

## РЕЦЕНЗИЯ

**От доц. д-р Благвеста Тодорова Гочева,**  
Биологически факултет на СУ "Св. Климент Охридски"  
на дисертационен труд за получаване на образователна и научна степен "доктор" в  
професионално направление 4.3. Биологични науки (Микробиология)  
**Автор на дисертационния труд: Николай Славчев Баджинеров**  
**Тема на дисертационния труд: "БИОКОНТРОЛ НА ФИТОПАТОГЕННИ**  
**БАКТЕРИИ"**

### **1. Лична информация за докторанта**

Николай Баджинеров е роден през 1980 г. в Смолян. Висшето си образование завършва през 2005 г. като магистър по "Микробиология и микробиологичен контрол" в Биологическия факултет на Софийския университет "Св. Кл. Охридски". От 2006 до 2009 г. е редовен докторант към катедра "Обща и промишлена микробиология" в Биологическия факултет на СУ "Св. Кл. Охридски". От 2009 г. е работил последователно като търговски представител към МилиХром, Джонсън & Джонсън, медицински представител към Алкон България, а понастоящем е старши медицински професионален представител към Новартис Фарма Сървисис. През студентския и докторантския си период е провел 2 специализации в Университета в Гент – Белгия по програма Еразъм и по интензивна програма Сократ, участвал е в 2 обучителни курса (единият от които в Италия) и е получил 1 награда от представяне на научна конференция.

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

Основно направление в растителната защита е регулиране на разпространението и контрола на болестите по културните растения, причинени от различни патогени, което води до огромни загуби на селскостопанска продукция. През последните 100 години в практиката за борба с вредителите се разчита главно на пестициди, но тяхната свръхупотреба или неправилно прилагане доведе до нежелани ефекти върху околната среда. Това наложи да се търсят нови алтернативни подходи за превенция и контрол на заболяванията по растенията. Усилията на изследователите са насочени към т.н. "биологичен контрол", който се основава на използването на екологични естествени ресурси. В това отношение изключително много се разчита на микроорганизмите и сред тях по-специално на актинобактериите, заради неограничената им способност да продуцират широк набор от биологично-активни вещества с различна природа, активни срещу фитопатогените.

В смисъла на казаното до тук, оценявам високо стойността на разработената теза в дисертационния труд на Николай Баджинеров като актуална и значима, третираща

проблем, представляващ сериозен интерес, с реален потенциал за практическо приложение.

### **3. Оценка на структурата на дисертационния труд**

Дисертационният труд е структуриран правилно по общоприетия модел и съдържа 7 раздела, като са спазени препоръчителните оптимални съотношения между тях: Увод (2 с.), Литературен обзор (33 с.), Материали и методи (29 с.), Резултати и обсъждане (52 с.), Изводи (2 с.), Приноси (1 с.) и Литературна справка на 25 с. Общият му обем е 136 стандартни А4 формат страници.

#### **3.1. Литературен обзор**

В него се разкрива осведомеността и теоретичните познания на докторанта по темата. Представена е обстоятелствена информация за биологичния контрол на болестите по растенията. Във връзка с това са разгледани различните типове взаимодействия между организмите, индукцията на регулаторните (в т.ч. *Quorum sensing*) и защитни механизми за устойчивост при растенията. Специално внимание е отделено на актинобактериите като стратегически природни източници на биологичноактивни вещества, които могат да се използват в растителната защита при търсенето на нови подходи за биологичен контрол. Счита се, че обзорът, базиран на 272 източника, 32.35% от които са от последните 10 години, е целенасочен и достатъчно изчерпателен. Той завършва с добре изложена и логична аргументация за поставената цел и е сполучлив преход към следващите раздели.

#### **3.2. Цел и задачи**

Целта е ясно формулирана, както и логично произтичащите от нея 6 конкретни задачи (две от които с подзадачи), поставени за решаване от докторанта. Задачите са добре дефинирани и достатъчно обхватни за постигането на целта.

#### **3.3. Материали и методи**

В раздела прецизно са описани използваните в работата материали и подбраните класически и съвременни микробиологични, молекулярни и химични методи. Подробно са представени изследваните актиномицетни, тест-бактериални и фитопатогенни щамове; използваните хранителни среди, култивационни и следферментационни методи за обработка с цел извличане на антибиотичните вещества, както и подходите за началното им охарактеризиране и по-нататъшно изпитване на антибактериалния ефект в условия *in vivo*. Описани са също приложените класически и молекулярни таксономични схеми за характеризирането на актиномицетните щамове. Всичко това изисква сериозна теоретична подготовка, както и практически умения, които докторантът очевидно притежава. Методите са

адекватни на поставените задачи и позволяват получаването на информация, която да послужи като основа за анализи и сравнения.

#### **3.4. Резултати и обсъждане**

В този раздел е представен и обобщен експерименталния материал, разработен последователно и методично, следвайки реда на поставените задачи и тяхната реализация. Цялостното ми впечатление е за едно добре обмислено, организирано и завършено научно изследване, което в някои отношения надхвърля очакваните от докторант по микробиология компетентности. Към достоинства на дисертационния труд трябва да се добави много доброто оформление и стегнатия научен стил, на който е написан. Илюстративният материал коректно отразява експерименталните данни. Той включва 32 отлично оформени фигури и 21 таблици.

Скринирани са 18 актиномицетни щама, изолирани от различни местообитания, в т.ч. 9 щама от Антарктида за потенциала им да продуцират антибактериални вещества. След началния скрининг, проведен с тест *B. subtilis*, показалият положителен резултат 11 щама, са тествани допълнително срещу най-често срещаните фитопатогени по растителни видове от сем. *Solanaceae*. Не е наблюдавана съществена разлика в акумулирането на антибактериалните вещества вътре и извънклетъчно. С най-висока активност и широк спектър на действие се отличават 3 от антарктическите изолати, което е основание те да бъдат избрани за по-нататъшни изследвания. Изключително интересни са изследванията, посветени на изясняване механизма на инхибиране растежа на фитопатогените. Докторантът установява, че стрептомицетните щамове не синтезират хомосерин лактон-разграждащи ензими, потискащи функционирането на *Quorum sensing* регулаторния механизъм на изследваните тест-патогенни фитобактерии. Това е повод за обстоен анализ на литературните данни и логичното заключение, че в случая най-вероятно функционира друг механизъм на инхибиране, свързан с антибактериалните вещества, които продуцират трите антарктически щама.

Сериозна част от работата представлява направената таксономична характеристика на трите перспективни щама чрез класически фенотипен подход, разширен и потвърден с молекулни методи (секвениране на гена за 16S рРНК, получен чрез амплификация с двойка универсални праймери). Сравняването на последователността на нуклеотидите от секвенирания участък от 16S рРНК на анализиранияте щамове с наличната база данни в електронния сайт за сравняване на секвенции, потвърждава принадлежността им към род *Streptomyces*. Те, обаче, остават с неизяснена видова принадлежност. Авторът не изключва възможността да се касае за нови видове, още

повече като се има предвид произхода им, което изисква допълнителни изследвания с биохимични тестове и молекулярни анализи.

По-нататък в работата си докторантът насочва вниманието си към подбор на подходяща хранителна среда за биосинтеза на антибактериални вещества от двата най-активни щама. Чрез методите на математическо планиране на експеримента (пълнен факторен експеримент), хранителната среда 1 е оптимизирана по два фактора (източници на C и N) и са установени оптималните им концентрации.

Чрез уместно подбрани подходящи методи, активните антибиотични вещества са извлечени, частично пречистени и начално охарактеризирани. Установено е, че те са термостабилни комплекси, съдържащи различен брой фракции, като само някои от тях (при щам *Streptomyces* sp. 47) са определящи за антибактериалното действие на щама. Началната идентификация на основните функционални групи в най-активната фракция (C) е извършена с инфрачервена спектроскопия. Получените резултати дават основание да се предполага наличие в комплекса на ароматни структури с поликетидна природа от тип II. Разработените лабораторни процедури за получаване на антибактериални комплекси от двата щама, са съобразени с изискванията за степен на пречистване на препарати, използвани в растителната защита и напълно основателно се определят като принос. В условия *in vivo*, при третиране на заразени семена от домати и пипер, е потвърден антибактериалният ефект на препаратите от двата щама срещу фитопатогенните тест-бактерии. Искам да отбележа, че получените резултати са сполучливо анализирани и обобщени. Докторантът ги е дискутирал компетентно в сравнителен аспект с наличните данни от литературата и в голямата си част те представляват фундаментален интерес и добра основа за по-нататъшна разработка в търсенето на нови подходи за биологичен контрол на болестите по растенията.

### **3.5. Изводи**

Изводите (9 на брой) съответстват на поставените задачи, направени са логично и следват от получените резултати. Те са добре формулирани и отразяват стойността на проведените експерименти.

### **3.6. Справка за приносите**

Подкрепям и приемам справката за приносите в дисертационния труд. Те са сериозно обмислени и в голяма степен оригинални. Искам да подчертая, че принос 2 е с теоретично-научна стойност, а останалите два са с научно-приложен характер. Разработена е подходяща и оригинална лабораторна процедура за извличане и частично пречистване на синтезираните активни вещества в културалните течности на двата стрептомицетни антарктически щама. Тя гарантира получаването на продукти с

доказана антибактериална активност срещу тестваните фитопатогенни бактерии, причиняващи болести по растенията от сем. *Solanaceae*. Направен е сполучлив опит частично пречистените антибиотични комплекси да бъдат първоначално охарактеризирани. Получената информация би била изключително полезна при по-нататъшни изследвания. Разработена и успешно експериментирана е процедура за приложение на антибактериалните продукти в условия *in vivo* за обеззаразяване на домати и пиперени семена от фитопатогенни бактерии, които се разпространяват от тях и причиняват заболявания по растенията. Обнадеждаващите резултати дават основание да се приеме, че те притежават потенциал да бъдат успешни агенти в биологичния контрол на болестите, причинени от фитопатогени.

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

Г-н Баджинеров е взел лично участие в реализирането на всички изследвания, проведени в настоящата работа. Анализирането и обобщаването на получените резултати е извършено от него под ръководството на научните му ръководители: проф. д-р Пенка Мончева и проф. д-р Невена Богацевска, които са признати учени в областта на фитобактериологията у нас и в чужбина.

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

Голяма част от забележките по същество, както и препоръките бяха посочени от мен в предварителната рецензия. С удоволствие констатирам, че докторантът се е съобразил с тях и ги е взел под внимание при оформянето на окончателния вариант на дисертационния си труд.

Към докторанта имам следните въпроси:

- 1.** Считате ли, че извършеният от вас скрининг на актиномицетите за наличие на гени, отговорни за синтезата на изследваните ензими е достатъчен, за да се допусне, че те не притежават потенциал да въздействат върху *Quorum sensing* на фитопатогенните бактерии?
- 2.** Какво е необходимо да се направи за последваща успешна видова идентификация на трите антарктически стрептомицетни щамове?
- 3.** Използваните от вас подходи за начално характеризиране на антибактериалните вещества от двата щамове са сходни. Това предполага ли, че веществата са структурно еднакви или най-малкото подобни?
- 4.** Какво бихте предложили за реализацията на антибактериалните комплекси, получени от вашите щамове в биологичния контрол на фитопатогените?

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

Част от резултатите убедително са представени в 5 научни публикации, като Баджинеров е първи автор в 3 от тях. За отбелязване е, че са открити 5 цитирания в базата данни, което свидетелства, че резултатите от разработката са получили и международно признание. Докторантът е взел участие в 3 научни форума у нас, както и в 3 научни проекта (един към МОН и 2 към СУ). Последното е свидетелство за възможностите му за научно-изследователска дейност и работа в екип.

## **6. Автореферат**

Авторефератът е изготвен по съкратен модел на дисертацията, с обем 62 страници. Той отразява адекватно съдържанието ѝ и е съобразен с изискванията.

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

Докторантът Николай Баджинеров е изграден и конкурентно способен млад учен, придобил умения и компетентност в различни сфери: да работи с научна литература, да анализира и обобщава данни, да анализира научните факти и да прави изводи, както и да откроява приноси на база получените от него резултати. Той е разширил своята теоретична компетентност и е надградил значително методичната си подготовка чрез усвояването и прилагането в работата си на разнообразни и съвременни техники и подходи. Г-н Баджинеров притежава необходимите компетентност и умения, покриващи изискванията на образователната и научна степен "доктор".

## **8. Заключение**

Представеният дисертационен труд на Николай Баджинеров е добре замислено и проведено научно изследване. Материалът е дисертабилен, темата е интересна и актуална, получени са достатъчно доказателства в полза на изходната хипотеза, които са база за следващи разработки. Изведени са оригинални научни и приложни приноси.

Въз основа на гореизложеното и като имам предвид Правилника за приложение на Закона за развитие на академичния състав в Република България, считам че работата отговаря напълно на изискванията за докторска дисертация, оценявам я положително и препоръчвам на членовете на научното жури, сформирано със заповед No РД 38-345/01.06.2017 г. на Ректора на СУ "Св. Кл. Охридски" да присъди образователната и научна степен "доктор" по професионално направление 4.3. Биологични науки, научна специалност Микробиология на г-н Николай Славчев Баджинеров.

04.07.2017 г.

София

Рецензент:

(доц. д-р Благовеста Гочева)