

СТАНОВИЩЕ

от проф. Пенка Ангелова Мончева, д-р, Софийски университет „Св. Кл. Охридски“, Биологически факултет

относно дисертационен труд, представен за защита пред научно жури, сформирано със заповед № Р33-6903/13.12.2019 г. на Ректора на Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ за получаване на образователната и научна степен „доктор“

Автор на дисертационния труд: Йордан Методиев Стефанов

Тема на дисертационния труд: „Екзоензими, продуцирани от щамове на род *Bacillus* - микробиологични, молекулярно-биологични и биотехнологични аспекти“

1.Кратки биографични данни и характеристика на научните интереси на кандидата

Йордан Методиев Стефанов завършва бакалавърска степен по Биоинформатика в ПУ „Паисий Хилендарски“ през 2013 г и магистърска степен по Биотехнологична микробиология през 2015 г. в същия университет. В периода 2016-2019 г. той е редовен докторант по Микробиология към катедра Биохимия и микробиология на ПУ. В периода между 2013 и 2019 г. работи последователно като микробиолог в изпитвателна лаборатория „Централ“-Казанлък, химик в Хрансервизинженеринг АД, Велико Търново, и младши технолог – целулоза, хартия и картон, какъвто е и понастоящем в Монди Стамболийски АД, Пловдив. Преминал е през няколко курсове на специализация и обучение в България и чужбина.

2. Преглед на дисертационния труд и анализ на резултатите

Съвременното икономическо развитие в световен мащаб поставя пред човечеството различни проблеми, част от които са свързани с ускоряване и разнообразяване на производството на блага и в същото време това да не става за сметка на негативен отпечатък върху околната среда. Използването на биологични катализатори (ензими) е едно решение, което намира приложение в редица сфери като производство на храни, фуражи, перилни и почистващи препарати, козметика, фармацевтични продукти и др. Това води до редица предимства като употреба на намалено количество на токсични вещества, висока селективност на осъществяваните реакции, по-лесно пречистване и по-високо качество на получените продукти, по-малко замърсяване на околната среда и др. Нуждата от индустриални биокатализатори непрекъснато се увеличава, а вниманието е насочено към такива от микробен произход. Сред бактериите, представителите на род *Bacillus* имат водеща роля по отношение на синтеза на различни ензими. Във връзка с казаното по-горе смятам, че темата на дисертацията е актуална.

Дисертационният труд е построен по общоприетия начин и съдържа 7 раздела: Въведение (2 стр.), Литературен обзор (42 стр.), Цел и задачи (1 стр.), Материали и методи (16 стр.), Резултати и обсъждане (63 стр.), Изводи (2 стр.), Приноси (1 стр.), Литература (21 стр., съдържаща 376 литературни източници). Общият обем на труда е 148 страници А4 формат. Към дисертацията е

приложен списък с научни публикации на докторанта и такъв с неговите участия в научни форуми. Считам, че списъкът с използваната литература трябва да предшества този с публикациите и научните съобщения на автора във връзка с дисертацията.

Обемът на литературния обзор е приблизително 1/3 от общия обем на дисертационния труд. Той е построен върху няколко основни въпроси като Екстрацелуларни ензими от представители на род *Bacillus*, Фосфолипази, Бактериални фосфолипази, Амилази, Протеази и Приложението на ензимите от микробен произход. Във всеки от посочените въпроси са разгледани подробности, свързани с динамиката на тяхната продукция, влияние на хранителните среди върху нея, методи за пречистване и анализ и др. Цитирани са голям брой литературни източници като около 20% от тях са публикувани през последните десет години. Считам, че литературният обзор е конкретен, целенасочен и разкрива добрата теоретична подготвеност на докторанта в областта на дисертационния труд. Не би било излишно с няколко изречения завършекът на литературния обзор да насочва към целта на дисертационния труд.

Целта на дисертационния труд е формулирана ясно – Изследване продукцията на екстрацелуларни ензими с потенциал за биотехнологично приложение от представители на род *Bacillus*. За нейното реализиране са поставени пет конкретни задачи.

Разделът „Материали и методи“ е представен достатъчно пълно. Описани са всички използвани методи, както и материалите, необходими за изпълнение на задачите. Прави впечатление богатият набор от приложени методи. Това са микробиологични култивационни, ензимологични, съвкупност от разнообразни аналитични методи, свързани с пречистване на ензимите, разнообразие от хроматографски методи (гел-филтрация, йонообменна хроматография, FPLC), електрофоретични методи, зимография, молекулярно-биологични методи, биоинформатични методи и др. Освен добрата теоретична подготовка ще добавя и много добрата методична подготовка, която докторантът е усвоил и приложил в своя дисертационен труд.

Резултатите, получени при разработването на дисертацията са представени и обсъдени в раздел „Резултати и обсъждане“ по формулираните задачи. Скринирани са 166 щамове от род *Bacillus* за 5 типа ензими – амилази, протеази, липази, фосфолипаза С и целулази. Установен е процентът на положителните щамове по видове. Чрез корелационен анализ е доказана статистически положителна корелация между фосфолипазна и протеолитична активност и между протеолитична и амилазна активност. Селектирани са три щамове за по-нататъшни изследвания за амилазни и протеолитични ензими и фосфолипаза С. След това са изложени резултатите по останалите четири задачи, като това е направено поотделно за амилазите, протеолитичните ензими и фосфолипаза С. Най-пълно е разработена фосфолипаза С от щам *B. thuringiensis* 17. За всички ензими е проследена динамиката на тяхната продукция, ефектът на състава на хранителната среда върху продукцията на всеки от ензимите, резултатите от тяхното

оптимизиране. Представени са данните за частично пречистване на протеолитични ензими, данните за продукцията на фосфолипаза С при култивиране на щам в реактор, данните от приложените методи за нейното пречистване, както и някои характеристики на ензима. Чрез биоинформатични и молекулярно-биологични методи чрез конструирания праймери е доказано наличието на гена за синтеза на фосфолипаза С. Резултатите са дискутирани на фона на постигнатото и известното в литературата по въпроса. Този раздел е онагледен добре, като резултатите са представени по много добър начин в 45 фигури и 9 таблици. Като забележка към този раздел бих посочила липса на информация под заглавията на фигури 20, 35, 36 и 43 за използваните молекулни маркери. Разделът завършва с представяне на резултатите от молекулярните анализи на гена за фосфолипаза С. Смятам, че трудът би спечелил, ако авторът бе добавил едно заключение или обобщение, в което да се открият най-важните от получените резултати и перспективите за биотехнологично приложение на ензимите, продуцирани от изследваните щамове, с оглед постигането на целта на дисертацията.

3. Характеристика и оценка на изводите и приносите в дисертационния труд

В резултат на изпълнението на дисертационния труд и получените резултати докторантът прави 11 извода, произтичащи от постигнатото. Считам, че в някои части формулировката на изводи 2, 3, 4 и 10 не е достатъчно добра, за да им придаде характер именно на изводи, а не на докладване на получен резултат. Разработената дисертация има приносен характер. Като най-значими бих открила тези, които докторантът е определил като приноси с оригинален характер.

4. Оценка на съответствието между автореферата и дисертационния труд

Авторефератът е изготвен по модела на дисертационния труд, като не е включен разделът «Литературен обзор». Обхванати са най-важните неща от останалите раздели, като включеният материал в тях съответства на този от дисертацията.

5. Публикации на дисертанта, свързани с темата на дисертацията

Докторантът Йордан Стефанов е представил списък с две публикации, едната от които публикувана в списанието *Ecologia Balkanica*, което е индексирано (Q4, SJR 0.103 за 2018 г) в Scopus, Web of Science др. база данни, а другата в *Journal of BioSciences and Biotechnology*. Представен е и списък с три участия с постерни съобщения в два национални и един международен научен форум. Дисертантът е водещ автор както в публикациите, така и в постерните съобщения.

6. Критични бележки, коментари и въпроси

Към дисертацията имам критични бележки, като всички те имат технически или стилев характер, които съм посочила при коментара по отделните точки от рецензията. Имам следните въпроси към докторанта:

1. С какви методи е направена видовата идентификацията на щамовете от род *Bacillus*, които са обект на дисертационния труд? И в тази връзка възможно ли е по-ниската

близост на гена за синтезата на фосфолипаза С от *B. thuringiensis* 17 с щамове от същия вид в базата данни да се дължи на неправилна идентификация на щам?

2. Кои точно свойства и характеристики на изследваните от вас ензими ги характеризират като такива с потенциал за биотехнологично приложение, каквато е целта на дисертацията?

7. Лични впечатления за дисертанта

Нямам лични впечатления от дисертанта Йордан Стефанов. Прочитът на неговия дисертационен труд, неговото оформление, представяне на резултати и тяхната дискусия, езикът на който е написан, оставят у мен впечатление за млад учен със сериозна и задълбочена теоретична и методична подготовка по темата на дисертацията. Прилагането на разнообразни методи за анализ на ензимите от изследваните продуценти, представянето на резултатите и тяхната дискусия са в подкрепа на казаното от мен по-горе. Водещото място в авторския колектив на представените от него научни съобщения са в подкрепа на това, че дисертацията е негово дело.

8. Заключение

Въз основа на изложеното по-горе, оценката ми на дисертационния труд на Йордан Стефанов е положителна. Считам, че дисертацията е изпълнена на много добро методично ниво, като са приложени както класически, така и съвременни методи. Получени са достатъчно резултати, които са представени и дискутирани достатъчно задълбочено, което се дължи на придобитата от него добра теоретична и методична подготовка. Смятам, че постигнатото от дисертанта напълно съответства на изискванията за получаване на образователната и научна степен „доктор“. Дисертационният труд има приносен характер в съответната област.

В заключение считам, че предвид Правилника за приложение на закона за развитие на академичния състав в Република България и този на ПУ „Паисий Хилендарски“ настоящият дисертационен труд напълно отговаря на изискванията за докторска дисертация, оценявам го положително и препоръчвам на Научното жури да присъди 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“ на Йордан Методиев Стефанов.

05.02.2020 г.

София

Подпис:

(проф. д-р П. Мончева)