

РЕЦЕНЗИЯ

на Дисертационен труд на тема:
„Биологична активност на хитозан-базирани наноматериали“

за придобиване на Образователна и Научна степен „Доктор“
Област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика
Професионално направление: 4.3. Биологически науки (Биофизика)

Докторант: Даяна Славчова Бенкова

Докторска програма: „Биофизика“, Секция: „Липид-белтъчни взаимодействия“,
Институт по биофизика и биомедицинско инженерство (ИБФБМИ)-БАН

Научни ръководители:

Проф. д-р Галя Станева
Доц. д-р Анелия Костадинова
ИБФБМИ-БАН

Рецензент: проф. д-р Светла Димитрова Петрова

Катедра «Биохимия», Биологически факултет, Софийски университет “Св. Климент
Охридски”, Член на Научно жури, съгласно **Заповед № 452/27.04.2026г.** на
Директора на ИБФБМИ - БАН, проф. д-р **Т. Пенчева**

1. Обща характеристика на дисертационния труд и представените материали

Дисертационният труд на Даяна Бенкова е написан, следвайки стандартен принцип: Увод и Литературен обзор (46 стр.); Цели и задачи (2 стр.); Материали и методи (22 стр.); Резултати (31 стр.); Дискусия (26 стр.); Заключение (3 стр.); Изводи (2 стр.); Приложения: приноси, списък с публикации (3 публикации с импакт фактор), участия в научни форуми (3 международни и 3 национални); и Библиография с цитирани 182 литературни и електронни източници. Дисертационният труд съдържа 149 страници, 59 фигури и 3 таблици, оформени отлично. Авторефератът представя коректно резултатите и съдържанието на дисертационния труд и отговаря на всички изисквания за изготвянето му. Всички представени материали отговарят напълно на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ).

2. Данни и лични впечатления за кандидата

Докторант Даяна Бенкова завършва ОКС „Бакалавър“ в спец. Молекулярна биология на СУ „Св. Климент Охридски“ през 2020г и веднага след това придобива Магистърска степен по „Биохимия“ в СУ „Св. Климент Охридски“ с отлична защита на дипломна работа на тема: „Взаимодействие на хитозан-базирани наночастици с биомиметични мембрани“, изработена в ИБФБМИ-БАН. Така, Докторската програма по „Биофизика“ на ИБФБМИ се явява закономерно продължение на изследователската работа и развитието ѝ като учен. Като докторант на самостоятелна подготовка, Даяна Бенкова заема различни длъжности в ИБФБМИ – технически изпълнител, биолог и асистент, което допълнително спомага за изработването на този дисертационен труд и участието във всички научни проекти на секцията.

3. Актуалност на дисертационната тема.

Темата на дисертационния труд, посветена на биологичната активност на хитозан (CS) базирани наноматериали, съдържа в себе си актуалността на научния проблем – *наночастици, наноматериали, нанотехнологии, използвани* като съвременен иновативен научен подход. Независимо, че наноматериалите са естествено срещани в природата, изследването на синтетично създадени и специфично манипулирани наноматериали е новаторско и ще определя бъдещето на всички човешки дейности - медицина, електроника, енергетика, хранителна промишленост, телекомуникации, козметика, селско стопанство и др. В този смисъл, изследването на свойствата

на *новосъздадени CS-базирани наноматериали*, молекулните механизми на тяхното взаимодействие с моделни и природни (гъбни) мембрани, както и възможностите им за приложение като ефективни, екологично съвместими противогъбични препарати, е актуално и значимо, защото поставя научната основа за бъдещи приложения на CS-базираните хибридни нанокomпозити (HNCs).

4. Обща характеристика на дисертацията и познаване на състоянието на проблема от докторанта.

Дисертационният труд на Даяна Бенкова е написан компетентно, демонстрирайки отлично познаване и обобщаване на научните изследвания в областта. Оценката на това обширно проучване ѝ позволява да дефинира работната хипотеза и научна цел на изследването.

Литературният обзор представя подробно *същността* („естествен, случаен или целенасочено произведен материал, с измерения от 1-100 nm, с различни и специфични физико-химични свойства, разнообразни активности и потенциални приложения“) и *класификацията* на естествените и антропогенни наноматериали (NMs). Огромното разнообразие от неорганични и органични NMs е представено чрез детайлно описание на най-важните класове, структура, физико-химични характеристики, свойства, реакционни механизми и приложения. Дисертацията е посветена на хитозан-базираните NMs (NCs) и затова подробно е разгледана взаимозависимостта *структура-функция на хитозана*, специфичните му *физико-химични свойства* (критична комбинация от степен на деацетилиране (DD) и Mr) и *биоактивности*, дължащи се на структурата (интра- и интермолекулни водородни връзки, хелатни взаимодействия с метални йони, електростатични взаимодействия и потенциал за ковалентни модификации). Структурата на хитозана е отговорна за адхезионните, агрегационни, адсорбционни свойства, както и отличната биосъвместимост, които определят потенциалните му разнообразни приложения особено в биомедицината (хранителни добавки, регенеративната медицина, антимикуробни агенти, алтернатива на конвенционалните вирусно-векторни системи при генни терапии, ваксини, системи за доставяне на лекарства, антитуморни агенти и др.). Подробно са разгледани *хибридните композитни наноматериали (HNCs)*, съчетаващи характеристиките и наноструктурната организация на NCs и HNMs. Даяна Бенкова разглежда като *най-перспективни полимер-базираните HNCs*, изградени от органичен полимер и неорганични метални NPs, като поставя акцент върху потенциалните приложения на хибридните CS-базирани HNCs с метални оксиди, разглеждайки използването им като *ефективни нанофунгициди срещу фитопатогенни гъби като иновативна стратегия*. Много детайлно, Даяна Бенкова разглежда състава, структурата и динамиката на биологичните мембрани, основните физико-химични характеристики на липидния бислой и неговите фазови състояния, механизмите на окислителни процеси в мембранните, както и биологичните характеристики на изследваните видове фитопатогенни гъби *Fusarium solani* и *Alternaria solani*.

Даяна Бенкова формулира две цели, които изследват научния проблем интегрално – *механистично и приложно*: 1. Изучаване на *механизмите на взаимодействие* между CS-базирани и PEG-базирани HNCs наноматериали с мембранни модели, имитиращи липидната фазова хетерогенност на еукариотните мембрани и 2. *Антигъбична активност на CS-базирани HNCs* наноматериали, съдържащи ZnO, CuO, SiO₂, дефинираща темата на дисертационния труд. Определените задачи напълно съответстват на поставените цели.

Разделът *„Материали и методи“* е написан изключително подробно и информативно, обобщавайки огромен брой данни от различни научни области, което доказва *интердисциплинарността* на научното изследване: *химия* (химичен синтез на NMs); *биофизика* (диспергиране и анализ на получените везикули, Лаурдан флуоресцентна спектроскопия, оптична микроскопия, динамично-светоразсейване, електрофоретично светоразсейване за измерване на ζ - потенциал, дифузионни); *биохимия* (оценка на оксидативен стрес чрез определяне на активността на супероксид дисмутаза (SOD), нивото на карбонилирани мембранни белтъци (PCC), нивата на липидна пероксидация); *микробиология* (култивиране на фитопатогенни гъби); и *статистика*. Несъмнено, Даяна Бенкова вече е изграден изследовател, който може да проведе комплексно, завършено научно изследване в областта на наноматериалите.

Разделът „*Резултати*“ определя основната научна и образователна стойност на дисертацията. Те са изложени логически в последователността на поставените задачи, оформени са отлично и са описани научно. Основните резултати са представени в 3 раздела - *характеризиране на изследваните NMs* за моделни мембрани и фитопатогенни гъби, изучаване на *механизмите на взаимодействия* на изследваните NMs с моделни мембрани и изследване на *биологичната активност* на CS-базираните HNCs срещу фитопатогенни гъби - *A. solani* и *F. solani*.

В *първия раздел* се изучават колоидните характеристики на дисперсии от NMs, създадени за изследванията с моделни мембрани (в ddH₂O) и естествени мембрани на фитопатогенни гъби (в 0.2% DMSO). Независимо, че темата на дисертационния труд Даяна Бенкова е доказване на биологичната активност на CS-базираните наноматериали, основата, върху която трябва да изгради научната хипотеза са изследванията на тяхната структура, физико-химични и молекулярно-биологични свойства, биофизично поведение и взаимодействия с мембрани.

Научното изследване използва иновативен подход за химично комбиниране на органичен (природен и биосъвместим) CS с неорганичните оксиди (ZnO, CuO и SiO₂) за създаване на стабилни нанокompозити, с различни свойства и активности, така че самото *създаване на CS базирани нанокompозити* е съществен принос към дисертационния труд. Направен е *комплексен биофизикохимичен анализ* на CS-базираните и PEG-базираните хибридни нанокompозити и са идентифицирани критични параметри - размер (DLS (хидродинамичен) и HRTEM (действителен геометричен размер), повърхностен заряд (ζ -потенциал) и морфология. Резултатите показват сравнителен анализ между *чисти CS NPs* (сферична форма, размери от 20 до 40 nm и най-висока стойност на ζ - потенциала - +33.5 mV), *хибридни нанокompозити* (структурата и взаимодействията на металните оксиди повлияват средния хидродинамичен размер и повърхностния заряд - CS-CuO - 334.3 nm и +16.1 mV, CS-SiO₂ - 770 nm и 17.7 mV, CS-ZnO - 438 nm и 21.6 mV) и *PEG базирани HNCs* (най-голям размер и най-нисък потенциал, PEG-ZnO HNCs - 1116 nm и +9.48 mV). HRTEM визуализираната морфология на нанокompозитите, диспергирани във вода, доказва агрегиране при CS-ZnO и PEG-ZnO HNCs в структурна организация от сферично ядро на ZnO, обгърнато с полимерен слой от CS и PEG. При CS базираните нанокompозити, диспергирани в DMSO, има разлики в размерите, потенциала (увеличен) и структурата - агломерирано ядро от CS, обгърнато със слой от ZnO (при CS-ZnO-HNCs).

Вторият раздел се фокусира върху изучаване на *взаимодействията на наноматериалите с моделни мембрани*, като се използват различни моделни системи в различни фазови състояния, проследени с Лаурдан флуоресцентната спектроскопия. Мембранните модели, които се изследват за промени в липидната подреденост са с различна степен на сложност:

1) *модел на Ld фаза* - EggPC LUVs. Третирането на EggPC LUVs с 0.01 mg/ml чисти CS NPs показва по-висока липидна подреденост в сравнение с контролните EggPCLUVs без CS. Зависимостта на GP от концентрацията на CS NPs е хиперболична с увеличаване на концентрацията на NMs (ефект на насищане), а изчислените количествените промени в липидната подреденост в Ld фазата, индуцирани от NMs, показват низходящ ред: CS > CS-CuO > CS-ZnO > CS-SiO₂ > PEG-ZnO. Даяна Бенкова достига до извода, че *тестваните NMs повишават подредеността на всички липидни фази, намалявайки полярността в областта на глицероловия скелет на липидите* и този ефект е зависим от първоначалната липидна подреденост и полярност на бислоя (потвърждава т.нар. „подреждащ“ ефект на CS NMs). За механизма на взаимодействие на CS NMs, докторантката посочва интегралните приноси на: *електростатични взаимодействия* (катионен заряд на CS NPs (+33,5 mV) и отрицателно заредени EggPC мембрани (-19 mV); *водородни връзки* с холиновата полярна глава на EggPC, *адхезия* на CS NPs по повърхността на мембраната; *увеличаване на вискозитета* на микросредата в областта на глицерола; *свободна дифузия* на CS NPs (40 nm) в бислоя и *хидрофобни взаимодействия*. Даяна Бенкова анализира и влиянието на разтворителите (оцетна киселина, DMSO), използвани в експериментите с NMs, за да се определи действителната промяна на GP. Взаимодействието на CSNPs и CS-CuO NMs с EggPCLUVs е проследено чрез DLS и ELS. ζ - **потенциалът** на нетренираните EggPC LUVs (-19 mV) и този на чисти CS NPs (+33.5 mV), при pH 5.5, рязко се променя след взаимодействието им достигайки до +19 mV при декорираните везикули, което повишава адхезията по повърхността на мембраните.

Даяна Бенкова дискутира много детайлно резултатите от DLS и достига до извода, че при изследваните NMs – CS-NPs и CS-CuO HNCs има пълно взаимодействие и процеси на обмен на материя с EggPC LUVs везикулите.

2) *модел на Lo фаза* на рафт-подобни домени в еукариотната клетъчна мембрана - 2 вида бинарни смеси - **EggPC/Chol (1:1)** и **EggSM/Chol (1:1)**. *Основният извод от тези изследвания е, че „подреждащият“ ефект върху EggPC/Chol Lo фазата е 3x по-голям в сравнение с ефекта върху рафт-подобната EggSM/Chol Lo фаза*, за което има значение ролята на холестерола и по-високият афинитет към сфингомиелина. Затова, измерените количествени промени в *липидната подреденост в рафт-подобната Lo фаза на EggSM/Chol имат 2x по-малка стойност от тези в Ld фазата*. Единствено при увеличаването на концентрацията на CS-SiO₂, GP стойностите експоненциално намаляват - показател за „*флуидизиращ*“ ефект на този нанокompatит. Редът на количествените промени в липидната подреденост на рафт-подобната Lo фаза, индуцирани от NMs е: CS-CuO ≈ CS-ZnO > PEG-ZnO > CS > CS-SiO₂. Аналогична е зависимостта при бинарната смес от **EggPC/Chol (1:1)**, като модел на по-неподредена от EggSM/Chol **Lo фаза**. Количествените промени следват реда: CS-ZnO > CS-CuO > CS ≈ PEG-ZnO > CS-SiO₂.

3) *модел на еукариотната плазмемембрана (Ld/Lo съвместно съществуване, с различна степен на подреденост и фазова хетерогенност)* - трикомпонентна смес от **EggPC/EggSM/Chol** в съотношение 2:2:1 (фазово разделяне в бислоя - EggSM и Chol са организирани в Lo фаза под формата на домени, заобиколени от непрекъсната Ld фаза от EggPC). При този модел *всички тествани NMs оказват подреждащ ефект върху хетерогенния модел, като чистите CS NPs показват концентрационно-зависимо увеличаване на GP стойностите, докато ефектът на CS-базираните HNCs е много по-слаб* с открояване на PEG-ZnO HNCs. Количествените промени в липидната подреденост в EggPC/EggSM/Chol LUVs се изразяват в следния ред: CS > PEG ZnO > CS-ZnO > CS-CuO > CS-SiO₂. Докторантката доказва определена степен на преференциалност за тестваните нанокompatити - *катионните CS NPs взаимодействат предимно с флуидната Ld фаза* от хетерогенните мембрани, за разлика от Lo фазите (високо съдържание на холестерол, по-пакетирани, намален отрицателен повърхностен заряд).

Даяна Бенкова изследва промени в *морфологията* на **GUVs**, индуцирани от различни концентрации NMs чрез процеси като адхезия, фузия, свиване, образуване на пори, тубули и мембранна пермеабилитация, които анализира в моделни мембранни системи в различни фазови състояния – Ld (EggPC GUVs,) и хетерогенни Ld/Lo (EggPC/EggSM/Chol GUVs). Това мащабно изследване налага като *извод възникването на интегрални промени в различна степен - увеличена липидна подреденост, изменения в пермеабилитета на бислоя, мембранни инвагинации и дезинтеграция на мембраната, различно време на колапс и адхезия*. Напр., за да се предизвикат определени морфологични промени при третиране на EggPC GUVs, е необходима 2x по-висока концентрация от CS-ZnO HNCs в сравнение с CS NPs (най-нисък концентрационен праг от 40 µg/ml).

За да се оцени *биологичната значимост на липид-NMs взаимодействията* при хетерогенните еукариотни клетъчни мембрани се анализира задълбочено морфологията на хетерогенни EggPC/EggSM/Chol GUVs като модел на Ld/Lo, третирани с нарастващи концентрации на CS базирани NPs. Флуоресцентна микроскопия с ненаситен Rhodamine-PE (дефинитивен за Ld фазата) показва *съществуване на два вида морфологични трансформации – мембранни инвагинации и свиване на липозомата*, по-силно изразени при Ld и по-малко за Lo фазата при високите концентрации. Определена е *критична концентрация от 160 µg/ml на CS NPs*, при която неравномерното разпределение и взаимодействията на NP по цялата повърхност на мембраната, задействат мембранни инвагинации и дезинтеграция на мембраната.

Биологичната активност на CS-базираните HNCs срещу фитопатогенни гъби - *A. solani* и *F. solani*, както и потенциалните приложения на създадените наноматериали са анализирани в *третия раздел* на дисертационния труд. Прилагайки комбинация от *микробиологични, биохимични и биофизични подходи*, Даяна Бенкова представя противогъбична и прооксидантна (екзогенно индуциране на ROS) активности. Комбинацията от физикохимичните характеристики на нанокompatитите (размер, форма, повърхностен заряд) и реактивност/нанотоксичност (редокс-повърхностната катализа на неорганичните оксиди) е използвана за оптимизиране на

синергичната противогъбична ефективност, силно зависима също от дифузионния потенциал за интернализация в гъбните мембрани.

Първата серия от експерименти е доказателство за *съществуване на биологична противогъбична активност*. Тук е приложена моделна система, използваща гъбна спорова суспензия, третирана с HNCs в различни концентрации и класически метод за определяне на размера на стерилните зони, образувани при инхибиране на растежа на гъбната култура. Като предпоставка за високо-ефективно взаимодействие с мембраните на гъбните клетки, синтезираните HNCs са обработени допълнително, така че аминокислотите на CS да са с максимална степен на протониране и да са диспергирани ефективно в DMSO (по-малки колоидни размери и по-голям положителен заряд). Резултатите показват силно изразен противогъбичен ефект на всички тествани HNCs, с превалиране на влиянието на CS-ZnO HNCs и по-висока чувствителност на *A. solani* в сравнение с тази на *F. solani*.

Даяна Бенкова *предлага вероятен молекулен механизъм на биологично действие на CS-базираните HNCs върху фитопатогенните гъби - индуциране на ROS и OS*, който доказва чрез анализиране на маркерите за оксидативен стрес и евентуалните промени в липидната подреденост на гъбните мембрани. Резултатите ясно показват *повишена гъбна SOD активност* при действието на всички тествани CS-базираните HNCs върху *F. solani* (култивиран дълбочинно), като *най-значима SOD активност* (21 U/mg protein, 2.5x по-висока от тази на контролния вариант) е *доказана при третиране с 0.5 mg/ml CS-CuO HNCs*. Повишена SOD активност при *A. solani* е установена единствено при третиране с CS-SiO₂ HNCs. Според докторантката, по-ниските нива на SOD и липсата на такива при третиране с другите HNCs в клетките на *A. solani* е показател за бързо дисмутиране на O₂^{•-} от SOD.

Измерването на белтъчното карбонилиране (PCC, маркер за необратимо посттранслационно окисление на страничните групи на определени аминокиселини от OH•, предизвикващо денатурация, омрежаване, фрагментация и протеолиза) показва, че *всички тествани CS-базираните HNCs увеличават нивата на PCC в гъбните клетки* спрямо контролните варианти. Увеличението на PCC е дозозависимо и с най-висок ефект при третиране с 1 mg/ml CS-CuO HNCs и при двата вида фитопатогени (*F. solani* с по-висока чувствителност). Определянето на малондиалдеhid (MDA) - маркер за липидна пероксидация, доказва установената закономерност - *всички CS-базираните HNCs увеличават нивата на MDA в гъбните клетки по дозозависим начин*, като отново най-голям ефект се установява при третиране с CS-CuO HNCs на *F. solani* (4x по-високи нива на MDA), докато *A. solani* реагира на действието на CS-CuO HNCs в 2x по-ниска степен (MDA над 100 nmol/ml). При *A. solani*, най-голям ефект се установява при третиране с CS-SiO₂ HNCs (1 mg/ml), където са определени 2.6x по-високи нива на MDA (180 nmol/ml). Даяна Бенкова допуска, че силната прооксидантна активност на CuO се дължи на редокс-повърхностна катализа и на освобождаването на Cu⁺ и Cu²⁺, участващи във Фентон и Haber-Weiss подобни неензимни реакции в клетките, докато SiO₂ действа чрез наноструктурната си организация в състава на HNCs (увеличаване на броя на силно реактивни структурни дефекти по повърхността на частиците), която променя редокс потенциала. CS-ZnO HNCs не оказват значим противогъбичен ефект.

Промените в *липидната подреденост* на гъбните мембрани са анализирани чрез Лаурдан флуоресцентна спектроскопия. Най-важният резултат тук са *повишените GP стойности при двата щамове* (по-силно изразен върху мембраните на *F. solani*) след третиране с CS-CuO HNCs, доказателство за увеличената липидна подреденост в мембраните. Хибридният наноконкомпозит от CS-SiO₂ индуцира дозозависимо увеличаване в мембранната подреденост единствено при *A. solani* (в съгласие с получените резултати от оксидативния стрес). CS-ZnO HNCs предизвиква противоположни ефекти върху двата гъбни вида - увеличаване на мембранната подреденост при *A. solani*, но намаляване на мембранната подреденост (флуидизиращ ефект) при *F. solani*. Даяна Бенкова предлага механизъм за повишеното липидно подреждане в моделни мембрани, който обаче трябва да отчита наличието на белтъчните компоненти в естествените гъбни мембрани и да включва някои допълнителни механизми. Тя смята, че съществува известна корелация между моделите и реалните мембрани, което демонстрира ключовата роля на липидния компонент в мембраната при контакт с екзогенни молекули.

Даяна Бенкова обобщава своите изследвания в специален раздел „Дискусия“, където подробно представя хипотезата си за механизмите на взаимодействие на изследваните нанокomпозити с гъбни мембрани, разглеждайки способността на положително заредени противогъбични агенти да преминават през клетъчната стена и плазмената мембрана на гъбите като ключов фактор за нарушаване на интегритета на клетъчната стена и определящ тяхната ефективност, т.е. комбиниран механизъм, включващ индуциране на оксидативен стрес и съществени изменения в липидната организация на гъбните мембрани.

Разглеждам дискуссионната част на дисертационния труд като много необходим раздел за оценка, съпоставка и интегриране на всички експериментални варианти, за да се придаде биологичен смисъл на цялото изследване. Основният принос на дисертационния труд на Даяна Бенкова е формулиран като „научна основа за бъдещо приложение на CS-базираните хибридни нанокomпозити като ефективни и екологично ориентирани антигъбични агенти за контрол на фитопатогенните гъби *Alternaria solani* и *Fusarium solani* в селското стопанство, с потенциал за използване в растителната защита и разработване на устойчиви нанопестициди срещу резистентни щамове“.

5. Публикации

Даяна Бенкова представя получените резултати в 3 публикации в специализирани списания (2 в *International Journal of Biological Macromolecules* IF 7.7, (Q1), 1 в *Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences*, IF 0.3, (Q3) с общ импакт фактор 15.7, за които са забелязани повече от 40 цитата, както и участия на 6 конференции (3 с международно участие и 3 национални), на които е отличена с 2 награди - Грамота за отлично представен доклад на млад учен (2024) и Награда за най-млади учени „Иван Евстратиев Гешов“ на БАН (2025). В представените публикации, докторантката е втори автор в 2 и първи в 1 от публикациите, което е доказателство за личния ѝ принос. Дисертационният труд на Даяна Бенкова е финансиран и включен частично в 6 текущи и 4 приключили научни проекта. Научните трудове отговарят на минималните национални изисквания (по чл. 2б, ал. 2 и 3 на ЗРАСРБ) и съответно на допълнителните изисквания на БАН за придобиване на образователна и научна степен „доктор“.

6. Изпълнение на индивидуалния план на докторанта

Докторант Даяна Бенкова е изпълнила успешно индивидуалния си докторантски план и е взела всички предвидени в него изпити. Справката за съответствие с минималните изисквания за ОНС „Доктор“ за професионално направление 4.3. Биологически науки е попълнена правилно. От изискващите се 80 т., Даяна Бенкова е придобила 115 т. в това число се включва: успешно преминал през апробация дисертационен труд – 50 т., 2 статии в списание с Q1 – 50 т., 1 статия с ранг Q3 -15 т.

7. Въпроси

Тъй като темата на дисертационния труд засяга биологичната активност на композитни наноматериали, към Докторантката имам някои биологични въпроси:

1. Каква е структурата на гъбните SOD ензими и как изследваните HNCs биха повлияли каталитичния механизъм и активността им?

2. Според докторантката, „по-ниските нива на SOD при третиране с CS-SiO₂ и липсата на ензимна активност при третиране с другите HNCs в клетките на *Alternaria solani* е индикация за бързо дисмутиране на O₂•– от SOD“. Обяснете този извод.

3. Тъй като, гъбните SOD ензими се активират и изпълняват защитна функция при гъбно заразяване на растенията-гостоприемник, самото третиране с изследваните HNCs трябва да се направи в по-сложна биологична система, включваща и определено растение, заразено с *Fusarium/Alternaria*. Правени ли са експерименти за влиянието на изследваните HNCs върху взаимоотношенията фитопатоген-гостоприемник?

8. Заключение

Даяна Бенкова демонстрира отлично познаване на научния проблем и придобита в хода на работата способност да интерпретира получените резултати, да предлага хипотези и да ги

съпоставя с вече публикувани данни. Познавайки Даяна Бенкова от годините ѝ като студент в СУ „Св. Климент Охридски“, мога да изразя отличните си впечатления за нея и проявените целенасоченост, ученолюбие и отговорност.

След като се запознах с представените в процедурата дисертационен труд и придружаващите го научни трудове и въз основа на направения анализ на тяхната значимост и съдържащи се в тях научни и научно-приложни приноси, потвърждавам, че представеният дисертационен труд и научните публикации към него, качеството и оригиналността на представените в тях резултати и постижения, отговарят и удовлетворяват напълно минималните национални изисквания на ЗРАСРБ и Правилника за приложението му за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ в научната област 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки (Биофизика).

Въз основа на гореизложеното, препоръчвам на Научното жури да присъди на Даяна Бенкова образователна и научна степен „Доктор“ в професионално направление 4.3. Биологически науки (Биофизика).

26.06.2026г.
София

Член на НЖ:

проф. д-р Светла Петрова
(Катедра „Биохимия“, БФ, СУ)