РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд на тема: **„Изследване на биологичния потенциал на цианопрокариоти и зелени микроводорасли за фикоремедиация на води, замърсени с тежки метали“**

Представен от докторант: **Зорница Красимирова Карчева** за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ в професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма „Физиология на растенията“

научен ръководител: **доц. д-р Ганка Чанева**

Рецензент: проф. д-р Венета Михова Капчина-Тотева, определена за член на НЖ със Заповед №РД-38-237/12.05.2025г. на Ректора на СУ.

Кратки биографични данни за докторанта

Зорница Красимирова Карчева придобива през 2019 г. образователна степен бакалавър по Молекулярна биология в Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“ с дипломна работа на тема: "Изследване на антимикробна и антиоксидантна активност на екстракти от *Arthronema africanum*". От 2019-2021 г. завършва СДК с Учителска правоспособност по биология в ШУ „Епископ Константин Преславски“, Център за продължаващо обучение, Шумен. Продължава обучението си в катедра „Физиология на растенията“ и получава образователна степен магистър по „Растителни биотехнологии“ през 2021 г. с дипломна работа "Сравнителен анализ на стресовия отговор при *Arthronema africanum* и *Coelastrella* sp. BGV след третиране с тежки метали".

През 2021г. е зачислена като докторант (Заповед РД-20-1250/01.07.2021г.) в катедра „Физиология на растенията“ на Биологически факултет към СУ „Св. Климент Охридски“ и отчислена с право на защита със Заповед РД-20-1345/22 .07.2024г. От 2016 г. работи като: учител в Професионална гимназия по транспорт „Вл. П. Минчев“, с. Владимирово, област Монтана (2016-2024); биолог и микробиолог в БФ на СУ (2020-2024); асистент в Лесотехнически Университет, Факултет Горско стопанство и Дендрология (2024-към момента).

Докторантката е представила всички необходими документи, в съответствие с ЗРАСРБ и Правилника на СУ “Св. Климент Охридски“, за да бъде допусната до защита на дисертационния си труд.

Актуалност на проблема

Темата на дисертационния труд е актуална и напълно отговаря на научната специалност.

Тежките метали са устойчиви замърсители, които се натрупват в почвите и водоемите вследствие на индустриализацията, урбанизацията и интензивното използване на торове и пестициди, причинявайки сериозни екологични щети и увреждайки биохимичните и клетъчни процеси в организмите. Те се усвояват и натрупват в растенията, нарушават основни физиологични процеси и предизвикват силен стрес върху метаболизма им. Замърсяването с тежки метали засяга и водните екосистеми, като микроводораслите, са сред първите засегнати. Благодарение на своята проста клетъчна структура и висока фотосинтетична ефективност, микроводораслите се адаптират към екстремни условия и абсорбират токсични метали, което ги прави ценен инструмент за ремедиация. Фикоремедиацията, която използва микроводорасли за елиминиране или модулиране на токсичните ефекти на замърсителите, е ефективен и екологично щадящ метод за намаляване на замърсяването. Микроводораслите постигат това чрез биосорбция и биоакумулация, утвърждавайки се като безопасно средство за детоксикация. Макар този подход все още да е в лабораторен етап, изследванията му предлагат възможности за повишаване на ефективността, селективността и икономичността на процеса.

Системите за съвместно култивиране на микроводорасли и висши растения предоставят възможност за изучаване на увреждания от тежките метали и механизмите за тяхната детоксикация. Това разширява значимостта на микроводораслите, като комбинира екологични и икономически ползи, превръщайки ги в ключов инструмент за постигане на устойчиво развитие и модернизация на аграрните биотехнологии.

Настоящото проучване допринася към задълбочаването на знанията за физиологичните и молекулни механизми, чрез които микроводораслите и растенията взаимодействат в условия на тежкометален стрес. Получените резултати имат важно научно-приложно значение и могат да допринесат в бъдеще за практическо прилагане на фикоремедиацията в устойчиви земеделски и екологични стратегии.

Обща характеристика на дисертационния труд – обем и структура

Дисертационният труд е написан на 157 стандартни машинописни страници, структуриран по класически начин според изискванията за придобиване на образователната и научна степен „доктор” и включва разделите: съдържание, увод (1 стр.); литературен обзор (35 стр.); цел и задачи (1 стр.); материали и методи (17 стр.); резултати и обсъждане (51 стр.); изводи (2 стр.); заключение (3 стр.); приноси (2 стр.). Включени са 30 фигури и 12 таблици. Библиографската справка включва 332 източника на латиница.

Литературният обзор е задълбочен и обхваща: тежки метали – мед, кадмий, олово и и цинк: характеристика, значение за растенията и влияние върху човешкото здраве; физиологичен отговор на растенията; тежки метали и водорасли; физиологични характеристики и биологичен потенциал на изследваните видове водорасли и висши растения. Важна част от него е посветена на фикоремедиацията като подход за модулиране на токсичния ефект на различни замърсители. Боравенето с такъв значителен обем литература е доказателство за добрата подготовка на докторантката и познаване на проблема.

Материал и методи

Условията за култивиране на моделните щамове *Arthronema africanum* и *Coelastrella* sp. BGV са описани ясно и точно. Докторантката е овладяла всички необходими методи за изпълнението на поставените в дисертацията цели и задачи, включващи: морфологични характеристики на водорасли и грах, физиолого-биохимични показатели, съдържание на стресови маркери, активност на антиоксидантни ензими, транспирация и други. Използвани са редица модерни аналитични и биохимични методи, което е позволило да се направи детайлна характеристика на изследваните обекти. Всички методи са описани подробно и по начин, който позволява тяхното възпроизвеждане от други учени. Много добро впечатление прави добрата статистическа обработка на данните, което е допринесло за правилното описание и дискутиране на получените резултати. От прегледа на изложените в раздел Материал и методи експериментални техники може да се заключи, че в процеса на обучението си докторантката е усвоила много и разнообразни методи и се е изградила като високо квалифициран специалист. Тя притежава отлична методична подготовка, придобила е значителен научно-изследователски опит, основа за бъдещите и научни изследвания.

Цел и задачи.

Формулирани са ясно и точно. Основна цел на настоящата дисертация е да се установи степента на стресовия отговор при два вида микроводорасли — *Arthronema africanum* (Cyanoprokaryota) и *Coelastrella* sp. BGV (Chlorophyta) след експозиция на тежки метали и да се анализира влиянието върху физиологичните параметри на растенията, третирани с различни концентрации на тежки метали при съвместно култивиране микроводорасло/висше растение. За постигане на тази цел са формулирани 7 основни задачи: скрининг на микроводораслови щамове, включително и новоизолирани български с възможност за приложение във фикоремедиацията; установяване на ефекта

от тежкометалния стрес върху физиолого-биохимичните показатели на микроводораслите (антиоксидантната защитна система, физиологичен и биохимичен отговор на избрани микроводораслови щамове, физиологичен отговор на *Pisum sativum* при кокултивиране на перспективните щамове микроводорасли с грах в условия на тежкометален стрес, степен на акумулиране на тежкометалните йони в биомасата); потенциал на микроводораслите като фикоремедиатори.

Оценка на получените резултати и тяхната интерпретация

Раздел „Резултати и обсъждане“ е добре структуриран в седем основни раздела, съответстващи на поставените задачи.

Извършена е значителна по обем експериментална работа и са получени съществени резултати, задълбочено коментирани в светлината на международната литература и онагледени с 30 фигури и 12 таблици.

Много добро впечатление прави обобщаването на получените резултати в светлина на световната научна литература. Научният труд, разработен в тази дисертация е принос за изясняването на клетъчните механизми, свързани със стресовия отговор на микроводорасли при експозиция на тежки метали. Двата изследвани щама – представител на цианопрокариотите и зелено микроводорасло – демонстрират различна физиологична реактивност спрямо тривалентни йони на Cu^{2+}, Cd^{2+} и Pb^{2+}. Получените резултати разкриват отчетливи вариации в темповете на растеж, в състава на биомасата и в активността на антиоксидантната система и очертава перспективите им като ефективни биоинструменти във фикоремедиационни технологии. Основните направени заключения могат да бъдат обобщени, както следва:

-Добавянето на кадмий и олово потиска растежа и белтъчното съдържание в клетките на *A. africanum* и *Coelastrella* sp. BGV, а внасянето на мед в началните етапи на експеримента оказва стимулиращ ефект върху растежа на *Coelastrella* sp. BGV.

-Биосинтезата на фотосинтетичните пигменти се понижава при третиране с кадмий и олово, докато каротеноидният синтез нараства, по-изявено при *Coelastrella* sp. BGV. Специфичните за цианопрокариота фикобилипротеини се увеличават след обработка с мед и олово.

-Антиоксидантните ензими на *A. africanum* проявяват най-голяма активност след експозиция на кадмий. При високите дози мед и олово се наблюдава повишена активност

на антиоксиднатната защитна система при *Coelastrella* sp. BGV, което корелира с повишените нива на стресовите маркери.

-Третирането с мед, кадмий и олово индуцира по-силен стресов отговор в цианопрокариотния щам. От друга страна *Coelastrella* sp. BGV, демонстрира по-висок потенциал за абсорбция на тежки метали, като Pb се натрупва в най-големи количества, следван от Cd и Cu.

-Нивата на pH в кокултивационните системи остават константни при Knop, докато при съвместното култивиране на граха с водораслите по-високи нива на pH има при *Coelastrella* sp. BGV.

-Третиранията с цинк водят до различно кислородно съдържание в моделните системи. При 2 и 5 mM Zn нивата на кислород се повишават, особено при цианопрокариота който произвежда повече кислород от *Coelastrella* sp. BGV.

-Високите концентрации на цинк оказват инхибиращ ефект върху растежа на водораслите, по-ясно подчертан при *A. africanum*. Биосинтезата на пигменти показва обратна зависимост и по-високи стойности на хлорофили и каротеноиди при *A. africanum*. Третирането с 5 mM Zn оказва силно стимулиращо действие и нивата на каротеноидите при цианопрокариота се повишават в динамика на експеримента. Специфичните за *A. africanum* пигменти са силно понижени след прибавяне на 10 и 15 mM Zn.

-В моделните системи за съвместно култивиране растежът на грах е стимулиран при третиране с цинкови концентрации до 2 mM $ZnSO_4$, като се отчита съществено увеличение спрямо контролната система. При по-високи концентрации на Zn ($\geq$ 5 mM) се наблюдава ранно инхибиране на растежа, измеримо още на третия ден от експозицията. При 5 mM $ZnSO_4$ съвместното култивиране с *A. africanum* демонстрира по-високи стойности на растеж в сравнение с останалите системи, което потвърждава защитната роля на този щам при умерен метален стрес.

- При ниски дози на експозиция на Zn се отчита стимулиращ ефект на пигментната бисинтеза при *P. sativum* в моделна система с *Coelastrella* sp. BGV, при 2 mM се регистрира и най-висока скорост на PN и транспирацията се повишава ≈30-40%.

-При микроводораслите биоакумулирането на цинк е по-изразено при *A. africanum*. При *P. sativum* 10 и 15 mM Zn и е свързано със значителни увреждания на листата и корените.

Приноси

Изводите от дисертационния са в пълно съответствие с получените резултати. Приемам посочените научни приноси, които имат оригинален и потвърдителен характер:

- За първи път в България са получени данни за биоакумулация на тежките метали Cu, Cd, Pb и Zn при *A. africanum* и *Coelastrella* sp. BGV.
- Установени са промените в растежа и физиологичните показатели на микроводораслите и висшите растения, което допринася за изясняването на преимуществата на съвместни подходи на култивиране.

- С оригинален характер са промените в активността на основни антиоксидантни ензими (SOD, CAT, GPOX) при *A. africanum* и *Coelastrella* sp. BGV в отговор на тежкометален стрес.

- Получена е нова информация за физиолого-биохимичните изменения, протичащи при експозиция на тежки метали при микроводораслите и в различните органи на висшето растение.

- Установени са специфични физиолого-биохимични характеристики на слабоизследвания цианопрокариотен щам *A. africanum,* което го прави потенциален за използване във фикоремедиационни технологии. Допълнително са разширени и обогатени биохимичните данни за българския щам зелено микроводорасло *Coelastrella* sp. BGV.

- Оценена е биоакумулацията на тежки метали в изследваните видове *A. africanum* и *Coelastrella* sp. BGV и *P. sativum*.

- За първи път е изследван физиологичният отговор при съвместно култивиране на *A. africanum* и *Coelastrella* sp. BGV и *P. sativum* с цел оценка на потенциала на микроводораслите за ограничаване на токсичните ефекти и улесняване на адаптивните механизми при висшите растения при токсичен стрес.
-Потвърдено е натрупването на каротеноиди в микроводораслите *Coelastrella* sp. BGV и *A. africanum* при експозиция на тежки метали, като индикатор за активиране на неензимната антиоксидантна защита.

Проведените експерименти са с уникален характер, тъй като до момента в литературата не се срещат подобни изследвания за влиянието на тежките метали върху биологичната активност на тези два водораслови вида.

Публикувани статии по дисертационния труд, участие в научни проекти.

Авторефератът отговаря напълно на изискванията, вярно отразява съдържанието на дисертацията и в съкратен вид представя най-важните резултати и приноси. Получените резултати са отразени в 2 публикации, пряко свързани с дисертационния труд и забелязани цитати по тях: *Biorisk*, SJR=0.297, Q2 и *Oxidation Communications*, SJR=0.18, Q4 и 7 публикации, непряко свързани с дисертационния труд, както и 3 статии в педагогически издания. Забелязани са седем цитирания в научни трудове и дисертационен труд. Така препоръчителните допълнителни критерии за придобиване на научни степени на СУ са изпълнени (общо 32 т. от изискуемите 30).

Резултати от дисертационния труд са представяни на 6 научни форума, а на останалите научни трудове на 13. Докторантката Зорница Красимирова Карчева е на първо място в 2 от статиите по дисертационния труд и в 8 от участията, което е основание да считам, че има съществен принос не само в проведените изследвания, но и при тяхното оформление и представяне.

Участвала е в разработването на 12 научни проекта, финансирани от ФНИ при СУ и МОН.

Критични бележки и препоръки.

Познавам Зорница Карчева от магистратурата по Растителни биотехнологии. Изключително работлива, последователно надграждаща знания и опит при култивиране и характеристика на микроводораслите от изработването на магистърска дипломна работа до докторска дисертация. Специално, отново отбелязвам факта, че тя е работила като учител, а сега е асистент в ЛТУ, което е достойна реализация за основната и допълнителната и специализация. Интересна е и реализацията и като танцьор, което е завършила в средното си образование, тъй като тя ръководи детски ансамбъл по танци.

Въпроси към докторантката.

1. На какво се основава по високото ниво на pH при съвместното култивиране на *Coelastrella* sp. BGV и грах?

2. Какви са бъдещите и намерения за научно-изследователска дейност по отношение на обектите – ще бъдат ли заменени с дървесни видове?

Заключение

Дисертацията на Зорница Красимирова Карчева е задълбочено изследване в областта на Физиология на растенията, което заслужава висока оценка и напълно отговаря на всички изисквания на ЗРАСРБ и правилниците на БФ и СУ “Св.Кл.Охридски“ за неговото приложение. Докторантката е усвоила редица методи, извършена е внушителна по обем експериментална работа и са получени научни резултати с оригинален принос и цитирания. Всичко това ми дава основание убедено да гласувам положително и да препоръчам на почитаемото Научно жури да подкрепи присъждането на образователната и научна степен „доктор” по професионално направление 4.3 “Биологически науки”, научна специалност Физиология на растенията на **Зорница Красимирова Карчева**.

02.06.2025 г. Рецензент:

гр. София (проф. д-р Венета Капчина-Тотева)