2 годишни растения от естествени полски условия. Химичният състав на екстрахираните етерични масла е определен чрез газхроматографски анализ. Алелопатичният потенциал е изследван чрез широк набор от биологични тест-системи – кълняемост на семена, коренов растеж и класическия тест на дялящи се меристемни клетки от коренов връх на лу, т.н. *Alium* сера-тест. Последният включва светлинно микроскопски анализ на дялящи се и неделящи клетки, хромозомни аберации, метафазни и анафазни хромозоми. Накрая, дисертантката представя и социалогично проучване на 210 анкетиранни проведено с участие на студенти от кръжока „Етноботаника” при ШУ, относно използването на лечебни растения от сем. *Lamiaceae*.

Разделът „Резултати и обсъждане” представя основните резултати включени в 21 таблици, 21 фигури и 10 фотографии. Сред получените резултати могат да се отбележат няколко с приносно значение:

1. Осъществена е успешно микроразмножаване на бял риган и исоп с подбор на оптимални *in vitro* хранителни среди.
2. Етеричните масла от *in vitro* размножените растения бял риган са от кварвакролов тип. Въпреки използваното начално единичното майчино растение, съставът на етеричното масла е различен в зависимост от произхода на *in vitro* получените растения /от семена и/ или от връхни стъблени сегменти/. Дисертантката интерпретира този резултат в светлината на ”генетичната хетерогенност на растенията”. Би ли могла дисертантката да даде по-точно пояснение на този опит. Каква е хетерогенността на семената в едно съцветие, колко семена са използвани, дали са от едно съцветие, и т.н. По повод варианта *Ostr* от 3 см. стъблен връх, от коя точно морфологична част на този експлант започва регенерацията, минава ли се през калус и т.н.
3. Алелопатичният ефект на воден екстракт от бял риган е по-силен от този на исоба, като ефекта върху потискането на коренови растеж е по-силен от този при покълването на семената. В допълнение инхибиторният ефект е по-силно изразен при пшеница /еднсемеделно/ отколкото при *Cucumis sativus* /двусемедолно/.
4. Екстракти и от двата изследвани вида могат да повлияват клетъчното деление с тенденция към намаляване на скоростта, а така също и да предизвикват хромозомни аберации при тест обекта *Alium cepa*. Установеният цитотоксичният ефект при белия риган е по-силен от този при исоба.
5. Проведено е анкетно проучване с представителна извадка относно използването на лечебни растения от сем. *Lamiaceae*.

Най-общо дисертационния труд представя два основни приноса:

**1. Създаденият протокол за микроразмножаване може да бъде използван за нуждите на селекцията на растения от бял риган и исоп с избрани качества без да се нарушава екологичното равновесие в околната среда.**

**2. Алелопатичният /цитотоксичен/ ефект на водните екстракти от бял риган и исоп биха могли да бъдат използвани в земеделската практика в качеството на биологични хербициди.**

Специално към раздела с *Alium* сера – тест възникват някои допълнителни методични въпроси с цел попълното описание на съответната методика и уточняване на получените резултати :

1. Каква е възрастта на луковите растения и на каква среда са се развивали – течна, почвена и т.н.
2. Защо в качеството на т.н „отрицателна“ контрола е използвана дестилирана вода, а не средата в която са се развивали преди това растенията или както е общо прието за процеса прорастване - в чешмяна вода. **Сама по себе си дест. вода /кисело рН, отсъствие на йони/, може да бъде стресов фактор за клетъчното деление. Какъв би бил митотичния индекс с чешмяна вода.**
3. Необходимо е да се поясни по подробно, как на базата на промяната в отделните фази на митозата се реализира токсичния ефект на воден екстракт от бял риган ( цитат на Amin,2002). **На Фиг. 25 е показано даже увеличение скоростта на деление при всички опитни варианти съдейки по профазата и относително запазени останали фази, докато контролата с класическия инхибитор на деленето метилсулфонат показва нормалното за случая намаление на профазата.**

Този резултат се нуждае от по-сериозно обсъждане и пояснение.

Основните резултати са публикувани в 3 публикации: 2 с IF, от които 1 в България /J. Agric. Sci., IF 0.159/ и 1 в чужбина /Allelopathy J., IF 0.68/. Третата публикация е в „Годишник на ШУ „К. Преславски“. Резултатите са апробирани на национални научни конференции.

**Заклучение:** Представеният дисертационен труд третира важен проблем от фармакологията и ентоботаниката. Представени са резултати от *in vitro* размножени и интрадуцирани в естествени полски условия от медицинските растения бял риган и исоп. Сам по себе си този резултат е достатъчен сериозен за успешна защита като дисертационен труд. В допълнение са получени и ценни практически резултати за биологичния ефект на основните биологични активни вещества при белия риган и исоба, които могат да имат цитотоксичен ефект върху културни растения. **Всичко това ми дава пълното основание да предложа на уважаемото Научното жури, да присъди образователната и научна степен „ДОКТОР“ по специалността 4.3 „Биологически науки“ на свободен докторант Жени Димитрова Нанова от шуменския университет „К. Преславски“.**

София, 28.04. 2014 г.

Изготвил рецензията:

/проф. Д-р Е. Ананиев/