

## **РЕЦЕНЗИЯ**

**От доц. д-р Илияна Атанасова Иванова** – Софийски Университет "Св. Климент Охридски", Биологически факултет

На дисертационен труд, представен за защита за получаване на образователна и научна степен "**доктор**" в професионално направление 4.3. Биологични науки (Микробиология)

**Автор** на дисертационния труд: **Мария Павлова Ананиева**

**Тема** на дисертационния труд: "**ГЕННА ЕКСПРЕСИЯ НА ЕНЗИМИ, УЧАСТВАЩИ В ТРАНСПОРТА И УСВОЯВАНЕТО НА КСИЛООЛИГОЗАХАРИДИ ПРИ МЛЕЧНО КИСЕЛИ БАКТЕРИИ**"

### **1. Общо описание на представените материали**

Със заповед №2038-295/ 08.05.2015г на Ректора на СУ „ Св. Климент Охридски” – София съм номинирана за член на научно жури и определена да предоставя рецензия върху дисертационния труд на тема „ Генна експресия на ензими, участващи в транспорта и усвояването на ксилоолигозахариди от млечнокисели бактерии” на микробиолог Мария Павлова Ананиева, редовен докторант към Катедра „Обща и промишлена микробиология” за присъждане на ОНС „Доктор”.

Представеният от Мария Ананиева комплект материали на хартиен носител е в съответствие с изискванията от Правилника за развитие на академичния състав. В качеството си на рецензент извърших проверка на представените административни документи по процедурата и гарантирам за тяхната коректност и достоверност.

**2. Кратки биографични данни за докторанта** Мария Ананиева е завършила средното си образование в 32-ро СОУ с изучаване на английски и руски език. От октомври 2001-ва година е възпитаник на СУ “СВ.Климент Охридски”. Завършва бакалавърска степен по “Молекулярна биология” през 2005 и магистърска степен по “Биофизика и радиобиология” 2007г. От 2012г. е редовен доктрант в катедрата по “Обща и промишлена микробиология.

### **3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи**

Здравето при хората от дълбока древност се свързва с правилното хранене, още Хипократ казва: "Нека храната бъде вашето лекарство и вашето лекарство бъде вашата храна". Съвременното хранене, основаващо се на научни изследвания и факти, разширява използването на пробиотици и пребиотици, повлияващи чревната микрофлора, което определя и техния здравословен ефект. Установено е, че прилагането на вещества, отговарящи на критериите за пребиотици, води до селекция на полезни микроорганизми в храносмилателния тракт и това, от своя страна до редуциране на риска от развитие на редица заболявания като рак на дебелото черво, развитие на диабет, на чревни инфекции и др. заболявания, свързани с метаболитните особености на микрофлората. Особено перспективни в това отношение са ксилоолигозахаридите, които показват редица пребиотични качества като имуностимулиращ ефект, определена антибактериална активност и положителен ефект върху лактобацилите, оценени като пробиотици. Ето защо, темата и съдържанието на представения ми за рецензия дисертационен труд са актуални и важни за модерната наука предвид възможностите за подобряване на човешкото здраве и качество на живот. Дисертацията съдържа общо 126 страници и е структурирана съгласно изискванията за един дисертационен труд, като е спазено оптималното съотношение между отделните раздели: увод 1 страница, литературен обзор 34 страници, цел и задачи – 1 страница, материали и методи 13 страници, резултати и обсъждане 46 страници, изводи и приноси 2 страници. Онагледена е с 30 таблици и 32 фигури. Библиографията е от 26 страници и включва 251 литературни източника, от които само 3 на кирилица.

Целта на дисертационния труд е конкретна и ясна. Поставените за проучване задачи – седем на брой, са точно формулирани и отразяват основните моменти от съдържанието на труда. В главата "Материали и методи" са описани изследваните в дисертацията 39 щамове лактобацили, подробно са представени методите за проучване на изследваните щамове при култивирането им върху среди с глюкоза и ксилоолигозахариди, използването на хроматографски анализ за определяне количеството на олигозахариди, както и на молекулно - генетични методи – за коректната идентификация на проучваните щамове бактерии. В глава "Резултати и обсъждане" са изложени резултатите от скрининга на изследваните щамове лактобацили по отношение усвояването на ксилоолигозахаридите, като въз основа на данните за усвояване на глюкоза и ксилоолигозахариди, като единствен въглероден източник, докторантката избира три представителни щамове, с които провежда

следващите експерименти. Добре би било в тези таблици да има конкретни стойности на оптичната плътност, а не само плюсове. По стандартен начин е проучена антибактериалната активност на щамовете *L.plantarum* S26, *L.brevis* S27 и *L.sakei* S16, а възможните морфологичните промени при култивиране на ксилоолигозахариди - със сканираща електронна микроскопия. Особено внимание заслужават резултатите, отнасящи се до проучването на ензимната активност на щамовете, като най-вероятно тази активност се дължи на индукция, дължаща се на присъствието на определени субстрати като ксилобиоза и ксилоозигозахариди. Използването на съвременни генетични методи като PCR и секвениране, коректно идентифицира до вид 39 щам, диагностицирани преди това като лактобацили. С помощта на молекулни методи е проучена и генната експресия на ензими, участващи в усвояването на ксилоолигозахариди от избраните щамове лактобацили, като нивата на експресия са оценени с помощта на 4 степенна скала. Значимостта на направеното проучване се определя и от факта, че след направената справка в интернет, към момента съществуват много малко публикации в световната литература, свързани с проучването на пребиотиците и ABC транспортни системи и такива, засягащи проблема ксилоолигозахариди и млечнокисели бактерии. Предложените изводи - 9 на брой, отразяват основните моменти от разработването на дисертационния труд. Необходимо е прецизиране на справката за приносите.

**4. Публикации във връзка с дисертационния труд** Мария Павлова Ананиева има представени 3 публикации, излезли от печат и две, в които тя е първи автор. Публикациите са в списания с импакт фактор. Има 4 участия в национални и международни научни форуми и 2 участия в международни обучителни програми.

**5.Автореферат** Авторефератът е изготвен съобразно изискванията и вярно отразява резултатите от дисертацията, като в съкратен вид са представени най-важните моменти от всички раздели.

**6. Придобрита компетентност и съответствие с изискванията на образователната и научна степен „доктор”** В хода на докторантурата Мария Павлова Ананиева развива своите качества на изследовател, който е в състояние сам да планира и провежда експериментите си, да анализира и обобщава получените резултати, да се справя самостоятелно с научната литература. Моите лични впечатления от нея са за човек, отличаващ се с трудолюбие, мотивация и самостоятелност при извършването на

разработките. Тя е разширила своите теоретични знания и значително е надградила методичната си подготовка чрез усвояването и прилагането в работата си на най-съвременни техники и подходи. Мария Ананиева притежава необходимите качества, покриващи изискванията на научната степен "доктор".

**7. Критични бележки и въпроси:** Допуснати са редица правописни грешки и неясноти в текста на дисертационния труд и автореферата (стр.49-50), които не намаляват научната стойност на труда, но трябва да бъдат отбелязани, предвид бъдещото развитие и научна кариера на докторанта.

В тази част на рецензията си, ще обърна внимание на още няколко подробности, които се отнасят до третия раздел "Резултати и обсъждане", а именно: Считам за излишно включването в този раздел на резултати, получени от други автори в предхождащи настоящия труд изследвания (табл. 27, с. 84 – 85). Целесъобразно е, разбира се, те да се отбележат и да се обоснове кое е наложило повторното секвениране на трите щама, след което да се приложат потвърдителните собствени данни, както това сполучливо е направено на с. 86 в табл. 28. В същата връзка ще спомена и ненужното представяне в този раздел на снимки от атомно-силова микроскопия (на фиг. 19, с. 73), взети от публикации на други автори. Посочените от мен забележки не се отнасят до същността на рецензирания труд и в никакъв случай не намаляват достойнствата му. Считам, че те биха могли да бъдат полезни в бъдещата работа на докторантката. Към нея имам следните въпроси:

1. Недостатък или предимство за преживяемостта и запазването на пребиотичните им свойства е наблюдаваната от вас със сканиращ електронен микроскоп капсулоподобна полизахаридна обвивка при двата изследвани щама лактобацили след култивирането им на среда с ксилоолигозахариди?

2. Каква е причината микроскопските, както и анализите за образуването на органичните киселини да са реализирани само с два от изследваните три щама?

3. За тестване на антимикуробната активност сте използвали 5 микробни култури. Кое Ви накара да изберете точно тях?

4. Как планирате да приложите на практика получените резултати от дисертацията - какъв нов продукт бихте предложила на пазара на пробиотични храни и добавки?

**8. Заключение:** Оценявайки по достойнство дисертационния труд, направените научни приноси, както и личните качества на докт. Мария Ананиева, съм убедена, че дискутирането и представянето на получените резултати в дисертационния труд е направено от нея самата и разбира се, под ръководството на двамата ѝ научни ръководители проф. дбн Искра Иванова и проф. д- р Илия Илиев, които са признати учени у нас и в чужбина. Представеният дисертационен труд на Мария Ананиева е добре замислено и проведено научно изследване. Материалът е дисертабилен, темата е интересна и актуална, получени са достатъчно доказателства в полза на изходната хипотеза, които са база за следващи разработки. Изведени са оригинални научни и приложни приноси. Изработването и оформянето на този труд, представянето на резултатите и тяхната дискусия ми дават основание да смятам, че докторантката е придобила теоретични знания и практически умения, напълно съответстващи на изискванията за третата степен на обучение в СУ "Св. Кл. Охридски". Въз основа на гореизложеното в рецензията, както и предвид Правилника за приложение на закона за развитие на академичния състав в Република България и този на СУ "Св. Кл. Охридски" считам, че настоящата работа отговаря на изискванията за докторска дисертация и я оценявам положително като препоръчвам на Научното жури, формирано със заповед РД 38-295/08.05.2015 г. на Ректора на СУ, да присъди образователната и научна степен "доктор" по професионално направление 4.3. Биологични науки, научна специалност 01.06.12. Микробиология на Мария Павлова Ананиева.

14.06.2015 г.

Рецензент:

/Доц. Илияна Иванова/