

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационния труд на Катя Цветанова Стоянова

**на тема: БИОДЕГРАДАЦИЯ НА АРОМАТНИ И ПОЛИАРОМАТНИ
ЗАМЪРСИТЕЛИ НА ОКОЛНАТА СРЕДА ОТ ПЛЕСЕНИ, ИЗОЛИРАНИ ОТ
АНТАРКТИЧЕСКИ ПОЧВИ**

представен за защита пред научно жури, сформирано със заповед № I-101/21.12.2018 на Директора на Институт по микробиология „Стефан Ангелов“ при БАН за получаване на образователната и научна степен “доктор” по професионално направление 4.3. Биологични науки (микробиология)

Рецензент: доц. д-р Пенка Петрова

В съвременното развито индустриално общество, проблемите със замърсяването на околната среда далеч надхвърлят рамките на определена държава или дори континент. И затова вече няма защо да бъдем изненадани, че местообитания като ледовете на Антартида биха могли да са източник за изолиране на уникални щамове микроорганизми с биодеградационен потенциал. Разработването на теми, свързани с пречистването на индустриални отпадни води е особено актуално. Търсят се нови и ефективни пътища за отстраняване или намаляване на негативния ефект от токсичните замърсявания, чийто източник са различни отрасли на промишлеността. Биодеградацията, особено базираната на микроорганизми, е най-предпочитания процес за отстраняване на токсичните съединения поради доказаната си безвредност, ефикасност и икономичност при отстраняване на различни видове замърсители. Откриването и характеризирането на нови микробни деграданти, способни да метаболизират вредни за здравето на хората и другите живи организми вещества в различни климатични или технологични условия, е в основата на създаването на съвременни еко-биотехнологични схеми. В този контекст, дисертационната разработка на Катя Стоянова е сериозно изследване, посветено на важен за науката и практиката въпрос.

Представеният дисертационен труд е написан на 180 страници и е структуриран традиционно, включвайки задължителните раздели – Литературен

обзор, Материали и методи, Резултати и обсъждане, Изводи и Приноси. Разработката е богато онагледена със 7 таблици и 95 фигури с много добро качество. Литературната справка се състои от 498 източника, от които 7 на кирилица, а 491 - на латиница. В цитираната литература са включени източници както от учебна литература, така и най-новите публикации по темата, сред които публикации на научния ръководител и колеги от секция «Микробна генетика» на ИМикБ.

Уводът дава базова характеристика на разработваната проблематика, включва последни данни за замърсяването с петролни продукти в Европа, съществена част от което съставляват ароматни съединения и обосновава значимостта и актуалността на изследванията в областта на микробната деградация на токсични химични вещества.

Литературният обзор включва изчерпателна информация за структурата, влиянието върху околната среда, източниците на замърсяване и подходите за разграждане на монофеноли и полиароматни съединения. Централно внимание е отделено на постиженията в областта на микробната деградация и усвояване на такива вещества. Дава се подробна информация за ензимният потенциал на различни микробни таксони, както и характеристики на ключови за ароматния катаболизъм ензими. Наред с това са представени новите насоки в развитието на изследванията на разграждането на ароматни съединения, а именно идентифициране и характеризирание на катаболитни гени, включени в биодegradацията на тези замърсители. Литературният обзор е написан подробно и с пълно познаване на литературните източници свързани с темата.

Целта е формулирана ясно, а следващите от нея 4 задачи характеризират изпълнените експериментални модули.

Глава „Материали и методи“ съчетава утвърдени химични, микробиологични и биохимични анализи с газово-хроматографски и мас-спектрален анализ и методи, прилагани в областта на съвременната молекулярна биология. Използването на всички описани методи за разработката на настоящата дисертация характеризира докторантката като високо квалифициран експериментатор с мултидисциплинарен арсенал за изследователска дейност.

В глава “Резултати” са представени последователно получените експериментални данни, съобразно поставените задачи. Като цяло, резултатите са нови, актуални и значими.

Проведени са многобройни биодеградационни експерименти, които достоверно доказват способността на избраните за изследването щамове гъби да разграждат както монофеноли, така и нискомолекулни полиароматни съединения. Едни от най-интересните резултати в настоящия дисертационен труд са в следствие на експериментите за биодеграцията при ниската температура - 10°C. Характеризиран е деградационния потенциал на 4 щамове, способни да се развиват и разграждат ароматни съединения в при тази температура, което определено би имало биотехнологично и екологично значение.

Важен етап в работата са газ-хроматографските анализи, комбинирани с мас-спектроскопия и разкриващи спектъра от междинни метаболити. Те дават възможност да се разкрият и проследят метаболитните пътища на разграждане на нафтаден, антрацен и фенантрен в клетките на изследваните щамове. На хроматограмите, демонстриращи дезинтеграцията на нафтаден са идентифицирани съединения като салицилова киселина, катехол и кетоадипинова киселина. Хроматографският анализ на междинните метаболити по време на разграждането на антрацен идентифицира съединенията 2-хидрокси-3-нафтоена киселина, карбоксибензалдехид-о-фталова киселина и протатекухова киселина. При разграждането на фенантрен се идентифицират съединенията 1 – хидрокси – 2 - нафтоена киселина, 1 – нафтол, о – фталат, протокатехат. Наличието на тези съединения корелира добре с част от предложения от други изследователи катаболитен път на нафтаден от аеробни бактерии. Резултатите показват, че вероятно съществуват доста сходни механизми на разграждане на ПАВ в бактериите и гъбите, независимо от различната им геномна организация и регулация на генната активност.

Подробният биохимичен анализ на първите ензими от катаболизма на изследваните токсични съединения спомага за изясняване на тяхната ключова роля при разграждането на ароматните съединения. Създадени и приложени са специфични олигонуклеотидни сонди и са проведени ДНК-секвенционни анализи за идентифициране на катаболитни гени, кодиращи ензими с фенол-хидроксилазна и катехол 1,2-диоксигеназна активности. Успешно са

секвенирани два гена, кодиращи ензимите при два различни вида плесенни гъби – *Aspergillus glaucus* и *Aspergillus fumigatus*.

В раздел „Обсъждане“ се прави сравнение на способността на изследваните щамове да разграждат фенол, съответните производни на фенола и ПАВ. Сравнен е биодеградиационният потенциал на щамовете по отношение на различните ароматни субстрати и в условията на различен температурен режим. Разгледани са растежните и ензимологичните характеристики на изследваните щамове, проследено е в динамика усвояването на различни субстрати и е доказана широката субстратна специфичност на изследваните ензими. В обсъждането докторантката уверено коментира и сравнява данни, получени и от други изследователи, при други видове микроорганизми. Може да се отбележи, че изследванията с фунги, особено по отношение разграждането на ПАВ са все още малко в научната литература, с изключение на някои анализи с *A. fumigatus* и отделни видове на *Penicillium* или *Fuzarium*. Съобщенията за биодеградиацията на ПАВ от антарктически представители на родовете *Aspergillus*, *Penicillium* и *Alternaria* са направени от докторантката за първи път в света.

В Заключението на дисертацията, докторантката е резюмирала и изтъкнала най-добрите деградационни качества на всеки от изследваните щамове и обосновава перспективността на предложената разработка.

В резултат на проведените изследвания и получени резултати са формулирани 21 извода и 7 основни приноса с оригинален характер. И изводите, и приносите отразяват обективно получените резултати.

Като обобщение мога да кажа, че при разработваната дисертация е извършена огромна експериментална и анализаторска дейност на много високо ниво. Практически всички получени резултати са с оригинален характер.

На основата на получените резултати докторант Катя Стоянова участва в публикуването на 6 научни публикации, в 2 от които е първи автор, 1 публикация е с ИФ (2.871), 1 глава от книга от национално издателство и 1 глава от книга, издадена от международно издателство (Brown Walker Press). Участвала е в 4 национални и 4 международни научни конференции.

Забележки:

Като цяло дисертацията е написана увлекателно, в прекрасен научен стил. Имам малка забележка за фиг. 18 и фиг. 19 - на тях липсват номерата на

нуклеотидните секвенции на секвенираните фрагменти, а са повторени номерата на частичните аминокиселинни секвенции. На фиг. 30 би било добре да се добави номерация на аминокиселините в съответния ензим, участващ в сравнението.

Въпроси:

1. Бихте ли обяснили по-подробно разликата между психрофилни и психротрофни плесенни щамове?
2. Възможно ли е съчетаването на щамове в микробен консорциум, който да въздейства още по-успешно върху комбинирани замърсители?

В заключение, бих искала да подчертая, че по една актуална и съвременна тема са постигнати резултати на световно ниво, а научните статии са отпечатани в уважавани списания и вече са многократно цитирани от научната общност. Докторантката е усвоила съвременни методи, експериментите са поставени методично правилно, получените резултати са база за следващи научни и приложни разработки. Несъмненият ѝ личен принос очертава Катя Стоянова като утвърден млад изследовател и прецизен експериментатор, с богати познания в областта на биодеградиационните методи, молекулярната биология и ензимологията.

Въз основа на постигнатите резултати, научните и приложни приноси на дисертационния труд и на наукометричните показатели, убедено препоръчвам на Научното Жури да присъди на Катя Стоянова научната и образователна степен "Доктор".

17.05.2019 г.

Рецензент:

(доц. Пенка Петрова)