

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд за получаване на образователна и научна степен „доктор” в област на висше образование б. „Аграрни науки и ветеринарна медицина“, професионално направление б.2. „Растителна защита“, научна специалност „Растителна защита (фитопатология)“

Автор на дисертационния труд: ас. Мария Светославова Петрова

Тема на дисертационния труд: Проучване на сивите петна по слънчогледа (*Phomopsis helianthi* Munt.-Cvet et al.) в България

Член на научното жури: професор дсн Росица Борисова Бъчварова от АБИ, пенсионер, хабилитирана по научна специалност б. „Аграрни науки и ветеринарна медицина“, професионално направление б.2. „Растителна защита“, научна специалност „Растителна защита ((вкл. фитопатология, вирусология, хербология и др.)“, определена за член на научното жури със заповед № РД 05-256/14.11.2024 год. на Председателя на ССА-София.

I. Кратко представяне на докторанта.

Мария Светославова Петрова е родена на 02.02. 1986 год. в гр.Добрич. През 2013 г. завършва ПМГ "Иван Вазов", гр. Добрич със златен медал за отличен успех.

Висшето си образование завършва през 2017 г. в Аграрен университет-Пловдив с придобита образователно-квалификационна степен „Бакалавър“, специалност „Растителна защита“ с грамота за отличен успех, а през 2018 г, магистратура с направление „Минерално хранене и торене на растенията“ в същия университет.

През 2017 г. започва работа като регионален представител за Североизточна България в Профиагро България ООД, гр. София. През 2018 г. е назначена за агроном по растителна защита в ДЗИ - Ген. Тошево към секция „Селекция на слънчоглед“. През същата година Мария Петрова заема академичната длъжност асистент в същата секция.

На 29.01.2020г. е зачислена в докторантура -задочна форма на обучение, по докторска програма "Растителна защита", направление Фитопатология към ДЗИ - Ген.Тошево със срок на обучение 4 години. След завършване на доктурантурата ас. Мария Петрова е отчислена с право на защита от 03.02. 2024 г.

Ас. Мария Петрова владее добре руски и английски език и много добри умения за работа с Microsoft Office и други видове приложен софтуер.

II. Обща характеристика на дисертацията и автореферата– обем и структура

Дисертационният труд е оформен по възприетия в България класически модел на 145 страници и включва 31 фигури, 26 таблици, 3 приложения и 147 цитирани литературни източника (129 на английски и 18 на кирилица).

Структурата на дисертацията е добре балансирана, като литературният обзор е 28 стр., цел и задачи- 1 стр., материали и методи–10 стр.(много подробно описани), почвено-климатична характеристика на района- 10 стр., резултати и обсъждане – 56 стр., заключение- 6 стр., изводи- 6 стр., приноси 2 стр. и цитирана литература.

Представеният автореферат е с обем от 29 страници и 2 стр. резюме на английски език. Авторефератът напълно отразява основните резултати, изводи и приноси отразени в дисертацията.

Дискусията, направена от докторантката, показва едно задълбочено познаване на проблематиката и получените резултати от разработката отговарят на поставената цел и задачи, като правилно са обобщени в 10 извода.

III. Актуалност на изследвания проблем

Устойчивостта на растенията към болести представлява изключително сериозен проблем. В основата ѝ стоят сложни взаимоотношения между растението гостоприемник и съответния патоген. В процеса на еволюция растителните организми формират сложни защитно-възстановителни системи срещу различни патогени. Проучването им е от важно значение за повишаване устойчивостта към болести и неприятели и внедряване в производството на висококачествени и с комплексна устойчивост сортове културни растения.

Научно-изследователската дейност на кандидатката е в сферата на фитопатологията, като основно са задълбочени изследванията ѝ върху болести по слънчогледа.

Phomopsis helianthi (*Diaporthe helianthi*), причинител на сиви петна, е един от най-важните патогени по слънчогледа в Европа. Той може да причини значителни загуби от добива (10–50%) и съдържанието на масло (10–15%), когато условията на околната среда са благоприятни за развитие на болестта. В САЩ заболяването е установено в Охайо през 1980 г., забелязано е за първи път в Югославия през същата година, в Румъния през 1981 г., а във Франция и България през 1984 г. От 1994 г.

нападението от *Phomopsis helianthi* е установено във всички райони на света, където се отглежда слънчоглед.

Към настоящия момент са документирани осем вида на *Phomopsis*, нападащи слънчогледа, а някои автори съобщават и за съвместна атака на растенията от няколко вида. Редица проучвания показват значителни разлики в морфофизиологичните характеристики и в степента на патогенност на различни изолати при гъбите от род *Phomopsis*. За условията на България, Encheva (2002) установява, че между изолати на гъбата *Phomopsis helianthi*, с произход от области Добрич и Бургас също се наблюдават морфологични разлики.

Генетични изследвания на устойчивостта към различни болести са проведени при много земеделски култури. Докладвани са сравнително малко проучвания за унаследяването на резистентност към *Phomopsis*. Хипотезата е, че само малък брой гени контролират устойчивостта към заболяването.

IV. Литературна осведоменост и теоретична подготовка на кандидата

Литературният обзор включва разпространение, таксономия и икономическо значение на патогена *Phomopsis helianthi*. Проследени са растенията гостоприемници, етиологията и епидемиологията, цикълът на развитие и симптоматиката на заболяването. Включени са и изследвания, свързани с агресивността на изолатите и генетичното разнообразие в популациите на *Phomopsis helianthi*. Посочени са и мерките за борба с *Phomopsis helianthi* и досегашните изследванията на този патоген в България. Направеният литературен преглед от докторантката показва, че тя е много добре запозната с проблема и може да реализира поставените задачи в дисертационния труд.

Дискусията направена от докторантката показва едно задълбочено познаване на проблематиката и получените резултати от разработката отговарят на поставената цел и задачи, като правилно са обобщени в 10 извода.

V. Методичен подход

Изследванията, свързани с дисертационния труд са проведени при полски и лабораторни условия, през 2022 и 2023 година, на територията на ДЗИ - Генерал Тошево, като през периода 2020- 2022 г. са проведени експедиции за събиране на растителни проби от слънчоглед, заразени с патогена *Phomopsis helianthi* на територията на Северна и Южна България.

Основната цел на изследването е да се проучи причинителя на сивите петна по слънчогледа *Diaporthe/Phomopsis helianthi* Munt.-Cvet. et al. при полски и лабораторни

условия, като се установят основните характеристики на изолати, събрани на територията на страната и реакцията им при различни генотипове слънчоглед.

Поставените основни задачи за постигане на тази цел са свързани с проучване разпространението на патогена в България, установяване на културални и морфологични характеристики на патогена при колекция от изолати с различен географски произход, проучване генетичното разнообразие при патогена и унаследяване реакцията на устойчивост към сиви петна при хибриди слънчоглед.

Избраните методи на изследване позволяват постигане на поставената цел и получаване на адекватен отговор на задачите, които са поставени за решаване в дисертационния труд.

При обработка на експерименталните данни са проведени еднофакторен и многофакторен дисперсионен анализ, корелационен и клъстерен анализ. За обобщаване, групиране и първоначална обработка на данните е използван MS Office Excel LTSC Professional Plus 2021. Анализът на варианса, изчисляването на LSD и Duncan теста са изчислени чрез IBM SPSS Statistics v.19, а AMMI-анализът чрез софтуерния продукт AMMISoft v 1.0.

VI. Значимост и убедителност на получените резултати, интерпретации и изводи

Получените резултати в дисертационният труд са личен принос на ас. Мария Петрова, на база на които са формулирани изводите и приносите.

Основните от тях са:

- Направена е колекция от 190 гъбни изолати по слънчоглед от Североизточна и Югоизточна България като е установено, че основен дял в нея принадлежи на патогена *Phomopsis helianthi*- 50.5%, а останалите на *Phoma macdonaldii*- 31.6%., на патогени от род *Alternaria*- 11.1%, и *Macrophomina phaseolina*-1.1%.
- Установено е, че диаметралният растеж и темпът на развитие ин витро на изолати от *Phomopsis helianthi* върху КДА варират за D - от 32.8 mm до 90 mm, а за Vd от 0.148 mm/h до 0.980 mm/h при използване на КДА. Групирането на изолатите по произход и години, показва, че с най-високи стойности на D са изолатите с произход Силистра 2020, Шумен 2021 и Карнобат 2021, а с най-ниски- Ямбол 2021 и Русе 2021. Най-висок темп на развитие е установен при произходи ДЗИ 2021 и Шумен 2020, а най-нисък при Ямбол 2021. Сходни резултати за диаметралният растеж и темпът на развитие ин витро на изолати от *Ph. helianthi* са получени при използване на КЗА, като най-високи стойности на D

е отчетено при изолати Силистра 2020, Карнобат 2021 и ДЗИ 2022, а най-ниски при ДЗИ 2020, Ямбол 2021 и Русе 2021. Най-висок темп на развитие е установен при изолати с произход ДЗИ 2021 и Карнобат 2021, а най - нисък при Русе 2021.

- Доказан е положителен корелационен коефициент между средния диаметрален растеж и средната скорост на развитие на мицела от *Phomopsis helinathi* при използване на КЗА и КДА ($r=0.738$), като тенденцията е за по-високи стойности е при използване на КЗА.
- Определен е периодът за формиране на плодни тела- пикнидии върху хранителнителни среди КДА и КЗА, който варира от 5 до 10 дни.
- На база проведен анализ на мицелна съвместимост между изолатите е установено слабо генетично разнообразие в популациите на патогена. Проучените 30 изолата от *Phomopsis helinathi* са групирани в 20 мицелно съвместими групи (MCGs), като две от групите включват само по един изолат, които са определени като несъвместими.
- Проведеният дисперсионен анализ за влияние фенофазата на развитие върху реакцията на генотипове слънчоглед към два изолата на патогена показва достоверно влияние на фактора година и фактора фенофаза. Установено е, че фенофаза преди бутонизация (BBCH) е най-подходяща за оценка устойчивостта на селекционните материали към *Phomopsis helinathi*.
- Стойностите на средната площ под кривата на развитие (AAUDPC) на заболяването, средно за всички изпитани изолати и години варират в границите от 9.3 до 32.7. Най-високи стойности по този показател са отчетени при изолати Ph21-612, Ph21-614 и Ph21- 6211, като анализът на резултатите показва, че произхода на изолатите не е свързан с агресивната проява на патогена.
- Установен е висок хетерозисен ефект по отношение устойчивост към изолати Ph21-614 и Ph21-212 от *Phomopsis helinathi* при хибридни комбинации 217A x KM852 R, 692-1/19A x 1065-1/17R 121 и 696-1/19A x 958-3/19R/7n, както спрямо по-устойчивия родител, така и спрямо средното родителско ниво. Отрицателен хетерозисен ефект е наблюдаван при хибридни комбинации 3607A x KM172 и 1252-2/19a x NAS-1R/12. С най-висока агресивност към проучваните 12 хибридни комбинации и техните родители е изолат Ph21-614 от патогена.
- Установено е, че високата устойчивост при хибридни комбинации 217A x KM852 R, 376A-SU x KZ23R/8, 692-1/19A x 1065-1/17R, 1111A x KZ23R/4, 664-1/19A x 1060-2/19R и 1379A x SUD1 R към *Phomopsis helinathi* се дължи на

свръхдоминантно унаследяване (при 376A-SU x KZ23R/8 е адитивно) от майчината форма слънчоглед.

- При хибридна комбинация 696-1/19A x 958-3/19R/7n, се установен висок хетерозисен ефект спрямо бащината форма и реакция на свръхдоминиране към същия родител. Доказано е, че устойчивостта към *Phomopsis helianthi* при този хибрид е свързана с генетичния материал от дивия вид *Helianthus petiolaris*, който участва в създаването на бащината форма на хибрида.

Приноси на дисертационния труд

Приноси с научен характер

- За първи път в страната е проведено детайлно проучване на *Phomopsis helianthi* при слънчогледа, включващо разпространение, културални, морфологични и патогенни характеристики с включването на нови методи за изследване.
- Проучено е генетичното разнообразие на *Phomopsis helianthi*, чрез прилагане на метода за мицелно съвместими групи (MCGs). Анализът на научната литература през последните 30 години показва, че този метод е използван за първи път при *Phomopsis helianthi* в света.
- За първи път у нас е проучено унаследяването реакцията към патогена *Phomopsis helianthi* при родителски форми слънчоглед и техните хибриди.

Приноси с научно-приложен характер

- Установено е значително разнообразие в агресивността на изолатите и натрупаната информация дава възможност за използване на най-агресивните изолати в селекционния процес за устойчивост към *Phomopsis helianthi* при слънчоглед.
- Трансформирана е 5-балната в 9-бална система за оценяване повредите при нападение на слънчогледа от *Phomopsis helianthi*, която позволява обработка на данните чрез статистически програми.
- Определена е най-критичната фенофаза от развитието на слънчогледа за заразяване със сиви петна и съответно предприемане на адекватни мерки за контрол на заболяването.

Всички горепосочени приноси с научен и научно-приложен характер могат да се използват като стратегия за проучване и търсене на гени и източници за устойчивост към *Phomopsis helianthi* при слънчогледа.

VII. Оценка качеството на научните публикации, отразяващи резултатите в дисертацията

Във връзка с дисертацията кандидатката е представила три публикации. В две от публикациите тя е първи автор, а в третата- втори автор. Те са в съавторство, публикувани в списание Растениевъдни науки през 2023 и 2024 г.

И трите публикации са в реферирано и индексирано списание в световна база данни с научна информация CABI: CAB Abstracts (достъпно на платформа Web of Science, база данни CABI: CAB Abstracts® and Global Health®), които покриват изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на ССА за неговото приложение.

Всички публикации са свързани с изследване агресивността на изолати от *Phomopsis helianthi*, изпитване на диви видове слънчоглед за устойчивост към заболяването и мицелна съвместимост на изолатите от патогена.

VIII. Критични бележки, въпроси и препоръки към кандидата

Високо оценявам положениия труд и постигнатите резултати от докторантката, но имам няколко дребни забележки по дисертационния труд:

- Никъде в литературния обзор не се споменава, че първият тест за изпитване на устойчивост към фомопсис е разработен в INRA, Франция от Bertrand и Tourvieille (1987).

- Има допуснати технически грешки при изписване на латинските имена на патогените, например: „*D. kongii Shivas, Thompson and Young*“, а правилното е *D. kongii* Shivas, Thompson and Young. Токсините, продуцирани от патогени се пишат с малки букви, заболяването „сиви петна“ също се пише с малки букви и други дребни неточности в текста. Съкращението „70 % ЕТОН“ не е правилно, трябва да е EtOH, или просто етанол. На стр. 20 и 37 патогените са изписани *P. helianthi*, *P. longicolla*, а правилното съкращение е *Ph. helianthi*.

Препоръката ми към ас. Мария Петрова е в бъдещата си работа да публикува получените резултати от изследователската си дейност в реномирани научни списания с IF, което позволява те да станат по-достъпни за световната научна общност.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни приноси за науката и отговаря на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника за прилагане на ЗРАСРБ в ССА.


Представеният дисертационният труд показва, че ас. Мария Петрова притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Растителна защита, като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научни изследвания.

Поради гореизложеното, убедено давам своята положителна оценка за проведеното изследване, представено в рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, резултати и приноси и предлагам на почитаемото научно жури да присъди на ас. Мария Светославова Петрова образователната и научна степен „Доктор” в област на висше образование б. „Аграрни науки и ветеринарна медицина“, професионално направление б.2. „Растителна защита“, научна специалност „Растителна защита (Фитопатология)“.

Дата: 10.01.2025 год.

гр. София

ИЗГОТВИЛ РЕЦЕНЗИЯТА:


/ проф. дсн Росица Бъчварова/

REVIEW

of a dissertation for obtaining the educational and scientific degree of "Doctor" in the field of higher education 6. "Agrarian Sciences and Veterinary Medicine", professional direction 6.2. "Plant Protection", scientific specialty "Plant Protection (Phytopathology)"

Author of the dissertation: Asst. Maria Svetoslavova Petrova

Topic of the dissertation: Study on the gray spots on sunflower (*Phomopsis helianthi* Munt.- Cvet et al.) in Bulgaria

Member of the scientific jury : Professor, PhD Rossitza Borissova Batchvarova from ABI, retired, field of higher education 6. "Agrarian sciences and veterinary medicine", professional direction 6.2. "Plant protection", scientific specialty "Plant protection (incl. phytopathology, virology, herbology, etc.)", appointed as a member of the scientific jury by order No. RD 05-256/14.11.2024 of the Chairman of the AA-Sofia.

I. Brief presentation of the doctoral student.

Maria Svetoslavova Petrova was born on 02.02. 1986 in the town of Dobrich. In 2013 she graduated from the "Ivan Vazov" Secondary School in Dobrich with a Gold Medal for excellent results.

She completed his higher education in 2017 at the Agricultural University, Plovdiv with a Bachelor's degree in Plant Protection with a Diploma of Excellence, and in 2018, a Master's degree in Mineral Nutrition and Plant Fertilization at the same university.

In 2017, she started working as a regional representative for Northeastern Bulgaria at Profiagro Bulgaria OOD, Sofia. In 2018, she was appointed as an agronomist for plant protection at DAI - Gen. Toshevo in the Sunflower Breeding section. In the same year, Maria Petrova held the academic position of assistant in the same section.

On 29.01.2020 she was enrolled in doctoral studies - part-time form of study, under the doctoral program "Plant Protection", direction Phytopathology at the DAI - Gen. Toshevo with a study period of 4 years. After completing the doctoral studies, Asst. Maria Petrova was enrolled with the right to defend from 03.02. 2024.

Assistant Maria Petrova is fluent in Russian and English and has very good skills in working with Microsoft Office and other types of application software.

II. General characteristics of the dissertation and abstract – volume and structure

The dissertation work is done by perceptions in Bulgaria classic model on 145 pages and includes 31 figures, 26 tables, 3 appendices and 147 quoted literary source (129 of English and 18 in Cyrillic).

The structure of the dissertation is good balanced, as the literary review is 28 p., goal and objectives- 1 p., materials and methods- 10 pp. (very detailed descriptions), soil and climate characteristics of the region- 10 pages, results and discussion- 56 p., conclusions- 6 pp., contributions- 2 pp. and cited literature.

The presented abstract is of a volume from 29 pages and 2 pages of summary in English. The abstract fully covers the main results, conclusions and contributions reflected in the dissertation.

The discussion made by the doctoral student shows one in depth knowledge on issues and results from the development respond on the placed goal and objectives, such as they are correct summarized in 10 the conclusions.

III. Relevance of the research problem

Plant resistance to diseases is an extremely serious problem. It is based on complex relationships between the host plant and the corresponding pathogen. In the process of evolution, plant organisms form complex defense and recovery systems against various pathogens. Their study is of great importance for increasing resistance to diseases and insects and introducing high-quality and resistant varieties of cultivated plants into the production.

The candidate's research activity is in the field of phytopathology, with the main focus being in-depth research on sunflower diseases.

Phomopsis helianthi (*Diaporthe helianthi*), the cause agent of grey spots, is one of the most important pathogens of sunflower in Europe. It can cause significant losses in yield (10–50%) and oil content (10–15%) when environmental conditions are favorable for disease development. In the USA the disease was identified in Ohio in 1980, first noted in Yugoslavia the same year, in Romania in 1981, and in France and Bulgaria in 1984. Since 1994, the attack by *Phomopsis* is found in all areas of the world where sunflower is grown.

Currently, eight species of *Phomopsis* have been described attacking sunflower, and some authors have reported joint attacks on plants by several species. A number of studies have shown significant differences in the morpho-physiological characteristics and in the degree of pathogenicity of different isolates of *Phomopsis* fungi (Masirevic & Gulya, 1992; Mathew et al., 2015A). For the conditions of Bulgaria, Encheva (2002) found that morphological differences were also observed between isolates of the fungus *Phomopsis helianthi* originating from the Dobrich and Burgas districts.

Genetic studies of resistance to various diseases have been conducted in many crop plants. Relatively few studies have been reported on the inheritance of resistance to *Phomopsis*. The hypothesis is that only a small number of genes control resistance to this disease.

IV. Literary awareness and theoretical preparation of the candidate

The literature review includes the distribution, taxonomy and economic importance of *Phomopsis helianthi*. The host plants, etiology and epidemiology, development cycle and symptoms of the disease are also monitored. Studies related to the aggressiveness of the isolates and the genetic diversity in the populations of *Phomopsis helianthi* is also included. The measures for control of *Phomopsis helianthi* are also indicated and the studies of this pathogen in Bulgaria. The literature review conducted by the doctoral student shows that she is very familiar with the problem and can implement the tasks set.

The discussion made by the doctoral student shows one in depth knowledge on issues and results from the investigations respond on the placed goal and objectives and they are correct summarized in 10 conclusions.

V. Methodical approach

The research related to the dissertation was performed under field and laboratory conditions, in 2022 and 2023, on the territory of the DAI- General Toshevo, and during the period 2020-2022, expeditions were conducted to collect plant samples of sunflower infected with the pathogen *Phomopsis helianthi* on the territory of Northern and Southern Bulgaria.

The main objective of the dissertation is to study the causative agent of sunflower gray spots *Diaporthe/Phomopsis helianthi* Munt.- Cvet. et al. under field and laboratory conditions, by establishing the main characteristics of isolates collected on the territory of the country and their reaction to different sunflower genotypes. The main tasks set to achieve this goal are related to studying the distribution of the pathogen in Bulgaria, establishing cultural and morphological characteristics of the pathogen in a collection of isolates of different geographical origin. It is also planned to study the genetic diversity of the pathogen and the inheritance the reaction of resistance to gray spots in sunflower hybrids. The selected research methods allow achieving the set goal and obtaining an adequate answer to the tasks that are set for solution in the dissertation work.

When processing the experimental data, single-factor and multifactor analysis of variance, correlation and cluster analysis were performed. For summarization, grouping and initial processing of the data, MS Office Excel LTSC Professional Plus 2021 was used.

Analysis of variance, calculation of LSD and Duncan test were calculated using IBM SPSS Statistics v.19, and AMMI analysis using the software product AMMIsoft v 1.0.

VI. Significance and persuasiveness of the obtained results, interpretations and conclusions

The results obtained in the dissertation are a personal contribution of Asst. Maria Petrova, on the basis of which the conclusions and contributions have been formulated.

The main ones are:

- A collection of 190 fungal isolates from sunflowers from Northeastern and Southeastern Bulgaria was made and it was found that the main share belongs to the pathogen *Phomopsis helianthi* - 50.5%, the rest to *Phoma macdonaldii* - 31.6%, pathogens of the genus *Alternaria* - 11.1% and *Macrophomina phaseolina* - 1.1%.
- It was found that the diametral growth and in vitro development rate of *Phomopsis helianthi* isolates on PDA varied for D - from 32.8 mm to 90 mm, and for Vd from 0.148 mm/h to 0.980 mm/h when using PDA. Grouping the isolates by origin and years shows that the isolates with the highest D values are those with origins in Silistra 2020, Shumen 2021 and Karnobat 2021, and with the lowest - Yambol 2021 and Ruse 2021. The highest development rate was found in origins DAI 2021 and Shumen 2020, and the lowest in Yambol 2021. Similar results for the diametral growth and in vitro development rate of isolates of *Ph. helianthi* were obtained using PSA, with the highest D values being recorded for isolates Silistra 2020, Karnobat 2021 and DAI 2022, and the lowest for DAI 2020, Yambol 2021 and Ruse 2021. A high rate of development was found for isolates originating from DAI 2021 and Karnobat 2021, and the lowest for Ruse 2021.
- A positive correlation coefficient has been proven between the average diametral growth and the average rate of development of the mycelium of *Phomopsis helianthi* when using PSA and PDA ($r=0.738$), with the trend being for higher values when using PSA.
- The period for pycnidia formation on the PDA and PSA nutrient media was determined, which varied from 5 to 10 days.
- Based on mycelial compatibility analysis between isolates, low genetic diversity was found in the pathogen populations. The 30 studied isolates of *Phomopsis helianthi* were grouped into 20 mycelial compatibility groups (MCGs), with two of the groups containing only one isolate each, which were determined to be incompatible.
- The analysis of variance conducted on the influence of the phenophase of development of the reaction of sunflower genotypes to two isolates of the pathogen shows a

significant influence of the year factor and the factor phase of development. It was found that the phenophase before budding (BBCH) is most suitable for assessing the resistance of breeding materials to *Phomopsis helianthi*.

- The values of the average area under the development curve (AAUDPC) of the disease, on average for all tested isolates and years, ranged from 9.3 to 32.7. The highest values for this indicator were recorded for isolates Ph21-612, Ph21-614 and Ph21-6211, with the analysis of the results showing that the origin of the isolates is not related to the pathogen aggressiveness.
- A high heterosis effect was found in terms of resistance to isolates Ph21-614 and Ph21-212 of *Phomopsis helianthi* in hybrid combinations 217A x KM852 R, 692-1/19A x 1065-1/17R 121 and 696-1/19A x 958-3/19R/7n, both in relation to the parent with higher resistance and to the average parental level. A negative heterosis effect was observed in hybrid combinations 3607A x KM172 and 1252-2/19a x NAS-1R/12. With the highest aggressiveness to the 12 hybrid combinations studied and their parents is isolate Ph21-614 of the pathogen.
- It has been established that the high resistance of hybrid combinations 217A x KM852 R, 376A-SU x KZ23R/8, 692-1/19A x 1065-1/17R, 1111A x KZ23R/4, 664- 1/19A x 1060-2/19R and 1379A x SUD1 R to *Phomopsis helianthi* is due to superdominant inheritance (in 376A-SU x KZ23R/8 it is additive) from the maternal form.
- In the hybrid combination 696-1/19A x 958-3/19R/7n, a high heterosis effect towards the paternal form and a reaction of overdominance towards the same parent were established. It has been proven that the resistance to *Phomopsis helianthi* in this hybrid is associated with the genetic material from the wild species *Helianthus petiolaris*, which participated in the paternal form of the hybrid.

Contributions of the dissertation work

Contributions of a scientific nature

- For the first time in the country, a detailed study of *Phomopsis helianthi* on sunflower has been conducted, including distribution, cultural, morphological and pathogenic characteristics, using new research methods.
- *Phomopsis helianthi* was studied by applying the mycelial compatibility groups (MCGs) method. Analysis of the scientific literature shows that this method has been used for the first time for *Phomopsis helianthi* in the world.
- For the first time in our country, the inheritance of the reaction to the pathogen *Phomopsis helianthi* in parental sunflower forms and their hybrids has been studied.

Contributions of a scientific and applied nature

- Significant diversity in the aggressiveness of the isolates was found and the accumulated information allows the use of the most aggressive isolates in the breeding process for resistance to *Phomopsis helianthi*.
- A 5-point to 9-point system for assessing damage caused by *Phomopsis helianthi* attack on sunflower has been transformed, which allows data processing using statistical programs.
- The response of hybrids and their parental forms involving wild annual and perennial sunflower species was studied by artificial inoculation with *Phomopsis helianthi* isolates to observe the inheritance of resistance to the pathogen.
- The most critical phenophase of sunflower development for infection with gray spots and the corresponding undertaking of adequate chemical protection have been determined.

All of the above contributions of a scientific and applied nature can be used as a strategy for research and searching the genes for resistance to *Phomopsis helianthi* in sunflower.

VII. Assessment of the quality of scientific publications reflecting the results in the dissertation

In connection with the dissertation, the candidate has submitted three publications. In two of the publications she is the first author, and in the third - the second author. All three publications are co-authored, published in the journal Plant Science in 2023 and 2024.

All three publications are in a refereed and indexed journal in the global database of scientific information CABI: CAB Abstracts (available on the Web of Science platform, CABI: CAB Abstracts® and Global Health® database), which meet the requirements of the LDASRB and the AA Regulations for its implementation.

All publications are related to research on the aggressiveness of *Phomopsis helianthi* isolates, testing of wild sunflower species for disease resistance and mycelial compatibility of pathogen isolates.

VIII. Critical notes, questions and recommendations to the candidate

I highly appreciate the work done and the results achieved by the doctoral student, but I have a few minor remarks about the dissertation:

- Nowhere in the literature review is it mentioned that the first test for resistance to *Phomopsis helianthi* was developed at INRA, France by Bertrand and Tourvieille (1987).

○ There are admitted technical errors in spelling the Latin names of pathogens, for example: "*D. kongii Shivas, Thompson and Young*", when the correct one is *D. kongii Shivas, Thompson and Young*. Toxins produced by pathogens have to be written in lowercase, the disease "gray spots" also to be written in lowercase, and other minor inaccuracies in the text. The abbreviation "70% ETOH" is incorrect: it should be EtOH, or simply ethanol. On page 20 and 37 pathogens are written *P. helianthi*, *P. longicolla*, and the correct abbreviation is *Ph. helianthi* and *Ph. longicolla*.

My recommendation to Assistant Professor Maria Petrova is that in her future work she should publish the results of her research in more recognized scientific journals with IF, which allows them to become more accessible to the global scientific community.

CONCLUSION

The dissertation contains scientific and applied scientific contributions to science and meet all the requirements of the LDASRB and the Regulations for its implementation at the Agricultural Academy.

The dissertation work of Asst. Maria Petrova shows that she possesses in-depth theoretical knowledge and professional skills in the scientific specialty of Plant Protection, demonstrating qualities and skills for independently conducting scientific research.

Because of the above, I confidently give my positive assessment of the conducted research, presented in the above-reviewed dissertation, abstract, achieved results and contributions and I propose to the respected scientific jury to award Asst. Maria Svetoslavova Petrova the educational and scientific degree "Doctor" in the field of higher education 6. "Agrarian Sciences and Veterinary Medicine", professional direction 6.2. "Plant Protection", scientific specialty "Plant Protection (Phytopathology)".

Date: 10.01.2025

Sofia

Reviewer Signature: 

/Prof.DSc. Rossitza Batchvarova/