

## РЕЦЕНЗИЯ

По конкурс за заемане на академичната длъжност „Професор“, професионално направление 4.3. Биологични науки, научна специалност „Физиология на растенията“ /01.06.16/, за нуждите на лаборатория „Регулация на генната експресия“, към научно изследователско направление „Молекулярна биология и генетика“, обявен от Института по физиология на растенията и генетика (ИФРГ) при БАН, в ДВ брой 95/29.11.2016 и интернет страницата на ИФРГ-БАН. Единствен кандидат в конкурса е доцент, доктор **Валя Николова Василева, ръководител на лаборатория „Регулация на генната експресия“ в същия институт.** Процедурата по разкриване и обявяване на конкурса е спазена и документите са подготвени съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав в РБ и Правилника за неговото приложение.

**Рецензент: Елена Иванова Георгиева, доктор, професор в ИФРГ-БАН, пенсионер,** назначена за член на научно жури със заповед № 155/01.02.2017.

### 1. Общи данни за кариерното и тематичното развитие на кандидата.

Доц. д-р Валя Василева завършва Биологически факултет на СУ “Св. Климент Охридски”, София през 1986г. и придобива квалификация „Магистър по биология“. През 2000г., като докторант на самостоятелна подготовка в Института по физиология на растенията, БАН и след успешно защитена дисертация на тема „Фактори, определящи оптималното функциониране на симбиотичната система *Galega spp.-Rhizobium galegae*“, придобива научно образователната степен „Доктор“. От 2000 до 2010 е назначена за главен асистент (н.с. I ст.) в същия институт. Хабилитира се като ст.н.с. II ст. през 2010г. по научна специалност „Физиология на растенията“ и до момента е доцент в ИФРГ, ръководител на лаборатория „Регулация на генната експресия“. Провела е няколко дългосрочни специализации в престижни чуждестранни институти в Англия, Белгия, Япония. След спечелена високо-конкурентна, престижна стипендия „Мария Кюри“ по EU-FP7 за период от 2 години тя провежда следдокторска специализация за кариерно развитие в групата по епигенетика към Университета в Лийдс, Англия. Пряката научна дейност и научно-изследователски интереси през целия 24-годишен трудов стаж на д-р Василева в ИФР/ИФРГ са фокусирани изцяло върху научно-приложни и фундаментални геномни изследвания, а именно - регулация на генната експресия, епигенетичен контрол на ДНК, фитохормонална сигнализация, функционална и сравнителна геномика на бобови растения, миграция на клетъчното ядро, асиметрични клетъчни деления, ауксинова сигнализация, клетъчен цитоскелет, симбиотични взаимоотношения, отговор към абиотичен стрес. Някои от постигнати оригинални резултати имат пряко отношение към практиката.

Доц. д-р Василева участва в конкурса с всички изискуеми документи представени на хартиен и електронен носител, както и копия от научните ѝ трудове. Научната продукция на кандидатката е изключително богата и напълно съответства на профила на обявения конкурс. Тя е автор на **65** научни публикации с впечатляващ **общ ИФ 140.848**, които са **цитирани 1050 пъти** (без автоцитати и крос цитати) в световната литература. Тези наукометрични показатели, са изключително високи по всички критерии и показват, че нейните изследвания са предизвикали широк международен интерес. От **65-те** научни труда на доц. Василева, **40** са свързани с предходна хабилизация и защита на докторантура, които няма да бъдат рецензирани, но при оформяне на крайното ми становище ще взема предвид целокупната ѝ научна продукция. В настоящия конкурс участва с **25** публикации, публикувани след хабилизацията ѝ които съгласно закона за развитие на академичния състав в РБ подлежат на рецензиране. Всички свързани с конкурса трудове са публикувани в рефериращи се списания, като **21** са в списания с Импакт индекс и са публикувани в престижни реномирани международни издания, като *Plant Cell*, *PNAS*, *USA*, *Current Biology*,

*JExpBotany* и др. с общ **ИФ 62.785**, а три от публикациите са в списания без ИФ. Представена е и една глава от книга в международно издание, както и списък с 14 участия с доклади и постери на международни научни форуми след 2010г.

## **2. Основни направления в изследователската работа на кандидатката и най-важни научни приноси**

Прегледът на целокупната научна продукция на доц. Василева показва, че както до хабилитирането ѝ за доцент, така и след това се е развивала и утвърдила като безспорен международно разпознат молекулярен генетик с богат опит в едно изключително важно и трудно за експериментални разработки направление, а именно изучаването физиологията на растенията, молекулното клониране и регулацията на растителния геном които са изцяло в областта на обявения конкурс. Проведените изследвания от доц. Василева са в пълно съответствие с приоритетите на Европейските програми за задълбочаване познанията за екологичната адаптация и устойчивостта на растенията към абиотичен стрес поради непредвидимите флуктуации в климата. Убедено мога да кажа, че тя е отлично подготвен изследовател с много широк профил на научен капацитет и технологични умения. В тематично отношение научната дейност на доц. Василева обхваща няколко взаимосвързани и допълващи се направления, които условно могат да бъдат класифицирани в три основни и едно методично направление. Резултатите от последните са много добре обяснени, задълбочено анализирани и завършват със самооценка на важните за нея приноси. Приемам и одобрявам нейната лична квалификация за приносите от научноизследователската ѝ дейност, болшинството от които са пионерни и с оригинален характер.

Първото направление включва фундаментални изследвания на молекулярни и клетъчно-биологични механизми на инициране и формиране на кореновата система в моделното растение *Arabidopsis thaliana* (Публикации № 2, 3, 7, 16 и 17). С висока ерудираност и творчески подход доц. Василева представя доказателствени данни включващи проучвания на гени и сигнални модули, които участват в иницирането и развитието на латерални корени при *A. thaliana*. Разклоняването на кореновата система е типичен пример за процес, контролиран на всички етапи от фитохормона ауксин и транскрипционни регулатори, наречени ауксин-отговарящи фактори. Доц. Василева е идентифицирала първите ауксинови молекулярни регулаторни компоненти и техен таргетен ген, *GATA23*, които контролират спецификацията на инициращите клетки и последващото разклоняване на кореновата система при *A. thaliana*. Чрез мета-анализ на транскриптомни данни тя е установила, че *GATA23* е транскрипционен фактор, който контролира специфичната идентичност на инициращите клетки на латералните корени и действа в един и същ регулаторен път с репресорния протеин IAA28. Този протеин контролира включването на потенциален ауксин-отговарящ модул, който предава осцилирането на ауксиновия отговор надолу по транскрипционната мрежа чрез *GATA23* (№ 3). С вестината на изграден учен д-р Василева прави аналитичен обзор на данните и открива директна връзка между ауксиновия сигнален път и компонентите на клетъчния цикъл при образуването на латерални коренови разклонения в *A. thaliana*. Тя доказва, че транскрипционният фактор E2Fa е важен компонент, участващ в регулирането на първичните асиметрични клетъчни деления, включени в каскадата от събития при коренообразуването, както и че транскрипционното индуциране на E2Fa представлява консервативен механизъм за ауксин-зависима активация на клетъчния цикъл, чрез който се контролират процесите, определящи цялостната архитектура на растенията (№7). Сигнални пептиди от семейството на GLV/RGF/CLEL (GOLVEN/root growth factor/CLE-like) допринасят за цялостното развитие на *A. thaliana*, включително и за разклоняването на кореновата система. Транскрипционен анализ на 11 гена от семейството на *GLV* е дал основание на доц. Василева да установи, че единствено

*GLV6* се експресира в началния етап на образуване на латерални корени и да достигне да важен извод, че *GLV6* действа при иницирането на латералните корени чрез осъществяване на контрол върху първите формативни деления на перицикъла (№ 16). Тя е показала, че постембрионалното образуване на латерални корени при *A. thaliana*, индуцирано от фитохормона ауксин, включва комплементарно и последователно действие на най-малко два последователни модула, а именно ранен SLR/IAA14-ARF7-ARF19 и втори BODENLOS (BDL)/IAA12-MONOPTEROS (MP)/ARF5-зависим модул. Д-р Василева представя нови данни, че вторият модул функционира по време на иницирането на латералните корени. В изследванията си тя включва и мутантни растения с повишена функция на BDL (gain-of-function bdl), притежаващи редица структурни дефекти в началните етапи на коренообразуване. Фенотипната характеристика на тези мутанти, както и на мутанти със загуба на функцията на MP (loss-of-function mp) доказва, че модулът BDL/IAA12-MP/ARF5 може да има двойствена роля в изследвания процес. Освен активираща функция, този модул има и инхибиращ ефект върху началните формативни събития, което е наблюдавано и при други молекулни компоненти, участващи в този процес (№ 2). В тази връзка доц. Василева изучава и разпределението на фитохормона ауксин и показва, че този процес се регулира частично от семейството на мембранните транспортни PIN протеини, които експортират ауксин навън от клетките. Транскрипцията на *PIN3 in planta* се опосредства от транскрипционен фактор ARF7 и регулираните от него транскрипционни фактори FOUR LIPS/MYB124 (FLP) които образуват общ и съгласуван feed-forward motif. Оригинални и с приносен характер са данните, които показват, че този feed-forward motif, опосредства ауксин-отговарящата транскрипция на *PIN3 in planta*, контролирайки ранните етапи на формиране на латерални корени. С принос към изясняване на основните физиологични процеси в растенията е и становището, че ауксиновата сигнализация съвместно с други транскрипционни фактори осигуряват общ механизъм, чрез който транскрипционната чувствителност към ауксин се регулира на тъканно-специфично ниво (№ 17).

Друг важно направление от научната дейност на доц. Василева с постигнати оригинални фундаментални приноси са изследванията свързани с разработването на платформа по функционална и сравнителна геномика на моделни бобови растения в България (№ 1, 6, 12, 13, 15, 18-22, 25). Известно е, че изборът на подходящ експериментален модел и адекватни и прецизирани методи имат решаващо значение за биологичните изследвания. Доц. Василева е участвала в провеждането на първите за страната всеобхватни геномни проучвания върху организацията и еволюцията на две моделни бобови растения - *Medicago truncatula* и *Lotus japonicus*, образуващи съответно недетерминиран и детерминиран тип грудки. В изследванията са включени и инсерционни мутанти, създадени чрез вмъкване на мобилни генетични елементи, какъвто е изолираният от *Nicotiana tabacum* ретроинсерционен *Tnt1*.

Подбрани линии от колекция с *Tnt1* инсерционни мутанти на *M. truncatula*, създадена от партниращ научен колектив от АБИ, са секвенирани и са разкрити инсерционните места на *Tnt1* чрез идентифициране на граничните участъци на транспозона, наречени FST (Flanking Sequence Tags). Получената информация позволява да се подберат за клониране важни гени с цел изясняване на тяхната функция. Паралелно са извършени дейности за създаване на колекция от *Tnt1* инсерционни мутанти за втория моделен вид *L. japonicus*. Двете колекции осигуряват голям брой специфични мутанти, които служат като ресурс за геномни изследвания при бобови растения. Част от получената информация може да бъде използвана при важни културни растения, включително и за някои типично селскостопански характеристики, напр. продуктивност (№ 1, 6). С използването на добре отработени съвременни молекулярни техники е разработен протокол за трансформация на *M. truncatula* cv. *Jemalong* 2HA чрез суспензионни клетъчни култури, който предоставя възможност за

охарактеризиране на специфични генни функции и взаимодействия, контролиращи развитието на бобови растения (№ 12). Проучена е възможността за използване на ретротранспозон *Tnt1* като мутаген за второто моделно бобово растение *L. Japonicus* като чрез трансформация с *A. tumefaciens Tnt1* е въведен в *L. japonicus*. Като резултат са конструирани първични трансгенни линии, наречени стартиращи линии. По време на растежа и развитието на растенията и в поколение T1, ретротранспозонът остава неактивен, което показва, че *Tnt1* е подходящ за инсерционен мутагенез в *L. japonicus* (№ 19). Изследванията на доц. Василева, при удачно избрания експериментален модел, са принос към изясняване на проблема как геномните изследвания имат висока научна стойност и намерят пряко приложение в практиката. Едно последователно, целенасочено и с нарастващо развитие изследване върху строежа, функцията и интегритета на генома е отразено в обзорната статия на доц. Василева в която тя разглежда основни класове гени, кодиращи хистон ацетилтрансферази, тяхната структура, функция, взаимодействия с други гени. Един от подбраните за проучване *Tnt1* инсерционен мутант на *M. truncatula*, след секвениране е показал включване на ретротранспозона в екзони на ген, кодиращ хистон ацетилтрансферазата HAc1, който участва във вегетативното и репродуктивно развитие на растенията и отговора към вътрешни стимули. Мутациите в *AtHAc1* предизвикват множество дефекти в развитието на растенията, включително забавен цъфтеж, къс първичен корен и намалена фертилност (№ 13). При линия *A. thaliana* с редуцирана експресия на *HAc1* е установено включването на този ген в ацетилирането на два основни хистона по време на S фазата на клетъчния цикъл (№ 21). Заслужават внимание и изследванията на кандидатката върху функцията на ген, кодиращ циклин-подобен F-box (CycF-box) белтък от *M. truncatula*, в трансгенни растения *M. truncatula*, *L. japonicus* и *A. thaliana*, генерирани чрез растителна трансформация с *A. tumefaciens*. При тези изследвания е установено, че понижената експресия на *MtCycF-box* води до акумулиране на по-високи нива на маркерния ген *CYCB1;1*, който е специфичен за G2/M прехода, показвайки евентуалната роля на *MtCycF-box* в контролирането на клетъчния цикъл. Получените данни показват сходна роля на проучвания ген в трите моделни вида, което е доказателство за функционалната му консервативност (№ 18). Проучена е и експресията на ген, кодиращ ауксинов преносител *MtLAX3*, като със създадените конструктори за свръхекспресия и понижена експресия на *MtLAX3* са трансформирани моделните бобови растения *M. truncatula* и *L. japonicus*, както и *A. thaliana* като референтно растение. Функционалните анализи доказват, че променената експресия на *MtLAX3* има за резултат множество атипични фенотипни изменения и проблеми в развитието на листата и кореновата система, откъдето се прави важен извод, че *MtLAX3* има съществена роля за развитието на кореновата система и броя на образуваните грудки и семена (№ 15). В логична последователност доц. Василева изследва ген, кодиращ ауксин-отговарящ транскрипционен фактор *B3* от *M. truncatula* (*MtARF-B3*). Чрез хистохимични и транскрипционни анализи е установено, че този ген се експресира на различни фази от соматичната ембриогенеза и развитието на тъкани и органи, включително и при симбиотичното грудкообразуване. Силната експресия на *MtARF-B3* в репродуктивните органи на *M. truncatula* показва значението на изследвания ген за фертилността на изследваните моделни растения (№ 20, 22, 25).

Друг принос с голям научен и приложен потенциал са резултатите от изследванията на доц. Василева върху генотипно-специфичния отговор на културни растения към абиотични стресови фактори (№ 5, 8, 9, 14 и 23). Днес една от най-актуалните задачи на молекулярната биология е изследване съхранението на генетичната информация, функцията на генома, нейната регулация и адаптация при различни стресови състояния. Те основно се осъществяват чрез физиологични, биохимични и клетъчно-биологични подходи за охарактеризиране отговора на културните растения към биотичен, абиотичен и комбиниран

стрес, както и за диагностика на техния функционален статус. В тази мащабно разработвана област, безспорен е успехът на доц. Василева при намирането на възможни маркери за устойчивост към стресови фактори. За целта тя е използвала няколко сорта културни растения с различно ниво на устойчивост към стрес и е установила сортово-специфичен отговор на дишането на листа от три сорта пшеница (*Triticum aestivum L.*) с различно ниво на сухоустойчивост. По-високи нива на дишане в сравнение с чувствителните сортове и значително по-висок капацитет за възстановяване след прекратяване на стресовото въздействие са показали листата на сорт Катя (№ 5). Сравнени са биохимичните и ултраструктурни отговори на четири сорта пшеница (*Triticum aestivum L.*) след дълготрайно засушаване в полски условия. Установени са ключови характеристики, които могат да служат като маркери за повишена толерантност към засушаване, като увеличеното разграждане на Рубиско активазата и протеазната активност, както и намаленото ниво на дехидрините и протеините на топлинния шок (HSP70), са свързани с чувствителност към засушаване. Показатели за толерантност към дехидратация са и относително стабилното или повишено ниво на HSP70 и дехидрини, и стабилни/повишени нива на Рубиско активазата и голямата и малка субединици на Рубиско. Важно е да се отбележи, че при силно засушаване толерантните сортове показват по-висока продуктивност (№ 8). Усилията в това направление са продължени с проучване на някои биохимични аспекти на по-високия адаптационен потенциал на бобовия вид бяла детелина (*Trifolium repens*) към заблацияване. Сравнени са протеиновите профили на два генотипа бяла (*Trifolium repens L. cv. Haifa*) и червена (*Trifolium pratense L. cv. Start*) детелина с различна устойчивост към заблацияване. И в двата изследвани генотипа е открито силно намаляване на субединиците на Рубиско,  $\alpha$  и  $\beta$  субединиците на АТФ-синтазата, кислород-отделящият енхансер протеин и други хлоропластни белтъци (№ 14). Обобщени са изследвания, свързани с важноста на селекцията и отглеждането на генотипове културни растения с подобрена толерантност към засушаване/високи температури в условията на глобални климатични промени и прогнозирано зачестяване на периоди с екстремни климатични условия. Установено е, че морфологичните и физиологични показатели заедно с протеомните анализи позволяват задълбочаване на разбирането на отговорите към стрес и могат да бъдат ползвани като база за подбор на подходящи генотипове, въпреки че подобрената толерантност към стрес често е свързана с намалена продуктивност (№ 23).

Четвъртото тематично направление, в което д-р Василева работи и представя оригинални теоретични и приложни резултати, е свързано с разработването, оптимизирането и прилагането на бързи техники за фенотипиране, което е от изключителна важност при анализиране на растителни мутанти и трансформанти. Резултатите от тези разработки са отразени в публикации № 4, 11 и 24. Разработена е бърза стратегия на фенотипиране, която позволява идентифицирането на нарушения на епигенетични мутанти на клетъчно ниво.

### **3. Подготовка на кадри и учебно-педагогическа дейност**

От 2011 до 2015г. доц. Василева е ръководител на секция „Молекулярна биология на растителния стрес“, а от 2016г. е ръководител на лаборатория „Регулация на генната експресия“, ИФРГ-БАН, със сериозни отговорности и ангажменти, както по организацията на групата, така и за нейното научно направление и развитие. Освен преките си научни ангажменти д-р Василева провежда интензивна учебно-педагогическа дейност. По проект BG051PO001-3.3.06-0025, ИФРГ-БАН, през 2014г. тя провежда практически курс за млади учени на тема: „Използване на съвременни микроскопски методи в биологията“ с хорариум 30 часа. Като гостуващ асистент в Университет в Берн зимен семестър 2008 е водила курс по Растителна биология - лекции и упражнения с хорариум 40 часа, а през зимния семестър на 2009 в същия университет е провела курс по Растителна биология - лекции и упражнения:

симбиоза и азотфиксация, микроелементи, дисимиляция с хорариум 38 часа. Доц. Василева е била научен консултант на 2-ма успешно защитили докторанти и научен ръководител на 1 докторант - отчислен с право на защита.

#### **4. Участие в научни проекти и други дейности на кандидата**

Впечатляващ е броят от международни и национални проекти, в които кандидатката участва като координатор, ментор, ръководител и изпълнител, като общият им брой е 17. Този факт показва не само голямото значение на нейните разработки, но и това, че тя е доказан самостоятелен изследовател и ръководител. Доц. Василева е координатор и ръководител на 6 и участник в 11 международни и национални колаборативни проекти. Тя е член на редица национални и международни организации, като НС на ИФРГ, Общото събрание на БАН, Секция „Физиология и биохимия” към Съюз на учените в България (СУБ), Федерацията на Европейските дружества по растителна биология (FESPB), Японската асоциация по растително-микробни взаимодействия (JSPMI).

#### **5. Заключение.**

Единствен кандидат явил се за участие в конкурса за професор обявен от ИФРГ - БАН е доц. д-р Валя Николова Василева. От всичко изложено дотук става ясно, че доц. Василева има научна продукция отличаваща се с изключително високи наукометрични показатели и значителни оригинални научно-приложни приноси в номенклатурната област на конкурса. Представя се с голям брой значими публикации в престижни списания с висок рейтинг, както и с постижения, сравними с тези в напредналите страни. Проблематиката на нейните изследвания попада напълно в областта на обявения конкурс. Доц. Василева притежава изключително богат изследователски, експериментален и организационен опит в широк спектър на най-съвременни направления. Резултатите ѝ представляват принос както в българската, така и в световната теория и практика. Тя е постигнала безспорни успехи което се доказва от високия Импакт индекс на публикациите ѝ (**IF**>**140** за цялостната ѝ научна продукция и **IF**>**62** за участие в конкурса), огромния брой цитати (голяма част от трудовете ѝ са цитирани от 50 до над 200 пъти), а това е най-верния показател за доказан, успешен, международно известен перспективен учен. Доц. Василева се представя с успешно разработени високостойности проекти, интензивна педагогическа активност, участие в научни организации и съвети и др. Тези дейности заслужават най-висока оценка. Наукометричните показатели на кандидатката не само удовлетворяват, но и многократно надхвърлят препоръчителните критерии на Закона за академичното развитие в РБ, Правилника за неговото приложение и вътрешните Правилници на ИФРГ-БАН за заемане на академичната длъжност „Професор”, поради което убедено препоръчвам на уважаемото Научно жури и на Научния съвет на ИФРГ да ѝ го присъдят.

15.03.2017  
София

Рецензент:  
/проф. д-р Елена Георгиева/