

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд на тема:

**„АКТИНОМИЦЕТИ, ПРОДУЦЕНТИ НА АНТИБИОТИЦИ ОТ
ОСТРОВ ЛИВИНГСТЪН, АНТАРКТИКА“**

**за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“, по 4.3.
Биологически науки, научна специалност Микробиология**

**на редовен докторант Марта Никифорова Енчева-Малинова
Научни ръководители: проф. д-р Пенка Мончева и проф. дбн. Искра
Иванова,**

**Рецензент: доц. дбн Светла Трифонова Данова,
Секция Микробна генетика при Институт по микробиология „Стефан
Ангелов“, БАН**

1. АКТУАЛНОСТ И ЗНАЧИМОСТ НА РАЗРАБОТВАНИЯ ПРОБЛЕМ

Дисертационният труд е посветен на една от най-перспективните групи микроорганизми, продуценти на биоактивни вторични метаболити, каквито са представителите на актиномицетите. Оригинален момент на разработката е проучването на почвени проби от Антарктика – остров Ливингстън, хабитат с екстремни и неблагоприятни за живот климатични условия. Търсенето на нови продуценти на антибиотици и ензими, от слабо проучени местообитания, е сред обещаващите научно-приложни изследвания. Всичко това ми дава основание да оценя като актуална представената научна разработка.

2. ОБЕМ И СТРУКТУРА НА ДИСЕРТАЦИЯТА

Дисертацията е изложена на 187 стандартни страници текст, като в тях не са включени резюмето и съдържанието. Спазена е общоприетата схема и препоръчителните съотношения между отделните части на труда, както следва: *увод* – 1 стр., *литературен обзор* - 38 стр., *цел и задачи* – 1 стр., *материали и методи* – 29 стр., *резултати и обсъждане* – 68 стр., *изводи* – 2 стр., *приноси* - 1 стр.; *литература* – 33 стр. Добавените към съдържанието списък на фигурите, на таблиците, както и резюмето са оригинален елемент в структурата на дисертационния труд, които съществено допринасят за по-лесното възприемане на тази обемна разработка. Отлично впечатление прави стегнатият научен стил използван при написването.

Получените резултати са илюстрирани с 49 фигури и 19 таблици. В литературния обзор са представени 3 фигури, в подкрепа на научната информация по разработвания проблем.

3. ЛИТЕРАТУРНА ОСВЕДОМЕНОСТ И ПОСТАНОВКА НА ЦЕЛТА И ЗАДАЧИТЕ

Литературният обзор е конкретен, структуриран е правилно, следвайки логическата обвързаност на информацията, като условно може да бъде разделен на 2 части:

Първата част разглежда в логическа последователност климатичните и релефни особености на най-студения континент - Антарктида, нейните почви и наличната флора и фауна, почвените хабитати на остров Ливингстън, откъдето са взети изследваните в дисертацията проби и акцентът е поставен на микробното биоразнообразие.

Втората част разглежда таксономичното разнообразие на актинобактериите и подходите за тяхната идентификация, биологичната активност на актиномицетите и ролята им в контрола на болести по растенията. Докторантката се е постарала синтезирано да представи научните данни. Прави много добро впечатление отразяването на българския опит в изследване на екстремните хабитати от Антарктида.

Литературата (както в обзора, така и в целия труд) е тясно свързана с дисертационната тема. Трябва да се подчертае, че докторантката е проследила един много широк времеви диапазон от 69 години, с акцент върху публикациите след 2000 година, систематизирайки огромна по обем информация и наличните данни от изследванията на този трудно достъпен ареал. Докторантката може с успех да използва литературната справка за написването на обзорна статия, която би била от интерес за научната общност.

Литературният списък включва внушителния, дори за голяма докторска дисертация брой от 395 заглавия на латиница и 9 на кирилица, което говори за отлична теоретична осведоменост на докторантката. Това е предпоставка за успешна разработка, целяща да се доразвият изследвания, с които лабораториите с ръководител проф. Мончева, проф. И. Иванова и техните колективи са едни от пионерите в изследването на актиномицетите от Антарктида, не само за България. Този опит е основа за едно ново научно предизвикателство, което определя целта на дисертацията:

„Биологична характеристика на актиномицети, изолирани от почви от остров Ливингстън, Антарктика и оценка на техния антагонистичен потенциал по

отношение на фитопатогенни бактерии, причинители на икономически важни болести по растенията“.

За постигането на целта са формулирани 4 експериментални задачи с 6 подзадачи.

4. ОЦЕНКА НА ИЗПОЛЗВАНИТЕ МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Използваният набор от методи е съвременен и адекватен за реализацията на дисертациония труд. Описани са точно и подробно, като изцяло покриват многостранните области на работата: *анализ на почви; изолиране и характеризирание на актиномицети от почвени проби; култивиране и биологична активност на актиномицети, изолиране на тотална ДНК от почвени проби и от актиномицетни щамове, съвременни гентични анализи и видова идентификация на новоизолирани щамове.*

Докторантката е подбрала необходимите хранителни среди, условия и правилните методични подходи за изпълнението на различни задачи. Оптимизирани са някои от работните протоколи за прилагането на утвърдени микробиологични методи, с цел комплексна оценка на този специфичен хабитат. Това е доказателство, за усвояването на много и разнообразни методи, които Марта Енчева успешно е приложила към обектите на изследване - 30 щамове от Антарктически почви.

Докторантката напълно се е съобразила с направените, на вътрешната защита препоръки за стила и структурираното представяне, без излишни подробности, на отделни части в раздел Материали и методи, което много улеснява представянето на резултатите и тяхната дискусия. Напр. отлично са представени (в табл. 6) обектите на изследване – седем почвени проби взети в две последователни години от остров Ливингстън. Отразени са подробно особеностите на ареала за пробовземане, информация, която Марта Енчева използва в последващата дискусия на резултатите.

В. т. 4 „Изолиране на актиномицети“ стегнато са представени 4 експериментални процедури, допълващи класическата схема за анализ на почвени проби. Това способства да бъде оценено по-голямо разнообразие от актиномицети, за целите на дисертацията

Всички това ми позволява да дам висока ценка за отличната подготовка на докторантката, която успява правилно да съчетае многообразие от класически със съвременни методи за целите на дисертацията, и да реши поставените експериментални задачи.

5. ОЦЕНКА НА ПОЛУЧЕНИТЕ РЕЗУЛТАТИ

Извършена е значителна по обем и разнообразна експериментална работа в рамките на комплексно микробиологично и молекулярно-генетично изследване на индустриално значими представители на психрофилните бактерии от слабо проучено местообитание.

Докторантката следва добре структурирана и методично обезпечена експериментална схема от анализ на почвите, през получаването на чисти култури, тяхната идентификация и видово/родово характеризиране до определяне на биологичната активност (синтеза на антимикробни метаболити).

Приложена е съвременната система Biolog за определяне на физиологичния потенциал на събраните почвени проби. Потърсена е връзка между наличието на хумус и физикохимичните параметри на почвата и възможното микробно разнообразие. Т. е. тази първа част от дисертацията не стои самоцелна.

Високо оценявам големия брой от 30 охарактеризирани щама от антарктически почви. Получени са оригинални резултати за ареалите на разпространение на някои видове стрептомицети, които са принос за микробиологията, не само у нас. Използван е оригинален подход за търсене на представители от род *Streptomyces* – директен PCR анализ, използвайки матрица тотална ДНК, изолирана от почвените проби.

Докторантката съчетава PCR анализи с родово-специфични праймери за основни представители на актиномицетите с 16S гДНК-секвенционен анализ и успешно идентифицира 7 щама до вид.

Безспорно значение за молекулярната характеристика на щамовете има използването на ARDRA (*Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis*). Този молекулярен метод е с висока дискриминативна способност, доказана при охарактеризиране на видово и вътревидово разнообразие в царство *Bacteria* и/или групиране на нови изолати.

Добре структурирана е частта по определяне на антимикробния потенциал на щамовете. Марта Енчева систематично прилага скрининг (микробиологичен и генетичен), търсейки продуценти с широк спектър на активност срещу фитопатогени, охарактеризира оказалите активност екстракти от мицела посредством спектрален анализ и завършва с опити ин виво в оригинална моделна система. Резултатите от PCR анализите, доказващи наличието на гени за синтеза на антибиотици от различни групи, са база за подбор на перспективни щамове. Получените резултати са добре

дискутирани и са направени изводи за възможностите за тяхното практическо приложение.

Високо оценявам направеното заключително обобщение. От него ясно личи, че дисертацията представлява обемно съвременно микробиологично изследване и са получени важни резултати с научно и приложно значение.

Направените 11 извода и 4 приноса са логично следствие от цялата разработка и дават обективна информация за стойността на проведените експерименти.

Резултатите от дисертационния труд са представени на 4 научни форума у нас и в чужбина и са публикувани в 4 журнални статии, като три от тях са в списания с ИФ. В тях Марта Енчева-Малинова е първи автор. Макар наскоро публикувани, тези работи вече са цитирани, което заедно с включването им в глава от книга е най-доброто доказателство за тяхната стойност и оригиналност. В допълнение 1 от статиите е отличена с престижната награда на фондация „Стефан Ангелов“ за най-добра работа на млад микробиолог за 2013 г. Резултати от дисертацията, представени в постерната сесия на Първата национална конференция по Биотехнологии, посветена на юбилея 30 години Биотехнологии в България (17-18.10.2014 г., София) донасят на докторантката втора награда за постер.

В заключение искам да подчертая, че материалът е дисертабилен. Темата е актуална, докторантката е усвоила съвременни методи, експериментите са поставени методично правилно, получените резултати са достоверни и са солидна база за следващи научни и приложни разработки. Открояват се оригинални научни и приложни приноси.

Въз основа на гореизложеното уверено мога да заявя, че рецензираният дисертационен труд представлява оригинална научна разработка, с теоретично и приложно значение. Той отговаря на всички условия на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника на СУ „Св. Климент Охридски“.

Всичко това ми дава основание за цялостна висока оценка на дисертационния труд, въз основа на която предлагам на уважаваното научно жури да присъди **образователната и научна степен „Доктор“** на **Марта Енчева-Малинова**, по научната специалност „Микробиология“.

Гр. София

09.03.2016 г.

Рецензент:

(доц. д-р Светла Т. Данова дбн)