

РЕЦЕНЗИЯ

от д.б.н. Иван Никифоров Минков, професор, ИМББ

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“ по:	
област на висше образование	4. Природни науки, математика и информатика
професионално направление	4.3. Биологични науки
докторска програма	Молекулярна биология

Автор:

Никол Славева Хаджиева

Тема:

Идентифициране на специфични взаимодействия между Potato Spindle Tuber Viroid и два български сорта пипер.

Научен ръководител:

Доц. д-р Марияна Гозманова, Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“

1. Общо описание на представените материали

Със заповед № РД 21-456 от 02 Март 2023 г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ) съм определен за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема „Идентифициране на специфични взаимодействия между Potato Spindle Tuber Viroid и два български сорта пипер“, за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика“, професионално направление 4.3. Биологични науки, докторска програма „Молекулярна биология“.

Автор на дисертационния труд е Никол Славева Хаджиева – докторантка в редовна форма на обучение към катедра „Физиология на растенията и молекулярна биология“, с научен ръководител доц. д-р Марияна Гозманова, Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“.

Представеният от Никол Славева Хаджиева комплект материали на хартиен носител е в съответствие с Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ и включва следните документи:

- молба до Ректора на ПУ за разкриване на процедура за защита на дисертационен труд;
- автобиография в европейски формат;
- протокол от катедрения съвет, свързан с докладване на готовността за откриване на процедурата и с предварително обсъждане на дисертационния труд;
- автореферат;
- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;
- справка за спазване на националните изисквания
- списък на научните публикации по темата на дисертацията;
- дисертационен труд;
- копия на научните публикации;
- комплект документи на хартиен носител
- документ за внесена такса според изискванията

Докторантката е приложила 3 броя публикации

2. Кратки биографични данни за докторанта

Никол Хаджиева е завършила висшето си образование в Пловдивски университет „Павел Берон“ по бакалавърската програма „биология и химия“ през 2017 год. и последователно магистърска програма по молекулярна биология през 2018 г. По време на обучението си е придобила значително ниво на знания и умения, свързани с дисертационния труд. Отлично владее английски език – завършила е гимназия с преподаване на английски и е преминала курс за англоезично академично писане в областта на природните науки. Притежава основни компютърни умения (MS Office), както и базови познания в областта на биоинформатика, обработка на данни и статистика, необходими за манипулация на секвенции в нейните изследвания.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Тематиката на дисертационния труд като цяло е много актуална. Тя обхваща два основни проблема – вироидите, като особена форма на съществуване на геномите и на живота въобще, взаимодействието им с техните гостоприемници – растенията и всички молекулярни връзки между тях. Макар, че като цяло основните механизми на паразитизъм и други взаимодействия между вироиди и растения в основата си са познати, то фините механизми на взаимна регулация все още се изследват и в тази област има маса неясни моменти, особено що се отнася до механизмите на специфика на вироидното развитие в техните гостоприемници.

От друга страна „съществуването“ на вироидите като самостоятелна, „гола“ РНК молекула (без белтъчната обвивка на вирусите) загатва за много древни времена на произхода на генома, а взаимодействието им със сложните еукариотни геноми – за милиардите години на еволюция на живота. Деликатен момент в тази насока е участието на микроРНК в тези взаимодействия.

Прагматичното значение на поставените въпроси се състои в това, че множество гостоприемници на вироидите са културни растения с голямо стопанско значение и вироидите могат да нанасят сериозни щети на селското стопанство, а методите на борба с тях са нетрадиционни, трудни и скъпи. От друга страна вироидите, които най-често носят името си от основния си гостоприемник, могат да паразитират и по други растения в таксономичната група на главния гостоприемник, а понякога и в по-далечни родственици. Това показва, че механизмите на заразяване са доста по-сложни, отколкото е известно и тук има широко поле на изследване.

В дисертацията се изследва взаимодействието на два сорта пипер и вироида, причиняващ вретеновидност по картофените клубени (Potato Spindle Tuber Viroid - PSTVd), чийто основен гостоприемник са картофите. Обърнато е по-особено внимание на еукариотните гени – цели на вироидната инфекция, която от друга страна представлява и много важен биотичен фактор за причиняване на стрес при висшите растения – гостоприемници. И за да стане картината още по-сложна, в изследването са намесени един друг клас малки РНК молекули – микроРНК (miRNA), които освен, че са специфични и осъществяват масов процес на регулация на генната експресия в еукариотите (включително растения), вероятно могат да взаимодействат и с други малки РНК, каквито са вироидите и съществено да променят механизмите на взаимодействие, специфичност, паразитизъм и биотичен стрес.

Всичко това показва, че тематиката на дисертацията е добре премислена и съставена и има съществено теоретично и практическо значение.

4. Познаване на проблема

Направеният в дисертацията обширен преглед на проблемите, посочени в предишния раздел на настоящата рецензия показва, че докторантката е направила много съществено проучване на съществуващите в тази област публикувани изследвания и в резултат на това познава основно състоянието на проблема, като литературният преглед е направен с творческа оценка на писмените източници.

5. Методика на изследването

За постигане на поставените цели и задачи на изследването са използвани като обекти два български сорта пипер - Джулунска шипка (ДШ) и Куртовска капия (КК) (*Capsicum annuum L.*), които имат различен фенотип при заразяване с PSTVd изолат KF440-2 за целите на заразяване.

Като цяло може да се каже, че избраната методика на изследване позволява да се постигне поставената цел и да се получи адекватен отговор на задачите, поставени в дисертационния труд. Това са голяма група методи, свързани с биотестове върху сортовете пипер с *in vitro* синтезирана PSTVd (+) РНК, изолиране и количествен и качествен анализ на тотална РНК, NGS-секвениране и анализ на иРНК и малки РНК, синтез на комплементарна ДНК, PCR за амплификация на вириода или гени на гостоприемника.

Съществена част от методичните подходи е използването на RT-qPCR с флуоресцентно багрило *SYBR Green I*, с цел анализ на експресионните нива на миРНК гени и на белтък-кодиращи гени, както и биоинформатичния анализ на NGS данните за различните секвенирани РНК и на диференциалния експресионен анализ на гените, участващи във взаимодействието с вириодната РНК. Данните от проведеното NGS на малки РНК са депозираны в NCBI.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Цялата дисертация е представена на 94 стандартни „машинописни“ страници (~30 реда/65 символа) и е класически структурирана в няколко раздела – „Литературен обзор“, завършващ с формулиране на целите и задачите на изследването, като целта на работата е дефинирана доста общо. Използваните обекти и подходи на изследване са представени в раздел „Материал и методи“. Получените резултати и тяхното обсъждане са дадени в два отделни раздела („Резултати“, и „Обсъждане“), което е по-удачно като начин на представяне. Следват кратки раздели – „Изводи“, „Литература“, „Приноси“ и „Публикации“. Считаю, че е било подходящо след литературния обзор да се дефинира по-ясно цялостната хипотеза на изследването, която не е изразена много ясно в поставените задачи.

Литературният обзор е добре структуриран по отношение на планираната работа, отделните му части са добре балансирани по тяхното значение за дисертацията. Представени са предимно нови изследвания на проблема, което осигурява добра информираност на докторантката по отношение на съвременното състояние на проблема и избягване на „откриване на топлата вода“. Дисертантката показва добро познаване и добро боравене с известните в литературата данни за вириодите, конкретно на PSTVd и взаимодействието на вириода с растението. Като цяло този раздел е добър обзор за цялостния проблем вириодигостоприемници, специфика, молекулни механизми на развитие на вириодите и устойчивост на растенията, както и тяхното стопанско значение. Характеризиран е и основният обект на изследване – пипера и специфичните използвани сортове.

Считаю, че подчертаната хипотеза за съвременния произход на вириодите е твърде малко вероятна, тъй като ензимната активност на вириодната РНК е класически „молекулен фосил“ от най-ранните етапи на еволюцията, особено ако предложената хипотеза за съществуване на смислена връзка микро-РНК-вириодна РНК е вярна.

Резултатите, представени в споменатия раздел, са логично подредени според поставените задачи и следват логичния ход на заразяване на растенията с PSTVd: анализ на нивата на акумулация на виroidна РНК, експресираните виroid-специфични малки РНК, иРНК и микро РНК. Съществено място е отредено на анализа микроРНК в инфектираното растение чрез NGS – картиране, промяна при виroidната инфекция и вероятно въздействие върху блокиране (silencing) на таргетни гени (иРНК) за устойчивост на растението към виroidа. Интересни са и данните за диференциална експресия на транскрипционни фактори и експресионния анализ на избрани гени при виroidната инфекция.

Обсъждането на получените изследвания е почти равномерно разпределено на коментариране на влиянието на микроРНК върху заразяването и устойчивостта на пипера (гостоприемниците), експресирането на транскрипционни фактори и диференциална експресия на гени, осигуряващи известна устойчивост към виroidа (виroidите). И в трите посочени групи докторантката коментира собствени данни, които сочат определено участие на трите системи в заразяването и устойчивостта към PSTVd. В този раздел коментарите на литературни данни донякъде преобладават над обсъждането на собствените резултати, което в известна степен го превръща в допълнителен литературен обзор.

Направените изводи добре покриват получените резултати и тяхното обсъждане, като една съществена част следват сортовите различия в молекулните механизми на отговора на гостоприемника към виroidа. Част от изводите са по-описателни, а друга част по-аналитични.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Приносите са добре описани в дисертационния труд, поради което няма да ги излагам подробно в рецензията. Те се отнасят основно към доказване с нови средства на съществени нови страни и получаване на потвърдителни факти в съществуващи научни проблеми и теории. По-оригиналните и по-нови приноси са свързани със сортовата устойчивост на изследваните сортове пипер, като те имат значимост и за практиката.

Само по себе си аотирането на получените резултати от NGS за иРНК и микроРНК, получени от инфектирани и контролни растения пипер в биобазата данни NCBI е съществен принос за дисертацията

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Представяни са общо три публикации, като две от тях са с добър импакт фактор (Q1) и една – без импакт фактор, в българско издание. Една от публикациите – в Plants (MDPI) е с отворен достъп (open access), което определено е положително, тъй като повишава бързото и подробно запознаване с направените изследвания и бързия отзвук като цитирания. Всички публикации имат повече от трима автори. В една от представените публикации дисертантката е първи автор. Във всички представени публикации е отбелязано нейно „равностойно участие“ с първия/втория автор. По този начин публикационната активност на дисертантката напълно удовлетворява изискванията на закона и правилника за неговото прилагане за научната и образователна степен „доктор“.

Публикациите са с много добро качество, като първите две са публикувани на английски в реномирани и реферирани международни издания и в достатъчна степен представят направените изследвания, получените резултати и тяхното обсъждане и добре съвпадат с представения материал в дисертацията и автореферата.

Представените публикации са намерили приложение като изпълнение на финансирани научни проекти, което е надлежно отбелязано.

Добро постижение си е и присъствието на дисертантката в Scopus, където са показани общо 5 цитирания на две от публикациите по дисертацията, а самата тя формира цялостен h-фактор – 2 от общо три публикации, което, в голяма степен се дължи и на нейния научен ръководител.

9. Лично участие на докторантката

Познавайки отчасти дисертантката, от разговори с нейният научен ръководител, отличната научната група, в която е работила, както и контекста на цялостното изследване, мога да преценя, че проведеното дисертационно изследване, получени резултати и формулираните приноси са в достатъчно голяма степен нейна заслуга. Въпреки сравнително големия брой на съавтори в представените публикации, в тях добре личи индивидуалното участие на Никол Хаджиева.

10. Автореферат

Авторефератът добре отразява основните резултати, постигнати в дисертацията и е изработен много качествено по отношение на оформление, фигури и таблици и високо качество българския език. Освен това той е направен е направен според изискванията на съответните правилници и може да послужи за бързо запознаване с дисертационния труд.

11. Критични забележки и препоръки

Добре би било във формулирането на изводите от дисертационното изследване да не се използват абривиатури. Това затруднява осмислянето на направените заключения, тъй като принуждава читателя да си транслира всяка абривиатура (макар, че те са добре описани в дисертацията и автореферата).

В автореферата се говори за „селектирани“ сортове пипер за изследване, което предполага „селекция“, докато очевидно става въпрос за „избор“ на сортове за анализ.

В дисертацията има някои неологизми, които аз лично не харесвам много: „новогенерационно“ секвениране, „вертицилийно“ увяхване и „вджджечаване“.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни, научно-приложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“.

Дисертационният труд показва, че докторантката Никол Славева Хаджиева притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност „Молекулярна биология“, като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята положителна оценка за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“ на Никол Славева Хаджиева в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление: 4.3. Биологични науки; докторска програма „Молекулярна биология“.

12.04.2023 г.

Рецензент:

Проф. д.б.н. Иван Минков