

РЕЦЕНЗИЯ

на

дисертационен труд за получаване на научната и образователна степен „доктор“

Автор на дисертационния труд: Велмира Людмилова Димитрова, задочен докторант в катедра „Физиология на растенията“, Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“

Тема на дисертационния труд: „Механизми на адаптация към солеви стрес при *LYCIUM*“

Рецензент: професор д-р Ира Вълкова Станчева, лаборатория „Растително-почвени взаимодействия“, Институт по физиология на растенията и генетика – БАН

Велмира Людмилова Димитрова е придобила магистърска степен в Биологическия факултет на СУ “Св. Кл. Охридски“ със специалност „Растителни биотехнологии“. От януари 2015 година е зачислена като задочен докторант в катедра „Физиология на растенията“, Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“ с научен ръководител проф. д-р Юлиана Марковска.

Дисертационният труд на Велмира Людмилова Димитрова, представлява актуално екофизиологично изследване върху толерантността към солеви стрес на два вида от род *Lycium* – *Lycium barbarum* L. и *Lycium chinense* Mill, размножени *in vitro* и култивирани *ex vitro* в хидропонни и оранжерийни условия въз основа на приложения в изследването физиологични, биохимични и биофизични маркери. Изследванията по дисертацията са резултат от ползотворното сътрудничество между Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“, фирма Био Трии ООД, Лесотехнически Университет и Институт по физиология на растенията и генетика – БАН.

Дисертацията е написана на 158 печатни страници и включва 40 фигури и 11 таблици. Уводът и литературният обзор заемат 40 страници, целите и задачите са формулирани на 1 страница, обектите на изследване, условията на отглеждане, изследваните варианти и използваните методи са описани на 16 страници. Разделът „Резултати и обсъждане“ е

представен на 60 страници и обобщен в заключение от 9 страници. Цитираните литературни източници са 319, които отразяват адекватно състоянието на разработваната тема. В раздел „Приложение“ е представен богат илюстративен материал, като освен таблиците със състава на използваните хранителни среди са включени и 16 снимки на растенията от двата изследвани вида, отгледани като хидропонни и оранжерийни култури.

Към материалите по защитата е представен списък на 4 публикации по темата на дисертацията - две публикации в пълен текст в Годишник на Софийския Университет през 2016 и 2017 г. и две публикации в списания – Доклади БАН и *Genetics and Plant Physiology*. Велмира Димитрова е първи автор и в четирите публикации.

Литературният обзор е адекватен на целите на изследването и показва, че докторантката е запозната много добре с литературата по разработваната тема на дисертацията. Би могло да се желае включването на повече литературни източници от последните 5 години (2013-2017 г.), тъй като тези цитирани източници са само 15. Направен е преглед на проблема за почвеното засоляване и групите растения въз основа на техния отговор към високи солеви концентрации. Разгледани са обстойно адаптивните механизми при растенията за преодоляване на солевия стрес, подробно са описани и техните морфологични и физиолого-биохимични промени в отговор на засоляването в това число и антиоксидантния капацитет на растенията, както и молекулните основи на толерантността към засоляване. Смятам, че тук докторантката прекалено подробно се е спряла на ролята на АБК за адаптиране на растенията при засоляване, тъй като в експерименталната част не са изследвани нито ендогенните нива на този хормон, нито е прилагано екзогенно третиране с АБК. Във връзка с целта на дисертационния труд подробно са анализирани скрининговите техники и параметри за изучаване на толерантността на растенията към засоляване. Специално внимание е обърнато на неинвазивни биофизични методи като бързата флуоресценция на хлорофила, характеризираща функционалното състояние на ФС II и електронния транспорт. Подробно са разгледани отделните компоненти на квантовите добиви на електронния транспорт, както и параметри, свързани с отчитането на разсеяната и неизползваната енергия през светлинната фаза на фотосинтезата. Тези параметри могат да се използват като ключови маркери за адаптация към стрес. Направена е подробна характеристика на двата вида от род *Lucium*, произход, разпространение, медицинско приложение и устойчивост към засоляване. Разгледани са особеностите при

микроразмножаването на *Lycium* и е показано значението на микроразмножаването за получаване на голямо количество посадъчен материал с подобрени генетични характеристики.

С цел проучване механизмите на адаптация и толерантност към солеви стрес на *Lycium barbarum* L. и *Lycium chinense* Mill, въз основа на физиологични, биохимични и биофизични изследвания са поставени много добре формулирани четири конкретни задачи. Приложен е комплексен методичен подход, на основата на адекватни методи на изследване. Проучено е влиянието на кратковременното и продължително засоляване, съответно в хидропонни и оранжерийни условия при отглеждането на двата изследвани вида от род *Lycium* върху натрупването на свежа и суха биомаса, морфологичните характеристики на листата, параметрите на газообмена, измененията на функционалното състояние на фотосистема II (ФС II). Изследвани са промените в съдържанието на алкални и алкалоземни метали в почвата, корените и надземните части на двата вида при различни условия на отглеждане. Изследвани са редица биохимични и биофизични параметри, в качеството им на стресови маркери към засоляване, за характеризиране на толерантността на растенията в тези условия. Експерименталната постановка и прилаганите методи са ясно и подробно описани, което е показател за доброто им усвояване при изпълнение на поставените задачи. Докторантката е усвоила огромно количество разнообразни методи, което е добра предпоставка за успешното им прилагане при изясняване на редица изследователски задачи.

В раздел „Резултати и обсъждане“ е представена значителна по своя обем експериментална работа, която условно може да се раздели на две части. В първата част са представени резултатите от хидропонни опити при кратковременно въздействие на различни солеви концентрации при *Lycium barbarum* L. и *Lycium chinense* Mill, като е изследвана тенденцията на изменение на различни морфологични, физиологични, биохимични и биофизични параметри. Изследвани са промените в съотношението на свежа/суха биомаса в корените и листата, промените в морфологичната структура на листата, дебелината на горен и долен епидермис, палисадния и гъбчест мезофил и междуклетъчните пространства, обуславящи дебелината на листната петура. Анализирани са разпределението на Na^+ , K^+ и тяхното съотношение, а също така и акумулирането на Ca^{2+} и Mg^{2+} в корените и листата на двата растителни вида. Изследвано е влиянието на

засоляването върху параметрите на листния газообмен, параметрите на бързата хлорофилна флуоресценция, съдържанието на пластидни пигменти и антиоксидантния капацитет на растенията (антиоксидантни метаболити и ензими). В допълнение са изследвани и промените в ензимните активности на някои ензими от C₄ метаболизма на растенията, които играят съществена роля за функционирането на растителния метаболизъм в условия на стрес. Във втората по-обширна част при същите растителни видове е изследвано влиянието на солевия стрес при почвени съдови опити, като са изследвани същите параметри, както и при хидропонните опити. При почвените съдови опити като допълнителна информация е представена агрохимичната характеристика на използваните почви и тяхната степен на солонцеватост. Определени са и биодостъпните количества на изследваните алкални и алкалоземни елементи преди засаждането и след прибирането на растенията, което дава ценна информация за промените на тези елементи в резултат на растително-почвените взаимодействия. Целта на експериментите при хидропонни и оранжерийни условия е да се характеризират и подберат стресови маркери, характеризиращи толерантността на изследваните растителни видове. Резултатите са анализирани подробно, като най-съществените са обобщени в заключителната част на дисертацията. Получените експериментални данни са систематизирани в 7 адекватно формулирани извода. Показано е умението на докторантката да откроява собствените си приноси по разработваната тема от досега известните в литературата експериментални данни.

Приносите на дисертацията имат научно-приложен характер, като е направен сравнителен анализ на отговора на два растителни вида от род *Lycium* към нарастващи солеви концентрации при кратковременни и по-продължителни въздействия. Получени са и нови научни факти, засягащи разпределението на алкални и алкалоземни метали в растителните органи и кореновата ризосфера, както и по-слабата чувствителност на ФС II към солеви стрес посредством параметрите на бързата флуоресценция. Показана е по-голямата толерантност на *Lycium chinense* Mill в сравнение с *Lycium barbarum* L. при отглеждане на засолена почва и са посочени ключови стресови маркери към засоляване, като най-определящи са квантовите добиви на електронния транспорт към ФС II и ФС I, показателите за функционалната активност на двете фотосистеми и електрон транспортната верига между тях, както и антиоксидантните ензими супероксид дисмутаза (SOD), каталаза (CAT) и глутатион редуктаза (GR). Съществен принос са представените експериментални

данни, доказващи, че устойчивостта на двата вида към засоляване се определя от комплексното съчетаване на механизмите за избягване на стреса и тези, определящи толерантността към солеви стрес. Установена е връзка между промените в анатомията на листата и параметрите на газовата обмяна при *Lycium chinense* Mill и *Lycium barbarum* L. (скорост на нето-фотосинтеза, транспирация и тяхното съотношение) в отговор на повишените солеви концентрации. Техническото оформяне на представения дисертационен труд е на много добро ниво с умело подбран илюстративен материал.

Авторефератът е в обем от 40 страници и по своето съдържание отразява правилно същността на дисертацията.

Към дисертационния труд имам следните забележки и препоръки:

- В наименованията на фигури 5С и 6С е посочено съотношение Na^+/K^+ , но на самите фигури съотношението е обратно - K^+/Na^+ .
- Не е направена достатъчно задълбочена взаимна връзка между ензимите от С₄ метаболизма – фосфоенол пируват карбоксилаза (ФЕПК), НАДФ-зависим малик ензим, пируват ортофосфат дикиназа и адаптивните реакции на двата вида растения към засоляване. Анализите на тези резултати липсват и в заключението на дисертационния труд.
- В поставената в дисертацията първа задача е формулирано проучване на влиянието на кратковременното (хидропонна култура) и продължителното (оранжерийна култура) засоляване на двата вида от род *Lycium*, като се изследват промените в морфометричните показатели, газовата обмяна и в антиоксидантната им защита. В заключителната част от дисертацията, в изводите и приносите, никъде не се отбелязва какви промени в показателите се отчитат в зависимост от условията на отглеждане. Би трябвало да се формулира извод до каква степен се променят изследваните ключови параметри, до каква степен се адаптират растенията при кратковременно и при по-продължително засоляване и какви разлики в параметрите се отчитат при едните и при другите условия.

Направените забележки и препоръки в никакъв случай не омаловажават достоинства на дисертационния труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Давам положителна оценка на дисертационния труд на докторант Велмира Людмилова Димитрова. Представения дисертационен труд е едно актуално екофизиологично изследване върху механизмите на толерантността към солеви стрес на два вида от род *Lycium* – *Lycium barbarum* L. и *Lycium chinense* Mill, размножени с *in vitro* техники и култивирани *ex-vitro* в хидропонни и оранжерийни условия въз основа на приложени в изследването физиологични, биохимични и биофизични маркери. Представен е в много голям обем и дълбочина на изследване експериментален материал. По своето съдържание и научни приноси дисертационния труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ. Богатата теоретична подготовка на докторантката и усвоените многобройни експериментални техники са добра предпоставка за по-нататъшното и успешно кариерно развитие. Всичко това ми дава основание убедено да препоръчам на членовете на уважаемото Научно жури присъждането на образователната и научна степен “**доктор**” на Велмира Людмилова Димитрова.

30.04.2018 г.

Рецензент:

/проф. д-р Ира Станчева/