

РЕЦЕНЗИЯ

от д-р Антоанета Борисова Трендафилова,
професор в Институт по органична химия с център по фитохимия – БАН,
член на научното жури за придобиване на ОНС „доктор“ съгласно
заповед РД 42/02.05.2025 г. на Директора на ИБЕИ при БАН

относно дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“
в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика,
професионално направление: 4.3. Биологически науки, докторска програма: Ботаника

Автор: **Габриела Иванова Хайст**

Тема: **Проучване на биосинтезата на галантамин в *Hippeastrum papilio* (Ravenna) van Scheepen**

Научен ръководител: проф. д-р Страхил Берков - Институт по биоразнообразие и
екосистемни изследвания – БАН

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният от Габриела Хайст комплект материали на хартиен и електронен носител е в съответствие с Правилника за развитие на академичния състав на ИБЕИ - БАН, отговаря на критериите и включва всички необходими документи. Докторантката е представила справка за натрупаните кредити, както следва: изпълнение на образователната програма - 180 т. (задължителен минимум 130 т.), апробация на изпълнението на научната програма – 64 т. (задължителен минимум 40 т.), публикувани научни резултати - 90 т. (задължителен минимум 80 т.). Общият брой кредити за периода на докторантурата (334 т.) значително надвишава задължителния минимум от 250 т. Докторантката е приложила също 4 броя публикации по темата на дисертацията, списък на забелязани цитати по научните трудове, включени в дисертационния труд, списък на участия в научни мероприятия и съответния доказателствен материал, както и справка за приносите на дисертационния труд.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Габриела Хайст завършва бакалавърска програма „Молекулярна биология“ (2010 г.) и магистърска програма „Молекулярна биология-биохимия“ (2013 г.) в Биологически факултет на СУ „Св. Кл. Охридски“. В периода 2021-2013 г. е осъществила стаж по програма Еразъм във Факултета по фармация на Университета в Барселона, където се е запознала и усвоила техники като ГХ-МС и ЯМР и работа с база данни. Зачислена е като редовен докторант в ИБЕИ-БАН, научна специалност „Ботаника“ през септември 2019 г. След двегодишно прекъсване през април 2021 г. е възстановена в редовна докторантура. Габриела Хайст е отчислена с право на защита през декември 2023 г.

3. Обща характеристика на дисертационния труд

Дисертационният труд, написан на 93 страници е конструиран както следва: увод (1 стр.), литературен обзор (16 стр.), цели и задачи (1 стр.), Материали и методи, Резултати и Обсъждане, представени чрез копия от публикациите по темата на дисертацията, съгласно чл. 9 от Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в ИБЕИ-БАН“ (43 стр.), заключение (1 стр.), основни изводи (2 стр.), декларация за оригиналност и достоверност (1 стр.), приноси (1 стр.) и 20 страници списък на литературните източници с 173 заглавия. Представеният автореферат (30 стр.) е изготвен според изискванията и съдържа основната информация от изследванията включени дисертационния труд. Налице е резюме на дисертационния труд на английски език (2 стр.). Не се установява плагиатство съгласно предоставения доклад.

4. Литературна осведоменост и теоретична подготовка на кандидата

В дисертационния труд са цитирани общо 173 източника, една значителна част от които през последните 5 години. Литературният обзор обхваща няколко направления, които съответстват на така формулираните цели и задачи на дисертационния труд и включва подробна информация за представителите на семейство Amaryllidaceae, общите характеристики на род *Hippeastrum* и *Hippeastrum papilio* (Ravenna) van Scheepen, структурата, биосинтеза, биологичната активност на амарилисовите алкалоиди, както и за факторите, повлияващи процеса на биосинтез на амарилисовите алкалоиди (плоидност, орган-специфичен биосинтез и натрупване на алкалоиди, макроеlementи, възраст на растенията, динамика на натрупване на алкалоиди и елиситиране).

Докторантката е усвоила специфичната терминология, познава отлично проблематиката, залегнала в дисертационния труд и акцентира върху всички основни аспекти на проведеното проучване. Представеният материал показва добрата литературна осведоменост и теоретична подготовка на кандидата.

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

Болестта на Алцхаймер е хронично, прогресиращо, невродегенеративно разстройство, засягащо мозъка и свързаните с него функции, като паметта, мисленето и поведението. Съгласно данни на СЗО този вид деменция засяга повече от 55 милиона души в световен мащаб като всяка година се откриват приблизително 10 милиона нови случаи. За терапия на болестта на Алцхаймер се използват т. нар. ацетилхолинестеразни инхибитори. Един от тях е амарилисовия алкалоид галантамин, одобрен от Агенцията за контрол на храните и лекарствата към САЩ (FDA). Източници на галантамин са *Galanthus nivalis*, *Narcissus pseudonarcissus* cv. Carlton, *Leucojum aestivum*, *Lycoris* sp., както и *Hippeastrum papilio*, обект на настоящия дисертационен труд. За индустриалното производство е важно източникът на биологично активни вещества да е лесно достъпен и да е богат на целевите компоненти. Това може да се постигне чрез задълбочено изследване на факторите влияещи върху биосинтеза на биологично активни вещества като галантамин, така и върху динамиката на натрупване на биомаса. Такава е и целта на дисертационния труд. Задачите са формулирани ясно и напълно съответстват на темата на дисертацията. Тематиката е изключително актуална и интересна, както от научна така и от практическа гледна точка.

5. Методичен подход

Изследването е проведено по съвременна и адекватна, добре разработена методика, която позволява постигането на поставената цел и решаването на задачите. За морфологичните и кариологичните изследвания, хистохимичните анализи, за изследване на динамиката на растеж и биосинтез на галантамин са използвани растения от *Hippeastrum papilio* отгледани в различни условия - *in vitro* и *ex vitro* растения, аклиматизирани върху перлит като хидропонни култури в климатична стая или в почва, в различен етап от развитието си и др. Ефектът на елиситора върху натрупването на галантамин в *H. papilio* е изследван чрез добавяне на различни концентрации на салицилова киселина към хранителния разтвор и анализиране на пробите през определен интервал от време. Отглеждането и размножаването на растенията е осъществено по утвърдени протоколи. За фитохимичните анализи са получени екстракти от съответния растителния материал, които след силилиране са анализирани чрез ГХ-МС. За количественото определяне на галантамин и/или хемантамин е приложен ГХ-МС метод с различни концентрации на галантамин и кодеин като вътрешен стандарт. За анализ на

фенолните съединения, получени след хидролиза и силилиране е използван също ГХ-МС метод. Използвани са статистически методи за обработка и интерпретиране на получените резултати.

6. Значимост и убедителност на резултатите, интерпретациите и изводите

Получените резултати са детайлно описани, анализирани и интерпретирани в приложените публикации. Въз основа на анализа на получените резултати и обработката на данните със статистически методи е установени най-подходящите условия за биосинтез и натрупване на галантамин и хемантамин в хидропонно отглеждани *Hippeastrum papilio*. Като по-съществени резултати могат да бъдат посочени:

- положителното влияние на полиплоидността върху биосинтез на алкалоиди, докато при натрупването на биомаса този ефект е отрицателен;

- установяване на органната и клетъчна локализация на алкалоидите при *Hippeastrum papilio*, а именно натрупване на галантамин и хемантамин основно в луковиците – по-специално в тяхната централна част (53-61%), докато откриването на алкалоиди в проводящите снопчета и други тъкан, показва, че протича активен транспорт между различните органи на тези важни вторични метаболити;

- проследяване на динамиката на натрупване на алкалоиди и биомаса в различните органи на *Hippeastrum papilio* през един вегетативен период и ефекта от добавяне на азот, калий и калций в хранителни разтвори на хидропонно отглеждани растения.

- установяване, че количеството на галантамин за кв. м. едногодишни растения *Hippeastrum papilio* растения, отглеждани като хидропонни култури е съизмеримо с това за двугодишните растения.

- увеличаване биосинтезата на галантамин в *Hippeastrum papilio* при елиситиране с различни концентрации салицилова киселина.

Значимостта на установените зависимости в изследването на процеса на биосинтез и натрупване на галантамин и хемантамин под влиянието на биотични и абиотични фактори в различни органи и възрасти на хидропонно отглеждани *H. papilio* растения е неоспорима. Изводите са точно и ясно формулирани.

7. Критични бележки към дисертационния труд

Нямам съществени критични бележки по дисертационния труд. Бих искала да отправя една препоръка към докторантката при бъдещите ѝ научни изследвания. ГХ-МС техниката не е удачна за изследване на полярни съединения в метанолни екстракти дори и след силилирането им, защото се пропускат съединения с по-висока молекулна маса и

такива, които са по-трудно летливи и не могат да се регистрират. ВЕТХ е по-чувствителен и сигурен метод за анализ на полярни съединения, особено фенолни. Не е коректно да се използва термина „метаболитен профил“, когато се изследват екстракти след предварителна хидролиза, тъй като се получава информация за хидролизираните продукти, а не за реалните метаболити в растенията. В условията на хидролиза е възможно да настъпят и други трансформации, водещи до продукти (артефакти), които не се съдържат в растенията.

8. Характер на научните приноси

Научните приноси са формулирани кратко, ясно и коректно отразяват получените от докторантката резултати. Всички научни приноси са оригинални, тъй като отразяват резултати от изследвания върху *Hippeastrum papilio*, проведени за първи път, а именно изследване на хромозомната морфология на диплоидни растения *H. papilio*, сравнителен анализ на първичните и вторични метаболити в диплоидни и автополиплоидни растения, хистологични изследвания за установяване на тъканната локализация на алкалоиди, количествено определяне на съдържанието галантамин и хемантамин в различни растителни органи и части на *Hippeastrum papilio* и влиянието на хранителни разтвори върху натрупването им, влиянието на елиситори в хидропонни култури от амарилисови растения за стимулиране на биосинтезата на биологично-активни вещества и анализ на продуктивността на *Hippeastrum papilio* като източник на галантамин.

Описаните в дисертационния труд резултати дават нова информация и допринасят за разширяване на познанията в областта на ботаниката, растителната биотехнология и фитохимията на *Hippeastrum papilio*.

Получените резултати имат и научно-приложен характер с потенциал за практическо приложение, а именно хидропонното култивиране на *H. papilio* като алтернатива за производството на галантамин. Необходими са допълнителни изследвания върху гъстотата на растенията (вертикално земеделие), хранителния разтвор и електропроводимостта, осветлението влажността и др., които да определят подходящите условия за натрупване на биомаса и галантамин със стопанско значение.

Приемам справката за научните приноси, формулирана от докторанта.

9. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Изследванията по дисертацията са обобщени в 4 публикации, от които 3 в списания в кuartил Q1 (Planta, Journal of Plant Physiology и Agronomy) и 1 в списание в кuartил Q3 (Доклади на БАН), преминали през оценка на рецензенти. Счита́м, че експерименталните

результати, както и тяхното представяне и анализ са в голяма степен лично дело на докторантката. Това се потвърждава и от факта, че Габриела Хайст е първи автор в представените публикации. Забелязани са 6 цитата от чужди автори, което е потвърждение за актуалността на тематиката и интереса към проведените изследвания. Резултатите от изследванията, включени в дисертационния труд са представени като постерни доклади на две международни конференции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни и научно-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 Правилника за прилагане на ЗРАСРБ на БАН. Представените материали и резултати напълно съответстват на специфичните изисквания на Правилника на ИБЕИ-БАН за приложение на ЗРАСРБ. Дисертационният труд показва, че докторантката Габриела Хайст притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност „Ботаника“ като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята положителна оценка за проведеното изследване и предлагам на почитаемото научно жури **да присъди** образователната и научна степен „доктор“ на Габриела Хайст в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност „Ботаника“.

11.06.2025 г.

Изготвил рецензията:

(проф. д-р Антоанета Трендафилова)