

## СТАНОВИЩЕ

относно дисертационен труд за получаване на образователната и научна степен „Доктор” в област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.2. Растителна защита, научна специалност Растителна защита (Фитопатология)

**Тема на дисертационния труд:** Проучване върху агресивното и генетично разнообразие при *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary в България.

**Автор** – Керанка Красиминова Жечева

**Член на научното жури:** доц. д-р Нешка Георгиева Пиперкова – Кирякова, Аграрен Университет, катедра Фитопатология, област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.2. Растителна защита, научна специалност Растителна защита (Фитопатология), определена за член на научното жури съгласно Заповед на Председателя на ССА № РД-05-46/10.02. 2025 г.

### I. Актуалност на изследвания проблем

*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary е патоген с широк кръг гостоприемници. Заразява голям набор от растителни видове и причинява значителни загуби на добив в световен мащаб. Въпреки че е известен патоген, той има неусложнен жизнен цикъл, състоящ се от основна инфекция от мицелогенно покълнали склероции или въздушна инфекция от аскоспори на карпогенно покълнали склероции. Освобождаването на ензими, разграждащи клетъчната стена, оксалова киселина и ефекторни протеини са критични вирулентни фактори, необходими за ефективната патогенеза на *S. sclerotiorum*. Независимо от това, молекулярната основа на патогенезата ѝ все още е неточна и остава тема на продължаващи изследвания.

Склеротинийното увяхване в България има нарастващо икономическо значение при слънчоглед, рапица, фасул, зеленчукови и други земеделски култури. У нас, както посочва докторантът, изследванията са свързани с проучване на морфологичните и културални особености на патогена, както и влиянието на абиотичните фактори и прилаганите земеделски практики за неговото разпространение, на устойчивостта на генетичната плазма и методите за биологичен и химичен контрол.

Ето защо, темата, свързана с генетичното и агресивно разнообразие на популацията на *Sclerotinia sclerotiorum* у нас е особено актуална. Получените резултати

могат да се използват като основа за разработване на адекватен контрол, прилагайки селекционно генетичния метод.

## **II. Цел, задачи и методи на изследване (хипотези на дисертационния труд)**

Целта на дисертационния труд е да се проучи генетичното и агресивно разнообразие в популациите на *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary в България, с оглед повишаване ефективността на селекционния процес и разработване на адекватна стратегия за контрол на патогена. За изпълнение на поставената цел ясно и точно са посочени шест задачи. Методологията е адекватно подбрана. Използвани са класически методи за изолиране на *Sclerotinia sclerotiorum* и детерминиране на морфологичните и културални характеристики на изолатите. За определяне на генетичното разнообразие в популацията на анализирания патоген, агресивността на получените изолати към фасулев сорт ГТБ Блян и слънчогледов хибрид Деведа, физиологичната устойчивост на образци фасул, както и на диви образци и междувидови хибридни комбинации слънчоглед към *Sclerotinia sclerotiorum* са тествани специфични за изследването методи. Прави впечатление усвояването и приложението на разнообразни лабораторни и полски методи за изпълнение на поставените цел и задачи. В съгласие със съвременните изисквания, получените резултати са статистически анализирани с адекватни методи.

## **III. Визуализация и интерпретация на получените резултати. Използвана литература**

Дисертационният труд е с класическа структура и включва всички раздели, съгласно изискванията за образователната и научна степен „Доктор“. Представен е на 155 страници и включва 40 фигури, 22 таблици и 2 приложения. Използвана е информация от 230 литературни източници (2 на кирилица и 228 на латиница), както за изготвяне на *Литературния преглед*, така и за анализиране на получените резултати. Това доказва отличната осведоменост и подготовка на докторанта по темата. В *Увода* и *Литературния преглед* обстойно са анализирани проблемите със склеротийното увяхване по растенията и необходимостта от провеждане на настоящото проучване. *Резултатите* се базират на голям брой лабораторни и полски експерименти. Те са отлично анализирани и визуализирани с подходящи фигури и таблици. Удобрявам представянето на Изводи след отделните глави, отразяващи изпълнението на поставените задачи. В *Заключение* и *Основни Изводи* ясно и коректно е отразена значимостта на получените резултати.

#### IV. Приноси на дисертационния труд

В резултат на проведените експерименти са представени 8 научни и научно приложни приноси, като четири от тях имат оригинален и четири – потвърдителен характер. Приемам авторската справка и считам, че са дело на докторанта.

1. Това е първото изследване у нас, свързано с генетичното разнообразие на *Sclerotinia sclerotiorum*, основаващо се на мицелната съвместимост между изолатите, включващо 156 изолата от 17 производствени полета в 11 области на Северна и Южна България.
2. За първи път у нас е проучена агресивността на 102 изолата от *Sclerotinia sclerotiorum* с произход от 17 производствени посева на слънчоглед, рапица и зрял фасул. Получените резултати дават възможност за повишаване на ефикасността на селекционните програми за устойчивост при фасул и слънчоглед.
3. За първи път у нас е проведено мащабно проучване, свързано с морфологичните и културални характеристики на 118 изолата от *Sclerotinia sclerotiorum*, произхождащи от различни географски райони и гостоприемници.
4. При полски условия е проследена физиологичната устойчивост на 89 образци фасул от сърцевидната колекция на Добруджански земеделски институт към *Sclerotinia sclerotiorum*. Получените резултати потвърждават физиологичната устойчивост на някои образци, посочвани като донори на резистентност от наши и чужди автори.
5. Потвърдено е становището на други автори относно възможностите за прилагане на оксаловия тест за определяне физиологичната устойчивост на фасула към *Sclerotinia sclerotiorum*. Получените резултати показват, че точността на метода може да се повиши след предварително тестиране на родителските компоненти чрез успоредно прилагане на директен и индиректен метод за тестиране.
6. Потвърдена е физиологичната устойчивост на основни за страната сортове зрял фасул към *Sclerotinia sclerotiorum*. Представената информация има 144 приложен характер и ще подпомогне земеделските производители при избора на сорт в райони с установено разпространение на патогена.
7. Потвърдена е възможността за пренос на устойчивост към стъблената форма на *Sclerotinia sclerotiorum* от едногодишни диви видове *Helianthus annuus* към културния слънчоглед.

8. За първи път в България е проучена устойчивостта на едногодишни диви видове от *Helianthus* spp. към повече от един изолат на *Sclerotinia sclerotiorum*. Получените резултати дават възможност за включване на устойчивите образци в селекционната програма на слънчогледа.

**9. Оценка на качеството на научните публикации, отразяващи резултатите в дисертацията**

Във връзка с дисертационния труд Керанка Жечева е представила четири публикации, публикувани в съавторство в *Bulgarian Journal of Crop Science* и *Field Crops Studies*, с които покрива минималните наукометрични изисквания. На три от тях е първи, а на една – втори автор, което предполага висок личен принос при извеждане на експериментите и подготовката на публикациите. Авторефератът отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд. Включва 11 таблици и 9 фигури, подкрепящи резултатите, както и докладваните приноси.

**V. Критични бележки, въпроси и препоръки към кандидата**

Нямам критични бележки и въпроси.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Представеният дисертационен труд отговаря на всички изисквания на ЗРАСРБ и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в ССА. Керанка Жечева е усвоила уменията да прилага редица фитопатологични методи, свързани с проведените лабораторни и полски експерименти и адекватно да анализира получените резултати с помощта статистическия анализ.

Всичко това ми дава основание да оценя положително дисертационния труд и да предложа да се присъди на Керанка Красиминова Жечева образователната и научна степен „Доктор” в област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.2. Растителна защита, научна специалност Растителна защита (Фитопатология).

Дата: 30.03. 2025

ИЗГОТВИЛ СТАНОВИЩЕТО:

/доц. д-р Нешка Пиперкова-Кирякова/

# OPINION

regarding a dissertation work for acquiring the educational and scientific degree of *Doctor* in the field of higher education: 6. Agrarian Sciences and Veterinary Medicine, professional area: 6.2 Plant Protection, scientific specialty: *Plant Protection (Phytopathology)*.

**Title of the dissertation work: Study on the Aggressive and Genetic Diversity of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary in Bulgaria.**

**Author** – Keranka Krasimirova Zhecheva

**Member of the scientific jury: Assoc. Prof. Neshka Georgieva Piperkova-Kiryakova, PhD, Phytopathology Department at the Agricultural University – Plovdiv, field of higher education: 6. Agrarian Sciences and Veterinary Medicine, professional area: 6.2 Plant Protection, scientific specialty: Plant Protection (Phytopathology), assigned a member of the scientific jury according to Order № ПД-05-46/10.02.2025 of the Chairperson of the Bulgarian Agricultural Academy – Sofia.**

## I. Relevance of the study

*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary is a broad-host pathogen that infects a wide range of plant species and causes significant yield losses worldwide. Although it is a known pathogen, it has a simple life cycle consisting of primary infection by mycelially germinated sclerotia or aerial infection by ascospores of carpogenically germinated sclerotia. The release of cell wall-degrading enzymes, oxalic acid, and effector proteins are critical virulence factors required for efficient pathogenesis of *S. sclerotiorum*. However, the molecular basis of its pathogenesis is still unclear and remains a subject of ongoing research.

*Sclerotinia* wilt in Bulgaria has a growing economic importance in sunflower, rapeseed, beans, vegetable and other agricultural crops. In our country, as the doctoral student points out, research is related to the study of the morphological and cultural features of the pathogen, as well as the influence of abiotic factors and applied agricultural practices on its spread, the resistance of genetic plasma and methods for biological and chemical control.

Therefore, the topic related to the genetic and aggressive diversity of *Sclerotinia sclerotiorum* population in our country is particularly relevant. The obtained results can be used as a basis for developing adequate control, applying the selection genetic method.

## **II. Aim, tasks and methods of study (hypotheses of the dissertation work)**

The aim of the dissertation work is to study the genetic and aggressive diversity in *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary populations in Bulgaria, with a view to increasing the efficiency of the selection process and developing an adequate strategy for controlling the pathogen. To achieve the set goal, six tasks were clearly and precisely set up. The methodology was adequately selected. Classical methods for isolating *Sclerotinia sclerotiorum* and determining the morphological and cultural characteristics of the isolates were used. Specific methods of study were examined in order to determine the genetic diversity in the population of the analysed pathogen, the aggressiveness of the obtained isolates to *GTB Blyan* bean variety and *Deveda* sunflower hybrid, the physiological resistance of bean samples, wild samples and interspecific hybrid combinations of sunflower to *Sclerotinia sclerotiorum*. The mastery and the application of various laboratory and field methods for achieving the set goals and tasks make good impression. In accordance with modern requirements, the obtained results were statistically analysed with adequate methods.

## **III. Illustration and interpretation of the obtained results. References**

The dissertation work has a classical structure and includes all sections, according to the requirements for the educational and scientific degree of *Doctor*. It consists of 155 pages and includes 40 figures, 22 tables and 2 appendices. The number of references is 230 in total (2 in Cyrillic and 228 in Latin), which were used for the *Literature Review* section and for the analyses of the obtained results. This proves the excellent awareness and preparation of the doctoral student regarding the topic. In the *Introduction* and the *Literature Review* sections the problems with sclerotia wilt in plants and the need to conduct the present study were thoroughly analysed. *Results* were based on a large number of laboratory and field experiments. They are excellently analysed and visualized with appropriate figures and tables. I approve the presentation of conclusions after each chapter, reflecting the implementation of the set tasks. In the *Conclusion* and *Main Conclusions* sections, the significance of the obtained results was clearly and correctly reflected.

#### IV. Contributions of the dissertation work

As a result of the conducted experiments, 8 scientific and scientifically applied contributions were presented, four of which are original and four are confirmatory. I accept the author's reference and believe that they represent the independent work of the doctoral student:

1. This is the first study in our country related to the genetic diversity of *Sclerotinia sclerotiorum*, based on the mycelial compatibility between the isolates, including 156 isolates from 17 production fields in 11 regions of Northern and Southern Bulgaria.

2. For the first time in our country the aggressiveness of 102 isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* originating from 17 production crops of sunflower, rapeseed and mature beans was studied. The obtained results provide an opportunity to increase the efficiency of selection programs for resistance in beans and sunflower.

3. For the first time in our country a large-scale study was conducted related to the morphological and cultural characteristics of 118 isolates of *Sclerotinia sclerotiorum*, originating from different geographical regions and hosts.

4. Under field conditions, the physiological resistance of 89 bean samples from the heart-shaped collection of the *Dobrudzha* Agricultural Institute to *Sclerotinia sclerotiorum* was monitored. The obtained results confirm the physiological resistance of some samples, indicated as donors of resistance by our and foreign authors.

5. The opinion of other authors regarding the possibilities of applying the oxalate test to determine the physiological resistance of beans to *Sclerotinia sclerotiorum* has been confirmed. The obtained results showed that the method's accuracy can be increased after preliminary testing of the parental components by parallel application of a direct and indirect testing method.

6. The physiological resistance of mature beans main varieties to *Sclerotinia sclerotiorum* has been confirmed. The presented information is of an applied nature and will assist agricultural producers in choosing a variety in areas with an established distribution of the pathogen.

7. The possibility of transferring resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* stem from *Helianthus annuus* annual wild species to cultivated sunflower has been confirmed.

8. For the first time in Bulgaria the resistance of *Helianthus* spp. annual wild species to more than one isolate of *Sclerotinia sclerotiorum* has been studied. The obtained results allow the inclusion of resistant specimens in the sunflower breeding program.

## **V. Evaluation of the quality of research publications reflecting the study results**

With relation to the dissertation work, Keranka Zhecheva has presented four publications in co-authorship in the *Bulgarian Journal of Crop Science and Field Crops Studies Journal*, with which she meets the minimum science-metric requirements. In three of them she is the first author, and in one - the second author, which implies a high personal contribution to the experiments and the preparation of the publications. The author's summary objectively reflects the structure and content of the dissertation work. It includes 11 tables and 9 figures supporting the results, as well as the reported contributions.

## **VI. Critical notes, questions and recommendations to the candidate**

I have no critical notes and questions.

## **CONCLUSION**

The presented dissertation meets all the requirements of the Act on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria and the Regulations on the conditions and procedure for acquiring scientific degrees and for occupying academic positions in the of Bulgarian Agricultural Academy. Keranka Zhecheva has mastered the ability to apply a number of phytopathology methods related to the conducted laboratory and field experiments and to adequately analyse the obtained results using statistical analysis.

All this gives me grounds to positively evaluate the dissertation work and to propose that Keranka Krasimirova Zhecheva be awarded the educational and scientific degree of *Doctor* in the field of higher education: 6. Agrarian Sciences and Veterinary Medicine, professional area: 6.2 Plant Protection, scientific specialty: Plant Protection (Phytopathology).

Date: 30<sup>th</sup> March 2025

**Opinion carried out by:**

/Assoc. Prof. Neshka Piperkova-Kiryakova, PhD/