

С Т А Н О В И Щ Е

от проф. дбн Искра Витанова Иванова,

върху дисертационен труд, представен за защита пред научно жури за получаване на образователната и научна степен «доктор» по професионално направление 4.3.

Биологически науки (Микробиология)

Автор на дисертационния труд: Явор Костадинов Рабаджиев

Тема на дисертацията: „Изучаване на род *Lactobacillus* и род *Fructobacillus* в микробиотата на медоносни пчели“

Научни ръководители: проф. дбн Искра Витанова Иванова и проф. д-р Илия Николов Илиев

1. Актуалност и значимост на дисертационната тема

Фруктофилните млечнокисели бактерии са специфична група млечнокисели бактерии, които предпочитат фруктозата пред глюкозата като хранителен субстрат. Те се намират в богати на фруктоза ниши, например цветя и плодове. Освен това микроорганизмите могат да бъдат намерени във ферментирани храни, включително вино, ферментирани какаови зърна и др. *Fructobacillus* spp. и *L. kunkeei* са представители на тази специфична микрофлора и наскоро бяха класифицирани някои нови видове като членове на тази интересна група. Наскоро бяха открити фруктофилни млечнокисели бактерии в стомашно-чревния тракт на няколко насекоми, свързани като начин на хранене с богати ниши на фруктоза, включително медоносните пчели, тропически плодови мухи и гигантски мравки, чиито диети са богати на фруктоза. От тези насекоми медоносните пчели са важни от икономическа и селскостопанска гледна точка за производството на мед и най-вече за опрашването на икономически значимите култури.

2. Оценка на структурата на дисертационния труд

Дисертационният труд е структуриран по класическата схема и е балансиран по отношение на обема на всеки раздел. Написан е на 118 стандартни компютърни страници.

Дисертацията съдържа 21 таблици и 36 фигури. Библиографичната справка включва 113 заглавия.

2.1. Литературен обзор

Обзорът представя състоянието на проблема и доказва необходимостта от разработването на дисертационната теза. Анализирани и обобщени са голям обем научна информация, което показва много добрата теоретична подготовка на докторанта. Цитираните 121 автори показват, че докторантът е запознат с основните литературни източници, определящи ролята и значението на фруктофилните млечнокисели бактерии.

2.2. Целта на настоящата дисертация е да бъде проучено видовото разнообразие на фруктофилните млечнокисели бактерии, изолирани от чревния тракт на медоносната пчела и да установи спецификата на техния метаболизъм.

2.3. Разделът "Материали и методи" съдържа комплекс от методи, съобразени с конкретните изисквания на експеримента. Те са както рутинни, така и съвременни, микробиологични, биохимични, молекулярно-биологични и др. Описани са достатъчно подробно, за да могат да бъдат възпроизведени. Освен това са разбираеми и дават възможност за коректно провеждане на експериментите и получаване на достоверни резултати.

2.4. Резултати и обсъждане

В раздел „Резултати и дискусия” е включен експериментален материал, който е представен на 52 стр. и демонстрира широко-машабна изследователска дейност. Важно е да се отбележи, че разработката се характеризира с логическа последователност, отделните етапи са разработени обстойно и всеки от тях е база за следващия. Доказателственият материал е оформен професионално в 16 таблици и 33 фигури. Докторантът Рабаджиев доказва наличието на фруктофилни млечнокисели бактерии в храносмилателния тракт на медоносната пчела *Apis mellifera* от различни райони на България и се създава колекция от фруктофилни лактобацили, които се използват при следващи изследвания. Проведеният генетичен анализ на изследваните щамове по 16S RNA установи, че четири щамове се отнасят към вида *Lactobacillus kunkeei* – АГ8, АГ9, Н3 и Н25. Изолираните щамове фруктофилни млечнокисели бактерии имат различия в растежните параметри при култивиране в среди с различни концентрации на фруктоза и се наблюдава специфика в активността на ензимите

от въглехидратния метаболизъм (бета галактозидаза, алфа галактозидаза, алфа- и бета-глюкозидаза, бета-глюкоронидаза, N- ацетил бета глюкозаминидаза). Съотношението на крайните продукти при ферментация на фруктоза (1%; 10% и 30%) доказва, че процесът е изтеглен към получаване на ацетат за сметка на лактат. Използваният метод за гена експресия доказва наличие на експресия на ензими, свързани с усвояването на фруктозата (фруктокиназа, глюкозо-6 фосфат дехидрогеназа и лактат дехидрогеназа) от щамове А Г 8 и АГ 9, като че и експресията е в зависимост от концентрацията на фруктоза и глюкоза. От друга страна активността на ензимите фруктокиназа и ацетат киназа се увеличава при култивиране на среда с 30% фруктоза и е доказателство за наличието на фосфокетолазен път. Два от фруктофилните щамове *Lactobacillus kunkeei* Н3 и Н25 продуцират екстрацелуларна и клетъчно-свързана глюкозилтрансфераза с молекулна маса около 300 и в клетъчно-свързаните фракции се детектира и глюкозилтрансфераза с молекулна маса 180 kDa. Необходимо е да се подчертае, че извършена експериментална работа, показваща значението на фруктофилните бактерии като една важна екологична ниша. Смятам, че получените резултати са убедителни и тяхната достоверност не подлежи на съмнение. Към достоинства на дисертацията трябва да се добави и умението на Явор Рабаджиев да отразява извършеното много ясно и коректно, да обсъжда получените резултати на фона на постигнатото от други автори. Това, разбира се, е възможно благодарение на много доброто познаване на проблема и задълбочената научна разработка.

2.5. Изводи и приноси

Изводите и приносите са логично следствие от проведените експерименти. Според мен са формулирани в съответствие с постигнатото. Въз основа на проведените анализи на крайни метаболити и ензими от въглехидратния метаболизъм (фруктокиназа и ацетат киназа), както и експресията на гените им, може да бъде предложена хипотеза за участието на пентозо-фосфатен фосфокетолазен път за усвояването на високи концентрации фруктоза (концентрация 30%). При фруктофилни изолати от гастро-интестинален тракт на пчели се детектират гликозилтрансферазни ензими при култивиране в среди със захароза. Щамовете *Lactobacillus kunkeei* Н3 и Н25 продуцират екстрацелуларна и клетъчно-свързана глюкозилтрансфераза с молекулна маса около 300 kDa.

2.6. Публикации във връзка с дисертационния труд

Резултатите от настоящия дисертационен труд са отразени в три колективни научни статии, публикувани в пълен текст: J. Basic. Microbiology IF 1,74 и J. BioSci. Biotechnol, глава от книга на английски език на международното издателство InTech и две участия в международни форуми. Всички публикации съдържат обобщени, анализирани данни от проведените експерименти в дисертацията. Всички публикации са цитирани и това ми дава основание да направя извода, че резултатите са дело на докторанта и научната общност е запозната с тях.

3. Заключение

Всичко това ми дава основание да смятам, че докторантът Явор Костадинов Рабаджиев е придобил компетенциите и уменията, които се изискват за придобиване на образователната и научна степен „доктор”. Смятам, че обемът на този труд е достатъчен, направени са много анализи, получени са ценни резултати, направени са важни изводи, а изследването има научно-приложни приноси.

Дисертационният труд представен от Явор Рабаджиев отговаря на изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за неговото приложение и Правилника на СУ „Св. Кл. Охридски”. Направените изводи и приноси ми дават основание убедително да гласувам положително и да препоръчам на Научното жури, сформирано със Заповед No РД-38-114/06.02.2018г на Ректора на СУ да присъди научната и образователна степен „доктор” по професионално направление 4.3. Биологични науки (Микробиология) на Явор Костадинов Рабаджиев.

11.04.2018 г.

Реценцент:

Проф. Искра Иванова, дбн