

РЕЦЕНЗИЯ

Върху дисертационен труд за **присъждане на научната и образователна степен „доктор“**

Автор на дисертационния труд: Георги Димитров Рашков, асистент в секция „Фотовъзбудими мембрани“ на Институт по биофизика и биомедицинско инженерство при Българска Академия на Науките

Тема: „Възможности за приложение на фотосинтетичните мембрани като биорецептор за регистрация на пестициди“,

Рецензент: професор дбн Лиляна Тодорова Масленкова, секция «Липид-белтъчни взаимодействия», на Институт по биофизика и биомедицинско инженерство при Българска Академия на Науките

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд на Георги Рашков е изработен в секция „Фотовъзбудими мембрани“ на ИБФБМИ на БАН и е по научна специалност *Биофизика*, шифър 01.06.08. Дисертацията е написана на 114 машинописни страници и е структурирана по класическа схема. Уводът и литературният обзор заемат 40 страници, разделът «Материали и методи» е изложен на 6 страници, а резултатите и тяхното обсъждане са представени на 35 страници и обобщени в отделно «Заклучение» от три страници. Илюстративният материал е представен от 32 фигури и 9 таблици, като съответно 5 и 2 от тях са включени в литературния обзор и методичната част. Библиографската справка е пълна и коректна и включва списък на 252 литературни източника. Представен е списък от 3 статии по темата на дисертацията, публикувани в специализирани международни и наши издания, *Compt. rend. Acad. bulg. Sci* и *Sensors and Actuators B: Chemical* с общ ИФ 11.604. Докторантът е първи автор в една от публикациите и трети в останалите две. Върху публикуваните трудове по дисертационната тема до момента са забелязани 17 цитата. Представен е и списък, удостоверяващ докладването на резултатите по дисертацията на 4 научни форума.

Дисертационният труд е посветен на изследване на възможностите за приложение на фотосинтетичните мембрани като биорецептор за рутинно наблюдение и контрол на замърсяването на околната среда с хербициди (атразин и DCMU) и тежки метали (медни йони). Въпреки значителния напредък в разработването на биосензори на базата на фотосинтетични мембрани и в частност на изолирани ФС2 комплекси, много въпроси, свързани с тяхното практическо приложение остават открити. Несъмнената актуалност на изследванията по темата произтича от факта, че за да бъдат

използвани като биорецептор фотосинтетичните мембрани освен висока чувствителност трябва да притежават и повишена стабилност във времето.

Литературният обзор е адекватен на темата и представлява стегнат и целенасочен преглед на съвременното състояние на проблема. Същевременно той показва, че докторантът е запознат много добре с литературата по разработваната проблематика. В обзора са разгледани и систематизирани съществуващите в литературата данни, отнасящи се до състава, структурната организация и функционалните свойства на тилакоидните мембрани. Подробно е разгледано влиянието на урея/триазинови (DCMU) и фенолни (анразин) хербициди и токсични концентрации медни йони върху фотосинтетичния апарат и съществуващите хипотези за местата и механизмите на увреждане. Във връзка с *целта* на дисертационното изследване е направен преглед на съществуващите данни за видовете биосензори, тяхната селективност и чувствителност и възможното им практическо приложение. Произтичащите от целта шест конкретни експериментални задачи са свързани с: подбор на условията за имобилизация на изолирани тилакоидни мембрани и сравнително изследване на функционалната активност на ФС2 в тяхната имобилизирана и неимобилизирана форма при продължително съхранение; детайлно характеризиране на ефектите на атразин, диурон и CuSO₄, приложени към имобилизирани и неимобилизирани тилакоидни мембрани и към клетки на зеленото водорасло *Chlorella vulgaris*.

При разработването на дисертационния труд са използвани взаимно допълващи се физиологични, биохимични и биофизични методи, подходящо приложени при отглеждане на растенията, изолиране, анализ и имобилизиране на активни мембранни комплекси, както и при оценка на промените в параметрите на импулсно-модулираната хлорофилна флуоресценция и кислородното отделяне при постоянно и импулсно осветяване.

В раздел «Резултати и обсъждане» е описана и анализирана извършената значителна по обем експериментална работа във връзка с установяване възможностите за приложение на фотосинтетичните мембрани като биорецептор за регистрация на пестициди.

В *първата и най-обширна* част (5.1.) на раздела са представени и подробно анализирани промените в параметрите на РАМ хлорофилната флуоресценция и кислородното отделяне, характеризиращи стабилността на неимобилизирани и имобилизирани в BSA-GA матрица мембрани с или без адсорбция върху

нитроцелулозен филтър при продължително съхранение. В серия от сравнителни изследвания при двата вида мембрани и в клетки на *Chlorella vulgaris* са оценени промените в първичната фотохимия на ФС2 (F_v/F_m), отношението на фотохимичните към нефотохимичните процеси (F_v/F_o) и кислородното отделяне (параметрите Y и A) под влияние на атразина чрез сравняване на техните RS50 стойности. Получените резултати показват, че най-голяма е чувствителността към атразин на светкавичните кислородни добиви (Y) в сравнение с широко използваната РАМ хлорофилна флуоресценция, първичната фотохимия на ФС2 (F_v/F_m). В своята цялост резултатите от този раздел дават основание да се направи заключение, че имобилизирани тилакоидни мембрани в BSA-GA матрица може да се използват като биологичен рецептор при разработване на биосензори. Изказано е предположението, че по-високата чувствителност на клетките на *Chlorella vulgaris* в сравнение с изолирани тилакоидни мембрани от грах (*Pisum sativum* L.) е резултат от по-малкия брой на блокирани кислород отделящи центрове на ФС2 под влияние на третирането с хербициди.

Във *втората* част (5.2.) на раздела «Резултати и обсъждане» е представена оценка на чувствителността на фотосинтетичния апарат към действието на токсични концентрации медни йони. Анализът на параметрите на кислородното отделяне в изолирани мембрани от грах показва по-силно повлияване на светкавичните кислородни добиви в сравнение с кислородното отделяне при непрекъснато осветяване след третиране на мембраните с CuSO_4 в резултат от преобладаващо инхибиране на ФС2 алфа центровете, разположени в граналните участъци на мембраните. Експерименталните резултати от флуоресцентните изследвания показват по-слабо повлияване на първичната фотохимия на ФС2 (F_v/F_m) в сравнение с отношението на фотохимичните към нефотохимичните процеси (F_v/F_o). Подобни зависимости се наблюдават и след третиране на водорасловите клетки с CuSO_4 като по-силно е влиянието на изследваните концентрации медни йони върху изолираните тилакоидни мембрани от грах (*Pisum sativum* L.) в сравнение с фотосинтеичния апарат на зеленото водорасло *Chlorella vulgaris*. Показано е, че поради по-слабата си чувствителност към тези йони клетките на *Chlorella vulgaris* не са подходящи за използване като биорецептор за регистриране на тежки метали.

Аналитичният преглед на получените в дисертационния труд резултати, представен като кратка заключителна дискусия потвърждават впечатлението ми за добро вникване в проблема и за способността на докторантът да откроява съществените резултати от

проведеното подробно изследване в сравнение с известното в литературата по проблема. Резултатите са систематизирани в шест извода, формулировките на които добре обобщават получените в дисертационния труд експериментални данни. Основните приноси от проучванията по дисертационната тема на Георги Рашков са главно с научно-приложен характер. Получени са нови научни факти, свързани с характерни различия в отговорите на изолирани хлоропластни мембрани и цели водораслови клетки към въздействието на хербициди и токсични концентрации на медни йони, които допринасят за разширяване на познанията ни относно възможността за използването им като специфични биорецептори за регистрация на пестициди, основни замърсители на околната среда. Считам за оригинален принос предложеното въз основа на резултатите от изследването използване на скоростен полярографски електрод (Жолио тип) за определяне на кислородното отделяне от фотосинтетичния апарат като бърз, чувствителен и лесен метод за регистрация на QB - свързващи хербициди.

В голямата си част отправените към докторанта в процеса на подробното апробиране на дисертацията пред научното звено въпроси и конструктивни бележки са взети под внимание и съответно отразени, а техническото оформяне на представения за рецензиране дисертационен труд е на много добро ниво. Препоръката ми към Георги Рашков е да използва голямото количество експериментални данни за кислородното отделяне за един по-разширен и задълбочен анализ на различията в механизмите на увреждане от приложените пестициди при фотосинтезиращи обекти с различно ниво на организация, което ще даде допълнителен принос в теоретично отношение на проведеното обширно изследване.

Авторефератът е в обем от 44 страници и по структура и съдържание отразява правилно същността на дисертационния труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценявам положително дисертационния труд на докторант Георги Димитров Рашков, представляващ актуално и детайлно изследване на възможностите за практическото приложение на фотосинтетичните мембрани като биорецептор за рутинно наблюдение и контрол на замърсяването на околната среда с пестициди. По съдържание и научни приноси дисертационната работа отговаря напълно на изискванията на ЗРАСРБ и

правилниците за неговото приложение. Докторантът притежава отлична теоретичната компетентност в областта на фотосинтезата, експериментален опит и аналитичен подход, които са ценна предпоставка за бъдещо успешно кариерно развитие. Всичко това ми дава основание убедено да препоръчам на членовете на уважаемото Научно жури да присъди на Георги Димитров Рашков, образователната и научна степен „доктор”.

05.06. 2019 г.

Рецензент:

София

/проф. дн Лиляна Масленкова /