

АНОТАЦИЯ НА МАТЕРИАЛИТЕ ПО ЧЛ.65 ОТ ПРАСПУ

на гл. д-р Мариана Иванова Мърхова-Косева

за участие в конкурс за академичната длъжност „доцент“ по област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки (Микробиология – Микробна патогенеза), обявен в ДВ бр.92/18.11.2022 г.

За участие в конкурса за академичната длъжност „доцент“ представям авторска монография, 35 научни публикации, които не са използвани за придобиване на ОНС „доктор“ и академичната длъжност „главен асистент“, и две учебни помагала.

Научните трудове са разпределени както следва:

- ❖ Монография „Лекарствена устойчивост и вирулентност при уропатогени от *Enterobacterales*. Изследвания в периода 1997 – 2021 г.“
- ❖ 15 публикации в издания с импакт-фактор или импакт-ранг, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация - Web of Science и Scopus;
- ❖ 15 публикации в реферирани издания без импакт фактор или импакт ранг;
- ❖ 5 публикации в сборници от научни конференции с научно рецензиране;
- ❖ 1 учебник в съавторство;
- ❖ 1 ръководство в съавторство.

Монографията и научните трудове са резултат от изследвания в две основни направления:

- ❖ **Микробна патогенеза.**
- ❖ **Екология на микроорганизмите.**

Учебните помагала са свързани с участието ми в образователния процес в Биологически факултет на ПУ“Паисий Хилендарски“

I. Анотация на материали в областта на микробната патогенеза

Инфекциите на уринарния тракт (UTI) са едно от най-често диагностицираните инфекции при човек и представляват сериозен здравен и икономически проблем за обществото. Лечението на тези заболявания е свързано с коректна диагностика на етиологичните агенти, установяване на чувствителността към лекарствени препарати и вирулентните характеристики, важни за успеха в патогенетичния процес. Мониторингът на лекарствената устойчивост на микроорганизмите е от значение не само при избора на подходяща терапия, но също така е наложителен поради забележителната способност на микроорганизмите да придобиват устойчивост чрез множество механизми. Нарастващата антибиотична резистентност на микроорганизмите е глобален екологичен проблем и налага търсенето на алтернативни подходи за терапия на бактериалните инфекции.

В област „Микробна патогенеза“ попадат материалите, представени в монографията и публикации №№ **2.1; 2.2; 2.3; 2.4; 2.5; 3.1; 3.2; 3.5; 3.7; 3.8; 3.11; 3.13; 3.14; 3.15; 4.1, 4.2 и 4.5**

В представената монография „Лекарствена устойчивост и вирулентност при уропатогени от *Enterobacterales*. Изследвания в периода 1997 – 2021 г.“ са включени резултати от собствени изследвания и обобщения относно уропатогени от разред *Enterobacterales*, проведени в периода 1997 – 2021 г. Направен е преглед на революционния напредък на молекулярно-биологичните методи за анализ от края на 20-ти век досега и приложението им в метагеномните анализи и бактериалната идентификация. *Enterobacterales* са забележителна група микроорганизми с широко разпространение. Те съставляват част от нормалната чревна микробиота при човека и редица животни, като през повечето време са в коменсални взаимоотношения с гостоприемниците си. Притежавайки хромозомно кодирани вирулентни детерминанти или придобивайки такива в състава на плазмиди, транспозони, интегрони и други мобилни генетични елементи представителите на разреда могат да причинят широк спектър от заболявания.

Изследванията на изолати от проби на амбулаторни пациенти с инфекции на урогениталния тракт, проведени в периода 1997-2021 г. са първите по рода си по обем и продължителност за района на град Пловдив и южна България. Изследвани са и /или/ документално проследени щамове, изолирани при микробиологично изследване на проби урини и генитални секрети предоставени от амбулаторни пациенти с неусложнени и усложнени ИУТ. Пробите са изследвани първоначално в микробиологичната лаборатория на МУ – Пловдив, микробиологичната лаборатория на ВМА – Пловдив (Военна болница), СМДЛ „Хронолаб“-Пловдив, ГБМДЛ „Зинвест-К“- Пловдив (2012 г.), МДЛ „Цибалаб“ – София (2014 г.), „Синево“ ЕААД – Пловдив (2016-2017 г. и 2021 г.) и съставляват представителна извадка от амбулаторните посещения по повод диагностика, терапия и профилактика на заболявания на урогениталния тракт. Данните от изследванията са анализирани и съпоставени с обявената публично информация от НЦЗПБ и БулСтар. Съставената етиологична карта на инфекциите на урогениталния тракт при амбулаторни пациенти очерта *Escherichia coli* като доминиращ етиологичен агент в урогениталния тракт: 72,74% от изследваните 157 щама за периода 1997-2012 г., 74% от положителните проби урини, издадени от ГБ СМДЛ Зинвест – К ООД за 2012 г; 66% от положителните проби урини, издадени от МДЛ Цибалаб ЕООД за 2014 г.; 55% от положителните проби урини и 23% от положителните проби генитални секрети, издадени от „Синево“ – Пловдив за периода април 2016 г. – март 2017 г. и 54% за 2021 г. За периода 1997 – 2021 г следващи по честота са *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, както и в по-малка степен *Candida spp.*, която доминира сред гениталните секрети. През периода е отчетена изменчивост в дяловото участие на видовете от *Enterobacterales* в ИУТ. Актуалността на проведения мониторинг е категорично потвърдена отчитайки непълната и недостатъчно подробна информация, оповестена от НЦСПБ и БулСтар. Ясно е очертана необходимостта от координирани

действия на диагностичните лаборатории и регулаторните органи за оповестяване на подобни данни с оглед намаляване случаите на емпиричен подход при лечението на инфекции на урогениталния тракт.

През периода от 1997 г. до днес в клиничните лаборатории в България се прилага утвърден протокол, предложен през 60-те години, който предвижда аеробно култивиране на малко количество от проба сутрешна средна струя урина върху ограничен набор среди за 18-24 ч. Параметри, които благоприятстват *E.coli* и ентеробактериите, но не оставят шанс да бъдат идентифицирани по-бавно растящи видове с по-особени културални предпочитания. За периода 1997 – 2021 г. като положителни или „с растеж“ са докладвани 17,15% (БулСтар 2001 г.), 24.32% (ГБМДЛ „Зинвест К“, 2012), 24,10% (МДЛ „Цибалаб“, 2014), 27.9% („Синево“ за 2016-2017 г.) и 33,64% („Синево“, 2021 г.). Тревожно висок процент проби биват докладвани като отрицателни или „без растеж“. Отчитайки статистическите данни за разпространението на ИУТ смятаме, че много повече случаи остават нерегистрирани и не достатъчно добре диагностицирани, за да бъдат адекватно третирани. Изследването ни категорично посочва необходимостта да се интензифицира натрупването и споделянето на данни и резултати на национално ниво с цел разработване и утвърждаване на разширен протокол за култивиране при микробиологичното изследване на проби от урогениталния тракт за повишаване достоверността в диагностиката на ИУТ.

Систематизираните данни за антибиотичната чувствителност на уринарни изолати от проби на амбулаторни пациенти са съпоставени с обявените от БулСТАР с отчитане на факта, че в по-голямата част от масива публично достъпни данни няма разграничаване на амбулаторните и болничните пациенти. НЦЗПБ и БулСТАР съобщават също за нарастваща устойчивост към цефалоспориновите препарати, както и увеличаване на ESBL изолатите. Високи нива на антибиотична устойчивост и установените различия на регионално и национално ниво категорично отхвърлят емпиричното лечение на ИУТ в обществото. Разликите в нивата на резистентност по региони налагат развитието на системата за мониториране на антибиотичната резистентност както на регионално, така и на национално ниво чрез усъвършенстване на Националната програма БулСТАР.

Изследванията и анализите за периода 1997 – 2021 г. показаха нарастване на устойчивостта към хинолони и трайно разпространение на щамове с ESBL фенотип. Началните изследвания показаха присъствие на плазмидно медирана хинолонова устойчивост, но са необходими допълнителни анализи за потвърждаването и. Установените динамично променящи се нива на устойчивост за пореден път потвърждават необходимостта от постоянно локално обновяване на медицинските практики и подходи в терапията на ИУТ.

Уропатогенните *E. coli* (UPEC) експресират хромозомно и плазмидно кодирани вирулентни детерминанти. Проведените изследвания на вирулентните характеристики на уропатогени от *Enterobacterales* показаха „много“ лица на уровирулентността като категорично потвърдиха значението на адхезивния

потенциал на щамовете за успеха в колонизацията на уринарния тракт и формирането на биофилми като защитна стратегия.

Новото познание относно нормалната микробиота в уринарния тракт, както и по-разширеното изследване на редица случаи свидетелства, че е твърде вероятно голяма част от ИУТ да са многовидови и сумарната устойчивост да е производна променлива, зависеща от много фактори: характеристики на участващите в полимикробната инфекция, относително количествено участие на видовете и имунен статус на гостоприемника. Изглежда уместно в бъдещи изследвания да се проследят характеристиките на *in vitro* култивирани биофилми, включващи два или повече щамове. Познаването на състава на нормалната микробиота, прилагането на съвременни метагеномни и метатранскриптомни анализи за изследване на пространствените и химичните основи на междувидовите взаимоотношения и влиянието им върху гостоприемника ще осветлят потенциални синергични връзки, водещи до успех в патогенезата.

Възникването и разпространението на лекарствена устойчивост сред бактериалните патогени е един от най-значимите проблеми за съвременната медицина. В **публикация 3.1** е документирана възможността за поява на адаптивна устойчивост към амикацин при *Pseudomonas aeruginosa*. Използван е щам *P.aeruginosa*, изолиран от инфектирана рана. Определена е минималната инхибираща концентрация MIC_{Amikacin} и е проследено възникването на устойчиви мутанти в условията на селективен натиск на амикацин в концентрация по-висока от MIC. В рамките на 120 ч са изолирани мутанти с променена устойчивост, което се вижда по отчетената значимо по-висока MIC – от 20 до повече от 70 µg/ml. За изолираните мутанти бе отчетена по-висока устойчивост към действието на комплемента.

В **публикация 3.2** са представени резултатите от изследването чувствителността на 54 уропатогенни щамове *E.coli* към действието на комплемента в нативен човешки серум. Напълно устойчиви се оказаха девет щамове (16.7%), а тридесет (55.6%) проявиха междинна устойчивост. Изследвано е плазмидното съдържание и някои от щамовете бяха „излекувани“ от тях. Това позволи да се отчете участието на генетични детерминанти от състава на плазмидите в серумната устойчивост. За някои от безплазмидните деривати бе установено увеличаване на чувствителността към действието на комплемента, докато безплазмидния дериват на щам *E.coli* 77 запази междинната си устойчивост. Резултатите от изследването свидетелстват за участие на плазмидно-кодирани детерминанти в серумната устойчивост на уропатогенни *E.coli*.

Уропатогенни изолати с установена серумна устойчивост бяха допълнително подложени на серологичен и цитохимичен анализ. Изследванията са представени в **публикация 2.1**. Получени са заешки хиперимунни серуми срещу десет избрани щамове с значима разлика в серумната чувствителност в 4-стъпална имунизационна схема с 3-или 4-дневни интервали. Сходството в антигенните детерминанти на избраните щамове бе проследено чрез провеждане на аглутинация на стъкло, в епруветка и кръстосана абсорбция. Подбрани на основа сходство в серологичните

характеристики и серумната чувствителност две двойки щамове са използвани за проследяване свързването и афинитета на concanavalin A – gold в нативно състояние и след термична обработка при 100°C за 10'. Резултатите показваха разлики в локализацията, плътността и достъпността на епитопите за свързване на Con A при серологично сходните двойки щамове. Допълнително бе доказана пряка корелация между предварително изследваната серумна чувствителност и плътността на епитопите за свързване на Con A. При по-устойчивите щамове *E.coli* 73 и 88 изглежда серумната устойчивост е свързана с мембранно асоциирани епитопи.

В **публикация 3.5** е представено изследването на 20 щамови изолати от проби на пациенти с хронични ИУТ. Биохимичните тестове определиха тринадесет от щамовете като *E.coli*, три като *Pantoea agglomerans* (*Enterobacter agglomerans*), три като *Citrobacter freundii*, и един като *Citrobacter diversus*. Изследването на антибиотичната устойчивост показва висока чувствителност към аминогликозидните препарати и висока устойчивост към ампицилин, доксициклин, клиндамицин. Три от щамовете *Citrobacter* spp. показваха множествена резистентност. При шест от щамовете (30%) бе установена продукция на широкоспектърни β -лактамази (ESBL). В осем от изследваните щамове бе установено присъствие на плазмиди с размери от 3 до 10 kb.

В **публикация 2.2** са оповестени резултати от изследването на 28 щамови *E.coli*, изолирани от проби на амбулаторни пациенти с различни ИУТ. При 13 щамови (46.43%) е установена множествена устойчивост, а шест (21.43%) продуцираха ESBLs най-вероятно от CTX-M тип. Анализът на плазмидното съдържание показва присъствие на плазмиди с размери от 2 kb до над 23 000 kb. Бе установена висока устойчивост към хинолонови препарати и сулфонамиди. Щамовете проявиха добра чувствителност към нитрофурантоин.

В **публикация 2.3** е проследена способността на 50 уропатогенни щамови *E.coli* да формират биофилм *in vitro*. Изследвани са антибиотичната чувствителност, морфотипа, продукцията на тип 1 пили, хемолизини. Биофилм-формиращи се оказаха значима част - 36% от изследваните щамове. Данните не показваха значима корелация между комбинации от изследваните вирулентни фактори и биофилм-образуването.

В **публикация 3.7** е коментирана съвременна тематика, свързана с установената междуклетъчна комуникация в микроорганизмовите съобщества – „чувство за кворум“. Този процес дава възможност на бактериалните популации да проявяват многоклетъчен тип поведение в отговор на плътността и състава на съобществото. Множество патогенни микроорганизми регулират експресията на вирулентните си характеристики като използват чувството за кворум. Това прави сигналните пътища привлекателна мишена за разработване на молекули-инхибитори за намеса в инфекциозния цикъл. В публикацията са обсъдени потенциални стратегии за намеса в кворумната сигнализация.

В **публикация 2.4** и **публикация 2.5** са изследвани алтернативни на антибиотиците подходи за повлияване и модулиране характеристиките на уропатогенни *E.coli*.

В **публикация 2.4** са изследвани ефектите на екстракти от медицински растения спрямо три уропатогенни щама с добър биофилм-формиращ капацитет. Екстрактите не проявиха антибактериална активност, но показаха модулиращ биофилм-формирането капацитет, който варира в широки граници. За да бъде охарактеризиран напълно потенциалът на изследваните екстракти е нужно да бъдат уточнени активните съставки.

В **публикация 2.5** е проследен модулиращия ефект на разредени свободни от клетки културални течности (CFS) от *Lactobacillus* spp. с пробиотичен потенциал – шест щама от млечнокисели продукти и пет вагинални изолата. Изследвана е промяната в свойства като хидрофобност и подвижност, формиране на биофилм на референтни и уропатогенни щамове. Присъстващите в CFS екзополisahариди стимулират формирането на биофилм, но протеиназа К редуцира инхибиторните активности на супернатантите. Това предполага участието на белтъчен фактор в супресията на биофилм-формирането.

В **публикация 3.8** са изследвани антимикробните активности на нови деривати на бензимидазола като алтернатива на антибиотиците. Доказана е антимикробна активност за осем от синтезираните съединения към Грам-положителни *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes* и противогъбична активност към *Candida albicans*.

В **публикация 3.11** е документирано представителството на вирулентни характеристики и биофилм-формиращия капацитет при двадесет уропатогенни щама *Escherichia coli*. Проведени са multiplex PCR реакции и е документирано присъствието на генетични детерминанти *fimH* за тип 1 пили, за PAP пили, капсулни антигени за капсули K1 (група II), K5 (група II) и K5 (група III); за токсините *cnf1* и *hlyA*, за серумна устойчивост – *traT* и *iss*. Подробният анализ на изследваните вирулентни характеристики не изяви доминиращ патотип, но без съмнение тип 1 пили са универсален инструмент за бактериалната патогенеза в уринарния тракт.

В **публикация 3.13** е представено изследването на антибиотичната и серумната устойчивост на 318 щама от сем. *Enterobacteriaceae*, изолирани от инфекции в урогениталния тракт. Най-чест етиологичен агент при ИУТ при амбулаторни пациенти е *E.coli* – 64.8%, следван от *Klebsiella spp.* (17%) и *Proteus mirabilis* (10.37%). Установена е висока устойчивост към ампицилин (49%), мецилинам (71%), доксициклин (41%). В същото време е установена висока чувствителност към цефалоспорини (цефуросим – 84.6%; цефокситин 83.7%; цефотаксим 91.5%; цефепим 83%) и флуорхинолони (ципрофлоксацин 85%, норфлоксацин 79%, левофлоксацин 83%). Значима устойчивост е отчетена спрямо нитрофурантоин (24%). Сред изследваните щамове 8.5% продуцират широкоспектърни ESBL. Установено е, че 84% от щамове са устойчиви към литичното действие на нормален човешки серум, което доказва значението на тази вирулентна характеристика за успешната патогенеза в урогениталния тракт. Резултатите от изследването доказват необходимостта от постоянен мониторинг на лекарствената чувствителност за избягване на емпиричната терапия.

В публикация 3.14 е проследена антибиотичната устойчивост на 72 щама *Enterococcus faecalis* от проби на амбулаторни пациенти с инфекции в уrogenиталния тракт. Допълнително са изследвани вирулентни характеристики като продукция на ензими и биофилм-формиране. Установено е по-често изолиране на ентерококи от проби на жени. Докато ИУТ, свързани с ентерококи са по-чести при деца до 10 г., то инфекциите в гениталния тракт са по-чести при жени в репродуктивна възраст. Установена е висока (30%) устойчивост към гентамицин. Установена е сравнително ниска (19%) устойчивост към флуорхинолони с ясна кръстосана резистентност при изолати от ИУТ. Изолатите *E. faecalis* от проби от гениталния тракт показаха по-висока (22%) устойчивост към норфлоксацин и ниски нива на устойчивост към левофлоксацин (4%) и ципрофлоксацин (2%). Сред изолираните щамове от уринарния тракт 37% продуцират желатиназа и 93% - казеиназа. При изолатите от генитални секрети тези стойности са 27% и 67% за желатиназа и казеиназа съответно. От изследваните 72 щама 26% формират биофилм *in vitro* като по-голямата част биофилм-образуващи изолати (70%) са от генитални секрети. Установената хидролазна активност при повечето от изследваните ентерококи доказва значението и като вирулентен фактор при колонизацията на уrogenиталния тракт.

В публикация 3.15 са представени резултати от изследванията върху устойчивостта и фактори на вирулентност при 97 щама *Candida*, изолирани от урина и генитални секрети на амбулаторни пациенти. Сред изолатите преобладават *C. albicans* (84%), следвани от *C. glabrata* (7%), *C. krusei* (4%), *C. parapsilosis* (3%) и *C. tropicalis* (2%). Общо чувствителността към тестваните противогъбични препарати е висока - над 95%. Анализът на активността на хидролитични ензими и способността за образуване на биофилм показва, че само 8% от щамовете продуцират желатиназа и фосфолипаза, 6% продуцират казеиназа и 5% - естераза. Седем от тестваните щамове образуват стабилен биофилм след 24 часа култивиране в Sabouraud бульон, обогатен с 6% глюкоза. Не е установена значителна корелация между противогъбичната чувствителност и изследваните фактори на вирулентност. Изследваните щамове имаха доста коменсални характеристики, което предполага, че гъбичните инфекции в изследваните инфекции на уrogenиталния тракт по-често са резултат от дисбиоза и/или промяна в баланса на нормалната микробиота.

Публикация 4.5 е обзорна за опита в изследванията на бактерии и хелминти с методи, основаващи се на лектини. Клетъчната повърхност на всички организми се характеризира с наличието на гликоконюгати (гликопротеини и гликолипиди). Те са важен участник в междуклетъчните взаимодействия, вкл. тези между инфекциозните агенти и техните гостоприемници. Гликоконюгатите са основен клас патоген-свързани молекулни структури, които взаимодействат с гостоприемниковите молекули, разпознаващи чужди антигени. Един основен клас разпознаващи молекули са въглехидрат-свързващите протеини – лектини, широко разпространени при вируси, бактерии и всички таксони растения и животни. От своя страна, много лектини с известна въглехидратна специфичност са включени в методологиите за анализ на клетъчните гликоконюгати. При генетично идентични

бактерии се установиха големи разлики между индивидуалните клетки по отношение на лектин-свързващите епитопи, достъпни по повърхността. В рамките на бактериалните популации, балансът между различните клетки се променя в зависимост от условията на култивиране, което води и до вариации във възможността на гостоприемниковите лектини да ги разпознаят. Индивидуалните вариации в състава на повърхностните захари са свързани с еволюционно установени промени в инфекциозността и вирулентността на патогените в различни гостоприемници. Явлението вариране на повърхностните въглехидрати е повсеместно при про- и еукариотните патогени и това доказва значимостта му във взаимоотношенията патоген-гостоприемник.

II. Анотация на материалите в областта на екология на микроорганизмите:

В област „**Екология на микроорганизмите**“ попадат материали, разпределени в две групи :

❖ публикации №№ 2.6; 2.7; 2.8; 2.10; 2.12; 2.14; 3.10; 4.4;

Изследванията, представени в тези публикации са свързани с:

- обследване микробиологичния статус и санитарното състояние на няколко от големите язовири в България – яз. Кърджали, яз. Доспат, яз. Батак, яз. Цанков камък (**№№ 2.6; 2.7; 2.8; 2.12; 3.10; 4.4**)
- оценка на екосистемите в защитени влажни зони в Южна България (**2.10; 2.14**)
- ❖ публикации №№ 2.9; 2.11; 2.13; 2.15; 3.3; 3.4; 3.6; 3.9; 3.12; 4.3;**
- изследвания на ензимната продукция и оптимизация на култивирането на щамове с потенциал за приложение в биоремедиацията и биотехнологичните производства(**№№ 2.9; 2.13; 3.3; 3.4; 3.6; 3.9; 3.12; 4.3**)
- изследвания на състоянието и качествата на почвите в градска среда и създаването на устойчиви модели за биоремедиацията и управлението им (**№№2.11; 2.15**)

В България през последните години се увеличи интересът към отглеждане на риба в садки като индустриална форма на аквакултура във вътрешни сладководни водоеми. Поради увеличен инвеститорски интерес нараства и броя на новите садкови стопанства. Увеличава се обема на консумацията на сурови рибни продукти (топло- и студенопушени), което повишава загрижеността за човешкото здраве. Рибата и рибните продукти са смятани за преносители на бактериални инфекции, свързани както с естествените обитатели на водните екосистеми, така и с попаднали в тях в резултат на фекално замърсяване от човешки и животински произход. В периода на провеждане на нашите изследвания в България отсъстват данни относно влиянието на аквафермите върху бактериологичния статус на хидроекосистемите на водните тела, в които са разположени. Освен това, през последните десетилетия се наблюдава засилена урбанизация и развитие на крайбрежните зони, което увеличава риска от замърсяване с битови отпадни води. Това налага повишено внимание към санитарно-хигиенните параметри на качеството на водата, в това число оценка на микробиологичното замърсяване (общ

брой микроорганизми) и санитарното състояние (общ брой на колиформите) на водите, използвани за аквакултура. Публикации **3.10**; **4.4**; **2.6**; **2.12** последователно представят данни за биологичните индикатори и екологични параметри на водите и седиментите в акваторията на яз. Кърджали за потенциална оценка на капацитета му за аквакултури.

Публикация 4.4 представя микробиологично изследване на качеството на водите в яз.Кърджали през април - август 2011 г. чрез определяне на TVC37°C и общ брой колиформи (ТС) в общо шест станции в акваторията на язовира (една до язовирната стена, три около садковите стопанства и две в свободната от садки част на язовира. Стойностите на TVC37°C варират от 70 КОЕ/100 мл през април до 251. 10³ КОЕ/100 мл през летния период. Бяха установени няколкократно завишени стойности на TVC37°C и ТС във водите на р.Арда в сравнение с акваторията на яз.Кърджали. Те вероятно са повлияли отчетените по-високи стойности в ст. VI, която е в проточната зона на на язовира, където се усеща влиянието на р. Арда. Получените резултати свидетелстват за допълнително органично замърсяване в изследваната зона. Увеличеният брой на колиформите в района на садките съвпада и с интензивния туристически сезон в близко разположеното селище Главатарци, в което липсва изградена обратна канализационна система. Това създава предпоставки за филтриране на замърсени води от септичните съоръжения на хотелите във водите на яз. Кърджали. Рязкото покачване на стойностите на коли-титъра от 1 бактериална клетка в над 100 мл водна проба през пролетта до 1 КОЕ/2,5 мл през август е ясен показател за фекално замърсяване. Отчетените стойности за индикаторите през периода април-август 2011 свидетелстват за допълнително органично замърсяване в районите около садките в яз.Кърджали.

Публикация 3.10 включва данни за главните микробни индикатори за качеството на водите и микробиологичния статус на яз.Кърджали за едногодишен период от април 2011 до март 2012 . Проследени са индикатори общ брой *E.coli*, фекални стрептококи (FS) и *Clostridium perfringens* в шест станции в акваторията на язовира и една в р.Арда. С изключение на август и октомври стойностите на *E.coli* и FS не надвишаваха 30 КОЕ/мл и 20 КОЕ/мл. През август бе установено завишаване и на двата индикатора, което се задържа до ноември. Установени бяха статистически достоверни разлики в двата индикатора в станциите около садките и в зоната на селище Главатарци – области със силно антропогенно повлияване. Присъствие на *Clostridium perfringens* бе отчетено само през август 2011 г в зоните около садките и язовирната стена. За установяване на състава на микробиота в рамките на язовира бяха изолирани и идентифицирани 220 фекални колиформни щамове. Всички изолати спадат към пет рода от сем.*Enterobacteriaceae*. Най-широко представени във водите на язовира се оказаха родове *Klebsiella* (39%), *Enterobacter* (24%) *Serratia* (25%), *Citrobacter* (7%), съответно представени с видове *K. oxytoca* и *K.pneumoniae*, *C.amalonaticus* и *C. freundii*, *E. cloacae* и *E.aerogenes*, *Serratia marcescens*. Високи нива на замърсяване с отпадни води, въз основа на изследването на *colif*-титъра и *colif*-индекса (200 cfu *E. coli*/1 l) са установени във водите на река Арда в участъка, преди да се влее в язовир Кърджали. Липсата на

патогенни видове, съчетана с намаляване на броя на ТС, колититъра и колииндекса в станция II е доказателство за способността за самопочистване на изследваното водно тяло. Новото увеличение на броя на ТС на станция I в близост до село Главатарци, както и наличието на фекални колиформи, показва вторично замърсяване с канализационни води в района. Наблюдаваните микробиологични параметри показват изразена сезонна динамика в язовир Кърджали и река Арда, с пикови стойности на всички индекси през м. август. Установеният видов състав на групата на колиформите дава основание да се предположи, че микробиологичното замърсяване се дължи главно на повишен екологичен натиск, причинен от човешка дейност в района.

В **публикация 2.6.** са представени изследванията на антибиотичната устойчивост на бактериални изолати от седименти в акваторията на яз.Кърджали. Антимикробната резистентност е пряк резултат от селективния натиск, предизвикан от прекомерното използване на антибиотици, включително злоупотребата с антибиотици във ветеринарната медицина и аквакултурите. Изследването обхваща 160 щама Грам-отрицателни бактерии, изолирани от седиментни проби от станция 1 в близост до мрежестите клетки и станция 2 в горната част на язовира, която е свободна от клетки и се използва като контролна станция. Отчетена бе чувствителността към 16 антимикробни препарата на 100 щама *Pseudomonas mandelii*; 30 щама *Hafnia alvei*; и 30 щама *Raoultella ornithinolytica*. Не бяха установени съществени разлики в резистентността към тестваните антибиотици между щамовете, изолирани от двете станции (анализ на дисперсията, $P > 0.05$). Същевременно бе отчетена висока устойчивост към пеницилини, амоксицилин и еритромицин. Щамовете *P. mandelii* проявиха устойчивост към тетрациклин, за която се смята, че представлява значим риск за разпространение. Отчетена бе сравнително ниска устойчивост към хинолони Не бе отчетена устойчивост към аминогликозидите гентамицин и амикацин или към ципрофлоксацин. Изолатите от род *Pseudomonas* показваха най-висок процент на антибиотична резистентност и най-високи MIC стойности. Голяма част от изследваните щамове – 62% проявиха устойчивост към хлорамфеникол, който е един от най-често използваните препарати в аквакултурите и забранен за употреба в Европейския съюз поради доказаната му цитотоксичност. Резултатите от изследването показаха висока честотата на присъствие на устойчиви Грам-отрицателни бактерии в седиментите под садките в яз. Кърджали.

В **публикация 2.12.** са документирани изследвания, проведени в акваторията на яз.Кърджали за установяване на връзката между абиотичните фактори на средата, микробиологичните показатели за качеството на водата и фитопланктона, с оглед на развитието на интензивна садкова аквакултура. Извършен е многофакторен анализ на базата на данни за осемнадесет показателя от 5 мониторингови пункта, получени в периода 2016-2018 г. Целта бе да се идентифицират ключови параметри, засягащи биологичните съобщества, включително въздействието на садковите стопанства. ANOSIM (анализ на сходства), показва значителни разлики в стойностите на физико-химичните фактори между

контролния обект и зоната за аквакултури, с по-високи нитрати, общ азот и COD (chemical oxygen demand) в близост до мрежите. Резултатите са потвърдени от високата R-стойност ($R = 0.87$; $p < 0.01$). Проведеният PCA (принципен компонентен анализ) показва, че физико-химичните параметри могат да бъдат групирани само в три главни компонента (PC) - PC1 се формира от формите на азот и COD, PC2 отразява физическия източник на вариация (pH и разтворен кислород), а PC3 се формира от общ фосфор (0.537) и амониев азот (0.764). Трите компонента формират 90.5% от общата вариация. Параметрите с най-голямо въздействие върху обилието от хетеротрофни бактерии (TVC) включват температура, TN и COD. Фосфорът не е лимитиращ фактор, поради високата му концентрация. Проведеният многофакторен анализ (RDA) ясно показва, че в язовирите с развита интензивна садкова аквакултура дългосрочната експлоатация на стопанствата е свързана с локални промени (ограничени в близост до стопанствата) във физико-химичните показатели на водата, което води до количествени и качествени изменения във фитопланктонните и бактериалните съобщества.

В публикация 2.7. е представен анализ на водите на яз. Доспат, проведен с цел да се установи микробиологичното състояние на водното тяло и да се идентифицират възможни вторични източници на замърсяване в акваторията. За оценка на основните микробиологични показатели са избрани шест станции, разположени в акваторията на язовира, и една станция на река Доспатска. Определена е сезонната и пространствена динамика на общия брой микроорганизми (TVC 20°C), общите колиформи, *E. coli*, фекални стрептококи и *S. perfringens* за периода м. април 2011 г. – м. март 2012 г. Стойностите за TVC 20°C се оказаха в диапазона 1.10^3 cfu/100 ml до 39.10^3 cfu/100 ml, без статистически значими разлики между станциите. Стойностите за общите колиформи варираха от 10 cfu/100 ml до 100 cfu/100 ml, а през м. август се повишиха до 1000 cfu/100 ml, с по-високи нива в близост до стопанството. Колиформите се характеризираха с ниско видово разнообразие и доминиране на *Serratia marcescens*, *Pantoea agglomerans*, *Hafnia alvei* и *Enterobacter cloacae*, които са част от естествената микробиота на водните обекти. Анализът на TVC 20°C и общите колиформи показва изразена сезонна динамика в язовир Доспат, а водите на река Доспатска в изследвания период се характеризираха с по-високи нива на микробно натоварване в сравнение с откритата акватория на водното тяло. Високите стойности на числеността на индикаторите в близост до гр. Сърница са показателни за заустване на фекално-битови отпадни води. Вторичното им повишаване при садковото стопанствено свидетелство за значим антропогенен натиск в зоната.

В Публикация 2.8. е представен за първи път цялостен метагеномен анализ на планктонното бактериално съобщество на два големи и икономически важни за България язовира – язовир Батак и язовир Цанков камък. Микроорганизмите, обитаващи сладководна среда, са неразделна част от водната екосистема. Понастоящем има много малко данни относно таксономичния състав на микробните съобщества в язовирите в България, въпреки ключовата им роля в биогеохимичните процеси. Анализът на данните от метагеномното секвениране показва, че 78.45% от

микробиома между двата язовира се припокрива. Индексите на разнообразието (H) и изравненост на съобществото (J) намаляват по надлъжната ос на двата язовира. Установените стойности за индексът на разнообразието на Шанън са характерни по-скоро за олиготрофните водни тела. Доминантен комплекс и в двата язовира се формира от отдел *Proteobacteria*, следван от *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*, които съставляват над 95% от относителното изобилие, независимо от големите хидрогеоложки различия. Бактериопланктонът се характеризира с висока филогенетична хетерогенност в таксономичната структура. Установено е присъствие на 211 рода. Родовете *Limnohabitans* и *Rhodospirillum rubrum* са доминиращи, което предполага тяхното значение във водните хранителни мрежи. Получените данни ще допринесат за по-доброто разбиране на микробното биоразнообразие в сладководни среди и ще послужат като база за бъдещи сравнения и анализи.

Друго направление в изследванията в областта на микробната екология е свързано с характеристиката на микробните съобщества във влажни зони в Южна България (**Публикация 2.10.**) и в басейна на река Марица (**Публикация 2.14.**). Влажните зони са важни екологични територии или акватории, в които микробните съобщества играят съществена роля в първичната производителност, кръговрата на хранителните вещества и пречистването на водата. Изградените влажни зони са евтин екологичен подход, основан на възможността чрез биологични методи да се отстранява антропогенното замърсяване. Влажните зони се намират в райони с ниска надморска височина и изпълняват важна роля в пречистването в близост до градските райони. Изследванията на междувидовите съобщества и техните способности да развият метаболитни мрежи и биофилми могат да бъдат полезни в процесите на биоремедиация на замърсените местообитания.

В **публикация 2.10** е представен анализът на микробните съобщества и биофилмформирацията им капацитет в две защитени от Натура 2000 влажни зони – Злато поле и оризовите поля край Цалапица в Южна България. Определени са броят на хетеротрофните бактерии (TVC 22 и TVC 37), актиномицети, гъби, и санитарно-показателни микроорганизми в проби от суха почва и седименти. Броят на хетеротрофните микроорганизми и показателите за санитарен статус (FS, FC и *Escherichia coli*) в двата оризови пояса край град Пловдив са по-високи в сравнение с контролната зона в Злато поле; максимумът е регистриран в оризовото поле край село Цалапица (C_1 и C_2 е 12.6×10^6 cfu.g⁻¹ и 26×10^6 cfu.g⁻¹, съответно). В изследваните проби бактериалният комплекс заема доминантна позиция и превишава броя на плесенните гъби и актиномицетите най-малко 1.5 пъти. Клъстерният анализ показва голямо сходство между почвите, около оризовите полета и седименти от Злато поле (ZP₂) поради ниското органично натоварване. Биофилм-формирацията капацитет на многовидовите съобщества бе проучен в четири различни хранителни среди *in vitro*. Най-високи стойности бяха отчетени в R2A среда за всички станции. Резултатите ни от проучването на биофилм-образуването *in vitro* показаха добра корелация между структурата на микробните съобщества и капацитета за образуване на биофилм.

Публикация 2.14 включва изследванията ни върху пространствените различия и физиологичното разнообразие на почвените микробни съобщества в естествените влажни зони и изградени оризови полета в басейна на река Марица, защитени съгласно Директивата за птиците 2009/147/ЕО като естествени местообитания. Влажните зони, разположени по протежение на Българската част от басейна на река Марица са част от Рамсарската конвенция и представляват редки специфични екосистеми. Метаболитните функционалности на съобществата в изследваните влажни зони се различават значително, което доказва, че профилът им се формира от широк спектър от фактори на средата като съдържание на вода в почвата, рН, органични вещества и източници на азот. РСА и клъстерният анализ показват, че дългосрочната земеделска експлоатацията променя свойствата на почвата и бактериалните съобщества, групирайки оризовите полета в отделен клъстер. Непрекъснатото култивиране на ориз във влажните зони на Цалапица води до подкисляване на почвата и по-висока обща метаболитна активност, но по-ниско катаболитно и субстратно разнообразие, което прави микробните съобщества чувствителни към стрес и външни фактори. По-високото субстратно разнообразие наред с песъчливите, подобни на речни, седименти, ниската концентрация на органичен азот, органични вещества и фосфати са доказателство за добрия екологичен потенциал на влажната зона Злато поле. Това се потвърждава и от по-високата метаболитна активност по отношение на трудно-усвоими полиоли и аминокиселини, поради отсъствието на лесно-усвоими въглехидрати. Представен е подробен анализ на бактериалното разнообразие в две различни влажни зони в басейна на река Марица. Резултатите разкриват значителна разлика в структура на бактериалната общност между трайно наводнени наноси от влажната зона Злато поле и сезонно наводнените седименти на защитената местност на оризищата край Цалапица. Мултивариационните анализи групират почвените микробиоми в басейна на река Марица въз основа на вида на почвата, типа влажна зона и извършваните в нея мелиоративни мероприятия. Получените резултати потвърждават същественото влияние на факторите на средата върху структурата на микробните съобщества, които се повлияват от антропогенния натиск.

Публикация 3.3 представя обзор на потенциала на микробните биотрансформации в биоремедиацията. Познанието на способностите на микроорганизмите да превръщат различни ксенобиотици създава добра основа за развитието на ефективни технологии за ремедиация на замърсени райони. Понастоящем търсенето и изучаването на необичайни метаболитни пътища за усвояване на различни ксенобиотици и считани преди за неразградими субстанции е изключително актуално.

Публикация 3.6 отразява работата ни по получаване на мутанти от *Aspergillus niger* с повишена ксиланазна активност след двустепенен мутагенез с използване на UV лъчи и прилагането на две различни концентрации 130 µg/ml и 200 µg/ml на N-метил- N-нитро- N-нитрозогуанидин (NMG). Бе установена зависимост между морфологичния тип на преживелите облъчване колонии и ксиланазната продукция. Това потвърди целесъобразността при следващи

експерименти да бъдат търсени колонии с определена морфология, което би увеличило вероятността за изолиране на по-високо активни щамове. Беше получен устойчив високо активен мутант *A.niger* след индуциран мутагенез с 200 µg/ml NMG при експозиция за 3 часа. Селекционираният мутант може да бъде използван за следващи анализи върху бисинтеза на ксиланази и евентуално разработване на биотехнологични процеси за получаването им.

В **публикация 3.4** е представено изследването на продукцията на алкална фосфатаза от изолирани от почва щамове *Escherichia coli*. Щамовете бяха изолирани от зони с органично замърсяване с цел потенциалното им приложение в биоремедиация на специфични контаминанти. Всички щамове продуцираха мембранно свързана алкална фосфатаза и β-галактозидаза. Проследена бе динамиката на ензимна продукция при три от изолатите, които показват висока изходна активност (между 10 и 20 U/ml). Синтезът на алкалната фосфатаза започва още на 4-ти час и достига максимум в късна стационарната фаза (24-ти час при повечето от щамовете или до 32-и час) като след това продукцията се понижава. Ензимите запазваха сравнително висока активност за дълъг период от време, което е свидетелство за относителна устойчивост спрямо промени в условията на средата включително рН.

В **публикация 4.3** са обобщени резултатите от изследването на липолитичната активност на 40 щамове *B.cereus* и *B.thuringiensis*. Изследваните щамове *B. cereus* продуцираха и трите типа фосфолипаза С. Всички култури бяха положителни за фосфатидилхолин – специфична PLC, като активността достигна 2.5 U/ml. Щамовете *B.cereus* секретираха и сфингомиелиназа С с активност между 0.36 и 0.45 U/ml. Четири от щамовете бяха избрани като добри продуценти на PLC и SMase. Допълнително при осем щамове *B.cereus* бе установена активност и на фосфатидилинозитол-специфична фосфолипаза С (PI-PLC). Изследваните щамове *B.thuringiensis* проявиха активности на извънклетъчна PLC и PI-PLC, като активността на фосфатидилхолин – специфична PLC бе по-ниска – 0.21 – 0.85U/ml, докато за стойностите на продуцираната PI-PLC важи обратното.

В **публикация 2.9** е представен анализът на протеолитичната активност на 166 щамове от род *Bacillus*. Такава бе доказана при 90% от щамовете, разпределени както следва: *B.cereus* 110 щамове *B.cereus* (66%), 32 щамове *B.thuringiensis* (19%), 6 щамове *B.sphaericus* (6.4%). Количественото определяне на протеолитичната активност показва високи стойности от порядъка на 8-9 U/ml при: *B.cereus* №67(8.04 U/ml); *B.cereus* №88 (7.74% U/ml); *B.thuringiensis* №4 (8.13 U/ml) и *B.thuringiensis* №14 (9.20 U/ml). Щам *B. thuringiensis* №14 бе избран за оптимизиране на културалните условия (състав на средата, буферизираща система, тип на инокулацията) и изследване динамиката на ензимната продукция. Екстрацелуларната протеазна активност в края на експоненциалната фаза на растеж достигна 15 U/ml. Осъществено бе частично пречистване на ензима чрез ултрафилтрация и Sephadex G-75 хроматография. Гел-филтрационният профил показва три пика на протеолитична активност, което предполага синтез на повече от един тип протеолитични ензими от щамове. При SDS-електрофорезата на

активните фракции бе установено присъствие на два белтъка с приблизителна молекулна маса от 45 и 63 kDa, чиято активност бе доказана чрез зимография.

Метаболитните възможности на псевдомонадите за преработване на съединения, определяни като ксенобиотици, ги правят незаменими в процесите на биотрансформация и биоремедиация. В **публикация 3.9** е анализирана и доказана положителна фосфолипазна С и липазна активност при седемнадесет щамове *P. fluorescens*, *P. putida* и *Pseudomonas* sp., изолирани от почва. Фосфолипазната активност бе най-висока при щамове *P. fluorescens*, с максимум на секрецията на 12-ти час (начало на стационарната фаза на растеж). При тези щамове бе установена продукция на липаза с активност 0.9 и 1.7 U/ml с най-активни продуценти *P. fluorescens* 5B, *P. fluorescens* 1D и *Pseudomonas* sp. 1442, при който отсъстваше корелация в синтеза на двата липолитични ензима. Добавянето към соево-казеиновата среда на източници на въглерод и енергия, като ксилоза и рамноза стимулираха продукцията на липаза при щам *P. fluorescens* 5B с 29% и 17%, а добавянето на ксилоза увеличи продукцията и при щам *P. fluorescens* 1D с 25%. Липазната продукция при *P. fluorescens* В бе увеличена с 22% при добавяне на ксилоза или арабиноза в средата. Продукцията на фосфолипаза С при *P. fluorescens* 5B бе увеличена с добавяне на ксилоза и арабиноза до 66 % и 16% съответно, а при *P. fluorescens* 1D – до 42% и 14%. При *P. fluorescens* 5B увеличението в продукцията при прибавяне на ксилоза, арабиноза или рамноза бе 25%, 5% и 15% съответно. Максимум на липазната секреция бе отчетен на 20-я час, след този на фосфолипазната, което вероятно е свързано с участието на ензимите в осигуряването на субстрати за микробния растеж.

Публикация 3.12 предоставя данни за изследването и оптимизирането на условията за амилазна продукция от щамове *Bacillus*. Колекция от 166 щамове *Bacillus* spp. са изследвани за извънклетъчна амилолитична активност. Такава бе установена при 31% от културите – 61% от изследваните *B. cereus*, 36% *B. thuringiensis*, 3% *B. sphaericus*. Активността варираше от 0.86 до 2.8 U/ml като най-висока прояви щам *B. cereus* No 10. Ензимът започва да се секретира в културалната среда в експоненциална фаза (8-и час/1 U/ml), но достига максимум в късна стационарна фаза - 36-и час/3.14 U/ml. Секрецията на ензима не е свързана с лизис на клетките при споробразуване. Обогащването на средата с 0.1% рибоза или глюкоза, съответно, дрождев екстракт и Ca²⁺ йони стимулира амилазната активност на щам-продуцента.

Публикация 2.13 обобщава данните от изследване на продукцията на фосфолипаза С при сто шестдесет и шест бактериални щамове, принадлежащи към рода *Bacillus*. Началният скрининг върху агар с яйчен жълтък показа, че 87% проявяват активност на фосфолипаза С. Като най-обещаващ за производството на фосфолипаза бе избран щам *Bacillus thuringiensis* с начална активност 19.61U/ml. Съставът на хранителната среда и условията на култивиране бяха оптимизирани за постигане на по-високи добиви на ензима. Най-високо производство на фосфолипаза се постигна при следните условия на течната среда: 1% екстракт от дрожди като източник на азот; 0,5% NaCl; 0,4% глюкоза като източник на въглерод;

NaHCO_3 – 3 g/l; Na_2HPO_4 – 0,4 g/l; 1 mM ZnCl_2 ; pH 7; инокулиране с 3% (1.4×10^9 cfu/ml) субкултура и 8 часа продължителност на култивирането. Производството на фосфолипаза C от избрания щам беше мащабирано в биореактор с обем 2l.

Публикация 2.11 и **публикации 2.14** са свързани с изследванията ни на динамиката в качествата на почвата в градска среда под влияние на различни замърсявания и търсенето на природосъобразни решения за възстановяване и рехабилитация на наземните екосистеми в градска среда.

Качеството на градските местообитания е резултат от интегрирането на различни абиотични и биотични компоненти, като например качеството на въздуха, почвата и водата, микроклимата и растителността. Градските почви се различават от останалите компоненти по продължителното задържане и натрупване на замърсители. Тъй като трафикът се превръща в най-сериозния източник на вредни вещества в околната среда, изследването, представено в **публикация 2.** бе проведено за да се оцени неговото въздействие върху някои свойства на почвата в условията на градиент на замърсяване. Почвени проби бяха събрани на разстояние 7,5 m, 25 m и 50 m от два от основните булеварди в град Пловдив (България), като беше използван трансектният метод. Съдържанието на някои тежки метали и токсични елементи в почвата беше анализирано с помощта на ICP-MS. Данните разкриха, че замърсяването на почвата е силно повлияно от разстоянието до пътя, следвано от розата на вятъра и градския наклон. Общ брой хетеротрофни микроорганизми, отчетен при култивиране при 22°C и 37°C е използван като индикатор за почвообразувателния капацитет и антропогенния натиск съответно. Бе установена силна положителна корелация между двата параметъра. Това проучване потвърди антропогенният натиск (сгради и пътна инфраструктура, обезлесяване) като най-важен фактор, влияещ върху качеството на почвата в градските райони.

Рехабилитацията и възстановяването на сухоземните екосистеми е ключова стратегия за възстановяване на услугите (стоки и ресурси), които екосистемите предлагат на човечеството. **Публикация 2.14** представя проведено моделно проучване в гр. Пловдив с цел (i) да бъде оценен биоремедиационния капацитет на някои треви и тяхната пригодност за засаждане на тревни площи в населени места (в жилищни и нежилищни райони, покрай пътища и т.н.) и (ii) да бъдат предложени технологични решения за практическото им приложение в градска среда. Акцентирано бе върху потенциала на някои видове многогодишен райграс (*Lolium perenne* L.), гребеновиден житен тревостой (*Agropyron cristatum* L.), висока власатка (*Festuca arundinacea* Schreb) и птичи нокът (*Lotus corniculatus* L.). Като участници в изследването изпълнихме микробиологични анализи на почвени проби за изявяване ефекта на основаните на природата решения за устойчиво управление на градските почви и подобряване на качеството на живот. Представен е конкретен случай от град Пловдив (България), както и ефективно технологично решение за създаване на градски тревни площи и крайпътни зелени буферни участъци.

III. Материали към учебна дейност.

1. Съавтор на учебник „Биологични мембрани“ :

Днев И., Спасиева Ст., Стефанова Д., Даскалова Е., Гевезова М., **Мърхова М.**, Костадинова С. . Биологични мембрани. 2016, Електронно издание, Университетско издателство «Паисий Хилендарски», 181 стр., ISBN 978-619-202-111-5.

Учебникът „Биологични мембрани“ има за цел да представи съвременните познания за структурата и функциите на биологичните мембрани, базирани на научните открития през последните няколко десетилетия. Учебникът включва три основни раздела. Първият раздел е посветен на развитието на представите за структурата на биологичните мембрани, химичния им състав и структурните свойства на техни основни компоненти. Вторият раздел е посветена на основните функции на мембраните – транспорт на ниско- и високо- молекулни вещества през мембраните, рецепция и предаване на междуклетъчни и вътреклетъчни сигнали. Третият раздел е посветена на специфични типове мембрани в организмовия свят – клетъчна мембрана при архебактерии и еубактерии, плазмалема, вътрешни едномембранни и двумембранни мембрани при еукариотни клетки.

Учебникът е предназначен за студенти, изучаващи дисциплината „Биологични мембрани“, но може да се ползва от широк кръг студенти и специалисти от всички области на биологичната наука. Може да послужи като източник на допълнителна информация и за учители преподаващи биология и природо-научни дисциплини.

2. Съавтор на ръководство по Микробиология:

С. Костадинова, В. Гочев, **М. Мърхова**, Т. Гирова, Д. Георгиев, И. Илиев. Ръководство по микробиология. **2017**. Университетско издателство «Паисий Хилендарски», 265 стр., ISBN 978-619-202-240-2.

Ръководството по микробиология е разработено в съответствие с учебните програми за обучение на студенти в бакалавърски и магистърски специалности в направление 4.3 Биологически науки, 5.11 Биотехнологии и 1.3. Методика на обучението по... в Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“.

В ръководството са включва 10 основни раздела - „Микроскопски техники“, „Основни лабораторни културални методи“, „Морфология на микроорганизмите“, „Биохимична активност на микроорганизмите“, „Идентификация на бактерии“, „Ефект на факторите на средата върху микроорганизмите“, „Санитарната микробиология“, „Роля на микроорганизмите в кръговрата на веществата“, „Медицинската микробиология“ и „Микробната генетика“.

Целта на упражненията е студентите да се запознаят със съвременни експериментални техники в областта на микробиологията и да придобият умения за анализиране и коректно отразяване на получените резултати.

23.01.2023 г.

Пловдив

Изготвил:

гл.ас. д-р Мариана Иванова Мърхова – Косева