

СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Велизар Костадинов Гочев,
ръководител на катедра „Биохимия и микробиология”, ПУ „П. Хилендарски”

относно дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“
в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика
професионално направление 4.3 Биологически науки
докторска програма *Микробиология*

Автор: *Николета Иванова Ботева*

Тема: *Разнообразие и биотехнологичен потенциал на термофилни микроорганизми от български горещи извори*

Научен ръководител: *проф. дбн Маргарита Стоянова Камбурова*

1. Общо описание на представените материали

С решение на НС на института по Микробиология „С. Ангелов” при БАН Протокол №17/22.04.2021 г. съм определен за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема *Разнообразие и биотехнологичен потенциал на термофилни микроорганизми от български горещи извори* за придобиване на образователната и научна степен ‘доктор’ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Микробиология Автор на дисертационния труд е Николета Иванова Ботева – докторант в редовна форма на обучение към департамент Обща микробиология, лаборатория Екстремофилни микроорганизми с научен ръководител проф. дбн Маргарита Камбурова от Институт по микробиология „С. Ангелов” при БАН.

Представеният от Николета Ботева комплект материали е в съответствие с изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на БАН за прилагане на ЗРАСРБ.

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

Ограниченията породени от класическите културални методи за изолиране и култивиране рефлектират негативно върху обема на познанието относно микробното биоразнообразие в екстремни местообитания. От друга страна се наблюдава постоянен интерес към приложение на ензими в различни клонове на промишлеността (хранително-вкусова, химическа, фармацевтична и др.) при висока температура, киселинна или алкална стойност на рН, хетерогенни условия и др. Изолирането на термофилни микроорганизми и проучването на по-

тенциала им да продуцират екстрацелуларни ензими ще позволят разработването на цялостни биотехнологични схеми за получаване на термостабилни ензимни препарати и ще разкрият възможности за преодоляване на редица технологични ограничения за приложение на ензимите в реални производствени условия. В този смисъл считам, че актуалността на дисертационния труд е безспорна, както от теоретична, така и от практическа гледна точка.

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 404 литературни източника, което я прави изчерпателна. Начинът на оформяне на литературния обзор и аналитичното представяне на информацията, особено в частта свързана с възможностите за приложение на различните метагеномни подходи, техните предимства и недостатъци, показват че Николета Ботева е запозната с разработвания проблем в детайли.

4. Методика на изследването

Всички използвани материали и методи на изследване са прецизно описани. Условието за провеждане на отделните етапи от метагеномните изследвания, използваните софтуерни продукти, прилаганите процедури за набогатяване, изолиране и култивиране на анаеробни термофилни микроорганизми 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, молекулярни, спектрални и биотехнологични 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 възприетия начин, включвайки разделите увод, обзор, материали и методи, резултати и обсъждане, заключение, изводи, приноси и използвана литература. Считам, че между отделните раздели на дисертацията са спазени оптимални съотношения. Уводът изпълнява функцията си да постави основния изследователски проблем с акцент върху ограничените познания относно биотехнологичния потенциал на термофилните микроорганизми и така да мотивира необходимостта от провеждане на дисертационното проучване. Обзорът, както вече споменах, е оформен много добре, информацията е представена аналитично. Единствената ми бележка към този раздел на дисертационния труд

е последната част на обзора (точка 7), която не е достатъчно добре тематично свързана с предхождащата точка или определено мястото ѝ по-скоро е в началото, а не в края на обзора. Разделът материали и методи изпълнява функцията си, но той вероятно трябва да бъде след поставянето на целта и задачите, а не преди тях, защото изборът на един или друг метод за анализ се основава на конкретните задачи, които са поставени, а не обратно. Този проблем е отстранен в автореферата на дисертацията. В раздела резултати и обсъждане са описани резултатите от проведените експерименти в логична последователност. Основната тежест на работата е фокусирана в частта, касаеща изясняване на микробното разнообразие и взаимоотношенията в микробните съобщества, обитаващи шест термални извора (Рупи I, II и III, Власа, Мизинка и Левуново. Чрез различни подходи за метагеномен анализ на седиментни проби и вода е изградена таксономична и функционална картина на термофилните бактерии и археите в термалните извори Рупи I и II и Власа. От метагеномите на изследваните извори и набогатени термофилни култури са реконструирани няколко драфт генома, включително и от некултивируеми бактерии. От реконструиран геном на некултивируемата бактерия *Candidatus calescibacterium* от Рупи II е избран, клониран, експресиран и охарактеризиран ген, кодиращ термостабилна липаза, която превъзхожда по температурния си оптимум и термостабилност други, описани в литературата бактериални липази и е сравнима с археална липаза.

Частта от дисертацията свързана с оценката на биотехнологичния потенциал на термофилните изолати по отношение на ензимна продукция, макар и по-малка по обем от таксономичните проучвания върху микробното биоразнообразие на термалните извори, не отстъпва по задълбоченост на първата част на работата. С използване на Hungate техника за анаеробно култивиране е изолиран и охарактеризиран перспективен щам *Caldicellulosiruptor* sp. 11.4 - продуцент на извънклетъчни полигалактуроназа, ксиланаза, арабиноксиланаза. Реализирана е успешна схема за получаване на частично пречистен ензимен препарат на полигалактуроназа от изследвания щам, която се характеризира с висок температурен оптимум и по-широк диапазон на рН-стабилност в сравнение с полигалактуроназа, синтезирана от *Caldicellulosiruptor bescii*.

Броят на изводите определено може да бъде редуциран, а някои от тях се нуждаят от редакция. Приемам формулираните приноси, които в голямата си част се категоризират като оригинални, но напълно съм убеден, че при написване на разделите изводи и приноси, докторантите срещат най-големи трудности и именно към тази част от тяхната работата трябва да бъдем най-толерантни.

Високо оценявам факта, че резултатите от работата са солидна база за бъдещи изследвания в направлението на термофилните бактерии, което и многократно е споменато от док-

торантката. Трябва да отбележа, че в настоящата дисертация изучаването на бактериалното и археално разнообразие не е самоцел, а тези проучвания са правени с намерение за реализация на биотехнология за получаване на термофилни ензими. Това не ме изненадва, защото във всички разработки на колектива, ръководен от проф. Камбурова, фундаменталните проучвания винаги успешно се съчетават с реализация на биотехнологичен процес и конкретни практически приложения.

6. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Във връзка с дисертационния труд са представени две научни публикации с импакт-фактор в *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences* (Q2) и раздел от колективна монография, публикувана от *Springer*, която е индексирана в световните бази данни. И на трите материала докторантката е водещ автор, което показва ключовия принос на Николета Ботева за тяхната реализация.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които отговарят на всички изисквания ЗРАСРД, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и изискванията на Института по микробиология „С. Ангелов” при БАН. Дисертационният труд показва, че докторант Николета Иванова Ботева притежава теоретични знания и професионални умения по научна специалност Микробиология.

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 Николета Иванова Ботева в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Микробиология.

31.05.2021 г.

Изготвил становището:

(проф. д-р В. Гочев)