

## СПРАВКА

### За основните постижения на проф. дн Иван Атанасов

Основните постижения от досегашната ми научно-изследователска дейност се отнасят до шест основни групи:

#### **1. Клонирание и характеризирание на гени определящи или свързани с важни стопански признаци при растенията:**

**1.1. Характеризирание състава на интегралната част на целулоза синтетазния комплекс /ЦСК/ формиращ вторичната клетъчна стена при *Arabidopsis* и взаимодействието между CESA целулоза синтетазите участващи в него.** Целулозата е най-разпространения и най-използван от човека и тревопасните животни полимер в природата. Биосинтезата на целулоза е определящ фактор за много и различни процеси в растенията. Въпреки различни предположения за състава на целулоза синтетазния комплекс, дълго време изследванията не можеха да дадат отговор каква е интегралната част от комплекса, как се асемблира комплекса и как се транспортира до клетъчната мембрана. В няколко последователни изследвания бяха конструирани трансгенни растения с едновременно тагове върху две от субединиците и след успешно пречистване и протеомен анализ за първи път бе определен състава на интегралната част от комплекса. За получаването на трансгенните растения бе разработен оригинален, прецизен и много ефективен метод за конструирание и клонирание на варианти на гени във вектори за експресия комбиниращ PCR-сливане с Gateway рекомбинантно клонирание. В последствие този метод бе многократно прилаган за изследване на взаимодействията между субединиците на комплекса и транспорта му в клетката, както и в редица други изследвания, вкл. и на биосинтеза на клетъчната стена. Резултатите са публикувани в реномирани списания и високо цитирани (публикациите: *Atanassov et al. (2009) Journal of Biological Chemistry*; *Atanassov et al. (2009) Plant methods*; *Brown et al. (2011) Plant Journal*; *Kumar et al. (2016) Science*; *Kumar et al. (2017) Plant Physiology*);

**1.2. Характеризирание на алели на ген, разположен върху половите хромозоми на двудомния растителен вид *Silene latifolia* и оценка на дивергенцията между алелите.** За разлика от бозайниците само малка част от растенията (<7%) са двудомни, т.е. имат различен пол и съответно полови (т.е. свързани с пола) хромозоми. Половите хромозоми при различните двудомни растителни видове са в различен етап на еволюция и диференциация, което прави растенията ценни моделни организми за изследване на

еволюцията на гените разположени върху тях. Изследванията на диференцирането на половите хромозомите и гени разположени върху тях освен фундаментално значение имат висок приложен потенциал във връзка с възможното приложение на резултатите за конструиране на системи за получаване на хибридни семена при голяма част от култивираните растителни видове. Въпреки големия интерес и изследвания за характеризирание на гени разположени върху половите хромозоми първите успешни резултати бяха публикувани едва в края на 20 век. Едно от постиженията ми в тази област е изследването завършило с втората публикация на клониране и характеризирание на SIX4/SIY4 гена с два функционални алела разположени върху полови хромозоми на двудомния растителен вид *S. latifolia*. Важен резултат от изследването бе оценката на дивергенцията между алелите на гена, отчитайки че той не е пряко свързан с половата диференция. (публикация: *Atanassov et al. (2001) Molecular Biology and Evolution*;

### **1.3. Клониране и характеризирание на антер-специфични гени от *Nicotiana sylvestris*.**

Клонирането и характеризирането на антер-специфични гени освен че генерира ценна научна информация има и важно практическо приложение във връзка с изследване и възможностите за получаване на мъжко стерилни растения необходимо за производството на хибридни семена. В няколко изследвания в АБИ бяха клонирани и характеризирани експресията на два антер-специфични гена, които се експресират специфично в клетките на тапетума и микроспорите през кратък период от развитието на антерите свързан с разграждането на тетрадите и развитието на едноядрените микроспори (този етап на развитието на антерите е критичен за формирането на жизнен полен и съответно мъжката фертилност на растението). След анализ на резултатите бе изказана хипотезата че двата гена принадлежат към /а/ семейството на аденилат-формиращите ензими, сходни с кумарат Коа лигаза за *nscllk* гена и /б/ семейството на поликетид синтазите III, сходни с халкон синтазите за *nschslk* гена, и че тяхната биологична функция е свързана с биосинтеза на биосинтеза на екзината - високоустойчивата външна стена на микроспорите (която определя и жизнеността на полена). Тази хипотеза бе потвърдена от изследвания на други автори, публикувани повече от 10 години след нашите публикации. Въпреки че днес има публикувани изследвания на сравнително голям набор от антер-специфични гени, успехът на тези изследвания направени през трудните за науката и обществото в България години между 1996 - 2002 имаше важна роля колектива на института да получи увереност че въпреки трудностите можем успешно да правим изследвания на много добро съвременно ниво. В последствие тези изследвания стимулираха и провеждането на набор от други изследвания свързани с клониране и характеризирание на експресията на гени и промоторни

области, поради което винаги се връщам и спомням с гордост за тези години. (публикации: *Atanasov et al. (1998) Plant molecular biology; Varbanova et al. (2003) Plant Science;*)

**1.4. Характеризиране на генетичното разнообразие и генетичните ресурси при икономически важни растителни култури и видове.** Рязката промяна и крайно негативното отношение към култивирането на генно модифицирани растения настъпила в първите години на 21 век доведе до практическа невъзможност за финансиране и провеждане на изследвания свързани с клониране и експресия на гени за няколко години. Заедно с това през този период имаше постоянно нарастващ интерес към възможно по-пълното и комплексно характеризирание на наличните генетични ресурси при икономически важни за страната растителни култури. Всичко това наложи в Агробιοинститута, и в групата по молекулярна генетика която ръководих, да направим „пълнен обратен завой“ в изследванията и да се фокусираме върху разработване и прилагане на методи за генетичното и в последствие метаболитно характеризирание налични генетични ресурси при основни и емблематични за България култури като лоза, маслодайна роза, лавандула и слънчоглед. (трябва да отбележа че клонирането и характеризирание на гени не бе „изоставено“ но тези изследвания бяха основно включвани в програмите за обучение на докторанти. В последствие това решение се оказа много добро за осигуряване на добрата експериментална и теоретична подготовка на докторантите, която те можеха да прилагат в различни други изследвания). В резултат на „обратния завой“ и широко прилагане на SSR и SRAP маркери и SNP анализ групата по молекулярна генетика публикува оригинални и за част от културите първи публикации за молекулярно-генетично характеризирание на сортове и линии при маслодайна роза, лоза, лавандула, като изследванията бяха използвани и за интензивен научен обмен с колеги от чуждестранни институти работещи по тези теми (част от обмена бе в рамките на изпълнявания тогава проект „Български център по компетентност по растителни биотехнологии“ по 5та Рамкова програма на ЕС). Като резултат публикациите за тези изследвания високо цитирани от други автори и колективи, напр. публикациите: *Rusanov et al. (2005) Theoretical and Applied Genetics; Hvarleva et al. (2005) VITIS, Zagorcheva et al. (2020) Biotechnology & Biotech. Eq.* и др. Важен следващ етап за комплексното характеризирание на наличните генетични ресурси бе провеждането на следваща група от изследвания на метаболитния състав и оценка на ефекта от генотип, условия на отглеждане, практики за добиване и преработване на биомаса. Съответно в групата по молекулярна генетика бяха адаптирани и разработени експериментални процедури за пробоподготовка специфични за отделните култури и цели на изследването. В резултат на това бяха извършени оригинални изследвания и публикувани високо оценени от научната общност резултати за метаболитния състав на летливи съединения при емблематичната за страната

маслодайна роза, напр. публикации: Rusanov et al. (2013) *Scientia Horticulturae*; Rusanov et al. (2012) *European Food Research and Technology*; Rusanov et al. (2012) *Industrial Crops and Products*; Rusanov et al. *Biotechnology & Biotech. Eq* (2011) ; Rusanov et al. (2011) *Food chemistry*; и др. В резултат на всички тези изследвания през последното десетилетие Агробиоинститута акумулира критична маса от оборудване и ноу-хау и днес извършва комплексни изследвания за характеризиране на сегрегиращи популации, конструиране на генетични карти и идентифициране QTL локуси контролиращи важни стопански признаци при икономически важни култури или растителни видове с висок потенциал за индустриално култивиране, както и провежда изследвания с директни приложения за ускорена селекция с молекулярни маркери. Пример за такова изследване е и наскоро публикуваното идентифициране на QTL контролиращ отношението на линалол към линалил ацетат в цветовете на лавандула, което е важно за качеството на добиваното лавандулово масло (публикация: *Rusanov et. al. 2023, Biotechnology & Biotech. Eq. 37*)

**1.5. Характеризиране на генетичното разнообразие на популации растения и риби, и микробиални съобщества.** Натрупаният опит за приложение на молекулярните маркери и анализ на ДНК последователности в групата по Молекулярна генетика бе широко прилаган за характеризиране на генетичното разнообразие и популационна структура при широк набор от: естествени популации на лечебни и ароматни растения и дървесни видове (*Zagorcheva et al. 2022 Biotech. & Biotech. Eq.*; *Zagorcheva et al. 2022 Proc.Bulg.Acad.Sc.*; *Alekseeva et. al. 2021 Front. Pl. Sc.*; *Zagorcheva et al. 2020 Biotech. & Biotech. Eq.*; *Zagorcheva et al. 2020 Silva Balc.*; и др.), породи овце (*Mihailova et al. 2023 Animals*), риби (публ. *Atanassov et al. 2011 Biotech. & Biotech. Eq.*, *Ivanova et al. 2021 Nat. Cons.*), дрожди и гъби (*Rusanova et al. 2023 Microorganisms*; *Rusanova et al. 2019 Biotech. & Biotech. Eq.*), термофилни микроорганизми (*Ivanova et al. 2011 J.Basic Microb.*, *Atanassov et al. 2010 Biotech. & Biotech. Eq.* и др.). В резултат на тези и други сходни изследвания в групата по Молекулярна генетика, днес в АБИ молекулярните маркери рутинно се прилагат за характеризиране на генетичното разнообразие при много широк кръг организми. Важно надграждане през последните години в тази насока е включването и на паралелни анализи и характеризиране на метаболитното разнообразие което е от важно значение за комплексното характеризиране на биоразнообразието с цел следващото му оползотворяване. Пример за това е характеризиране на генетичното и метаболитно разнообразие в естествени популации на исоп и бял риган, като в последното изследване бе направена и следваща стъпка към използване на получените резултати за създаване на базова (core) колекция от генетични ресурси за следващ отбор и селекция на високо продуктивни линии (публ. *Alekseeva et. al. 2021 Front. Pl. Sc.*). Подобно характеризиране на естествени популации от лечебни и ароматни растения и следващо оползотворяване на наличните генетични ресурси чрез отбор, селекция и полу-индустриално култивиране е важна част от дейността на

Агробиоинститута в рамките на изграждания съвместно с БАН и СУ, Център за компетентност „Устойчиво оползотворяване на био-ресурси и отпадъци от лечебни и ароматични растения за иновативни биоактивни продукти“

**1.6. Характеризиране, обработка и оползотворяване на отпадни продукти от преработка на агро-продукти.** Едно важно постижение от дейността ми и на колеги от АБИ е стартирането и провеждане на системни научни и научно-приложни изследвания насочени към характеризиране на биологично активни вещества в отпадни продукти от агро- и био-индустрията и търсене на възможности и технологични решения за екстракцията им и следващо оползотворяване. Начало на тези изследвания бе с успешното изпълнение на българо-швейцарския проект „Оползотворяване на биологично активни съединения от отпадни води от розопроизводство“ в рамките на който успешно бяха обработвани отпадни води получени след промишлена производство на розово масло, екстрахирани фенолни съединения от тези води и оценена биологичната им активност, възможностите за приложение на екстрактите, както и възможности за насочено модифициране на състава на отпадните води чрез ферментация с аборигенни или ендифитни дрожди и гъби (публ.: *Rusanov et al. 2014 Planta medica; Solimine et al. 2016, Fitoterapia; Wedler et al. 2016 Planta medica; Rusanova et al. 2019 Biotech. & Biotech. Eq. Rusanova et al. 2023 Microorganisms;*). В резултат на тези изследвания бе акумулирано значителен опит в обработката на мътни отпадни води и екстракция на биологично активни вещества от тях, което бе използвано за конструиране и успешно тестване на реактор за екстракция на полу-индустриални обеми мътни отпадни води (подадено искане за проучване на изобретени в Патентно ведомство). В резултат на всичко това днес АБИ има необходимия капацитет за практическо реализиране на обработка и екстракция на индустриални обеми мътни отпадни води от агроиндустрията, екстракция и следващо оползотворяване на биологично активни вещества от тях. Последното представлява ново направление в дейността на института, което отговаря на нуждите на агроиндустрията за повишаване на добавената стойност при подобрени екологични параметри на производството. Това направление е също част от дейността на АБИ в рамките на изграждания съвместно с БАН и СУ, Център за компетентност „Устойчиво оползотворяване на био-ресурси и отпадъци от лечебни и ароматични растения за иновативни биоактивни продукти“

06.06.2024 г.

.....  
проф. дн Иван Атанасов

Проф. дн Иван Атанасов, участие в конкурс за член-кореспондент на БАН.

**„Док\_чл 7 точка\_в\_основни постижения“**