СТАНОВИЩЕ
на дисертационен труд
за придобиване на образователна и научна степен „Доктор ”

От доц. д-р Кирилка Младенова (Софийски Университет „Св. Климент Охридски”, Биологически факултет)

Дисертант: **Стефан Светославов Савов**, Софийски Университет „Св. Климент Охридски”, Биологически факултет, Катедра Биохимия

По професионално направление 4.3. „Биологически науки“ (Докторска програма по Биохимия) в област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“

Заглавие на дисертацията: Биотични фактори, модулиращи отношенията между паразитни цветни растения от род Cuscuta и техните гостоприемници

1. Данни за дисертанта

Стефан Савов придобива степени бакалавър по Молекулярна биология и магистър по Биохимия в Биологически факултет към СУ „Св. Климент Охридски“. Между 2021 – 2023г. е преподавател по биология, а от 2023 г. е асистент по биология към Департамент за езиково обучение и продължаваща квалификация на Софийски университет. В периода 2023-2026г. е назначен като Изследовател R1 по проект “Маркер за иновации и технологичен трансфер (SUMMIT)“, група 3.1.8. „Растителни паразити“.

Неговите професионални интереси още от бакалавърската степен на обучение са свързани с изучаването на отговора на растения срещу биотичен стрес.

2. Данни за докторантурата

Основно изследванията, свързани с дисертационния труд, са проведени в Биологически факултет на СУ. По време на своята докторантура той е направил и две специализации извън страната: в Унивеситета на Катания, Сицилия, Италия (ноември-декември 2025) и Университета на Инсбрук, Австрия (септември-октомври 2024).

Стефан Савов е издържал с отличие необходимите изпити по време на докторантурата. Той е представил проекти за дисертационния си труд и автореферат, заедно с необходимите документи по процедурата за придобиване на ОКС „Доктор“ в катедра „Биохимия“. Процедурата е разкрита съгласно Правилника за придобиване на научни степени в Софийски университет и в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България.

Не се констатират нарушения на правилника и закона при осъществяването на процедурата.

3. Данни за дисертационния труд

3.1. Научен стил и структура на дисертацията

Дисертационният труд е написан на много високо академично ниво, с перфектно владеене на специализираната биохимична и молекулярнобиологична терминология. Изложението е логично, последователно и аргументирано. Структурата отговаря на всички стандарти за оформяне на докторска дисертация – включва ясно обособени глави: Въведение, Литературен обзор (обхващащ всички нужни аспекти), Цели и задачи, Материали и методи, Резултати, Дискусия и Изводи. Трудът съдържа общо 119 страници и е богато илюстриран с 39 фигури и 4 таблици, които значително улесняват възприемането на огромния обем от експериментални данни. Дискусията е задълбочена,

като резултатите от различните анализи са умело синтезирани и обвързани едни с други, за да се изгради цялостната картина на изследваните биологични процеси. Отразени са и свързаните с дисертацията публикации във високорангови международни списания (Q1 и Q2), което е допълнителен атестат за качеството и значимостта на представения труд.

3.2. Теоретични основи

Литературният обзор предлага изчерпателен и критичен анализ на съвременните научни данни, свързани с темата на изследването. Той започва с класификация и морфологична характеристика на паразитните растения, подчертавайки спецификата на стъблените холопаразити от род *Cuscuta* и механизма на формиране на хаусторията. Основен акцент в обзора е поставен върху молекулните маркери за биотичен стрес и адаптивните отговори на растенията. Детайлно са разгледани:

• Ролята на реактивните кислородни видове (ROS) като сигнални молекули и причинители на оксидативен стрес.

• Антиоксидантната защита, разделена на нискомолекулни водоразтворими (глутатион, аскорбат) и липоразтворими (токохроманоли, каротеноиди) антиоксиданти, както и ключовите антиоксидантни ензими (супероксид дисмутаза, каталаза, пероксидази).

• Фитохормоналната регулация, с фокус върху антагонистичните и синергичните взаимодействия между салициловата, жасмоновата и абсцисиевата киселина при патогенни инфекции.

• Функциите на PR (pathogenesis-related) белтъците за изграждане на защитни бариери.

• Епигенетичните механизми, включващи ДНК метилиране и хистонови модификации, като основа за дълготрайна адаптация и "прайминг" (подготовка) на растителния имунитет.

Втората половина на обзора разглежда екологичните аспекти на кукувичата прежда – нейната роля като вектор за трансфер на патогени между растенията. Специално внимание е отделено на инсектома на *Cuscuta spp*. (кукувича прежда), и по-конкретно на бръмбари хоботници от род *Smicronyx*, които индуцират формирането на високоспециализирани структури (гали). Описани са теориите за значението на галите като депо за ресурси и възможностите за използване на тези насекоми и специфични патогени в системите за биологичен контрол.

3.3. Актуалност на темата

Темата на дисертационния труд е изключително актуална, тъй като разглежда сложните и динамични взаимодействия между паразитните растения от род *Cuscuta* и факторите на живата природа – растения-гостоприемници, насекоми (инсектом) и микроорганизми (микробиом). Разбирането на тези биохимични и физиологични процеси има фундаментално значение за съвременната растителна биология, тъй като паразитните растения упражняват еволюционен натиск върху своите гостоприемници и предизвикват специфични защитни реакции. Освен теоретичната си стойност, изследването е обосновано и от сериозната практическа необходимост: някои представители на род *Cuscuta*, като инвазивния вид *C. campestris*, причиняват значителни икономически загуби в селското стопанство. Разкриването на механизмите, чрез които различни биотични фактори (например галообразуващи насекоми или специфични ендофитни патогени) потискат или модулират развитието на паразита, предоставя ценна научна база за разработването на иновативни и екологични методи за биоконтрол.

3.4. Точност на формулираните обект, предмет, цели и задачи на изследването

В дисертацията обектът и предметът на изследване са дефинирани прецизно. Обект на проучването е паразитното растение *Cuscuta campestris* в контекста на неговите взаимодействия с биотичната среда, а предметът обхваща конкретните биохимични, молекулярни и епигенетични

промени, настъпващи в него под въздействието на инсектома и микробиома. Основната цел е ясно формулирана: да се идентифицират механизмите, стоящи в основата на модулиращия ефект на тези биотични фактори върху паразита. Целта е логически надградена чрез две добре обосновани научни хипотези: първата е свързана с хормоналната и епигенетичната регулация на стресовия отговор при галообразуване, а втората – с двупосочните взаимодействия между паразитното растение и неговите ендофитни и ризосферни микробиални съобщества. За постигане на целта са заложени седем конкретни задачи, които са напълно адекватни. Те включват оценка на оксидативния стрес, анализ на фитохормоналния профил, определяне на генната експресия на PR белтъци и ДНК метилирането при галообразуване, както и анализ на ендофитните и почвените микробиални съобщества.

3.5. Интердисциплинарност на изследователски подход

Дисертационният труд демонстрира забележителна интердисциплинарност, преплитайки методи и концепции от биохимията, молекулярната биология, генетиката, микробиологията, екологията и биоинформатиката. Изследователският подход се опира на модерен и високотехнологичен инструментариум:

• За биохимичните анализи са използвани високоефективна течна хроматография (HPLC) с флуоресцентен и фотодиоден детектор за определяне на глутатион, пигменти и токохроманоли, както и LC-MS (течен хроматограф с масспектрометър) за прецизно количествено определяне на фитохормони.

• В областта на молекулярната биология са приложени RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) анализ за таксономична идентификация на видовете и количествена PCR (qPCR) за изследване на диференциалната генна експресия на различни PR белтъци.

• За изследване на епигенетичните промени е използвано бисулфитно секвениране на геномна ДНК, комбинирано със сложен биоинформатичен анализ за идентифициране на диференциално метилирани региони (DMRs) и обогатяване на метаболитни пътища (KEGG).

• Микробиологичните изследвания са проведени чрез 16S ампликонно секвениране (V3-V4 и V4 региони) за идентифициране на ендофитни и почвени бактериални съобщества, като данните са обработени с платформата QIIME2 за оценка на разнообразието.

3.6. Анализ и интерпретация на резултатите

Представените резултати са напълно валидни, надеждни и коректно интерпретирани. Високата достоверност на данните е обезпечена чрез достатъчен брой биологични и технически повторения, както и чрез използването на строги статистически методи (еднофакторен ANOVA, Student's T-test, Kruskal-Wallis тест, индекс на Bray-Curtis и PERMANOVA анализ).

• Оксидативен стрес и хормони: Анализът убедително доказва, че галообразуването от Smicronyx води до локално повишаване на антиоксидантния капацитет в *Cuscuta* (значително по-високи нива на редуциран глутатион и алфа-токоферол) и до пренастройване на пигментния състав, наподобяващо адаптация към условия на ниска осветеност. Хормоналният профил показва категорично натрупване на абсцисиева (ABA) и жасмонова киселина (JA) за сметка на потисната салицилова киселина (SA), което индикира специфичен защитен отговор, толериращ ларвата, но предпазващ от вторични инфекции.

• Генна експресия и епигенетика: Резултатите коректно отразяват потискането на експресията на хитинази и цистатини в галите (които биха навредили на насекомото) и стимулирането на осмотин и дефензин. Метиломният анализ потвърждава, че тези промени се дължат на глобално хиперметилиране на ДНК в галите, особено в промоторните региони и CpG островите, което води до епигенетично препрограмиране на метаболизма на гостоприемника.

• Микробиом: Интерпретацията на данните от 16S секвенирането коректно доказва, че ендофитният микробиом на *C. campestris* зависи от вида на растението-гостоприемник (напр. високо

припокриване при *A. patula* и слабо при *X. strumarium*). Това безспорно потвърждава ролята на кукувичата прежда като потенциален вектор за микроорганизми.

3.7. Приложимост на Научните приноси

В края на дисертационния труд са представени 4 приноса с фундаментален характер и 2 приноса с научно-приложен характер. Приносите са формулирани правилно и логически.

• Фундаментални приноси: Разширяват се значително познанията за молекулярните и епигенетичните механизми, чрез които паразитите (*Cuscuta*) и техните епипаразити (насекомите *Smicronyx*) взаимодействат. Доказва се, че галообразуването не е просто увреждане, а сложен процес на взаимна адаптация и епигенетичен контрол. Установяването на състава на ендофитните микроорганизми в кукувичата прежда в България и ролята на гостоприемниците върху този състав обогатява глобалното екологично познание.

• Научно-приложни приноси: Валидирана е бърза и надеждна молекулярна методика (чрез RAPD маркери) за таксономично определяне на видовете *Cuscuta* в България, което е важно за агрономията и контрола на плевелите. Разкритият потенциал на кукувичата прежда като резервоар и вектор на ендофитни патогенни микроорганизми дава нова насока за разработване на стратегии за ограничаване на разпространението на растителни болести в земеделието.

4. Оценка на автореферата.

Авторефератът обхваща 38 страници и представя адекватно дисертационния труд в структурно и съдържателно отношение. В него е направено резюме на разглеждания проблем и най-подробно са представени резултатите. Написан е стегнато и ясно и отговаря на изискванията за подобна работа.

5. Научна активност, свързана с дисертацията

По процедурата за защитата са представени 2 научни публикации (първи автор в една от тях), забелязани са (към момента) седем цитирания и 5 участия в конференции. Събраните точки от публикациите са 45, което **покрива и надхвърля изискването на Закона за развитието на академичния състав в Република България.**

6. Заключение

Представеният ми за изготвяне на Становище Дисертационен труд притежава всички необходими качества на такъв тип научна разработка.

Предлагам да бъде присъдена на Стефан Савов ОКС „Доктор ” по професионално направление 4.3. „Биологически науки“ (Докторска програма по Биохимия) в област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“.

Дата: 25.07.26г Изготвил становището:……

(Доц. д-р К. Младенова)