

СТАНОВИЩЕ

От доц. д-р Виолета Савова Кондакова от АБИ, пенсионер, на дисертационен труд за получаване на образователната и научна степен „доктор“ в област 6 „Аграрни науки и ветеринарна медицина“, професионално направление 6.2. „Растителна защита“, научна специалност „Растителна защита“ (вкл. фитопатология, вирусология, хербология и др.).

Определена за член на научното жури със заповед № РД 05-46/10.02.2025 на Председателя на ССА-София.

Тема на дисертационния труд: „Проучвания върху агресивното и генетично разнообразие при *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Vary в България “

Автор: Керанка Красимирова Жечева

Научен ръководител: проф. д-р Иван Киряков

Представеният за защита дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ е разработен в Добруджанския Земеделски Институт- гр. Генерал Тошево в продължение на три години. Дисертацията е добре структурирана, включвайки всички основни раздели: увод, литературен преглед, цели и задачи, материали и методи, резултати, анализ ,заключение и библиографска справка включваща 230 автора. Тематичната последователност е логична и изгражда добра основа за изследването.

В дисертационния труд са включени 22 таблици, 40 фигури и 2 приложения. Представен е Автореферат, съдържанието на който напълно отразява резултатите в дисертацията, а също и 4 публикувани статии свързани с темата. Две от тях са публикувани във *Field Crops Studies* и две в *Bulgarian Journal of Crop Science*.

Дисертационният труд е подреден много прецизно, написан безгрешно и с безупречно владение на професионалната терминология. Таблиците и фигурите са ясни и всичко това позволява четенето и осмисляне на получените резултати да бъде удоволствие.

Актуалност на темата

Темата на дисертационния труд е свързана с един космополитен патоген- *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Vary, който напада 408 растителни вида от 75 семейства. Този факт прави изследванията на патогена актуални в научната област растителна защита и практически значими за земеделските култури.

Формулирането на темата и задачите за нейното изпълнение се дължи на много задълбочена библиографска информираност на докторантката за нивото на изследвания върху патогена в цял свят и в частност в България от една страна и с участието на високо еродирани ръководители на докторантката в областта на фитопатологията- проф. И. Киряков. Това сътрудничество е успешно и насочва усилията в посока на изследвания които липсват, а именно проучване на агресивността и

генетичното разнообразие на патогена в България. Планираното изследване е мащабно и включва обследване на производствени площи от слънчоглед, рапица и фасул в цяла България

Литературна информираност

Литературния преглед е целенасочен, задълбочен и конкретен. Обхваща исторически аспекти, разпространение, таксономия, патогенеза и контрол на *S. sclerotiorum*. Използваните източници са актуални и съответстват на предмета на изследването. Литературната справка показва, че изследванията върху *Sclerotinia sclerotiorum* в България през последните 52 години са насочени основно към проучвания устойчивостта на генетичната плазма, разработване на методи за оценка на генетичния материал, морфология и културални особености, влияние на абиотичните фактори върху патогена и мерки за контрол на заболяването.

Цел и задачи

Целта на дисертационния труд е ясно формулирана: проучване на генетичното и агресивно разнообразие в популациите на *Sclerotinia sclerotiorum* в България за повишаване ефективността на селекционния процес. Задачите са конкретни, взаимосвързани и логично допринасят за постигането на основната цел. Постигането на поставената цел ще осигури разработването на адекватна стратегия за контрол на патогена.

Материали и методи

Използваните методи са съвременни и научно обосновани. Описани са подробно процеса на събиране на растителните проби и тяхното съхранение; морфологичен анализ; определяне на мицелна съвместимост между изолатите; фенотипни изяви; сформиране на мицелно съвместими групи /MCGs/. Определена е агресивността на изолатите по отношение на фасулев сорт ГТПБлян и слънчогледовия хибрид Деведа.

Използвани са тестовите STRAW и Оксалов при контролируеми условия за установяване устойчивостта на 21 образци към *Sclerotinia sclerotiorum* и е направена статистическа обработка и анализ на резултатите. В дисертацията са използвани различни и адекватни статистически анализи - еднофакторен дисперсионен анализ (ANOVA) за установяване на разликите между изолатите; корелационен анализ за изследване на връзките между различните параметри; клъстерен анализ за групиране на изолатите по сходство; Индекс на Shannon за определяне на генетичното разнообразие; клонален индекс (Ki) за оценка на генетичното разнообразие и AUDPC (Area Under Disease Progress Curve) за оценка на агресивността на изолатите.

Резултати и дискусия

Резултатите и обсъждането са представени ясно. Направено е тематично разграничение на изследванията, планирани в експеримента, като всеки раздел завършва с изводи. Този начин за представяне на резултати и тяхното коментиране е изключително удачен и е доказателство за проявена акуратност и задълбоченост в изследванията на докторантката. В раздела Морфологични и културални характеристики на изолатите се дава отговор на поведението на изолатите което има значение за тяхната идентификация- морфология на мицела, оцветяване на мицела, начало на формиране на склероции, размножаване на склероциите в блюдо, диаметрален растеж и скорост

на развитие, брой и тегло на склероциите в блюдо. Корелационният анализ показва значителна положителна зависимост между боя на склероциите в блюдо и тяхното тегло, но слаба зависимост спрямо диаметъра на растеж и скорост на нарастване. Данните показват, че независимо от наличието на достоверни разлики между популациите на патогена в отделните локации, техните културални характеристики не са свързани с произхода на изолатите. Направени са 7 извода обединяващи резултатите.

Генетичното разнообразие в популациите на *Sclerotinia sclerotiorum*. Дава се оценка за влиянието на хранителната среда и периода на инкубация върху визуализацията на съвместимостта на реакцията, определяне на мицелно съвместимите групи в отделните популации и съвместимост на изолати от различни локации. Групирането на изолати от *S. sclerotiorum* в MSGs е най-използвания метод при изследване на генетичното разнообразие. Направени са 7 извода.

Агресивност на изолатите- изследвана е агресивността на изолати към фасул сорт ГТБ Блян. Установено е, че агресивността на изолатите не е свързана с техния произход и година на събиране на пробите. Проучена е и агресивността на изолатите към слънчоглед хибрид Деведе. Клъстерния анализ показва слаба положителна зависимост между скоростта на нарастване на колонии и агресивността на изолатите. Резултатите от изпитване агресивността на изолатите към двата гостоприемника показват че няма връзка между произхода, година на изолирането, и гостоприемника. Направени са 10 извода.

Физиологична устойчивост на образци фасул към *Sclerotinia sclerotiorum* – анализирането на реакцията на 21 образци фасул към патогена доказват достоверното влияние на факторите- условия през годината и генотип. Проведените два теста за определяне на устойчивостта- STRAW и Оксалов доказват съществуването на слаба положителна или отрицателна зависимост. Физиологичната устойчивост при фасула е свързана с анатомичните особености при стъблото. Направени са 8 извода.

Проучена е устойчивостта при слънчогледа към стъблената форма на *Sclerotinia sclerotiorum* и проучване устойчивостта на диви образци от род *Helianthus* и хибридни комбинации от междувидова хибридизация към стъблената форма на *Sclerotinia sclerotiorum*. Направени са 4 извода.

В Заключение се обобщават резултатите и изводите, които в най-голяма степен дават отговор на въпросите свързани с агресивността и генетичното разнообразие при изолати от *Sclerotinia sclerotiorum* в България. Направените научни и научно-приложни приноси демонстрират приноса на изследването и неговата значимост.

Много добре са формулирани научните и научно-приложни приноси от разработената тема.

В резултат на задълбочено и мащабно научно изследване на патогена *Sclerotinia sclerotiorum* в Северна и Южна България, за първи път са направени съобщения за:

- Връзка между генетичното разнообразие и мицелната съвместимост между различните изолати. Изследвани са 156 изолата от 17 производствени полета в 11 области на страната.
- Определяне е агресивността на 102 изолата от *Sclerotinia sclerotiorum* от 17 производствени полета към слънчоглед, рапица и зрял фасул

- Проучена е морфологична и културална характеристика на 118 изолата на *Sclerotinia sclerotiorum* събрани от различни географски райони и гостоприемници.
- Установена е устойчивост на образци от едногодишни диви видове на *Helianthus spp.* към *Sclerotinia sclerotiorum*

С потвърдителен характер са резултатите от изследванията за:

- Определена е физиологичната устойчивост на 89 образци фасул към *Sclerotinia sclerotiorum*
- Приложението на оксаловия тест за определяне физиологичната устойчивост на фасул към *S. sclerotiorum*. Ефективността на теста може да се повиши ако паралелно се използват директен и индиректен тест за устойчивост.
- Потвърдена е възможността за пренос на устойчивост от диви видове на *Helianthus spp.* към слънчоглед.

Получените резултати дискутирани в дисертационния труд са безспорен успех на докторантката Керанка Жечева и значим принос към фитопатологичната наука и земеделско практика.

Нямам бележки към дисертационния труд и въпроси към докторантката Керанка Красиминова Жечева.

Заклучение

Представеният за защита дисертационен труд представлява мащабно, целенасочено и прецизно изпълнено научно изследване, посветено на много важен за селскостопанска наука и практика патоген-*Sclerotinia sclerotiorum*. Всички експерименти са планирани и проведени на база отлично владеене на методите във фитопатологията, което доказва образователната функция на докторантурата.

Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които са оригинален принос за науката и земеделската практика. Докторантката Керанка Жечева има задълбочени теоретични познания и е успяла да подреди резултатите и тяхното обсъждане по оригинален начин, което позволява четенето и да предизвиква интерес и удоволствие.

Темата на дисертационния труд и получените резултати отговарят на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника на ССА.

Въз основа на горе изложеното, убедено давам положителна оценка на проведеното изследване, представено в дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“ на Керанка Красиминова Жечева в област 6 „Аграрни науки и ветеринарна медицина“, професионално направление 6.2. „Растителна защита“, научна специалност „Растителна защита“ (вкл. фитопатология, вирусология, хербология).

7.04.2025 г.

Подпис:

**ВЯРНО С ЕЛЕКТРОННО
ПОДПИСАНИЯ ОРИГИНАЛ**

OPINION

By Assoc. Prof. Dr. Violeta Savova Kondakova from ABI, retired, on a dissertation for the educational and scientific degree "Doctor" in field 6 "Agrarian Sciences and Veterinary Medicine", professional field 6.2. "Plant Protection", scientific specialty "Plant Protection" (including phytopathology, virology, herbology, etc.). Appointed as a member of the scientific jury by order No. RD 05-46/10.02.2025 of the Chairman of the SSA-Sofia. Topic of the dissertation: "Studies on the aggressive and genetic diversity of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary in Bulgaria" Author: Keranka Krasimirova Zhecheva Scientific supervisor: Prof. Dr. Ivan Kirjakov.

The dissertation submitted for defense for the award of the educational and scientific degree "Doctor" was developed at the Dobrudja Agricultural Institute - General Toshevo over a period of three years. The dissertation is well structured, including all the main sections: introduction, literature review, goals and objectives, materials and methods, results, analysis, conclusion and bibliography including 230 authors. The thematic sequence is logical and builds a good foundation for the study. The dissertation includes 22 tables, 40 figures and 2 appendices. An Abstract is presented, the content of which fully reflects the results in the dissertation, as well as 4 published articles related to the topic. Two of them were published in Field Crops Studies and two in the Bulgarian Journal of Crop Science. The dissertation is arranged very precisely, written without errors and with impeccable command of professional terminology. The tables and figures are clear and all this makes reading and understanding the results a pleasure.

Relevance of the topic.

The topic of the dissertation is related to a cosmopolitan pathogen - *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, which attacks 408 plant species from 75 families. This fact makes the research on the pathogen relevant in the scientific field of plant protection and practically significant for agricultural crops. The formulation of the topic and the tasks for its implementation is due to the doctoral student's very thorough bibliographic awareness of the level of research on the pathogen worldwide and in particular in Bulgaria on the one hand and with the participation of the doctoral student's highly eroded supervisor in the field of phytopathology - Prof. I. Kirjakov. This cooperation is successful and directs efforts towards research that is lacking, namely the study of the aggressiveness and genetic diversity of the pathogen in Bulgaria. The planned research is large-scale and includes a survey of sunflower, rapeseed and bean production areas throughout Bulgaria.

Literature reviews

The literature review is targeted, in-depth and specific. It covers historical aspects, distribution, taxonomy, pathogenesis and control of *S. sclerotiorum*. The sources used are up-to-date and correspond to the subject of the study. The literature review shows that research on *Sclerotinia sclerotiorum* in Bulgaria over the past 52 years has been mainly focused on studying the resistance of the germplasm, developing methods for assessing the genetic material, morphology and cultural features, the influence of abiotic factors on the pathogen and measures for disease control.

Aim and objectives.

The aim of the dissertation is clearly formulated: to study the genetic and aggressive diversity in the populations of *Sclerotinia sclerotiorum* in Bulgaria to increase the efficiency of the selection process. The

tasks are specific, interconnected and logically contribute to achieving the main goal. Achieving the set goal will ensure the development of an adequate strategy for controlling the pathogen.

Materials and method.

The methods used are modern and scientifically sound. The process of collecting plant samples and their storage is described in detail; morphological analysis; determination of mycelial compatibility between isolates; phenotypic manifestations; formation of mycelial compatible groups /MCGs/. The aggressiveness of the isolates was determined in relation to the bean variety GTP Blyan and the sunflower hybrid Deveda. The STRAW and Oxalov tests were used under controlled conditions to establish the resistance of 21 samples to *Sclerotinia sclerotiorum* and statistical processing and analysis of the results was performed. The dissertation used different and adequate statistical analyses - one-factor analysis of variance (ANOVA) to establish the differences between isolates; correlation analysis to study the relationships between different parameters; cluster analysis to group the isolates by similarity; Shannon index to determine genetic diversity; clonal index (Ki) to assess genetic diversity and AUDPC (Area Under Disease Progress Curve) to assess the aggressiveness of isolates.

Results and discussion.

The results and discussion are presented clearly. A thematic distinction has been made between the studies planned in the experiment, with each section ending with conclusions. This way of presenting results and commenting on them is extremely successful and is evidence of the accuracy and thoroughness shown in the doctoral student's research. The section Morphological and cultural characteristics of the isolates provides an answer to the behavior of the isolates that is important for their identification - mycelium morphology, mycelium coloring, onset of sclerotia formation, sclerotia multiplication in a dish, diametrical growth and development rate, number and weight of sclerotia in a dish. The correlation analysis shows a significant positive correlation between the color of the sclerotia in a dish and their weight, but a weak correlation with the growth diameter and growth rate. The data show that despite the presence of reliable differences between the populations of the pathogen in the individual locations, their cultural characteristics are not related to the origin of the isolates. 7 conclusions have been made unifying the results.

Genetic diversity in *Sclerotinia sclerotiorum* populations. The influence of culture medium and incubation period on the visualization of reaction compatibility, determination of mycelially compatible groups in individual populations, and compatibility of isolates from different locations is assessed. Grouping of *S. sclerotiorum* isolates into MSGs is the most widely used method for studying genetic diversity. Seven conclusions are drawn.

Aggressiveness of isolates - the aggressiveness of isolates to bean variety GTB Blyan was studied. It was found that the aggressiveness of the isolates was not related to their origin and year of sample collection. The aggressiveness of the isolates to sunflower hybrid Deveda was also studied. Cluster analysis shows a weak positive correlation between the growth rate of the colonies and the aggressiveness of the isolates. The results of testing the aggressiveness of the isolates to the two hosts show that there is no relationship between the origin, year of isolation, and the host. 10 conclusions were made.

Physiological resistance of bean samples to *Sclerotinia sclerotiorum* – analyzing the reaction of 21 bean samples to the pathogen proves the reliable influence of factors – conditions during the year and

genotype. The two tests conducted to determine resistance – STRAW and Oxalov prove the existence of a weak positive or negative dependence. Physiological resistance in beans is related to the anatomical features of the stem. 8 conclusions were made.

The resistance of sunflower to the stem form of *Sclerotinia sclerotiorum* was studied and the resistance of wild specimens of the genus *Helianthus* and hybrid combinations of interspecific hybridization to the stem form of *Sclerotinia sclerotiorum* was studied. 4 conclusions were made. The Conclusion summarizes the results and conclusions, which to the greatest extent provide answers to the questions related to the aggressiveness and genetic diversity of isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* in Bulgaria. The scientific and scientific-applied contributions made demonstrate the contribution of the study and its significance.

The scientific and applied scientific contributions of the developed topic are very well formulated. As a result of a thorough and large-scale scientific study of the pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* in Northern and Southern Bulgaria, for the first time reports have been made on: - Relationship between genetic diversity and mycelial compatibility between different isolates. 156 isolates from 17 production fields in 11 regions of the country were studied. - Determination of the aggressiveness of 102 isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* from 17 production fields to sunflower, rapeseed and mature beans.

- Morphological and cultural characteristics of 118 isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* collected from different geographical areas and hosts were studied. - Resistance of samples of annual wild species of *Helianthus* spp. to *Sclerotinia sclerotiorum* was established.

The results of the studies are of a confirmatory nature for: - The physiological resistance of 89 bean samples to *Sclerotinia sclerotiorum* was determined - The application of the oxalic test to determine the physiological resistance of beans to *S. sclerotiorum*. The effectiveness of the test can be increased if a direct and indirect resistance test are used in parallel. - The possibility of transferring resistance from wild species of *Helianthus* spp. to sunflower has been confirmed. The obtained results discussed in the dissertation are an undisputed success of the doctoral student Keranka Zhecheva and a significant contribution to phytopathological science and agricultural practice. I have no notes on the dissertation and no questions for the doctoral student Keranka Krasimirova Zhecheva.

Conclusion

The dissertation presented for defense represents a large-scale, purposeful and precisely executed scientific research, dedicated to a very important pathogen for agricultural science and practice - *Sclerotinia sclerotiorum*. All experiments were planned and conducted on the basis of excellent mastery of the methods in phytopathology, which proves the educational function of the doctoral program. The dissertation contains scientific and applied scientific results, which are an original contribution to science and agricultural practice. The doctoral student Keranka Zhecheva has in-depth theoretical knowledge and has managed to arrange the results and their discussion in an original way, which allows reading and arouses interest and pleasure. The topic of the dissertation and the results obtained meet the requirements of the Act on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria and the Regulations of the Bulgarian Agricultural Academy.

Based on the above, I confidently give a positive assessment of the research conducted, presented in a dissertation, abstract, achieved results and contributions and propose to the esteemed scientific jury to award the educational and scientific degree "doctor" to Keranka Krasimirova Zhecheva in area 6 "Agrarian

Sciences and Veterinary Medicine", professional direction 6.2. "Plant Protection", scientific specialty "Plant Protection" (including phytopathology, virology, herbology).

7.04.2025

Signature:

ВЯРНО С ЕЛЕКТРОННО
ПОДПИСАНИЯ ОРИГИНАЛ