

РЕЦЕНЗИЯ

от **проф. Мария Богомилова Ангелова**, дбн, Институт по микробиология „Стефан Ангелов”, БАН

относно: конкурс за заемане на академичната длъжност “ДОЦЕНТ” професионално направление 4.3. Биологически науки (Микробиология – Обща микробиология и фитопатогенни бактерии), за нуждите на Катедра „Обща и промишлена микробиология“, представено пред научно жури, сформирано със заповед № РД-38-468/22.7.2024 г. на Ректора на Софийския университет „Св. Климент Охридски“

В конкурса за „ДОЦЕНТ“, обявен в Държавен вестник, бр. 55 от 28.06.2024 г. са постъпили документи на **д-р Йоана Красимирова Кижева**, главен асистент по микробиология в Катедра „Обща и промишлена микробиология“ на Биологическия факултет на Софийския университет „Св. Климент Охридски“.

1. ОБЩО ПРЕДСТАВЯНЕ НА ПРОЦЕДУРАТА И КАНДИДАТКАТА

За участие в конкурса д-р Йоанна Кижева е представила необходимите документи и материали, доказващи изпълнението на изискванията за заемане на академичната длъжност „Доцент“ на електронен носител. Всички те са в съответствие със Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилникът за неговото прилагане, както и с Правилника на СУ „Св. Климент Охридски“. Искам да подчертая, че документите са изготвени коректно, прецизно и с много внимание към детайлите.

Гл. асистент Й. Кижева е получила висшето си образование в Биологическия ф-тет на СУ „Св. Климент Охридски“. През 2007 г се дипломира като бакалавър в специалност „Биология и химия“, а през 2010 г - като магистър от МП Микробиология и микробиологичен контрол с придобита квалификация Молекулярен биолог - магистър по микробиология и микробиологичен контрол. През 2014 г получава научната и образователна степен „доктор“ и веднага започва работа като хоноруван асистент в Катедра „Обща и промишлена микробиология“. От 2017 г, кандидатката е главен асистент в същата катедра. За нейното израстване като учен са допринесли и успешно завършените 4 обучителни курса, които надграждат университетската ѝ подготовка. Кандидатката владее английски език и има отлични компютърни умения.

Д-р Кижева има и сериозен административен опит, тя участва активно в административната дейност на Биологическия факултет и Катедрата. Член е на няколко комисии към Биологически факултет при СУ - Мандатната комисия към Общото събрание, Съвета на специалностите в ОКС „Бакалавър (специалност Биомениджмънт и устойчиво развитие и Молекулярна биология); комисията за изготвяне на доклад-самооценка за акредитация на докторска програма „Микробиология“; комисия за определяне на допълнителни средства за докторанти. В катедрата, Кижева е научен секретар и отговорник за отделите „Докторанти“, „Научно изследователска дейност“ и „СДК“. Трябва да се отбележи и

участието ѝ в научно жури към Karoll Knowledge Foundation за присъждане на стипендии на докторанти. За своята дейност, д-р Кижева е получила почетна грамота.

Научната кариера на кандидатката е свързана изцяло с тематиката на конкурса и отразява актуални и перспективни направления от общата микробиология, молекулярната биология, молекулярна таксономия, биоконтрол на растителни патогени и антибиотичната резистентност.

2. СЪОТВЕТСТВИЕ С МИНИМАЛНИТЕ ИЗИСКВАНИЯ НА ЗРАСПБ

Главен асистент Йоана Кижева е съавтор на 23 научни статии, публикувани в индексирани и реферирани в световни бази данни списания с общ IF 31.485. Резултатите на кандидатката са получили широк отзвук сред международната научна общност, те са цитирани 96 пъти и формират *h*-индекс (Scopus) 7/(Google Scholar) 9. В конкурса за доцент Кижева представя 18 научни статии, които не включват тези, свързани с придобиване на ОНС „доктор“. Приемам за рецензиране всички 18 статии, приложени в списъка на кандидатката за конкурса. Искам отбележа, че те са публикувани в специализирани реномирани журналы, като напр. *Pathogens*, *J. Biosci.* *Plants* *Heliyon* *J. Plant Pathol.* *Z. Naturforsch.*, *Biotechnol.* *Biotechnol. Eq.* и др.

Справката за изпълнение на минималните изисквания за акад. длъжност "доцент" показва, че кандидатката покрива и надхвърля необходимите точки по отделните показатели, като вместо изискуеми 400 набира 663:

Съответствие с изискванията на ЗРАСПБ

1. **Показател А** - успешно защитена дисертация за ОНС и присъдена степен „доктор“, 50 т.
2. **Показател В** – 4 научни статии с ИФ в издания, реферирани в Web of Science и Scopus (Q1 – 4), 100 при изискуеми 100 т.
3. **Показател Г** – 14 научни статии с ИФ (Q2 - 4, Q3 – 7, Q4 – 3); Общ брой точки 221 при изискуеми 200.
4. **Показател Д** – 96 цитирания (Scopus) – 192 т при изискуеми 50.
5. **Показател Е** – (не се изискват за доцент), общ брой 100 т.
 - Участие в национални научни и образователни проекти – 7 x 10 т = 70 т;
 - Участие в международни научни и образователни проекти – 1 x 20 т = 20 т;
 - Участие в проекти по националния план за възстановяване и устойчивост – 1 x 10 т = 10 т

Съответствие с допълнителните изисквания на СУ „Св. Климент Охридски“

1. Ръководство на успешно защитили дипломанти – 22
2. Преподавателски стаж като главен асистент – 7 години
3. Изготвяне на учебни програми за в ОКС „Бакалавър“, „Магистър“ и ОНС „Доктор“ – 4
4. Изготвяне на рецензии на научни трудове за реферирани научни списания – 14
5. Участие като гост-редактор на реферирано научно списание *Pathogens*, MDPI
6. Ръководство на ученици за явяване на международно състезание по биология – 2

7. Водещ на работилница „Млади биолози от България до Япония“ към Японски културен център „Кокоро“
8. Член на научно жури към фондация Карол Знание за присъждане на стипендии на докторанти
9. Участие в обучителни програми – 2
10. Награди – 4
11. **Административен опит** в последните 5 години
 - към БФ - член на 3 комисии
 - към катедрата - научен секретар и отговорник за отделите Докторанти", "Научно изследователска дейност" и „СДК“

Както се вижда от направената справка, д-р Кижева покрива и надхвърля изискванията на ЗРАСРБ, като вместо изискуемите 400 т, тя представя доказателства за 663 т. Освен това, кандидатката изпълнява и допълнителните критерии на Софийския университет „Св. Климент Охридски“.

3. ОЦЕНКА НА УЧЕБНО-ПЕДАГОГИЧЕСКА ДЕЙНОСТ НА КАНДИДАТА

Учебно-преподавателска работа е една от основните активности на кандидатката и е изцяло в областта на конкурса. Тя може да се анализира в няколко аспекта – като преподавател, като обучител на умения в лабораторната практика, като съставител на учебни програми и ръководител на дипломанти. Д-р Кижева се занимава с обучение на студенти от 2015 г като хоноруван асистент и след това от 2017 г. до днес като Гл. асистент по микробиология в Катедра „Обща и промишлена микробиология“ на СУ. За последните 3 учебни години кандидатката има средно 670 ч обща натовареност, 432 от които са аудиторна заетост. Най-голяма част от преподавателската активност на д-р Кижева се отнася към подготовката на студенти от ОКС „Бакалавър“ и ОКС „Магистър“ в лабораторни умения и експериментална работа.

- ОКС „Бакалавър“ – Микробиология /сп. Молекулярна биология и Биомениджмънт/; Микробиология и вирусология /сп. Биология и химия, Биология, Фармация/; Микробиология и микробиологични методи на пречистване /сп. Екология и опазване на околната среда/;
- ОКС „Магистър“ - Биологичните опасности в храните, Микробен метаболизъм, Микробиологичен контрол на храни и хранителни продукти /сп. Качество и безопасност на храните/; Метаболизъм на прокариоти, Хранителна микробиология, Санитарна микробиология, Микробиология на околната среда, Фитопатогенни бактерии /сп. Микробиология и микробиологичен контрол/; Микробиология и вирусология /сп. Козметика и битова химия/.

Гл. асистент Кижева чете лекции в ОКС „Магистър“ (Санитарна микробиология на козметични и фармацевтични продукти, Фитопатогенни гъби и Микробиология и вирусология) на студенти от Факултета по биология и Факултета по химия и фармация СУ.

Трябва да се отбележи и активността на кандидатката в разработване на нови материали за лекции и практически упражнения. Д-р Кижева е изготвила учебни програми за МП в специалностите Агробиотехнологии (Фитопатогенни организми и интегрирана борба с вредителите – част бактерии), Санитарна микробиология (Микробиология и микробиологичен контрол), Козметика и битова химия (Микробиология и вирусология), както и за Докторска програма по микробиология (Избрани глави от микробиологията - специална част).

Едновременно с това, д-р Кижева много интензивно участва в подготовката на млади кадри. Тя е ръководител на 22 успешно защитили дипломанти към бакалавърска (7) и магистърска програма (15). Темите на всички дипломни тези са свързани с темата на конкурса. Кандидатката е подготвяла и ученици за явяване на международно състезание по биология.

За двугодишната си работа като водещ на Работилница „Млади биолози - от България до Япония“ към Японски културен център „Кокоро“, д-р Кижева е получила благодарствено писмо за значителен принос към изпълнението на програмата и за популяризиране на идеите сред по-малки деца и ученици.

На базата на гореизложеното, оценявам високо учебно-преподавателската дейност на кандидатката, считам че тя е значителна по обем, обхваща важни направления в областта на обявения конкурс и изпълнява мисията на преподавател в Университет.

4. ОЦЕНКА НА НАУЧНО-ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКА ДЕЙНОСТ НА КАНДИДАТА

Научните трудове на д-р Йоана Кижева изцяло покриват темата на настоящия конкурс, а именно Обща микробиология и фитопатогенни бактерии. Те отразяват дейността на кандидатката в много актуални направления на микробиологичната наука – молекулярна идентификация, вътревидово разнообразие на фитопатогенни бактерии, биоконтрол на болести по растенията, нови пробиотични щамове и нови антибактериални средства. Публикациите на кандидатката могат да се групират и анализират в пет раздела.

I. Молекулярна идентификация и вътревидово разнообразие на фитопатогенни бактерии и изучаване на разпространението и взаимоотношенията им с основни и алтернативни растения-гостоприемници (1, 2, 6, 11, 12, 15, 16).

Бактериите от род *Xanthomonas* са едни от най-често срещаните растителни патогени в световен мащаб. Те причиняват значителни финансови загуби от важни селскостопански култури, включително зеленчукови с висока хранителна стойност за консуматорите. Проучванията относно превенцията на заболяванията, свързани с представителите на род *Xanthomonas* (бактериалното струпясване) и тяхното значение за икономиката, предизвикват нарастващ интерес в научните и бизнес средите. Отбелязаните проблеми касаят в голяма степен и България. Като се има предвид мащаба на зеленчукопроизводството у нас и ежегодните щети от компрометирана продукция, може ясно да се очертае актуалността и значимостта на извършените изследвания.

В този раздел е представен алтернативен молекулярно-генетичен подход за идентифициране и коректно разграничаване на видовете *X. euversicatoria* и *X. perforans*. Проблемът за тяхната висока генетична идентичност е разрешен чрез използването на

рестрикционен анализ (RFLP) на амплифициран участък (ITS) между гените 16S и 23S в рибозомалния оперон. Подходящото комбиниране на три рестрикционни ензима в точно определена последователност повишава значително нивото на дискриминативност. Предимствата на метода и неговата значимост за коректното идентифициране са доказани чрез прилагането му при голям брой изолати (262) от род *Xanthomonas*, изолирани от растения с признаци на бактериози в един много дълъг период от време (1985 – 2013 г.). Установена е принадлежността към видовете *X. vesicatoria* (115 щам), *X. euvesicatoria* (132 щам) и *X. gardneri* (15 щам).

Друг много значим аспект в раздела е проучване на вътревидовото генетично разнообразие на причинителите на бактериалното струпяване, които в последните 20 години са обект на изследвания и прекласификация. Публикуваните резултати не са еднозначни. ДНК-ДНК хибридизацията определя 4 геновида, а сравнителният анализ на нуклеотидна последователност в целия геном предлага групиране на щамове с >99.6% идентичност. В изследванията на кандидатката е приложена високо дискриминативната молекулярно-генетична техника пулсова гел-електорфореза, с помощта на която за пръв път в България е изучено вътревидовото разнообразие в рамките на българската популация на видовете *X. vesicatoria* и *X. gardneri*. Резултатите от изследваните 100 бактериални изолата (за периода 1985-2012 г.) от различни гостоприемници определят метода като надежден и унифициран за типизиране на тези два вида. На основата на този метод са открити два хаплотипа за *Xanthomonas vesicatoria* и един хаплотип за щамове на вида *Xanthomonas gardneri*.

Изследванията в посока на нови подходи в растителната защита са още един съвременен и актуален аспект. За постигане на ранна диагностика и ограничаване на епидемиологичното разпространение на *X. euvesicatoria* са проведени експерименти, свързани с изучаването на патогенезата на щамове от този вид. Разработена е нова qPCR процедура за доказване наличието на *X. euvesicatoria* и повторно изолиране на жизнеспособни бактериални клетки. Проучена е възможността за получаване на стабилни трансформирани култури от див щам на *X. euvesicatoria* (269p), експресиращи конститутивно гена за зелена флуоресценция (GFPuv), което позволява проследяването на поведението на бактерията в тъканите на растението. За целта са използвани два търговски синтетични плаزمиди (pBbB13k-GFP и pWVR5) и един рекомбинантен плазмид, конструиран за проведеното изследване (pWG5). Трансформациите са реализирани чрез електропорация и термичен шок. За идентифициране на видовете и на плазмидите са приложени PCR и RFLP.

Трябва да се отбележат и резултатите от биохимичните изследвания и ролята на оксидативния стрес за инвазията на патогена и за защитата на пиперени растения, изкуствено заразени с *X. euvesicatoria*. Установено е че междинният фенотип в изследваната патосистема е пример за дълга и успешна съвместна еволюция и за двата вида.

Друг аспект на изследвания в това направление е доказването на нови гостоприемници на фитопатогенните бактерии. Идентифицирани и характеризирани са пет актинобактериални щамове с предполагаема принадлежност към вида *Curtobacterium flaccumfaciens*, изолирани от домати и пипер. Идентификацията е извършена чрез MALDI-TOF MS, 16S rDNA секвениране

и PCR. Установена е ролята на двете растения като естествен резервоар на този фитопатоген. В тази посока са и резултатите, които доказват за първи път *X. euvesicatoria* като причинител на BS по домати в България. На базата на 27 щамове, изолирани от различни райони в страната и идентифицирани с видово-специфична PCR амплификация са установени два патотипа – доматен (Т) с три раси и пипер-доматен (ПТ) с пет раси. Тези проучвания добавят нова, изключително важна от епидемиологична гледна точка информация за кръга на чувствителните към *C. flaccumfaciens* и *X. euvesicatoria* гостоприемници.

В този раздел са направени следните оригинални теоретични приноси:

1. Получена е нова информация, която допринася за разширяване на знанията относно патогенезата и тясното взаимодействие между вида *X. euvesicatoria* и неговите чувствителни растения-гостоприемници.

2. Разработен е молекулярно-генетичен подход, базиран на рестрикционен анализ (RFLP) на амплифициран участък между гените за 16S и 23S в рибозомалния оперон (ITS), за бърза и точна идентификация на четирите бактериални вида, причиняващи заболяването бактериен струпясване по домати и пипер: *X. vesicatoria*, *X. euvesicatoria*, *X. gardneri* и *X. perforan*.

3. За първи път в България е получена информация относно генетичното разнообразие в българската популация на видовете *X. vesicatoria* и *X. gardneri* на базата на рестрикционния профил на геномите на двата вида с две рядко-режещи ендонуклеази (SpeI и XbaI) и е оптимизиран метод за провеждане на пулсова гел електрофореза (PFGE).

4. Разработена е процедура за получаване на рекомбинантен плазмид (pWG5), носещ гени за конститутивна зелена флуоресценция и резистентност към гентамицин и е изучена вероятността за успешното му пренасяне в *X. euvesicatoria* чрез електропорация.

5. За пръв в България видът *X. euvesicatoria* е идентифициран с фенотипни и молекулярно генетични методи като причинител на болестта бактериен струпясване по домати, с което се допълва кръгът от чувствителни гостоприемници на този патоген.

6. На базата на изследвания, обхващащи периода 1999-2016 г е направен задълбочен преглед на видовия и расовия състав, тяхната динамика и патотипа на фитопатогенните бактерии, причиняващи бактериен струпясване по домати и пипер в България.

7. За пръв път в България е направена задълбочена фенотипна и генотипна характеристика на предполагаемо патогенни щамове на вида *Curtobacterium flaccumfaciens*.

8. Доказана е ролята на доматените и пиперените растения като алтернативни гостоприемници на вида *C. flaccumfaciens*.

II. Изолиране и характеризиране на бактериофаги с потенциал за биоконтрол на болести по растенията, причинени от фитопатогенни бактерии (5, 7, 8, 10).

Неоспорим факт е негативното икономическо въздействие на фитопатогенните бактерии върху селското стопанство и околната среда. Широкото използване на антибактериални средства, обаче е причина за феномена множествена лекарствена резистентност (МЛР) и по отношение на причинителите на болести по растенията. Биологичният контрол е обещаващ метод за потискане на растителните патогени, повишаване на имунитета на растенията и

промяна на околната среда. Бактериофагите се използват успешно за контрол на различни растителни болести и предлагат възможни алтернативи на антибиотиците. Използването на фаги би намалило замърсяването на околната среда с антимикробни съединения и резистентността на патогените, причинена от химическите бактерициди. Фагите са високоспецифични и заразяват само подходящите бактерии-гостоприемници, поради което не оказват отрицателно въздействие върху други полезни микроорганизми. Родът *Xanthomonas* е особено важен, тъй като е свързан с редица значими болести, които причиняват огромна загуба в селското стопанство. Въпреки че фаговия контрол при ксантомонадите предизвиква голям интерес, у нас проблемът е силно подценен. Екипът, на който е член д-р Кижева, за пръв път проучва потенциала на бактериофаги, изолирани от естествени местообитания в страната, способни да унищожават *X. euvesicatoria*, *X. vesicatoria* и *X. gardneri*, патогени по култури в България. Установено, че един от тези фаги (SfXv124t/3), принадлежащ към семейство *Podoviridae* не е докладван до сега като ефективен агент срещу отбелязаните фитопатогенни бактерии. Той е охарактеризиран като потенциален кандидат за агент за биоконтрол на вредители. Значимо постижение е охарактеризирането на 11 фагови изолата от ризосферата на домати растения със симптоми на бактериално струпасване, способни да унищожават целево клетки само на вида *X. euvesicatoria*. За първи път в това проучване е докладвано кръгово представяне на линеен, но кръгово пермутиран фагов геном сред известните за посочения растителен вид.

Интерес представляват резултатите от изследване на патосистемата растение пипер (*Capsicum annuum* L.) – фитопатогенна бактерия *X. euvesicatoria* (див щам 269p) - бактериофаг BsXeu269p/3. На базата на построените две нови моделни системи, чрез използването на съвременни методи като qPCR и SEM, е доказана възможността за биоконтрол на заболяването *in vivo*, медиран от бактериофаг. Това е първият доклад за *in vivo* оценка на потенциала на локално изолирани фаги за биоконтрол на *X. euvesicatoria*, причинителя на бактериалното струпасване в България.

Натрупаните знания от многогодишните изследвания относно фаговата терапия и фаговия контрол за потискане на растителните патогени са представени в един много детайлен обзор, базиран на съвременни данни. Научната информация в този труд е изключително полезна за изследователи и студенти.

Считам, че по-важните приноси в този раздел касаят следното:

Теоретични приноси

1. За първи път от български земеделски култури са изолирани и детайлно охарактеризирани бактериофаги с потенциал за приложение във фаговия контрол при ксантомонадите. Създадена е лабораторна колекция от тях.

2. Получена е нова информация за морфологията на вириона и организацията на генома на някои от изолираните фаги, която допринася за изясняване биологията на фага като цяло.

3. За първи път са представени доказателства за кръговата пермутация на линеен геном сред известните *X. euvesicatoria* фаги.

4. За пръв път в България е демонстриран потенциалът на бактериофаг (BsXeu269p/3) да възпрепятства разпространението на болестта бактерино струпясване, причинено от фитопатогенната бактерия *X. euvesicatoria* в *in vivo* условия.

5. Разработен е молекулярно-генетичен подход за бързо и надеждно целево откриване и количествено определяне на бактериофаг BsXeu269p/3 в естествени и лабораторни проби чрез qPCR

Методични приноси

1. Разработени лабораторни процедури за култивиране на бактериофаги, количествено определяне чрез класически и молекулярно-генетични методи, подготовка на фагови суспензии за TEM и за изолиране на фагова ДНК.

III. Изучаване биологията на млечнокисели бактерии, изолирани от различни природни местообитания и подбор на потенциални пробиотични щамове с оценка на микробиологичното качество на пробиотични хранителни добавки (Публ. 13, 17, 18).

Актуалността и перспективността на направлението са безспорни. Пробиотиците са важна ключова дума в здравното портфолио на хората от 21 век. Те са във фокуса на вниманието на учени, производители и консуматори поради огромния си здравословен потенциал. Това от своя страна инспирира усилията на изследователите към усъвършенстване на методите за оценка на тяхното качество. Фокусът в изследванията, включени в този раздел е върху оптимизиране на общ диагностичен алгоритъм за бърза и коректна идентификация на новоизолирани щамове МКБ чрез съвременни молекулярно-биологични методи. Алгоритъмът включва серия от PCR реакции, целящи първо групирането на щамовете МКБ на ниво род чрез амплификация на 16S-23S ITS rDNA, последвано от потвърждение на родовата принадлежност с родово-специфични праймери, мултиплекс PCR за групиране на щамовете по групи и PCR с видово-специфични праймери. С него е проучено съдържанието на МКБ в 26 пробиотични продукта, 16 налични в търговската мрежа и 10 от местен производител. На базата на получените резултати е установено, че те не съдържат всички етикетирани МКБ, а в някои от тях се доказват неприемливи микроорганизми. Наличието на видове от род *Weissella* в пробиотични хранителни добавки предлагани на българския пазар е нежелателно и не е отбелязано на опаковката. Видовете от този род са близки до представители на родовете *Streptococcus* и *Lactococcus*, поради което трудно се диференцират от тях чрез прилагането на по-кратка идентификационна схема.

Предложеният алгоритъм е използван успешно за идентифициране на новоизолирани щамове МКБ от ръжена закваска и ядливия охлюв *Cornu aspersum*. В този аспект се включват и резултатите, доказващи видовия състав на млечнокиселата микрофлора в традиционни ферментирали български храни. Трябва да се отбележи, че използването на метода е позволило откриването на видове МКБ, които не са съобщавани до този момент в изследваните местообитания. Новоизолираните щамове МКБ са охарактеризирани по ключови характеристики, касаещи пробиотичния им потенциал. Направена е оценка на толерантност в симулирани условия на ГИТ, продукция на антибактериални вещества, автоагрегация и

коагрегация с патогенни микроорганизми, образуване на биофилми, хемоличична активност, фенотипна и генетично-детерминирана антибиотична резистентност.

Направените приноси могат да се формулират така:

Теоретични приноси

1. За първи път е идентифицирана и охарактеризирана млечнокиселата микрофлора от род *Lactobacillus* в гастро-интестиналния тракт на градинския охлюв *C. aspersum*.

2. За пръв път са съобщени видовете *Levilactobacillus koreensis* и *Levilactobacillus yonginensis*, изолирани от ферментирали зеленчукови храни, както и видовете *Lactobacillus spicheri*, *Lactobacillus paralimentarius*, *Lactobacillus kimchi* и *Lactobacillus sanfranciscensis*, изолирани от ферментирали ржени теста.

3. Изучени са основни характеристики, касаещи пробиотичния потенциал на новоизолирани български щамове МКБ.

Научно-приложни приноси

1. Постигнато е ефективно оптимизиране на диагностичен молекулярно-генетичен алгоритъм за бързо видово идентифициране на МКБ.

2. Направена е детайлна характеристика на МКБ в търговски пробиотични препарати, доказани са занижени стойности на пробиотичните бактерии и наличието на нежелани видове от род *Weissella*.

IV. Изследване на вирулентния потенциал и антибиотична резистентност сред опортюнистични патогенни бактерии, изолирани от различни местообитания (Публ. 4, 9).

Проблемът с кръстосаната патогенност предизвиква интереса на учени поради своето значение за здравето и безопасността на хората и животните. Тези патогени се адаптират към растенията, без да губят вирулентността си спрямо хората. Тяхното изучаване е принос към изясняване на патогенния им спектър и предприемане на адекватни мерки в борбата с тях. Примери за признати кръстосани патогени са няколко бактериални вида, които обикновено обитават повърхностите и ризосферата на растенията, като *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Dickeya* spp., *Enterococcus faecalis*, *Serratia marcescens* и др. В този раздел са включени резултатите от експериментите относно наличието на кръстосани патогени в заразени растения от домати и пипер. Обект на изследване са 21 проби от седем различни части на растенията и три от ризосферата на домати. Изолираните щамове са фенотипно охарактеризирани и идентифицирани чрез MALDI-TOF. Доказано е голямо бактериално разнообразие, принадлежащо към девет вида от шест семейства: *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae*, *Pectobacteriaceae*, *Moraxellaceae*, *Pseudomonadaceae* и *Enterococcaceae*. За бързото доказване на кръстосани патогени в растителни проби е приложен подход на базата на PCR амплификацията на гена *proV*. Всички изолати показват различна резистентност към тестваните антибиотици. Сред популацията не са открити гени за факторите на вирулентност.

Интерес представляват изследванията, свързани с кръстосаната патогенност на бактерии от род *Enterococcus*, изолирани от различни храни и от ГИТ *C. aspersum*. Те са идентифицирани чрез PCR и MALDI-TOF и проучени за наличието на гени за антибиотична

резистентност и вирулентност. Корелация между генотипна и фенотипна резистентност към макролиди е установена за два щамa *E. faecalis*.

Направените приноси могат да се формулират така:

Теоретични приноси

1. Получена е нова информация за разнообразието на човешки опортюнистични патогени, изолирани от растения.
2. Получени са нови данни относно разпространението на генетично-детерминирана антибиотична резистентност и вирулентност сред щамове ентерококи, изолирани от храни.
3. Резултатите от изследванията са принос към проблема за кръстосаната патогенност.

Приложни приноси

1. Създадена е лабораторна колекция от човешки опортюнистични патогени, изолирани от растения

V. Изпитване на нови вещества с потенциал като антибактериални агенти (Публ. 14).

Научно-изследователската дейност на кандидатката включва и работа по големия проблем за антибиотичната резистентност и търсенето на нови антибактериални средства. Обект на изследване е изолираният от *Eriphia verrucosa* нативен хемоцианин (EvH) и неговите пет структурни единици (SU). Установена е антимикробната активност на гликозилираните SU срещу клинично значими патогени: *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis и *Pseudomonas aeruginosa*. Доказана е зависимостта на действието от степента гликозилиране. SU1 (с най-високо съдържание на въглехидрати) има потенциал да се прилага като заместител на някои често използвани антибиотици.

Считам, че по-важните приноси в този раздел касаят следното:

Теоретични приноси

1. Установена е антибактериалната активност на структурните субединици на хемоцианин, получен от *E. verrucose* срещу клинично значими патогени.
2. Доказана е връзката между степента на гликозилиране на структурните субединици на хемоцианина и нивото на антибактериална активност.

Приложни приноси

1. Структурната единица SU1 на хемоцианин от *E. verrucose* може да се използва като основа за разработването на антибактериален препарат.

Оценявам положително научно-изследователската дейност на д-р Йоана Кижева като тематика, методични подходи и постижения. Искam да подчертая, че изследванията са комплексни, включени са специалисти с различна квалификация, както го изисква науката на днешния ден. Но приносът на кандидатката е очертан много добре. Това от своя страна доказва съответствието с тематиката на конкурса. Тук трябва да се добави и факта, че от всички 18 статии, д-р Кижева е на първо място в 10 от тях и на второ – 2, което е доказателство за нейния съществен принос в представените разработки.

Приносите на гл. ас. Йоана Кижева оценявам като иновативни и значими, както оригинални научни, така и такива с приложно значение. На лице са постижения с очевиден теоретичен и методичен характер, включително получаване на нова информация и потвърждаване на известни данни в основни направления на микробиологията. Несъмнено постигнатите резултати са солидна научна база за бъдещи изследвания. Според мен, д-р Кижева има собствено място в дейността на колективите с които работи, нейната квалификация и опит допринасят в голяма степен за реализиране на идеите и постигане на целите. Това определя и личния ѝ дял в приносите като значим.

Резултатите, представени за конкурса са достойствие на международната научна общност, за което говори броят на цитиранията (136, *h* фактор 7/9). Това е и признание за нивото и значението на дейността на д-р Кижева. Някои от статиите са цитирани многократно в такива реномирани списания като *Pathogens*, *Environmental Research*, *Antibiotics*, *Microorganisms*, *Frontiers in Microbiology*, *Plos one*, *Toxins* и др. Прави впечатление, че 98% (133) от цитатите са на автори извън страната.

5. РЕДАКТОРСКА И РЕЦЕНЗЕНТСКА ДЕЙНОСТ

Трябва да се подчертае дейността на гл. ас. Кижева като гост редактор на специално издание към списание *Pathogens*, MDPI, което подчертава нейната готовност да се ангажира с допълнителни дейности. В тази посока е и сериозната рецензентска работа на кандидатката за научни трудове в реферирани научни списания. За периода 2019-2024 г тя е изготвила 14 рецензии за статии в областта на нейната компетентност (*Plants*, *Pathogens*, *Resources*, *BBQ*, *Folia medica*, *Annual of Sofia University*, *Curr. Microbiol.*, *Acta Microbiol. Bulg.*).

6. УЧАСТИЯ В НАУЧНОИЗСЛЕДОВАТЕЛСКИ ПРОЕКТИ

Кандидатката представя информация за участие в 18 научно-изследователски проекта за целия научен стаж, от които 13 са след получаване на ОНС „доктор“. Те са финансирани както следва:

- Фонд „Научни изследвания“ при СУ „Св. Климент Охридски“ – 9, на един тя е ръководител;
- Фонд „Научни изследвания“ при МОН – 7, на един тя е ръководител;
- Националният план за възстановяване и устойчивост - 1;
- Международни проекти – 1.

7. КРИТИЧНИ ЗАБЕЛЕЖКИ И ПРЕПОРЪКИ

Нямам критични забележки към представените материали. В предвид квалификацията на д-р Кижева в актуални научни направления и уменията ѝ на преподавател и изследовател, препоръчвам по-активно да участва в разработването на проекти като ръководител.

8. ЛИЧНИ ВПЕЧАТЛЕНИЯ

Познавам гл. ас. д-р Йоана Кижева от времето на нейното обучение в докторантура като много деен и ентузиазиран млад учен. През тези години тя израсна в компетентен и активен микробиолог, със собствена сфера на научни интереси. Искам да подчертая, че д-р Кижева продължи делото на нейните учители в областта на фитопатогенните бактерии, разви и изведе на ново ниво изследванията, включи тематиката в преподаването в Катедрата. Запознах се много подробно с представените за конкурса материали и сега за мен д-р Кижева е един квалифициран преподавател и учен в областта на микробиологията. Тематиката на публикациите ѝ е съвременна и много актуална, в центъра на важни проблеми от 21 век. Участието ѝ в колективни разработки я характеризират като изследовател с добри умения за работа в екип.

9. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Документите и материалите, представени от гл. ас. д-р Йоана Кижева отговарят на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на Софийския университет. Кандидатката има достатъчен брой научни трудове за конкурса, публикувани след материалите, използвани при защитата на ОНС „доктор“. Постигнатите резултати в учебната и научно-изследователската дейност напълно съответстват на минималните национални изисквания и допълнителните изисквания на СУ, приети във връзка с приложението на ЗРАСРБ.

Искам да подчертая, че преподавателската дейност на д-р Йоана Кижева е в областта на настоящия конкурс и съответства на актуалните изисквания на обучението във висшето образование. Тя е автор на учебни програми, работи активно с дипломанти и ученици. Търсен партньор е в разработването на научни проекти и активен член на екипите, с които работи. Представените научни трудове я определят като професионално компетентен специалист. Те са публикувани в реномирани издания и са станали известни на нашата и международна научна общност. Формулираните научни и приложни приноси са база за следващи разработки.

След запознаване с представените в конкурса материали и научни трудове, след анализа на тяхната значимост и съдържащи се в тях научни и научно-приложни приноси давам своята положителна оценка и убедено препоръчам на Научното жури да изготви доклад-предложение до Факултетния съвет на Биологическия факултет за избор на **главен асистент д-р Йоана Красимирова Кижева** на академичната длъжност „**ДОЦЕНТ**“ в Софийския университет „Св. Климент Охридски“ по област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, Научна специалност Микробиология (Обща микробиология и фитопатогенни бактерии).

15.10.2024 г

София

Рецензент:

/проф. Мария Ангелова, дбн/