СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Валя Николова Василева

Институт по физиология на растенията и генетика – Българска академия на науките
член на научното жури, определено със Заповед *№ РД-38-312/12.06.2026 г.* на Ректора на Софийския университет „Св. Климент Охридски“

относно: дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма „Биохимия“

Автор на дисертационния труд: Стефан Светославов Савов

Тема: „Биотични фактори, модулиращи отношенията между паразитни цветни растения от род *Cuscuta* и техните гостоприемници“

Научни ръководители: доц. дн Любен Загорчев и доц. д-р Деница Теофанова

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Настоящето становище е изготвено в качеството ми на член на научното жури по процедурата за защита на дисертационния труд. Представените материали са оформени в съответствие със Закона за развитието на академичния състав в Република България, Правилника за неговото прилагане и правилника на Софийския университет (СУ) „Св. Климент Охридски“. Не установявам процедурни нарушения.

Стефан Светославов Савов е задочен докторант към катедра „Биохимия“ на Биологически факултет (БФ) на СУ, зачислен на 01.02.2024 г. Той е придобил бакалавърска степен по „Молекулярна биология“ и магистърска степен по „Биохимия“ в същия факултет, а от 2023 г. заема академичната длъжност „асистент“ в Департамента за езиково обучение и продължаваща квалификация към СУ. Положил е всички изпити от индивидуалния си план с отличен успех.

Специализациите му в Университета на Инсбрук (Австрия) и Университета на Катания (Италия) са допринесли за овладяването на съвременни хроматографски, микробиомни и биоинформатични техники, приложени при разработването на дисертационния труд. Научната дейност на докторанта е свързана с изследването на молекулните отговори на растенията към биотичен стрес и с работата на група „Растителни паразити“ по проект SUMMIT и други национални научни проекти.

Представената справка показва, че докторантът покрива минималните национални изисквания по група А (50 точки за дисертационния труд) и надхвърля тези по група Г, където двете публикации носят 45 точки при изискван минимум от 30 точки.

2. Актуалност и значимост на дисертационната тема

Дисертационният труд е посветен на актуален и сравнително слабо изследван проблем - влиянието на различни биотични фактори върху взаимоотношенията между паразитните растения от род *Cuscuta* и техните гостоприемници. Тези паразитни растения могат да засегнат както диви растителни съобщества, така и важни земеделски култури. Взаимодействията им с фитофагни насекоми, ендофитни микроорганизми и ризосферни бактериални съобщества обаче са значително по-слабо проучени от двустранното взаимодействие паразит-гостоприемник.

Особено оригинален е избраният модел, включващ образуването на гали от хоботникови бръмбари от род *Smicronyx* върху *Cuscuta campestris*. Галообразуването е сложен процес на локално препрограмиране на развитието и метаболизма на растителните тъкани, който в разглежданата система протича в паразитно растение, развиващо се за сметка на своя гостоприемник. Комплексното изследване на взаимодействията между паразитното растение, насекомото и асоциираните микробни съобщества чрез биохимични, молекулярно-биологични, епигенетични и микробиомни подходи запълва съществена празнина в научната литература.

Тематиката има ясно изразена фундаментална значимост и очертава перспективи за разработване на биологични подходи за ограничаване на паразитните растения и по-добро разбиране на факторите, определящи растителното здраве.

3. Структура, цел, хипотези и задачи

Дисертационният труд е разработен върху 119 страници, онагледен е с 39 фигури и 4 таблици и включва 114 литературни източника, значителна част от които са публикувани през последните години. Структурата следва утвърдената схема – въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати, дискусия, изводи, научни приноси и използвана литература. Литературният обзор показва задълбочено познаване на проблематиката и осигурява солидна теоретична основа за проведеното изследване. На места по-синтезираното представяне на информацията би допринесло за още по-голяма яснота и целенасоченост на изложението.

Основната цел е ясно дефинирана - да бъдат идентифицирани биохимичните и молекулярните механизми, чрез които биотичните фактори повлияват паразитното растение *C. campestris*. Формулирани са две работни хипотези - първата разглежда галообразуването като стресов отговор, свързан с хормоналната и епигенетична регулация, а втората – двупосочните взаимодействия между паразитното растение и ендофитните и ризосферните микробни съобщества на неговите гостоприемници. За проверка на тези хипотези са поставени седем задачи, включващи изследване на антиоксидантния и хормоналния отговор, експресията на гени, кодиращи PR-белтъци, профила на ДНК метилирането, както и състава и структурата на ендофитните и почвените бактериални съобщества. Целта, хипотезите и изследователските задачи са взаимно обвързани.

4. Методични подходи

Експерименталната работа е извършена в катедра „Биохимия“ на БФ на СУ, както и в университетите в Инсбрук и Катания. Това сътрудничество осигурява достъп до специализирана аналитична инфраструктура и придава международен характер на изследването.

Използван е широк набор от класически и съвременни методи:

– RAPD анализ за молекулярно разграничаване на представители на род *Cuscuta* и идентифициране на експерименталния материал;
– HPLC и LC-MS анализи на нискомолекулни тиоли, фотосинтетични пигменти, токохроманоли и фитохормони;
– RT-qPCR за определяне на относителната експресия на гени, кодиращи PR-белтъци;
– бисулфитно секвениране и анализ на диференциално метилирани региони;

– 16S ампликонно секвениране за характеризиране на ендофитния и почвения бактериален микробиом;
– подходящи биоинформатични и статистически анализи, включително QIIME 2, DADA2, ANCOM-BC, PERMANOVA, DSS и KEGG обогатяване.

Комбинирането на метаболитни, транскрипционни, епигенетични и микробиомни анализи е една от най-силните страни на дисертацията. Особено амбициозно е прилагането на метиломен анализ и метабаркодиране при холопаразитно растение със силно модифициран метаболизъм. Избраните методи са подходящи за постигане на поставените цели и показват, че докторантът е придобил широк спектър от експериментални и аналитични компетентности.

5. Основни резултати и научни приноси

Получените резултати са иновативни, добре представени и дискутирани, като по-важните от тях могат да бъдат обобщени, както следва:

- Получените характерни RAPD профили позволяват разграничаване на изследваните представители на род *Cuscuta* и потвърждаване на видовата принадлежност на използвания експериментален материал към *C. campestris*. Приложеният подход допринася за молекулярно-генетичната идентификация и разграничаване на видовете от род *Cuscuta*, разпространени в България.
- Показано е, че индуцираното от *Smicronyx* галообразуване води до локални и системни промени в редокс състоянието и антиоксидантния метаболизъм на растението. Натрупването на редуциран глутатион и α-токоферол, и установените промени в съдържанието на нискомолекулни тиоли, свидетелстват за активиране на механизми, насочени към поддържане на клетъчната редокс хомеостаза. Получените резултати показват по-скоро насочване към превантивна адаптивна реакция, отколкото към развитие на изразен оксидативен стрес.
- Установено е локално преструктуриране на пигментния и токохроманолния профил, включително отговор на ксантофилния цикъл, наподобяващ адаптация към ниска осветеност, въпреки експозицията на галите на светлина.
- Анализът на фитохормоните показва координиран хормонален отговор, включващ участие на гиберелините в нарастването на галите и на абсцисиевата и жасмоновата киселина в защитните реакции, както и потискане на сигналните пътища, зависими от салициловата киселина.
- RT-qPCR анализите показват селективно, а не общо активиране на защитните механизми. Установено е потискане на експресията на гени, кодиращи хитиназа, липоксигеназа и цистатини, докато експресията на гени за осмотин-, дефензин- и тауматин-сходни белтъци е силно активирана.
- Метиломният анализ установява повишено общо ниво на ДНК метилиране в галите във всички изследвани секвенционни контексти - CG, CHG и CHH, както и значителен брой диференциално метилирани региони. Функционалната анотация показва, че засегнатите региони са асоциирани с метаболитни и регулаторни пътища, свързани с преструктурирането на галовата тъкан и енергийния метаболизъм.
- Характеризирани са основните групи ендофитни бактерии в популации на *C. campestris* в България. Установена е изразена зависимост на състава на ендофитните бактериални съобщества от вида на растението гостоприемник, както и различна

степен на припокриване на ампликонните секвенционни варианти между паразита и неговите гостоприемници. Тези резултати подкрепят хипотезата за възможен обмен на микроорганизми между взаимодействащите растения.

- Установено е непряко влияние на паразитирането от *C. campestris* върху почвения бактериален микробиом, като идентичността на растението гостоприемник остава основният фактор, определящ структурата на бактериалните съобщества. Въпреки че заразяването с C. campestris не предизвиква статистически значими промени в общото алфа-разнообразие на почвените бактериални съобщества, са установени изменения в относителната представеност на отделни бактериални таксони.

Напълно приемам прецизно формулираните четири фундаментални и два научно-приложни приноса. Особено висока оценка заслужава интердисциплинарният подход, който обединява биохимични, транскрипционни, епигенетични и микробиомни данни в рамките на единна експериментална система.

6. Публикационна активност и автореферат

По тематиката на дисертационния труд са представени две публикации в международни реферирани и индексирани списания, които осигуряват и надвишават необходимия брой точки по минималните национални изисквания. Едната е оригинална научноизследователска статия в PhytoKeys (Q2), посветена на приложението на RAPD маркери за разграничаване и оценка на генетичното разнообразие на представители на род *Cuscuta*. Декларираният принос на докторанта включва участие в методологията и формалния анализ. Втората публикация е обзорна статия в Pathogens (Q1), в която докторантът е първи автор и съавтор на концепцията. Тя систематизира наличните знания за паразитните растения като потенциални вектори на фитопатогени и очертава научната рамка на част от изследванията в дисертацията. Наличните седем цитирания свидетелстват за интерес към разработваната тематика. Значителна част от оригиналните резултати предстои да бъде публикувана, което би допринесло за по-широката им научна видимост.

Данните са представени и на пет национални и международни научни форума.

Авторефератът е изготвен в съответствие с установените изисквания и правилно отразява структурата, съдържанието, основните резултати и приносите на дисертационния труд. Той дава ясна и цялостна представа за извършеното изследване и научните постижения на докторанта.

7. Критични бележки, препоръки и въпроси

Наред с безспорните достойнства на дисертационния труд могат да бъдат направени няколко бележки и препоръки, които имат предимно дискусионен характер.

Формулировките за „механизми“ и „епигенетичен контрол“ на места са по-категорични от експериментално установеното. Метиломният анализ показва промени в ДНК метилирането, свързани с галообразуването, но не доказва, че те са причина за промените в генната експресия.

Припокриването на ампликонните секвенционни варианти между паразита и гостоприемника предполага възможен обмен на микроорганизми, но не доказва посоката и механизма на преноса.

При RT-qPCR анализа е използван само един референтен ген – актин, без да е посочено дали стабилността на експресията му е проверена при галообразуване. Включването и

валидирането на допълнителни референтни гени би повишило надеждността на нормализацията.

Направените бележки не намаляват достойнствата на дисертационния труд, а по-скоро очертават перспективи за по-нататъшно развитие и задълбочаване на проведените изследвания.

Във връзка с получените резултати имам следните въпроси:

1. Установено ли е съответствие между диференциално метилираните промоторни региони и конкретни PR-гени с променена експресия? Как би могло да се изясни дали промените в метилирането са причина за препрограмирането на галовата тъкан, или възникват като негова последица?
2. Какви методологични подходи биха позволили да се докаже преносът на конкретен бактериален щам между растението гостоприемник и *Cuscuta*, да се определи посоката на преноса и да се изключи възможността за независимо придобиване на микроорганизма от общ източник?
3. Доколко реалистично би било използването на насекоми от род *Smicronyx* за биологичен контрол на *C. campestris*? Кои показатели за ефективност, специфичност и екологичен риск следва да бъдат оценени преди евентуалното практическо приложение на този подход?

8. Заключение

Дисертационният труд на Стефан Светославов Савов представлява завършено, оригинално и интердисциплинарно научно изследване, основано на съвременни биохимични, молекулярно-генетични, епигеномни, микробиомни и биоинформатични подходи. Получен е значителен по обем и с високо качество набор от експериментални данни, въз основа на които са формулирани обосновани фундаментални и научно-приложни приноси. Резултатите разширяват познанията за сложните взаимодействия между паразитните растения, фитофагните насекоми, растенията гостоприемници и асоциираните с тях микробни съобщества. Представената разработка показва задълбочена теоретична подготовка и висока методична компетентност на докторанта, както и способността му самостоятелно да планира и провежда научни изследвания и да анализира и интерпретира получените резултати.

Дисертационният труд отговаря на изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България, Правилника за неговото прилагане и съответния правилник на Софийски университет „Св. Климент Охридски“. Въз основа на цялостната ми положителна оценка на дисертационния труд убедено предлагам на уважаемото Научно жури да присъди на Стефан Светославов Савов образователната и научна степен „доктор“ в професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма „Биохимия“.

Дата: 20.07.2026 г. Член на Научното жури:

гр. София проф. д-р Валя Николова Василева