

## РЕЦЕНЗИЯ

На представените документи по конкурса за доцент по биохимия (шифър 01.06.10, обявен в ДВ бр.24 от 26.03.2010 г) за секция Молекулярна биология на растителния стрес на Института по физиология на растенията и генетика - БАН, тематика “Стрес-индуцируеми белтъци и тяхната характеристика”, одобрена на заседание на Научния съвет на ИФРГ от 05.05.2011 г.

**Рецензент:** Милка Стоянова Сеченска, професор по биохимия, д.б.н.

Документи за участие в конкурса е подала главен асистент д-р Людмила Петрова Симова-Стоилова от ИФРГ.

### 1. Обща характеристика на научните трудове

Научните изследвания на д-р Симова-Стоилова са в областта на растителната биохимия и по-конкретно пречистване и характеристика на ензими и белтъци, получаване и използване на поли- и моноклонални антитела към тях, търсене на белтъчни маркери, свързани с устойчивост или чувствителност на абиотичен стрес. Те могат да се разделят на две основни направления:

- а.** Биохимична и имунохимична характеристика и белтък-белтък взаимодействия на рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза/оксигеназа (Рубиско), Рубиско активаза и Рубиско-свързващ белтък; протеолитично разграждане на Рубиско.
- б.** Биохимични и ензимологични промени, предизвикани от различни видове абиотичен стрес, предимно токсичност от тежки метали (Cu, Mn и Cd) и засушаване с акцент върху съдържанието и разграждането на специфични белтъци.

Д-р Симова-Стоилова участва в конкурса с 35 публикации по растителна биохимия и имунохимия, от които 22 по конкретната тематика на конкурса “Стрес-индуцируеми белтъци и тяхната характеристика”, приета на заседание на НС на ИФРГ на 05.05.2011 г.

От общия брой статии 16 са в български издания, като 3 от тях са цитирани от чужди автори, което ги приравнява на статии с импакт фактор (в две от тях д-р Симова-Стоилова е първи автор). Шестнадесет статии са публикувани в международни списания с импакт фактор, една - в книжна поредица, две – в сборници от конференции в чужбина.

По конкретната тема на конкурса (Публ. № 13 и 15-35) четири са в Доклади на БАН (№17-20), една е в *Bulg.J.Plant Physiol.* (№ 13). Тя е цитирана 4 пъти от чужди автори и се приравнява към статиите с IF. Четиринадесет статии са публикувани в чужбина в списания с IF ( № 16, 21-23, 25-27, 29-35). Две статии са в специалните издания на *General and Applied Plant Physiology* за 2006 и 2008 г (№ 24 и 28) и също имат цитати в чужбина. Една статия е поканен обзор в *Recent Research Developments in Biotechnology and Bioengineering* (№ 15).

## **2. Оценка на качеството на научните трудове**

Според мен качеството на един научен труд се определя от импакт фактора на списанието, в което е публикуван и от интереса, който предизвиква в международната научна общественост, т.е. от броя на цитиранията.

Общият IF на публикациите на д-р Симова-Стоилова е 19.88, а личният – 4.59. Към 10.05.2011 г. са намерени общо 205 цитирания, като 11 са от български и 194 – от чужди автори. Някои публикации по конкретната тема на конкурса са намерили изключително висок положителен отзив в чуждестранната литература, напр. Публикация № 21, касаеща стрес-ефектите на Cu и Mn, е цитирана 94 пъти. Публикация № 23 (топлинните стрес-ефекти) е цитирана 17 пъти. Публикации № 25 и 26, описващи ответните биохимични реакции на Cd-предизвикан окислителен стрес, са цитирани съответно 9 и 22 пъти. Публикации № 28-35 (стрес, предизвикан от засушаване) са цитирани общо 33 пъти. Това са само някои примери от приложената справка за намерените цитирания с общ IF 254.466 и тя ми дава основание да квалифицирам трудовете на д-р Симова-Стоилова като **висококачествени и на съвременно научно ниво.**

### 3. Оценка на методичните подходи

Направените от д-р Симова-Стоилова научни приноси, на които ще се спра по-надолу, са обусловени от прилагането на редица **адекватни препаративни и аналитични методи**, някои от които са разработени в лабораторията за първи път.

### 4. Анализ на научните постижения на кандидата

Публикации № 1-14 включват изследвания на ключовия фотосинтетичен ензим Рубиско и функционално свързаните с него Рубиско активиза и Рубиско свързващ белтък. Оригиналните научни резултати от биохимичната и имунохимичната характеристика на тези белтъци могат да се обобщят както следва:

1. Разширени са изследванията върху характеристиката на моноклонални антитела срещу Рубиско, като е направено картиране на епитопите върху молекулата на ензима от ечемик (№5,7,8), както и от пет различни и важни за земеделието растителни видове (№6).
2. Получени са имунохимични доказателства за белтък-белтък взаимодействия между Рубиско и Рубиско активизата, Рубиско и Рубиско-свързващия белтък. Те се осъществяват на места различни от активния център на Рубиско (№10,11).
3. Разработен е високочувствителен ELISA тест за оценка на специфичната протеолиза на Рубиско въз основа взаимодействието авидин-биотин (№12).
4. Открити са сортови различия при мобилизацията на Рубиско като резервен белтък във флаговия лист на ечемичени растения в стадий млечна зрелост (№14).

Тъй като количеството на Рубиско се дължи не само на синтез, но и на протеолитичното му разграждане, една част от публикациите се отнасят до механизма на протеолизата при различни условия (публ. № 7,9,12,13,16,22,24,28,31,35). Изследвана е специфичната протеолиза на Рубиско в подложени на тъмнинно стареене млади ечемичени растения и изолираните от тях интактни хлоропласти. Оригиналният принос е:

5. Наличие на отделни активности, разграждащи Рубиско, които се различават по зависимост от АТФ и метални йони, инхибиторен профил и динамика в хода на индуцираното стареене (№ 13 и 16).

Друг оригинален принос към тази група изследвания, подкрепен с резултати за антиокислителната защита в хлоропластите е:

6. Окислителната модификация на Рубиско в хода на тъмнинно индуцираното стареене не е необходимо условие за селективното му разграждане в ранния обратим стадий на стареенето (публ. №22).

Белтъчните промени и ензимната антиокислителна защита при токсично натрупване на тежки метали показва, че:

7. Промяната в общия листен белтък в голяма степен е свързана с намаляване количеството на Рубиско. При медна и манганова токсичност с нарастване силата на стреса и появата на видими симптоми на токсичност се увеличава количеството на карбонилни групи в белтъците като маркер за окислителната им модификация; при кадмиева токсичност няма достоверно увеличаване на карбонилните групи в белтъците, тъй като Cd е редокс-неактивен метал (публ. №18,19,21,25).
8. Установени са две фази в отговора на антиокислителните ензими на токсичност от тежки метали в зависимост от силата на стреса: при слаб стрес се наблюдава адаптация, свързана с увеличена активност на СОД; силният окислителен стрес е съпроводен с подтискане активността на СОД, увеличаване на каталазната активност и особено изразено покачване на общата пероксидазна активност. Индукцията на гваякол-пероксидаза е механизъм за детоксификация на тежките метали в цитозола и клетъчните стени (публ. № 20, 21, 25).
9. Важен оригинален резултат е получен при изследване на трансформирани тютюневи растения с металотионеинов ген, който подобрява фитоаккумуляцията на Cd в корените и листата. По-силното намаляване на листния белтък и на Рубиско в трансформираните растения при най-високата доза Cd съответства на по-голямото натрупване на токсичния метал в листата

на трансформантите. Те имат и достоверно по-висока гваякол-пероксидазна активност в контролни и стресови условия (публ. №26).

Изследвана е антиокислителната защита на няколко сорта пшеница при засушаване и възстановяване на растенията (публ. №24, 28-35).

10. Адаптационните механизми към силно засушаване на ранна фаза от развитието са насочени по-скоро към толериране на стреса, отколкото към неговото избягване. Те се характеризират с драстичното увеличение на количеството на пролина (около 100 пъти) и на някои чаперони като калпаиновите белтъци в листата на стресираните растения (публ. № 29-30) – оригинален резултат.
11. Наблюдава се драстично нарастване на мембранната пропускливост при топлинен стрес на тъмно, докато на светло мембранните увреждания от стреса са по-слаби (публ. № 23).
12. При UV-B стрес силно се увеличава пероксидазната и супероксид-дисмутазната активности (публ. № 27).

## **5. Характер на научните приноси, значимост и убедителност на получените резултати и изводите**

Получените оригинални резултати имат преди всичко фундаментален характер, но някои от тях биха могли да намерят и практическо приложение, например маркерите за устойчивост на стрес, откриваеми на ранен етап от развитието на важни селскостопански култури. Доказателство за значимостта и убедителността на научните приноси е широкият отзив в чужбина – високата цитируемост на публикациите.

## **6. Критични бележки**

Нямам съществени критични забележки към работите на д-р Симова-Стоилова. Всяка статия представлява коректно научно изследване, на което не оспорвам резултатите.

## **7. Доколко представените трудове са лично дело на кандидата**

Представените публикации са резултат на 17-годишна научно-изследователска работа, в която д-р Симова-Стоилова е активен участник. В 13 статии тя е първи автор (6 – публикувани в чужбина, 5 от тях с IF), втори автор е в 17 и трети и следващ автор - в 5 публикации. В документите е приложен и разделителен протокол на съавторите, от който се вижда личното участие на кандидата.

## **8. Заключение**

На обявения конкурс за доцент по биохимия на тема “Стрес-индуцируеми белтъци и тяхната характеристика” материали за участие е представил гл. асистент д-р Людмила Симова-Стоилова. Тя участва с достатъчна по обем и качество научна продукция, която отговаря на приетите от НС на ИФРГ при БАН изисквания и критерии за хабилитиране на кадрите.

Д-р Людмила Симова-Стоилова е изграден учен с висока квалификация. Придобитият опит и знания ѝ позволяват да може да ръководи актуални научни проблеми, да обобщава научните резултати и да формулира научните си приноси. Нейното творчество е познато и цитирано в чужбина. Дългогодишните ѝ изследвания я характеризират като един от изявените специалисти по биохимия на растителните стрес-белтъци.

Всичко това ми дава основание да препоръчам гл. асистент д-р Людмила Симова-Стоилова да бъде избрана за доцент по биохимия.

30.05.2011 г.

Рецензент:

(проф. д.б.н. Милка Сеченска)