

## РЕЦЕНЗИЯ

**по конкурс за заемане на академичната длъжност „доцент”  
по специалност „Физиология на растенията”  
съгласно обявата в ДВ брой 23/17.03.2017 г. за нуждите на лаборатория  
„Растително-почвени взаимодействия” към ИФРГ - БАН  
с кандидат: гл. ас. д-р Григор Трайков Зехиров  
Рецензент: проф. дн Климента Николава Демиревска, пенсионер**

Гл. ас. д-р Григор Зехиров е единствен кандидат по обявения конкурс. Документите за участие в конкурса, които са представени на хартиен и електронен носител, са оформени съгласно изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на БАН. Приемам справката за научните приноси, написана от кандидата.

Гл. ас. д-р Григор Зехиров е роден на 23 февруари 1970 г. в гр. Ловеч. През 1995 г. завършва висшето си образование в БФ на СУ „Св. Климент Охридски”, специалност биология. От 1999 г. е на работа в Институт по физиология на растенията „Акад. Методи Попов” при БАН (ИФР) като специалист-биолог. От 2001 г. заема длъжността научен сътрудник III степен, а от 2004 г. - главен асистент. Има трудов стаж 21 години и 2 месеца по научната специалност „Физиология на растенията” (шифър 010616). През 2004 г. защитава докторска дисертация на тема „Физиологични промени при борно гладуване на азотфиксиращата система *Bradyrhizobium japonicum*-соя (*Glycine max* [L] Merr.)” и придобива образователната и научната степен „доктор”. През периода 1999-2011 г. работи в секция „Минерално хранене и воден режим на растенията”, след което през 2011 г. преминава на работа в секция „Молекулярна биология на растителния стрес”, преименувана в лаборатория „Регулация на генната експресия”, а от 2017 г. вече работи в лаборатория „Растително-почвени взаимодействия” към новосъздаденото изследователско направление в ИФРГ - „Растителна екофизиология”. Проведената двугодишна следдокторска специализация в Япония, в Университета в гр. Кагошима (2006-2008 г.) му дава възможност да разшири и задълбочи своите научни познания, квалификация и експериментални умения по отношение на симбиотичната азотфиксация и поспециално диференциацията на ендосимбиотичните бактерии *Rhizobium* в грудките на *Medicago truncatula* и на сродни бобови растения. Публикуването на получените резултати и направените заключения в едно от най-реномираните

международни научни списания – „Science” (като втори автор) е безспорен факт за извършена задълбочена и прецизна научно-изследователска работа, за изключително успешна специализация и за удачно попадение в един ерудиран японски научен колектив, работещ активно в сътрудничество с компетентни колеги от Франция (Институт по растителни науки в Париж) и Унгария (Институт по растителна защита в Сегед). Малцина български и други учени са имали шанса да публикуват в това престижно списание.

Представените за обявения конкурс материали обхващат 25 научни статии, публикувани след 2003 г. Дванадесет (12) от тях са публикувани в България и 13 – в чужбина. Приложен е и 1 патент за изобретение от 2011 г., който съгласно Правилника за специфичните условия и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в ИФРГ, може да се приеме за още една научна публикация. Две (2) публикации (№ 14 и № 22) са отпечатани в сборника на Балканската научна конференция по биология, организирана в гр. Пловдив през 2005 г. Изпъква публикуването на част от научните трудове в авторитетните чуждестранни списания като Science (IF 31.364), Protoplasma (IF 2.343), Microbes and Environment (IF 1.906), Journal of Plant Nutrition and Soil Sciences (IF 1.459), In Vitro Cellular and Developmental Biology (IF 1.152) и Plant, Soil and Environment (IF 1.078).

Четиринадесет (14) от представените 25 научни публикации са с IF, като общият им IF е 43.049, а 4 от тези публикации са отпечатани в български научни списания. Публикациите са цитирани общо 241 пъти или 8 пъти повече от определените изисквания за конкурса. Най-много е цитирана статията, публикувана в списание Science (2010) – 183 цитата. Много добър отзив е получила и статията, публикувана в списание Plant, Soil and Environment (2006) – 20 цитата, както и статията в списание Journal of Plant Nutrition and Soil Sciences (2007) – 16 цитата. Всички приложени цитати са предимно от чуждестранни автори, което показва подчертаният международен интерес към публикуваните научни статии в съавторство с кандидата по конкурса.

Гл. ас. д-р Григор Зехиров се явява първи автор в 5 публикации и втори автор в 6 публикации. Няма приложени самостоятелни научни статии, което означава, че е работено в екип. Преди получаването на научната степен „доктор” кандидатът е публикувал 5 научни статии, които не са включени в списъка на публикациите за рецензиране и засягат периода 2000-2002 г. Всички

публикации за рецензиране напълно отговарят на тематиката на обявения конкурс.

Във връзка с изпълнение на научно-изследователската си програма, гл. ас. д-р Григор Зехиров е участвал като съизпълнител в разработването на 5 научни проекта, 2 от които са международни (1 с Фламандския фонд за научни изследвания в Белгия и 1 по двустранно сътрудничество със Словения) и 3 с НФНИ. В един (1) от проектите към НФНИ е бил ръководител на младежки проект. Резултатите от научната дейност са представени на 12 научни форуми - у нас (4) и в чужбина (8) с 8 доклада и 4 постера, като в 2 доклада и 1 постер кандидатът е на първо място. Два (2) от докладите и 1 постер са изнесени в Япония и по един доклад е изнесен в Канада, Италия и Русия.

Основната научно-изследователска дейност на гл. ас. д-р Григор Зехиров е съсредоточена в симбиотичната азотфиксация, бактериодната диференциация, клонирането, растителните трансформации, ултраструктурата на растителните клетки, а също напоследък и в протеазите.

Азотфиксацията има голямо значение за кръговрата на азота в биосферата и за повишаване на почвеното плодородие. Симбиотичната азотфиксация е с изключително важна роля в живота на растенията и е равностойна по значимост с процеса фотосинтеза. Най-голям е дялът на симбиотичните азотфиксиращи бактерии, които фиксират атмосферния азот и по този начин обогатяват почвата и растенията с недостъпния за тях газообразен химичен елемент. Тези специфични микроорганизми се намират в грудките на бобовите растения (сем. *Fabaceae*) и предизвикват образуването им, т.е. за активна симбиотична азотфиксация са необходими грудковите бактерии с техните специфични свойства и бобовите растения за създаване на условия за оптимално развитие на грудките. Изучаването на сложните механизми на симбиотичната азотфиксация се счита за един актуален проблем с огромно стопанско значение, привличащ вниманието на учените. Кандидатът е участвал в научни разработки, търсещи отговори на неизяснените въпроси. Освен това той е изследвал специфични биохимични реакции на растенията към различни видове абиотичен стрес, предизвикани от промените на околната среда – още една актуална тема за изучаване в областта на физиологията, биохимията и генетиката на растенията. Гл. ас. д-р Григор Зехиров е участвал и в разработването на научно-приложни задачи, засягащи култивирането на белия трън (*Silybum marianum* L.), използван

за медицински цели. Предложеният патент за изобретение № 66125 „Метод за регулиране добива и качеството на семена относно съдържанието на силимарин и ненаситени мастни киселини при култивирано отглеждане на медицинското растение бял трън (*Silybum marianum* L.)” предлага метод за регулиране на добива на семената на белия трън и тяхното качество с помощта на листово минерално хранене и третиране с цитокининовия растежен регулатор тидиазурон. Нашата страна се отличава с изключително разнообразие на медицински растения, използвани за лечебни цели. Необходимостта от тяхното култивиране при контролируеми условия за повишаване на добива им и за подобряване на качествения състав на ценните активни компоненти е очевидна и значима за науката и практиката.

Научно-изследователската дейност на гл. ас. д-р Григор Зехиров напълно обосновано е разпределена в трите основни научни направления, отразени по-горе. От една страна кандидатът насочва своите усилия към изучаване на физиологичните и генетичните процеси, засягащи симбиотичните взаимоотношения на бобовите растения с грудковите бактерии и микоризните гъби, както и към създаване на оригинални научни подходи, подпомагащи подобни изследвания (публикации № 5, 15, 20-23, 25; 1, 2, 8-12, 16; 6, 7, 19). Тези изследвания са разширени с охарактеризиране на важни гени, участващи в растежа и развитието на растенията и в установяване на симбиоза с грудковите бактерии. Второто направление е свързано с изучаване влиянието на абиотичния стрес върху физиологичните и биохимичните характеристики на едноседелните растения царевица (*Zea mays* L.) и пшеница (*Triticum aestivum* L.) (публикации № 3, 13, 17, 18). Третото направление касае научно-приложната дейност на кандидата по оптимизиране на условията на растеж и развитие на белия трън (*Silybum marianum* L.) и неговото използване за медицински цели (публикации № 4, 14, 24).

Потвърждава се впечатлението, че по-големият дял от изследванията (общо 19 публикации) е свързан със симбиотичната азотфиксация и неизяснените молекулярни механизми на нейното осъществяване, като 9 от публикациите (№ 1, 2, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 19) са резултат от ползотворно научно сътрудничество с колеги от Агробиоинститут в София.

В представените направления на научноизследователската работа и публикуваните резултати изпъкват следните оригинални научни и научно-приложни приноси:

- Чрез *in situ* хибридизация и трансмисионна микроскопия е установена локализацията на нискомолекулни, богати на цистеин NCR пептиди (NCR035 и NCR001) в грудковата тъкан на *Medicago truncatula* и по-точно в бактериоидите на инфектираните с *Rhizobium* клетки, които осъществяват усвояването на атмосферния азот от растението. За доказателство на откритите NCR пептиди са използвани успешно SDS-PAGE, имуноблот и имунофлуоресцентни анализи. В мутантни линии *dnf1-1*, при които транспортът на сигналния NCR пептид е нарушен, не е доказана терминална диференциация на бактериоидите, докато при трансформиране на *Lotus japonicus* с NCR035 е наблюдавана такава диференциация, подобно на тази, открита при *Medicago truncatula* (№ 16).
- Направени са характеристики на бактериоидите на храстовидното растение от сем. Бобови - мимоза (*Leucaena glauca*) след инокулиране с азотфиксиращите бактерии *Bradyrhizobium* sp. Микроскопските наблюдения с трансмисионна електронна микроскопия не показват наличие на NCR-подобни пептиди, предизвикващи терминална диференциация. Резултатите дават основание да се счита, че диференциацията на бактериоидите на *Leucaena glauca* е различна от тази при *Lotus japonicas* и *Medicago sativa* (№ 8).
- Разкрити са различни функции на хистоновите ацетилтрансферазни *HAC1* гени, въведени в моделните бобови растения *Medicago truncatula* и *Lotus japonicus*, както и в *Arabidopsis thaliana* като референтно растение, създавайки от тях стабилни трансгенни линии. С помощта на транскрипционните репортерни гени GUS ( $\beta$ -glucuronidase) и GFP (green fluorescent protein) е установено, че промоторите на *HAC1* гените и при трите моделни растения се експресират в растителни органи, където има активно клетъчно делене. В резултат на морфологични изследвания върху модифицирани моделни растения с подтисната експресия и свръхекспресия на изследваните гени, използвайки светлинна, флуоресцентна и конфокална микроскопия, се наблюдават различия в развитието на клетъчния цикъл и растежа на растенията. Получените резултати показват също, че хистон ацетилтрансферазния инхибитор куркумин може да бъде използван за модифициране на хистон ацетилтрансферазната експресия в растителните клетки (№ 1).

- Посредством трансформация с *Agrobacterium tumefaciens* е въведен ретротранспозон *Tnt1* от тютюн (*Nicotiana tabacum*) за конструиране на първични трансгенни линии, наречени „стартиращи” на моделното растение *Lotus japonicus* след индиректна соматична ембриогенеза с цел създаване на методична база за сравнителни геномни изследвания. При тези мутантни линии, носещи от две до осем копия на трансгена, чрез PCR анализ са наблюдавани нови транспозиции на *Tnt1*. Резултатите доказват, че *Tnt1* е подходящ за инсерционен мутагенез в *Lotus japonicus* (№ 6).
- При използване на съвременни молекулярни техники е разработен протокол за улеснено трансформиране и регенерация на суспензионни клетъчни култури от *Medicago truncatula* като нов подход за мутагенеза при бобови растения. За постигане на максимална трансформационна ефективност е установена оптимална концентрация на acetosyringone (25  $\mu$ M). Скринингът на калус по GFP протеин позволява да бъдат подбрани подходящите клетъчни клъстери и калусова тъкан за регенерация и развитие до трансформирано растение. Този подход открива възможност за охарактеризиране на специфични генни функции и взаимодействия, контролиращи развитието на бобовите растения (№ 7).
- Изследвана е листната морфология на мутанти на *Medicago truncatula*, генерирани чрез ретротранспозон *Tnt1* инсерционна мутагенеза, с бързо и успешно прилагане на различни техники за фенотипиране. Анализът на горната и долната повърхности на листата показва промени в клетките на листния епидермис, изразяващи се в различна форма, размер и различен профил на клетъчните стени. Най-силно е променен броят на устицата (№ 19).
- Установено е, че комбинираното инокулиране с грудкови бактерии (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, strain D 293) и микоризни гъби (*Glomus spp.*) понижава общата биомаса, фотосинтезата, грудкообразуването и азотфиксацията на грахови растения (*Pisum sativum* cv. Avola) в сравнение с единичното инокулиране с *Rhizobium leguminosarum*. Наблюдавано е повишено съдържание на общ фосфор, повишена фосфатазната активност и процент на коренова колонизация от микоризни гъби. Най-висока ефективност е получена при растения, инокулирани с *Glomus mosseae* и отглеждани на среда с ниско съдържание на фосфор (№ 5).
- Чрез експресионен анализ на WALI3 (Bowman-Birk's PI) се отчита, че при засушаване нивото на транскриптите на протеазните инхибитори (PI) на

сериновите и цистатиновите протеази в листата на различни по толерантност към стреса сортове пшеница (*Triticum aestivum* L.) е повишено. Серпините показват постоянна експресия, а цистатините - тъканна специфичност. Засушаването не променя нивата на серпините и цистатините в толерантния сорт „Катя“ в сравнение с контролата. Прави се уместното заключение, че протеазните инхибитори могат да се използват като надежден маркер за разкриване толерантността към засушаване при селекция на различни сортове пшеница (17).

- Екзогенното добавяне на Na-сукцинат преди третиране на корените на млади царевични растения (*Zea mays* L.) с повишени концентрации на Cu йони в хранителната среда повишава толерантността на царевичните растения към Cu токсичност. Ефектът на Na-сукцинат за преодоляване на предизвикания стрес има общо негативно действие върху скоростта на растежа, хлорофилното съдържание и квантовия добив на фотосистема II, както и върху повишаване на активността на изоензимните профили на антиоксидителните ензими пероксидаза, каталаза и супероксидисмутаза. Регистрирани са 4 нови пероксидазни изоензими при Si токсичност (№ 3).

- Оптимизирани са условията за отглеждане и развитие до получаване на семена на белия трън (*Silybum marianum* L.) за медицински цели. От семената се извлича активната съставка силимарин от групата на флаванолигнаните, която притежава високо антиоксидантно действие и се използва за лечение на увреждания на черния дроб. Установено е, че комбинацията от листно подхранване и почвено торене с листен тор и растежните регулатори thidiazuron (Dropp), 2,3,5-triiodobenzoic acid (Tiba), mepiquat chloride (Pix) и prohexadione-Ca (Regalis) повишава добива на силимарин в семената (№ 4).

Изтъкнатите приноси са показателни за квалификацията на един подготвен изследовател в изключително важни научни направления в областта на физиологията и молекулярната генетика на растенията, отговарящи на съвременните приоритети на изследвания на Европейските програми. Конкретното участие на гл. ас. д-р Григор Зехиров в работата на научните екипи и в публикуването на получените резултати не е посочено, но имайки предвид моите дългогодишни лични наблюдения от работата на кандидата, неговата експедитивност и адекватност, бих могла да предположа, че той е включен в посочените научни разработки като квалифициран и способен изследовател,

използващ най-съвременни методи и техники, а също и умеещ да работи в екип. От голямо значение за неговото изграждане като учен е следдокторската му специализация в Япония. По мое мнение, д-р Зехиров е изследовател със значителен научен потенциал и изграден професионален профил в областта на симбиотичната азотфиксация, в преодоляването на различни абиотични стресови състояния при растенията, както и в изучаването на фармакологично значими медицински растения. Притежавайки тези качества, той ще бъде полезен в работата на колектива на лабораторията „Растително-почвени взаимодействия”, към която е обявен настоящия конкурс.

Бих препоръчала на колегата гл. ас. д-р Григор Зехиров за в бъдеще да положи усилия, за да бъде инициатор и ръководител на научни разработки и проекти, тъй като е придобил научните познания, умения и квалификация и би могъл успешно да ги предава на по-младите научни кадри в лабораторията.

#### **Заклучение**

Гл. ас. д-р Григор Зехиров участва в конкурса с достатъчно на брой научни статии, голямата част от които са цитирани в известни научни списания, удостоверяващи актуалността и значимостта на научно-изследователската дейност на кандидата. Имайки предвид научната подготовка, представената научна продукция и оригиналните научни приноси, считам, че представените материали по конкурса са изцяло в съответствие със ЗРАСРБ и Правилника на БАН. Всичко това ми дава основание да предложа на уважаемото Научно жури и на уважаемия Научен съвет на ИФРГ да гласуват положително за кандидатурата на гл. ас. д-р Григор Зехиров за заемане на академичната длъжност „доцент” по научната специалност 01.06.16 „Физиология на растенията” за нуждите на лаборатория „Растително-почвени взаимодействия” към ИФРГ.

**3 юли 2017 г.**

**Рецензент: проф. дн Климентина Демиревска**

**Подпис:.....**