

Рецензия

по конкурс за заемане на академична длъжност „доцент” по 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 ИФРГ-БАН в ДВ бр. 87/31.10.2017

кандидат: Ирина Иванова Васева – доктор, главен асистент в ИФРГ-БАН

рецензент: Калина Иванова Ананиева – доктор, доцент в ИФРГ-БАН, назначена за член на научно жури със заповед №36/04.01.2018

В обявения конкурс документи за участие е подала единствено гл. ас. д-р Ирина Иванова Васева. Представените от нея материали отговарят на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в РБ, Правилника за неговото приложение, както и вътрешния Правилник за условията и реда на придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Институт по физиология на растенията и генетика – БАН.

Биографични данни

Гл. ас. Ирина Васева е завършила Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски” като магистър по биотехнологични процеси. През м. май 1999 г. постъпва в Института по физиология на растенията „Акад. М. Попов”, (понастоящем Институт по физиология на растенията и генетика – ИФРГ), в секция "Регулиране на растежа и развитието на растенията". Кариерното израстване на гл. ас. Васева включва следните важни етапи: придобиване на образователна и научна степен "доктор" по научна специалност 01.06.16 "Физиология на растенията" (2007 г.), н. сътр. III ст. (2005-2007 г.), н. сътр. II ст. (2007-2009 г.), н. сътр. I ст. (главен асистент) - от м. октомври 2009 г. Тя е провела няколко специализации във водещи научни звена, което е допринесло за разширяване на нейните научни интереси: докторска специализация в Националния институт по земеделска ботаника, Кеймбридж, Великобритания (2002-2003 г., с продължителност 12 мес.), и три постдокторски специализации - две в Университета в Гент, Белгия (2009-2010г. и 2014-2017 г, с продължителност съответно 18 мес. и 12 мес.), и една в

Университета в Берн, Швейцария (2012-2013 г., с продължителност 12 мес.). Понастоящем тя работи в лаборатория „Регулация на генната експресия“ към научно-изследователско направление "Молекулярна биология и генетика". Научно-изследователската дейност на гл. ас. Ирина Васева през целия път на нейното кариерно израстване е фокусирана върху няколко тематични направления: фитохормони - цитокининов метаболизъм, влияние на абиотичен стрес върху цитокининовия метаболизъм, тъканна и клетъчна специфичност на етиленовите сигнали; дехидрини - характеризиране на дехидринови гени и типове дехидринови белтъци в условия на дехидратация; анализ на стрес-индуцируеми белтъци (heat shock proteins, HSP; цистеинови протеази; протеазни инхибитори) в условия на абиотичен стрес.

Наукометрични данни

Научната дейност на гл. ас. Ирина Васева е отразена в 34 публикации, от които 5 са по темата на дисертацията, а последната в списъка (публикация No 29) понастоящем е със статут "under review" и очаква окончателно решение, поради което няма да бъде рецензирана. Публикациите по темата на конкурса са 28, от които 18 - в списания с ИФ (общ ИФ 29.156), 9 - в списания без ИФ и една глава от книга. Важно е да се отбележи, че в 15 публикации гл. ас. Васева е първи автор, което показва водещата ѝ роля и съществен личен принос в тези научни разработки. Правят впечатление реномирани международни издания в областта на растителната физиология като *Plant Physiology and Biochemistry*, *Journal of Plant Physiology*, *New Phytologist*, *Plant Growth Regulation*, *Biologia Plantarum*. Значителен е общият брой на забелязани цитати - 489, болшинството от които са в списания с ИФ, което показва значимостта на публикуваните научни резултати, предизвикали широко признание в научната общност. Няколко публикации се отличават с висок брой цитати: 36 цитирания (Demirevska et al., *General and Applied Plant Physiol*, sp. issue, 2008), 75 цитирания (Simova-Stoilova et al., *Plant Physiol Biochem*, 2010), 47 цитирания (Grigorova et al., *Biol Plant*, 2011), 60 цитирания (Vandenbussche et al., *New Phytologist*, 2012).

Участие в научни проекти и научни форуми

Гл. ас. Васева е участвала в 6 проекта. Била е ръководител на проект по двустранно сътрудничество с Република Словения, финансиран от ФНИ-МОН (2011-2013 г.) на тема: "Регулация на протеолизата в условия на воден стрес при едно- и двуседелни растения". Тя е спечелила поименен грант по съвместен научен проект с Институт по растителни науки към Университета в гр. Берн, Швейцария, на тема "Идентифициране на типове дехидрини, участващи в отговора към абиотичен стрес в *Trifolium repens*", финансиран по Програмата за обмен между новоприетите страни-членки на ЕС и Швейцария (2012-2013

г.). Участвала е като изпълнител в проект на ИФР-БАН "PISA", финансиран от МОН (2005-2008 г.); съвместен проект между ИФР и Институт по растителни науки към Университета в Берн, Швейцария (2006-2008 г.) и проект в рамките на междуакадемичното сътрудничество с НАН, Украйна (2008-2011 г.). Гл. ас. Васева е взела участие в 15 международни научни форуми с 13 постерни и 7 устни съобщения.

Преподавателска и обучителна дейност

Гл. ас. Васева е провела практически курс по молекулярно-биологични методи за млади учени от ИФРГ по проект BG051PO001-3.3.06-0025 в рамките на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси” с хорариум от 30 часа. Като гостуващ асистент в Университета в Берн тя е водила практикум по "Растителна биология" и "Физиология на растенията" за студенти-бакалавърска степен през три последователни зимни семестъра (2010, 2011, 2012 г.).

Научен профил и основни научни приноси

Научно-изследователската дейност на гл. ас. Ирина Васева включва няколко тематични направления, на базата на които могат да бъдат систематизирани научни приноси, които имат фундаментален характер.

Първото направление включва изследвания върху метаболизма на цитокинините в условия на абиотичен стрес (*публикации 1, 2, 3, 4, 5, 8*). Изследванията са фокусирани върху промените в ендогенните нива на някои цитокинини и активността на цитокинин оксидаза/дехидрогеназа (СКХ) - ензим, който катализира необратимата оксидативна деградация на изопреноидните цитокинини и води до пълна загуба на тяхната биологична активност, което представлява механизъм за поддържане хомеостазата на цитокинините, необходима за нормален растеж и развитие на растенията. Изследванията върху този клас ендогенни фитохормони са естествено продължение на темата на дисертационния труд на гл. ас. Васева: „Цитокинин оксидаза/дехидрогеназа в млади грахови растения. Влияние на някои растежни регулатори и абиотични стресови фактори върху ензимната активност”. Изследвани са промените в ендогенните цитокинини и специфичната активност на СКХ в растения от два средно ранни сорта грах (*Pisum sativum*), отличаващи се по динамиката на растежа през вегетационния период. При нормални условия на отглеждане висока специфична активност на СКХ е установена главно в корените, докато в листата се регистрира много ниска ензимна активност и при двата изследвани сорта. В цитокининовия пул на листата и корените на тези растения са определени 6 съединения: iP, iPR, iPRP, *cisZ*, *cisZR*, *cisZRP*. Облъчването с УВ-Б предизвиква инхибиране на ензимната активност и понижение в ендогенното съдържание на изследваните цитокинини в най-младите напълно

развити листа на по-бавно развиващия се сорт "Мануела", докато в по-бързо развиващия се сорт "Скинадо" се регистрира обратна тенденция (публикации 1, 4). Наблюдаваните различия в метаболизма на цитокинините показват различна чувствителност на двата изследвани сорта към приложения УВ-Б стрес и по-конкретно, по-висока адаптивна способност на сорт "Скинадо" към този стрес. Под въздействие на високи (33°C) или ниски положителни температури (10°C) се повишават нивата на биологично активните цитокинини изопентенил аденин (iP) и изопентенил аденин рибозид (iPR) в най-младите напълно развити листа на двата изследвани сорта грах. Наблюдаваните промени са много по-силно изразени след нискотемпературния стрес, когато се регистрира и значително повишение в нивата на *cis*-зеатин рибозид (*cis*ZR), както и повишена активност на СКХ. От друга страна, измереното съдържание на цитокинини в корените се променя много слабо и при двете приложени температурни третираня. Тези резултати показват, че както високо-, така и нискотемпературният стрес предизвикват органно-специфични промени в нивата на изследваните цитокинини и потвърждават ролята на СКХ в адаптивния отговор на растенията към екстремни температури (публикации 1, 8). Екзогенното третиране с нарастващи концентрации абсцисинова киселина (АБК) на растения от двата изследвани сорта грах предизвиква значително увеличение на ендогенните цитокинини в най-младите напълно развити листа, като при най-високата приложена концентрация (10 μМ АБК) се наблюдава рязък спад в съдържанието на изследваните цитокинини (публикация 5). Тези промени корелират с измерената специфична активност на СКХ. От друга страна, нивата на ендогенни цитокинини в корените остават стабилни, като същевременно се регистрира значително нарастване на специфичната активност на СКХ при всички изследвани концентрации на АБК. Наблюдаваните органно-специфични промени в цитокининовия метаболизъм, индуцирани от АБК, се обясняват с ускорен транспорт на цитокинини от корена към надземната част на растенията, в който СКХ вероятно играе регулаторна роля. Динамиката на промените в активността на СКХ, отразена в цитираните по-горе публикации, потвърждава потенциалното участие на този ключов ензим от катаболизма на цитокинините в механизмите на адаптация към неблагоприятните условия на околната среда.

През последните години гл. ас. Васева разширява тематиката, свързана с хормоналната регулация, като насочва своята научно-изследователска дейност към друг фитохормон - газообразния етилен, и по-конкретно, към изучаване регулацията на етиленовия сигнален трансдукционен път. Трябва да се отбележи изключителната актуалност на тези изследвания, насочени към разкриване на механизмите на етиленовата сигнализация,

включващи клетъчна специфичност на възприемане на етиленовите сигнали и взаимодействие на етилена с ауксините, което води до инхибиране на растежа. Представени са две обзорни статии (публикации 15, 28), в една от които гл. ас. Васева е първи автор (Vaseva et al., Russian J Plant Physiol, 2016), както и една експериментална статия (No 29, със статут "under review").

Следващото тематично направление - съществена част от научно-изследователската дейност на гл. ас. Васева, включва групата на дехидрините - специфични белтъци с протекторна функция, които се натрупват в растенията в отговор на стресови фактори, които предизвикват дехидратация (засушаване, ниска температура или засоляване), а също така участват в процеси, свързани с развитието, какъвто е процесът на късната ембриогенеза. Извършен е системен анализ на дехидрини, който включва охарактеризиране на дехидринови гени и дехидринови белтъци с помощта на съвременни молекулярни методи - полуколичествен RT-PCR за оценка на транскриптите и имуноблотинг със специфични антитела срещу K, S и Y-сегментите за оценка на различните класове дехидринови белтъци. Получените резултати имат подчертан приносен характер и са отразени в едни от най-стойностните публикации на гл. ас. Васева (No 9, 13, 19, 20, 21). Транскрипти, кодиращи различни типове дехидрини (Y_nK_n , Y_nSK_n , SK_n , KS), са изолирани и охарактеризирани в растения бяла детелина (*Trifolium repens*), подложени на засушаване (публикация 20). Нуклеотидните секвенции (геномна и копи-ДНК) са депозиранни в NCBI база данни под съответни идентификационни номера. Анализът на нуклеотидните последователности разкрива сложната природа на дехидриновите гени, които се отличават с алтернативни старт и стоп кодони, обособяващи различни рамки на четене (open reading frames -ORFs), които могат да бъдат предпоставка за голямата вариабилност на транскриптите, кодирани от един и същи ген (публикации 13, 19, 20). Доказано е, че *cis*-естествени некодирани транскрипти (*cis*-NATs) от два дехидринови типа - Y_nK_n и Y_nSK_n се акумулират в растения бяла детелина, третирани с полиетиленгликол (PEG), АБК или висока концентрация на NaCl (публикация 19). Изолираните Y_nK_n *cis*-NATs се картират в участъци от секвенцията, в които има множество алтернативни старт кодони. Някои от сенс-антисенс (SAS) двойките показват реципрочна експресия с различаващи се профили, които зависят от проложения стрес. Изолиран е естествен антисенс транскрипт (*trans*-NAT), който показва къса нуклеотидна хомология (24 bp) с Y_nSK_n дехидринов ген и кодира АТФ-азния компонент на транспортен белтък, принадлежащ към ABC F семейството интегрални мембранни белтъци. Този транскрипт се индуцира специфично от приложения солеви стрес както в листата, така и в корените на бялата детелина (публикация 19). Тези резултати

показват съществуването на допълнително ниво за регулация на експресията на дехидриновите гени по отношение на органната специфичност, вида и силата на приложения стрес. Различните типове дехидринови белтъци показват специфични характеристики по време на отговора към засушаване, както и по време на развитието на растенията при нормални условия, когато се установяват флукутации в зависимост от възрастта на листата (публикация 20). Значителни нива на алкални YSK-тип белтъци с различни молекулни тегла се визуализират след имунодетекция в развиващите се листа, докато в по-старите листа те са по-слаби или отсъстват. Киселинните SK₂ и KS транскрипти също показват променлив градиент в отделните листни етажи. В условия на засушаване се увеличава концентрацията на дехидрини, които са слабо представени в нестресираните растения. Силно увеличение на Y_nK_n-тип дехидрините се наблюдава в напълно развитите по-млади листа и корените на засушените растения (публикации 13, 20). Подобно увеличение на Y_nK_n-тип дехидрини се наблюдава и след прилагане на нискотемпературен стрес (+ 7 °C) (публикация 21). Въз основа на тези данни е направено заключение, че дехидрините от Y_nK_n-тип представляват надежден маркер за оценка на воден дефицит и нискотемпературен стрес. С помощта на количествен RT-qPCR анализ е установено, че ниската температура индуцира натрупването на SK_n и Y_nSK_n транскрипти в листата, но редуцира тяхната експресия в корените на стресираните растения, което показва органна специфичност на експресията на тези гени в условия на нискотемпературен стрес (публикация 21). Анализирани са отговорът към засушаване на икономически важни български сортове зимна пшеница (*Triticum aestivum*) с различна чувствителност към воден дефицит (публикация 9). В листата на толерантния към засушаване сорт е установено високо съдържание на АБК, което корелира с ранна имунодетекция на дехидрини и значително нарастване в нивата на WZY2 транскрипти. Експресионният профил на WZY2 в стресираните тъкани показва две отделни ивици, които се променят с нарастване силата на водния дефицит. Наблюдаваната специфична експресия на WZY2 вероятно е резултат от алтернативен сплайсинг на гена при нормални и стресови условия. Две изоформи на YSK тип дехидринов ген са установени и в растения бяла детелина, подложени на засушаване (публикация 13). Тази характеристика на YSK транскриптите ги прави подходящи маркери за оценка на толерантност към засушаване както при дву-, така и при едноседелни растения. Установено е, че с увеличаване на водния дефицит, в листата на засушените растения се натрупват LEA III транскрипти (TaLEA2 и TaLEA3). Нивата на експресия на два киселинни дехидринови гени (*WCOR10b*, *TAFHN*) показват относително стабилни

високи нива в листата на трите изследвани сорта зимна пшеница, независимо от тяхната различна толерантност към воден дефицит (публикация 9).

Третото тематично направление включва сравнителен експресионен анализ на стрес-индуцируеми белтъци (heat shock proteins, HSP; цистеинови протеази; протеазни инхибитори) в сортове зимна пшеница (*Triticum aestivum*) с различна толерантност към засушаване (публикации 10, 12, 24, 27). Тези изследвания са проведени в рамките на два проекта, в един от които гл. ас. Васева е била участник („Drought induced leaf protein alterations” 2006-2008 г.), а в другия проект е била съръководител (“Regulation of proteolysis under water stress in di- and monocotyledonous plants”, 2011-2013 г.). Основният принос на гл. ас. Васева и по двата проекта се състои в 1) дизайн на специфични олигонуклеотидни двойки; 2) извършване на semi-qRT-PCR/qPCR анализи; 3) обработка и интерпретация на получените резултати.

С помощта на полуколичествен RT-PCR анализ е изследвана експресията на 4 гена, кодиращи HSP в растения от два сорта зимна пшеница (*Triticum aestivum*), подложени на засушаване, високи температури и комбинация от двата стреса (публикация 12). Установено е, че в листата се увеличават транскриптите на нискомолекулярния HSP17.8, като устойчивият към засушаване сорт акумулира по-високи нива в сравнение с чувствителния към засушаване сорт. Подобна тенденция, но по-слабо изразена, се наблюдава и по отношение на другите два тествани транскрипти на високомолекулярни HSP (Hsp70 и Hsp101b). Изследвана е експресията на два гена, кодиращи цистеинови протеази (Ta.61026-предполагаема тиолова протеаза и WCP2-пептидаза от папаинов тип) в растения зимна пшеница, подложени на 7-дневно засушаване (публикация 10). Установени са понижени нива на Ta.61026 и WCP2 транскриптите в толерантния към засушаване сорт, докато в двата по-слабо резистентни сорта те остават непроменени или силно нарастват. Направен е извод, че понижената експресия на специфични гени за цистеинови протеази може да се счита като индикатор за резистентност към засушаване при оценка на сортове зимна пшеница. Установена е също така органна специфичност в акумулирането на изследваните транскрипти – те нарастват в листата и намаляват в корените на засушените растения и при двата изследвани сорта (публикация 24). Органна специфичност е установена и по отношение акумулирането на транскрипти на протеазни инхибитори (PI), които принадлежат към класовете цистатини и серпини. По-голямо е количеството на серпинови транскрипти в корените, докато нивото на експресия на изследваните цистатинови гени е по-високо в листата на контролните растения. Засушаването инхибира експресията на изследваните PI гени в корените. В условия на засушаване експресията на цистатини и

серпини в листата на устойчивия сорт показва сравнително стабилни нива, близки до контролата (публикация 27). Установено е значително нарастване на WAL13 транскрипти (Bowman-Birk тип PI, BBPI) в листата на засушените растения, което показва, че BBPI играят важна регулаторна роля в адаптивния отговор към засушаване.

Анализът на публикациите на гл. ас. Ирина Васева показва, че при някои от изследваните параметри се наблюдава органна специфичност: органно-специфични промени в съдържанието на някои цитокинини и СКХ активността независимо от приложения стрес, органно-специфична експресия на някои дехидринови гени, както и на гени, кодиращи цистеинови протеази или протеазни инхибитори в условия на засушаване. Тези резултати се отнасят по-скоро до механизъм на действие, и не следва да се дефинират като "област на изследване", както е отбелязано в авторската справка за научните приноси.

Заклучение

Анализът на научното творчество, значимостта на научните приноси, както и непосредствените ми лични впечатления, ми дават основание да считам, че гл. ас. д-р Ирина Иванова Васева притежава богат изследователски и експериментален опит в няколко много актуални научни направления. Тя е изграден, ерудиран специалист с ясно очертан научен профил в областта на физиологията, биохимията и молекулярната биология на растенията. Това ми дава основание убедено да препоръчам на уважаемите членове на научното жури да ѝ бъде присъдена академичната длъжност "доцент" по специалността 01.06.16 "Физиология на растенията", за нуждите на лаборатория „Регулация на генната експресия” към научно-изследователско направление "Молекулярна биология и генетика".

28.02.2018 г.

София

Подпис:

/доц. д-р Калина Ананиева/