

СТАНОВИЩЕ

от акад. проф. Иван Георгиев Иванов, дби

на дисертационния труд на доц. д-р Анелия Венева Янчева „Роля на моделните видове *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus* и *Arabidopsis thaliana* в изследванията по растителна биотехнология и функционална геномика на Бобови“, представен за присъждане на образователната и научна степен „Доктор на науките“ в Област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“, Професионално направление 4.3. Биологически науки, Научна специалност: „Генетика“

1. Обща част

Д-р Анелия Венева Янчева е доцент (2006 г.) по Генетика в Агробиоинститута при ССА. Дисертационният ѝ труд на тема: „Роля на моделните видове *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus* и *Arabidopsis thaliana* в изследванията по растителна биотехнология и функционална геномика на Бобови“ за придобиване на научната степен „Доктор на науките“ по научната специалност „Генетика“ е апробиран и единодушно одобрен за защита на 22.04.2019 г. от разширения състав на колегиума на отдел „Функционална генетика“ при Агробиоинститута. Прегледът на документите свързани със защитата на дисертацията показва, че те са подготвени съгласно изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за неговото приложение и вътрешните правилници на Агробиоинститута и ССА.

2. Оценка на дисертационния труд

Развитието на геномното инженерство през последните две десетилетия на миналия век и на геномиката в края на миналия и началото на настоящия век разкриха неподозирани възможности пред растителната генетика и в частност на функционалната генетика. Изолирането на гени, тяхното мутиране и секвениране, както и секвенирането на цели геноми се превърна в рутинна методика. Не стои така въпроса обаче с изучаването на функциите на отделните гени и междугенните взаимодействия. Тук на помощ идват трансгенните растения, при които ген или група гени от едно растение се въвеждат в генома на друго. Като гостоприемник най-често се използват организми с добре изучена генетика и геномика. Така създадените моделни растения имат проста организация на генома, къс цикъл на развитие и са податливи на тъканно култивиране. На създаването и използването на такива растения за изследване на бобовите растения е посветена и дисертацията на доц. А. Янчева. Тя е оформена в традиционен стил (Литературен обзор, Цели и задачи, Резултати и обсъждане, Заключение и Изводи) и обхваща 315 стандартни страници. Илюстрирана е с 71 фигури, 23 таблици, 501 литературни източници и две обемисти приложения обхващащи около 40 страници от дисертацията.

Обект на изследване са растителните видове *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus* и *Arabidopsis thaliana*, като тези свързани с *M. truncatula* имат пионерен характер за нашата страна. Изследванията стартират във връзка с разработването на европейски проекти, които са дали възможност на докторантката да създаде ценна колекция от *Tnt1* инсерционни мутанти на *M. truncatula*, както и малка колекция от аналогични мутанти на *Lotus japonicus*. Така тя поставя начало на изследванията по функционална геномика на бобови у нас прилагайки методите на правата и обратна генетика. Доц. Янчева успява да прехвърли ключови гени свързани с развитието и азотфиксацията в генома на моделните видове *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus* и *Arabidopsis thaliana*, с цел изучаване на тяхната функция и взаимодействието им с други растителни гени. В хода на своите изследвания тя разработва оригинални

протоколи за генетична трансформация, които ѝ позволяват да изследва механизмите на развитието от една клетка до цяло растение. Тя доказва асиметрията на първото клетъчно делене, индуцирането на ембриогения потенциал и успява да получи соматични ембриониди от единични клетки.

Доц. Янчева определя за първи път размера на генома на диплоидни видове от род *Medicago* (от Алжир) и установява връзка между геномния размер и компетентността за индуциране на директен соматичен ембриогенез в течна среда. Тя открива нов ретроелемент (MERE1-1) и доказва транспозицията му в генома на мутантни линии от *M. truncatula* при *in vitro* регенерация, както и участието на редица други гени (*MiLAX3*, *MiARFB3*, *MiF-box*, *MiHAC*, *MiGRAS*, *MiDRP*) в процеса на индиректен соматичен ембриогенез. Като нейно постижение следва да отбележа и създаването на вектори за генна свръхекспресия и генно заглушаване при моделните растения *M. truncatula* и *A. thaliana*. Благодарение на тях докторантката установява, че свръхекспресията на F-box в *M. truncatula* води до изменения във формата на листата и кореновата система. В хода на фенотипното охарактеризиране на моделните растения е открита и оригиналната инсерционна мутантна линия „Рибена кост“.


Доц. Янчева провежда за първи път комплексен сравнителен функционален (фенотипен, морфометричен, транскриптомен, протеомен и метаболомен) анализ на гена на F-box белтъка в моделните растения *M. truncatula* и *A. thaliana*. Освен протокола за генетична трансформация на клетъчни суспензионни култури, тя разработва и ефективна система за синхронизиране на меристемни клетки от коренови връхчета за изучаване на клетъчния цикъл на *M. truncatula*.

Резултатите от изследванията свързани с дисертацията са отразени в 13 научни публикации, 11 от които са отпечатани в международни реферирани списания с ИФ и 2 в монографични издания. В 12 от тях докторантката е водещ (първи или последен) автор. Трудовете ѝ са цитирани досега 51 пъти. Резултатите са докладвани и на редица национални и международни научни форуми.

Заклучение: От направения анализ на дисертационния труд, справката за приносите и публикациите свързани с дисертацията на Доц. Анелия Янчева мога да направя заключението, че тя удовлетворява напълно изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за неговото приложение и вътрешните Правилници на ССА и Агробиоинститута за придобиване на научната степен „**Доктор на науките**“, поради което **убедено препоръчвам** на Научното жури определено да проведе нейната защита да ѝ присъди.

София, 21.08.2019 г.

Подпис:


/Акад. Иван Г. Иванов/

SCIENTIFIC OPINION

by Acad. Prof. Doctor of Science Ivan Georgiev Ivanov,

of the dissertation of Assoc. Prof. Anelia Veneva Iantcheva "The role of the model species *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus* and *Arabidopsis thaliana* in the plant biotechnology and functional genomics studies of legumes" presented for the award of the scientific degree "Doctor of Sciences" in Higher Education Area 4. "Science, Mathematics and Informatics", Professional Field 4.3. Biological Sciences, Specialty: Genetics

1. Common part

Dr. Anelia Veneva Iantcheva is an Assoc. Professor (2006) in Genetics at the Agrobiointitute at Agricultural Academy. Her dissertation on the topic: "The role of the model species *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus* and *Arabidopsis thaliana* in the plant biotechnology and functional genomics studies of legumes" for the scientific degree of "Doctor of Sciences" in Genetics is unanimously approved for defense on April 22, 2019 by the extended staff of the department Functional Genetics at the Agrobiointitute. The review of the documents related to the defense of the dissertation shows that they have been prepared in accordance with the requirements of the Law on Development of Academic Staff in Republic of Bulgaria, and the Regulations for its implementation and the internal regulations of the Agricultural Academy.

2. Assessment of dissertation work

The development of genetic engineering in the last two decades of the last century and of genomics at the end of the last and the beginning of the present century has opened up unprecedented opportunities for plant genetics and in particular functional genetics. Isolation of genes, their mutation and sequencing, as well as sequencing of whole genomes has become a routine methodology. However, this is not the case with the study of the functions of individual genes and intergenic interactions. In transgenic plants a gene or group of genes from one plant is introduced into the genome of another. Organisms with well-studied genetics and genomics are most commonly used as a host. The model plants thus created have a simple genome organization, short development cycle and are susceptible to tissue cultivation. The dissertation of Assoc. Prof. A. Iantcheva is dedicated to the creation and use of such plants for the study of legumes. It is designed in the traditional style (Literature Review, Aims and Tasks, Results and Discussion, Conclusion and Conclusions) and covers 315 standard pages. It is

illustrated with 71 figures, 23 tables, 501 literary sources and two voluminous annexes spanning about 40 pages of the thesis.

The plant species *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus* and *Arabidopsis thaliana* are being studied, and those related to *M. truncatula* are pioneering in our country. Research has started in connection with the development of European projects that have enabled the Dr. Iantcheva to create a valuable collection of *Tnt1* insertion mutants of *M. truncatula*, as well as a small collection of similar mutants of *Lotus japonicus*. Thus, she initiated the research on functional genomics of legumes in Bulgaria, applying the methods of forward and reverse genetics. Assoc. Prof. Iantcheva succeeds in transferring key genes related to the development and nitrogen fixation in the genome of the model species *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus* and *Arabidopsis thaliana*, in order to study their function and their interaction with other plant genes. In the course of her research she develops original protocols for genetic transformation that allow it to explore the mechanisms of plant development from one cell to the whole plant. In her research she demonstrates the asymmetry of the first cell division, the induction of embryogenic potential and manages to obtain somatic embryos from single cells.

Assoc. Prof. Iantcheva defines for the first time the genome size of *Medicago* diploid species (from Algeria) and establishes a link between genomic size and the competence to induce direct somatic embryogenesis in aliquid medium. She discovers a new retroelement (MERE1-1) and demonstrates its transposition into the genome of *M. truncatula* mutant lines upon *in vitro* regeneration, as well as the involvement of several other genes (*MtLAX3*, *MtARFB3*, *MtF-box*, *MtHAC*, *MtGRAS*, *MtDRP*) in the process of indirect somatic embryogenesis. The achievement of gene over-expression and gene silencing vectors in model plants *M. truncatula* and *A. thaliana* should also be noted as her achievement. Thanks to them, Dr. Iantcheva found that *F-box* overexpression in *M. truncatula* led to changes in leaf shape and root system. In the course of the phenotypic characterization of the model plants, the original insertion mutant line named "Fishbone" was discovered.

Assoc. Prof. Iantcheva conducts for the first time a complex comparative functional (phenotypic, morphometric, transcriptomic, proteomic and metabolomic) analysis of the *F-box protein* gene in the model plants *M. truncatula* and *A. thaliana*. In addition to the protocol for the genetic transformation of cell suspension cultures, she also develops an efficient system for synchronization of root-tip meristem cells for the study of the *M. truncatula* cell cycle.

The results of the research related to the dissertation are reflected in 13 scientific publications, 11 of which are published in international refereed journals with IF and 2 in monographs. In 12 of them the doctoral student is the lead (first or last) author. Her works have been cited 51 times so far. The results have also been reported in a number of national and international scientific forums.

Conclusion: From the analysis of the dissertation work, the reference for the contributions and publications related to the dissertation of Assoc.Prof. Anelia Iancheva, I can conclude that it fully meets the requirements of the Law on Development of Academic Staff in Republic of Bulgaria, the Regulations for its implementation and the internal Regulations of the Agricultural Academy for acquisition of scientific degree "Doctor of Science", which is why I strongly recommend that the Scientific Jury definitely to conduct her defense and to award her.

Sofia, 21.08.2019

Signature:



/ Acad. Ivan G. Ivanov /