

РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен “доктор” по професионално направление 4.3 “Биологически науки”, научна специалност “Биофизика”

Автор на дисертационния труд: Айгюн Кемал Фаик, ИБФБМИ, БАН

Тема на дисертационния труд: „Механизми на отговор на фотосинтетичния апарат на висши растения на комбиниран температурен и светлинен стрес”

Рецензент: проф. д-р Катя Маринова Георгиева, ИФРГ, БАН

Айгюн Фаик е завършила висшето си образование през 2012 г. в Химикотехнологичен и металургичен университет – София, откъдето получава бакалавърска и магистърска степен по специалност “Биотехнологии”. През 2013 г. е зачислена като редовен докторант към секция „Фотовъзбудими мембрани“, Институт по биофизика и биомедицинско инженерство, БАН. По време на докторантурата е била на специализация по програма Еразъм в университета в Измир, Турция, както и на специализация в университета „Eötvös Loránd“ в Будапеща, Унгария.

Обща характеристика на дисертационния труд – обем и структура

Дисертационният труд е написан на 158 страници, структуриран е според изискванията за придобиване на образователната и научна степен „доктор” и включва разделите: увод (1 стр.), литературен обзор (46 стр.), цел и задачи (2 стр.), материали и методи (9 стр.), резултати (54 стр.), обсъждане (13 стр.), изводи (2 стр.), приноси (1 стр.) и цитирана литература (30 стр.). Използваната литература включва 292 източника. В дисертационния труд са включени 58 фигури и 10 таблици.

Актуалност на разработвания в дисертационния труд проблем

Разработеният в дисертационния труд проблем е изключително актуален и е от важно значение за изясняването на отговора на фотосинтетичния апарат към продължително въздействие с висок светлинен интензитет в комбинация с висока или субоптимална температура. Температурата е един от основните фактори на околната среда, който инхибира редица метаболитни процеси и забавя растежа и развитието на растенията. Фотосинтетичният апарат е особено чувствителен към неблагоприятна температура. В резултат на глобалното затопляне и

настъпващите климатични промени нарастват площите, в които растенията са подложени на неблагоприятното действие на факторите на околната среда. Освен това, в естествените си местообитания растенията са подложени на стресовото действие на няколко фактора. Ето защо, изясняването на механизмите на устойчивост на растенията към неблагоприятна температура в условия на силна светлина е от важно значение.

Анализ на дисертационния труд

Литературният обзор е много подробен, информативен и добре систематизиран. Подробно са описани структурната организация и функционалната активност на фотосинтетичния апарат. Важна част от литературният обзор е отделена на влиянието на високите и ниските температури върху фотосинтетичния апарат, както и на механизмите на фотоинхибирането на му. Направен е обстоен преглед на механизмите на аклиматизация на фотосинтезата в условия на стрес. Изложението на този раздел е илюстрирано с 12 фигури, което улеснява възприемането на представената информация. Изчерпателното изложение на обзора показва много добрата теоретична подготовка на докторантката.

Целта и задачите са формулирани ясно и точно. Основната цел на настоящата дисертация е да се изследват механизмите на устойчивост на фотосинтетичния апарат на ниво тилакоидни мембрани на два растителни вида *Solanum lycopersicum* и *Arabidopsis thaliana* към продължително въздействие с висок светлинен интензитет в комбинация с висока или субоптимална температура. За постигането на тази цел са формулирани 5 основни задачи. Обектите на изследване са подходящо подбрани, тъй като те се различават по устойчивостта си към ниски и високи температури.

За изпълнението на поставените задачи са използвани съвременни биофизични и биохимични **методи**, които включват: спектрофотометрично определяне на пигментното съдържание, полярографски метод за измерване на кислородното отделяне, измерване на светкавичните кислородни добиви с помощта на скоростен кислороден електрод, нискотемпературна (77K) хлорофилна флуоресценция, SDS-RAGE електрофореза и Western blot. Всички методи са описани подробно и ясно. 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 Материали и методи експериментални техники може да се заключи, че в процеса на обучението си докторантката е усвоила много и разнообразни методи. Тя притежава отлична методична подготовка, придобила е значителен научно-изследователски опит, който ще ѝ помогне в бъдещите изследвания.

Представяне и обсъждане на получените резултати. Раздел „Резултати и обсъждане“ е структуриран в три части, в които са описани изследванията върху влиянието на комбинирано въздействие на температурен и светлинен стрес върху фотосинтетичния апарат на *Solanum lycopersicum* и *Arabidopsis thaliana*, както и кинетиката на фотоинхибиране на тилакоидни мембрани, изолирани от *Solanum lycopersicum*. Състоянието на фотосинтетичния апарат е характеризирано чрез измерване на фотохимичната активност на двете фотосистеми и разпределението на енергията на възбуждане между тях, промените в пигментния състав и функционалната активност на кислород-отделящата система, анализ на промените в количеството на белтъците на реакционния център на ФСII и ФСI. Извършена е значителна по обем експериментална работа и са получени съществени резултати, които са представени на 46 фигури и 10 таблици.

По-интересните и значими резултати могат да се обобщят както следва:

1) *Отговор на фотосинтетичния апарат на Solanum lycopersicum на комбинирано въздействие на температурен и светлинен стрес.*

Продължителното третиране (6 дни) на доматиените растения с висока температура (38/29°C) при интензивност на светлината $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ понижава фотохимичната активност на ФСII, но активира ФСI. Комбинираното действие на висока температура и силна светлина ($800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) води до премахване на инхибиращото действие на високата температура върху ФСII и засилва стимулирането на активността на ФСI. Понижаването на активността на ФСII в резултат на високотемпературното въздействие при оптимален светлинен интензитет корелира със същественото понижаване на активността на кислород отделящата система и с по-голямото увреждане на D1 белтъка на реакционния център. Показано е, че самостоятелното действие на високата температура предизвиква преференциално инхибиране на ФСIIа центровете и/или модифицирането им, при което те работят по-бавно и възстановяването е по-слабо.

Продължителното третиране на доматиените растения (6 дни) при субоптимална температура (12/10°C) и висок светлинен интензитет ($800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) намалява количеството на хлорофила, докато това на каротеноидите се запазва относително постоянно и вероятно допринася за намаляване на степента на окислителен стрес. Комбинираното действие на субоптимална температура с висок светлинен интензитет води до инхибиране на електронния транспорт през ФСII и намаляване на светкавичните кислородни добиви и количеството на D1 белтъка, докато активността на ФСI е повишена. Повишаването на отношението F735/F685

показва, че има преразпределение на възбуждащата енергия към ФСІ. Предполага се, че активирането на цикличният електронен транспорт може да осигури допълнително АТФ, необходим за синтеза на протеини и предпазване на ФСІІ от фотоинхибиране.

2) *Отговор на фотосинтетичния апарат на Arabidopsis thaliana на комбинирано въздействие на температурен и светлинен стрес.*

Установеното стимулиране на електронния пренос през ФСІ при *Solanum lycopersicum* се наблюдава и при третирането на *Arabidopsis thaliana* при висока температура (32/29°C) и висок светлинен интензитет ($500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), но инхибирането на активността на ФСІІ от високата температура не се премахва при комбинирането ѝ със силна светлина. При тези условия, инхибирането на кислород-отделящите центрове е по-силно при *A. thaliana* в сравнение с *S. lycopersicum*, който се характеризира с по-висока термоустойчивост. Анализът на белтъчната компонента на реакционните центрове на двете фотосистеми показва, че количеството на D1 и PsaB намаляват в резултат на 6-дневното третиране при висока температура и комбинирането ѝ със силна светлина, но то е по-слабо при PsaB.

Инхибирането на функционалната активност на ФСІІ и кислород-отделящата система е по-силно изразено, когато субоптималната температура (12/10°C) е комбинирана със силна светлина ($500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Подобно на доматените растения, при това въздействие се наблюдава стимулиране на електронния транспорт през ФСІ, както и преразпределение на енергията в полза на ФСІ, което отразява намаляване на антената на ФСІІ и/или инхибиране на центровете на ФСІІ. Количеството на D1 и PsaB белтъците намалява най-силно при комбинираното третиране на субоптимална температура с висока светлина и не се възстановява напълно след 5 дни при оптимални условия.

3) *Кинетика на фотоинхибиране in vitro на изолирани тилакоидни мембрани от растения Solanum lycopersicum, отглеждани при комбиниране на висок светлинен интензитет с висока и оптимална температура*

Установено е, че предварителното комбинирано третиране на доматените растения при силна светлина и висока температура повишава устойчивостта на ФСІІ и особено на ФСІ към фотоинхибиране, тестирана на ниво тилакоиди при стайна температура и интензитет на светлината $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Получените резултати ясно показват, че кратковременният светлинен стрес за 1 ч. води до преразпределение на възбуждащата енергия в полза на ФСІ при всички изследвани варианти. Предполага се, че стимулираният пренос на електрони през ФСІ предпазва ФСІІ от фотоинхибиране.

В раздел **Обсъждане** е направен задълбочен анализ на получените експериментални резултати чрез съпоставянето им с наличните литературни данни. Резултатите от проведените изследвания са обобщени в 8 **извода**, които са формулирани ясно и съответстват на получените експериментални резултати и на задачите, поставени в дисертационния труд.

Приемам посочените **научни приноси**, които имат оригинален характер.

Авторефератът е оформен съгласно изискванията и отразява основните раздели и резултати от дисертационния труд.

Преценка на публикациите по дисертационния труд

Резултатите от изследванията са публикувани в три научни статии, една в *Photosynthetica* и две в *Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences*. Трябва да се отбележи, че и в трите публикации докторантката е първи автор, което показва личния ѝ принос. Забелязани са два цитата на статията в *Photosynthetica*. Резултатите от дисертационния труд са представени на 6 научни мероприятия. Тези наукометрични данни напълно покриват изискванията на ИБФБМИ - БАН за присъждане на образователната и научна степен „доктор”.

Заклучение

Дисертацията на Айгюн Фаик е едно сериозно и задълбочено изследване, проведено на много добро научно ниво. Използвани са съвременни биофизични и биохимични методи и са получени научни резултати, които представляват оригинален принос в науката. Докторантката притежава задълбочени теоретични знания в областта на биофизиката на фотосинтетичните мембрани и професионални умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Дисертационният труд отговаря на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България и на Правилника за специфичните условия и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИБФБМИ- БАН.

Като член на Научното жури убедено гласувам положително и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да присъдят образователната и научна степен „доктор” на Айгюн Кемал Фаик в професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност „Биофизика”.

23.06.2018 г.

Рецензент:

(проф. д-р Катя Георгиева)