# СЕЛСКОСТОПАНСКА АКАДЕМИЯ

СОФИЯ Bx. Nº Hy4 -112

### **РЕЦЕНЗИЯ**

21.05. 2024r. от проф. докгор Елена Иванова Георгиева

относно провеждане на конкурс за академична длъжност "Доцент", в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.3. Биологически науки; научна специалност "Генетика", обявен за нуждите на отдел "Функционална генетика, абиотичен и биотичен стрес", към Агробиоинститута/Селско Стопанска Академия.

#### 1. Обща част:

Със заповед на Председателя на ССА, № РД 05-95/10.04.2024г., съм назначена за член на научното жури по провеждане на конкурс за заемане на академичната длъжност "Доцент", в професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност "Генетика". Обявата е отразена в ДВ, бр. 23 от 13.02.2024г. Конкурсът е обявен за нуждите на Отдел "Функционална генетика, абиотичен и биотичен стрес" при Агробиоинститута на ССА. Единствен кандидат, подал всички изискуеми документи за този конкурс, е доктор (д-р), Миглена Николова Ревалска, главен асистент (гл. ас.) в Отдел "Функционална генетика, абиотичен и биотичен стрес" в същия институт. Процедурата по разкриване и обявяване на конкурса е спазена и представените документи са съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав в РБ, Правилника за неговото приложение и приетите допълнения в ССА.

## 2. Биографични данни.

Доктор Миглена Ревалска е възпитаник на Софийски университет "Св. Климент Охридски", Биологически факултет, където успешно през 2009 год. завършва магистърската си степен със специалност: "Растителни Биотехнологии". За изработване на магистърската си дипломна работа, в периода 2008г.-2009г. е специализирала по програма Сократ-Еразъм в Департамента по Растителна Системна Биология, Фламандски институт по Биотехнологии, съвместно с Университет на Гент, Белгия; група Брасиностероиди, на тема "Модулиране на растителния растеж чрез GSK-3 кинази". Веднага след дипломирането си тя започва работа като специалист, биолог, в групата по "Функционална генетика Бобови", към Агробиоинститут, ССА. От 2010г. до 2015г. е докторант в същата група, а през 2016г. защитава докторска теза: "Проучване експресията на гени, кодиращи ауксинов мембранен преносител и транскрипционен фактор В<sub>3</sub> в моделните растения Medicago truncatula, Lotus japonicus и Arabidopsis thaliana" и придобива НОС "Доктор" по научна специалност "Генетика". След спечелен конкурс, от 2016г. до сега, е Главен асистент в отдела по Функционална генетика, абиотичен и биотичен стрес, към Агробиоинститута (АБИ), ССА и с общ трудов стаж повече от 12 години, през който има проведена само една едномесечна специализация за обучение на тема "Изготвяне на конструкти за инактивиране на генната експресия по метода на RNAi", в групата по Ризосфера, към Департамента по Растителна системна биология на Фламандския институт по биотехнологии в Гент/Белгия. Целият професионален стаж на д-р Ревалска, кариера и изграждане като специалист в областта на растителната генетика при моделни, селскостопански растения протича в Агробиоинститут, ССА. Впечатляващо е, че цялостната научна дейност на кандидатката, високите ѝ професионални умения и публикационна дейност са

придобити изцяло в България. Кариерното ѝ развитие е в множество различни взаимосвързани генетични направления, включващи растителна системна биология и функционална генетика; геномика и транскриптомика; ин витро размножаване; генетична трансформация на растителни култури; клониране на гени, конфокална микроскопия и др. Високата научна наукометрия на д-р Ревалска показва, че е придобила отлични умения в планиране, изпълнение, отчитане и анализиране на резултати по проекти; подготовка и публикуване на научна литература; рецензиране на научни статии и научни проекти.

#### 3. Наукометрични показатели

Обобщената информация от публикационната дейност на кандидатката, за периода на изследователската ѝ дейност от месец октомври 2009г. до месец март 2023г. е следната: публикувани общо 25 научни труда, от тях 21 в реферирани списания (17 с общ IF = 29,774 (по WoS) и общ SJR = 15.406 (по Scopus), 4 без IF, но с SJR). От тези 25 публикации 2 са отразени в нереферирани списания и 2 в глави от книги. Общият брой цитирания, без самоцитирания, са 105 (по Scopus). В конкурса за заемане на академичната длъжност "Доцент" са включени 20 научни труда, от които 18 публикации в реферирани списания (от тях 14 с IF и SJR и 4 без IF, но с SJR) и в 2 глави от книги, със следното разпределение по квартили: Q1 – 4; Q2 – 2; Q3 – 11; Q4 – 1; с общ IF 27.396 (по WoS), общ SJR 14.194 (по Scopus). Справката за цитируемостта на научните трудове на кандидатката, включени в конкурса, показва че без автоцитати те са цитирани 85 пъти (по Scopus), докато цитатите за цялостната ѝ научна дейност са над 105 (по Scopus). Високата цитируемост на научните трудове е водещ показател, отразяващ постиженията на разработваните, доказани и публикувани идеи, хипотези и научни резултати. Съществена част от публикациите на д-р Ревалска са във високо рейтингови списания, KATO: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Plant Cell Tissue and Organ Culture, Protoplasma, Current Genomics и др. Д-р Ревалска е представила резултатите си с постери и устна презентация на 7 национални и международни научни форуми. В 50% от представените публикациите за конкурса, д-р Ревалска е първи, втори или кореспондиращ автор, което е важен показател за системна и самостоятелна научна дейност.

Важно е да отбележа трудностите на работа с растителни обекти, но в същото време е и впечатляващо системната и задълбочена извършена научна дейност от кандидатката, както и широкия диапазон от познания в различни области на растителната геномика, които тя безспорно притежава.

Справката за изпълнението на минималните национални изисквания (МНИ) за професионално направление 4.3 Биологически науки и съобразена с приетите към закона за ЗРАСРБ допълнителни наредби в ССА, удостоверява, че гл. ас. д-р Миглена Ревалска, формира 477 точки, при необходими 420 за заемане на академична длъжност "Доцент", което показва, че тя не само покрива МНИ, но и ги надхвърля. По отделните показатели на групите от А до Е на кандидатката за академична длъжност "Доцент" по ПН БН 4.3 в ССА са следните:

- Показатели от <u>група А</u> дисертационен труд за ОНС "доктор" <u>50 т.</u>;
- Показатели от група В 10 научни статии в списания с ИФ и импакт ранк 127 т.,
- Показатели от <u>група Г</u> 10 научни статии с ИФ и импакт ранк и публикувани в нереферирани списания с научно рецензиране или в редактирани колективни томове -200 т.

- Показатели от група Д (цитируемост) 70 т.
- Показатели от <u>група Е</u> (участие в национален научен или образователен проект) <u>30</u> <u>т.</u>

## • *ОБЩ БР<u>ОЙ ТОЧКИ: 477</u>.*

Приемам за рецензиране всички научни публикации, отразени в раздел В4, заместващи хабилитационен труд и тези в показател Г7, в индексирани и реферирани в WoS и Scopus списания. Публикуваните резултати отразени в нереферирани и неиндексирани списания също ще бъдат взети под внимание при изготвяне на крайната ми оценка.

## 4. Участие в научни проекти и други дейности на кандидатката.

Изследователската активност на д-р Ревалска намира отражение като ръководител и участник в 16 национални и международни научни проекти, от които в 2 национални тя е ръководител, а в останалите 14 е съизпълнител, като 5 са с национално финансиране; 3 с вътрешно финансиране от ССА; 6 са с финансиране от ЕС/международни организации. Активен участник и изпълнител е по програмата на ЕС Horizon-IA "Legume Generation", стартирала през 2023г. и продължаваща до 2028г. Участвала е с постери на 5 научно-популярни събития с обществено значение: 2 в "Европейска Нощ на учените", финансирани от ЕС по програма "Хоризонт 2020"; 2 в "Международния Ден на очарованието на растенията", провеждани под егидата на EPSO (European Plant Science Organization); и 1 участие в "Международна Селскостопанска изложба Агра". Експертната дейност на кандидатката е изключително представителна и богата. За цялостния си научен стаж тя е била рецензент на 27 научни статии публикувани в нереферирани и реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни научни издания. Ето някои от тях: Plants, International Journal of Molecular Sciences, BMC Plant Biology, Genes, Horticulturae, Monocytomics, Plant Molecular Biology Reports, Journal of Agricultural and Crop Research и др., което е показател за висока оценка и признание в международните и национални научни среди. Освен рецензент на научни статии д-р Ревалска е била рецензент и на 6 научни проекта по 2 национални, високо състезателни конкурси, обявени от ФНИ/МОН. Член е и на две професионални научни организации: Съюз на Учените в България (СУБ) и European Plant Science Organisation (EPSO). Независимо, че д-р Ревалска няма осъществени дългосрочни специализации в чужбина, специално внимание заслужава да се открои постигнатата от нея висока научна компетентност на национална почва, а това е резултат на широк диапазон от задълбочени теоретични и експериментални познания, от упорит труд и детайлно проучване на литературните източници благодарение на високото ниво на владеене на английски език и отличното владеене и приложение на компютърни програми и софтуери: Vector NTI, Image J, Origin pro, qBase, Microsoft Office (Word, Excel, PowerPoint), както и на работа със специализирана, прецизна научна апаратура и микроскопска техника.

# 5. Оценка на научноизследователската дейност и приноси на кандидатката

Представените за оценка 20 научни труда от д-р Ревалска напълно покриват професионалното направление на обявения конкурс за "Доцент" и са фокусирани върху приоритетни и стратегически важни за науката и страната ни научни направления свързани с функционални изследвания и геномика на моделни бобови растения, растителна системна биология и изследвания на клетъчния цикъл при растенията.

Представената справка, документираща постигнатите от кандидатката важни приноси са групирани в две основни направления с фундаментална и приложна научна стойност, а именно:

А. Оригинални приноси с фундаментална научна стойност. Тези изследвания са фокусирани върху функционална геномика и геномика на моделните бобови растения Medicago truncatula и Lotus japonicus: клониране на гени, генетична трансформация и in vitro размножаване на растителни култури; клетъчен цикъл при растенията; растителна системна биология и върху моделното растение Arabidopsis thalina, и брасиностероиди.

**В.** Публикационната дейност отнасяща се към оригиналните приноси с научноприложна стойност е съсредоточена върху соята като обект на изследвания за повишаване на продуктивността и нейните качествени характеристики.

Приемам така формулираната квалификация за постиженията от научно изследователската дейност на д-р Ревалска и считам, че в обобщен вид е много добре представена. Във всяко едно от тези направления работите на кандидатката демонстрират висока професионална компетентност, както по отношение на научните изследвания, така и по отношение на пренасянето на научни резултати в приложен контекст. За изпълнението на поставените задачи и приетите публикации, специално внимание заслужават статиите с отбелязана финансова подкрепа от одобрени проекти, в които д-р Ревалска е ръководител или участник.

Първото направление включва създаване на платформа по функционална генетика и геномика на моделни бобови растения. В рамките на проект финансиран по Шеста рамкова програма на EC е създадена колекция от мутантни линии от Medicago truncatula на базата на инсерционен мутагенез с ретротранспозон Tnt1 (Iantcheva et al. 2009, В&ВЕ, [В4. 1]). Скринирани мутантни линии, чрез транспозон-дисплей, са потвърдили присъствието на нови копия от Tnt1 в генома на M. truncatula. След секвениране на новооткритите инсерции е установено, че част от тях са локализирани в кодиращите последователности на различни гени. В част от колекцията от мутантни линии на M. truncatula и Lotus japonicus, създадена с използването на Tnt1 ретротранспозон, са идентифицирани нови гени, чиято функция е проучена чрез методите на обратната генетика (Vassileva et al. 2010, B&BE, [Г. 8]; Revalska et al. 2011, Curr Gen,  $[\Gamma, 7]$ ). От генома на моделното растение M. truncatula са клонирани 7 гена и техните промотори, като 6 от тях са интензивно изследвани за определяне на функцията им в генома на Medicago truncatula и хетероложната им експресия в генома на моделните растения Lotus japonicus и Arabidopsis thaliana. Групата по Функционална генетика - бобови е разпознаваема в международните изследователски колективи благодарение на дългогодишните изследвания свързани с моделното растение Medicago truncatula. В главата "Agrobacterim tumefaciens transformation of Medicago truncatula Cell Suspensions", от Iantcheva and Revalska 2019, [Г. 10] и публикувана в книга "Model legume Medicago truncatula" е представен иновативен протокол за трансформация на суспендиални култури от M. truncatula, който дава възможност за създаване на стабилни трансгенни растения произхождащи от една или няколко соматични клетки.

Отлично впечатление прави систематизирането, анализирането и изясняването на общите закономерности, в областта на растителната молекулярно генетична и клетъчна биология (включително приложната молекулярна и клетъчна биология).

Постиженията в това направление включват задълбочени функционални изследвания на 6 гена в генома на моделните видове M. truncatula, L. japonicus и A. thaliana.

- 1) MtARF-B3 ауксин отговорен транскрипционен фактор B3 (ARF B3) от *M. truncatula* е ген, чиято функция е обстойно изследвана и проследена в генома на трансгенни и контролни растения в моделните видове *M. truncatula, L. japonicus* и *A. thaliana* (Revalska et al. 2016a, BJAS, [B4. 9]; Revalska et al. 2016b, BJAS, [B4. 10]; Revalska et al. 2017, Turkish journal of Biology, [Г. 4]). Сравнен е фенотипът на трансгенните и контролни растения, анализирана е промяната в генната експресия, отчетен е броя на образуваните симбионтни грудки и семена и е установено, че потиснатата експресия на МtARF-B3 води до некротизиране на цветовете при *M. truncatula* и *L. japonicus*. Те остават стерилни и не се образуват семена. При растенията с потисната експресия от *A. thaliana* се наблюдава намалено семеобразуване.
- 2) MtLAX3 ген кодиращ трансмембранен ауксинов преносител LAX3 от *M. truncatula*. Неговата функция е подробно проучена във връзка с взаимодействието му с растителните хормони стриголактони. Изследванията са финансирани по спечелен проект от ФНИ/МОН с ръководител гл. ас. д-р Миглена Ревалска. Установена е връзката в сигналните пътища на ауксини и стриголактони и е проследена експресията както на LAX3 гена, така и на ключови гени от синтеза на стриголактоните в условия на фосфорно гладуване или излишък на фосфор (Revalska and Iantcheva 2018, PCTOC [Г. 2]). В глава от книга (Revalska and Iantcheva 2022, [Г. 9]) са систематизирани резултатите от взаимодействието между ауксина и стриголактоните в условия на екстремно съдържание на фосфор в средата.
- 3) MtGRAS В рамките на ръководен от д-р Ревалска проект, финансиран от ФНИ/МОН е изследван транскрипционния фактор GRAS. Принос с голям научен потенциал са резултатите от изследванията на д-р Ревалска върху генотипноспецифичния отговор на моделните бобови растения към абиотични стресови фактори. В тази връзка, обект на интензивни изследвания е транскрипционен фактор GRAS. Доказано е, че MtGRAS7 участва в отговор към абиотичен стрес като засушаване, засоляване и студ. Получените резултати са обобщени в две публикации Revalska et al. 2019, В&ВЕ [В4. 5] и Revalska et al. 2022, В&ВЕ [Г. 5]. Свръхекспресията на гена позволява на растението за неговото възстановяване след поставяне в условия на стрес.
- 4) Zinc finger CCHC-type protein В рамките на проект ДН 16/10, финансиран от ФНИ/МОН е изследвана функцията и е локализирана генната експресия на ген, кодиращ транскрипционен фактор Zinc finger CCHC-type protein. Една от основните функции на изследвания ген е участието му в процеса на семеобразуване. Наблюдавана е промяна в размера на семената при трансгенните растения по-големи при свръхекспресиращите и по-малки при линиите с потисната експресия. Този резултат води до повишен интерес в изследването на Zinc finger CCHC-type protein при икономически важната селскостопанска култура соя. Получените резултати са систематизирани в публикациите Radkova et al. 2019, B&BE [B4. 6] и Radkova et al. 2021, B&BE [B4. 3].
- **5) ген кодиращ F-box растителен протенн** в публикация на lantcheva et al. 2022, Protoplasma [Г. 1] са представени резултати получени при изследването на F-box ген, кодиращ растителен протеин в генома на *Medicago truncatula* и *Arabidopsis thaliana*. Този протеин се включва в комплекс отговорен за разграждането на ензим, участващ в

биосинтеза на разклонената аминокиселина левцин. Хомеостазата на левцина се променя взависимост от свръхекспресирането или потискането на експресията на F-box гена в трансгенни растения от M. truncatula и A. thaliana и води до отклонения във фенотипа на изследваните трансгенни растения.

6) **HAC1** — е ген кодиращ хистонова ацетилтрансфераза и е проучен както при *M. truncatula*, така и след хетероложната му експресия в генома на *L. japonicus* и *A. thaliana*. Функцията на изследвания ген в генома на трансгенни растения с модифицирана експресия *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus* и *Arabidopsis thaliana* е свързана с растежа на растенията и ацетилирането на хистоните в S фаза на клетъчния цикъл. Генът е локализиран в активно делящи се клетки на растителните тъкани, като е установено, че експресията му се инхибира след третиране с куркумин. Воусheva et al. 2017, Protoplasma [Г. 3]

В обзорна статия на Iantcheva and Revalska 2018, BJAS [В4. 7] са очертани ранните събития при индуцирането на соматичен ембриогенез при родовете *Medicago* и в моделните видове диплоидна *Medicago truncatula* и тетраплоидна *Medicago falcata*. Потвърдено и проследено е локализирането на експресията на гените, кодиращи ауксинов преносител MtLAX3 и ауксинов отговорен транскрипционния фактор В3 (MtARF-B3) от генома на *M. truncatula*.

Растителната системна биология и *Arabidopsis thalina* като моделно растение, брасиностероиди и изследвания свързани с клетъчния цикъл при растенията са следващите научни направления застъпени в проучванията на д-р Ревалска. Обект на изследване са транскрипционните фактори basic helix—loop—helix (bHLH) и helix—loop—helix (HLH), регулиращи клетъчното удължаване. Идентифициран е негативен регулатор на брасиностероидната сигнализация и клетъчното удължаване - IBL1, близък хомолог на IBH1 играещи роля във фината настройка на брасиностероидмедиираното клетъчно удължаване. Zhiponova et al. 2014, PNAS [Г. 6].

Разработена е бърза и лесна система за синхронизиране на клетки от коренова меристема чрез прилагане на репликативен стрес с хидрокси урея даващ възможност за проследяване на експресията на ключови маркерни гени участващи в различните фази на клетъчния цикъл. Системата първоначално е разработена за Arabidopsis thaliana и е адаптирана за моделното бобово растение. Методът дава възможност за проследяване експресията на Cyclin like F-box гена, участващ в прогресията на клетъчния цикъл при *М. truncatula* (Iantcheva et al. 2015, BJAS [B4. 8]).

Научно-приложните приноси в публикационната дейност на д-р Ревалска са свързани с икономически важната култура соя, нейното отглеждане и използване, като източник на растителен протеин във фуражите. Изследванията в това второ направление са подкрепени по проект "Legumes translated", финансиран от програма Хоризонт на ЕС и по проект Националната Научна Програма "Храни" в които гл. ас. д-р Ревалска е включена като участник. Тези проекти предоставят възможност за пренасочване на интереса от изцяло фундаментална, към приложна наука, с обект на изследване - соята. Създаден е иновативен подход за оценка на българските сортове соя Iantcheva et al. 2021, В&ВЕ [В4. 4]. Изследвани са нови диети при прасета включващи екструдирана соя от български сортове и е установено, че свободните радикали в кръвната плазма на животните намаляват, както и нивото на стрес предизвикан от диетата с включена екструдирана соя, която замества вносния соев шрот от 30 до 50%. От направено

изследване свързано с участието на соево кюспе от българска соя и включено във фуража на кокошки носачки е показано, че това води до повишаване на свободните аминокиселини и мастни киселини в жълтъка и белтъка на яйцата, което от своя страна повишава и хранителната стойност на тези яйца.

Друго иновативно проучване е свързано със семена от соя третирани при ниски температури за продължителен период от време преди засяване на полето и е доказано, че тази обработка подобрява производителността на растенията и съдържанието на аминокиселини, мастни киселини и захари. Изследвана е и експресията на гени, участващи в отговора към абиотичен стрес и транспорта на аминокиселини и е установена взаимовръзка между нивото на експресия на проучваните гени и количествата захари и аминокиселини. (Naydenova al. 2022, BJAS [B4. 2]).

## 6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гл. ас. д-р Миглена Ревлска представя за конкурса за "Доцент" 20 научни статии от общо 25 за цялостната си научна дейност, публикувани в авторитетни, високо рейтингови, реферирани научни списания с Q, SJR и JCR-IF с общ IF 29,774 и общ SJR 15.406, цитирани 85 пъти. Цитатите, без автоцитирания, за цялостната ѝ научна дейност са над 105. Представените наукометрични показатели напълно покриват минималните национални изисквания за тази длъжност и дори ги превишават. Д-р Ревалска е амбициозен млад изследовател със впечатляваща научна дейност, оригинални научни идеи и висока методична подготовка за реализацията им. Впечатляващ е броят научни национални и международни научни проекти (общ брой 16), в които тя участва, като на е 2 ръководител, а в 14 изпълнител. Постигнатите от д-р Ревалска резултати са с голям научен потенциал и възможности за приложение в селско стопанската практика. Нямам критични бележки. Научните приноси на кандидатката напълно удовлетворяват препоръчителните критерии на Закона за академичното развитие в РБ, Правилника за неговото приложение и специфичните Правилници на ССА за заемане на академичната длъжност "Доцент", което ми дава основание убедено да препоръчам на уважаемото научно жури и на Научния съвет на АБИ/ССА да присъдят на гл. ас. д-р Миглена Николова Ревалска, академичната длъжност "Доцент".

София, 14.05.2024

Подпис: С году — ЭС /проф. д-р Елена Георгиева/

#### REVIEW

## by Prof. Doctor Elena Ivanova Georgieva

on holding a competition for the academic position of Associate Professor in the field of higher education 4. Natural Sciences, Mathematics and Informatics; professional field 4.3. Biological sciences; scientific speciality "Genetics", announced for the needs of the Department of Functional Genetics, Abiotic and Biotic Stress, at the Agrobiological Institute/ Agricultural Academy.

#### 1. General:

By order of the President of the Agricultural Academy, No. RD 05-95/10.04.2024, I have been appointed as a member of the scientific jury for the competition for the academic position "Associate Professor", in the professional field 4.3. scientific specialty "Genetics". The announcement was published in Official State Gazette No. 23 of 13.02.2024. The competition was announced for the needs of the Department of Functional Genetics, Abiotic and Biotic Stress at the Agrobiological Institute of the Agricultural Academy. The only candidate who has submitted all the required documents for this competition is Miglena Nikolova Revalska, PhD, Senior Assistant Professor (Principal Asst.) at the Department of Functional Genetics, Abiotic and Biotic Stress at the same Institute. The procedure for the opening and announcement of the competition was followed and the documents submitted were in accordance with the requirements of the Law on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria, the Regulations for its implementation and the adopted supplements to the Agricultural Academy.

#### 2. Biographical data.

PhD Miglena Revalska is a graduate of Sofia University "St. Kliment Ohridski", Faculty of Biology, where in 2009 she successfully completed her Master's degree with a specialty. For the preparation of her Master's thesis, in the period 2008-2009 she specialized in the Socrates-Erasmus program at the Department of Plant Systems Biology, Flemish Institute of Biotechnology, in collaboration with the University of Ghent, Belgium; Brassinosteroids group, on the topic "Modulation of plant growth by GSK-3 kinases". Immediately after graduation, she started working as a specialist biologist in the group "Functional Genetics of Legumes", at Agrobioinstitute, Agricultural Academy, RBulgaria. From 2010 to 2015 she was a PhD student in the same group, and in 2016 she defended his PhD thesis: "Study of the expression of genes encoding auxin membrane transporter and transcription factor B3 in the model plants Medicago truncatula, Lotus japonicus and Arabidopsis thaliana" and obtained the PhD degree in Genetics. After winning a competition, since 2016 till now, she is a Senior Assistant Professor in the Department of Functional Genetics, Abiotic and Biotic Stress, at the Agrobioinstitute (ABI), Agricultural Academy and with a total work experience of more than 12 years, during which she has only completed one one-month training specialization on "Development of gene expression inactivation constructs by RNAi", in the Rhizosphere group, at the Department of Plant Systems Biology, Flemish Institute of Biotechnology, Ghent/Belgium. PhD Revalska's entire professional internship, career and establishment as a specialist in plant genetics in model, agricultural plants took place at the Agrobioinstitute, Agricultural Academy, Bulgaria.

She has been working at Agrobioinstitute, Agricultural Academy. It is impressive that the overall scientific activity of the candidate, her high professional skills and publishing activity have been acquired entirely in Bulgaria. Her career development has been in many different interrelated genetic fields, including plant systems biology and functional genetics; genomics and transcriptomics; *in vitro* propagation; genetic transformation of crop plants; gene cloning, confocal microscopy, etc. PhD Revalska's high level of scholarship indicates that she has acquired excellent skills in planning, executing, reporting and analyzing project results; preparing and publishing scientific literature; and reviewing scientific articles and research projects.

### 3. Scientific metrics

The summary of the candidate's publication activity, for the period of her research activity from October 2009 to March 2023, is as follows: a total of 25 scientific papers published, 21 of them in refereed journals (17 with a total IF = 29.774 (according to WoS) and a total SJR = 15.406 (according to Scopus), 4 without IF but with SJR). Of these 25 publications, 2 are reported in non-refereed journals and 2 in book chapters. The total number of citations, excluding selfcitations, is 105 (by Scopus). The competition for the academic position of Associate Professor included 20 scientific papers, of which 18 publications in refereed journals (14 with IF and SJR and 4 without IF but with SJR) and in 2 book chapters, with the following distribution by quartiles: Q1 - 4; Q2 - 2; Q3 - 11; Q4 - 1; with a total IF of 27.396 (according to WoS), a total SJR of 14.194 (according to Scopus). The citation record of the candidate's scientific papers included in the competition shows that without selfcitations they have been cited 85 times (according to Scopus), while the citations for her overall scientific activity are over 105 (according to Scopus). The high citation rate of scientific papers is a leading indicator reflecting the achievements of the developed, proven and published ideas, hypotheses and scientific results. A significant part of PhD Revalska's publications are in highly rated journals, such as Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Plant Cell Tissue and Organ Culture, Protoplasma, Current Genomics, etc. PhD Revalska has presented her results in posters and oral presentations at 7 national and international scientific forums. In 50% of the publications submitted for the competition, PhD Revalska is first, second or corresponding author, which is an important indicator of systematic and independent scientific activity.

It is important to note the difficulties of working with plant subjects, but at the same time it is also impressive the systematic and thorough scientific work carried out by the candidate, as well as the wide range of knowledge in different areas of plant genomics that she undoubtedly possesses.

The report on the fulfilment of the minimum national requirements (MNR) for the professional field 4.3 Biological sciences and in accordance with the additional regulations adopted to the law on the RASRB in the Agricultural Academy BG, certifies that the head as. PhD Miglena Revalska, formed 477 points, with the required 420 for holding the academic position of "Associate Professor", which shows that she not only meets the minimum requirements, but also exceeds them. The individual indicators of the groups A to F of the candidate for the

academic position of Associate Professor in the professional field 4.3., scientific specialty "Genetics" at Agricultural Academy are as follows:

- Indicators of group A dissertation for PhD 50 points;
- Indicators of group B 10 scientific articles in journals with IF and impact rank 127 pts,
- Group D indicators 10 scientific articles with IF and impact rank and published in non-refereed peer-reviewed journals or in edited collective volumes 200 pts.
- Indicators from group E (citation rate) 70 pts.
- Indicators of group F (participation in a national scientific or educational project) 30 points.

### - TOTAL POINTS: 477.

I accept for review all scientific publications, reflected in section B4, replacing habilitation thesis and those in indicator D7, in indexed and refereed in WoS and Scopus journals. Published results reflected in unrefereed and non-indexed journals will also be taken into account in my final assessment.

# 4. Participation in research projects and other activities of the candidate.

PhD Revalska's research activity is reflected as a leader and participant in 16 national and international research projects, of which she is the leader in 2 national projects and co-executor in the remaining 14, 5 with national funding; 3 with internal funding from the Agricultural Academy; 6 with funding from EU/international organizations. She is an active participant and contractor in the EU Horizon-IA "Legume Generation" programme, starting in 2023 and running until 2028. Participated with posters in 5 popular science events of public importance: 2 in the "European Scientists Night" funded by the EU Horizon 2020; 2 in the "International Plant Fascination Day" held under the auspices of EPSO (European Plant Science Organization); and 1 participation in the "International Agricultural Exhibition Agra". The candidate's expertise is extremely representative and rich. During her entire scientific experience she has been a reviewer of 27 scientific articles published in non-refereed and refereed and indexed in world renowned scientific databases. Some of them are Plants, International Journal of Molecular Sciences, BMC Plant Biology, Genes, Horticulturae, Monocytomics, Plant Molecular Biology Reports, Journal of Agricultural and Crop Research, etc., which is an indication of high appreciation and recognition in international and national scientific circles. In addition to reviewing scientific articles, PhD Revalska has also been a reviewer of 6 scientific projects in 2 national, highly competitive competitions announced by the FNI/MON. She is also a member of two professional scientific organisations: the Union of Scientists in Bulgaria (SUB) and the European Plant Science Organisation (EPSO). Despite the fact that PhD Revalska has no long-term specializations abroad, special attention should be paid to the high scientific competence she has achieved on the national soil, which is the result of a wide range of in-depth theoretical and experimental knowledge, hard work and detailed study of the literature thanks to her high level of English and excellent knowledge and application of computer programs and software: Vector NTI, Image J, Origin pro, qBase, Microsoft Office

(Word, Excel, PowerPoint), as well as working with specialized, precise scientific equipment and microscopic equipment.

# 5. Evaluation of the candidate's research activity and contributions

The 20 scientific papers submitted for evaluation by PhD Revalska fully cover the professional field of the announced competition for "Associate Professor" and are focused on priority and strategically important for science and our country scientific areas related to functional studies and genomics of model legumes, plant systems biology and cell cycle studies in plants. The presented reference documenting the important contributions achieved by the candidate are grouped in two main areas of fundamental and applied scientific value, namely:

- A. Original contributions of fundamental scientific value. These studies focused on functional genomics and genomics of the model legumes *Medicago truncatula* and *Lotus japonicus*: gene cloning, genetic transformation and in vitro propagation of crop plants; cell cycle in plants; plant systems biology and on the model plant *Arabidopsis thalina*, and brassinosteroids.
- **B.** Publication activity relating to original contributions of scientific and applied value focuses on soybean as an object of research for increasing productivity and its quality characteristics.

I accept the qualification thus formulated for the achievements of PhD Revalska's research activity and consider that in summary it is very well presented. In each of these areas, the candidate's work demonstrates a high level of professional competence, both in terms of research and in terms of translating scientific results into an applied context. For the fulfilment of the set tasks and the accepted publications, special attention should be paid to the articles with financial support from approved projects in which PhD Revalska is a leader or participant.

The first strand involves the establishment of a platform on functional genetics and genomics of model legumes. A collection of mutant lines of Medicago truncatula based on insertional mutagenesis with the Tnt1 retrotransposon has been established within a project funded by the EU Sixth Framework Programme (Iantcheva et al. 2009, B&BE, [C4. 1]). Mutant lines screened by transposon display have confirmed the presence of new copies of Tnt1 in the genome of M. truncatula. After sequencing the newly discovered insertions, it was found that some of them were localized in the coding sequences of different genes. In part of the collection of mutant lines of M. truncatula and Lotus japonicus created using the Tnt1 retrotransposon, new genes have been identified whose function has been investigated by reverse genetics methods (Vassileva et al. 2010, B&BE, [D. 8]; Revalska et al. 2011, Curr Gen, [D. 7]). From the genome of the model plant M. truncatula, 7 genes and their promoters were cloned, and 6 of them were intensively studied to determine their function in the Medicago truncatula genome and their heterologous expression in the genome of the model plants Lotus japonicus and Arabidopsis thaliana. The Functional Genetics - Legumes group is recognized in international research teams due to the many years of research related to the model plant Medicago truncatula. In the chapter "Agrobacterim tumefaciens transformation of Medicago truncatula Cell Suspensions", by Iantcheva and Revalska 2019, [D. 10] and published in the book "Model legume Medicago truncatula" an innovative protocol for transformation of suspension cultures of M. truncatula, which enables the creation of stable transgenic plants originating from one or several somatic cells.

The systematization, analysis and elucidation of general patterns, in the field of plant molecular genetics and cell biology (including applied molecular and cell biology), is very impressive.

Advances in this field include in-depth functional studies of 6 genes in the genome of model species M. truncatula, L. japonicus and A. thaliana.

- 1) MtARF-B3, an auxin response transcription factor B3 (ARF B3) from M. truncatula is a gene whose function has been extensively studied and tracked in the genome of transgenic and control plants in the model species M. truncatula, L. japonicus and A. thaliana (Revalska et al. 2016a, BJAS, [B4. 9]; Revalska et al. 2016b, BJAS, [B4. 10]; Revalska et al. 2017, Turkish journal of Biology, [D. 4]). The phenotype of the transgenic and control plants was compared, the change in gene expression was analyzed, the number of symbiont tubers and seeds formed was recorded, and it was found that the repressed expression of MtARF-B3 resulted in necrotic flowers in M. truncatula and L. japonicus. They remain sterile and no seeds are formed. In plants with suppressed expression of A. thaliana, reduced seed formation is observed.
- 2) MtLAX3 gene encoding transmembrane auxin transporter LAX3 from *M. truncatula*. Its function has been extensively studied in relation to its interaction with plant hormone strigolactones. The research was funded by a project awarded by the National Research Fund/MON and supervised by as. prof. PhD Miglena Revalska. The relationship in auxin and strigolactone signaling pathways was established and the expression of both LAX3 gene and key genes of strigolactone synthesis was monitored under conditions of phosphorus starvation or phosphorus excess (Revalska and Iantcheva 2018, PCOS [D. 2]). A book chapter (Revalska and Iantcheva 2022, [D. 9]) systematizes the results of the interaction between auxin and strigolactones under conditions of extreme phosphorus content in the medium.
- 3) MtGRAS The transcription factor GRAS has been investigated in the framework of a project led by PhD. Revalska and funded by FNI/MON. The results of PhD. Rewalska's research on genotype-specific response of model legumes to abiotic stress factors are a contribution of great scientific potential. In this regard, the transcription factor GRAS has been the subject of intensive research. MtGRAS7 has been shown to be involved in response to abiotic stresses such as drought, salinity and cold. The results are summarized in two publications Revalska et al. 2019, B&BE [B4. 5] and Revalska et al. 2022, B&BE [D. 5]. Overexpression of the gene allows the plant for its recovery after being placed in stress conditions.
- 4) Zinc finger CCHC-type protein In the framework of the DN 16/10 project, funded by FNI/MON, the function and localized gene expression of a gene encoding a transcription factor Zinc finger CCHC-type protein was investigated. One of the main functions of the gene studied is its involvement in the process of seed formation. A change in seed size was observed in the transgenic plants larger in the overexpressing and smaller in the lines with suppressed expression. This result led to increased interest in the study of Zinc finger CCHC-type protein in the economically important agricultural crop soybean. The results are systematized in the publications Radkova et al. 2019, B&BE [B4. 6] and Radkova et al. 2021, B&BE [B4. 3].
- 5) Gene encoding F-box plant protein in the publication of Iantcheva et al. 2022, Protoplasma [D. 1], results obtained in the study of F-box gene encoding plant protein in the

genome of *Medicago truncatula* and *Arabidopsis thaliana* are presented. This protein is involved in a complex responsible for the degradation of an enzyme involved in the biosynthesis of the branched-chain amino acid leucine. Leucine homeostasis is altered in response to overexpression or repression of F-box gene expression in transgenic plants of *M. truncatula* and *A. thaliana* and leads to deviations in the phenotype of the transgenic plants studied.

6) HAC1 - is a gene encoding a histone acetyltransferase and has been studied in both *M. truncatula*, as well as after its heterologous expression in the genome of *L. japonicus* and *A. thaliana*. The function of the investigated gene in the genome of transgenic plants with modified expression of *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus*, and *Arabidopsis thaliana* was related to plant growth and histone acetylation in the S phase of the cell cycle. The gene is localized in actively dividing cells of plant tissues, and its expression was found to be inhibited after curcumin treatment. Boycheva et al. 2017, Protoplasma [D. 3]

A review article by Iantcheva and Revalska 2018, BJAS [Q4. 7] outlines the early events in the induction of somatic embryogenesis in *Medicago* genera and in the model species diploid *Medicago truncatula* and tetraploid *Medicago falcata*. The localization of expression of genes encoding auxin transporter MtLAX3 and auxin-responsive transcription factor B3 (MtARF-B3) from the genome of *M. truncatula*.

Plant systems biology and *Arabidopsis thalina* as a model plant, brassinosteroids and studies related to the cell cycle in plants are the next research areas addressed in PhD Revalska's studies. The transcription factors basic helix-loop-helix (bHLH) and helix-loop-helix (HLH) regulating cell elongation are the object of research. A negative regulator of brassinosteroid signaling and cell elongation, IBL1, a close homolog of IBH1 playing a role in fine-tuning brassinosteroid-mediated cell elongation, was identified. Zhiponova et al. 2014, PNAS [D. 6].

It have been developed a rapid and simple system to synchronize root meristem cells by applying replicative stress with hydroxyurea enabling tracking of expression of key marker genes involved in different phases of the cell cycle. The system was originally developed for *Arabidopsis thaliana* and has been adapted for the model legume. The method enables the expression of the Cyclin like F-box gene involved in cell cycle progression in *M. truncatula* (Iantcheva et al. 2015, BJAS [B4. 8]).

The scientific and applied contributions in the publication activity of PhD Revalska are related to the economically important crop soybean, its cultivation and use as a source of plant protein in animal feed. The research in this second field is supported by the project "Legumes translated", funded by the EU Horizon Programme and by the project National Scientific Programme "Food" in which as. prof. PhD Revalska is included as a participant. These projects provide an opportunity to redirect the interest from purely basic science to applied science, with soybean as the object of research. An innovative approach for the evaluation of Bulgarian soybean varieties has been developed Iantcheva et al. 2021, B&BE [Q4. 4]. Novel diets in pigs incorporating extruded soybean of Bulgarian varieties were studied and it was found that free radicals in the blood plasma of the animals decreased, as well as the level of stress induced by the diet including extruded soybean, which replaced imported soybean meal by 30 to 50%. From the a study involving soybean meal from Bulgarian soybeans and included in the feed of

laying hens has shown that it leads to an increase in free amino acids and fatty acids in the yolk and white of eggs, which in turn increases the nutritional value of these eggs.

Another innovative study involved soybean seeds treated at low temperatures for an extended period of time before sowing in the field and this treatment was shown to improve plant performance and the content of amino acids, fatty acids and sugars. The expression of genes involved in the response to abiotic stress and amino acid transport has also been studied and a correlation between the expression level of the genes studied and the amounts of sugars and amino acids has been found (Naydenova al. 2022, BJAS [B4. 2]).

## 6. CONCLUSION

Chief as. prof. Miglena Revlska, Ph.D., submitted 20 research articles out of 25 for the competition for "Associate Professor" for her overall scientific activity, published in reputable, highly rated, refereed scientific journals with Q, SJR and JCR-IF with a total IF of 29.774 and a total SJR of 15.406, cited 85 times. The citations, excluding self-citations, for her overall scholarly activity are over 105. The presented scientific metrics fully meet the minimum national requirements for this position and even exceed them. PhD Revalska is an ambitious young researcher with impressive scientific activity, original scientific ideas and high methodological preparation for their implementation. Impressive is the number of national and international scientific projects (total number 16) in which she participates, being the supervisor in 2 and the contractor in 14. The results achieved by PhD Revalska have great scientific potential and opportunities for application in agricultural practice. I have no critical remarks. The scientific contributions of the candidate fully satisfy the recommended criteria of the Law on Academic Development in the Republic of Bulgaria, the Regulations for its implementation and the specific Regulations of the Bulgarian Agricultural Academy for holding the academic position of "Associate Professor", which gives me grounds to confidently recommend to the esteemed scientific jury and the Scientific Council of ABI/Agricultural Academy to award to as. prof. PhD Miglena Nikolova Revalska, the academic position of Associate Professor "Docent".

Sofia, 14.05.2024

Signed: Gray.

/Prof. Elena Georgieva, PhD/