

СТАНОВИЩЕ

Относно: дисертационен труд за придобиване на научната и образователна степен “доктор” по професионално направление 4.3 Биологически науки: научна специалност Биофизика

Автор на дисертационния труд: Владимир Павлов Александров

Тема на дисертационния труд: “Използване на математически подходи за анализ на стресови реакции на фотосинтетичния апарат при висшите растения”

Изготвил становището: Андон Василев Андонов, д-р, професор в катедра Физиология на растенията и биохимия, Аграрен университет – Пловдив, професионално направление: 4.3. Биологически науки; научна специалност: Физиология на растенията, утвърден за член на научно жури със Заповед ВО 38-122 / 29.02.2016 г. на Ректора на СУ „Св. Климент Охридски“.

1. Актуалност на проблема

През последните години проблемът за стреса при растенията придобива все по-голяма актуалност, главно поради нарастващите промени в климата и продължаващото замърсяване на околната среда. Характерни стресови фактори за растенията са засушаването, ниските и високи температури, дефицитът на минерални елементи, пестицидите и др.

Стресовите отговори и механизмите на толерантност на растенията се изучават чрез използване на различни подходи и методи на изследване. Един от съвременните методи е анализът на хлорофилната флуоресценция – биофизичен процес, който се измерва бързо, недеструктивно и в естествена среда и носи значителен обем информация за структурно-функционалното състояние на фотосинтетичния апарат. Създаването на уреди за едновременно измерване на бързата (БФ) и забавената флуоресценция (ЗФ) и други оптични сигнали създаде още по-големи възможности за разширяване и задълбочаване на провежданите анализи. Все още, обаче, интерпретацията на резултатите се затруднява от интегралния характер на флуоресцентния сигнал, който отразява едновременното влияние на стресовия фактор върху множество структури и процеси в клетката. Това мотивира търсене на възможности за улеснено извличане на нужната, но често „скрита“ информация, които да допринесат за по-задълбочено анализиране на флуоресцентните данни в научните изследвания и по-широкото използване на метода за практически цели.

Считам, че разработеният дисертационен труд е актуален поради: (●) иновативните комбинирани изследвания върху БФ, ЗФ и модулирания сигнал при 820 nm в подложени на засушаване и минерален стрес растения, (●) използването на подходящи математически подходи и методи за допълнителен анализ на получените флуоресцентни данни и (●) опита за изграждане и обучение на невронни мрежи за детекция на воден и минерален дефицит в растенията.

2. Обща характеристика на дисертационния труд

Дисертационният труд съдържа 157 страници и е структуриран традиционно – Увод, Цели и задачи, Материал и методи, Резултати и обсъждане, Изводи и приноси, Използвана литература и Приложения. Написан е с много добър научен стил. Изложението е стегнато, ясно и улеснено от подходящ списък на съкращенията. Авторефератът отразява коректно основните положения и научните приноси на дисертационния труд.

3. Литературна осведоменост, цел и задачи, методи на изследване

В литературния преглед е представена информация по 3 основни въпроса в обхвата на изследвания проблем, а именно: (1) структурата и функцията на комплексите и участниците в електрон-транспортната верига в хлоропластите; (2) явлението флуоресценция, процесите, водещи до излъчване на светлинните кванти при бързата и забавена флуоресценция и подходите за анализ на флуоресцентните сигнали и (3) физиологичните аспекти на растителния стрес от засушаване и дефицит на конкретни минерални елементи. Считаю, че литературният преглед отразява коректно съвременните научни представи за разглежданите въпроси. Той е добре балансиран, аналитичен и достатъчно информативен. В литературният преглед са включени 294 източника. Като известен пропуск мога да отбележа недостатъчната информация за флуоресцентни изследвания по третия въпрос.

Целта на дисертационен труд е чрез математически подходи за допълнителна обработка на флуоресцентните данни да се повиши информационната им стойност и се постигне по-детайлен анализ на стресовия отговор на растенията. Поставените 3 комплексни задачи са ясни и реалистични. Чрез тях дисертантът конкретизира видовете постановки, анализите и методите за допълнителна обработка и анализ на флуоресцентни данни. Изследван е отговорът на фотосинтетичния апарат на 5 растителни вида (фасул, царевица, домати, грах и живовляк) към засушаване или различни минерални дефицити. Основните флуоресцентни данни включват индукционни криви на БФ, параметри на JIP теста, параметри на ЗФ и на сигнала при 820 nm. Допълнителната обработка на данните е извършена чрез използване на анализ на главните компоненти (РСА) и анализ на независимите компоненти (ІСА). В допълнение са изградени и обучени изкуствени невронни мрежи (ІНМ), които да позволят детекция на воден и минерален дефицит.

Използваните експериментални постановки, научна апаратура, измерване на сигналите на БФ, ЗФ и MP820, както и методите за анализ на данните са описани ясно, с необходимите пояснения. Особено внимание е отделено на описанието на използваните математически и статистически подходи за обработка на бази данни (РСА, ІСА, ІНМ).

4. Резултати, изводи и приноси

Резултатите в дисертационния труд са получени в два последователни етапа на изследването и са представени в 37 таблици и 47 фигури.

Резултатите в първия етап дават информация за промените в БФ и ЗФ на растения, подложени на минерален дефицит и засушаване по изчислени чрез JIP тест параметри от

ИК на БФ и параметри на характерни точки от ИК на ЗФ. В този етап чрез сравняване на флуоресцентни параметри на растения в норма и стрес е получена значителна по обем информация, касаеща ефектите на засушаването и дефицитите на Fe, K, Mg, N, P, S, Ca, B, Cu, Mn, Zn и Cl върху структурно-функционалното състояние на фотосинтетичния им апарат.

Във втория етап на изследването е приложена допълнителна обработка на експерименталните данни с използване на математически и статистически методи с цел извличане на максимална информация от ИК на БФ и ЗФ. Чрез прилагане на PCA са установени характерни различия в ефектите на различни минерални дефицити върху фотосинтетичния апарат на царевични и домати растения. Чрез използване на ICA сложните флуоресцентни сигнали на БФ и ЗФ във фасулеви растения са разложени на 5 отделни сигнала, в които са идентифицирани нови информационни пикове. Чрез интегриране на информацията от индукционните криви на БФ, ЗФ и ИК сигнала на MP820, JIP параметрите и характерни параметри от ЗФ са изградени и тренирани ИНМ за определяне на относителното водно съдържание в листата на фасулеви растения. Същият подход е приложен и при създаване и трениране на ИНМ от типа „с обратно разпространение на грешката“ и от типа „самоорганизиращи карти“ за определяне дефицитите на различни хранителни макроеlementи във фасулеви и грахови растения.

Основните резултати от проведеното изследване са обобщени в 8 извода, които напълно приемам, тъй като те обективно отразяват получените резултати. Считаю, че основната част от получените резултатите представляват приноси от научен, методичен и приложен характер. Поради ограничения обем на становището, ще посоча само най-важните, според мен, от тях:

1. За първи път е използван ICA за изучаване ИК на БФ и ЗФ, при което е достигнато разлагане на оригиналния сигнал и идентифициране на „скрити“ пикове с информационен потенциал.
2. По нов начин (чрез JIP тест) е показана специфичност в отговора на растения от различни таксономични групи към дефицит на някои макроеlementи.
3. Описани са скриптове за изграждане и обучение на ИНМ и за използване на PCA за програмен пакет Matlab (Приложение).
4. Създадени и тренирани са ИНМ от различен тип, които с висока точност разпознават минерални дефицити в растенията. Този теоретичен принос, приложен към по-подробни бази данни за ефектите на минерални дефицити в селскостопанските растения, създава потенциал за много широко и изключително полезно използване на флуоресцентни анализи в агрономическата практика.

5. Критични бележки и препоръки

Като критична бележка към докторанта бих отправил недостатъчното използване на информацията в литературния преглед в дискусията на получените резултати.

Препоръчвам в следващи изследвания по темата обхватът на анализирани минерални дефицити да е по-малък, но задължително да се въвеждат различни нива на

минерални дефицити (например, варианти с оптимално хранене, редуцирано хранене и пълен дефицит).

6. Публикувани статии и презентации на резултатите

Резултатите от изследванията по темата са представени на различни национални и международни научни форуми във вид на 7 постерни съобщения. Основните резултати от дисертационния труд са публикувани в 3 научни статии с импакт фактор – една в *Biochim. Biophys. Acta* и две в *Bulgarian J. Agricultural Science*. Публикацията в *Biochim. Biophys. Acta* (ИФ 4.829) е високо научно постижение за докторанта и колектива, в който той разработва дисертационния си труд.

7. Заключение

Предоставеният ми за становище дисертационен труд разглежда актуален за биофизиката проблем – оптимизиране на анализи на хлорофилната флуоресценция за по-детайлно характеризиране на стресови отговори на висшите растения. Освен фундаменталните и методични приноси в областта на фотосинтезата, проведеното изследване разкрива реални възможности за практическо приложение на резултатите в агрономическата практика за детекция на минерални дефицити в селскостопанските растения.

Въз основа на комплексна преценка на литературната осведоменост на докторанта, усвоените и приложени от него методи на изследване, получените резултати, тяхното компетентно представяне и интерпретация, направените изводи и приноси, убедено считам, че представеният дисертационен труд напълно отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение в СУ „Св. Климент Охридски“, поради което го оценявам **ПОЛОЖИТЕЛНО**.

Позволявам си да препоръчам на останалите членове на почитаемото Научно жури също да гласуват положително и да присъдят на Владимир Павлов Александров образователната и научна степен „Доктор“ по научната специалност Биофизика и радиобиология.

22 април 2016 г.

Пловдив

Член на научното жури по конкурса:

.....

проф. д-р Андон Василев

Катедра Физиология на растенията и биохимия

Аграрен университет - Пловдив