

## РЕЦЕНЗИЯ

**от проф. д-р Пенка Ангелова Мончева** - Софийски университет „Св. Кл. Охридски“, Биологически факултет

**на дисертационен труд**, представен за защита за получаване на образователната и научна степен „доктор“ по Научна специалност Технология на биологичноактивни вещества (Биотехнология) шифър 02.11.11.

**Автор на дисертационния труд:** Цветана Валентинова Личева

**Тема на дисертационния труд:** „Изследване на физиолого-биохимичните характеристики и биологичната активност на щамове от род *Bacillus* при биоконтрол на растения“

### **1. Актуалност и значимост на дисертационната тема**

През последните години проблемът свързан с производството на т. нар. биопродукти и развиването на биологично (органично, екологично) земеделие привлича интереса не само на потребителите и производителите, а и на научната общност, защото за неговото развитие са необходими научни знания, познаване на основите и принципите на това земеделие, както и разработването на полезни практики. Биологичното земеделие е система за производство на селскотопанска продукция от културни растения с намалено или изключено прилагане на синтетични минерални торове, пестициди, регулатори на растежа и стимулатори, което зависи от сеитбообръщанията, оползотворяването на растителните остатъци, отглеждането на бобови култури, зеленото торене и провеждането на биологична борба с вредителите, болестите и плевелите. Основни принципи на биологичното земеделие са торене с естествени органични торове, прилагане на балансирано сеитбообращение, естествено стимулиране на растенията, стимулиране на полезните насекоми и животни и растителна защита с естествени средства. В смисъла на казаното до тук определям темата на дисертационния труд като много актуална.

## **2. Оценка на структура на дисертационния труд**

Дисертационният труд е построен по общоприетия модел за научни трудове от такъв тип и е структуриран в 8 раздела: Увод (1 стр.), Литературен обзор (37 стр.), Цел и задачи (2 стр.), Материали и методи (14 стр.), Резултати и обсъждане (56 стр.), Изводи (2 стр.), Справка за приносите (1 стр.), Списък на използваната литература (17 стр., съдържащи 196 източника). Към дисертацията е приложен списък на научните публикации, свързани с дисертационния труд (1 стр.) и Приложение (7 стр.), съдържащо илюстративен материал към хроматографските изследвания. Общият обем на труда, без приложенията е 130 стандартни А4 формат страници.

### **2.1. Литературен обзор**

Обемът на литературния обзор е приблизително 1/3 от общия обем на дисертацията. Информацията, която се поднася в него е фокусирана върху 6 проблема: върху същността на биологичното земеделие и предпоставките за неговото възникване и развитие; върху почвата с населяващите я микроорганизми, тяхното разпространение и ролята им в протичащите в нея процеси, имащи отношение към нейното плодородие; върху методите за проучване на почвеното микробно разнообразие; върху участието на редица микроорганизми като компонент на торове за растениевъдството; върху биологичните особености на бактериите от род *Bacillus* като типични почвени обитатели и тяхното практическо използване като бактериални торове, стимулиращи растенията. Финалът на литературния обзор логично насочва читателя към основната цел на дисертационния труд. Считаю, че литературният обзор е добре построен, целенасочен, написан на добър език и дава представа за теоретичните познания на докторанта. Използвани са достатъчно на брой литературни източници – 196, преобладаващата част на латиница. Прави добро впечатление позоваването на български автори, работили по подобни проблеми. Приблизително 41% от цитираните литературни източници са от последните десет години, което потвърждава актуалността на разработваната дисертационна тема. Считаю, че тази част от дисертационния труд представя докторанта в много добра светлина,

показва придобитите в хода на докторантурата умения за работа с научна литература и много добрата теоретична подготовка, която е предпоставка за успешна експериментална работа.

## **2.2. Цел и задачи**

Целта на дисертационния труд е формулирана ясно и точно, както и задачите, чрез изпълнението на които тя ще бъде реализирана. Дефинирани са 9 главни задачи, като преобладаващата част от тях съдържат по няколко подзадачи. Считаю, че задачите съответстват на целта и дават възможност при изпълнение за нейното постигане. Смятам (както и на предварителната защита), че задача номер 1 е могло да бъде формулирана по-добре, с оглед на нейното по-добро вписване в дисертационния труд, без да считаю че е излишна.

## **2.3. Материали и методи**

В този раздел прецизно са описани всички използвани в работата материали, както и подобрите методи за изпълнението на задачите. Подбран е набор от класически и съвременни микробиологични, аналитични и молекулярно-биологични методи. Те са подходящо избрани и дават възможност за изпълнение на задачите и получаване на възпроизводими резултати. Разнообразието от методи показва много добрата методична подготовка на докторанта, постигната в хода на изпълнение на дисертацията. Въпреки, че са внесени корекции в тази част след направените критични забележки на апробацията, тя би могла да бъде представена с по-голяма конкретика. Имам предвид предназначението на хранителните среди.

## **2.4. Резултати и обсъждане**

В този раздел докторантът е представил резултатите, получени в хода на изпълнението на всяка от поставените задачи, като последователно ги е разгледал по задачи, което улеснява читателя. От прочита на този раздел става ясно, че всяка поставена задача е изпълнена като са получени ясни и конкретни резултати, представени по много добър начин. Експериментите са извършени чрез адекватно

подбрани методи, хранителни среди, в достатъчна повторяемост и не будят никакво съмнение в достоверността на получените резултати. Тази част на дисертационния труд е богато илюстрирана с прецизно изработени 21 таблици и 41 фигури. В резултат на изпълнението на задачите на дисертационния труд докторантът г-ца Цветана Личева е направила предварителна микробиологична характеристика на 16 почви от няколко района в България и на базата на тази характеристика е изолирала 6 щамове от род *Bacillus*, които впоследствие е идентифицирала, охарактеризирала и анализирала в съответствие с поставените задачи. Характеризирането на щамовете е извършено на различни нива – морфологично, физиолого-биохимично с различни техники, като на базата на това характеризиране е извършена и видова идентификация. Достоверността на резултатите от фенотипната идентификация е проверена чрез секвениране на 16S рДНК. Това дава завършек на този анализ. Същите щамове са скринирани за антимикробно действие срещу два вида фитопатогенни бактерии – *Clavibacter michiganensis* и *Xanthomonas vesicatoria*. С оглед на тяхното бъдещо приложение докторантът е изучил и някои технологични характеристики на изследваните щамове - натрупване на биомаса, преживяемост след разпрашително сушене и лиофилизация, способност към синтеза на различни ензими. Изследван е ефектът на инокулирани почви с и без растение върху мобилните форми на фосфора. Проведени са моделни експерименти за ефекта на бактериални суспензии от щамовете върху три растителни вида, както и ефектът на суспензии от щамовете с различна плътност върху семена на *Cocumis sativus*. По-нататък е проследена способността на всички или на част от щамовете към синтезиране на растежни регулатори и фитохормони с хроматографски и мас-спектроскопски анализ. Определена е оптималната концентрация на клетките на щамовете, необходима за постигане на биостимулиращ ефект, като щамовете са изследвани в различни комбинации с оглед установяване на синергизъм или отрицателно взаимодействие. Извършена е огромен обем експериментална работа, изискваща умения за правилна постановка на експеримента, анализиране и обобщаване на резултати, с което

докторантът очевидно се е справил, а задачите са изпълнени и целта постигната.

## **2.5. Изводи и приноси**

Въз основа на извършената експерименталната работа и получените резултати докторантът прави 11 извода. Те са свързани с получените резултати и логично произтичат от тях. Считаю че някои от тях (извод 10, 3) е могло да получат по-точна формулировка.

Несъмнено дисертационният труд има приноси, които според мен имат научно-приложен характер. Бих ги формулирала по следния начин:

- Създадена е колекция от щамове на видове от род *Bacillus*, които притежават ценни качества, които позволяват да бъдат предложени според установения ред за приложение в биологичното земеделие.

- Създадена е колекция от щамове с качества на биоконтролни агенти срещу два вида фитопатогенни бактерии – *Clavibacter michiganensis* и *Xanthomonas campestris*.

- Разкрита е възможност за приложение на изолираните щамове като компоненти на микробиални торове, заради установени техни ценни характеристики – подобряват фосфорното хранене, стимулират растежа на растенията чрез синтезирането на растежни регулатори и притежават подходящи технологични характеристики.

## **3. Участие на докторанта в изработването на дисертацията**

Познавам докторанта Цветана Личева. Имала съм възможност да наблюдавам работата ѝ по дисертационния труд и съм убедена, че тя е нейно лично дело. Резултатите са получени след провеждането на значителна по обем експериментална работа дело на самия докторант.

## **4. Препоръки, забележки и въпроси**

В хода на изложението на моята рецензия, аз направих някои забележки, но бих посочила още и следното:

- На стр. 67, където се коментират резултатите от секвенирането се говори, че се потвърждава принадлежността на щам T2 към вида *B. subtilis*. В случая думата „потвърждава“ е употребена

неподходящо, тъй като чрез него шамът се отнася към вид, различен от онзи, към който е отнесен с Biolog. Същото важи и за коментарите по отношение на шам ТЗ.

- Не става ясно защо в Материали и методи посочват, че работите с 24 проби, а всички резултати са дадени само за 16 проби.
- Не е ясно какво представлява контролата на Фиг. 12 и 13 (стр. 70 и 71)

Имам следните въпроси:

1. С какво се обяснява липсата на подвижност при шамове Т2, Т3, Т10 и Т17 при положение, че движението е диференцираща и специфична характеристика за род *Bacillus*, към който шамовете са отнесени?
2. Как е определян растежът при различните температури за да бъде окачествен като „отличен“, „добър“ и „слаб“.
3. На табл. 6 озаглавена „Физиологични характеристики на изследваните шамове“ са представени резултати от култивирането върху различни среди. Какви точно физиологични характеристики сте определяли на среда МПА, Ендо, Симонс и КДА и за какво са използвани?

## **5. Публикации във връзка с дисертационния труд**

Докторантът е представил списък на научните публикации и участия в научни форуми, свързани с темата на дисертационния труд, в които тя е водещ автор, което потвърждава нейното лично участие в изработването на дисертационния труд. Представен е списък на 4 публикации (две излезли от печат и две в процес на рецензиране). Докторантът има и 3 участия в научни форуми (две в международни форуми и едно в национален научен форум) – 2 доклада и едно постерно съобщение.

## **6. Автореферат**

Авторефератът е изготвен по модела, по който е изработена дисертацията като в съкратен вид са представени най-важните неща от всички раздели (без литературния обзор). Информацията, включена в автореферата вярно отразява онази, съдържаща се в дисертационния труд.

## **7. Придобита компетентност и съответствие с изискванията на образователната и научна степен „доктор“**

В хода на изпълнението на експерименталната работа и оформянето на дисертационния труд докторант Цветана Личева съвсем очевидно е придобила компетенции и умения, които могат да бъдат групирани по следния начин:

- разширила е своята теоретична компетентност в областта на микробиологията, биотехнологията и в конкретната тематика по дисертацията

- придобила е умения да работи с научна литература, да анализира и обобщава данни, както и да ги използва умело при коментара на получените от нея резултати.

- развила и разширила е методичната си подготовка, чрез умения избор и прилагане в изпълнението на задачите на молекулни и съвременни аналитични методи

- придобила е умения самостоятелно да оформя и дискутира резултатите от своя труд, да прави обобщения и изводи на базата на тях.

Всичко това ми дава основание да смятам, че тя е придобила компетенции и умения, които напълно съответстват на образователната и научна степен „доктор“.

## **8. Заключение**

Изработването и оформянето на дисертационния труд, включващо получените резултати, тяхното представяне и дискутиране ми дават основание да смятам, че в процеса на докторантурата Цветана Личева е придобила теоретични знания и методични умения напълно

съответстващи на третата степен на обучение в Софийски университет „Св. Кл. Охридски“. Извършено е мащабно изследване на съвременно ниво, съчетаващо класическите методи на микробиологията с молекулно-биологични и аналитични. Много добрата теоретична подготовка е дала възможност на докторанта да направи избор на разнообразни методи, които са осигурили изпълнението на всички поставени задачи, с което е постигната целта. Смятам, че обемът на този труд е внушителен, направени са много анализи, получени са ценни резултати, направени са важни изводи. Дисертационният труд има научно-приложни приноси, които могат да послужат за по-нататъшно развитие на изследванията с оглед на практическо приложение на изолираните и характеризирани щамове. Направените от мен забележки не се отнасят до същността на работата и имат технически характер. Те не омаловажават достойнствата на труда.

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 почитаемото научно жури, сформирано със Заповед на Ректора на СУ РД 38-293/09.05.2013 г да присъди на г-ца Цветана Личева научната и образователна степен „доктор“ по Научна специалност Технология на биологичноактивни вещества (Биотехнология) шифър 02.11.11.

29.05.2013 г.  
София

Подпис:  
(проф. д-р П. Мончева)