

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. Диана Христова Петкова, д.б.н., Институт по биофизика и биомедицинско инженерство, БАН

във връзка с обявения конкурс за професор по научната специалност 4.3 Биологични науки (01.06.08 Биофизика) за нуждите на секция „Биомакромолекули и биомолекулни взаимодействия”, Институт по биофизика и биомедицинско инженерство, БАН

ДВ бр. 37/15.05.2012 г

В конкурса участва единствен кандидат доц. Мира Бушева. Кандидатката е родена през 1949 г. в г. София. През 1973 г. завършва Московския държавен университет „Ломоносов” специалност Биофизика. От 1973 г. до 1977 г. работи като специалист- физик в Института по физиология на растенията, БАН. През 1979 г. постъпва на работи като специалист-физик в Института по биофизика, където е зачислена като аспирант на самостоятелна подготовка от 1996 г. През 1999 г. успешно защитава дисертация на тема „ Функционални и физикохимични характеристики на модифицирани мембранни фрагменти обогатени на Фотосистема 2” и получава научната и образователна степен „Доктор” . Избрана е за научен сътрудник II –I ст. през 1979 г. в Института по биофизика, където спечелва конкурс за ст.н.с. II ст. (понастоящем доцент) през 2002 г. Доц. Мира Бушева е била многократно в чужбина на специализации във водещи лаборатории , където е провеждала изследвания върху молекулните механизми на процесите на фотосинтезата в Унгария и Русия, което се отразява положително на нейната научна квалификация в областта на биофизика на фотосинтетичните процеси.

Основните научните трудове на доц. Мира Бушева са свързани с изясняване на бифизичната и физикохимична страна на процесите на фотосинтезата – един от най-важните процеси в природата, от който зависи съществуването на всички организми на нашата планета. Прилагайки различни биофизични методи като Раманова спектроскопия, кръгов дихроизъм, флуоресценция , електрооптични методи, лазерна техника, диференциална сканираща микрокалориметрия тя е успяла да установи редица молекулни механизми свързани с пренос на енергията между двете фотосистеми, да изясни значението на микро- и макроорганизацията на отделните комплекси на

фотосистема 2 при движението на електронните потоци във фотосинтетичната верига и поглъщането на светлинна енергия от светосъбиращия комплекс 2.

Основните научни приноси на доц. Бушева могат да се разделят на две основни групи – фундаментални свързани с изясняване бифизичната основа на процесите на фотосинтезата и методични - създаване на методи за пречистване на растителни пигменти.

А. Фундаментални научни приноси:

- За пръв път чрез диференциална сканираща калориметрия и кръгов дихроизъм на тилакоидни мембрани е доказано, че температурно индуцираното нарушение на хиларната организацията на микродомени, се характеризира със слаб и разлат темпертаурен преход, който се понижава при продължително фотоинхибиране и зависи от температурата, при която се извършва третирането. В термограмата са наблюдавани още два добре обособени прехода. Единият пик характеризира мономеризацията на ССК2, а пикът при най-високите температури характеризира нарушението на различни пигмент – белтъчни комплекси, които при физиологични състояния не са светлинно индуцирани. От тези резултати е направено заключение, че процесите на термооптичните въздействия се характеризират с три етапа- разстиковане на тилакоидните мембрани, нарушение на хиларните микродомени и мономеризация на ССК2 тримери. Предположено е, че термооптичната структурна реорганизация има значение за осигуряване на структурна стабилност, запазване на интегритета на мембраните и съответните органели и за осигуряване гъвкавост за адаптация на системата към по –интензивно възбуждане. (публикация 2)

- Използвайки растителни мутанти с променено ниво на пигменти, структурна организация на пигмент – белтъчните комплекси и повърхностен електричен заряд е доказано е, че потока на енергията на възбуждане към ССК2, антените, реакционните центрове на ФС2 зависи от тоталното количество на пигментите в тилакоидната мембрана. Установено е, че степента на агрегация е един от основните регулатори на разпределението на енергията между антените и реакционните центрове и насочването на енергийния поток към ФС1. Друг важен регулатор на потока на енергия, макроорганизацията на фотосинтетичния апарат и стиковането на ФС2 суперкомплексите е концентрацията на Mg^{++} йони, които оказват своята регулаторна активност по два различни механизма по отношение на последните два процеса. За анализ на получените резултати е използван усъвършенстван метод за разлагане на 77к

спектрите на хлорофилната флуоресценция и за определяне на спектралните ивици, които съответстват на пигмент – белтъчните комплекси (публикации 3,7).

- Чрез Раманова спектроскопия са изследвани промените в молекулната структура и конфигурация на основните ксантофилни пигменти в тилакоидната мембрана в мутанти с променено съдържание на пигменти и структурна организация на пигмент-белтъчните комплекси. Доказано е, че различията в конфигурацията на пигментите се дължат на различната макроорганизация на ФС2-ССК2 супрамолекулните комплекси. (публикация 4).

- Използвайки диференциална сканираща калориметрия и флуоресцентни измервания на делипидирани плътно опаковани макроагрегати на ССК2 е доказано, че термичната денатурация на комплекса е необратим и кинетично зависим процес, който се дължи на първоначална промяна в структурата на ламелите на ССК2, мономеризация на комплекса и последваща необратима денатурация на протеините (публикация 5).

- При два вида култури от ечемик с различна толерантност към засушаване е доказано, че ФС2 слабо се повлиява от осмотичен стрес, което е доказателство, че това е основно свойство на ФС2 и не зависи от вида на културите (публикация 6).

- Приложен е математически модел описващ нивото на гасене на хлорофилната флуоресценция и на анализ на спектралните ивици съответстващи на различни видове агрегати на ССК2. Доказано е съществуване на големи и малки агрегати като малките агрегати съответстват на тримера на ССК2. Гасенето на флуоресценцията на хлорофил *a* се дължи на локални промени в конфигурацията при формиране на комплекси съдържащи гасители, вероятно димери на хлорофил *a*, нарастване на количеството им и намаление на времето на живот на центровете им . Въз основа на тези данни е предложен механизъм за нефотохимичното гасене (публикации 9,10,11).

- Използвайки инхибитор на каротиновата биосинтеза , хербицида флуридон, е изучена връзката между нивото на каротините и функцията на фотосинтетичния апарат. Установено е, че връзката между фотохимията на ФС1 и ФС2 не е право пропорционална на нивото на каротините за разлика от кислородното отделяне. Двете фотосистеми се инхибират след определени прагови концентрации на намаление на каротините поради структурни промени във фотосинтетичния апарат. Установено е, че увреждането в продукцията на кислород се дължи на чувствителността на ФС2 α центрове към количеството на каротините (публикация 12).

- Тъй като изопрена е един от най-важните биогенни летливи органични вещества играещ ключова роля при взаимодействията на растенията с околната среда са

проучени ефекта на CO₂ и топлината върху емисията на изопрен и метанол от *Platanus orientalis*. Чрез 77К хлорофилна флуоресценция е доказано, че нивото на изопрена оказва влияние върху интегритета и преноса на енергия между двете фотосистеми поради въздействието му върху интегритета на пигмент-белтъчните комплекси. При отглеждане на растенията в среда богата на CO₂ се наблюдава намаление на емисията на изопрен и в преноса на енергия от ФС2 към ФС1, което се дължи на намаление на пигмент-белтъчните комплекси на ФС1 или силна агрегация ССК. Повишената температура в комбинация с повишените нива на CO₂ стимулира разпределението на енергията към ФС1. Така е доказано, че съдържание на изопрен има голямо значение за толерантността на растенията към различни вредни въздействия и, че топлината може да предотврати до известна степен вредното въздействие на CO₂. Протективната роля на изопрена върху температурната стабилност на тилакоидните мембрани е изследвана и чрез кръгов дихроизъм, термолуминисценция и промени в електрохроматичната абсорбция. Установено е, че стабилността на хиларните макродомени се повишава в присъствие на изопрен, както и стабилността ССК2 – ФС2 в стикованите области на тилакоидните мембрани. Изопренът предпазва интегритета на тилакоидните мембрани и ефективността на първичната фитохимия на ФС2 при повишени температури. Чрез тези изследвания за пръв път са представени преки доказателства за протективната роля на изопрена върху термичната толерантност на растенията. (публикации 13,17).

- Проучено е значението на протеините локализирани в различни области на ФС2 за флуоресцентните й свойства чрез 77К флуоресценция на хлорофил *a*. Отделянето на малки повърхностно разположени протеини води до повишение на флуоресценцията, което се дължи на повишена флуоресценция на външните антени. При отделяне на вътрешните протеини на кислород отделящия комплекс се наблюдава понижаване на флуоресценцията дължащо се на намаление на разстоянието между хлорофилните *a* молекули и ориентацията им (публикация 14).

- В последно време голяма част от проучванията върху молекулните механизми на редица природни процеси са насочени към изясняване възможността за приложението им при създаване на биосензори за детекция на различни замърсители в околната среда. Растенията са много чувствителни към такива промени и за това са проведени изследвания свързани с установяване чувствителността на процесите на кислородно отделяне и параметрите на хлорофилната флуоресценция към концентрацията на Si в околната среда. Проведените изследвания доказват, че процесите на не-

фотохимичното гасене са много чувствителни на концентрациите на тежкия метал мед в сравнение с процесите свързани с кислородното отделяне, което показва, че имобилизация на тилакоидни мембрани върху някаква мембрана би било удачно за получаване на чувствителни биосензори за детекция на замърсители в околната среда (публикации 15).

- За да се проучи възможността за приложение на пигментите на ФС2 в създаване на ефективни и устойчиви соларни клетки на промени в интензитета на светлината чрез Раманова спектроскопия и 77К флуоресценция са оценени промените в структурните и спектралните свойства на пигментите на пигмент-белтъчните комплекси на ФС2 след третиране със светлина със силен интензитет. Това третиране води до силно гасене на флуоресценцията на каротените, обезцветяване на молекулите на хлорофил *a*, агрегация на ССК2 и повишен пренос на енергия към агрегиралите ССК2. При продължително въздействие със светлина с висок интензитет не се наблюдава допълнително обезцветяване на β - каротена и слабо обезцветяване на лютеина (публикации 16).

- Във връзка със значението на растителните хормони за преживяемостта на растенията към стресови условия е проучено влиянието на брасиностероидите върху фотосинтезата при *Arabidopsis*. Доказано е, че повишената чувствителност към този хормон не променя нетната скорост на фотосинтезата, но води до понижение на активността на кислород-отделящия апарат и намаление на активността на ФС1 (публикация 18).

- Раманова спектроскопия и 77К флуоресценцията са използвани за изследване ефекта на рН върху агрегацията на ССК2 на ФС2 и е установено, че липидното микрообкръжение е от голямо значение за фототолерантността на ССК2 комплекса. Този комплекс се характеризира с различните конформационни състояния, които имат различен капацитет за десипация на енергията, което може да обясни агрегационно-зависимия механизъм на гасене при силна светлина (публикация 19).

Б. Методични:

- Създадена е бърза, евтина и ефективна методика за получаване и пречистване на фотосинтетични пигменти – фитоцианин и фикобилипротейн от цианобактерии с цел приложението им в хранително-вкусовата промишленост и медицината като антиоксиданти и антивъзпалителни агенти. Методът включва екстракция с реванол, изсолване с натриев сулфат и хроматографско пречистване и е доказано за пръв път, че фикобилипротейн се състои от два пигмента (публикации 1,8).

При преглед на научната продукция на доц. Мира Бушева се забелязва, че са използвани редица биофизични методи за изясняване процесите на пренос на енергията между двете фотосистеми, за определяне конформационните състояния на пигментите в реакционните центрове и изясняване на молекулните механизми за защита на растенията към определени физични климатични фактори. Прави добре впечатление, че някои от изследванията имат и научно приложен характер като изясняване възможността за приложение на тилакоидните мембрани в производство на биосензори и използване на флуоресцентните свойства на растителните пигменти за приложението им за създаване соларни батерии.

За конкурса доцент Мира Бушева е представила 19 научни труда, от които 15 статии в списания с ИФ и 4 доклада в пълен текст от научни мероприятия. Общият ИФ на публикациите, с които участва е 33.665. Общият брой публикации през цялата ѝ научна кариера е 59 с общ ИФ 72.73. Значението и актуалността на получените резултати е доказано със значителния брой цитирания – 240 , основно от чуждестранни учени.

Доц. Мира Бушева е била член на 5 международни договори с Унгария. Кандидатката е взела участие и в 12 договора финансирани от български източници като ФНИ и Софийски Университет . Резултатите от изследванията са представени и на 46 научни форума у нас и в чужбина.

Кандидатката има и преподавателска дейност, която се изразява във : водене на упражнения в ХТМУ и Физически ф-т СУ; консултант на 3 защитени дипломни работи към Физически факултет на СУ. Понастоящем е ръководител на един редовен докторант. Рецензирала е научни публикации за наши и международни научни списания.

Доц. Бушева наред с научно-изследователската си работа има и редица административни задължения - председател на Общото събрание на учените към ИБФБМИ, член на Научния съвет на същия институт. Била е и.д. завеждащ секция, а помаястоящем е член на Атестационната комисия и Отговорник по охрана на труда.

Научната продукция на Мира Бушева отговаря напълно на приетите изисквания на правилника на ИБФБМИ, БАН за заемане на академичната длъжност ПРОФЕСОР и има ясно очертана научна тематика.

Считам, че са спазени всички изисквания според новия Закон за развитие на академичния състав в Република България .

Заключение : Доцент Мира Бушева е представила за конкурса научна продукция и цитирания, които напълно отговарят на ЗРАСРБ и Правилника за приложение приет от ИБФБМИ. Тя има ясно очертана научна тематика. Научните и приноси имат оригинален характер . Всичко това ми дава основание убедено да препоръчам доцент Мира Бушева да бъде избрана за административната и академична длъжност ПРОФЕСОР по шифър 4.3 Биологични науки (Биофизика).

13.09.2012 г.

РЕЦЕНЗЕНТ :