

Хабилитационна разширена справка за научните приноси

на гл. ас. д-р Петя Николаева Първанова,

предоставена във връзка с участието в конкурс за заемане на академичната длъжност „доцент“ по професионално направление **4.3. Биологически науки, научна специалност „Генетика“**, за нуждите на секция „Мутагенеза от околната среда“, отдел „Екосистемни изследвания, екологичен риск и консервационна биология“ към ИБЕИ - БАН

Въведение

През 2005г. започнах работа като биолог в Централната лаборатория по обща екология – БАН (ЦЛОЕ), която през 2010г. влезе в състава на новосформирания Институт по биоразнообразие и екосистемни изследвания при БАН (ИБЕИ). Участвах в провеждането на краткосрочен активен биомониторинг с биоиндикаторния вид *Nicotiana tabacum* L. (Bel В - толерантен и Bel W – чувствителен сорт на тропосферен озон) на територията на град София и на Плана планина.

Интересът ми към проучване на механизмите на действие на озона и реакцията на растенията както на организмово, така и на клетъчно ниво, задълбочи желанието ми за провеждане на интензивни проучвания при специфични микроклиматични условия, използвайки широк набор от растителни видове и прилагането на набор от тестове с различни разрешителни възможности.

В тази връзка интересът ми прерасна в разработването на дисертационен труд на тема: „Влияние на тропосферния озон върху физиологичната активност и някои биохимични показатели на фиданки от чувствителни и толерантни дървесни видове“, който успешно защитих през 2011г., под ръководството на доц. д-р Николина Цветкова от ЛТУ и гл. ас. д-р Светла Братанова-Дончева, консултант от ЦЛОЕ/ИБЕИ – БАН.

Получените интересни резултати от дисертационната ми разработка засилиха желанието ми да разширя изследванията си в проучване на някои от механизмите/системите, участващи в преодоляването на индуцирания стрес и генотипната устойчивост. Това насочи бъдещите ми интереси в сферата на генетиката. Като главен асистент и след преместването ми в сегашната секция по „Мутагенеза от околната среда“ ми беше дадена възможност за провеждане на научни експерименти в тази област.

В секция „Мутагенеза от околната среда” се работи по три основни направления:

- Профилактика на индуцираната мутагенеза (антимутагенеза), посредством екзогенно прилагане на природни продукти;
- Оценка на мутагенните и комутагенните свойства на ксенобиотици от околната среда чрез използване на комплекс от *in vivo* тестове и критерии с различни разрешителни възможности: микробиологични, биохимични и молекулярни;
- Анализ на механизмите на генотипната и индуцираната устойчивост (адаптивен отговор–АО) и изследване мащаба на адаптивния отговор от устойчивостта на генома.

В секция “Мутагенеза от околната среда” към ИБЕИ посочените по-горе направления се разработват на четири тест системи – едноклетъчни зелени водорасли от родовете *Chlamydomonas* и *Chlorella*, дрожди – *Saccharomyces cerevisiae*, висши растения – *Pisum sativum* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Solanum tuberosum* L., прасковена листна въшка - *Myzus persicae*.

Основните обекти на моите изследвания са *Chlamydomonas reinhardtii* [B4.1; B4.2; B4.3; B4.4; B4.6; B4.7; B4.8; Г7.11; Г7.12; Г8.1; Г8.2] и висши растения [B4.5; Г7.4; Г7.11; Г7.13; Г8.1], като активно участвам и в част от провежданите изследвания на другите два обекта - *Saccharomyces cerevisiae* [B4.8; Г7.1; Г7.6; Г7.8; Г7.9; Г7.10; Г7.11; Г7.12] и *Myzus persicae* [B4.8; Г8.1].

Поради широкото разпространение на едноклетъчните зелени водорасли в природата - езера, блата, локви, почви, соленоводни басейни - краткия жизнен цикъл, хаплоидния набор хромозоми, което позволява рецесивните мутации да се проявяват още в първо поколение, сравнително лесния начин на лабораторно култивиране, типичния за растителната клетка еукариотен строеж, фотосинтезиращ организъм с типичен за растителната клетка добре оформен хлоропласт, едноклетъчните зелени водорасли от родовете *Chlamydomonas* и *Chlorella* са удобен модел в изследванията в областта на генотоксикологията, мутагенезата и антимутагенезата, скрининга на различни антропогенни замърсители, чрез използване на широк набор биохимични и молекулни маркери за индуциран окислителен стрес и изучаване на механизмите на генотипна устойчивост [B4.1; B4.2; B4.3; B4.4; B4.6; B4.7; B4.8; Г7.11; Г7.12; Г8.1; Г8.2]. В секцията е създадена и се поддържа богата колекция от високо радио- и хемо-устойчиви и дефектни по различни типове репарация щамове.

Pisum sativum L., *Phaseolus vulgaris* L. и *Solanum tuberosum* L. са подходящ обект в изследванията по мутагенезата от околната среда, за изясняване на механизмите и системите, участващи във формирането на стресовия отговор и генотипната устойчивост при висшите растения [B4.5; Г7.4; Г7.11; Г7.13; Г8.1].

Статиите, в показател В „Хабилитационен труд” покриват основните насоки на работа по посочените по-горе главни направления. Публикациите са разделени по показател В и Г, и също са в областта на тези направления. С цел избягване на повторение във формулировката, приносите са обединени за Показателите В и Г.

Като главен асистент задълбочих работата си в следните направления:

Научна област 1: Профилактика на индуцираната мутагенеза (антимутагенеза), посредством екзогенно прилагане на природни продукти

Екзогенното прилагане на природните продукти от *Clinopodium vulgare* L. *Amorpha fruticosa*, *Ailanthus altissima*, както и два от основните конституента на екстракта от *Lilium candidum* – кемпферол и ятрофам, върху две тест-системи *Chlamydomonas reinhardtii* [B4.1; B4.2; Г8.2] и *Saccharomyces cerevisiae* [Г7.6; Г7.8] позволи да се получи допълнителна и нова информация за някои от основните механизми на антимутагенезата.

1. Установено е, че в зависимост от начина на прилагане на биологично активните природни продукти, отговорът на клетките към окислителен стрес може да бъде значително модулиран - от липса на генотоксичен, мутагенен и ДНК увреждащ ефект до добре изразени увреждащи свойства [B4.1; Г7.6; Г7.8; Г8.2]. Получените резултати имат приносен характер към механизмите на антимутагенезата и изясняването на ролята на експерименталния дизайн.

2. Установено е, че ДНК защитният потенциал на природни растителни продукти се дължи до голяма степен на антиоксидантния им потенциал и ускорената репарация на ДВР в ДНК [B4.1; B4.2; Г7.6; Г8.2]. Получените данни допринасят за изясняване на един особено важен въпрос за взаимовръзката между начина на екзогенно прилагане на биологично активните вещества с природен произход, експерименталния дизайн и крайния биологичен ефект. Все още дискуссионен остава въпросът дали биологичната

активност на екстракти от природни растителни източници би трябвало да се преценява на базата на биологичната активност на тоталния екстракт или негови основни конституенти.

Научна област 2: Оценка на генотоксичния потенциал на ксенобиотици от околната среда чрез използване на комплекс от *in vivo* тестове и критерии с различни разрешителни възможности: микробиологични, биохимични и молекулярни

Разработена е система за оценка на генотоксичното, мутагенното, канцерогенното и ДНК увреждащо действие на физични [B4.5; Г7.4; Г7.13] и химични [B4.8; Г7.11;] фактори от околната среда, в това число и природни продукти с растителен произход [B4.3; B4.6; B4.7; Г8.1]. Използван е комплекс от тест-системи с различни разрешителни възможности - *Chlamydomonas reinhardtii* [B4.3; B4.6; B4.7; B4.8; Г7.11; Г8.1]; висши растения [B4.5; Г7.4; Г7.11; Г7.13; Г8.1]; *Saccharomyces cerevisiae* [B4.8; Г7.11] и *Myzus persicae* [B4.8; Г8.1], и набор от химични, микробиологични, биохимични и молекулярни маркери.

1. Установено е, че тоталният листен екстракт от *Narcissus* cv. Hawera и етеричното масло от *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* имат добре изразен генотоксичен и ДНК увреждащ капацитет при моделния обект *Chlamydomonas reinhardtii*, но не притежават мутагенен потенциал [B4.3; B4.6; B4.7; Г8.1]. Получената информация е принос към "зелените технологии".

2. Установените разлики в биологичната активност на двете фракции на метаноловия екстракт от *Origanum vulgare* subsp. *Hirtum* вероятно се дължат на основния конституент - карвакрол в **не полярната** фракция, която се характеризира със силно изразен генотоксичен и ДНК увреждащ ефект при *Chlamydomonas reinhardtii* за разлика от полярната фракция [B4.6]. Резултатите биха представлявала интерес за бъдещи изследвания за целите на „зелените технологии“.

3. Доказано е, че повишените нива на липидно перокисление и вътреклетъчни прекиси могат да се използват като евтини и надеждни ранни маркери за оценка размера на индуцирания окислителен стрес при растителни тест-системи [B4.5; Г7.4; Г7.13; Г8.1]. Получената информация може да се използва за целите на генотоксикологията.

4. За целите на генотоксикологията са разработени 2 комплекса от тест-системи и критерии за оценка увреждащия потенциал на ксенобиотици, присъстващи в околната среда [B4.8; Г7.11]:

4.1. Установено е, че хлорпирифос е широко спектърен пестицид, който има генотоксичен, мутагенен, фитотоксичен, афициден, ДНК увреждащ, рекомбиногенен и кластогенен ефект.

4.2. Установените генотипни разлики в чувствителността на *Chlamydomonas reinhardtii*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Phaseolus vulgaris* L. позволяват едноклетъчните зелени водорасли да се посочат като чувствителна тест-система за разкриване на ниски концентрации PbCl₂.

4.3. Получена е нова информация, че PbCl₂ уврежда фотосинтетичните пигменти и ДНК индиректно чрез индуцирания окислителен стрес.

Научна област 3: Механизми на генотипната устойчивост

На базата на морфометрични, микробиологични, физиологични, биохимични и молекулни методи при различни тест системи – *Chlamydomonas reinhardtii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Phaseolus vulgaris* L., *Pisum sativum* L., *Myzus persicae* е получена оригинална информация за ролята на фазата на развитие, митотичния цикъл и ДНК репаративния капацитет при формирането на генотипната устойчивост [B4.4; B4.5; Г7.1; Г7.4; Г7.6; Г7.9; Г7.10; Г7.12; Г7.13].

1. Използвайки мутантни и конструирани едноклетъчни организми и комплекс от микробиологични, биохимични и молекулни методи са получени нови данни за ролята на физиологичното състояние, фазите на митотичния цикъл и репаративния потенциал на клетките при изработването на стресовия отговор и генотипната устойчивост към химични индуктори на окислителен стрес с различна природа (екстракт от *Clinopodium vulgare* L., зеоцин, менадион, пчелна отрова). Резултатите са принос към хипотезата за механизмите, участващи във формирането на генотипната устойчивост [B4.4; Г7.1; Г7.6; Г7.9; Г7.10].

2. Използвайки сортове и мутантни линии *Phaseolus vulgaris* L. и комплекс от показатели - H₂O₂, MDA, Pro и HSP70, беше установено, че силата на индуцирания окислителен стрес силно зависи от генотипа. Особено подчертана е ролята на Pro и HSP70. Като много чувствителен маркер, Pro може да се препоръча за разграничаване

на стресовия отговор дори при близкородствени генотипи и позволява отдиференциране на най-чувствителните. Неговата акумулация е ранно предупреждение за окислителен стрес. Свръхпродукцията на HSP70 е ранен сигнал за окислителен стрес и растителната адаптация. Резултатите са принос към генотоксикологията с ползи за селското стопанство [B4.5; Г7.4; Г7.12; Г7.13].

Освен в сферата на мутагенезата от околната среда съм провеждала и съм участвала в провеждането на експерименти свързани с оценка на ефекта на антропогенни замърсители и фактори на околната среда чрез тест-система висши растения [Г7.2; Г7.3; Г7.5; Г7.7], имащи връзка с екотоксикологията и селското стопанство.

Научна област 4: Оценка ефекта на антропогенни замърсители и фактори на околната среда чрез тест-система висши растения, във връзка с екотоксикологията и селското стопанство

Прилагайки химични, морфометрични, физиологични и биохимични методи при различни тест системи – *Fraxinus excelsior* L., *Lactuca sativa* L., *Lepidium sativum* L., *Raphanus sativus* var. *radicula*, *Medicago sativa* L. (вариетет Плевен), *Zea mays* L., *Triticum vulgare* Host. (вариетет Садово) е получена ценна информация за стрес реакцията на тест-обектите, изложени на различни антропогенни замърсители [Г7.2; Г7.3; Г7.5] и фактори на околната среда [Г7.7].

1. Във връзка с изследване на антропогенни замърсители [Г7.2; Г7.3; Г7.5] е получена информация за:

1.1. На база на проведен съдов експеримент с фиданки от *Fraxinus excelsior* L. в градска и планинска среда чрез прилагане на набор от физиологични (интензивност на фотосинтеза, транспирация и проводимост на устицата) и биохимични (нива на СОД и КАТ) параметри е установено, че повишаването в антиоксидантна ензимна активност може да се използва като индикатор за оценка на ефекта на атмосферният замърсител. Получената нова и оригинална информация е принос към екотоксикологията.

1.2. Използвайки хидропонно култивирани царевични растения и набор от химични (атомно абсорбционенен спектрофотометър), физиологични (интензивност на фотосинтеза, транспирация и проводимост на устицата) и биохимични (съдържание на фотосинтетични пигменти) параметри за оценка на ефекта на кадмий (CdCl_2) и

паракват (PQ) приложени самостоятелно или в комбинация е получена информация за стрес реакцията и акумулативните свойства на растенията към CdCl_2 . В бъдеще, получените резултати биха представлявали интерес за целите на екотоксикологията и фиторемедиацията.

1.3. На база на екотоксична оценка на комплексна система растение-почва-вода, растенията третирани с отпадъчни води от Radomir Metal Industries, България е направена препоръка, отпадните води от металургичния комбинат да не се използват за напояване на обработваеми площи земята. Приложеният модел може да се използва при екотоксикологичните изследвания за целите на агроекологията.

2. На база на проведени изследвания с четири сорта *Lactuca sativa* L., и набор от физиологични параметри (интензивност на фотосинтезата, транспирацията и ефективността на използване на вода) се установи, че зеленолистите салати проявяват най-добрата адаптивност към ниска температура и засенчване, и може да се използва в практиката за удължаване на периода на вегетативен растеж. [Г7.7]. Получената информация може да се използва за целите на селското стопанство.

гр. София
27.02.2025г.

С уважение:
Петя Първанова