

РЕЦЕНЗИЯ

от доц. дсн Самир Изетов Наимов – ПУ „П. Хилендарски“, гр. Пловдив

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 Биологически 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 – ПУ „П. Хилендарски“

1. Общо описание на представените материали

Със заповед № РД 21-456 от 02. 03. 2023г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ 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, професионално направление 4.3. Биология, математика и информатика, докторска програма Молекулярна биология. Автор на дисертационния труд е Никол Славева Хаджиева– докторантка в редовна към катедра „Физиология на растенията и молекулярна биология“ с научен ръководител доц. д-р Марияна Гозманова от ПУ „Паисий Хилендарски“- гр. Пловдив

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, включва следните документи:

- молба до Ректора на ПУ за разкриване на процедурата 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;
- дисертационен труд;
- автореферат;
- списък на научните публикации по темата на дисертацията;
- копия на научните публикации;
- списък на забелязани цитирания;
- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;

- справка за спазване на специфичните изисквания на съответния факултет;

Докторантката е приложила общо три научни публикации, като две от тях с импакт фактор в списания от квартал 1.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Никол Хаджиева е родена на 26.01.1994 г в гр. Ловеч. В периода 2009-2013г завършва средно образование в Гимназия за чужди езици „Екзарх Йосиф I“ с интензивно изучаване на английски език . След това продължава образованието си последователно в бакалавърска програма „Биология и химия“ и магистърска програма „Молекулярна биология“ към ПУ „П. Хилендарски“. От 2019г. Никол Хаджиева е докторантка към катедра „Физиология на растенията и молекулярна биология“ и се обучава по докторска програма „Молекулярна биология“ под научното ръководство на доц. д-р Марияна Гозманова.

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

Вироидите са малки ковалентно затворени РНК молекули без белтък-кодиращ капацитет, които се възпроизвеждат, използвайки репликативния апарат на растителните клетки. Поради ограничения до растителното царство кръг гостоприемници виroidите се разглеждат като строго растителни патогени. В научната литература са описани редица механизми на предаване и разпространение на виroidите, някои от които не са толкова ефективни, но веднъж попаднали в растението, виroidите водят до редица изменения във вегетативните органи. Това от своя страна води до загуби вариращи от понижаване на продуктивността и качеството на селскостопанската продукция до напълно унищожаване на културите какъвто е случаят с STiVd и CCCVd при кокосовите палми например. Докато макроскопските изменения във вегетативните органи на растенията са добре документирани, то промените на молекулярно ниво остават недостатъчно пълно изследвани. В тази насока е научното търсене, описано в представения за рецензия дисертационен труд. В този контекст тематиката на дисертационния труд е актуална, а самата разработка предполага получаване на значими резултати от фундаментален и приложен характер. Търсенето по ключова дума в публичните бази данни извежда над 1800 записа, като 248 от тях са за PSTVd. В лонгитуден аспект, през 2000г са публикувани 24 научни статии о темата докато през 2022 техният брой нараства до 173, което тенденцията е показателна за актуалността на темата.

4. Познаване на проблема

В главата „Литературен обзор“ докторантката разглежда три основни аспекта на разработваната тематика: 1) Видоидите, като патогени; 2) Малки интерфериращи РНК молекули и 3) Пиперът като важна селскостопанска култура. Докторантката е анализирала и 240 литературни източника и е успяла да представи по достъпен начин основните концепции, свързани с изследвания проблем. По аналогичен начин, докторантката разглежда и собствените си резултати в светлината на актуалните към момента разработки на други колективи. Получените от докторантката резултати са критично интерпретирани в светлината на последните в областта научни изследвания. При дискусията на собствените резултати докторантката демонстрира задълбочено познаване на научната фактология и професионална интерпретация на получените данни. В изложението на посочените две глави докторантката демонстрира отлично познаване на проблематиката и свободно боравене с литературните източници. В този контекст считам, че Никол Хаджиева е придобила задълбочен знания по конкретната проблематика и е придобила необходимите умения за работа и анализ на литературни източници.

5. Методика на изследването

При разработването на дисертационния труд, докторантката е използвала множество молекулярно-биологични методи, които могат да бъдат подразделени макар и условно на такива за натрупване на научни данни и такива свързани с тяхното последващо анализиране и потвърждаване. Към първата група методи се отнасят изолиране и окачествяване на РНК и вископроизводителни техники за тяхното секвениране. Посредством тях са натрупани огромен обем данни, част от които са дискутирани в дисертационния труд, но също така следва да се отбележи, че масивът от данни предполага добри възможности допълнителни изследвания и мета анализи. Резултатите получени в хода на разработката са достъпни за ползване в базата данни NCBI, като частта от тях която е релевантна към основната концепция са представени като допълнителни данни в табличен вид. Цялостната научна разработка е подсигурана с надеждно подготвен растителен материал и адекватно заловени експерименти по контролирано заразяване на тестваните сортове пипер.

Накрая, но не и на последно място бих желал да обърна внимание и на и на адекватно подбрания биоинформатичен и статистически набор от методи, които позволяват правилна интерпретация на резултатите. Работната постановка е съответна на заложените цел и задачи. В хода на разработката на дисертационния труд, докторантката е успяла да усвои множество методи, които биха и позволили успешно да се реализира като млад учен.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд е с общ обем от 121 страници, които включват 7 таблици и е илюстриран с 33 фигури. Текстът е организиран и структуриран по стандартен начин, като започва с кратко въведение в обем от една страница, литературен обзор, представен в 25 стандартни страници, и цел и задачи – една страница, следват материали и методи-7 страници, резултати-31 страници, обсъждане в обем 8 страници, изводи-1 страница, и използвани литературни източници-23 страници дисертационният труд завършва с приноси-1 страница и данни за научните публикации и участия в научни конференции. Литературният обзор започва с кратка информация за вироидите като растителни патогени, класификация и модели на репликация. Постепенно докторката насочва изложението към спецификата на PSTVd, като разглежда в детайли биологията на самия вироид, модела на репликация, начините за предаване и симптоматиката на PSTVd инфекцията както на макроскопско така и на микроскопско ниво. Специално внимание е отделено на описаните към момента в литературата данни за молекулните взаимодействия, свързани с инфекцията и отговорите на клетките гостоприемници, като е отделено специално внимание на участието на малки РНК молекули в защитния отговор на растенията. Последните няколко страници от главата са посветени на пипера като селскостопанска култура, като акцентът е поставен върху изследванията свързани с миРНК. На базата на направения литературен анализ докторантката поставя целта на дисертационната разработка „Да се идентифицират специфични взаимодействия между Potato Spindle Tuber Viroid и два български сорта пипер.“ Целта е формулирана ясно и конкретно и отразява основната насока на изследването. В логична последователност са поставени шест задачи, като в първата са конкретизирани и сортовете пипер които ще бъдат изследвани. Задачите са конкретни, реалистично поставени, отговарят на техническия ресурс на обучаващото звено. Главата „Материали и методи“ предлага описание на използваните методики и по-специфични материали. Детайлно са описани процедурите по култивиране на растения пипер, зарояването им с PSTVd, подготовката на РНК материал за заразяването, изолиране на тотална РНК, секвениране на РНК и приложеният биоинформатичен модел за анализ на резултатите. Описани са процедурите по валидиране на резултатите от анализа на диференциалната генна експресия. При анализа на раздела установих следните пропуски и неточности: 1) Данните представени на фигури 8 и 9 са по-подходящи за главата „Резултати“ 2) В точка 2.1.1 „Повърхностна стерилизация на семената от пипер“ следва да бъде ревизирана – реагентът използван за стерилизация не би могъл да бъде K_2HPO_4 , 3) При описанието на сортовете пипер (т. 1.1 „Описание на растителния материал“), използвани в изследването би било удачно да се даде информация за начина на получаването им, което би било по-релевантно към последващата интерпретация на получените резултати, 4) Методът за изолиране на РНК с „RNeasy Plant Mini Kit“ не се споменава

никъде другаде в дисертацията. Разделът „Резултати“ разглежда в хронологичен порядък дейностите по представеното научно изследване. Използвайки *in vitro* транскрипция, докторантката е получила необходимите количества виридна РНК, с които в последствие са заразени растения пипер в рамките на биотест. Въпреки, че би могло да се предположи, че целта на биотеста е идентифициране на чувствителни на PSTVd сортове пипер, това е експлицитно упоменато. По мое мнение биотестовите са изключително важни за разработката и трудоемки процедури и би могло да бъдат формулирани като по-мощна задача, която не се ограничава до сортовете Джульонска шипка и Куртовска капия. Последните два са избрани от общо седем сорта пипер за последващите изследвания. От сборни проби на неинфектирани и инфектирани с PSTVd растения е изолирана тотална РНК. За целта е използван Qiazol реагент, като методиката за изолиране на РНК не е указана. Посредством конвенционален PCR докторантката е доказала PSTVd инфекция и е провела полуколичествена оценка на виридният товар. Установено е, че същият е по-висок при сорта Джульонска шипка. След окачествяване същата е изпратена за секвениране, а резултатите са положени на последващо филтриране, и са подложени на последващ анализ както следва: 1) картирани са върху референтен PSTVd геном, като по този начин е доказана репликация на вирида в двата сорта пипер и 2) проведен е анализ на диференциално експресирани транскрипти в отговор на виридна инфекция. Въпреки, че NGS данните показват наличие на SNP на позиции 288, 298, 301 и 333, същите не са доказани посредством клониране и последващо секвениране. Установена е диференциална експресия на над 200 миРНК, отнасящи се към над 60 семейства. В голяма част от случаите профилът на регулация на генната експресия при двата сорта показва специфичен профил. На тази база докторантката стига до заключението, че отговорът към PSTVd е соотвроспецифичен. По аналогичен начин е оценена и диференциалната експресия на кодиращи белтък кодиращи гени, които също така са валидирани и анотирани. Като цяло резултатите от разработката са представени, като е предоставена достатъчно по обем информация и подходяща биоинформатична и статистическа интерпретация. В раздела „Обсъждане“ е посветен на обсъждане на получените резултати в контекста на научните разработки на други колективи. Дискусията е задълбочена и адекватна на получените резултати. Като резултат от разработката са формулирани са десет извода и пет научни и научно-приложни приноса, които отразяват основните достижения на работата. Изводите са внимателно формулирани и отговарят по обем и съдържание на заложените цел и задачи на дисертационната разработка. Приносите са основно с фундаментален характер, но с потенциал за практическа приложимост. Цялостното съдържание на дисертационния труд го характеризира като една сериозна, пълна и добре структурирана

разработка. При анализа на представения дисертационен труд не съм установил данни за плагиатство.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Резултатите от научната разработка са обобщени в пет научни и научно-приложни приноса както следва:

- За пръв път са изследвани молекулните взаимодействия между PSTVd и два сорта български пипер чрез широко-машабни експресионни анализи на малки РНК и иРНК.
- За първи път са идентифицирани диференциално експресирани миРНК и диференциално експресирани белтък-кодиращи гени в сортовете пипер КК и ДШ, които колективно детерминират включването на сортово-специфичен отговор спрямо PSTVd.
- Описаните молекулни взаимодействия между PSTVd и пипер предполагат участието им в модулиране на виroidното разпространение, репликация, и развитие на виroid-специфична симптоматика, с което могат да допринесат в развитието на стратегиите за подобряването на контрола на PSTVd инфекция сред селскостопански култури.
- Резултатите от проведеното широкомащабното секвениране на иРНК, получени от инфектирани и контролни растения пипер са анотирани в биобаза данни NCBI
- Резултатите от широкомащабното секвениране на малки РНК по настоящата дисертация са анотирани в био база данни NCBI SRA

Приносите са внимателно и точно формулирани, отговарят на поставените цели и задачи и са съответни на представените резултати.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

По настоящата процедура, докторантката е представила три научни публикации, пряки свързани с резултатите от дисертационния труд. Две от тях са с импакт фактор 3,4 и 3,9 в списания от кuartил 1, а една е в „Научни трудове на СБУ“. В една от публикациите с импакт фактор, докторантката е първи автор а в останалите две-втори. Към момента на изготвяне на рецензията в публичните бази данни са установени седем цитата на научни статии на докторантката, като четири от цитиранията са на статии, отразяващи резултатите од дисертационния труд. Докторантката е посочила участия в шест научни конференции, свързани с десеминация на данните от рецензираната разработка.

9. Лично участие на докторантката

Предвид участието на докторантката в списването на три научни публикации, свързани с дисертационния труд и участието и е шест научни форума, както и цялостното изложение на дисертационния труд считам, че личното участие на докторантката е в обем напълно съответен на изискванията заложи в Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“.

10. Автореферат

По настоящата процедура са представени два автореферата на български и респективно на английски език. Авторефератите отразяват напълно основните научни постижения на докторантката. Двата варианта са идентични и в обеми съответно 33 и 31 машинописни страници. Авторефератът в изготвен съгласно общоприетия модел и отразява пълно и точно получените резултати.

11. Критични забележки и препоръки

Освен посочените по-горе бележки към дисертационния труд следва да бъдат отбелязани и следните пропуски: Форматирането на таблиците би могло да бъде подобро и унифицирано; Терминът „картофени грудки“ е използван неправилно, следва да бъде заменен с „картофени клубени“; На места не е спазена номенклатурата по изписване на наименованията на рестриктазите; На някои фигури липсват обозначения (например фиг.12); На фигура 17 ивица на агарозния гел е обозначена като 25S рРНК предполагам, че се касае за 28S рРНК; Структурата на PSTVd е представена на фигури 4 и 5, като на фиг. 4 една и съща информация е представена по три различни начина; Част от фигурите и графиките са на английски език; Разделителната способност на някои от фигурите прави невъзможна интерпретацията на представените резултати; На места научен жаргон е преведен неправилно на български език, например ПСР вместо РСР.

Като цяло тези пропуски се отразяват на представянето на дисертационния труд, но не намаляват стойността на получените резултати.

12. Лични впечатления

Личните ми впечатления от работата на докторантката са бегли и не биха могли да допринесат за оценка на работата и.

13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Нямам такива.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд *съдържа научни, научно-приложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката* и отговарят на изискванията 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 необходимите 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: област на висше образование: 4 Природни науки, математика и информатика; професионално направление: 4.3 Биологически науки; докторска програма „Молекулярна биология“

29.03 2023 г.

Рецензент:

(подпис)

доц. дсн Самир Наимов

(ак. дл., н. ст., име, фамилия)