

Рецензия

**от професор Любомир Кирилов Илиев - доктор на биологическите науки
по конкурса за заемане на академичната длъжност "Доцент" по "Физиология
на растенията", обявен в ДВ бр. 59 /02.08.2011/
с кандидат главен асистент д-р Калина Иванова Ананиева**

В обявения конкурс за доцент по физиология на растенията участва един кандидат - гл. асистент д-р Калина Иванова Ананиева. Тя е завършила Английската езикова гимназия в София и след това Биологическия факултет на СУ "Св.Климент Охридски". Защитила е дисертация на тема: "Влияние на метиловия естер на жасмоновата киселина, абсцисиевата киселина и бензиладенина върху растежа, биосинтезата на белтък и РНК в изолирани семедели от тиквичка (*Cucurbita pepo zucchini*)" в СНС по физиология и биохимия на растенията и е получила научната степен "Доктор" през 1999 г. Има 27-годишна научно-изследователска дейност в ИФР "Акад. М. Попов", понастоящем ИФРГ при БАН. Основната част от научно-изследователската ѝ дейност е посветена на изследване на механизмите на стареене в семедели и листа на тиквичка (*Cucurbita pepo zucchini*) при естествено и изкуствено стареене, предизвикано от затъмняване или екзогенно въздействие с метиловия естер на жасмоновата киселина (ЖК-Ме) или абсцисиновата киселина (АБК). Съществените приноси на д-р Ананиева са свързани със спецификата на растителния орган (семедели или листа), както и различни схеми на третиране на органите, като са изследвани "sink-source" взаимодействията, реювенилизацията на семеделите след отстраняване на апекса (декапитиране) и др. Като антагонист (агент, забавящ стареенето) е използван 6-бензиламинопурият - БАП, което е позволило да се направят сериозни интерпретации за изясняване на процесите на стареене в растителните органи. За изследване на регулацията на процесите на стареене в семеделите и същинските листа са използвани съвременни физиолого-биохимични методи. Изолирани котиледони от репичка, краставица и др. двусемеделни растения често се използват като обекти за оценка на цитокикиновата активност на синтетични и естествени цитокинини, както и при други различни физиологични изследвания. Растящите изолирани котиледони от тиквичка, предварително изтощени от ендогенните цитокинини и АБК, предлагат по-висока чувствителност и специфика на отговора към екзогенни въздействия. Проблематиката, разработвана от кандидатката,

представлява един от основните приоритети на физиологията на растенията и агробиологията.

В обявения конкурс д-р К. Ананиева участва с 26 научни публикации, извън конкурса са 3 публикации, включени в дисертационния ѝ труд. 11 от публикациите ѝ са отпечатани в реномирани чуждестранни списания като *Journal of Plant Physiology*, *Plant Growth Regulation*, *Physiologia Plantarum* и др., а 14 са отпечатани в български издания, от които 5 с импакт фактор. Няма самостоятелни публикации, като в 11 от трудовете в съавторство е първи автор. Част от научните изследвания на кандидатката са представени на 13 научни форуми (конгреси, конференции, работни съвещания и др.) с доклади и постерни съобщения в Германия, Гърция, Франция, Чехия и у нас. Общият импакт фактор на публикуваните статии е 21.576. Този показател е висок, като се има предвид обстоятелството, че в биологичните науки изучаващи растенията, в сравнение с други науки (напр. медицинските), стойностите на импакт фактора са по-ниски - средно между 0.5 и 3.

Представен е коректен списък със 72 цитирания, от които 47 в чуждестранни списания и книги, и 25 у нас. Не мога да не отбележа и факта, че някои от цитиранията ѝ са в авторитетни списания като *Planta*, *Plant Cell Physiology*, *Journal of Plant Physiology*, *Plant Science*, *Journal of Environmental Botany*, *Journal of Experimental Botany* и др. Големият брой цитати, превишаващ двукратно съответните изисквания, показва сериозен интерес в специализираната литература към разработваната проблематика. Обстоятелството, че част от публикуваните резултати са цитирани в агрономически, агробиологически и биотехнологични списания (*Агрехимия*, *Northern Horticulture*, *Phytoparasitica*, *Agr J Biotech*, *J Stress Physiol and Biochem*) недвусмислено насочва и към определен научно-приложен интерес към разработките на автора. От направения до тук анализ се виждат много добрите наукометрични данни на кандидатката.

Обект на рецензиране ще бъдат 25 експериментални и 1 обзорна статия, които не са включени в дисертационния ѝ труд. Изследователската дейност на д-р Ананиева може условно да се отнесе към следните направления и периоди на активност:

1. а/ Повлияване на фотосинтетични параметри от азотно хранене, воден стрес и тежки метали (кобалт) при фасул, грах и царевица и биологична продуктивност; фотосинтетична активност и различни генотипове домати, хетерозис при грах и функционална активност на устицата. По време на тези изследвания (1986-1993 г.), кандидатката е работила като специалист-биолог.

б/ Влияние на природния продукт (инсектицид-акарицид) абамектин, признат за използване у нас, върху фотосинтетични параметри, РНК и протеиновата синтеза в прорастъци от тиквичка (2001-2002 г.).

2. Изследване на механизмите на стареене в семедели и листа от тиквичка при различни опитни постановки, включващи структурно-морфологични изменения, както и въздействия с естествени фактори и синтетични и естествени растежни регулатори. Общо взето, тази дейност е основен актив за участие в конкурса и се явява логично продължение на дисертационния труд на д-р Ананиева.

В публикации 1,2,4 е изследвано влиянието на водния дефицит и комбинирането му с азотно торене при фасул и царевица. Установено е, че водният дефицит потиска фотосинтетичната активност. Растенията поучили азот, възстановяват фотосинтетичния си апарат след спирането на водния стрес по-пълно от неторените. Резултатите имат научно-приложна значимост и отчасти потвърдителен характер. Интересни са резултатите, които показват, че функционалната характеристика на устицата (размер и честота) при хетерозистните хибриди не се различава съществено от родителските форми, но те имат по-висока фотосинтетична активност (публ.5). Показаните различия във фотосинтетичните характеристики на диви и културни форми домати са принос към агрофизиологията и селекцията в зеленчукопроизводството (публ.3).

Приносен характер имат и резултатите, които показват, че намаляване на свежата и сухата маса при грах в условия на излишък от кобалт се свързват с понижено хлорофилно съдържание, фотосинтетична активност и транспирация, както и повишение в активността на Рубиско, устичното съпротивление и количеството на пролина (публ.6).

Абамектинът-природен продукт от почвени микроорганизми, стимулира активността на фотосинтезата и синтезата на РНК и белтък в листа на двуседмични прорастъци от тиквичка, като паралелно с инсектицидното си действие, препаратът стимулира физиологичното състояние на растенията (публ.10, 11). Резултатът има определен научно-приложен принос.

Върху тези публикации могат да се направят някои бележки и препоръки:

1. Биологическата продуктивност, регистрирана след воден стрес и азотно торене, би трябвало да се проследява и в по-късни етапи от развитието на растенията, а не еднократно, както е видно от опитната постановка.

2. Откриването на стимулиращото действие на инсектицида абамектин върху растенията е принос към физиологичното действие на природните пестициди, но обвързването на състава на активното му вещество с изследваните параметри би подобрило определено качеството на резултатите. Не става ясно как авторите са се насочили към физиологичното действие на абамектина.

Най-съществената част от дейността на д-р Ананиева, свързана с изучаване на механизмите на процеса стареене и регулирането му в растителни органи, е отразена в 17 публикации, публикувани в чуждестранни и наши списания в периода 2000-2011 г. Част от проучванията са насочени към механизмите на действие на растежните регулатори антагонисти БАП и АБК, контролиращи развитието на семеделите от тиквичка, както и метиловия естер на жасмоновата киселина (ЖК-Ме), регулатор със сходно на АБК действие. Изследвано е действието им както индивидуално, така и след тяхното комбиниране. Установено е, че ЖК-Ме инхибира по-силно натрупването на хлорофил и фосинтетичната активност в сравнение с АБК в котиледони от тиквичка, като БАП сменя потискащия ефект на метилжасмоната (публ.7). Сходен ефект при позеленяващи растящи котиледони от тиквичка при взаимодействие между ЖК-Ме и БАП е получен по отношение на растежа им и протеиновата синтеза (публ.8). Интересни са резултатите, предполагащи че инхибиторният ефект на протеазния инхибитор PMSF върху разграждането на резервните протеини (полипептидният им профил) може да се дължи само на някои чувствителни към него протеази, вземащи участие в процеса на растежа на котиледоните (публ. 9). Инхибиторът PMSF потиска синтезата на жасмонат-индуцираните пелипептиди, което показва, че тези белтъци се изграждат от аминокиселини, получени вследствие на хидролизата на глуболините в котиледоните с участието на протеолитични ензими, чувствителни към PMSF.

Метиловият естер на жасмоновата киселина повлиява протеиновия метаболизъм в изолирани растящи котиледони от тиквичка по два начина - той индуцира синтезата на специфични жасмонат-индуцирани белтъци, както и натрупването на полипептиди с молекулна маса 97.4 и 53 kDa, и от друга страна - предизвиква ускорено разграждане на резервните белтъци по сходен начин с действието на цитокинините. АБК и ЖК-Ме инхибират активността на РНК полимераза I и РНК полимераза II по сходен начин, но ефектът на АБК е по-силен. Тези оригинални резултати са показани в публ.12, 13, 14 и 17. Метилжасмонатът провокира стареене в интактни котиледони от тиквичка, което се изразява в намаляване на хлорофила и повреди в хлоропластната ултраструктура. Това е свързано с намаляване на съдържанието на

физиологично активните цитокинини, най-вече на транс-зеатина и неговия рибозид. Предполага се, че индуцираното от жасмоната стареене може да е свързано с даун-регулацията на ендогенните цитокининови нива (публ.16). Установено е, че ЖК-Ме приложен екзогенно, повлиява по-силно стареенето в сравнение с тъмнината (публ. 20, 21).

Екстрахирана и частично пречистена е цитокинин оксидаза/дехидрогеназата (СКХ) от интактни листа на тиквичка, като са изследвани и някои биохимични характеристики на ензима. Определена е и субстратната специфичност към няколко ендогенни цитокинина. Ефектът на тъмнината да ускорява или забавя стареенето в единично затъмнен котиледон зависи от светлинния статус на другият котиледон от двойката котиледони. Наблюдаваната корелация между цитокининовото съдържание и активността на СКХ предполага, че СКХ се включва в механизмите на даун-регулацията на ендогенните цитокининови нива и показва, че СКХ-регулаторният цитокининов сигнал може да е възможния регулаторен механизъм, контролиращ стареенето в индивидуално затъмнените котиледони (публ. 19, 23).

Интересни са резултатите показващи, че уврежданията на структурата на хлоропластите причинени от тъмнината в котиледони от тиквичка корелират с понижаване на съдържанието на активни цитокинини, по-специално зеатин и цитокининовите нуклеотиди, докато възстановяването на структурата им след осветяване се съпътства с повишаването на тези нива. Това показва, че явлението би могло да бъде контролирано чрез премени в ендогенните нива на физиологично активните цитокинини и цитокининовите нуклеотиди (публ.15). При естественото стареене на котиледони от тиквичка се наблюдава деградация на резервните протеини (глобулини) и намаляване на съдържанието на голямата и малка субединица на Рубиско, както и намаляване на фотосинтетичната активност. По време на реювенилизацията се регистрира възстановяване на полипептидния профил на разтворимите белтъци и функционирането на фотосинтетичния апарат (публ.22).

Локалното затъмняване на котиледони или първични листа от тиквичка повлиява по органо-специфичен начин съседния орган, оставащ на светлинен режим. Затъмняването на двойката котиледони индуцира намаляване на цитокининовите нива, увеличаване на активността на СКХ и повишаване на нивото на АБК в съседните осветени първични листа. Обратно - затъмняването на първичния лист води до повишена метаболитна активност в осветените котиледони (повишена цитокининова активност, намалена активност на СКХ и намалено съдържание на АБК). Резултатите са индикация за механизъм на сигнализация между семенелите и

първичния лист, контролиран от цитокинините и АБК, който може да заработи, провокиран от фактори на околната среда (публ.25). Публикация №26 е качествен обзор върху процеса на листното стареене и регулирането му.

Разгледаната до тук дейност на д-р Калина Ананиева е целенасочена и актуална с акцент върху изследване на механизмите на естественото и изкуствено стареене и регулирането му при растящи котиледони и листа от тиквичка (*Cucurbita pepo zucchini*). Прави впечатление литературната осведоменост и задълбоченото обсъждане на резултатите. Основната част от приносите на проведените изследвания са дело на автора, което се вижда от последователността на опитните постановки, в тази връзка адекватното използване на съвременни физиолого-биохимични и молекулярно-биологични методи и отличното познаване на проблемите на растежните регулатори, фотосинтезата и биохимията на нуклеиновите киселини и белтъците. Принос за това са и специализациите на кандидатката при световно известни учени по цитокинини за дълъг период от време, както и косвените ѝ взаимоотношения с водеща лаборатория по физиология на растенията в Москва.

В цялостната си дейност д-р Ананиева има следните по-съществени приноси във физиологията и биохимията на растенията:

1. Задълбочава информацията за растеж-регулирущите свойства на жасмонатите, по-слабо проучена група растежни регулатори, както и за абсцисиновата киселина, естествените и синтетични цитокинини.
2. Разширява представата ни за регулация на процесите на стареене на прорастъци и изолирани органи (котиледони и листа) от тиквичка (*Cucurbita pepo zucchini*) след въздействие с естествени фактори и растежни регулатори.
3. Паралелното изследване на ЖК-Ме, АБК и БАП дава нова информация за спецификата на взаимодействието им в контекста на регулиране на стареенето на растенията и растителните органи.
4. Показано е, че има механизми на комуникация между котиледонния и първичния лист, контролирани от цитокинините и абсцисиновата киселина, които могат да се задействат в отговор на фактори на външната среда, като засенчване на листните органи през ранните стадии от развитието на растенията.
5. Показано е също, че процесът на стареене в затъмнен котиледон зависи от светлинния статус на срещуположния котиледон от двойката, което може да означава, че цитокининовите сигнали, регулирани от СКХ, могат да бъдат възможен регулаторен механизъм, контролиращ стареенето на затъмнения котиледон.

6. Оригинален принос е възстановяването на полипептидния профил и фотосинтетичната активност в реювенилизираните котиледони в сравнение със стереещите след отстраняването на епикотила над тях.
7. Направен е опит за изясняване на механизмите на по-голямата активност на метилжасмоната в сравнение с тъмнинния фактор по отношение на стереенето на котиледоните, което се свързва с потискането на нивата на физиологично-активните цитокинини, най-вече транс-зеатина.

В общи линии, приемам изготвената от кандидатката справка за научните приноси.

Д-р Ананиева има активна научно-обществена и научно-експертна дейност. Член е на СУБ-секция "Физиология и биохимия на растенията" и на FESPB. Езиков редактор е на сп. "Genetics and Plant Physiology" към ИФРГ. Член е на редколегията на авторитетното европейско списание "Plant Growth Regulation", издавано от изд. "Springer", която дейност заслужава висока оценка.

Познавам д-р Ананиева от постъпването ѝ в ИФР "Акад. М. Попов". Тя е интелигентен учен с богата специална, обща и езикова култура. Може да ръководи научни проекти, но и да бъде успешна в колективни разработки. Мисля, че в обозримо бъдеще оригиналната ѝ изследователска дейност в областта на регулирането на стареенето на растенията може да прерасне в "голям докторат".

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Кандидатката в конкурса гл. асистент д-р Калина Ананиева се представя като перспективен изследовател в областта на физиологията и биохимията на растенията. Има оригинални приноси в областта на регулиране на процеса на стареене на растенията и изясняване на неговите механизми. Сериозният отзвук на публикациите ѝ в литературата потвърждават високото качество на постигнатото. Това ми позволява да считам, че научните ѝ приноси и цялостната ѝ дейност като изследовател отговарят изцяло на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и съответните правилници, включително правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИФРГ-БАН. Имам основание да гласувам положително и да препоръчам на почитаемите членове на Научното жури по конкурса да предложат на Научния съвет на ИФРГ д-р Калина Ананиева за заемане на академичната длъжност "Доцент".

14 ноември 2011 г.

РЕЦЕНЗЕНТ:

/проф. дн Л. Илиев/

