

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР“
по професионално направление 4.3 „Биологични науки“,
научна специалност „Физиология на растенията“

АВТОР НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД: **Марияна Тодорова Сичанова**, докторант в самостоятелна форма на обучение към лаборатория „Растително-почвени взаимодействия“, изследователско направление „Растителна екофизиология“, Институт по физиология на растенията и генетика, Българска академия на науките.

НАУЧЕН КОНСУЛТАНТ: **Доц. д-р Мария Генева**

ТЕМА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД: ***In vitro* размножаване на *Stevia rebaudiana* чрез прилагане на аминокиселинни нанофибри и влияние на засушаването върху *ex vitro* адаптираните растения.**

РЕЦЕНЗЕНТ: **доцент д-р Десислава Александрова Тодорова**, лаборатория „Регулатори на растежа и развитие на растенията“, изследователско направление „Растителна екофизиология“, Институт по физиология на растенията и генетика, Българска академия на науките.

Настоящата рецензия е изготвена в качеството ми на член на Научно жури във връзка с процедурата за защитата, съгласно Заповед РД 01-31/14.07.2026 г. на Директора на ИФРГ-БАН.

Данни за докторанта

Марияна Тодорова Сичанова е родена в гр. Свиленград. Завършила е висше образование в СУ „Климент Охридски“, Биологически факултет, специалност „Лечебни растения“ и защитава магистърска степен с дипломна работа на тема „Биологични и фитохимични особености на *Hypericum perforatum* L. (жълт кантарион)“, с ръководител доц. Люба Евстатиева. След дипломирането си работи като биолог специалист към Институт по Ботаника, сега част от Институт по биоразнообразие и екосистемни изследвания (ИБЕИ), БАН. От 2007 г. започва работа в ИФРГ-БАН в секция „Минерално хранене и воден режим на растенията“, сега лаборатория „Растително-почвени взаимодействия“. През 2023 г. след проведен конкурс, е назначена като асистент към лабораторията, а през 2024 г. със заповед РД 01-18/11.04.2024 г. на Директора на ИФРГ-БАН е зачислена като докторант в самостоятелна форма на обучение за срок до пет години.

Актуалност и значимост на научната проблематика

Представеният дисертационен труд е насочен към проучване на потенциала на аминокиселинни нанофибри, носители на сребърни частици, за включването им като компонент в *in vitro* хранителната среда за размножаване на микропрорастъци *Stevia rebaudiana* Bertoni, като същевременно сребърните наночастици действат като контролиран абиотичен елиситор, който активира антиоксидантната защитна система на растенията и метаболитните пътища за биосинтез на вторични метаболити (стевиолови гликозиди и фенолни съединения), без да проявява фитотоксичност. Предвид широкия обществен интерес за приложение на стевия в хранително-вкусовата промишленост като заместител на захари и изкуствени подсладители, както и непрекъснато растящия брой изследвания за възможното терапевтично и фармакологично действие на екстрактите от стевия и техните отделни съединения считам, че темата на дисертацията е особено актуална. Тук е мястото да отбележа, че дисертационният труд е естествено продължение на интереса на дисертантката М. Сичанова за изследвания върху ценни ароматни и медицински растения. Този интерес, зародил се още от студентската скамейка, се затвърждава чрез натрупания опит в ИБЕИ – БАН, естествено довеждайки до включването ѝ в научната група на доц. Мария Генева в ИФРГ-БАН, по разработване на протоколи за микроразмножаване на застрашени от изчезване, традиционни или интродуцирани в България лечебни растения и изследване на техния антиоксидантен потенциал и фитохимичен състав. Като резултат от своята работа в групата под умелото ръководство на научния консултант доц. М. Генева, докторант М. Сичанова представя напълно завършено изследване. Финализираният дисертационен труд показва целенасочен и траен научен интерес от страна на докторантката към подобен род изследвания и нейната силна мотивация за разработване на тази актуална тема.

Експерименталната работа по дисертацията е проведена в лаборатория „Растително-почвени взаимодействия“ към Институт по физиология на растенията и генетика, БАН; в лаборатория „Химия на природните вещества“ на Институт по органична химия с център по фитохимия (ИОХЦФ), БАН и в Катедра по органична химия при Химикотехнологичен и металургичен университет (ХТМУ), София.

Обща характеристика на дисертационния труд – обем и структура

Дисертацията е структурирана съгласно изискванията за изготвяне на дисертационен труд. Общият обем е 163 страници текст и включва следните раздели: въведение, литературен обзор, работна хипотеза, цел и задачи, материали и методи, резултати, дискусия, изводи, приноси, и библиография. Списъкът с библиографските източници съдържа 353 заглавия, всичките на латиница. Цитираните източници в периода от последните 10 години са 169 и съставляват 48 % от целия списък, а от последните 5 години са 88 (25 %), което недвусмислено още веднъж показва актуалността на темата и международния научен интерес към нея. По-старите публикации допринасят за повишаване на теоретичната и методологическа осведоменост на докторантката по проблематиката на дисертацията.

Представен е и подробен списък на използваните съкращения, веднага след съдържанието на дисертацията.

Представеният автореферат на български и английски език е с обем от 43 страници. Оформен е според изискванията и отразява ясно, кратко и по същество съдържанието на дисертационния труд. Дисертацията и авторефератът са написани на добър професионален и граматически издържан език.

Анализ и оценка на дисертационния труд

Разделите „**Въведение**“ – 2 стр. и „**Литературен обзор**“ – 38 стр. предоставят аргументирана обосновка за избора на дисертационната тема и нейната актуалност. Цялостното впечатление от литературния обзор е за задълбочено познаване на проблематиката, което включва подробна характеристика на моделното растение *Stevia rebaudiana* Bertoni, фитохимичния състав на биологично-активните му компоненти, значими за здравето и диетата на човека, и е направен систематизиран преглед на начините за неговото размножаване. Особено внимание е отделено на микроразмножаването, като удачен способ за бързо масово размножаване и получаване на голямо количество здрави и високо съдържание на стевиолови гликозиди. Подробно са описани всички фактори, оказващи влияние върху процеса – състав на хранителната среда, източниците на въглерод и азот, растежните регулатори и микро- и макроелементите за успешно образуване на микропрорастъци и корени. Последната част от литературния обзор е насочена към преглед на наночастиците и в частност на сребърните наночастици, като инструмент за модулиране на различни физиологични, биохимични и метаболитни процеси в растенията, включително и като прайминг агенти при излагането на растенията към абиотични стресови фактори. Така структурираната информация логично води до основната цел на дисертационния труд и конкретните експериментални задачи, поставени в контекста за доказване на **работната хипотеза на дисертационния труд** (1 стр.), а именно: включването на аминокиселинни нанофибри, носители на сребърни частици в хранителната среда за микроразмножаване на *Stevia rebaudiana* ще предизвика различен биологичен отговор по отношение на морфогенетичния потенциал, биохимичния и метаболитния профил и адаптивната пластичност на растенията към засушаване, в зависимост от приложената доза.

Основната цел (2 стр.) е формулирана, поставяйки акцент върху оптимизиране на *in vitro* размножаването и растежните параметри на *Stevia rebaudiana*, изследване нивата на някои от синтезираните вторични метаболити и антиоксидантната защита под влияние на аминокиселинни нанофибри, носители на сребро, както и проучване влиянието им като фактор за по-добра адаптация при стрес от засушаване. Поставени са **7** логически свързани **основни експериментални задачи**.

Раздел „**Материали и методи**“ (15 стр.) подробно описва опитните моделни системи, онагледено и чрез схема на експерименталната временна линия, както и целия набор от използвани биохимични, физиологични и хроматографски методи за анализ, което позволява тяхното лесно възпроизвеждане, както и използваните статистически методи за

доказване на значимите разлики в резултат от третиранията, допринасящо за тяхното коректно интерпретиране. Без съмнение, при изработване на дисертацията си М. Сичанова е овладяла и успешно прилага разнообразни класически и съвременни методи и техники, което ще подпомогне бъдещата ѝ научноизследователска дейност.

Раздел „**Резултати**“ обхваща 37 страници, като се представят експериментални данни илюстрирани в 26 фигури и 9 таблици. Докторантката е избрала да раздели тази част на три подраздела, комбинирайки резултати за ефекта на наночастиците, носители на сребро върху 1) Микроразмножаването, вкореняването и растежа на микропрорастъците; 2) Изследвания на биохимични параметри, свързани с антиоксидантната защита на микрорастенията; и 3) Метаболитните промени в състава и разпределението на стевииоловите гликозиди и някои по-важни фенолни съединения и флавоноиди. В трите подраздела последователно са представени резултатите от прилагането на валинови пептидомиметици, носители на 1% и 2% колоидно сребро (NF-1%Ag и NF-2%Ag) в нарастващи концентрации 1, 10, 50 и 100 mg/L, на нанопибри от сребърни соли на аспарагинови производни с мономерна и димерна структура (NF1-Ag salt и NF2-Ag salt) в същите концентрации, както и на подбраната 10 mg/L концентрация на четирите типа сребърни нанопибри за *in vitro* размножаване и последваща *ex vitro* адаптация на микропрорастъците при оптимална и намалена почвена влажност, върху биометрични параметри, свързани с натрупването на биомаса; съдържание на стресови маркери (малондиалдехид, водороден пероксид, пролин) и неензимни антиоксиданти (тиол-съдържащи съединения, каротеноиди, общи захари, феноли и флавоноиди); антирадикалова и фериредуцираща антиоксидантна активност, активност на ензимни антиоксиданти (супероксид дисмутаза, каталаза, аскорбат пероксидаза, гваякол пероксидаза); количество на стевииозид, ребаудиозид А, моно- и дикафеоилхинови киселини и кверцетин-3-О-рамнозид. Установени са промени в изследваните параметри, които зависят от вида и концентрацията на използваните частици в състава на хранителната среда; а при адаптираните засушени растения и от продължителността на водния дефицит.

Раздел „**Дискусия**“ обхваща 29 страници, като тематично тази част също е разделена на три подраздела, съобразно трите основни експериментални системи: 1) влияние на валиновите нановлакна, носители на колоидно сребро върху изследваните показатели; 2) влияние на сребърни соли на мономерни и димерни производни на аспарагиновата киселина върху посочените параметри и 3) сравнителен анализ на представителите на двата вида органични нанопибри, носители на сребро в концентрация 10 mg/L при контролни и засушени адаптирани растения стевия върху антиоксидантната защита и ключовите вторични метаболити. Получените от докторантката данни са критично и компетентно анализирани в контекста на изследванията от други автори. Това показва умението на М. Сичанова задълбочено да интерпретира своите експериментални резултати.

Формулирани са 6 **извода** (1 стр.) и 5 оригинални **приноса** (1 стр.) - 4 с фундаментален и един с научно-приложен характер, които са адекватно изведени въз основа на получените резултати и тяхната значимост. Като цяло приемам формулираните приноси и бих открила като по-съществени: 1) разработената оригинална схема за микроразмножаване на стевия

чрез модифициране на MS хранителната среда с добавяне на два типа органични нанопибри: валинови пептидомиметици, носители на 1% и 2% колоидно сребро (NF-1%Ag и NF-2%Ag) и нанопибри от сребърни соли на аспарагинови производни (NF1-Ag salt и NF2-Ag salt), с което се цели регулиране на морфогенезата, биомасата и антиоксидантния капацитет на *in vitro* микропрорастъците; и 2) установената за първи път строго отрицателна зависимост (обратна корелация) между съдържанието на двата най-важни дитерпенови гликозиди (стевиозид и ребаудиозид А) и вегетативните растежни параметри на микропрорастъци от *S. rebaudiana* при включването на органични ностели на сребърни частици в хранителната среда, което несъмнено изисква оценка на икономическата полза при прилагането на модела за търговски цели.

Оценка на показателите за изпълнение на минималните изисквания на придобиване на образователната и научна степен „доктор“

След проверка на представената справка за изпълнение на минималните изисквания на придобиване на образователната и научна степен „доктор“, считам, че докторант М. Сичанова има събрани общо **376 т.**, разпределени съгласно следните критерии:

1. Издържан изпит по базов специализиран предмет „Физиология на растенията“ – 1 x **40 т.** (*задължителен минимум 40 кредита*)
2. Преминато обучение и издържани два изпита върху избираеми специализирани курсове – **40 т.** (2 x 20 т.) (*задължителен минимум 40 кредита*)
3. Преминато обучение и издържани изпити по езиково обучение и информационни технологии – **50 т.** (2 x 25 т.) (*задължителен минимум 50 кредита*)
4. Представяне на резултати по темата на дисертацията – **196 т.** (*задължителен минимум 40 кредита*)
 - Доклади на международни научни форуми – 160 т. (5 x 32 т.)
 - Доклади на национални научни форуми – 20 т. (20 т.)
 - Семинари пред ПНЗ – 16 т. (2 x 8 т.)
5. Публикации по темата на дисертацията – **50 т.** (2 публикации в Q1 x 25 т.) (*задължителен минимум 30 кредита и 2 публикации*)

Според Правилника за дейността на Центъра за обучение и Академичния съвет при Българска Академия на Науките, докторантката е събрала 376 кредита при задължителен минимум от 200 точки. Получените кредити не само са достатъчни, но дори значително надхвърлят изискуемите. Докторантката е първи автор в публикациите и докладите по дисертацията, от което може да се направи извода, че дейностите по получаването, обработката, представянето и интерпретирането на резултатите са в значителна степен нейно лично дело под умелото ръководство на доц. д-р Мария Генева. Забелязани са и общо 24 цитата на публикациите по темата ѝ, което е отличен атестат за качеството на нейните разработки.

Забележки и препоръки

Познавам асистент Марияна Сичанова от постъпването ѝ в ИФРГ. Прави впечатление на изключително скромна, възпитана и работлива колега, вземаща активно участие в разработването на протоколи за микроразмножаване и изследване на антиоксидантната защитна система при различни лечебни растения. Със задоволство трябва да отбележа, че по-голяма част от отправените към докторантката по време на предварителната защита въпроси и конструктивни бележки са взети под внимание от нея, и съответно отразени в представения окончателен вариант на дисертацията. Имам конкретна забележка към М. Сичанова – намирам за по-подходящо представените резултати за тиол-съдържащите съединения да бъдат включени и обсъдени в съответните подраздели на глави „Резултати“ и „Дискусия“ като част от неензимната антиоксидантна защита, а не като стресови маркери. Докторанката ги е посочила като част от неензимната защита в раздел „Литературен преглед“, позовавайки се на съответни източници, затова бих препоръчала в бъдещата си работа да разглежда и тази тяхна по-общоприета роля. Макар че в окончателния вариант на дисертацията все още се забелязват някои технически, пунктуационни и граматически грешки, те не омаловажат стойността на представената работа.

Имам и **въпроси** към Марияна Сичанова:

- 1) Може ли на базата на Вашите изследвания да предположите какъв би бил ефекта върху изследваните от Вас параметри, ако като компоненти в хранителната среда бъдат използвани за носители на сребро производни на други аминокиселини?
- 2) Смятате ли да разширите Вашите изследвания по тази тематика и в каква посока?

Обобщена оценка на дисертационния труд и заключение

Представената дисертационна разработка е оригинална, работата е добре планирана, получените резултати са с достатъчен обем и качество, интерпретирани са компетентно, и направените изводи и оригинални приноси съответстват на поставените цели и задачи. Представените материали отговарят на изискванията на ЗРАСРБ и на Правилника за неговото прилагане. Всичко гореизложено ми дава основание да предложа на уважаемите членовете на Научното жури да гласуват положително и да присъдят образователната и научна степен "ДОКТОР" по професионално направление 4.3 „Биологически науки“, научна специалност „Физиология на растенията“, на докторант Марияна Тодорова Сичанова.

03 септември 2026 г.

Гр. София

Изготвил рецензията:

/Доцент д-р Десислава Тодорова/