

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Михаил Владимиров Илиев – катедра “Обща и Промислена микробиология” при Биологически факултет на СУ “Св. Климент Охридски”

относно: дисертационния труд на докторант Анита Божидарова Гюрова на тема *“Геномно типизиране на пробиотичната микрофлора, изолирана от натурални продукти”*

1. Общо описание на представените материали

С решение на членовете на Научното жури, сформирано със заповед № ? на Ректора на Софийски университет “Св. Кл. Охридски” за получаване на образователната и научна степен „доктор” съм определен за председател на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема *“Геномно типизиране на пробиотичната микрофлора, изолирана от натурални продукти”* в област на висше образование “Природни науки, математика и информатика”, професионално направление “Биологически науки”, шифър 4.3, научна специалност “Генетика-Бактериална генетика и молекулно клониране”. Автор на дисертационния труд е докторант Анита Гюрова с научни ръководители доц. д-р Светослав Димов (БФ, СУ) и акад. Драга Тончева (МУ, София).

Представеният от докторант Анита Гюрова комплект материали **е в съответствие с изискванията** на ЗРАСРБ, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на СУ за прилагане на ЗРАСРБ.

2. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Интердисциплинарният характер на представения ми за становище дисертационен труд е отражение на актуалните глобални тенденции, свързани с осъществяване на хранителен подбор и контрол, като същевременно удачно е фокусиран върху изследвания включващи функционални храни, които са трайно заложени в хранителните навици на българското население – кисели млека, сирена, колбаси, ферментирани зеленчуци и закваски за теста, както и традиционното за страната ни пчеларство. Ограниченията породени от класическите културални методи за изолиране, култивиране

и изследване рефлектират негативно върху обема на познанието относно ангажирания микробен диверситет. Успешното имплементиране на класическа микробиологична методология с използване на съвременни биоинформатични и молекулярни методи за анализ и геномно типизиране на млечнокиселата микробиота в традиционни за страната ни хранителни продукти и в пчелни продукти е основния атестат за актуалност на тематиката. В тази връзка, във фокуса на изследванията, осъществени от докторант Анита Гюрова, есествено попада идентифицирането на бактериоцин-продуциращи ентерококови щамове, притежаващи потенциал да инхибират растежа на причинителя на заболяването американски гнилец, както и щамове притежаващи пробиотичен потенциал. С оглед на оскъдната към момента информация, относно изолирани от пчели и пчелни продукти представители на род *Enterococcus*, настоящият дисертационен труд представлява сериозна заявка за попълване на научното познание в тази насока.

Целта на дисертационния труд е ясна, но твърде мащабно формулирана за рамките на дисертационен труд за придобиване на ОНС „доктор”, което е предопределило и формулирането на твърде много изследователски задачи.

3. Познаване на проблема

Литературната справка, направена от докторантката, се базира на 452 литературни източника, което я прави изчерпателна и достатъчно информативна. Начинът на оформяне на литературния обзор и аналитичното представяне на информацията, особено в частта свързана с молекулярно-генетичните подходи за изследване на млечнокисели бактерии, показват че Анита Гюрова е запозната в детайли с разработвания проблем.

4. Методика на изследването

Всички използвани за реализирането на дисертационния труд материали и методи на изследване са прецизно описани. Експерименталната схема е базирана върху изключително обемна микробна колекция, включваща 368 щама млечнокисели бактерии, изолирани в хода на разработката от 31 целеви продукта. Адекватно са подбрани микробиологични методи и техники, както и техники за скрининг на колекцията за подбор на изолати, показващи изявен пробиотичен потенциал. Условиата за провеждане на отделните етапи от метагеномните изследвания, използваните софтуерни продукти, прилаганите процедури за набогатяване, изолиране и култивиране на млечнокисели бактерии са представени по начин, който позволява възпроизводимост и коректност на получените резултати. Цялостната експериментална схема е правилно

структурирана, отделните етапи на изследването са подредени в логична последователност, което е предпоставка за успешна реализация на поставената цел. Докторантката е описала и усвоила широк спектър от класически и съвременни микробиологични и молекулярни методи, което показва, че образователната компонента на докторантурата е успешно реализирана.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Дисертационният труд е структуриран по официално възприетия начин, включвайки разделите Въведение, Литературен обзор, Материали и методи, Резултати, Обсъждане, Заключение, Изводи, Приноси и Използвана литература. Считаю, че отделните раздели на дисертацията са в оптимални обеми и оптимални съотношения помежду си.

Въведението, в изчистен вид, изтъква и основният изследователски акцент, свързан с необходимостта от проучвания върху лактобацилната компонента и възможностите, свързани с нейният биотехнологичен потенциал.

Литературният обзор е достатъчно информативен. Отразен е актуалния таксономичен статус на целевите микроорганизми и участието им във ферментативни процеси в различен тип храни. Направена е отлична справка, касаеща антибактериалния потенциал с акцент върху генетичната организация на съответните детерминанти. Единствената ми забележка към този раздел от дисертационния труд касае т. *Молекулярно-генетични методи за изследване на млечнокисели бактерии*, а именно: описанието на представения методологичен арсенал би могло успешно да бъде допълнено с повече данни от конкретни проучвания, свързани с лактобацилите, в които са ангажирани дискутираните опции.

Разделът Материали и методи изпълнява функцията си, като е достатъчно информативен и добре структуриран.

В разделите Резултати и Обсъждане са описани и дискутирани резултатите от проведените експерименти в логична последователност. Основната тежест на работата, определяща реализирането на нейната крайна цел, стъпва върху първоначалната изолационна кампания, която е впечатляваща по обем и заслужава признание. Само благодарение на адекватно приложената схема за предварително типизиране в началото на експерименталната работа е възможно последващото молекулярно и фенотипно охарактеризиране на целево подбрани щамове. Кулминационен момент за положените

усилия в частта на разработката, касаеща микробните изолати от пчели е подбора на щам *Enterococcus durans* EDD2 и характеризирането на продуцираните от него бактериоцини, проявяващи изразена активност срещу *Paenibacillus larvae* посредством биоинформатичен анализ на геномната му последователност. Скрининга за наличие на генетични детерминанти в друг изолат от същата група – *Enterococcus faecium* EFD, осъществен след целогеномно секвениране, също представлява интерес и допринася за научната тежест на разработката. На практика, това се явява и първото по рода си изследване на изолиран от пчелни кошери бактериален изолат с ценни свойства, включващо целогеномно секвениране.

Частта от дисертацията касаеща микробните изолати от целевите хранителни продукти е със значителен обем и съществена научна стойност. В тази част, проведените метагеноми изследвания, разкриващи реалния микробен диверситет на микробиологичната компонента също имат пионерен характер, обусловен от ендемичния произход на обследваните продукти и спецификите, свързани с тяхното приготвяне.

Резултатите, в тяхната си цялост, категорично потвърждават нарастващия потенциал на целогеномното секвениране за характеризиране на нови микробни изолати, притежаващи ценни пробиотични свойства.

Приемам напълно броя и съдържанието на изведените изводи и приноси.

6. Оценка на публикациите по дисертационния труд

Във връзка с дисертационния труд са представени пет научни публикации. Четири от тях са в изключително реномирани списания (една публикация в списание с Q1, три публикации в списания с Q2). Резултатите са десиминирани в списания, чиито фокус, покрива напълно разработваната тематика и са гарант за тяхното адекватно разпространение в научните среди.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които отговарят на всички изисквания по ЗРАСРД, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на СУ за прилагане на ЗРАСРБ. Дисертационният труд показва, че докторант Анита Божидарова Гюрова притежава теоретични знания и професионални

умения по научна специалност “Генетика – Бактериална генетика и молекулно клониране”.

Поради гореизложеното, **убедено давам своята положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“ на **Анита Божидарова Гюрова** в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки.

Изготвил становището:.....

(доц. д-р Михаил Илиев)

12. 01. 2023 г.