

Р е ц е н з и я

върху дисертационен труд за получаване на образователна и научна степен
“Доктор” по професионално направление 4.3. Биологически науки
(Физиология на растенията)

Автор на дисертационния труд: **Марко Илиев Колаксьзов**

Тема на дисертационния труд: **„Хормонална регулация на устойчивостта към нискотемпературен стрес на *Arabis alpina* от френските Алпи и Рила планина“**

Рецензент: проф. Венета Михова Капчина-Тотева, член на Научно жури, назначено със Заповед № РД 38-140 / 04. 03. 2015 г. на Ректора на СУ „Св. Климент Охридски“

1. *Обща характеристика на дисертационния труд – обем и структура*

Дисертационният труд е с обем 131 страници, от които: 6 фигури в Литературен обзор; 4 таблици и 4 фигури (в Материал и методи); 25 фигури (в Резултати и обсъждане) и стандартните: Увод; Цел и задачи; Литературен обзор; Материал и методи; Резултати и обсъждане; Изводи; Приноси и Литература. С най-голям обем е раздел Резултати и обсъждане – 56 стр. Допълнително е представена и Обща схема за физиологичните, биохимичните и молекулярните процеси в растения от толерантната популация на *A. alpina* L. след нискотемпературен стрес. Структурата на дисертационния труд на Марко Илиев Колаксьзов е аналогична на утвърдения модел за докторска дисертация.

2. *Актуалност на проблема и цел на разработката*

Промените в климата на земята, особено по-ранните затопляния през зимата, свързани с прекъсване на задължителния или физиологичен покой при растенията и последващо рязко намаляване на температурите оказват комплексни промени в клетъчните мембрани, фотосинтеза и минерално хранене, растежа и развитието на растенията.

Дисертационният труд е посветен на механизмите на регулация на толерантността на чувствителни и толерантни популации на *Arabis alpina* L. от френски Алпи към нискотемпературен стрес, което го прави актуален, особено по отношение проучването на българска толерантна популация от Рила планина.

3. *Литературна осведоменост и теоретична подготовка на кандидата.*

Литературната справка включва 183 заглавия, от които 1 на кирилица. Повече от 50% от цитираната литература е публикувана след 2004 година, а половината нея е от последните 5 години, като изключително добро впечатление прави цитирането на научни трудове на известни български учени в тази област, независимо от годината на публикуване (Асенов И. и др., 1970; Goltsev V. et al., 2010, 2012, 2014). От целенасочения литературен преглед личи много добрата осведоменост и теоретична подготовка на докторанта за основните физиологични и биохимични показатели в условията на нискотемпературен стрес - състояние на клетъчните мембрани, фотосинтеза и пластидни пигменти, неензимни антиоксиданти, промени в основни фитохормони като АБК, цитокинини, жасмонова киселина, скорост на транскрипцията на гени от метаболизма на тези фитохормони и фотосинтетични белтъци след третиране с ниски температури на чувствителна и толерантни популации от *Arabis alpina* L.

Проследени са приспособленията на популациите към условията на нискотемпературен стрес. Подбраните съвременни методи в раздел Материал и методи са важна предпоставка за анализиране и сравняването на получените резултати от докторанта с тези от други автори. Използваната литература е цитирана правилно както в дисертацията, така и в приложения списък.

Глава Резултати и обсъждане заема значителна част от дисертационния труд (56 стр.), с превес на обсъждане и дискусия. Получените резултати от докторанта са интерпретирани в светлината на постиженията на наши и световни учени.

Целта на дисертацията е добре формулирана с ясно и правилно поставени задачи.

4. *Методичен подход:*

В дисертационния труд е използван достатъчно по обем изходен материал (семена, от предварително изолорани растения с цел предотвратяване на кръстосано опрашване) от три местообитания – две във френските Алпи и Рила планина.

Използвани са оптимизирани за обекта на дисертационния труд протоколи за определяне оттока на електролити; нетната фотосинтетична активност; хлорофилната флуоресценция; количество на пластидни пигменти и фитохормони с високо ефективна течна хроматография (HPLC); изолиране на тотална клетъчна РНК и qRT-PCR анализ на транскрипцията на гени от фотосинтетичния апарат и от метаболизма и сигналната трансдукция на фитохормони.

Статистическата обработка е извършена чрез подходящи програми (Excell, SigmaStat и ANOVA) в зависимост от характера на изследванията.

Използваните методи са описани коректно. Избраната методология съответства на поставените цел и задачи, което дава основание да се заключи, че получените резултати са достоверни и значими.

4. *Значимост и убедителност на получените резултати, интерпретациите и изводите:*

Разделът "Резултати и обсъждане" обхваща 56 страници. Според представените в дисертацията резултати е извършена голяма по обем работа, обработените резултати от която са представени в 25 добре оформени фигури. Установена е пряка корелация между третирането с ниски положителни (4°C) и отрицателни (-7°C) температури и потискането на нетната фотосинтеза с най-силно изразен ефект при нетолерантната популация на *A.alpina* L. Съществен принос на дисертационния труд е установеното възстановяване интензивността на нетната фотосинтеза само при толерантните популации от френските Алпи и Рила планина след третиране с -7°C. Аналогичен ефект е установен и при хлорофилните пигменти, докато каротеноидите намаляват само при нетолерантната популация и остават непроменени при толерантните.

В рамките на ксантофиловия цикъл е установено увеличаване на зеаксантина и намаляване на виолаксантина (деепоксигениране на виолаксантина).

Комплексният сравнителен анализ чрез методите на хлорофилната флуоресценция и транскрипционния (qRT-PCR) анализ на гени за белтъци от ФСІ и ФСІІ показва по-висока чувствителност на ФСІ към двата типа

нискотемпературен стрес. Параметрите на хлорофилната флуоресценция и транскрипцията на гените от ФСII (psbA, psbH и HCF136) са относително устойчиви към третиране с ниски температури само при толерантната популация, а генът за белтъка PSBS дори се стимулира при -7°C . Не са установени различия в потискането на гените от Калвиновия цикъл за малката (RBCS) и голямата (rbcL) субединица на Рубиско в зависимост от температурата и популациите.

Установено е повишаване на АБК и нейните окислени производни РА и DРА след нискотемпературен стрес от 4°C и запазване на съдържанието им след -7°C при толерантната и нетолерантна изследвани популации. В съответствие с нарастналото съдържание на АБК и нейните катаболити, двата типа нискотемпературен стрес предизвикват нарастване в транскрипцията на гените от биосинтезата (ABA1, NCED3, NCED5, AAO3), инактивацията (CYP707A1) и транспорта на АБК (ABCG40).

За първи път в две различни по своята толерантност към минусови температури (-7°C) популации на *A. alpina* е проведен комплексен анализ включващ определяне съдържанието на АБК и всички типове цитокинини, както и транскрипцията на основни гени на техния метаболизъм и сигнална трансдукция. Установено е запазване нивата на основния биологично активен цитокинин iPR заедно със *cis*-ZR само в толерантната популацията, докато АБК и нейните окислени форми РА и DРА се запазват и в двете популации. Промените в съдържанието на АБК и цитокинините корелира със скоростта на транскрипция на гени от тяхната биосинтеза, разграждане и транспорт (ABA1, NCED3, NCED5, AAO3, CYP707A1 и ABCG40, съответно за АБК) и IPT1, IPT3, IPT2, SKX1 и SKX2 за СК.

Особено внимание заслужава анализът на основни параметри на фотосинтезата, заедно със съдържанието на ключови хормони и експресията на гени от техния метаболизъм, който дава основание на докторанта да предположи, че толерантността към нискотемпературен стрес (-7°C) на популацията на *A. alpina* от френските Алпи може да се дължи на комплекс от фактори, включващи високи нива на хлорофили и каротеноидни пигменти, включително тези от ксантофиловия цикъл, по-висока активност на електронен пренос във ФСII и по-високо съдържание на биологично активни и *cis*-форми на цитокинините като основни регулатори на процеса фотосинтеза.

Приемам формулираните от докторанта изводи и приноси и нямам възражения по тях.

5. *Критични бележки и въпроси към дисертационния труд:*

Дисертационният труд и автореферетът са написани стегнато и ясно, отстранени са технически грешки и повторения след презентацията на резултатите пред разширения катедрен съвет, на който се даде ход за защитата на дисертацията.

6. *Оценка на личния принос на дисертанта в разработването на дисертацията и представените публикации.*

Докторантът е представил 3 научни публикации, в които са отразени резултати по темата на дисертацията. Две от тях са в реферирани списания - едното с IF, което отговаря на изискванията на закона за получаване на образователна и научна степен „доктор”. Резултатите са представяни на четири научни конференции и са част от разработката на един международен и един национален проекти.

Убедено считам, че изследванията са лично дело на докторанта Марко Колаксьзов, тъй като той е основен автор във всички статии и презентации, представени на конференциите.

Познавам Марко Колаксьзов като студент в бакалавърската степен на специалност Биотехнологии, тъй като съм му преподавала по дисциплината Растителни клетъчни и тъканни култури и магистър в магистратура Растителни биотехнологии, където в рамките на Еразъм програмата разработи в Университета в Кошице, Словакия и защити дипломна работа. Пожелавам му успешна реализация в бъдещите му проекти.

7. *Мотивирано заключение.*

Дисертационният труд на Марко Илиев Колаксьзов е съвременно научно изследване в областта на абиотичния стрес при растенията и механизмите за регулация на устойчивостта им в условията на нискотемпературен стрес, в което по подходящ начин са подбрани физиологични, биохимични и молекулярни методи.

Дисертационният труд показва доброто познаване както на българската, така и на чуждестранната литература в научната област на изследването, добре подбрани съвременни и модерни методи. Анализите на получените данни са логични, получени са оригинални резултати с приносен характер, което потвърждава, че

докторантът е изграден като самостоятелен изследовател, необходимо условие за придобиване на образователната и научна степен “доктор”.

Авторефератът е изготвен според изискванията и точно отразява основните резултати и научните приноси на дисертационния труд.

Дисертационният труд отговаря на Закона за развитието на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и Правилника за неговото приложение в СУ „Св. Климент Охридски”.

Всичко това ми дава основание убедено и еднозначно да препоръчам на научното жури допускане до защита и присъждане на научната и образователна степен “доктор” на Марко Илиев Колаксьзов по професионално направление 4.3. Биологически науки (Физиология на растенията).

31.03.2015 г.

Рецензент:

(проф. д-р Венета Капчина-Тотева)