

СТАНОВИЩЕ

От доц.д-р Соня Костадинова Трифонова, ПУ „Паисий Хилендарски“

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен '**доктор**'
в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика;
професионално направление 4.3. Биологически науки
докторска програма Микробиология

Автор: Мария Павлова Ананиева

**Тема: ГЕННА ЕКСПРЕСИЯ НА ЕНЗИМИ, УЧАСТВАЩИ В ТРАНСПОРТА И
УСВОЯВАНЕТО НА КСИЛООЛИГОЗАХАРИДИ ПРИ МЛЕЧНОКИСЕЛИ БАКТЕРИИ**

Научни ръководители:

Проф.д.б.н. Искра Иванова

Проф.д-р Илия Илиев

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Със заповед № РД38 – 295 от 08.05.2015 на Ректора на Софийския университет „Св. Климент Охридски“ съм определена за член на научното жури в процедура за защита на дисертационен труд на Мария Павлова Ананиева – редовен докторант към катедра „Обща и промишлена микробиология“ с научни ръководители: проф.д.б.н. Искра Иванова (СУ „Св. Кл. Охридски“) и проф.д-р Илия Илиев (ПУ „П.Хилендарски“).

Представеният от Мария Ананиева комплект материали на хартиен носител е в съответствие с Правилника за развитие на академичния състав на СУ, включва пълния набор от изискуеми документи.

Основна тенденция в съвременната наука е повишаване на качеството на храната, като основен фактор за подобряване на човешкото здраве и качеството на живот. Темата за „функционалните храни“, включващи пробиотици и пребиотици е обект на сериозен научен и потребителски интерес през последните десетилетия. Установено е, че пребиотиците оказват редица здравословни ефекти, като понижават риска от чревни инфекции, рак на дебелото черво, стимулират имунната ситема, понижават нивото на триглицеридите и др. Ксилоолигозахаридите са нов, перспективен клас пребиотици, със свойства подходящи за влагането им храни и здравословни ефекти, сравними с тези на другите олигозахариди. Метаболизмът на ксилоолигозахаридите от бактерии от род *Lactobacillus* е недостатъчно изучен, което прави темата на дисертационния труд на Мария Ананиева особено актуална и значима от гледна точка на съвременната микробиология и биотехнология.

Дисертационният труд е написан на 126 страници. Съдържанието е правилно структурирано в раздели, между които са спазени оптимални съотношения: Увод – 1 стр., Литературен обзор - 35 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материали и методи – 12 стр., Резултати и обсъждане – 45 стр., Дискусия – 3 стр., Изводи – 1 стр., Приноси – 1 стр., Литература – 23 стр..

Литературният обзор, оформен на базата на 251 актуални литературни източника показва много добра осведоменост на докторантката в областта на научната тематика. Обзорът систематизира информацията относно основните класове пребиотици, метаболизма им в чревния тракт и ефекта върху пробиотичните микроорганизми. Поставен е акцент върху ксилоолигозахаридите и пътищата за разграждането им от различни млечнокисели бактерии. Описани са бактериалните ABC транспортни системи за захари и наличната в литературата информация относно генната експресия при млечнокисели бактерии.

Целта и задачите са правилно и конкретно формулирани.

За изпълнение на поставените задачи са приложени съвременни микробиологични, биохимични и молекулярно-биологични методи, които са коректно описани. Използваните методи и адекватното им приложение показват, че докторантката е придобила необходимия методичен опит за провеждане на научен експеримент.

Докторантката е извършила сериозна експериментална работа, която е отразена в получените резултати, онагледени с 26 таблици и 19 фигури. Резултати са аргументирано обсъдени.

В резултат на първоначалния скрининг са подбрани три щама *Lactobacillus plantarum* 26, *L. brevis* S27, *L. sakei* 16 (идентифицирани чрез 16 rRNA секвенционен анализ), които растат активно на среда с ксилоолигозахариди като алтернативен въглероден източник и е установено, че оптималната концентрация на ксилоолигозахаридите е 2%. Проследена е динамиката на рН на културалната среда и са анализирани метаболитните продукти от хидролизата на ксилоолигозахаридите при трите селектирани щама *Lactobacillus*.

Доказана е антимикробна активност на щамовете *L. plantarum* 26, *L. brevis* S27, *L. sakei* 16, вероятно бактериоцини. Впоследствие е потвърдена природата на антимикробния агент при щам *L. brevis* S27 чрез установената експресия на гена за бактериоцин ABC транспортера. Със сканираща електронна микроскопия са анализирани промените в морфологията на щамове *L. plantarum* 26 и *L. brevis* S27 при култивиране на среда с 2% ксилоолигозахари.

Докторантката задълбочава изследванията, като определя активността на ензимите, хидролизиращи ксилоолигозахаридите, локализацията им в клетката и типа на олигозахаридите, които усвояват. Доказана е индукция на експресията на гените за ксиланаза и β -ксилозидазата от щамовете *L. plantarum* 26 и *L. brevis* S27 на среда с ксилоолигозахариди.

Направената след раздела „Резултати и обсъждане“ дискусия отразява в синтезиран вид състоянието на науката в областта на разработената тематика и приносът на дисертационния труд.

Представените 9 обобщени изводи правилно отразяват получените резултати.

Дисертационният труд съдържа ценни научни и научно-приложни приноси свързани с изясняване на метаболизма на олигозахариди от млечнокисели бактерии от видове *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. sakei*; определяне на активността на ензи-

мите ксиланаза и β -ксилозидаза, хидролизаращи ксилоолигозахаридите, което се допълва и от анализа на експресията на съответните гени; установяването за пръв път на експресия на гена за ABC транспортер за бактериоцини, при култивиране на щам *Lactobacillus* на среда с ксилоолигозахариди.

Резултатите от дисертационния труд са оформени в 3 публикации, съответно в списания „*Biotechnology & Biotechnological Equipment*“ и „*J. BioSci. Biotech.*“ В две от публикациите докторантката е водещ автор. Отчетени са и 6 участия в научни форуми у нас и в чужбина.

Авторефератът вярно отразява структурата и съдържанието на дисертационния труд.

Към докторантката имам следните въпроси и забележки:

1. Какви са съображенията Ви в част от таблиците (№№ 5, 6, 7, 9) да е посочена клетъчна плътност, а в таблица № 8 – оптическа плътност?

2. Защо е направена сканираща електронна микроскопия само на щамове *L.plantarum* 26 и *L. brevis* S27 .

3. В раздел „Материали и методи“ е посочено, че са изследвани 39 щама млечнокисели бактерии, в раздел „Резултати и обсъждане“ – 31; а общият брой на щамове, описани в таблици 5, 6 и 7 е 32.

4. Неточности в изказа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на Мария Ананиева съдържа научни и научно-приложни резултати, които със своята актуалност допълват съвременните научни достижения и напълно отговаря на изискванията на ЗРАС, Правилника за приложение на ЗРАС, Правилника за развитие на академичния състав на СУ.

Докторантката Мария Ананиева притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Микробиология като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното убедено давам своята **положителна оценка за проведеното изследване и постигнатите резултати и приноси, съдържащи се в дисертационния труд и предлагам на почитаемото Научно жури да присъди образователната и научна степен „Доктор“ на Мария Павлова Ананиева в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.3. Биологически науки; докторска програма Микробиология.**

02.06.2015 г.

Изготвил становището:

(Доц.д-р Соня Костадинова Трифонова)