

РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен “доктор”, Научна специалност 01.06.16. – Физиология на растенията

Автор на дисертационния труд: **Таня Ставрева Тошкова-Йотова**, докторант на самостоятелна подготовка в ИФРГ – БАН, Лаборатория “Експериментална алгология”

Тема на дисертационния труд: **“Биологична активност на продукти от *Coelastrella* sp. BGV”**

Рецензент проф. д-р Лиляна Георгиева Гилова (пенсионер, понастоящем специалист биолог в Лаборатория “Експериментална алгология” на ИФРГ – БАН)

Дисертационният труд на Таня Тошкова-Йотова обхваща 135 стандартни страници, като е структуриран в 8 глави с правилна пропорция между тях: Увод (2 стр.), Литературен обзор (28 стр., с 8 подглави), Цел и задачи (1 стр.), Материал и методи (14 стр., със 7 подглави), Резултати и обсъждане (50 стр., с 8 подглави), Изводи (2 стр.), Приноси (2 стр.), Литература (32 стр.). Списъкът с използваната литература съдържа 322 заглавия, от които 7 на кирилица. За отбелязване е, че 268 позовавания са от периода 2000-2020 г., а 17 са от 2019-2020 г. Дисертационният труд е илюстриран с 30 фигури и съдържа 12 таблици. Непосредствено след описа на Съдържанието, за улеснение е представен списък на Използваните съкращения. На последната, 135-та стр. са представени Научни публикации по темата на дисертацията и Участия в национални и международни форуми на докторантката.

През последните десетилетия микроводораслите се утвърждават като перспективен и неизчерпаем източник на биомаса и редица полезни продукти, които намират все по-широко приложение в медицината, фармацията и различни отрасли на промишлеността и селското стопанство. От особено значение са микроводорасловите продукти със специфично антитуморно действие, както и такива с широк спектър на действие срещу патогени, поради необходимостта от природни, безопасни и по-ефективни алтернативи на антитуморната терапия и масово използваните антибиотици. Въпреки значителният напредък постигнат от науката и индустрията, продължава и ще продължи изолирането и изследването на нови щамове сред огромното биоразнообразие на микроводораслите, както и разкриването и използването на потенциала на този полезен биоресурс. Това определя **актуалността и значимостта на**

дисертационния труд – получените резултати от проведените комплексни изследвания върху физиологията, биохимията и биологичната активност на нов микроводораслов щам допринасят за обогатяване на фундаменталните познания и разкриват перспективността на този български щам за приложение в практиката. **Актуалността на тематиката** е очертана в Увода на дисертацията и добре обоснована в обширния, но целенасочен Литературен обзор. В **Литературния обзор** е представена хронология на масовото култивиране на водорасли и на производството на ценни продукти от водораслова биомаса в световен мащаб. Описани са биотехнологичните основи за производство на микроводорасли, включващи изборът на подходящ вид/щам и познания за основните фактори (светлина, температура, наличие на хранителни елементи, киселинност на средата, разбъркване и аериране), влияещи върху растежа на микроводораслите. В Таблица са обобщени масово култивираните видове, ценни търговски продукти които се произвеждат от тях и области на приложението им. Особено внимание е отделено на микроводорасловите метаболити с биологична активност, разнообразието на биологичните активности, които те проявяват, и които се използват или могат да бъдат използвани в полза на човешкото здраве.

Добрата литературна осведоменост по избраната тематика и проявената способност да анализира наличната информация е позволила на Таня Тошкова-Йотова да се насочи към слабо проучен обект (микроводорасли от род *Coelastrella*), **да обоснове и формулира ясно целта на своя научен труд, както и конкретните задачи за постигане на поставената цел.**

Методите, приложени при изпълнението на дисертационния труд, са разнообразни, научно-обосновани и без съмнение позволяват получаването на коректни научни резултати. Подходящо подбраните и детайлно описани методики обхващат както култивационни и аналитични – тегловни, спектрофотометрични, хроматографски, газхроматографски-маспектрометрични, колориметрични, спектроскопски, микроскопски и др., така и екстракционни и методи за определяне на биологична активност – антибактериална, антигъбична, антитуморна и антиоксидантна (вкл. МТТ тест, оцветяване с флуоресцентни багрила, агар- и диск-дифузионен методи, метод на микроразрежданията в течна среда и др.) и показват добрата методична подготовка при изграждането на изследователския потенциал на докторантката.

Систематизирано подредените **резултати** и тяхното обсъждане са изложени на 50 страници. Резултатите са добре онагледени на общо 29 фигури и 8 таблици. Показани (на 2 графики и 1 таблица) и сравнени са скоростта на растеж,

продуктивността на биомаса и биохимичният състав на четири щама от род *Coelastrella*, сред които *Coelastrella* sp. BGV аргументирано е избран за обект на последващите изследвания. От избрания обект са получени екстракти и метаболити, общо 8 на брой. С помощта на съвременни методи са определени химични характеристики на маслен екстракт, мастни киселини и екзополизахариди (представени на 2 таблици и 7 фигури, вкл. 4 спектъра, 2 хроматограми и 1 елуационен профил), с които характеристики логично е свързана биологичната активност на тези продукти. Представени са оригинални и значими резултати за анти туморна, антибактериална и антигъбична активности на всички получени продукти. Потискащият растежа на HeLa туморни клетки специфичен ефект е илюстриран на 10 графики и 1 таблица, а морфологичните изменения в третираните туморни клетки са онагледени на 4 пана с флуоресцентно-микроскопски снимки. Разликите в антибактериалния и антигъбичен потенциал на продуктите от *Coelastrella* sp. BGV са демонстрирани на 2 светлинно-микроскопски снимки и 3 таблици. Антиоксидантният потенциал (съдържание на общи феноли, общи флавоноиди и тотална антиоксидантна активност) на алкохолен екстракт от водорасловата биомаса е представен в таблична и графична форма. **Достоверността на получените резултати** е гарантирана от коректно подържаните стерилни условия на култивиране, от трикратното провеждане на опитите и от прилагането на статистически анализи като еднофакторен дисперсионен анализ ANOVA, последван от теста на Bonferroni. Резултатите са убедителни, интерпретирани компетентно, а направеното **обсъждане** се базира на сравнителен анализ на собствените и на наличните в литературата данни от сходни изследвания с други, главно зелени микроводорасли.

Формулираните от дисертантката **изводи** (11 на брой) и **приноси** (8 на брой) са в пълно съответствие с получените резултати. Научните и научно-приложните приноси могат да бъдат обобщени най-вече като **получаване и доказване на нови факти**, което прави дисертационният труд изключително ценен. По мое мнение, по-значимите научни и научно-приложни приноси с **оригинален характер** са:

- За първи път е изолиран екзополизахарид от *Coelastrella* sp. BGV и са определени неговите молекулна маса, функционални групи и монозахариден състав;
- За първи път е установена висока и специфична активност *in vitro* на мастни киселини, неосапуняеми вещества, алкохолен екстракт и екзополизахариди от *Coelastrella* sp. BGV срещу HeLa (човешка туморна клетъчна линия от аденокарцином на шийката на матката) чрез индуциране на програмирана клетъчна смърт;

- Друг важен научно-приложен принос е установената висока антибактериална активност на мастни киселини и етанолен извлек от щам *Coelastrella* sp. BGV, спрямо по-устойчиви на въздействие Грам-отрицателни патогенни бактерии (*Escherichia coli* ATCC, *Escherichia coli* UPEC, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*);
- За първи път е установено, че *Coelastrella* sp. BGV е богат източник на естествени антиоксиданти;
- Цялостното изследване показва, че българският щам зелено микроводорасло *Coelastrella* sp. BGV е богат и перспективен източник на биомаса и продукти от нея, с потенциал за бъдещо приложение при създаване на нови природни лекарствени препарати за лечение на тумори и бактериални инфекции.

От приносите с **потвърдителен характер** ще отбележа следните:

- Разширени и обогатени са биохимичната и морфологична характеристики на българския щам зелено микроводорасло *Coelastrella* sp. BGV;
- Допълнен с нови експериментални данни е мастно-киселинният профил на *Coelastrella* sp. BGV.

Намирам за уместно да направя следните **препоръки**, които се отнасят до един формулиран и един постигнат, но невключен от докторантката приноси:

- В принос № 4, формулиран в дисертацията, би било добре да се добави механизмът по който продуктите от *Coelastrella* sp. BGV осъществяват антитуморно действие (разкриването на този механизъм по мое мнение е важен резултат с приносен характер);
- Към приносите с потвърдителен характер би било добре да се включи успешното извличане на каротеноиди от *Coelastrella* sp. BGV с растително масло, поради установените по-рано предимства на този нетоксичен разтворител пред стандартно използваните органични разтворители.

Във връзка с дисертационния труд са представени две статии, едната от които е под печат в Доклади на БАН (IF₂₀₁₈ - 0.321, SJR₂₀₁₈ - 0.21, Q2), а другата е публикувана през 2020 г. в Oxidation Communications (IF₂₀₁₉ - 0.361, SJR₂₀₁₈ - 0.21, Q3). Трудовете на Таня Тошкова-Йотова са в съавторство, като тя е първи автор и в двата, което свидетелства за **съществената ѝ роля при осъществяване на изследванията и представяне на резултатите по дисертацията**. Публикациите в научни издания, реферирани и индексирани в световноизвестни база данни с научна информация, както и представянето на резултатите на научни форуми у нас и в чужбина (устен доклад на

семинар с международно електронно участие и постерни доклади – два на международни конференции и един на международен симпозиум на еколозите) са показателни за актуалността на тематичната насоченост на изследванията и значимостта на получените резултати.

Авторефератът, в обем от 47 страници, е оформен според изискванията и отразява напълно и точно направеното и постигнатото в дисертационния труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Считам, че по актуалност на разработваната тематика, подходящо подбрани, усвоени и приложени разнообразни методи, прецизност и качество на проведените изследвания, оригиналност и значимост на научно-приложните и научни приноси, представеният ми за рецензиране дисертационен труд отговаря напълно на изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България и Правилника за неговото приложение, както и на Правилника за специфичните условия за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в ИФРГ. Със своята дисертация Тая Тошкова-Йотова се представя като отлично подготвен изследовател, с теоретични познания, методична компетентност и практически умения в областта на физиология и биохимия на микроводораслите, която може да провежда комплексни изследвания и в гранични научни области. Като член на Научното жури убедено **гласувам положително** и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да оценят по достойнство качествата на дисертационния труд и неговата авторка, като подкрепят присъждането на образователната и научна степен **“доктор”** по научната специалност **“Физиология на растенията”** на **Тая Тошкова-Йотова**.

20.11.2020 г.

София

РЕЦЕНЗЕНТ:

(проф. д-р Л. Гилова)