

СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Петя Койчева Христова

Софийски Университет, Биологически факултет,
катедра „Обща и промишлена микробиология“

Тема на дисертационния труд: „Разграждане на пластмаси от термофилни и халофилни бактерии, изолирани от български екстремни ниши“ за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ в Професионално направление 4.3. Биологични науки (Микробиология)

Автор на дисертационния труд: Николина Атанасова Атанасова

Научен ръководител: проф. Маргарита Камбурова, дбн

Със заповед на Директора на ИМикБ при БАН № I-44/31.03.2023 г. съм определена за Член на научното жури за провеждане на процедура по защита на дисертационен труд на Николина Атанасова Атанасова. Представените документи и материали отговарят на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и Правилника за неговото прилагане.

1. Кратки данни за докторанта

Николина Атанасова Атанасова е бакалавър по „Биология“ и магистър по „Биотехнологии“ при Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“. Започва своята кариера като специалист - биотехнолог през 2005 година в Института по Микробиология при БАН, а от 2008 година е асистент в лабораторията по „Екстремофилни микроорганизми“.

2. Актуалност и значимост на дисертационната тема

Непрекъснатото нарастване на употребата на пластмасови изделия е една от основните причини за все по-значимо натрупване на екологично замърсяващи отпадъци, което води до влошаване на околната среда и изменение на климата, намаляване на биоразнообразието и увеличаване на канцерогенните заболявания при хората.

Затова търсенето на нови възможности за тяхното биоразграждане с участието на микроорганизмите дава много надежди за ефективно рециклиране. В литературата обаче сведенията за откриване на ефективни продуценти на ензими, способни да разграждат полистирени, полиуретани или поликапралактони са малко. Затова насочването на изследванията към една особена група микроорганизми – екстремофилите е нов подход за решаване на проблема. Необикновените свойства на термофилите и халофилите, както и техните метаболитни характеристики, предлагат нов подход за биоремедиация на замърсени екстремни местообитания или развитието на нови процеси за компостиране. Разработките в тази сфера могат да допринесат за съществено разрешаване на един от най-големите обществени проблеми, а именно замърсяването с пластмаса.

Изложените факти ясно мотивират избора на темата, нейната актуалност и практическо значение. Съдържанието на дисертационния труд напълно покрива обявената номенклатурна специалност по професионално направление 4.3 Биологични науки, научна специалност “Микробиология” за присъждане на ОНС “доктор”.

3. Оценка на структурата на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан на 166 стандартни страници – формат А4, резултатите са обобщени и представени в 23 таблици и 39 фигури. Структуриран е по класическата схема и е балансиран по отношение на обема на всеки раздел: Увод (1 стр.), Литературен обзор (50 стр.), Цел и задачи (1 стр.), Материали и методи (11 стр.), Резултати и обсъждане (66 стр.), Изводи (2 стр.), Приноси (2 стр.) и Литература (25 стр.).

Дисертацията е написана с добър научен стил, с точно използване на терминологията което показва, че докторантката познава професионално материята. Необходимо е да се отбележи, че представената литературна справка (190 публикации по темата) предлага един задълбочен анализ на състоянието на проблема. Дисертантката се е запознала много добре с литературните данни и умело ги използва при интерпретиране на резултатите.

3.1. Литературен обзор

Литературният обзор е структуриран правилно с пряко отношение към целта на дисертацията и поставените задачи. В обзора на дисертационния труд са представени три тематични оси: едната представя пластмасите като неизбежна част от нашето ежедневие със своите положителни и отрицателни ефекти, както и запознава с видовете пластмаси. Нещо повече, подробно е описана структурата на различните видове полимери. Втората тематична ос разглежда механизмите на биоразграждане с участието на мезофилни

микроорганизми. Третата тема разкрива природата на екстремофилните бактерии и техните способности да участват в биодegradация на пластмаси, като ясно е очертана обещаваща роля на техните липази и естерази за процесите на биоразграждане. Много добро решение е завършването на обзора с очертаване на реалните проблеми при техническото култивиране на екстремофилите и затрудненията, които могат да възникнат при индустриално производство.

3.2. Цел и задачи

Целта на дисертацията е формулирана ясно и точно като включва проучване на способността на екстремофилни бактерии, изолирани от български екстремни ниши, ефективно да разграждат различни видове пластмаси. В основата на работната хипотеза стои разбирането, че неизследваният капацитет на екстремофилните микроорганизми от български горещи извори и солени езера да разграждат пластмаси ще доведе до изолиране на микроорганизми, осъществяващи ефективна биодegradация. По този начин ще се допринесе за развитието на нови, по-ефективни процеси за разрешаване на важен световен проблем. За постигането на целта са формулирани 12 задачи, които включват едно последователно изследване от изолиране на продуценти, през таксономичното им характеризирание до получаване на ефективен пречистен ензим.

3.3. Материали и методи

Това е една важна част от дисертационния труд, която показва нивото на научните изследвания. Представени са съвременни микробиологични, биохимични, молекулни, хроматографски и микроскопски методи. Самото им разработване и успешно прилагане е вече един безспорен успех в обучението на докторантката. Мултидисциплинарният характер на изследването е позволило на докторантката да придобие нови методически умения.

3.4. Резултати и обсъждане

Основните резултати са представени съгласно поставените задачи и избраните методични подходи и по своята същност са една задълбочена характеристика на потенциала на екстремното съобщество да разгражда пластмаси. Експерименталната част е изработена много прецизно и представено достоверно. За целта на изследването са подбрани четири вида пластмаси: полипропилен (ПП), полистирен (ПС), поликапролактон (ПКЛ) и поливинил алкохол (ПВА). Изследването стартира със скрининг на щамове от колекцията на лабораторията по „Екстремофилни микроорганизми“, но поради по-слабата им способност да образуват биофилми докторантката се насочва към изолиране на нови продуценти от естествени

местообитания. От изследваните проби от пет горещи извора са изолирани 18 чисти щама, които са идентифицирани с молекулни методи. От трудно разградимите ПП и ПС са изолирани по един шам, два щама са изолирани от среда с ПВА, по един от Рупи и от Левуново. Големият брой изолатите от пробата от Марикостиново, култивирана в среда с ПКЛ, както и високата естеразна активност насочва докторантката да проведе цялостен метагеномен анализ на това микробно съобщество. От изследваната група е подбран един шам от вида *Brevibacillus thermoruber*, който продуцира екстремофилна естераза способна да разгражда поликапролактон. В следващите етапи на работата последователно са оптимизирани параметрите на биодegradацията на пластмаси, получаването на пречистена липаза и са проучени механизмите на разграждане на ПКЛ в условия ин витро. Определени са свойствата на пречистената липаза. С електронно-микроскопски анализ е представена значителната деформация на пластмасата по време на процеса на разграждане с участие на микробното съобщество и *B. thermoruber* шам 7. Докторантката не се ограничава с търсенето на активни продуценти само от термофилните съобщества, но проучва и потенциала на халофилното микрофлора от лугата и водната кал на Атанасовско езеро, Бургаските солници и Поморийски солници. Изследваните халофилни съобщества показват огромно филогенетично разнообразие и имат реален потенциал за следващи проучвания като продуценти на различни ензими.

3.5. Изводи и препоръки

Дисертантката обобщава огромната експериментална работа в 12 извода, които отговарят на всеки етап от направените изследвания. Изводите коректно обобщават получените резултати. Може да се отбележи, че извод 5 се нуждае от преформулиране за повече яснота на предоставената информация.

4. Приноси с научен и приложен характер

В извършените изследвания могат да се очертаят както теоретични, така и оригинални приложни приноси, които доказват значимостта на научната разработка. Приносите, които приемам като особено значими и с голямо приложение са както следва:

- За първи път е изолирано бактериално съобщество, разграждащо пластмасата ϵ -поликапролактон при 55°C.
- За първи път е установен силен селективен натикс върху биоразнообразието на термофилно и халофилно съобщества под действието на използваната пластмаса ПКЛ като единствен въглероден източник.
- Изолиран е термофилен шам *Brevibacillus thermoruber* шам 7 способен да разгражда поликапролактон.

- Постигната е скорост на разграждане, която е сред най-високите съобщени при субстрат пластмаса.
- Пречистената липаза е първият съобщен термостабилен ензим, способен да разгражда ПКЛ.

5. Публикации във връзка с дисертационния труд

Докторантката е представила списък с четири научни публикации (Q1 -1; Q2 -2; Q4 -1), свързани с дисертацията, които напълно покриват изискванията.

6. Автореферат

Авторефератът е изготвен, съобразно изискванията и вярно отразява резултатите от дисертацията като в съкратен вид са представени най-важните елементи от всички раздели (без литературния обзор).

7. Препоръки, забележки и въпроси

В дисертационния труд няма съществени грешки относно използваните подходи и представяне на резултатите, поради което нямам препоръки или забележки.

Към докторантката имам следния въпрос:

а) Каква информация за изследваното съобщество носят оперативните таксономични единици в метагеномния анализ?

8. Придобита компетентност и съответствие с изискванията на образователната и научна степен „доктор”

В хода на изпълнението на експерименталната работа и оформянето на дисертационния труд докторантката Николина Атанасова е придобила компетенции и умения, които могат да бъдат групирани по следния начин:

- разширила е теоретичната си компетентност;
- придобила е умения за работа с научна литература, анализирайки и обобщавайки научна информация;
- обогатила е методичните си умения, особено в частта на прилагането на съвременни методи;
- придобила е умения самостоятелно да оформя и дискутира резултатите, получени в хода на разработването на дисертацията, както и да прави изводи на базата на тях.

Всичко това ми дава основание да смятам, че докторантката е придобила необходимите компетенции и умения за придобиване на образователната и научна степен „Доктор”.

9. Заключение

Представеният дисертационен труд е едно завършено изследване, което предоставя ценна научна информация и разкрива възможности за практическо приложение. Много добрата теоретична подготовка е дала възможност на докторантката да подбере и съчетае набор от методи, които осигуряват изпълнение на поставените задачи и постигане на целта. Смятам, че обемът на този труд е внушителен, направени са много анализи, получени са ценни резултати, направени са важни изводи, препоръки и изследването има значими научно-приложни приноси. Авторефератът е направен по изискванията и отразява вярно основните резултати и изводи на дисертационния труд.

Въз основа на направения разбор и на доказаното израстване на докторантката, предлагам на уважаемите членове на научното жури, сформирани със заповед на Директора на ИМикБ при БАН № I-44/31.03.2023 да присъдят на **Николина Атанасова Атанасова** образователната и научна степен “доктор” по професионално направление 4.3 Биологични науки (Микробиология).

22.05.2023

Рецензент:

проф.д-р Петя Христова