



ТРАКИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ, АГРАРЕН ФАКУЛТЕТ

РЕЦЕНЗИЯ

От: проф. д-мн Христо Миладинов Найденов
Научна специалност: „Микробиология”
Институт по микробиология „Стефан Ангелов” - БАН

Относно: конкурс за професор по научна специалност „Микробиология”, област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки

1. Информация за конкурса

Конкурсът е обявен за нуждите на катедра „Биологически науки” при Аграрен 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

В конкурса участва един кандидат – доц. Георги Георгиев Беев. Той завършва висше образование с образователно-квалификационната степен Магистър по специалност „Екология” в Биологически факултет на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски” през 2015 г. В периода 2001-2004 г. е редовен докторант по микробиология в ТрУ-Ст.Загора, а от 2004 г. заема академичната длъжност „Асистент” в същия университет. От 2007 г. до 2010 г. работи като Старши асистент в ТрУ. През 2009 г. защитава успешно дисертация на тема „Микотоксикологична оценка на замърсяването на зърнени култури с микроскопични гъбички от род *Fusarium* и техни микотоксини” и получава ОНС „Доктор”, а от 2010 г. до 2015 г. работи като Главен асистент в ТрУ-Ст. Загора. През същата година се хабилитира като Доцент по специалност „Микробиология” в Аграрния факултет на ТрУ, а от 2020 г. е ръководител на Централна научноизследователска лаборатория при ТрУ, където работи до настоящия момент.

3. Изпълнение на изискванията за заемане на академичната длъжност

От представената справка е видно, че кандидатът изпълнява минималните национални и допълнителни изисквания към научната и преподавателската дейност на Аграрния факултет за заемане на академичната длъжност „професор”. Прегледът на представената от кандидата справка показва, че по някои от групата показатели (Г, Д и Е), броят на изискваните точки е дори по-висок.

4. Оценка на преподавателската дейност

Доцент Беев има богат преподавателски опит като е водил лекционни курсове и практически занятия по различни дисциплини, които са в обхвата на научната специалност по която е обявен конкурса. Кандидатът е водил активна преподавателска дейност по дисциплините Микробиология, Водна микробиология, Микробиологичен контрол и оценка безопасността на храни и фуражи, и Микробиология и микробиологични методи на пречистване по специалностите Агрономство, Зооинженерство, Рибовъдство и аквакултури и Екология и опазване на околната среда. От водените курсове определено личи придобитият преподавателски опит и подготовката на кандидата по морфология, физиология, биохимия и екология на микроорганизмите, основните микробиологични процеси в природата, различните методи за микробиологичен контрол на почвата, питейните и отпадни води, въздуха, фуражите и хранителните продукти и др. Други преподавани дисциплини са Основи на биотехнологиите и Основи на екотехнологиите, които също тангентират с микробиологичната наука и екологията, изучаващи влиянието на факторите на околната върху изменчивостта на микроорганизмите, тяхната роля за кръговрата на веществата в природата и екологизацията на природната среда. Водените курсове са и доказателство за академична компетентност върху значението на микроорганизмите за повишаване на почвеното плодородие; участието им в микробната биоконверсия и биodeградация на отпадни продукти и различни замърсители на околната среда, и др.

Доцент Беев е търсен лектор и в редица семинари организирани от Националната служба за съвети в земеделието и ТрУ. Ръководил е учебни практики на студенти от Медицински колеж на ТрУ – специалност „Медицински лаборант“ и студенти от Аграрен факултет – специалност “Екология и опазване на околната среда“ свързани с лабораторния по контрол на храните. Неговите компетентности по посочените дисциплини са

определящи и за успешното ръководство на дипломните работи на 6-ма студенти, един от които е чуждестранен – от Университета на Йоханесбург (Южна Африка). Анализът на цялостната преподавателска дейност на доц. Беев показва, че водените дисциплини и учебната заетост по тях отговарят на спецификата на конкурса и подчертавайки придобитите конкретни научни компетентности на кандидата, очертават неговата висока степен на подготвеност за заемане на академичната длъжност „професор”.

5. Обща характеристика на представените научни трудове/публикации

В настоящият конкурс доц. Беев е представил 21 броя научни публикации, които са реферирани и индексирани в базите данни Web of Science и Scopus. Те са в областта на общата и приложна микробиология, и включват изследователски направления, изучаващи идентификацията на микроорганизмите и техния екологичен, здравен и биотехнологичен потенциал. В допълнение, кандидатът представя едно учебно пособие, участие в полезен модел и заявка за патент.

Група статии се фокусират върху изучаването на лактобацилите и техния пробиотичен и противотуморен ефект. В резултат на активната изследователска дейност на кандидата са получени значими научни резултати, свързани с изолирането, идентификацията и характеристиката на лактобацилите. Тяхното широко разпространение в природата и особено в автохтонната микрофлора на суровото мляко са провокирали оригинално изследване на биволско мляко от различни региони на страната. Със съвременни методи (амплифициращ рибозомна ДНК рестрикционен анализ, ARDRA и API 50 CHL) са идентифицирани видовете *Lactobacillus casei* и *Lactobacillus fermentum* (1). Проучванията върху четири щама на *Lacticaseibacillus paracasei*, изолирани от планински мравуняци показват изразени противоракови и пробиотични свойства и могат да се използват като добавки за функционални млечни храни, полезни за човешкото здраве (9).

По-нова серия изследвания са насочени към изучаване на ентерококите като рисков фактор за здравето на човека и разпространението на антимикробна резистентност. В голям брой клинични изолати от род *Enterococcus* е изследван профилът на антимикробна резистентност и е анализирана честотата на разпределение на гените *asa1* и *esp*, участващи в регулацията на кворум-сенсинг и образуването на биофилми. Големият процент MDR ентерококи, притежаващи *asa1/esp* гени, насочва авторите към възможна връзка между регулирането на

кворум-сенсинг системата и лекарствената резистентност (11). Интерес представляват резултатите от молекулярната идентификация на изолати на гъбички от род *Fusarium*, като изследвания от rDNA-ITS геномен регион би могъл да се използва като подходящ маркер за ранно откриване, точна и надеждна идентификация на контаминирана пшеница с *Fusarium* spp. Този подход осигурява успешен подход за контрол на фузариумните инфекции и възможното замърсяване с микотоксини на селскостопанската продукция (2).

Най-голям дял от изследванията на доц. Беев заема направлението свързано с търсенето на нови подходи и активни вещества за преодоляване на антимикробната резистентност. Изследвани са метанолни екстракти от ендемичното за България растение *Betonica bulgarica* (Български ранилист). Екстракти от корени му показват най-висока антибактериална активност срещу *S. aureus* и *B. cereus*, и ниска срещу *E. coli*. Като цяло най-изразен е бактерицидният ефект на екстрактите от всички части на растението, добито от местността Абланово (в ПП Сините камъни)(3). В авангардно проучване е изследван потенциала на естествените биополимери, хитозан и лигнин за използване като носители при конструирането на конюгати полимер-лекарство с бъдещо приложение в медицината, хранителната индустрия и селското стопанство. Изследван е антимикробният потенциал на флавоноидно-биополимерни комплекси (включващи морин, хитозан и лигнин) в конюгирани дву- и трикомпонентни системи чрез оценка на вероятните синергични, адитивни или антагонистични ефекти. Двойните комбинации от морин-хитозан и морин-лигнин водят до 100% увеличение на тяхната инхибиторна активност срещу *S. aureus* в сравнение с чистите биосъединения. Освен това всички тествани дву- и трикомпонентни системи, съдържащи морин, показват ясни и значими потенциращи ефекти, особено срещу *S. aureus* и *B. cereus* (12). В оригинално проучване са изследвани флавоноидите катехин, епигалокатехин и кверцетин, екстрахирани от лечебното растение златна пръчица. Доказано е, че етаноловите екстракти показват значително по-висока антибактериална активност срещу хранителните патогени *S. aureus* и *P. aeruginosa*, задоволителен антиоксидантен потенциал и радикал-улавяща активност (13).

Като алтернатива на антибиотиците са изследвани антибактериалната и антигъбична активности на супернатантите от 11 щамове *Lacticaseibacillus paracasei* (FR1-11), изолирани от планински мравуняци. Най-висока антибактериална активност е установена срещу *P. aeruginosa* при щам FR3, докато антигъбичната активност е най-висока при щамове FR2 и FR4 срещу *Penicillium chrysogenum*. Като цяло обаче, супернатантите на *Lacticaseibacillus*

paracasei показват по-висока антибактериална активност (14). В комплексно проучване са изследвани антибактериалния и антиоксидантен потенциал на метанолови екстракти от лечебното растение стевия (*Stevia rebaudiana Bertoni*), радикал-улавящата активност и съдържанието на рутин и общото фенолно съдържание в цветовете, листа, стъбла, коренища и грудки. Доказано е, че екстрактите от *S. rebaudiana* имат антибактериална активност главно срещу *S. aureus* като екстрактите от цвета проявяват най-висока активност, следвани от тези на листата и стъблата. Метанолните екстракти от това растение са богати на антиоксиданти, а най-високите концентрации на рутин и общи феноли са открити в коренищата на растенията, следвани от листата, грудките, цветовете и стъблата, което съответства на данните от определяне на радикал-улавящата активност (15). В друга серия експерименти са изследвани противогъбичната и антиоксидантна активност на метанолни екстракти от лечебното растение блатен аир (*Acorus calamus*), зелените микроводорасли *Chlorella vulgaris*, водната леща (*Lemna minuta*) и микроводораслите от вида *Scenedesmus dimorphus*. Доказано е, че екстрактите от *Acorus calamus* имат най-висока антимикробна активност срещу осем гъбички щамове, следвани от екстрактите от *Chlorella vulgaris*, *Lemna minuta* и *Scenedesmus dimorphus*, които инхибират два до три щамове. Най-висок антиоксидантен потенциал показва екстрактът от *Scenedesmus dimorphus* (16). В обширен обзор са представени най-новите данни за *Lactobacillus plantarum* като пробиотичен вид с най-голямо разпространение и спектър от антибактериално действие. Акцентира се върху основните съединения с антибактериално действие - бактериоцини и органичните киселини, както и тези с противогъбично действие - органични киселини, хидроксимастните киселини и цикличните дипептиди. Поради високата противогъбична активност на някои щамове *L. plantarum* срещу микроорганизми, развалящи храните, те могат да се използват като ефективни биоконсерванти в хранително-вкусовата промишленост. Някои щамове на *L. plantarum* могат да се прилагат като поддържащи терапевтични средства при лечение на инфекции, причинени от чувствителни микроорганизми (18). Друго проучване върху етанолов и метанолов екстракт от *Spirulina* sp., *Chlorella vulgaris* и *Lemna minuta* доказва най-висока активност на етаноловия екстракт от *Lemna minuta* срещу всички 11 тествани щамове бактерии, дрожди и гъбички с изключение на *B. cereus*. Следва да се изтъкне, че всички етанолови екстракти от трите изследвани водни растения показват по-добра активност в сравнение с метаноловите екстракти (20). За оценка на фармакологичните свойства и биомедицинската значимост на растението *Acacia catechu* (разпространено в

Азия и Източна Африка) е проведено количествено определяне на катехин в изсушен етанолен екстракт чрез прилагане на непроеводна (ND), първа проиеводна (FD) UV/Vis спектрофотометрия и FT-IR спектроскопия. Като най-чувствителен, прецизен и точен се доказва метода ND UV/Vis (4).

Важни научни направления, които са в пряка връзка с преподавателския и научен профил на доц. Беев са агроекологията и микробиологията. В обширно проучване е направена агроекологична и микробиологична оценка на водите от язовир Овчарица, използвани за охлаждане на ТЕЦ. В продължение на две години са проследявани 12 физикохимични показателя, 9 вида пестициди и 6 микробиологични параметри (аеробни мезофилни микроорганизми, колиформи, общ коли титър, брой на *Escherichia coli*, титър на *E. coli*, брой на *Salmonella* spp.). Установено е, че екологичното състояние на язовирната вода е лошо по отношение съдържанието на хлорофил-а и „много лошо“ по съдържание на ортофосфати. Съдържанието на пестициди в язовирната вода я класифицира като вода с добро химично състояние. Микробиологичните изследвания показат, че тя не е подходяща за напояване, тъй като надвишава нормите за общ коли-титър и *E. coli*-титър, както и поради наличието на чревни патогени (*Salmonella* spp.), които не са разрешени във водата за напояване (5). За решаването на проблема със замърсяването на водите от аквакултури е проучен ефектът от различни източници на въглерод върху натрупването на биомаса в микроводораслите *Nannochloropsis oculata* и *Tetraselmis chuii* и тяхната способност да отстраняват азотни и фосфорни съединения по време на култивиране в колби. И двата вида микроводорасли показват по-добър растеж в отпадните води с източник на въглерод захароза, а най-ефективното намаляване на нитратите и общия азот е доказано при *N. oculata*, култивиран в отпадни води с глюкоза (21). Агроекологична характеристика, включваща 19 физикохимични и 6 микробиологични показателя е направена и за вермикомпост, произведен от утайки от отпадни води от пречиствателни станции на общински предприятия и предприятия за преработка на птиче месо. Субстратите са вермикомпостирани от червен калифорнийски земен червей (*Lumbricus rubellus*) в продължение на 120 дни. Доказва се, че вермикомпостирането има незначителен ефект върху концентрациите на тежки метали. В крайните субстрати *E. coli* не се откриват, за разлика от спорите на бактериалния вид *Clostridium perfringens*. Поради наличието на *Salmonella* spp. и *C. perfringens* над допустимите норми обаче, крайните субстрати не могат да се използват като торове или добавки към почвата (16). Резултатите от изследването на отпадни води от градска пречиствателна станция показват, че тези води не отговарят на изискванията за

напоояване, поради високото съдържание на мазнини и на общия брой колиформи, салмонели, *E. coli* и др. представители на сем. *Enterobacteriaceae* (19). Проведена е оценка и на качеството на два промишлени компоста по физикохимични и микробиологични показатели. Установено е, че компост 1 (съставен от 100% общински зелени отпадъци) е с много добро качество и среден потенциал за наторяване (клас В), а компост 2 (75% зелени отпадъци и изхвърлени зелени чушки -25%) попада в клас А (най-качествен компост с висок потенциал за плодородие на почвата и ниско съдържание на тежки метали). И двата вида компост отговарят на нормативните изисквания за ползване като почвени торове (10).

Подобни изследвания са провеждани и върху хранителни продукти от животински произход. Изследвания върху физикохимичните и микробиологичните промени на бяло саламурено сирене по време на производство и зреене, показват че след периода на зреене, сиренето е безопасен за консумация. Обратно, бялото саламурено сирене в ранен стадий на зреене все още съдържа салмонели и други видове микроорганизми, което го прави опасно за консумация, независимо че млякото е предварително пастеризирано (6). Подобно проучване на пчелен прашец показва, че пресният прашец, има лоши микробиологични показатели в сравнение с изсушения, което налага необходимостта от възприемането и въвеждането на подходящи производствени практики за предотвратяване на замърсяването от оборудването или работата с български пчелен прашец (7). С важно екологично, здравно и технологично значение е определянето на количеството етилентиокарбамид (ЕТК) в яйца и филе от дъгова пъстърва (*Oncorhynchus mykiss* W.), отглеждана в среда, съдържаща допустимото според европейското законодателство количество на фунгицида манкоцеб. Доказва се, рибите не натрупват канцерогенния продукт ЕТК от разграждането на манкоцеб и максималното ниво на остатъци от манкоцеб е безопасно за здравето на хората. В условията на околната среда обаче, това ниво причинява репродуктивни нарушения в рибата, които могат да бъдат частично компенсирани технологично, но успешното оплождане не гарантира успешно излюпване (8). Представено е и един брой учебно пособие, полезен модел и заявка за патент в съавторство, отнасящи се до получаване на течен растителен биостимулант, при който като изходна суровина се използват утайки от пречиствателни станции за отпадни води (ПСОВ), тясно корелиращи с приетия от ЕС план за кръгова икономика.

6. Оценка на научните и научно-приложни приноси

В резултат на интензивната и ползотворна научно-изследователска дейност са направени редица научно-приложни приноси, които приемам. Разработените и прилагани конвенционални и автоматизирани фенотипни и молекулярно-генетични методи ще намират и за в бъдеще широко приложение за идентификация на основните видове ентерококи – *E. faecalis* и *E. faecium*. Доказаните екстракти и биологично активни вещества от растения, млечнокисели бактерии, комбинации от наночастици и микроводорасли с антимикробна активност са перспективни алтернативни подходи за преодоляване и намаляване на негативните ефекти на антимикробната резистентност. Извършените агроекологични и микробиологични оценки на качеството на природни води от различни водни тела (реки и язовири), по физикохимични, микробиологични и биологични показатели, с оглед тяхното използване за рибовъдни цели и за напояване съответстват на редица Наредби от българското законодателство (№ 4/2000 г.; № 18/2009 г.; на Стандартите за качеството на околната среда за приоритетни вещества и някои други замърсители, 2010 г. и № Н-4/2012 г.) и ще допринесат за вземането на адекватни управленски мерки за повишаване на тяхното качество. Създаден е алгоритъм за доказаване на противотуморен и пробиотичен потенциал при щамове лактобацили, който ще позволи разширяването на изследванията в това актуално научно направление.

7. Критични бележки и препоръки

Нямам критични бележки към представените научни трудове. Бих препоръчал издаването на нови учебни помагала в съответствие с разработваните от доц. Беев научни направления. Доказаният преподавателски опит, научно-изследователски компетентности и методична въоръженост са надеждна основа за създаване на школа от млади изследователи и преподаватели.

8. Заключение

Цялостната изследователска и преподавателска дейност на доц. Беев е в актуални научни направления свързани с решаването на важни за екологията, биомедицината и аграрната наука въпроси. Представените данни убедително представят високата компетентност и ерудиция на доц. Беев, които са надеждна платформа за повишаване на изследователския и преподавателски капацитет на Аграрния факултет. Придобитият опит, активната и ползотворна работа в

посочените по-горе изследователски направления несъмнено ще допринесат за тяхното успешно развитие и за в бъдеще. Покривайки напълно минималните изисквания на ЗРАСРБ, както и изискуемите критерии на Аграрния факултет при ТрУ-Стара Загора, и предвид всички посочени по-горе аргументи и факти, предлагам на уважаемото научно жури да присъди на доц. Георги Георгиев Беев академичната длъжност „Професор” по „Микробиология”, за нуждите на катедра „Биологически науки” при Аграрен факултет на Тракийски университет – Стара Загора.

Дата 13.09.2023 г., София

Подпис:



THRACIAN UNIVERSITY, FACULTY OF AGRICULTURE

--
R E V I E W

By: Prof. Dr. Hristo Miladinov Najdenski

Scientific specialty: "Microbiology"

The "Stephan Angeloff" Institute of Microbiology – Bulgarian Academy of Sciences

Regarding: competition for a professor in the scientific specialty "Microbiology", field of higher education 4. Natural sciences, mathematics and informatics, professional direction 4.3. Biological Sciences

1. Information about the competition

The competition was announced for the needs of the Department of "Biological Sciences" at the Faculty of Agriculture of the Thracian University (TrU) in State Gazette No. 38/28.04.2023.

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

2. Information about the candidates in the competition

One candidate participated in the competition – Assoc. Prof. Georgi Georgiev Beev. He graduated from higher education with a Master's degree in "Ecology" at the Faculty of Biology of Plovdiv University "Paisiy Hilendarski" in 2015. In the period 2001-2004, he was a full-time doctoral student in microbiology at TrU-St. Zagora, and from 2004, he held the academic position of "Assistant" at the same university. From 2007 to 2010, he worked as a Senior Assistant at TrU. In 2009, he successfully defended his dissertation on the topic "Mycotoxicological assessment of the contamination of cereal crops with microscopic fungi of the genus *Fusarium* and their mycotoxins" and received the Doctor's degree, and from 2010 to 2015 he worked as a Chief Assistant at the TrU – Stara Zagora. In the same year, he qualified as an Associate Professor in the specialty "Microbiology" at the Faculty of Agriculture of the TrU, and from 2020 he is the head of the Central Research Laboratory at the TrU, where he works until now.

3. Fulfillment of the requirements for occupying the academic position

From the submitted reference, it is clear that the candidate fulfills the minimum

national and additional requirements for the scientific and teaching activities of the Faculty of Agriculture for occupying the academic position of "professor". The review of the reference submitted by the applicant shows that for some of the group of indicators (D, D and E), the number of required points is even higher.

4. Evaluation of the teaching activity

Assoc. Prof. Beev has extensive teaching experience, having led lecture courses and practical classes in various disciplines that are within the scope of the scientific specialty for which the competition has been announced. The candidate has led an active teaching activity in the disciplines of Microbiology, Water Microbiology, Microbiological control and assessment of food and feed safety, and Microbiology and microbiological purification methods in the specialties of Agronomy, Animal Engineering, Fisheries and Aquaculture, and Ecology and Environmental Protection. From the courses, it is definitely evident the acquired teaching experience and the preparation of the candidate in morphology, physiology, biochemistry and ecology of microorganisms, the main microbiological processes in nature, the various methods of microbiological control of soil, drinking and waste water, air, feed and food products, etc. Other disciplines taught are Fundamentals of Biotechnology and Fundamentals of Ecotechnology, which also touch on microbiological science and ecology, studying the influence of environmental factors on the variability of microorganisms, their role in the cycle of substances in nature and the greening of the natural environment. The guided courses are also proof of academic competence on the importance of microorganisms for increasing soil fertility; their participation in the microbial bioconversion and biodegradation of waste products and various environmental pollutants, etc.

Docent Beev is a sought-after lecturer in a number of seminars organized by the National Service for Advice in Agriculture and the Ministry of Agriculture. He supervised the training practices of students from the Medical College of TrU - specialty "Medical Laboratory Technician" and students from the Faculty of Agriculture - specialty "Ecology and Environmental Protection" related to the food control laboratory. His competences in the mentioned disciplines are decisive for the successful management of the diploma theses of 6 students, one of whom is foreign - from the University of Johannesburg (South Africa). The analysis of Assoc. Prof. Beev's overall teaching activity shows that the taught disciplines and the academic employment in them correspond to the specifics of the competition and, emphasizing the candidate's acquired specific scientific competences, outline his high degree of preparation for occupying the academic position of "Professor".

5. General characteristics of the presented scientific publications

In the current competition, Prof. Beev presented 21 scientific publications, which are referenced and indexed in the Web of Science and Scopus databases. They are in the field of general and applied microbiology, and include research areas studying the identification of microorganisms and their ecological, health and biotechnological potential. In addition, the applicant submits a study guide, a utility model entry, and a patent application.

A group of articles focuses on the study of lactobacilli and their probiotic and antitumor effects. As a result of the candidate's active research activity, significant scientific results related to the isolation, identification and characterization of lactobacilli were obtained. Their wide distribution in nature and especially in the autochthonous microflora of raw milk have provoked an original study of buffalo milk from different regions of the country. With modern methods (amplifying ribosomal DNA restriction analysis, ARDRA and API 50 CHL) the species *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus fermentum* have been identified (1). Studies on four strains of *Lacticaseibacillus paracasei* isolated from mountain anthills show pronounced anticancer and probiotic properties and can be used as additives for functional dairy foods beneficial to human health (9).

A more recent series of studies has focused on studying enterococci as a risk factor for human health and the spread of antimicrobial resistance. In a large number of *Enterococcus* clinical isolates, the antimicrobial resistance profile was investigated and the distribution frequency of *asaI* and *esp* genes involved in the regulation of quorum sensing and biofilm formation was analyzed. The large percentage of MDR enterococci possessing *asaI/esp* genes led the authors to a possible link between regulation of the quorum-sensing system and drug resistance (11). The results of the molecular identification of isolates of *Fusarium* fungi are of interest, as research from the rDNA-ITS genomic region could be used as a suitable marker for early detection, accurate and reliable identification of wheat contaminated with *Fusarium* spp. This approach provides a successful approach to control *Fusarium* infections and possible mycotoxin contamination of agricultural produce (2).

The largest share of Assoc. Prof. Beev's research is related to the search for new approaches and active substances to overcome antimicrobial resistance. Methanolic extracts of *Betonica bulgarica*, endemic to Bulgaria, have been studied. Extracts from its roots showed the highest antibacterial activity against *S. aureus* and *B. cereus*, and low against *E. coli*. In general, the most pronounced is the bactericidal effect of the extracts from all parts of the plant harvested from the Aplanovo locality

(in the protected region Sinite kamani)(3). In a cutting-edge study, the potential of the natural biopolymers chitosan and lignin for use as carriers in the construction of polymer-drug conjugates with future applications in medicine, food industry and agriculture has been investigated. The antimicrobial potential of flavonoid-biopolymer complexes (including morin, chitosan and lignin) in conjugated two- and three-component systems was investigated by evaluating possible synergistic, additive or antagonistic effects. Dual combinations of morin-chitosan and morin-lignin resulted in a 100% increase in their inhibitory activity against *S. aureus* compared to pure biocompounds. Moreover, all tested two- and three-component systems containing morin showed clear and significant potentiating effects, especially against *S. aureus* and *B. cereus* (12). An original study examined the flavonoids catechin, epigallocatechin and quercetin extracted from the medicinal plant goldenrod. Ethanol extracts have been shown to show significantly higher antibacterial activity against the foodborne pathogens *S. aureus* and *P. aeruginosa*, satisfactory antioxidant potential and radical scavenging activity (13).

As an alternative to antibiotics, the antibacterial and antifungal activities of the supernatants of 11 strains of *Lactocaseibacillus paracasei* (FR1-11) isolated from mountain anthills were investigated. The highest antibacterial activity was found against *P. aeruginosa* in strain FR3, while the antifungal activity was highest in strains FR2 and FR4 against *Penicillium chrysogenum*. In general, however, *Lactocaseibacillus paracasei* supernatants showed higher antibacterial activity (14). In a complex study, the antibacterial and antioxidant potential of methanolic extracts of the medicinal plant stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), the radical-trapping activity and the rutin content and the total phenolic content of flowers, leaves, stems, rhizomes and tubers were investigated. Extracts of *S. rebaudiana* have been shown to have antibacterial activity mainly against *S. aureus*, with extracts from the flower showing the highest activity, followed by those from the leaves and stems. The methanolic extracts of this plant are rich in antioxidants, and the highest concentrations of rutin and total phenolics were found in the rhizomes of the plants, followed by the leaves, tubers, flowers and stems, which is consistent with the data from determination of radical scavenging activity (15). In another series of experiments, the antifungal and antioxidant activity of methanolic extracts of the medicinal plant *Acorus calamus*, the green microalgae *Chlorella vulgaris*, the duckweed (*Lemna minuta*) and the microalgae *Scenedesmus dimorphus* were investigated. *Acorus calamus* extracts were shown to have the highest antimicrobial activity against eight fungal strains, followed by *Chlorella vulgaris*, *Lemna minuta* and *Scenedesmus dimorphus* extracts, which inhibited two to three strains. The highest antioxidant potential was shown by the

extract of *Scenedesmus dimorphus* (16). In an extensive review, the latest data on *Lactobacillus plantarum* as the probiotic species with the greatest distribution and spectrum of antibacterial activity are presented. Emphasis is placed on the main compounds with antibacterial activity - bacteriocins and organic acids, as well as those with antifungal action - organic acids, hydroxy fatty acids and cyclic dipeptides. Due to the high antifungal activity of some *L. plantarum* strains against food spoilage microorganisms, they can be used as effective biopreservatives in the food industry. Some strains of *L. plantarum* can be used as supportive therapeutic agents in the treatment of infections caused by susceptible microorganisms (18). Another study on the ethanolic and methanolic extract of *Spirulina* sp., *Chlorella vulgaris* and *Lemna minuta* proved the highest activity of the ethanolic extract of *Lemna minuta* against all 11 tested strains of bacteria, yeasts and fungi except *B. cereus*. It should be pointed out that all the ethanolic extracts of the three aquatic plants studied showed better activity compared to the methanolic extracts (20). To evaluate the pharmacological properties and biomedical importance of the plant *Acacia catechu* (distributed in Asia and East Africa), the quantification of catechin in the dried ethanolic extract was carried out by applying non-derivative (ND), first derivative (FD) UV/Vis spectrophotometry and FT- IR spectroscopy. The ND UV/Vis method is proven to be the most sensitive, precise and accurate (4).

Important scientific fields that are directly related to the teaching and scientific profile of Assoc. Prof. Beev are agroecology and microbiology. In an extensive study, an agroecological and microbiological assessment of the waters from the Ovcharitsa dam, used for cooling the thermal power plant, was made. Over a period of two years, 12 physicochemical indicators, 9 types of pesticides and 6 microbiological parameters (aerobic mesophilic microorganisms, coliforms, total coli titer, number of *Escherichia coli*, titer of *E. coli*, number of *Salmonella* spp.) were monitored. The ecological status of the dam water was found to be poor in terms of chlorophyll-a content and "very poor" in terms of orthophosphate content. The pesticide content of the dam water classifies it as water of good chemical status. Microbiological tests showed that it is not suitable for irrigation because it exceeds the norms for total coli-titer and *E. coli*-titer, as well as because of the presence of enteric pathogens (*Salmonella* spp.), which are not allowed in irrigation water (5). To address the problem of aquaculture water pollution, the effect of different carbon sources on biomass accumulation in the microalgae *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis chuii* and their ability to remove nitrogen and phosphorus compounds during flask cultivation was investigated. Both types of microalgae showed better growth in wastewater with sucrose carbon source, and the most efficient reduction of nitrate and total nitrogen was shown for *N. oculata*

cultivated in wastewater with glucose (21). An agro-ecological characteristic, including 19 physicochemical and 6 microbiological indicators, was also made for vermicompost produced from sewage sludge from sewage treatment plants of municipal enterprises and poultry meat processing enterprises. Substrates were vermicomposted by red California earthworm (*Lumbricus rubellus*) for 120 days. Vermicomposting has been shown to have a negligible effect on heavy metal concentrations. In the final substrates, *E. coli* was not detected, in contrast to the spores of the bacterial species *Clostridium perfringens*. Due to the presence of *Salmonella* spp. and *C. perfringens* above the permissible limits, however, the final substrates cannot be used as fertilizers or soil amendments (16). The results of the study of wastewater from a city treatment plant show that this water does not meet the requirements for irrigation due to the high fat content and the total number of coliforms, salmonella, *E. coli*, etc. representatives of the family *Enterobacteriaceae* (19). An assessment of the quality of two industrial composts was also carried out according to physicochemical and microbiological indicators. Compost 1 (composed of 100% municipal green waste) was found to be of very good quality and average fertilizing potential (class B) and compost 2 (75% green waste and discarded green peppers -25%) fell into class A (best quality compost with high soil fertility potential and low heavy metal content). Both types of compost meet the regulatory requirements for use as soil fertilizers (10).

Similar studies have been conducted on food products of animal origin. Studies on the physicochemical and microbiological changes of white brine cheese during production and ripening show that after the ripening period, the cheese is safe for consumption. In contrast, white brine cheese at an early stage of ripening still contains *Salmonella* and other types of microorganisms, making it unsafe to eat, even though the milk has been pasteurized (6). A similar study of bee pollen shows that fresh pollen has poor microbiological indicators compared to dried, which necessitates the adoption and implementation of appropriate production practices to prevent contamination from equipment or handling with Bulgarian bee pollen (7). Of important ecological, health and technological importance is the determination of the amount of ethylenethiourea (ETU) in eggs and fillets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) grown in an environment containing the amount of the fungicide mancozeb permitted according to European legislation. Fish have been shown not to accumulate the carcinogenic product ETU from the breakdown of mancozeb and the maximum level of mancozeb residues is safe for human health. However, under environmental conditions, this level causes reproductive disturbances in fish that can be *partially* compensated technologically, but successful fertilization does not

guarantee successful hatching (8). Also presented is a study guide, utility model and co-authored patent application relating to the preparation of a liquid plant biostimulant using sewage sludge (WWTP) as a feedstock, closely correlating with the EU circular economy plan.

6. Evaluation of scientific and scientific-applied contributions

As a result of the intensive and fruitful scientific and research activity, a number of scientific and applied contributions have been made, which I accept. The developed and applied conventional and automated phenotypic and molecular genetic methods will be widely used in the future for the identification of the main types of enterococci - *E. faecalis* and *E. faecium*. Proven extracts and biologically active substances from plants, lactic acid bacteria, combinations of nanoparticles and microalgae with antimicrobial activity are promising alternative approaches to overcome and reduce the negative effects of antimicrobial resistance. The carried out agroecological and microbiological assessments of the quality of natural waters from various water bodies (rivers and dams), according to physicochemical, microbiological and biological indicators, with a view to their use for fish farming purposes and for irrigation, correspond to a number of Regulations from the Bulgarian legislation: No. 4/2000 Mr.; No. 18/2009; of the Environmental Quality Standards for priority substances and some other pollutants, 2010 and No. H-4/2012, and will contribute to taking adequate management measures to increase their quality. An algorithm was created to prove the antitumor and probiotic potential of lactobacilli strains, which will allow the expansion of research in a most current scientific direction.

7. Critical notes and recommendations

I have no critical comments on the presented scientific works. I would recommend the publication of new teaching aids in accordance with the scientific directions developed by Assoc. Prof. Beev. Proven teaching experience, research competences and methodological armament are a reliable basis for creating a school of young researchers and teachers.

8. Conclusion

Assoc. Prof. Beev's overall research and teaching activities are in current scientific directions related to solving important questions for ecology, biomedicine and agricultural science. The presented data convincingly present the high competence and erudition of Assoc. Prof. Beev, which are a reliable platform for

increasing the research and teaching capacity of the Faculty of Agriculture. The acquired experience, active and fruitful work in the above-mentioned research areas will undoubtedly contribute to their successful development in the future as well. Fully meeting the minimum requirements of the Law on the development of scientific staff in the Republic of Bulgaria, as well as the required criteria of the Faculty of Agriculture at TrU-Stara Zagora, and taking into account all the arguments and facts stated above, I propose to the respected Scientific Jury to award Assoc. Prof. Georgi Georgiev Beev the academic position of "Professor" in "Microbiology", for the needs of the Department of "Biological Sciences" at the Faculty of Agriculture of Thrace University - Stara Zagora.

Date 13.09.2023, Sofia

Signature: