

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд на тема:

**„БИОРАЗНООБРАЗИЕ ОТ МЛЕЧНОКИСЕЛИ БАКТЕРИИ В ЛЕЧЕБНИ
РАСТЕНИЯ И ВЪЗМОЖНОСТИ ЗА ИЗПОЛЗВАНЕ НА БИОЛОГИЧНИЯ ИМ
ПОТЕНЦИАЛ“**

за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“, в област 4:

**Природни науки, математика и информатика;
професионално направление 4.3: Биологически науки
(научна специалност Микробиология)**

на редовен докторант Цветанка Генчева Тенева-Ангелова

Научен ръководител: доц. д-р Дора Бешкова

**Рецензент: доц. д-р Светла Трифонова Данова, дбн
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, млечнокиселите бактерии. В последното десетилетие те са във фокуса на научните търсения, както на микробиолози, така и на биотехнолози и фармацевти. Причината е уникалната им метаболитна и биологична активност и все по-ясно дозаваната им роля в осигуряването на здравословния хомеостаз в човешкия микробиом. Ферментационно – приготвените продукти, с участие на млечнокисели бактерии са постоянно-растящ сегмент на пазара за здравословни и естествено-защитени храни, със здравни ползи за консуматорите. Всичко това ми дава основание да оценя като актуална представената научна разработка, с потенциал за научни постижения, които да имат бърза практическа реализация. В допълнение етерично-маслените лечебните растения са сравнително малко проучени, като хабитат за развитие на млечнокиселите бактерии и получените резултати допълват знанието за биоразнообразието и разпространение на тази микробна група.

2. ОБЕМ И СТРУКТУРА НА ДИСЕРТАЦИЯТА

Дисертацията е изложена на 189 стандартни страници текст. Спазена е общоприетата схема и препоръчителните съотношения между отделните части на труда, както следва: *Въведение* – 2 стр., *Литературен обзор* - 38 стр., *Цел и задачи* – 2

стр., *Материали и методи* – 13 стр., *Резултати и обсъждане* – 78 стр. и *Заклучение* -2 стр., *Изводи* – 3 стр., *Приноси* - 1 стр.; *Литература* – 30 стр. Включено е Приложение - 4 стр., в което е представено допълнително направено графично обобщение на резултатите, получени в изпълнение на 4^{та} експериментална задача . Отлично впечатление прави стегнатиият научен стил използван при написването и подредбата на дисертацията.

Получените резултати са илюстрирани с 33 фигури и 16 таблици. Отлично впечатление правят цветните фигури и цялостното техническо оформление на дисертацията.

В литературния обзор са представени 3 фигури, в подкрепа на научната информация по разработвания проблем. Добавен е списък на всички фигури и таблици което допринася за по-лесното възприятие на тази обемна разработка.

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 3 части:

Първата част разглежда в логическа последователност таксономия, обща характеристика и класификация, метаболизъм на млечнокисели бактерии и подходи за тяхното изолиране и идентифициране, като акцентът е поставен на подходите за охарактеризиране на микробното биоразнообразие.

Втората част разглежда традиционните и алтернативни източници за изолиране на МКБ, както и съвремените подходи за идентифицирането им. Докторантката се е постарала синтезирано да представи научните данни, но бих препоръчала да отбележи още тук в теоритичната част значението на полифазната таксономия, като подход в изследването на по-слабо проучени хабитати. Още повече, че в работата именно този подход е избран и приложен за оценка биоразнообразието на млечнокисели бактерии от лечебни растения.

Третата част е посветена на лечебните растения, представители на родовете *Salvia*, *Geranium*, *Panax*, *Hypericum* и техните биологично-активни вещества. Като обединяваща с предходните глави е последната точка от раздела разискваща „Потенциала на млечнокисели бактерии от растителни източници за създаване на храни със здравословен ефект“.Така докторантката не само очертава рамката на една интердисциплинарна научна разработка, но и логически довежда до целта на

дисертационния труд: “Изследване на биоразнообразието от млечнокисели бактерии в медицинските растения *Geranium sanguineum* L., *Hypericum perforatum* L., *Panax ginseng* C. A. Meyer, *Salvia officinalis* L., *Salvia ringens* Sibth. & Sm., *Salvia blepharophylla* Brandegeе ex Epling, *Salvia scabiosifolia* Lam. и *Salvia tomentosa* Mill и оценка на биологичния потенциал на млечнокиселите бактерии”.

За изпълнението на тази цел са поставени 5 експериментални задачи с 5 подзадачи към тях. Те са ясно формулирани и очертават една интердисциплинарна разработка.

Литературата (както в обзора, така и в целия труд) е тясно свързана с темата на дисертационния труд. Литературният списък включва внушителния, дори за голяма докторска дисертация брой от 271 заглавия, всички на латиница. Те са основно от последните 10 години. Това говори за отлична теоретична осведоменост на докторантката и познаване историята на изследванията на млечнокисели бактерии с цел намиране на ново научно предизвикателство.

Високо оценявам идеята да се проучва биоразнообразието на млечнокисели бактерии от лечебни растения и екстракти от тях, което освен, че има научно значение е с потенциал за последващо приложение.

4. ОЦЕНКА НА ИЗПОЛЗВАНИТЕ МЕТОДИ И МАТЕРИАЛИ

Използваният набор от методи е съвременен и адекватен за реализацията на дисертационния труд. Описани са точно и подробно, като изцяло покриват многостранните области на работата: от класическите до модерните микробиологични изследвания, включващи изолиране и начално охарактеризиране на чисти микробни култури, изолиране на тотална ДНК от МКБ, съвременни гентични анализи и видова идентификация на новоизолирани щамове, както и получаване на растителни екстракти с анализ на биологично активни вещества чрез високоефективна течна хроматография (HPLC) и последваща оценка на биологичния/технологичен потенциал на екстрактите и на новоизолирани млечнокисели бактерии.

Докторантката е подбрала селективни хранителни среди, условия и правилните методични подходи за изпълнението на различните задачи. Оптимизирани са някои от работните протоколи за прилагането на утвърдени микробиологични методи, с цел комплексна оценка на този специфичен хабитат. Прави впечатление големия набор от модерни молекулярни методи – генетични и биохимични, приложени в изследването на една много голяма и разнообразна група микроорганизми, от 4 рода млечнокисели

бактерии и в оценката на растителни екстракти от *Geranium sanguineum* L., *Hypericum perforatum* L., *Panax ginseng* C.A.Meyer, *Salvia officinalis* L.

Това е доказателство, за усвояването на много и разнообразни методи, които Цветанка Тенева-Ангелова успешно е приложила към обектите на изследване – 154 щамa млeчнокисели бактерии изолирани от различни лечебни растения.

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

5. ОЦЕНКА НА ПОЛУЧЕНИТЕ РЕЗУЛТАТИ

Извършена е огромна по обем и разнообразна експериментална работа в рамките на комплексно микробиологично и молекулярно-генетично изследване на млeчнокисели бактерии от непроучен, в този аспект, у нас източник- лечебни растения от видовете *Geranium sanguineum* L., *Hypericum perforatum* L., *P. ginseng* C.A.Meyer, *Salvia officinalis* L. Докторантката следва добре структурирана, оригинална и правилно методично - обезпечена експериментална схема, търсейки млeчнокисели бактерии както от цветовете, така от стъблото и листата. Като в първите етапи от изпълнението на експерименталните задачи тя получава 1200 микробни култури , от които селектира 712 бактериални изолата сред които успешно характеризира 154 щамa МКБ. Благодарение на въведената оригинална система за номериране, ясно могат да бъдат разграничени по произход отделните изолати.

Докторантката съчетава умело основните микробиологични подходи, със съвременни молекулярно-генетични методи за идентификация на новоизолираните бактерии. Оценявам високо работата на докторантката по идентифициране на голям брой МКБ, в съответствие с изискванията на полифазната таксономия. Приложен е и златният стандарт в бактериалната таксономия - 16S rДНК-секвенционен анализ. Като резултат успешно са идентифицирани 57 щамa до вид и е създадена богата колекция от млeчнокисели бактерии, представители на 4 различни рода. Всичките секвенции са депозирани в NCBI-GenBank. Получените резултатите са обобщени, анализирани и дискутирани в светлината на публикуваните данни от последните години, което също доказва техния оригинален характер. В допълнение са изследвани температурния, pH диапазон и халотолерантността на растителните млeчнокисели бактерии, сравнени с тези на изолирани от млечни продукти култури. Характеризирана е продукцията на D/L

изомери на млечната киселина сред идентифицираните МКБ, важно както в таксономичен така и в технологичен аспект. Затова бих препоръчала, малко по-смело да бъдат посочени безспорно оригиналните приноси на разработката, по оценката биоразнообразието на този специфичен хабитат.

Същият аналитичен подход е използван при сравнителното охарактеризиране на растителните екстракти от лечебните растения *Geranium sanguineum* L., *Hypericum perforatum* L., *Panax ginseng* C.A.Meyer, *Salvia officinalis* L. Докторантката прилага оригинален протокол за получаване на екстракти и оценява полифенолните им профили и биологична им активност. Интересни са данните за тяхната анти-оксидантна активност, което е в унисон с модерните изследвания в търсенето на биологично-активни молекули и субстанции с естествен произход. Тази част от дисертацията не стои самоцелно, защото е оценен ефектът на получените растителни екстракти върху новоизолираните и идентифицирани млечнокисели бактерии. По този начин се цели правилен подбор на щамове млечнокисели бактерии, които са подходящи за култивиране в присъствие на растителни екстракти и /или при *in situ* култивиране в мляко. Високо оценявам както идеята така и обемът от изследвания проведен по изпълнението на тази задача и в целия труд.

Работата завършва с кратко заключително обобщение, от което ясно личи, че дисертацията представлява обемно съвременно микробиологично изследване и са получени важни резултати с научно и приложно значение. Това заключение логически води към направените 9 извода и 6 приноса. Те точно обобщават получените резултати и са добре формулирани. Бих препоръчала в изводите да не присъстват конкретните цифрови данни (така както е при изводи 6 и 7), а само обобщението направено на тяхна база. Приносите са както с оригинален така и с потвърдителен характер, но докторантката ги представя в един общ списък. Те още веднъж коректно обобщават най-важните резултати от цялостната работа.

Резултатите от дисертационния труд са представени на 9 научни форума у нас и в чужбина и са публикувани в 4 журнални статии, като три от тях са в международни рефериращи се списания, включително и с импакт фактор. В тях Цветанка Ангелова е първи автор, което заедно с включването им в глава от книга е най-доброто доказателство за научната стойност и оригиналност на изследванията.

От представените дисертация и автобиография ясно личи, че докторантката е натрупала опит и знания за решаване на различни задачи от областта на съвременната микробиология. При прегледа на дисертационния труд съм направила някои

технически бележки, с които Цветанка се е съобразила. Със задоволство искам да отбележа още веднъж културата на писане като стил и граматика. Критичните бележки, които имам към дисертационния труд бяха обсъдени и отстранени своевременно в хода на процедурата по защита.

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. Той отговаря на всички условия на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника на Институт по микробиология „Стефан Ангелов“ - БАН.

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 **Цветанка Тенева-Ангелова**, в област 4: *Природни науки, математика и информатика*; професионално направление 4.3: *Биологически науки* (научна специалност Микробиология).

Гр. София

Рецензент:.....

28.03.2018 г.

(доц. д-р Светла Т. Данова дбн.)