

С Т А Н О В И Щ Е

От проф. дбн Севдалин Георгиев, катедра Генетика на БФ при СУ „Кл. Охридски“ - пенсионер. E- mail: georgievs@biofac.uni-sofia.bg

Относно: дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“, по рпрофесионалното направление 4.3, Биологични науки, научната специалност Генетика /01.06.06/ на тема **„Геномно типизиране на пробиотична микрофлора изолирана от натурални продукти“** на **Анита Божидарова Гюрова**

Микроорганизмите са интегрална част от историята и функцията на живота на земята. Приблизително 60% от биомасата на нашата планета се състои от микроорганизми, без които екологичния цикъл на трите важни за съществуването на живота елементи – въглерод , азот и сяра е немислим. По численост те превъзхождат всички други организми на земята. До сега са идентифицирани над 10,000 вида бактерии. Поради тяхното метаболитно разнообразие, те играят съществена роля в естествените процеси като разлагане на веществата и хранителния цикъл. Все повече усилия в световен мащаб се полагат към разработването на молекулярни методи за анализ и геномно типизиране на различни микроорганизми. Голяма част от тези геноми са получени от млечнокисели бактерии, използвани като пробиотици или начални култури при хранителната ферментация.

Дисертационната работа на Анита Божидарова Гюрова е посветена на един актуален и значим фундаментален проблем – генетиката и геномиката, които придобиват все по-голямо значение за развитието на съвременната биологична наука. В настоящия дисертационен труд, докторантката си поставя много важна задача за изолиране и таксономично характеризирание на млечно кисели бактерии, които са традиционни за България естествено ферментирали продукти, така и пчелни продукти, добити в различни екологични региони на страната. В това отношение А. Гюрова, както и нейните ръководители заслужават адмирации за актуалността на темата и най-вече за нейния практически аспект, толкова ценен и необходим за страната ни.

В настоящият дисертационен труд, докторантката се фокусира върху изолирането и таксономичното характеризирание на млечнокисели бактерии, както от традиционни за България, естествено ферментирани продукти, така и от пчелни продукти добити от различни екологични райони на страната. В процеса на проучванията, А. Гюррова колекционира общо 348 изолата, изолирани от различни хранителни продукти, както и от пчели и пчелни продукти за наличие на антимикробна активност, като щамовете с установени с такава наличност, бяха определени таксономично чрез класически и молекулярно-генетични методи. Едни от най-перспективните изолати са анализирани на геномно ниво чрез прилагането на NGS /Next Generation Sequencing/ новогенерационно секвениране. По този начин се осъществява потенциала на млечнокиселите бактерии при продуцирането на бактериоцини, които се явяват като естествени агенти срещу бактериални инфекции.

От научна гледна точка, заслужава да отбележим факта за проведеното от докторантката NGS метагеномно изследване на традиционното българско сирене произведено в с. Черни Вит. **Това се оказва, че е първото по рода си научно проучване на този уникален за страната ни млечен продукт.** Резултатите ясно показват, че българското зелено сирене притежава изключително богат микробиом, както и единствената българска благородна плесен.

Сред отделените геноми на избрани МКБ, изолирани от пчелни продукти, се установява наличие на гени на бактериоцини, които според докторантката е възможно като обяснение за антимикробните свойства на същите. Това намира потвърждение в последващите проучвания на докторантката на щамове от р. *Enterococcus faecium*, при които се установена антибактериална активност срещу патогена на медоносните пчели *Paenibacillus larvae* и един вид се явява като естествена защита на кошерите. Установено е, че тази бактерия причинява заразно, заболяване Американски гнилец, което се характеризира с висока смъртност на пчелните семейства по целия свят и у нас.

Заслужава да отбележим като принос извършеното от докторантката NGS-базирано метагеномно изследване на традиционното българско зелено сирене от с. Черни вит. **Това е първото по рода си научно изследване на**

този уникален млечен продукт поради факта, че до сега няма извършени проучвания на този изключителен български продукт
Удивително е, резултатите показват, че българското зелено сирене притежава изключително богат микробиом, както и единствената българска благородна плесен. Получените данни представляват интерес от научна и преди всичко от практическа гледна точка, не само за връзката на млечнокиселата ферментация и дълголетие на българското население от този регион, но и поради факта, че медоносните пчели са важен биологичен ресурс с голямо икономическо значение за страната ни.

В резултат на проучванията си докторантката установява, че *Enterococcus durans* EDD2, притежава силна инхибиторна активност срещу *Paenibacillus larvae*, което се дължи на продукцията на бактериоцини. Както отбелязва самата докторантка, срещу американския гнилец са необходими *in vivo* допълнителни проучвания.

Определено докторантката под ръководството на двамата ръководители акад. Д. Тончева и доц. С. Димов, е извършила огромна по обем работа: *За първи път в България е извършен ампликон – базиран метагеномен анализ на ферментирал млечен хранителен продукт-чернновитско зелено сирене: За първи път в България са секвенирани геномите на пробиотични за пчелите щамове от род Enterococcus.*

Нямам възражения относно достоверността на направените изводи, макар че някои от тях -1, 2, 3, изискват по-голяма конкретика.

Приемам изцяло направените научни приноси и определено считам, че приноси №1, 3 и 4 имат своя оригинален характер.

Съдържанието на представения автореферат кореспондира напълно с дисертационния труд.

Най-съществените резултати от дисертациата са отразени в 5 научни публикации. Във една от тях докторантката /1/, е водещ автор.

Заключение: Като имам предвид цялостната оценка на дисертационния труд, научната значимост на получените резултати, актуалността на тематиката, съвременната методична подготовка на изследванията, които са особено важни и полезни за генетиката и геномиката, попределено считам, че Анита Божидарова Гюрова напълно отговаря на изискванията на

Закона за развитието на академичния състав в Република България. **Въз основа на това оценката ми е положителна и напълно убедително препоръчва на почитаемото научно жури да гласува за присъждане образователната и научна степен „Доктор“ по професионалното направление : „Биологически науки“, шифър 4.3, Научна специалност „Генетика“ 01.06.06, на зодочния докторант Анита Божидарова Гюрова.**

20. 03. 2023г.

проф. дбн С. Георгиев

Гр. София

/