

РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен “доктор” по професионално направление 4.3 “Биологически науки”, научна специалност 01.06.10 “Биохимия“

Автор на дисертационния труд: Иванина Ангелова Василева, ИФРГ, БАН

Тема на дисертационния труд: „Физиолого-биохимични характеристики и биотехнологичен потенциал на българските водораслови шамове *Scenedesmus* sp. BGP и *Chlorella vulgaris* R-06/2”

Рецензент: проф. д-р Катя Маринова Георгиева, ИФРГ, БАН

Иванина Василева е завършила висшето си образование през 2015 г. в Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“, откъдето се дипломира като Магистър по “Растителни биотехнологии”. През 2015 г. е назначена като асистент в лаборатория “Експериментална алгология” на ИФРГ-БАН, а през 2017 г. е зачислена в докторантура на самостоятелна подготовка.

Докторантката е представила всички необходими документи, в съответствие с Правилника за приложението на ЗРАСРБ в ИФРГ-БАН, за да бъде допусната до защита на дисертационния си труд.

Обща характеристика на дисертационния труд – обем и структура

Дисертационният труд е написан на 159 страници, структуриран е според изискванията за придобиване на образователната и научна степен „доктор” и включва разделите: увод (2 стр.), литературен обзор (32стр.), цел и задачи (1 стр.), материали и методи (10 стр.), резултати и обсъждане (68 стр.), изводи (2 стр.), приноси (1 стр.) и цитирана литература (37 стр.). Използваната литература включва 435 източника. В дисертационния труд са включени 40 фигури, 10 таблици и 3 снимки.

Актуалност на разработвания в дисертационния труд проблем

Като източник на ценни вещества с висока биологична активност микроводораслите намират все по-широко приложение в селското стопанство, екологията, хранителната индустрия, фармацевцията и козметиката. Освен избора на правилния щам с необходимите качества

от съществено значение е да се установят оптималните условия за култивирането му (температура, осветеност, начална плътност, хранителна среда и др.), които повлияват не само продукцията на водораслова биомаса, но и качествения състав и количеството на органичните съединения в клетките. Въпреки засиления интерес и постиженията в областта на експерименталната и приложна алгология, малка част от огромното биоразнообразие на микроводораслите е изследвана, особено по отношение на химичния им състав. Необходимо е да се характеризират физиолого-биохимичните особености и биотехнологичните възможности на всеки новоизолиран щам. Всичко това обосновава актуалността на разработвания в дисертационния труд проблем както в научно, така и в научно-приложно отношение.

Анализ на дисертационния труд

Литературният обзор е информативен и добре структуриран. Направена е характеристика на микроводораслите и тяхното разпространение, като е обърнато специално внимание на видовете от р. *Chlorella* и *Scenedesmus*, които са обект на изследване на дисертационния труд. Важна част от литературния обзор е посветена на приложението на микроводораслите. Представена е информация за промишлено култивираните микроводораслови видове, произвежданите от тях специфични полезни продукти и областите на приложението им, както и на микроводораслите, продуценти на ценни биопродукти с голям потенциал за комерсиално производство. Специално внимание е отделено на перспективните области на приложение на микроводорасли от род *Scenedesmus* и род *Chlorella*. Наличните литературни данни са обобщени в таблици. Характеризирани са основните фактори на средата, които повлияват растежа и биохимичния състав на микроводораслите – температура, интензитет и спектрален състав на светлината, концентрация на въглероден диоксид, видът и концентрацията на азотния източник.

Изчерпателното изложение на обзора показва много добрата теоретична подготовка на докторантката. Цитирането на 435 литературни източника доказва отличното познаване на литературата по изследвания проблем.

Целта и задачите са формулирани ясно и точно. Основната цел на настоящата дисертация е да се направи оценка на биотехнологичния потенциал на новия български щам *Scenedesmus* sp. BGP и на българския щам *Chlorella vulgaris* R-06/2 посредством физиолого-биохимичното им характеризирание. За постигането на тази цел са формулирани 5 основни задачи.

Материали и методи. Поддържането и лабораторното култивиране на водораслите е описано ясно и онагледено с 3 снимки и една таблица. Докторантката е овладяла всички необходими методи за изпълнението на поставените в дисертацията цели и задачи. Използвани

са редица аналитични и биохимични методи, което е позволило да се направи детайлна физиолого-биохимична характеристика на двата изследвани български щама зелени водорасли. Всички методи са описани подробно и по начин, който позволява тяхното възпроизводство от други учени. Много добро впечатление прави добрата статистическа обработка на данните, което е допринесло за правилното описание и дискутиране на получените резултати.

От прегледа на изложените в раздел Материали и методи експериментални техники може да се заключи, че в процеса на обучението си докторантката е усвоила много и разнообразни методи и се е изградила като високо квалифициран специалист. Тя притежава отлична методична подготовка, придобила е значителен научно-изследователски опит, който ще ѝ помогне в бъдещите изследвания.

Представяне и обсъждане на получените резултати. Раздел „Резултати и обсъждане“ е много добре структуриран в четири раздела, съответстващи на поставените задачи. Извършена е значителна по обем експериментална работа и са получени съществени резултати. Резултатите от изследванията, свързани с дисертацията са представени на 40 фигури и 5 таблици. Изложението е стегнато и ясно. Много добро впечатление прави обобщаването на получените резултати като заключение след представянето им.

В първия раздел са описани изследванията върху влиянието на температурата и интензитета на светлината върху растежа, биохимичния състав и активността на някои антиоксидантни ензими на българският щам *Scenedesmus* sp. BGP. Установена е високата му температурна толерантност - той расте добре в температурния диапазон 16–32°C, както при нисък (НСИ, 132 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), така и при висок интензитет на светлината (ВСИ, 2x132 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), като оптималната температура за растеж е 25°C. ВСИ стимулира растежа на *Scenedesmus* sp. BGP в температурния интервал 16-32°C. Получените резултати показват, че отглеждането на *Scenedesmus* sp. BGP при по-висок светлинен интензитет и оптимална температура (или близка до оптималната) стимулира натрупването на белтъци, липиди и въглехидрати. Направен е извода, че българският щам се нарежда сред изследваните щамове *Scenedesmus*, най-добри продуценти на биомаса и ценни нейни компоненти.

За първи път са характеризирани изоензимните профили и активностите на антиоксидантните ензими супероксид дисмутаза (SOD), каталаза (CAT), глутатион редуктаза (GR) и глутатион пероксидаза (GPOD) в белтъчни екстракти на *Scenedesmus* sp. BGP, отглеждан при различни култивационни температури (16, 25 и 35°C) при нисък и висок интензитет на светлината. Култивирането при 35°C води до забавяне на растежа на *Scenedesmus* sp. BGP и повишаване на активността на CAT, GR и на изоформа с на SOD и при двата светлинни интензитета, което предполага защитната им роля за преживяването на водораслото при тези экс-

тремни условия. Предполага се, че добрият растеж и понижената активност на SOD, GR и GPOD при 16°C показват отсъствието на оксидативен стрес при най-ниската температура.

Изследван е растежът на *Scenedesmus* sp. BGP при различни начални плътности на културата и е установено, че при 0.8 g L⁻¹ се постига най-висока продуктивност на биомаса на *Scenedesmus* sp. BGP.

Значителна част от изследванията са посветени на влиянието на азотния източник върху растежа и биохимичния състав на *Scenedesmus* sp. BGP и *Chlorella vulgaris* R-06/2. Получените резултати показват, че най-добър растеж на *Scenedesmus* sp. BGP се наблюдава при използването на среди само с един азотен източник – амониев нитрат или карбамид, докато при *Chlorella vulgaris* R-06/2 средата със смес от карбамид и амониев нитрат е по-подходяща за получаване на голямо количество биомаса при по-продължително култивиране, докато средите само с един от двата азотни източника осигуряват по-бърз растеж за сметка на по-нисък максимален добив. Въз основа на получените резултати е направен извода, че карбамидът е най-подходящия азотен източник в хранителната среда поради по-ефективното му (от *Scenedesmus* sp. BGP) или по-бързо (от *Chlorella vulgaris* R-06/2) усвояване, неговата достъпност и икономическа рентабилност. Промяната на азотния източник в хранителната среда повлиява съществено освен растежа и биохимичния състав на водораслите, което може да се използва за повишаване на добива от биомаса и нейните компоненти.

Изследвано е и влиянието на вида на азотния източник в хранителната среда върху изоензимния профил и активността на метаболитни и антиоксидантни ензими, протеази и естерази по време на експоненциална и стационарна фаза на растеж на *Scenedesmus* sp. BGP и *Chlorella vulgaris* R-06/2. Установено е, че промените в активността на изследваните ензими са щам-специфични и зависят от фазата на растеж. Резултатите от тези изследвания показват метаболитната пластичност на двата щама при промяна на азотния източник в хранителната среда и времето на култивиране.

Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Дисертационният труд на Иванина Василева е едно комплексно и задълбочено изследване на физиолого-биохимични характеристики на *Scenedesmus* sp. BGP и *Chlorella vulgaris* R-06/2. За пръв път са визуализирани ензимните изоформи и са определени относителните активности на метаболитни ензими, свързващи азотния и въглеродния метаболизъм (GS/GOGAT, NAD/NADP-GDH, AAT, NAD/NADP-MDH), естерази, протеази, SOD и CAT на *Chlorella vulgaris* R-06/2 и *Scenedesmus* sp. BGP. Установено е, че българският щам *Scenedesmus* sp. BGP е сред най-добрите производители на биомаса, белтъци, въглехидрати и

липиди от изследваните щамове от род *Scenedesmus*. Биохимичните характеристики на *Chlorella vulgaris* R-06/2 са разширени и получените резултати показват, че съдържанието на въглехидрати в биомасата на българския щам на *Chlorella vulgaris* е по-високо от средните стойности за вида. Всичко това разкрива големия биотехнологичен потенциал на двата български щам.

Изводите от дисертационния са в пълно съответствие с получените резултати. Приемам посочените **научни приноси**, които имат оригинален характер.

Авторефератът е оформен съгласно изискванията и отразява основните раздели и резултати от дисертационния труд.

Преценка на публикациите по дисертационния труд

Резултатите от изследванията са публикувани в 2 научни статии, едната в специализираното научно издание *Journal of BioScience and Biotechnology*, а другата е приета за печат (междувременно е публикувана в 42, 1, 2019) в *Oxidation Communications* (международно списание с IF 0.489 за 2015 според Web of Science). Забелязани са 8 цитата на статията в *Journal of BioScience and Biotechnology*, което доказва актуалността на проблема и изследванията на докторантката. Представените публикации напълно отговарят на дисертацията и покриват изискванията на ИФРГ-БАН за допускане до защита на дисертационен труд. Част от резултатите от дисертационния труд са представени с три постерни съобщения на една международна и една национална научни конференции. На всички статии и постери, свързани с дисертационната разработка докторантката е първи автор, което доказва активното ѝ лично участие. През 2018 г., за период от три месеца е участвала в работата на Центъра за Полярна Екология към Университета на Южна Бохемия, Чехия по програмата Еразъм. Била е ръководител на проект ДФНП-207/16.05.2016 по Програма за подпомагане на младите учени в БАН на тема “Физиолого-биохимично характеризирание на новоизолирания български микрородораслов щам *Scenedesmus* sp. BGP с цел оценка на биотехнологичния му потенциал”.

Заключение

Дисертацията на Иванина Василева е задълбочено изследване, което заслужава висока оценка. Докторантката познава литературата по изследвания проблем и отлично я използва. Усвоила е редица аналитични и биохимични методи, които ще ѝ бъдат от полза при нейните бъдещи изследвания. Извършена е внушителна по обем експериментална работа и са получени научни резултати с оригинален принос. Всичко това характеризира Иванина Василева като един напълно подготвен изследовател в областта на физиологията, биохимията и био-

технологията на водораслите и е отлична предпоставка за бъдещото ѝ успешно развитие като учен.

Дисертационният труд отговаря на всички на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и на Правилника за специфичните условия и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИФРГ- БАН.

Като член на Научното жури убедено гласувам положително и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да присъди образователната и научна степен „доктор” на Иванина Ангелова Василева в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност 01.06.10 „Биохимия”.

11.04.2019 г.

Рецензент:

проф. д-р Катя Георгиева