



ТРАКИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ	
Стара Загора	
Аграрен факултет	
Vх. №	1810
дата:	13.09.2023г.

ТРАКИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ, АГРАРЕН ФАКУЛТЕТ

РЕЦЕНЗИЯ

От: проф. Мария Богомилова Ангелова-Дянкова, дбн,
Институт по микробиология „Стефан Ангелов“, БАН
Научна област 4. Природни науки, математика и информатика,
Научно направление 4.3. Биологически науки, Научна специалност - Микробиология

Относно: конкурс за професор по научна област 4. Природни науки, математика и информатика, научно направление 4.3. Биологически науки, научна специалност Микробиология в АФ при ТРУ.

1. ИНФОРМАЦИЯ ЗА КОНКУРСА

Конкурсът е обявен за нуждите на катедра Биологически науки при Аграрния факултет на ТРУ в ДВ бр 38/28.04.2023 г.

Участвам в състава на научното жури по конкурса съгласно Заповед № 2385/03.07.2023 г. на Ректора на ТРУ.

2. ИНФОРМАЦИЯ ЗА КАНДИДАТИТЕ В КОНКУРСА

За участие в обявения конкурс е подал документи **единствен кандидат** доцент д-р Георги Георгиев Беев от Катедра Биологически науки към Аграрния Факултет на Тракийския университет. Представеният от кандидата комплект материали на хартиен/електронен носител е в съответствие с Правилника за развитие на академичния състав на ТРУ.

Доцент д-р Беев завършва висше образование през 1999 г. в Пловдивския университет „Паисий Хилendarsки“ със специалност „Екологично моделиране и експертизи“. През 2009 г. придобива образователната и научна степен „доктор“ на тема „Микотоксилогична оценка на замърсяването на зърнените култури с микроскопични гъби от род *Fusarium* и техните микотоксини“ в Тракийския университет. Научната кариера на кандидата започва през 2004 г. като Асистент по микробиология в ТРУ и преминава последователно през академичните длъжности старши и главен асистент, а през 2015 г. печели конкурс за доцент в Аграрния факултет на ТРУ. В този период, д-р Беев изпълнява едновременно и задълженията на Мениджър по качеството за Аграрен факултет и Гост-изследовател в Университета в Йоханесбург и в Техническия Университет в Мюнхен. За научния му авторитет свидетелстват и неговите отговорности като Ръководител на Централната научноизследователска лаборатория при Тракийски университет, Експерт в БАН в Съвета за иновативни материали и зелени технологии от Националния план за възстановяване и устойчивост, член на Националния съвет на LifeWatch, член на Изпълнителния съвет на

Национална научна програма „Здравословни храни за силна биоикономика и качество на живот) и др.

За професионалното израстване на доц. Беев в областта на обявения конкурс несъмнено са допринесли и големия брой български и международни обучителни курсове, между които тези в Техническия у-тет в Мюнхен, Българска агенция по безопасност на храните MoniQA Association: Food Scientist Training TÜV NORD, Bulgaria; Столична хигиенно-епидемиологична инспекция; Национален център по хигиена, медицинска екология и хранене и др.

Доц. Беев има и сериозен административен опит. Той е ръководител на секция Микробиология в катедрата, член е на Факултетния съвет на Аграрния ф-тет, член на държавни изпитни комисии и отговорник за извеждане на лекционните и практическите занятия на студенти от ОКС Бакалавър и Магистър по микробиологичните специалности.

Кандидатът развива активна дейност като член на редакционни колегии на чуждестранни издания и рецензент на научни публикации. Освен това, той е член на Съюза на учените в България. Притежава отлични компютърни умения за работа с всички широко разпространени офис-пакети и интернет приложения. Ползва английски и руски език.

3. ИЗПЪЛНЕНИЕ НА ИЗИСКВАНИЯТА ЗА ЗАЕМАНЕ НА АКАДЕМИЧНАТА ДЛЪЖНОСТ

3.1. Обща характеристика на представените трудове

Кандидатът доц. д-р Беев представя за конкурса 21 научни статии, 1 учебно пособие в съавторство (Ръководство по микробиология), 1 полезен модел и 1 публикувана заявка за патент. Всички представени трудове са извън дисертационния труд за получаване на ОНС „доктор“ и конкурса за доцент и ги приемам за рецензиране. Научните статии са в издания, реферирани и индексирани в Web of Science и Scopus. Те са вrenomирани и специализирани научни списания, включени в съответните квартили като напр.: Foods Q1, IF 5.561; Antibiotics Q1, IF 5.222, Applied Sciences Q2, IF 2.838 (3 бр); Sains Malaysiana Q2, IF 1.06 (3 бр.), Separations Q3, IF 3.344 и др. Всички статии са в международни издания и са отпечатани на английски език. На български език е публикувано учебното помагало. Резултатите на кандидата са получили отзив сред международната научна общност, те са цитирани 52 пъти и формират *h*-индекс 6 (Scopus, Web of Science). Общийт импакт фактор е 26.469.

3.2. Изпълнение на изискванията по Приложение 8.1.

- Показател А - успешно защитена дисертация за ОНС и присъдена степен „доктор“, **50 т.**
- Показател B4 – 8 научни статии със SJR в издания, реферирани в Web of Science и Scopus (Q3 – 2; Q4 – 6) = **102 точки**, при изискуеми 100 т.
- Показател Г общо – **285 точки** при изискуеми 200 т.
 - ✓ Показател Г7 - 13 научни статии (Q1 – 2; Q2 -6; Q3 – 5) = 245 точки.
 - ✓ Показател Г9 – полезен модел с издаден защитен документ - 25 точки
 - ✓ Показател Г10 - публикувана заявка за патент – 15 точки

- Показател Д – 52 цитирания (Scopus) = **104** точки при изискуеми 100 т.
- Показател Е общо – **191.5** точки при изискуеми 150 т.
 - ✓ Показател Е13 - съ-ръководител на 1 успешно защитил докторант = 25 точки
 - ✓ Показател Е14 - участие в национални научни или образователни проекти 8 бр. x 10 т = 80 точки
 - ✓ Показател Е15 - участие в международни научни или образователни проекти 4 бр. x 20 т = 80 точки
 - ✓ Показател Е20 - публикувано университетско учебно пособие в съавторство – 6 точки

Както се вижда от направената справка, доц. д-р Георги Беев покрива и надхвърля изискванията на ЗРАСРБ, като вместо изискуемите 600 т., той представя доказателства за **732.5** т. Освен това, кандидатът изпълнява и допълнителните критерии на Аграрния факултет на ТРУ.

4. ОЦЕНКА НА ПРЕПОДАВАТЕЛСКАТА ДЕЙНОСТ

Учебно-преподавателска работа е една от основните активности на кандидата и е изцяло в областта на конкурса. Тя може да се анализира в няколко аспекта – като преподавател, като съставител на учебни програми и учебни пособия и като ментор на млади кадри. Доц. Беев е преподавател вече 20 години. Той обучава студентите от БП редовно и задочно обучение по Микробиология, Основи на екотехнологията, Основи на биотехнологията, Микробиология и микробиологични методи на пречистване и Водна микробиология в няколко специалности на АФ на ТРУ. Участието му като преподавател в Магистърска програма „Управление на системите за безопасност и качество на храните“ включва лекционен курс „Микробиологичен контрол и оценка безопасността на хани и фуражи“. В чистово изражение годишна натовареност на кандидата за последната година е 543 часа.

Дейността на доц. Беев в този раздел включва и разработването на 6 учебни програми в ОКС „Бакалавър“ за студенти от специалностите Агрономство, Зооинженерство, Екология и опазване на околната среда и Рибовъдство и аквакултури.

Едновременно с това, доц. Беев много интензивно участва в подготовката на млади кадри. Той е ръководител на 7 дипломанта, успешно защитили образователна степен към бакалавърската и магистърската програма в ТРУ. Освен това е съ-ръководител на 1 успешно защитил дипломант в Департамента по Биотехнология и хранителни технологии към Университета в Йоханесбург. Доц. Беев е съ-ръководител и на 1 успешно защитил докторант.

Трябва да се отбележи и активността на кандидата като ръководител на учебни практики за студенти от Медицински колеж на ТРУ – специалност „Медицински лаборант“ и студенти от Аграрен факултет – специалност „Екология и опазване на околната среда“ в лаборатория по контрол на храните в к.к. Албена.

Доц. Беев се включва и като лектор в обучителни семинари на теми, съответстващи на обявения конкурс като напр. „Национална научна програма здравословни хани за силна

биоикономика“, „Използване на възобновяими биологични ресурси и кръгова икономика“, „Биоикономика и регионално развитие - възможности и потенциал“.

Към този раздел се отнася и представеното от кандидата учебни помагало, което може да се използва от студенти в университети или учители в средните училища.

На базата на гореизложеното, оценявам много високо учебно-преподавателската дейност на кандидата, считам че тя е значителна по обем, обхваща важни направления в областта на обявения конкурс и изпълнява мисията на преподавател в Университет.

5. ОБЩА ХАРАКТЕРИСТИКА НА ПРЕДСТАВЕНИТЕ НАУЧНИ ТРУДОВЕ И ОЦЕНКА НА НАУЧНО-ПРИЛОЖНИТЕ ПРИНОСИ

Творческа дейност на доц. д-р Георги Беев е концентрирана изцяло в областта на обявения конкурс. Оценявам я като актуална, реализирана на съвременно методично ниво и в голямата си част с перспектива за приложение. Научните трудове на кандидата, представени за конкурс, могат да се групират и анализират в следните раздели:

1. Идентификация на нови щамове микроорганизми, изолирани от различни местообитания

Значимо място в научно-изследователската дейност на кандидата заема идентификацията на бактерии и гъби от различни източници (храни, земеделски продукти и клинични изолати) - едно много важно направление в съвременната микробиология (трудове №№ 1, 2, 11). В своите разработки, доц. Беев използва модерни молекулни методи, което е гаранция за точното и пълно охарактеризиране на микрофлората, включително и на патогенните представители. Той е един от първите микробиолози в България, които прилагат тези методи за коректно таксономично определяне на видовете от род *Fusarium*, патогени по пшеницата. След предварително морфологично определяне до ниво род на 60 проби от пшенични зърна, е проведена молекулно-генетична идентификация чрез секвениране на nrDNA-ITS региона. На базата на генетичните дистанции, изолатите са групирани в два основни клъстера – единият, включващ *F. tricinctum* и *F. proliferatum*, и втори, включващ *F. equiseti*, *F. graminearum* и *F. roae*. Предложени са маркери за ранно откриване на пшеница, замърсена с щамове *Fusarium* spp.

Идентифицирането на млечнокиселите бактерии е съвременно направление, което се развива изключително бързо. В България, биволското мляко предизвиква оправдан интерес. Чрез ARDRA анализ и набор от пет референтни щама на най-често изолираните видове *Lactobacillus* са идентифицирани щамове от биволско мляко от 8 региона в страната. От анализа на моделите, генериирани след третиране с рестрикционния ензим *Hae III*, е установено, че 24 от изолатите са с профили, които съответстват на референтната 16S рДНК на *Lactobacillus casei*, а останалите 3 (чрез API 50 CHL test) – на *Lactobacillus fermentum*.

С голямо научно и приложно значение са резултатите на доц. Беев от проучванията на лекарствено-резистентни представители на род *Enterococcus*. Посредством фенотипни (конвенционални и автоматизирани) и молекулярно-генетични (мултиплексни PCR анализи)

методи са идентифицирани 110 ентерококови изолата, определена е тяхната чувствителност към антибиотици и наличието на *asa1/esp* гени.

В този раздел са направи следните по-важни приноси:

1. Определено е видовото разнообразие във важни за човешкото здраве и стопанския живот местообитания.
2. Доказано е, че rDNA-ITS региона от генома на щамове от род *Fusarium* е подходящ маркер за ранно откриване, точна и надеждна идентификация на контаминирана с *Fusarium* spp. пшеница. Навременната и точна информация е възможна стратегия за контрол на фузариозите и замърсяването с микотоксии на селскостопанската продукция.
3. Установено е разнообразието на млечнокиселата микрофлора в сурво биволско мляко от различни региони в България. Доказано е, че *L. casei* е силно адаптивен вид и доминира в изследваните преби, независимо от климатичните условия и начина на отглеждане на животните.
4. Използваните в рутинната клинична практика конвенционални методи за идентификация са ниско дискриминативни по отношение основните ентерококови видове – *E. faecalis* и *E. faecium*. Молекуларно-генетичните методи позволяват да се определи наличието на мултилекарствено резистентни ентерококи. Щамовете, притежаващи *asa1/esp* гени показват възможна връзка между регулирането на кворум-сенсинг системите и лекарствената резистентност. Демонстрирано е значението на редовния мониторинг на антимикробната резистентност на *Enterococcus* spp. и идентифицирането на вирулентните им фактори.

2. Безопасност на храните

Това направление отразява дейността на доц. Беев в полза на общественото здраве (трудове №№ 6, 7, 8). Най-голямо предизвикателство при безопасността на храните са микроорганизмите, които водят до различни заболявания. По сведения на СЗО, всяка година в световен мащаб, замърсените с микроорганизми храни са причина за 420 000 смъртни случая, като 30% от тях са при деца. В този смисъл, проучванията на кандидата се включват в първата линия на приоритетите за качество на живот, те са актуални и във фокуса на микробиологията на днешния ден. Доц. Беев и колектив отдават сериозно внимание на традиционни български храни, като напр. бялото саламурено сирене. Проучено е наличието на *Salmonella* spp. и *E. coli* в различни етапи от пригответянето и зреенето на продукта. Установено е, че количеството на патогенните бактерии се повишава значително до 7 ден, въпреки пастьоризирането на млякото. Но в процеса на зреене този брой намалява и в крайния продукт е в границите на разрешеното от действащия Регламент 1441.

Друг много полезен за здравето продукт, пчелния поленов прашец, също е обект на детайлни микробиологични изследвания. Сравнено е наличието на патогенни гъби, бактерии от род *Enterobacteriaceae* и *Staphylococcus* и млечнокисели бактерии в пресен и изсушен прашец. Данните доказват, че изсушеният прашец притежава по-добро микробиологично качество, което е в съответствие с резултатите от други автори в различни географски региони. Но за България, това са първите проведени изследвания.

Замърсяването на околната среда с пестициди също е сериозен глобален проблем с голяма актуалност и значимост за редица производства, включително и рибовъдството. Направена е оценка на риска от попадането на фунгицида мангозеб във водоеми за отглеждане на пъстърва с цел да се определи безопасността на допустимите концентрации за размножаването на рибите и за тяхната консумация.

Направените приноси могат да се формулират така:

1. Установена е динамиката на промените в количеството на патогенните бактерии *Salmonella* spp. и *E. coli* в процеса на приготвяне и зреене на бялото саламурено сирене. Прясното сирене не отговаря на микробиологичните норми, но в резултат на повишеното съдържание на сухо вещество, мазнини, протеини и сол и намаляване на влагата в крайния продукт, се отчита съответствие с приетите стандарти.

2. За първи път е характеризиран предлагания на нашия пазар пчленен прашец, което включва България в световната база данни за този продукт. Препоръчва се ефективен мониторинг и контрол за безопасността на пчелния прашец, предназначен за консумация.

3. Установено е, че широко използваният от земеделските стопани фунгицид – мангозеб, попаднал във водите, не се акумулира в пъстървови риби и не представлява риск за консуматора.

3. Определяне пробиотични характеристики на новоизолирани млечнокисели бактерии

Ползата от млечнокиселите бактерии (МКБ) за човека има дълга история, началото на която датира от древните времена. В днешни дни, нуждата от полезни за здравето храни на основата на МКБ непрекъснато нараства. Достъпните данни за световния пазар на пробиотици за 2022 г. се оцевява на 66.9 млд. \$, като се очаква да нарасне до 73.14 млд. \$ през 2023 и 101.89 млд. \$ през 2027 г. Това налага по-голям мащаб на изследванията за изолиране и характеризиране на нови щамове МКБ, за да се отговори на потребителското търсене. Именно това е научната насоченост на 3-то направление в дейността на доц. Беев и аргументира неговата актуалност и значимост (труд № 9). Новото тук е търсенето на неизползвани досега източници за изолирането им, което създава предпоставки за оригинални приноси. От преби, събрани от 8 мравуняка, населяващи секвой в местността „Сините камъни“, Сливен са изолирани 31 бактериални щама, идентифицирани като *Lacticaseibacillus paracasei*. От тях са селектирани 11 щама с изявена пробиотична активност.

Приноси:

1. Изолирани са нови автохтонни щамове *Lacticaseibacillus paracasei* от неизследван източник с пробиотични характеристики. Предлага се включването им в нови функционални храни с лечебни свойства по отношение на колоректален карцином.

4. Екология на микроорганизмите – антибактериална и antimикотична активност на новоизолирани пробиотични бактерии

Този раздел е допълнение към предходния, тъй като тук са включени разработки, касаещи биологичната активност на изолираните пробиотични бактерии (трудове №№ 9, 14, 17, 18, 20). Проучена е тяхната полезна роля в процесите на взаимодействие с патогенни

бактерии и гъби и ракови клетки. Представеният експериментален материал е значителен по обем и по актуалност. Резултатите са предпоставка за разработването на нови стратегии за човешко здраве. Супернатантите на 11 новоизолирани щама *Lacticaseibacillus paracasei* проявяват антибактериална и антифунгална активност срещу голям брой патогенни представители (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium graminearum* и клинични изолати от *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* и *Salmonella enteritidis*). Подробно и на съвременно ниво е проучена антитуморната активност на супернатанти от *Lactobacillus plantarum* на модел колоректален аденокарцином.

Доц. Беев е съавтор на обзор, в който са отразени широк спектър съвременни литературни данни за биологичната активност на *Lactobacillus plantarum*. Щамовете от този вид са известни като едни от най-активните пробиотици, с широк спектър на антибактериална и антифунгална активност и приложение във ветеринарната и хуманната медицина и хранително-вкусовата промишленост.

Считам, че по-важните приноси в този раздел касаят следното:

1. В сравнителен аспект, супернатантите на щамове *L. paracasei* са активни срещу бактерии и мицети. Антифунгалната активност е по-висока от тази на антимикотичния търговски препарат амфотерицин В. Те могат да бъдат използвани като поддържащи средства по време на терапия с антибиотици или за инхибиране растежа на резистентни гъби.
2. Щамовете *Lacticaseibacillus paracasei* инхибират развитието на 7 вида микотоксигенни гъби, разпространени в български зърнени култури.
3. Използвани индивидуално или в комбинации, супернатанти от *L. paracasei* (P4, C8 и M2.1) демонстрират обещаващи противоракови свойства.
4. Новоизолираните автохтонни щамове *Lacticaseibacillus paracasei* могат да се прилагат като добавки в нови млечни функционални храни, подпомагайки лечението и превенцията на колоректален карцином при хора.
5. Научните обзори на доц. Беев са принос в разпространение на знанията и постиженията в областта МКБ, пробиотиците и тяхното приложение.

5. Антимикробна и антиоксидантна активност на растителни екстракти

Най-голям обем от изследвания са включени в този раздел (трудове №№ 3, 13, 15, 17, 20). Всички те са в едно от най-актуалните направления в биологията, което в последното десетилетие се развива изключително интензивно – получаване и охарактеризиране на екстракти от лечебни растения. За значението на това направление говори и фактът, че размерът на световния пазар на растителни екстракти за 2022 г. се оценява на \$34.4 млд. и се очаква да достигне \$61.5 млд. през 2027 г. Разработването на нови продукти от растения се наಸърчава от СЗО и от фармацевтичната индустрия, тъй като е изчислено, че от всички съществуващи в света растителни видове, само 15% са оценени по отношение на техния фармакологичен потенциал. Проучвания, демонстриращи ефикасността и значението на лечебните растения, се провеждат в страни по целия свят. Научните трудове от този раздел

представят приносите на доц. Беев за включване на българските лечебни растения в световната база данни.

Проучени са екстракти от ендемичния вид *Betonica bulgarica* и растителните видове *Solidago virgaurea* L., *Acorus calamus*, *Chlorella vulgaris*, *Lemna minuta* и *Scenedesmus dimorphus*. Метаноловият екстракт от корените на *Betonica bulgarica* проявява антиоксидантна и антибактериална активност към *Staphylococcus aureus* и *Bacillus cereus*, без ефект срещу патогенни гъби. Със съвременни методи (RP-HPLC-PDA и FT-IR анализи) са получени данни за кинетиката на екстракция на катехин, епигалокатехин и кверцетин в екстракт от лечебното растение ранилист (*Solidago virgaurea* L.). Установено е, че нивото на антиоксидантния потенциал е в зависимост от времето за екстракция и концентрацията на отбелязаните съединения. Интерес представлява екстракт със 70% етанол, при който се отчитат резултати, по-високи от тези с чист кверцетин. Същият екстракт е ефективен и като антибактериален агент срещу *S. aureus* и *P. aeruginosa*. За първи път са използвани цветове, стъбла, коренища и грудки от *Stevia rebaudiana* за екстракция на полезни антиоксидантни и антибактериални вещества. С HPLC е доказано общото фенолно съдържание, а чрез UV-Vis анализи – радикал-обезвреждащ ефект. Най-ясно изразен инхибиращ ефект се отчита срещу *S. aureus* при използване на екстракти от цветове. Листата също съдържат съединения с добра антиоксидантна и антибактериална активност.

Искам да отбележа като значимо постижение, установената антифунгалната активност на метанолови екстракти от *Acorus calamus* L. срещу осем мицетни щама от видовете *F. oxysporum*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. carbonarius*, *A. alternata*, *P. chrysogenum* и *F. graminearum*. Екстракти от *Chlorella vulgaris*, *Lemna minuta* и *Scenedesmus dimorphus* са активни срещу 2 или 3 от тестваните гъби. Не е установена зависимост между антифунгалната активност и антиоксидантното действие на екстракти. Най-добър радикало-обезвреждащ ефект се отчита при *Scenedesmus dimorphus*, следван от този на *Acorus calamus* и *Lemna minuta*.

В този раздел са направи следните по-важни приноси:

1. Установен е потенциалът на редица растения да инхибират растежа и развитието на патогенни бактерии и гъби. Някои от тях са перспективни за приложение.
2. Метаноловите екстракти от корени на *Betonica bulgarica* проявяват значима антимикробиална активност, която зависи от региона на изолиране.
3. Етаноловите екстракти от *Solidago virgaurea* могат да намерят приложение:
 - като антибактериални агенти – в хранителната индустрия като природна алтернатива на химическите консерванти и за контрол на заболявания, свързани с хранително отравяне;
 - като антиоксиданти – в състава на различни фармацевтични формули.
4. Ефективността на метаноловите екстракти от *Stevia rebaudiana* е в зависимост от използваната част на растението и от местообитанието му. Експерименталните резултати предполагат, че климатичните условия на България са много подходящи за отглеждане на растения с високо съдържание на антиоксиданти.

5. Установена е антифунгалната и антиоксидантна активност на водните растения *Acorus calamus*, *Chlorella vulgaris*, *Lemna minor* и *Scenedesmus dimorphus* срещу щамове гъби, резистентни към търговския препарат амфотерицин В.

- Екстрактът от *Acorus calamus* показва най-голям потенциал за инхибиране развитието на мицетни щамове;
- Екстрактът от *Scenedesmus dimorphus*, съдържащ значими количества flavonoidи, успешно обезврежда свободни окси-радикали и понижава нивото на оксидативния стрес.

6. Микробиология на околната среда и оползотворяване на отпадни продукти

Процесите на урбанизация и икономическо развитие, екстремно ускорени през последните десетилетия, са причина за замърсяването на околната среда. Ситуацията налага използването на съвременни технологии и създаването на иновативни решения за опазване ѝ. В този аспект на микробната екология са фокусирани трудовете на кандидата в следващото направление (трудове №№ 5, 10, 16, 19, 21). Друга важна характеристика на проведените експерименти е тяхното регионално значение. Направена е микробиологична и агробиологична оценка на отпадни води, индустриски произведен компост и природни води.

С микробиологични и физико-химични методи е проучена възможността отпадни води от утайките на градската пречиствателна станция и тази към предприятие за преработка на птиче мясо да се използват за вермикомпостиране. Установено е съдържание на чревни патогени (*Salmonella* spp.) и спорови форми (*C. perfringens*) над допустимите нива, регламентирани в българското законодателство. Направена е оценка на микробиологичното качество и физико-химическите свойства на индустриски компост от регионалното депо за неопасни отпадъци (РДНО), разположено в близост до град Харманли. Трябва да се отбележи и дейността на кандидата за намиране на нови решения за пречистване на отпадните води. Култивирането на микроводорасли от видовете *Nannochloropsis oculata* и *Tetraselmis chuii* подобрява санитарните им показатели. В проучванията на доц. Беев заемат своето място и природни водоизточници. Направена е екологична и микробиологична оценка на водите от язовир Овчарица, използвани за охлаждане в ТЕЦ и рибовъдство. Изводите характеризират тези води като непригодни за напояване.

Тук се очертават следните приноси:

1. Високото съдържание на чревни патогени и спорови форми доказва, че отпадните води от тестваните пречиствателни станции не са с необходимото микробиологично качество и не трябва да се използват за вермикомпостиране.
2. Доказано е, че индустриски произведен компост от РДНО, Харманли отговаря на микробиологичните норми и може да се използва за торене на почва.
3. За пръв път в България чрез т. нар. Fertilizing Index (FI) е определен потенциала на индустриски произведен компост за да бъде използван за наторяване.
4. Предложен е метод за подобряване санитарните показатели на отпадни води чрез култивиране на аквакултури.

5. Определено е екологичното и микробиологично състояние на водите в язовир Овчарица в съответствие с Рамковата директива за водите 2000/60/EO (ЕО, 2000). Тези води са бедни на хлорофил, не надвишават изискванията относно съдържанието на пестициди, но съдържание на коли форми и чревни патогени ги характеризира като неизползвани за напояване.

7. Антимикробна резистентност и quorum-sensing регулиращи фактори при ентерококки

Антибиотичната резистентност при патогенните бактерии е един от ключовите проблеми на 21 век и една от най-големите заплахи за глобалното здраве днес. Тя може да възникне по естествен път, но злоупотребата с антибиотици ускорява процеса. През последните две десетилетия представителите на род *Enterococcus* са един тревожен проблем за клиничната медицина. Те се идентифицират непрекъснато като агенти на нозокомиални инфекции с нарастваща честота, успоредно с натрупането на антимикробна резистентност към повечето одобрени в момента агенти, а редица щамове са мултирезистентни. В резултат на това, ентерококите се очертават като едно от водещите клинични предизвикателства. Изследванията в това направление са фокусирани именно върху този проблем (труд № 11). Чрез мултиплексен PCR анализ са идентифицирани 110 клинични изолата, принадлежащи към род *Enterococcus* (*E. faecalis* и *E. faecium*). Направена е оценка на модела на антимикробна резистентност и анализ на честотата на отговорните за кворум-sensing гени (*asl1* и *esp*) в изолираните щамове. Голям брой от мултилекарствените ентерококки притежават *asl1/esp* гени.

По-важните приноси могат да се формулират по следния начин:

1. С комплексно изследване, включващо микробиологични и молекулярно-генетични методи от клинични преби са идентифицирани изолати от род *Enterococcus*.
2. Получени са нови данни за връзката между по-високата вирулентност и наличието на гени, кодиращи фактори на вирулентност.
3. Получени са нови знания за мултилекарствената резистентност на ентерококки от клинични изолати. Предполага се механизъм, свързан с кворум-sensing регулацията.
4. За ефективен контрол на инфекциите се препоръчва редовен мониторинг на антимикробната резистентност на *Enterococcus* spp. и точното идентифициране на вирулентните фактори.
5. Разработени са нови или модифицирани методи за работа с клинично-значими ентерококки, готови за приложение в практиката.

- Метод за бърза и надеждна идентификация на щамове на базата на мултиплексен PCR анализ;
- Молекулни методи за едновременно доказване на quorum-sensing детерминирани гени и такива, кодиращи фактори на вирулентност;
- За първи път у нас е разработена и въведена мултиплексна PCR методика за доказване присъствието на гени (TEM, *emeA*, *aac(6')/aph(2")*, *vanA*, *vanB*), кодиращи антимикробна лекарствена резистентност сред клинични щамове ентерококки;

➤ Метод за количествено определяне на катехин с антибактериални свойства, чрез приложение на UV/Vis и FT-IR спектроскопия.

Към научно-приложните приноси трябва да се включат и тези, на които са формулирани полезните модели и публикуваната заявка за патент.

6. УЧАСТИЯ В НАУЧНОИЗСЛЕДОВАТЕЛСКИ ПРОЕКТИ

Кандидатът представя информация за участие в 12 изследователски и образователни проекти (8 национални и 4 международни), което очертава изключително активна проектна дейност. Тук искам да отбележа такива значими проекти като напр. Национален план за възстановяване и устойчивост, Инвестиция C2I2; Национална пътна карта за научна инфраструктура - „ПЛАНТХЕЛТ“; Национална научна програма „Интелигентно растениевъдство“; Национална научна програма „Здравословни храни за силна биоикономика и качество на живот“; Национална програма „Европейски научни мрежи“ – Проект „GREENANIMO“ и др. От проектите с международно финансиране се откражват INTERREG, Greece – Bulgaria; ERASMUS-EDU-2021-PI-ALL-INNO-BLUEPRI; Horizon 2020 и FP7 programme Marie Curie. Всички те са в областта на обявения конкурси и касаят неговите основни направления на изследване и преподаване.

7. КРИТИЧНИ ЗАБЕЛЕЖКИ И ПРЕПОРЪКИ

Към представените материали на доц. Беев нямам критични забележки. Те отговарят на темата на конкурса, както по обем така и по качество, с което са спазени и дори надхвърлени препоръчителните показатели за заемане на академичната длъжност „Професор“.

В предвид квалификацията на доц. Г. Беев в актуални научни направления и уменията му като преподавател и изследовател, препоръчвам по-активно участие като ръководител на проекти.

8. ЛИЧНИ ВПЕЧАТЛЕНИЯ

Познавам отдавна доц. д-р Георги Беев и от контактите си с него съм с впечатлението, че това е един активен преподавател и учен, компетентен и ерудиран в областта на съвременните направления на микробиологията, търсен партньор за разработване на проекти. Тематиката на публикациите му е съвременна и много актуална, в центъра на важни проблеми от 21 век. Той за първи път въведе молекулярно-генетичните методи в проучванията относно щамове *Fusarium* sp., патогенни за житни култури. Доц. Беев продължава и традицията в катедрата и конкретно в секцията да се разработват проблеми от регионално значение.

9. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Документите и материалите, представени от доц. д-р Георги Беев **отговарят на всички** изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ТРУ. Кандидатът е представил **достатъчен** брой научни трудове, публикувани след материалите, използвани при защитата

на ОНС „доктор“ и на академичната длъжност „доцент“. Научната и преподавателската квалификация на доц. Беев е несъмнена. Постигнатите резултати в учебната и научно-изследователската дейност напълно съответстват на минималните национални и допълнителните изисквания на Аграрния факултет, приети във връзка с Правилника на ТРУ за приложение на ЗРАСРБ.

Искам да подчертая, че доц. д-р Георги Беев е утвърден и перспективен преподавател и учен в областта на настоящия конкурс. Преподавателската му дейност съответства на актуалните изисквания на обучението във висшето образование. Автор и съавтор е на учебни програми, учебни помагала, работи активно с дипломанти и докторанти. Той е търсен партньор в разработването на научни проекти и активен член на екипите, с които работи. Представените научни трудове го определят като професионално компетентен специалист. Те са публикувани вrenomирани издания и са станали известни на нашата и международна научна общност. Формулираните научни и приложни приноси са база за следващи разработки. Участието му в задачи с приложен характер са свидетелство за неговото отговорно отношение към въпросите от практиката.

След запознаване с представените в конкурса материали и научни трудове, след анализ на тяхната значимост и съдържащи се в тях научни и научно-приложни приноси давам своята **положителна** оценка и **убедено** препоръчам на Научното жури да изготви доклад-предложение до Факултетния съвет на Аграрния факултет за избор на **доцент д-р Георги Георгиев Беев** на академичната длъжност „**ПРОФЕСОР**“ в Тракийския университет по област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление Биологически науки, Научна специалност - Микробиология.

12.09.2023 г

София

Рецензент:

/проф. Мария Ангелова, дбн/



TRAKIA UNIVERSITY, AGRICULTURAL FACULTY

REVIEW

by **Prof. Maria Bogomilova Angelova-Dyankova**, DSc, The Stephan Angeloff Institute of Microbiology, Bulgarian Academy of Sciences

Scientific area 4. Natural Sciences, Mathematics and Informatics, 4.3. Biological sciences, Scientific specialty Microbiology

Subject: Competition for PROFESSOR in the Faculty of Agriculture at Trakia University in the field of higher education 4. Natural Sciences, Mathematics, and Informatics; professional field 4.3. Scientific specialty Microbiology

1. INFORMATION ABOUT THE COMPETITION

The contest was announced for the needs of the Department of Biological Sciences at the Faculty of Agriculture of TRU in the State Gazette No. 38/28.04.2023.

I am participating in the scientific jury for the competition according to Order № 2385/03.07.2023 of the Rector of TRU.

2. INFORMATION ABOUT THE CANDIDATES IN THE COMPETITION

For participation in the announced competition, a single candidate Associate Professor Georgi Georgiev Beev, PhD, from the Department of Biological Sciences at the Faculty of Agriculture at Trakia University has submitted documents. The set of materials submitted by the candidate is in accordance with the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria and the Regulations of TRU.

Assoc. Prof. Beev graduated in 1999 from Plovdiv University "Paisii Hilendarski" with a degree in Ecological Modelling and Expertise. In 2009 he obtained the educational and scientific degree "Doctor" on the topic "Mycotoxicological assessment of the contamination of cereals with microscopic fungi of the genus *Fusarium* and their mycotoxins" at Trakia University. The candidate's scientific career started in 2004 as an Assistant Professor of Microbiology at TRU and progressed successively through the academic positions of Senior and Senior Assistant Professor, and in 2015 he won a competition for Associate Professor at the Faculty of Agriculture of TRU. During this period, Dr. Beev also performed the duties of Quality Manager for the Faculty of Agriculture and Guest Researcher at the University of Johannesburg and the Technical University of Munich. His scientific authority is also evidenced by his responsibilities as Head of the Central Research Laboratory at Trakia University, BAS Expert on the Innovative Materials and Green Technologies Council of the National Recovery and Sustainability Plan, member of the National Board of LifeWatch, member of the Executive Board of the National Science Program "Healthy Foods for a Strong Bioeconomy and Quality of Life), etc.

A great number of Bulgarian and international training courses, including those at the Technical University of Munich, Bulgarian Food Safety Agency MoniQa Association: Food Scientist Training TÜV NORD, Bulgaria; Sofia Hygiene and Epidemiological Inspection; National Center for Hygiene, Medical Ecology, and Nutrition, etc. has undoubtedly contributed to the professional growth of Assoc. Prof. Beev in the field of the announced competition.

Assoc. Prof. Beev has also serious administrative experience. He is the Head of the Section of Microbiology in the Department, a member of the Faculty Council at the Faculty of Agriculture, a member of the State Examination Committees, and responsible for the delivery of lecture and practical classes to students of the Bachelor's and Master's degree in Microbiology.

The candidate is active as a member of Editorial Boards of foreign journals and a reviewer of scientific publications. In addition, he is a member of the Union of Scientists in Bulgaria. He possesses excellent computer skills to work with all widespread office packages and Internet applications. He is fluent in English and Russian.

3. FULFILLING THE REQUIREMENTS FOR THE ACADEMIC POSITION

3.1. General characteristics of the submitted works

The candidate Assoc. Prof. Dr. Beev submitted 21 scientific publications, 1 co-authored practical guide (Manual of Microbiology), 1 utility model, and 1 published patent application. All submitted works are outside the dissertation for the PhD and the competition for Associate Professor. Thus, I accept them for review. The scientific publications are in journals refereed and indexed in Web of Science and Scopus. They are in reputed and specialized scientific journals included in the respective quartiles e.g. Foods Q1, IF 5.561; Antibiotics Q1, IF 5.222, Applied Sciences Q2, IF 2.838 (3 pcs); Sains Malaysiana Q2, IF 1.06 (3 pcs), Separations Q3, IF 3.344 etc. All articles are in international journals and printed in English. The textbook is published in Bulgarian. The candidate's results have received a response from the international scientific community, they have been cited 52 times and form h-index 6 (Scopus, Web of Science). The total Impact Factor is 26.469.

3.2. Meeting the requirements of Annex 8.1.

- **Indicator A** - successfully defended dissertation for the PhD degree, **50 pts**.
- **Indicator C4** - 8 scientific articles with SJR in Web of Science and Scopus refereed journals (Q3 - 2; Q4 - 6) = **102 points**, with 100 points required.
- **Indicator D total - 285 points** in total with 200 points required.
 - ✓ Indicator D7 - 13 research papers (Q1 - 2; Q2 -6; Q3 - 5) = 245 points.
 - ✓ Indicator D9 - utility model with a protected document - 25 points
 - ✓ Indicator D10 - published patent application - 15 points
- **Indicator E** - 52 citations (Scopus) = 104 points out of 100 points required.
- **Indicator F total - 191.5 points** out of 150 points required.
 - ✓ Indicator F13 - Co-supervisor of 1 successfully defended PhD student = 25 points
 - ✓ Indicator F14 - participation in national scientific or educational projects 8 x 10 points = 80 points

- ✓ Indicator F15 - participation in international scientific or educational projects 4 pcs. x 20 pts = 80 points
- ✓ Indicator E20 - co-authored university textbook published - 6 points

As can be seen from the analysis, Assoc. Prof. Georgi Beev meets and exceeds the requirements of the LDASRB, as instead of the required 600 points, he provides evidence for **732.5** points. In addition, the candidate fulfills the additional criteria of the Faculty of Agriculture of the TRU.

4. EVALUATION OF THE TEACHING ACTIVITY

Education and teaching work is one of the main activities of the candidate and is entirely in the field of competition. It can be analyzed in several aspects – as a teacher, as a compiler of study programs and teaching aids, and as a mentor of young staff. Assoc. Prof. Beev has been a teacher for 20 years. He teaches students in the Bachelor Program in Microbiology, Fundamentals of Ecotechnology, Fundamentals of Biotechnology, Microbiology and Microbiological Purification Methods, and Aquatic Microbiology in several specialties of the FA of TRU. His involvement as a teacher in the Master's Program "Management of Food Safety and Quality Systems" includes a lecture course "Microbiological Control and Assessment of Food and Feed Safety". In numerical terms, the candidate's annual workload for the final year is 543 hours.

Assoc. Prof. Beev's activity in this section also includes the development of 6 study programs in the Bachelor Program for students from the specialties of Applied Sciences, Agronomy, Animal Engineering, Ecology and Environmental Protection, and Fisheries and Aquaculture.

At the same time, Assoc. Prof. Beev is very intensively involved in the training of young staff. He is the supervisor of 7 graduates who successfully defended their degrees in the bachelor's and master's programs at TRU. He is also the co-supervisor of 1 successfully defended diploma in the Department of Biotechnology and Food Technology at the University of Johannesburg. Assoc. Prof. Beev is a co-supervisor of 1 successfully defended doctoral student.

It should also be noted the candidate's activity as a head of training practices for students from the Medical College of TRU - specialty "Medical Laboratory Technician" and students from the Faculty of Agriculture - specialty "Ecology and Environmental Protection" in a food control laboratory in the village of Albena.

Assoc. Prof. Beev also participates as a lecturer in training seminars on topics corresponding to the announced competition, such as "National scientific program of healthy foods for a strong bioeconomy", "Usage of renewable biological resources and circular economy", "Bioeconomy and regional development - opportunities and potential".

This section also refers to the study aid submitted by the candidate, which can be used by university students or secondary school teachers.

Based on the above, I highly value the educational and teaching activities of the candidate, I believe that it is significant in volume, covers important directions in the field of the announced competition, and fulfills the mission of a university teacher.

5. GENERAL CHARACTERISTICS OF THE PRESENTED SCIENTIFIC WORKS AND EVALUATION OF SCIENTIFIC AND APPLIED CONTRIBUTIONS

The creative activity of Assoc. Prof. Georgi Beev is concentrated entirely in the field of the announced competition. I appreciate it as up-to-date, implemented at a modern methodical level, and for the most part, with a perspective for application. The candidate's scientific works submitted for competition can be grouped and analyzed in the following sections:

1. Identification of new strains of microorganisms isolated from different habitats

The identification of bacteria and fungi from various sources (food, agricultural products, and clinical isolates) occupies a significant place in the candidate's research activity - a very important direction in a modern Microbiology (papers No. 1, 2, 11). In his activity, Assoc. Prof. Beev uses modern molecular methods, which is a guarantee for the accurate and complete characterization of the microflora, including the pathogenic representatives. He is one of the first microbiologists in Bulgaria to apply these methods for the correct taxonomic determination of *Fusarium* species, wheat pathogens. After preliminary morphological determination to the genus level of 60 wheat grain samples, molecular genetic identification was carried out by sequencing the nrDNA-ITS region. Based on genetic distances, the isolates grouped into two main clusters – one comprising *F. tricinctum* and *F. proliferatum*, and a second comprising *F. equiseti*, *F. graminearum*, and *F. poae*. Markers have been proposed for the early detection of wheat contaminated with strains of *Fusarium* spp.

Identification of lactic acid bacteria is a modern direction that is developing extremely quickly. In Bulgaria, buffalo milk arouses justified interest. Through ARDRA analysis and a set of five reference strains of the most frequently isolated *Lactobacillus* species, buffalo milk strains from 8 regions of the country were identified. From the analysis of the patterns generated after treatment with the restriction enzyme Hae III, it was found that 24 of the isolates had profiles that corresponded to the reference 16S rDNA of *Lactobacillus casei* and the remaining 3 (by API 50 CHL test) to *Lactobacillus fermentum*.

The results of Assoc. Prof. Beev from the studies of drug-resistant representatives of the genus *Enterococcus* are of great scientific and applied importance. Using phenotypic (conventional and automated) and molecular genetic (multiplex PCR analyses) methods, 110 enterococcal isolates were identified, and their sensitivity to antibiotics and the presence of asa1/esp genes were determined.

In this section, the following more important contributions are made:

1. Species diversity in habitats important for human health and economic life was evaluated.
2. The rDNA-ITS region of the genome of *Fusarium* strains has been shown to be a suitable marker for early detection, accurate, and reliable identification of *Fusarium* spp. in contaminated wheat. Timely and accurate information should be a possible strategy for controlling *Fusarium* wilt and mycotoxin contamination of agricultural produce.
3. The diversity of the lactic acid microflora in raw buffalo milk from different regions in Bulgaria was established. It has been proven that *L. casei* is a highly adaptable species and

dominates the studied samples, regardless of the climatic conditions and the way the animals are kept.

4. Conventional identification methods used in routine clinical practice are low discriminative to the main enterococcal species – *E. faecalis* and *E. faecium*. Molecular genetic methods make it possible to determine the presence of multidrug-resistant enterococci. The strains possessing *asl1/esp* genes show a possible link between the regulation of quorum-sensing systems and drug resistance. The importance of regular monitoring of antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. and the identification of their virulence factors has been demonstrated.

2. Food safety

This direction reflects the activities of Assoc. Prof. Beev in favor of public health (papers No. 6, 7, 8). The biggest challenge in food safety is microorganisms that cause various diseases. According to the WHO, each year globally, food contaminated with microorganisms is the cause of 420,000 deaths, 30% of which are among children. In this sense, the candidate's studies are included in the first line of priorities for quality of life, they are relevant and in the focus of microbiology today. Assoc. Prof. Beev and his team pay serious attention to traditional Bulgarian foods, such as white brine cheese. The presence of *Salmonella* spp. and *E. coli* was investigated at various stages of preparation and ripening of the product. It was found that the amount of pathogenic bacteria increased significantly up to day 7, despite the pasteurization of the milk. But in the ripening process, this number decreases and in the final product, it is within the limits of what is allowed by the current Regulation 1441.

Another very beneficial product for health, bee pollen, is also the subject of detailed microbiological research. The presence of pathogenic fungi, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, and lactic acid bacteria in fresh and dried pollen was compared. The data prove that the dried pollen has a better microbiological quality, which is consistent with the results of other authors in different geographical regions. However, for Bulgaria, these are the first studies conducted.

Environmental pollution with pesticides is also a serious global problem with great relevance and importance for several industries, including fish farming. An assessment of the risk of the fungicide mangozeb entering trout ponds was carried out to determine the safety of permissible concentrations for fish reproduction and consumption.

The contributions made can be formulated as follows:

1. The dynamics of changes in the amount of pathogenic bacteria *Salmonella* spp. and *E. coli* in the process of making and ripening the white brine cheese were determined. Fresh cheese does not meet the microbiological norms, but as a result of the increased content of dry matter, fat, protein, and salt and a decrease in moisture in the final product, compliance with the accepted standards is reported.

2. For the first time, bee pollen offered on our market has been characterized, which includes Bulgaria in the global database for this product. Effective monitoring and control were recommended for the safety of bee pollen intended for consumption.

3. It has been established that the fungicide mangozeb, which is widely used by farmers, does not accumulate in trout fish and does not pose a risk to the consumer.

3. Determination of probiotic characteristics of newly isolated lactic acid bacteria

The benefit of lactic acid bacteria (LAB) to humans has a long history, the beginning of which dates back to ancient times. Nowadays, the need for healthy foods based on LAB is constantly increasing. Available data for the global probiotics market for 2022 was evaluated at \$ 66.9 billion, which is expected to grow to \$73.14 billion in 2023 and to \$101.89 billion in 2027. This necessitates a larger scale of research to isolate and characterize new LAB strains to meet consumer demand. This is precisely the scientific focus of the 3rd direction in the activity of Assoc. Prof. Beev, argues for its relevance and significance (paper no. 9). A novelty here is the search for previously unused sources to isolate them, which creates the prerequisites for original contributions. Thirty-one bacterial strains identified as *Lacticaseibacillus paracasei* were isolated from samples collected from 8 anthills inhabiting redwoods in the area "Sinite Kamani", Sliven. From them, 11 strains with pronounced probiotic activity were selected.

Contribution:

1. New indigenous strains of *Lacticaseibacillus paracasei* from an unexplored source with probiotic characteristics were isolated. Their inclusion in new functional foods with curative properties in relation to colorectal carcinoma was proposed.

4. Ecology of microorganisms; antibacterial and antifungal activity of newly isolated probiotic bacteria

This section is an addition to the previous one, as it includes studies concerning the biological activity of isolated probiotic bacteria (papers No. 9, 14, 17, 18, 20). Their beneficial role in the processes of interaction with pathogenic bacteria, fungi, and cancer cells has been studied. The presented experimental material is significant in volume and relevance. The results are a prerequisite for the development of new strategies for human health. The supernatants of 11 newly isolated strains of *Lacticaseibacillus paracasei* exhibit antibacterial and antifungal activity against a large number of pathogenic representatives (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium graminearum* and clinical isolates from *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enteritidis*). The antitumor activity of supernatants from *Lactobacillus plantarum* on a colorectal adenocarcinoma model was studied in detail and at a modern level.

Assoc. Prof. Beev is a co-author of a review, which reflects a wide range of recent literature data on the biological activity of *Lactobacillus plantarum*. Strains of this species are known as one of the most active probiotics, with a wide spectrum of antibacterial and antifungal activity and application in veterinary and human medicine and the food industry.

I consider the more important contributions in this section to be the following:

1. In a comparative aspect, supernatants of *L. paracasei* strains were active against bacteria and mycetes. The antifungal activity is higher than that of the commercial antifungal preparation amphotericin B. They can be used as supportive agents during antibiotic therapy or to inhibit the growth of resistant fungi.

2. *Lacticaseibacillus paracasei* strains inhibited the development of 7 types of mycotoxigenic fungi, common in Bulgarian cereals.

3. Used individually or in combination, *L. paracasei* supernatants (P4, C8 and M2.1) demonstrated promising anticancer properties.

4. Newly isolated indigenous strains of *Lacticaseibacillus paracasei* can be applied as additives in novel dairy functional foods, supporting the treatment and prevention of colorectal carcinoma in humans.

5. Assoc. Prof. Beev's scientific reviews are a contribution to the dissemination of knowledge and achievements in the field of LAB, probiotics, and their application.

5. Antimicrobial and antioxidant activity of plant extracts

The largest volume of research is included in this section (papers No. 3, 13, 15, 17, 20). All of them are in one of the most current directions in biology, which in the last decade has been developing extremely intensively - obtaining and characterizing extracts from medicinal plants. The importance of this direction is also indicated by the fact that the size of the global plant extracts market for 2022 is estimated at \$34.4 billion and is expected to reach \$61.5 billion in 2027. The development of new plant products is encouraged by the WHO and the pharmaceutical industry, as it has been estimated that of all plant species existing in the world, only 15% have been evaluated for their pharmacological potential. Studies demonstrating the efficacy and importance of medicinal plants are being conducted in countries around the world. The scientific works of this section present the contributions of Assoc. Prof. Beev for the inclusion of Bulgarian medicinal plants in the world database.

Extracts from the endemic species *Betonica bulgarica* and the plant species *Solidago virgaurea* L, *Acorus calamus*, *Chlorella vulgaris*, *Lemna minuta*, and *Scenedesmus dimorphus* were studied. The methanol extract of the roots of *Betonica bulgarica* exhibited antioxidant and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*, without effect against pathogenic fungi. Using modern methods (RP-HPLC-PDA and FT-IR analyses), data were obtained on the extraction kinetics of catechin, epigallocatechin, and quercetin in an extract of the medicinal plant *Solidago virgaurea* L. The level of antioxidant potential was found to be time- and concentration-dependent. Of interest is an extract with 70% ethanol, in which results higher than those with pure quercetin are reported. The same extract is also effective as an antibacterial agent against *S. aureus* and *P. aeruginosa*. For the first time, flower stems, rhizomes, and tubers of *Stevia rebaudiana* were used for the extraction of beneficial antioxidant and antibacterial substances. The total phenol content was proven by HPLC and the radical-neutralizing effect by UV-Vis analyses. The most pronounced inhibitory effect was reported against *S. aureus* when using flower extracts. The leaves also contain compounds with good antioxidant and antibacterial activity.

I would like to note as a significant achievement the established antifungal activity of methanolic extracts of *Acorus calamus* L. against eight fungal strains of the species *F. oxysporum*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. carbonarius*, *A. alternata*, *P. chrysogenum*, and *F. graminearum*. Extracts of *Chlorella vulgaris*, *Lemna minuta*, and *Scenedesmus dimorphus* were active against 2 or 3 of the fungi tested. No relationship was established between the antifungal

and the antioxidant activity of the extracts. The best radical-neutralizing effect was reported for *Scenedesmus dimorphus*, followed by that of *Acorus calamus* and *Lemna minuta*.

In this section, the following more important contributions are made:

1. The potential of several plants to inhibit the growth and development of pathogenic bacteria and fungi has been established. Some of them are promising for application.

2. Methanol extracts of *Betonica bulgarica* roots exhibit significant antimicrobial activity that depends on the region of isolation.

3. Ethanol extracts of *Solidago virgaurea* can be used:

- as antibacterial agents - in the food industry as a natural alternative to chemical preservatives and to control diseases related to food poisoning;
- as antioxidants - in the composition of various pharmaceutical formulas.

4. The effectiveness of the methanol extracts of *Stevia rebaudiana* depends on the part of the plant used and on its habitat. The experimental results suggest that the climatic conditions of Bulgaria are very suitable for growing plants with a high content of antioxidants.

5. The antifungal and antioxidant activity of the aquatic plants *Acorus calamus*, *Chlorella vulgaris*, *Lemna minuta*, and *Scenedesmus dimorphus* against strains of fungi resistant to the commercial preparation amphotericin B was established.

- The extract of *Acorus calamus* shows the greatest potential for inhibiting the development of fungal strains;
- *Scenedesmus dimorphus* extract, containing significant amounts of flavonoids, successfully neutralizes free oxy-radicals and lowers the level of oxidative stress.

6. Microbiology of the environment and utilization of waste products

The processes of urbanization and economic development, extremely accelerated in recent decades, are the cause of environmental pollution. The situation requires the use of modern technologies and the creation of innovative solutions for its protection. In this aspect of microbial ecology, the works of the candidate in the next direction are focused (papers No. 5, 10, 16, 19, 21). Another important characteristic of the conducted experiments is their regional significance. A microbiological and agroecological assessment of wastewater, industrially produced compost, and natural waters was made.

Using microbiological and physico-chemical methods, the possibility of using wastewater from the sediments of the city sewage treatment plant and that of a poultry meat processing plant for vermicomposting was studied. The content of intestinal pathogens (*Salmonella* spp.) and spore-forming bacteria (*C. refringens*) above the permissible levels regulated in Bulgarian legislation was found. An assessment of the microbiological quality and physicochemical properties of industrial compost from the regional landfill for non-hazardous waste (NDW) located near the city of Harmanli was made. The applicant's activity in finding new solutions for wastewater treatment should also be noted. Cultivation of microalgae from the species *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis chuii* improves their sanitary performance. Natural water sources also take their place in the studies of Assoc. Prof. Beev. An ecological and microbiological assessment of the waters

from the Ovcharitsa dam, used for cooling in the thermal power plant and fish farming, was made. The conclusions characterize these waters as unfit for irrigation.

The following contributions are outlined here:

1. The high content of enteric pathogens and spore forms proved that the wastewater from the tested treatment plants is not of the required microbiological quality and should not be used for vermicomposting.
2. Industrially produced compost from NDW, Harmanli has been shown to meet microbiological standards and can be used for soil fertilization.
3. For the first time in Bulgaria, through the so-called Fertilizing Index (FI), the potential of industrially produced compost to be used for fertilization was determined.
4. A method for improving the sanitary parameters of wastewater by cultivating aquaculture was proposed.
5. The ecological and microbiological state of the waters in the Ovcharitsa dam was determined in accordance with the Water Framework Directive 2000/60/EC (EC, 2000). These waters are poor in chlorophyll, and do not exceed the requirements regarding the content of pesticides, but the content of coliforms and enteric pathogens characterizes them as unusable for irrigation.

7. Antimicrobial resistance and quorum-sensing regulatory factors in enterococci

Antibiotic resistance in pathogenic bacteria is one of the key problems of the 21st century and one of the greatest threats to global health today. It can occur naturally, but the abuse of antibiotics accelerates the process. In the last two decades, representatives of the genus *Enterococcus* have been an alarming problem for clinical medicine. They were continuously identified as agents of nosocomial infections with increasing frequency, in parallel with the accumulation of antimicrobial resistance to most currently approved agents, and a number of strains are multidrug-resistant. As a result, enterococci have emerged as one of the leading clinical challenges. Research in this direction is focused on this problem (paper no. 11). By multiplex PCR analysis, 110 clinical isolates belonging to the genus *Enterococcus* (*E. faecalis* and *E. faecium*) were identified. An assessment of the antimicrobial resistance pattern and an analysis of the frequency of the quorum-sensing genes (*asl1* and *esp*) in the isolated strains was made. A large number of multidrug-resistant enterococci possess *asl1/esp* genes.

The more important contributions can be formulated as follows:

1. Isolates of the genus *Enterococcus* from clinical samples were identified by a complex study, including microbiological and molecular genetic methods.
2. New data on the relationship between higher virulence and the presence of genes encoding virulence factors were obtained.
3. New knowledge about the multidrug resistance of enterococci from clinical isolates was obtained. A mechanism related to quorum-sensing regulation was suggested.
4. For effective infection control, regular monitoring of antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. and the precise identification of virulence factors were recommended.

5. New or modified methods for working with clinically significant enterococci have been developed. They are ready for application in practice.

- Method for fast and reliable identification of strains based on multiplex PCR analysis;
- Molecular methods for simultaneous evaluation of quorum-sensing determined genes and those encoding virulence factors;
- For the first time in our country, a multiplex PCR methodology was developed and introduced to prove the presence of genes (TEM, emeA, aac(6')/aph(2"), vanA, vanB) encoding antimicrobial drug resistance among clinical strains of enterococci;
- Method for quantitative determination of catechin with antibacterial properties, by application of UV/Vis and FT-IR spectroscopy.

Scientific-applied contributions should also include those on which the utility model and the published patent application are formulated.

6. PARTICIPATION IN SCIENTIFIC RESEARCH PROJECTS

The candidate presents information on participation in 12 research and educational projects (8 national and 4 international), which outlines an extremely active project activity. Here I want to highlight such significant projects as e.g. National Recovery and Resilience Plan, Investment C2I2; National road map for scientific infrastructure - "PLANHEALTH"; National Scientific Program "Intelligent Plant Breeding"; National scientific program "Healthy Food for a strong bioeconomy and quality of life"; National Program "European Scientific Networks" - Project "GREENANIMO" and others. Of the projects with international funding, INTERREG, Greece – Bulgaria stands out; ERASMUS-EDU-2021-PI-ALL-INNO-BLUEPRI; Horizon 2020 and FP7 program Marie Curie. All of them are in the field of the announced competition and concern its main areas of research and teaching.

7. CRITICAL REMARKS AND RECOMMENDATIONS

I have no critical remarks regarding the materials presented by Assoc. Prof. Beev. They correspond to the subject of the competition, both in terms of volume and quality; they met and even exceeded the recommended indicators for occupying the academic position of "Professor".

Given the qualifications of Assoc. Prof. G. Beev in current scientific fields and his skills as a teacher and researcher, I recommend more active participation as a project leader.

8. PERSONAL IMPRESSIONS

I have known Assoc. Prof. Dr. Georgi Beev for a long time. From my contacts with him, I have the impression that he is an active teacher and scientist, competent and erudite in the field of modern areas of microbiology, and a sought-after partner for project development. The subject matter of his publications is contemporary and very relevant, at the center of important problems of the 21st century. He first introduced molecular genetic methods to research on *Fusarium* sp. strains pathogenic to cereal crops. Assoc. Prof. Beev continues the tradition in the Department and the Section on developing problems of regional importance.

9. CONCLUSION

The documents and materials presented by Assoc. Prof. Dr. Georgi Beev meet all the requirements of the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria, the Regulations for the Implementation of the LDASRB, and the relevant Regulations of the TRU. The candidate has submitted a sufficient number of scientific works, published after the materials used in the defense of the educational and scientific degree "Doctor", and the academic position "Associate Professor". Assoc. Prof. Beev's scientific and teaching qualifications are unquestionable. The results achieved in the educational and scientific research activities fully correspond to the minimum national and additional requirements of the Faculty of Agriculture, adopted in connection with the Regulations of the TRU for the application of the LDASRB.

I want to emphasize that Assoc. Prof. Dr. Georgi Beev is an established and promising teacher and scientist in the field of the current competition. His teaching activity corresponds to the current requirements of training in higher education. He is the author and co-author of training programs, and teaching aids, and works actively with graduates and doctoral students. He is a sought-after partner in the development of scientific projects and an active member of the teams he works with. The presented scientific works define him as a professionally competent specialist. They have been published in reputable journals and have become known to our and the international scientific community. Formulated scientific and applied contributions are a basis for further developments. His participation in applied tasks is evidence of his responsible attitude to practical matters.

After getting acquainted with the materials and scientific works presented in the competition, after analyzing their significance and the scientific and scientific-applied contributions contained in them, I give my positive assessment and strongly recommend the Scientific Jury to prepare a report-proposal to the Faculty Council of the Faculty of Agriculture for selection to **Associate Professor Dr. Georgi Georgiev Beev** at the academic position "**PROFESSOR**" at the Trakia University in the field of higher education 4. Natural sciences, mathematics, and informatics, professional direction Biological sciences, Scientific specialty Microbiology.

September 12, 2023

Sofia

Reviewer:

/Prof. Maria Angelova, DSc/

