

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. Пенка Ангелова Мончева, д-р, Софийски университет „Св. Кл. Охридски”,
Биологически факултет, член на научно жури, назначено със заповед No РД 38-
73/31.01.2017 г на Ректора на Софийски университет „Св. Климент Охридски“
на дисертационен труд, представен за защита за получаване на образователната и научна
степен „доктор”

Автор на дисертационния труд: Милена Миленова Митова – СУ „Св. Кл. Охридски“
Тема на дисертационния труд: „Микробна колонизация на скалните рисунки в Магурата
и стратегия за ограничаването на деструкционния ѝ ефект“

1. Актуалност и значимост на дисертационната тема

Българската пещера „Магура“ съдържа уникални праисторически рисунки, изработени с прилепно гуано и е от важно културно-историческо значение не само за страната ни, но и в световен мащаб. Тези рисунки обаче са изложени на увреждащото влияние на фактори с различна природа – физични, химични и биологични. Към последната група фактори се отнасят и микроорганизмите, които са от голямо значение поради деструкционния ефект, който те оказват. Познаването и анализирането на увреждащите фактори, изясняването на механизмите на деструкция е от изключителна важност за опазването на паметниците на културата, на историческото и културно наследство и богатство, каквото представлява тази пещера. От тази гледна точка темата на дисертационния труд на докторант Милена Митова е значима и винаги ще бъде актуална като е насочена върху изясняването на ролята на микробните съобщества в процесите на биоразрушаване на праисторическите рисунки в пещерата Магура.

2. Оценка на структурата на дисертационния труд

Дисертационният труд е построен по стандартния начин и е съставен от 8 раздела: Увод (1 стр.), Литературен обзор (47 стр.), Цел и основни задачи (1 стр.), Материали и методи (23 стр.), Резултати и обсъждане (72 стр.), Основни изводи (1 стр.), Приноси (1 стр.), Списък на използваната литература (съдържа 472 източника). Общият обем на труда е 174 А4 формат страници. Извън посочения обем, дисертацията съдържа списък на таблиците и фигурите, списък на използваните съкращения, както и резюме на български език.

2.1. Литературен обзор

Обемът на литературния обзор е в оптимално съотношение спрямо общия обем на дисертацията. В него докторантът предоставя информация по въпроси, свързани с темата на дисертацията: Пещерите като екосистеми; Спелеомикрофлората и нейните компоненти – бактерии, актиномицети, гъби и археи; Характеристика на спелеомикрофлората, съдържаща се в произведения на изкуството; Роля на микроорганизмите за спелеогенезиса; Биодеструкционна активност на спелеомикрофлората – механизми, биодетериорация на скали и скални материали и методи, които се използват за контрол на това явление; Изолиране и идентификация на микроорганизми, участващи в биодетериорацията в пещери, като са обсъдени както класически, така и молекулни методи; Направено е полезно и интересно представяне на пещерата, обект на изследванията в дисертацията. Обзорът завършва със заключение. Оценявам този раздел като съдържателен, конкретен и насочен изцяло към темата на дисертацията, информативен и полезен за всеки читател – специалисти с по-тесни и по-широки интереси в областта. Добре би било различните молекулни техники, използвани за идентификация на микроорганизмите, да бяха открити една от друга в съответната част на обзора. Чрез литературния обзор се вижда отличната теоретична осведоменост на докторанта по темата на дисертационния труд. Цитирани са огромен брой автори (472 литературни източника), което говори за големия труд, който дисертантът е положил в хода на изработването на дисертацията и за познаването на проблема в детайли. Прави впечатление, че приблизително 72% от цитираните източници са след 2000 година, което потвърждава актуалния характер на изследването и задълбоченото му познаване от страна на докторанта. Добро впечатление прави цитирането на източници с български автори, показващо познаването на българския опит в това отношение.

2.2. Цел и задачи

Целта на дисертацията е формулирана много ясно и точно. За нейното реализиране са поставени 6 основни добре формулирани задачи за изпълнение.

2.3. Материали и методи

В този раздел много добре са описани материалите, които са използвани в изследването – пробовземането и анализиранияте проби, микроорганизмите, хранителните среди, методите за характеристика на микроорганизмите и тяхната идентификация (класически и молекулни), анализ на чувствителността на микробните изолати към различни биоциди и анализа на антагонистичните взаимоотношения между микроорганизмите. Смятам, че всичко, което се изисква да бъде включено в този раздел е

направено, така че разделът е полезен за ползване при следващи изследвания в тази област. Информацията, която тази част от дисертационния труд предоставя е достатъчно подробно и коректно описана. Към раздела имам няколко технически забележки: Не би било излишно срещу всяка изброена хранителна среда да се отбележи нейното предназначение, въпреки, че за отделни среди такава информация може да се открие в някои от таблиците; При описанието на условията на провеждане на електрофореза на стр. 63 е достатъчно да се посочи процентът на агарозата, без да се посочват колко грама агароза са разтворени в 100 ml буфер; на стр. 64 се говори за обем на PCR реакцията, вместо за обем на реакционната смес; на стр. 65 вместо „концентриране“ на актиномицетната биомаса е по-правилно да се говори за „отделяне“ на биомасата.

2.4. Резултати и обсъждане

В този раздел са изложени и дискутирани получените от докторанта резултати по реда на поставените задачи, което улеснява читателя и показва неговото умение да оформя и представя резултатите логично и последователно. Те са илюстрирани богато чрез 23 таблици и 33 много добре изработени фигури.

Преди стартирането на микробиологичните изследвания е направено предварително обследване на Галерията с рисунките – частта от пещерата, която е основен обект на изследването. Набелязани са основните точки на пробовземане. Макар дисертантът да не е формулирал тази своя дейност като отделна задача и тя да не заема съществен обем в дисертационния труд, искам да подчертая нейната голяма важност за всички последващи действия, тъй като от коректното взимане на пробите зависят получените резултати, тяхната интерпретация, изводите, които се налагат от тях, както и стратегията, която се предлага за опазването на рисунките в пещерата. Представени са резултати от количествената характеристика на 17 избрани от дисертанта физиологични групи микроорганизми по проби. В тази част не става ясно защо пробите са 35, а не 45, тъй като в раздела „Материали и методи“ (стр. 50) е посочено, че са правени 3 пробовземания с по 15 проби при всяко. От представените данни се вижда, че очаквано най-многочислени са групите на аеробните хетеротрофни бактерии, спорообразуващите и амонификаторите за по-голямата част от пробите. Докторантът е обсъдил резултатите си в сравнителен аспект с такива, получени от други автори и други пещери. Представени са количествените данни от мониторинга на микробните съобщества в Галерията с рисунките, който е направен отново по 17-те физиологични групи микроорганизми в периода 2013-2016 г. Изолирани са 108 бактериални, 15 актиномицетни и 78 гъбни щамове. Таксонимичната характеристика и идентификация е извършена чрез полифазна таксономия, като е

включено определянето на голям брой фенотипни признаци (микроморфологични, макроморфологични, физиологични и биохимични) и са приложени методи от молекулната таксономия като PCR амплификация с родово специфични праймери (за представителите на актинобактериите), секвениране на гените за 16S и 18S рРНК и ITS регионите и DGGE, съответно за бактериите и гъбите. Представени са резултатите от изследването на взаимоотношенията на антагонизъм между изолираните актиномицети и някои от бактериалните изолати от пещерата. Установено е, че част от актиномицетите проявяват антагонистично действие срещу използваните тест-бактерии. Изследван е ефектът на три биоцида в различни концентрации (тимол, сребърен нитрат и меден сулфат) към бактериите, осем към актиномицетите и седем към гъбите като резултатите са представени в добре изработени фигури и таблици. Най-накрая е направено обобщение и е предложена стратегия за опазване на скалните рисунки в пещерата, която се свежда до: Прилагане на действия за запазване на относителното постоянство на физикохимичните параметри в Галерията с рисунките; Регулирано използване на концертната зала с оглед запазване на автохтонната микрофлора в пещерата и ограничаване на попадането на алохтонни микроорганизми; Регулиран поток на туристи и правила за спазване от посетителите; Осъществяване на периодичен микробиологичен контрол на Галерията с рисунките, който да включва визуален контрол и количествен мониторинг на определени групи микроорганизми, класифицирани като активни детериогени; Консултации с реставратори преди третиране с биоциди при възникнала активна микробна контаминация.

2.5. Основни изводи

Въз основа на проведените изследвания и получените резултати докторантът е направил 11 извода, които следват логично от получените резултати.

2.6. Приноси

Дисертационният труд съдържа приноси, които имат фундаментален и приложен характер и са резултат от извършената работа по дисертацията. Бих ги формулирала по следния начин:

1. За първи път е проведено обстойно и задълбочено проучване на микрофлората в Галерията с рисунките, което ще послужи като база за сравнение в бъдещи подобни изследвания, за да могат да се оценят настъпващите промени.
2. Предоставя се ценна информация за многообразието на микрофлората в пещерата Магура, като са дефинирани преобладаващи родове и видове. По този начин се

допълва информацията за спелеомикрофлората на пещери с произведения на изкуството.

3. Проучено е инхибиращото действие на осем биоцида върху микрофлората, които би могло да имат потенциално приложение в процесите на консервация на рисунките.
4. На базата на проведените изследвания се предлага стратегия за запазване на скалните рисунки и ограничаване на микробната колонизация.

3. Участие на докторанта в изработването на дисертацията

Като член на катедрения колектив познавам добре докторанта Милена Митова и съм свидетел на нейната упорита работа върху дисертацията. Представен е списък със седем научни публикации, две от които са представени за печат. На шест от тях Милена Митова е първи съавтор, което показва че изследванията са извършени основно от нея. Тя има девет участия в национални научни форуми, някои от които са с международно участие. Във всички участия тя е водещ автор. Докторант Митова е участвала в работния колектив на пет научни проекта – два вътрешноинституционални и три финансирани от Фонд „научни изследвания“ към МОНМН, като някои от тях не са тематично свързани с дисертацията. Това показва, че г-ца Митова е оползотворила времето през което е била докторант пълноценно, като е усвоила много знания и умения, извън обсега на нейната дисертация.

Г-ца Митова е осъществила по време на докторантурата две специализации по 6 месеца по програма Еразъм + в Германия – в Свободен Берлински университет и във Федерален институт поматериални науки и изследвания - Берлин, където е провела част от изследванията си по дисертацията.

4. Препоръки, забележки и въпроси

Забелязаните от мен технически пропуски и неточности съм цитирала при коментара на всяка от главите на дисертационния труд. Бих искала с удоволствие да отбележа, че по-голямата част от забележките и препоръките, отправени към докторанта на предварителната защита са взети предвид при оформянето на крайния вариант на дисертацията.

Бих искала да задам следните въпроси:

1. След приключването на проекта, във връзка с който е и този дисертационен труд как виждате изпълнението на мониторинга, който препоръчвате да бъде правен за

опазване на скалните рисунки? Към кого е насочена тази препоръка от предлаганата стратегия за опазване?

2. Как се обяснява несъответствието между резултатите от морфологичните изследвания на щамове AM10 и AM 11 (табл. 18 и 19 в дисертацията и табл. 7 в автореферата) и тези от секвенционния анализ, който идентифицира тези щамове като видове от род *Kocuria*, за който не е характерен нито на въздушен, нито на субстратен мицел?

5. Автореферат

Авторефератът е изготвен, съобразно изискванията и вярно отразява резултатите от дисертацията като в съкратен вид са представени най-важните неща от всички раздели без литературния обзор. Оформен е много добре.

6. Съответствие на придобитата компетентност с изискванията на образователната и научна степен „доктор”

В хода на изпълнението на експерименталната работа и оформянето на дисертационния труд докторантът Милена Митова е придобила компетентност, която напълно съответства на изискванията за получаване на образователната и научна степен „доктор“. Тези компетентности биха могли да се групират така:

- Придобити и разширени методични знания и умения в конкретна научна област, каквато е изучаването на спелеомикрофлората, по-конкретно в пещерата Магура.

- Придобити умения за обследване на пещери, взимане на проби за микробиологичен анализ от това специфично местообитание, изолиране, характеристика и идентификация на бактерии, актинобактерии и гъби с класически и молекулни техники.

- Развити умения за работа с голям обем научна литература, анализиране и обобщаване на научната информация.

- Умения за самостоятелно оформяне, представяне и дискутиране на резултатите, получени в хода на разработването на дисертацията, за формулиране на изводи, оформяне на резултати в научни публикации и докладването им на научни форуми.

7. Заключение

Въз основа на казаното по-горе, оценявам високо и положително предоставения ми за рецензиране дисертационен труд. Извършена е изключително голяма по обем експериментална работа – обработени са внушителен брой проби, взимани през голям период от време, изолирани и идентифицирани са немалък брой бактериални,

актиномицетни и гъбни щамове с класически методи по широк кръг от признаци, както и с молекулни техники. Извършен е количествен мониторинг на 17 физиологични групи микроорганизми. Експериментите са проведени прецизно, в достатъчен брой повторения, позволяващи статистическа обработка на резултатите. Резултатите са представени в отлично изработени и оформени фигури и таблици. Анализирани и обобщени са научна информация от твърде голям брой литературни източници, което показва теоретичната компетентност на автора на дисертацията. Дисертационният труд има приносен характер както във фундаментален, така и в приложен аспект.

Въз основа на гореизложеното, 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 настоящият труд отговаря на изискванията за докторска дисертация, оценявам го положително и препоръчвам на уважаемото научно жури, назначено със заповед № РД 38-73/31.01.2017 г на Ректора на Софийски университет „Св. Климент Охридски“ да присъди образователната и научна степен „доктор“ на Милена Миленова Митова.

12.03.2017 г г.

София

Подпис:

(проф. д-р П. Мончева)