

СТАНОВИЩЕ

Относно: **Дисертационен труд на Ралица Валентинова Илиева**
на тема: „Характеристика на ацидофилни тионовии бактерии в сулфидни находища в
България”
за получаване на образователна и научна степен “**Доктор**”, професионално направление
4.3. Биологически науки
Научен ръководител: Проф. Д-р Венета Грудева

От: **Доц. дбн Маргарита Стоянова Камбурова**
Институт по микробиология, БАН

Със заповед на Ректора на СУ „Климент Охридски” № А038-501/23.07.2015 г. съм определена за Член на научно жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на Ралица Валентинова Илиева.

1. Предоставени документи

Представеният ми от маг. Илиева комплект материали включва следните документи: Автобиография в Европейски формат, включваща Списък с научни публикации, Списък на участия в научни форуми и участия в научни проекти; Копие от диплома за висше образование (ОКС „магистър”); Заповеди за зачисляване и отчисляване с право на защита като редовен докторант; Удостоверение за успешно положени изпити; Препис-извлечение от заседанието на разширения КС на Катедра по Обща и Промислена Микробиология, състояло се на 10.07.2015 г. за предварително обсъждане на дисертационния труд; Дисертационен труд и Автореферат.

2. Актуалност на дисертационната тема

Ацидофилните тионовии бактерии са доминиращи в микробните съобщества, свързани със зоните на окисление на сулфидите. Все още обаче техният потенциал за пречистване на води и почви, замърсени с радионуклеиди, тежки метали и арсен, рециклиране на минерални отпадъци, рекултивация на пост-минни райони не е достатъчно експлоатиран, тъй като данните относно състава на микробните съобщества в сулфидните находища, ролята и значението на отделните видове и възможностите за контрол на видовия състав са недостатъчни и противоречиви. В този смисъл трудът на магистър Илиева е актуален и е част от научните усилия за опознаване микробния състав на съобществата в български рудни находища. Заслужава внимание определеният интерес към комерсиализация на резултатите, определящ усилията за характеризирание окислителната активност на изолатите и проследяване ефективността им при третиране на три вида минерални суровини.

3. Оценка на структурата на дисертационния труд

Дисертационният труд съдържа 210 страници. В библиографската справка са включени 456 заглавия, като една четвърт от тях (113) са от последните 10 години, включително и от 2015 г. Информацията, включена в дисертационния труд е онагледена със значителен брой таблици (59) и фигури (48 като част от фигурите включват няколко графики). Експерименталната работа е извършена в лабораторията по Геологична микробиология към катедра по Обща и промишлена микробиология на СУ “Св. Климент Охридски”. Част

от анализите са направени в Института по Органична химия, БАН и Минно-Геоложкия Университет, София.

Частта **Литературен обзор** е информативна, актуална, с логично следващи части. Включената в нея информация е в две основни направления – фундаментаното познание за микроорганизмите, обитаващи сулфидните находища и практическия аспект, отразяващ потенциала за използване на тионовите бактерии.

В частта **Материали и методи** стегнато са представени използваните класически и молекулярно биологични методи за характеризиране на щамове, биохимичните тестове за характеризиране на растежа и метаболитната им активност. Наред с успешното прилагане на многобройните и разнообразни методи, дисертационният труд има и методични приноси, породени от специфичните изисквания за растеж на тези бактерии – замената на агар с агароза, а в някои случаи и с Гелрит, търсенето на среди за култивиране на трудно култивируемите термоацидофилни археи, модификациите в екстракцията на тотална ДНК и PCR програмите за амплификация на 16S рибозомния ген, използване на постепенно адаптиране към трудно усвояеми субстрати чрез неколkokратни пасажии в различни среди.

Целта е ясно формулирана, а произтичащите от нея задачи са логично свързани.

Мащабността на изследванията, проведени при разработване на дисертационния труд особено добре проличава в частта **Резултати и обсъждане**, състояща се от шест глави, всяка от които завършва с обобщение на най-важните резултати. Обемността на изследванията е демонстрирана от големия брой анализирани находища (10), разположени в различни региони на страната и с различен минераложки състав. Анализирани са не само рудната маса, но и дренажните води, които често са източник на екологични проблеми. Определен е не само общ брой микроорганизми за всяко от десетте находища, но и броят на представителите от всяка изследвана група, а броят само на бактериалните групи е 11. Значителен е и броят на изолираните чисти култури (37), чиято окислителна активност след това е характеризирана. Установена е филогенетичната принадлежност на доминиращите видове в микробните съобщества, участващи в окислението на желязо и сяра; изследван е окислителния потенциал на отделните видове и е предположена тяхната роля в сулфидните находища. С цел постигане на ефективни процеси са направени различен тип моделни консорциуми – от мезофили, умерени термофили и екстремни термофили.

Представените резултати в сравнителен аспект с тези на други автори формират представата за следните по-важни **научни и научно-приложни приноси**, които по значимост бих подредила в следния ред:

1. Някои от изолираните щамове показват по-високи окислителни способности от типовите щамове, което очертава тяхната перспектива за третиране на различни минерални суровини и разработване на биотехнологии в промишлени мащаби.
2. Установените окислителни активности в моделни консорциуми определя перспективата на използването им за определен тип третираня на комплексни руди и концентрати или рекултивиране на бивши минни находища.
3. Изолиран е щам, който успешно расте в среда само с въглища, въз основа на което може да бъде предложена основа за разработване на технология за третиране на въглища чрез комбинация на химична и биологична десулфуризация. Такава технология би била със съществен принос към опазването на околната среда, тъй като ще се намали количеството на отделяните в атмосферата при изгарянето на въглищата серни оксиди.

4. Определен е състава на специфичните микробни съобщества на 10 български рудни находища, като за повечето находища това е първото изследване на микрофлората.

Препоръки:

1. Да не се използва термина археобактерии.
2. Преди крайното идентифициране на изолата, включително с молекулярни методи, да не се използват наименованията на биологичния вид, а само номера на изолата.
3. В електрофоретичните гелове винаги да бъде включван маркер, дори и при тотална ДНК, за да се има представа за нейната цялост. Там, където е включен маркер, да бъдат описани или означени на фигурата големината на фрагментите за по-лесно идентифициране на рестрикционния ДНК профил на изолатите.
4. В частта Резултати и обсъждане част от информацията, касаеща изследванията на други учени, може да бъде отнесена към литературния обзор (стр. 96-103).
5. Извод 3 може да отпадне.

Извод 4 и 5 да се променят по следния начин:

Извод 4. Профилите, получени при рестрикционен анализ с 4-базови рестрикционни ендонуклеази, са подходящ маркер за видовото типизиране на изолати от род *Acidithiobacillus*.

Извод 5. Използването на рестрикционния анализ не е приложимо за вътревидово типизиране на вида *A. ferrooxidans*, тъй като всички изолати се характеризират с еднакъв рестрикционен профил.

Заключение:

Дисертационният труд обобщава интересни научни и научно-приложни резултати като демонстрира както задълбочени теоретични знания на докторантката в областта на микрофлората на сулфидните находища, така и способност за самостоятелни, логично построени и задълбочени изследвания. Публикационната ѝ активност надхвърля изискванията, отразени в Препоръките на СУ „Св. Климент Охридски” относно критериите за придобиване на научната степен „Доктор” за професионално направление „Биологически науки”, тъй като тя има три публикации по темата на дисертационния труд, от които една е в списание с Импакт фактор, а две са в списание, индексирани от SJR, Thomson Reuters, Index Copernicus Journals Master List, EBSCO, IET и др. Въз основа на приведените аргументи за актуалност на проблематиката и оригиналните приноси, отразени в дисертационния труд давам своята висока оценка за неговата защита и препоръчвам на членовете на научното жури да присъдят на докторант Илиева научната степен „Доктор”.

17.08.2015 г.
София

Член на научното жури:
(доц. дбн Маргарита Камбурова)