

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: Мартин Ангелов Стефанов, ИБФБМИ, БАН

Тема на дисертационния труд: „Адаптационни механизми на фотосинтетичния апарат към засоляване и светлинен стрес при две линии *Paulownia*”

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

Мартин Стефанов е завършил висшето си образование през 2014 г. в Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски, откъдето се дипломира като Магистър по “Растителни биотехнологии”. През 2015 г. е зачислен като редовен докторант към секция „Фотовъзбудими мембрани“, Институт по биофизика и биомедицинско инженерство, БАН. От януари 2019 г. е назначен като асистент в същия институт.

Докторантът е представил всички необходими документи, в съответствие с Правилника за приложението на ЗРАСРБ в ИБФБМИ-БАН, за да бъде допуснат до защита на дисертационния си труд.

Обща характеристика на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан на 138 страници, структуриран е според изискванията за такъв труд и включва разделите: увод (2 стр.), литературен обзор (35 стр.), цел и задачи (2 стр.), материали и методи (12 стр.), резултати (53 стр.), обсъждане (10 стр.), изводи (2 стр.), приноси (1 стр.) и цитирана литература (21 стр.). Използваната литература включва 327 източника, като половината от тях са публикувани след 2010 година. В дисертационния труд са включени 28 фигури и 18 таблици.

Актуалност на разработвания в дисертационния труд проблем

В естествени условия растенията са подложени на комбинираното действие на различни неблагоприятни фактори на околната среда, които забавят растежа и развитието им, намаляват ефективността на фотосинтезата и добивите от земеделските култури. Разработеният в дисертационния труд проблем е изключително актуален и е от важно значение за изясняването на механизмите на адаптация на растенията към солеви стрес и към комбинираното действие на засоляване и светлинен стрес. Тъй като площта на засолените почви, които са неподходящи

за селскостопанско производство нараства е необходимо да се използват растителни видове, които са устойчиви към засоляване и са подходящи за преодоляване на деградацията на засолените почви. Изследванията са проведени с подходящо избрана моделна система - две линии *Paulownia* (*Paulownia tomentosa* x *fortunei* и *Paulownia elongata* x *elongata*), които се характеризират с различна чувствителност към солеви стрес. Интересът към растенията от рода *Paulownia* нараства не само поради широкото им приложение в различни области, като медицина, селско стопанство, строителство, озеленяване, но и поради способността им да акумулират соли, нитрати и замърсители. Представеният за рецензия дисертационен труд разглежда един важен проблем с научно и научно-приложно значение.

Анализ на дисертационния труд

Литературният обзор е много добре структуриран, целенасочен и информативен. В първите две глави е представена подробна информация за структурната организация и функционалната активност на хлоропластите и тилакоидните мембрани. Описани са характерните особености на липидния състав на тилакоидните мембрани, структурата и функциите на фотосинтетичните пигменти. Отразени са съвременните представи за структурата на ФС1 и ФС2. Важна част от литературния обзор е отделена на ефекта на засоляването и светлинния стрес върху функционалната активност на фотосинтетичния апарат и защитата на тилакоидните мембрани от фотоинхибиране. В последната, четвърта глава от литературния обзор, е направена характеристика на рода *Paulownia*.

Изчерпателното изложение на обзора показва много добрата теоретична подготовка на докторанта.

Целта и задачите са формулирани ясно и точно. Основната цел на дисертационния труд е да се изследват механизмите на адаптация на фотосинтетичния апарат на две линии *Paulownia* - *Paulownia tomentosa* x *fortunei* и *Paulownia elongata* x *elongata* към засоляване и комбинацията от засоляване и светлина с висок интензитет. За постигането на тази цел са формулирани 6 основни задачи. Изследванията са проведени с растения, отглеждани в хранителен разтвор на Хогланд в присъствието на различни концентрации NaCl, както и върху почви с различна степен на засоляване.

За изпълнението на поставените задачи са използвани съвременни биофизични и биохимични **методи**, които включват: спектрофотометрично определяне на пигментното съдържание, хлорофилна флуоресценция с помощта на РАМ флуорометър, абсорбционна спектроскопия, полярографски метод за измерване на кислородното отделяне и поглъщане, измерване на светкавичните кислородни добиви с помощта на скоростен полярографски

електрод, нискотемпературна (77K) хлорофилна флуоресценция, определяне на антирадикална и антиоксидантна активност, количество на флавоноиди и пролин. Всички методи са описани подробно и ясно.

От прегледа на изложените в раздел Материали и методи експериментални техники може да се заключи, че в процеса на обучението си докторантът е усвоил много и разнообразни методи.

Представяне и обсъждане на получените резултати. Раздел „Резултати“ е структуриран в четири части, в които са описани изследванията върху 1) Влияние на различни концентрации NaCl (100 mM, 150 mM и 200 mM) върху функционалната активност на фотосинтетичния апарат на *Paulownia tomentosa* x *fortunei* (TF) и *Paulownia elongata* x *elongata* (EE), отглеждани в хранителен разтвор на Хогланд; 2) Влияние на различни концентрации NaCl върху антиоксидантната активност на растения от рода *Paulownia*; 3) Влияние на почвеното засоляване върху функционалната активност на фотосинтетичния апарат на двете изследвани линии *Paulownia*; 4) Влияние на засоляването и светлината с висок интензитет ($1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) върху функционалната активност на фотосинтетичния апарат на *Paulownia*

От този раздел се вижда, че е извършена значителна по обем експериментална работа и са получени съществени резултати, които са представени на 25 фигури и 18 таблици. Много добро впечатление прави добрата статистическа обработка на данните, което е допринесло за правилното описание и дискутиране на получените резултати.

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

Степента на засоляване повлиява в различна степен жизнеността на двете линии *Paulownia*. Максималната концентрация на NaCl, при която растения от линията *Paulownia tomentosa* x *fortunei* оцеляват е 200 mM при третиране до 10 дни, докато растенията *Paulownia elongata* x *elongata* оцеляват до 10-дневното третиране с 150 mM NaCl.

Установено е, че 10-дневно третиране на двете изследвани линии TF и EE, съответно с 200 mM и 150 mM NaCl води до повишаване на антиоксидантната и антирадикалната активност. Предполага се, че по-силното увеличаване на количеството на пролин и флавоноиди при растенията от линия TF в сравнение EE допринасят за по-добрата им устойчивост към високите концентрации на NaCl (150 mM и 200 mM).

Десет дневното третиране на растенията с високи концентрации на NaCl намалява количеството на фотосинтетични пигменти и понижава квантовата ефективност на ФС2, което

е съпроводено с повишаване на нефотохимичното гасене на хлорофилната флуоресценция. Изследванията на кислородното отделяне (при въздействие със светкавици и непрекъснато осветяване) показват намаляване на функционално-активните ФС2 центрове. На базата на получените резултати се предполага, че солевият стрес има по-голямо влияние върху ФС2а центровете.

Анализът на фотоокислението на P700 показва, че фотохимичната активност на ФС1 е инхибирана след 10-дневно третиране с висока концентрация на NaCl (150 mM и 200 mM), като инхибирането е по-силно при линията EE, отколкото при TF.

Промените във функционалната активност на фотосинтетичния апарат са свързани и с повлияване на преразпределението на възбуждащата енергия между двете фотосистеми след 10-дневно третиране с високи концентрации на NaCl. Установено е нарастване на преноса на енергия към ФС1 като ефектът е по-силно изразен при линия TF в сравнение с линия EE. Солевият стрес повлиява и преноса на енергия между пигмент-белтъчните комплекси на ФС2.

Получените резултати показват, че установените промени във функционалната активност на фотосинтетичния апарат след 10-дневно третиране с NaCl са обратими, тъй като при продължително третиране на *Paulownia* с NaCl (15-25 дни) не са установени промени в изследваните параметри, т.е. налице е адаптация на изследваните линии *Paulownia* по време на продължителното третиране с NaCl.

За сравняване на чувствителността на фотосинтетичния апарат на двете изследвани линии *Paulownia* към засоляване растенията са отглеждани и върху почви с различна степен на засоляване (торф и перлит; солончак и солонец). Получените резултати показват, че количеството на хлорофил в TF линията се увеличава при растения отглеждани в засолени почви в сравнение с тези отглеждани в незасолената почва, докато в EE промени в хлорофилното съдържание не са установени. Засоляването повишава стойностите на параметъра R_{Fd} , който корелира със скоростта на фотосинтезата, в листата от TF, докато в листата от линия EE, R_{Fd} намалява и това намаление зависи от степента на почвена засоленост. Установено е повишаване на квантовата ефективност на електронния транспорт през ФС2, фотохимичното гасене, както и количеството на $P700^+$ при растенията от двете линии, развиващи се на засолени почви.

Третирането със светлина с висок интензитет ($1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) намалява количеството на хлорофил, което е съпроводено от увеличаване на отношението $chl\ a/b$ и е изказано предположението, че светлинният стрес предизвиква промени в организацията на тилакоидните мембрани на изследваните линии *Paulownia*. Промените в отношението Fv/Fm показват, че

светлинното третиране води до умерена степен на фотоинхибиране и в двете линии. Установено е понижаване и на квантовата ефективност на ФС2, като промените в стойностите на R_{Fd} показват, че най-силно е инхибирана скоростта на фотосинтезата. Предполага се, че стимулирането на цикличния електронен транспорт в двете линии в условия на светлинен стрес вероятно е защитен механизъм за намаляване вредното му действие върху фотосинтетичния апарат. Установените светлинно-индуцирани промени във функционалната активност на двете фотосистеми са съпроводени с нарастване в преноса на енергия към ФС1.

Засоляването на почвата увеличава ефекта на светлинния стрес върху фотохимичната активност на ФС1 и ФС2 само при растенията от линия TF, докато при линия EE светлинно-индуцираните промени са по-големи при растенията, отглеждани в незасолена почва. Предполага се, че една от причините за увеличената чувствителност на ФС2 при TF е по-силното влияние на светлинно-индуцираните промени върху кинетичните параметри на кислородното отделяне при растенията, отглеждани върху засолени почви.

Доброто познаване на литературата по изследвания проблем проличава особено добре в раздел **Обсъждане**, където е направен анализ на получените експериментални резултати чрез съпоставянето им с наличните литературни данни.

Резултатите от проведените изследвания са обобщени в 9 **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.

Въпроси по дисертационния труд:

Тъй като са използвани високи концентрации на NaCl, а солевият стрес може да предизвика обезводняване на листата, мерено ли е водното им съдържание?

Получените резултати показват, че засоляването повишава хлорофилното съдържание, фотохимичната активност на ФС1 и ФС2, както и стойностите на параметъра R_{Fd} в листата от линия TF. Според дисертанта тези промени могат да се дължат на структурни промени в хлоропластите. Установено ли е потискане на растежа на растенията, отгледани на засолени почви? Известно е, че някои стресови фактори (като ниска температура, например) инхибират растежа на растенията и това води до повишаване на хлорофилното съдържание и фотохимичната им активност.

Преценка на публикациите по дисертационния труд

Резултатите от изследванията са публикувани в четири научни статии, от които три са с импакт фактор: в *Plant Physiology and Biochemistry* (IF=2.718), *Photosynthetica* (IF=1.740), *Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences* (IF=0.270) и *Proceedings of the Seminar of Ecology*. Във всички публикации докторантът е първи автор, което доказва личния му принос. Забелязани са 17 цитата на статията в *Plant Physiology and Biochemistry*, както и 2 цитата на тази в *Photosynthetica*. Резултатите от дисертационния труд са представени на 7 научни мероприятия с 4 доклада и 3 постера.

Заклучение

Представената за защита дисертационна работа е едно сериозно и задълбочено изследване, проведено на много добро научно ниво. Извършена е голяма по обем експериментална работа и са получени научни резултати, които представляват оригинален принос в науката. Мартин Стефанов познава добре литературата по изследвания проблем, притежава отлична методична подготовка, придобил е значителен научно-изследователски опит и умее да интерпретира адекватно получените експериментални резултати.

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 Мартин Ангелов Стефанов в професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност „Биофизика”.

04.04.2019 г.

Рецензент:

(проф. д-р Катя Георгиева)