

АГРАРЕН УНИВЕРСИТЕТ гр. ПЛОВДИВ	
Вх. № <i>Норф</i>	Дело № <i>86</i>
Получено на <i>30.08.2016</i>	

РЕЦЕНЗИЯ

Върху дисертационен труд за получаване на образователна и научна степен „доктор” по: област на висше образование **6. Аграрни науки и ветеринарна медицина**, професионално направление 6.2. **Растителна защита**, научна специалност Растителна защита (Фитопатология)

Автор на дисертационния труд: Катя Костадинова Василева, редовен докторант към катедра „Фитопатология” при Аграрен Университет, гр. Пловдив

Тема на дисертационен труд: Гъбни болести по лавандулата в България

Рецензент: проф. д-р Стойка Петкова Машева, Институт по зеленчукови култури „Марица”, гр. Пловдив, 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 от Ректора на Аграрен Университет, Пловдив, Заповед № РД-16-631/05.07.2016 г.

1. Кратко представяне на кандидата

Докторант Катя Костадинова Василева е родена на 15 май 1987 г. Завършила е средно образование в ПГЖПТ Христо Смирненски, гр. Карлово със специалност монтьор на електронна техника. През 2011 г. завършва Аграрния Университет, гр. Пловдив с квалификация бакалавър, а през 2012 г. получава квалификация магистър по специалност Растителна защита. През 2013 г. е зачислена като редовен докторант в катедра Фитопатология при Аграрен Университет, Пловдив. Владее английски и френски език.

2. Актуалност на проблема

Лавандулата се отглежда в България от началото на 20-ти век. През последните години насажденията у нас значително се увеличиха. Увеличава се икономическото значение на тази култура. Задълбочени изследвания върху болестите, които вредят по нея, са недостатъчни. В този смисъл избраната тема на дисертационния труд е актуална, значима и много навременна, с голямо практическо значение за производителите.

Изследването има комплексен характер и включва: мониторинг на гъбните патогени по лавандулата, изолиране и идентифицирането им, биолого-екологични проучвания, молекулярно идентифициране, имунитетни проучвания и завършва с борба с тях (химична и биологична).

3. Цел, задачи, хипотези и методина изследване

Целта на настоящата разработка е формулирана ясно и точно – да се проведат проучвания по проблема „Гъбни болести по лавандулата в България” и се предоставят научни данни върху съществуващото видово разнообразие на причинителите на гъбни

болести и тяхното разпространение в лавандуловите агроценози; да се проучат биолого-екологичните характеристики на пикнидиалните и фитофторови патогени; да се разработят методи и средства за контрол.

За изпълнение на целта и планираните задачи е проучено разпространението на болестите по лавандулата в страната, проведени са наблюдения върху симптомите, събрани са проби, направени са изолации, идентифицирани са причинителите. Доказан е патогенитетът на изолатите. Проучени са морфологичните и културалните им особености. Проведени са биолого-екологични проучвания за влияние на температурата върху развитие на патогените и дължината на инкубационния период, определени са оптималните температурни интервали, в които те се развиват. Установени са формите, с които презимуват. Проведени са молекулярно идентифициране на патогените и имунитетни проучвания. Изпитани са химични и биологични средства за контрол на гъбните болести по лавандулата. Методите и опитните постановки са подробно представени. Използвани са както класически фитопатологични методи – така и съвременни. Проведеното молекулярно идентифициране на изолатите, ДНК анализите, които са много подробно описани, допринасят за повишаване качеството на разработката. Представените методики показват, че докторантката много добре владее както класическите, така и съвременните методи за изследване. Получените резултати са обработени математически с програмите Excel 2010 и SPSS 21. Това представя докторантката като изграден научен работник, който може самостоятелно да провежда научни изследвания, да получава значими достоверни резултати и правилно да ги интерпретира. От този раздел става ясно, че е извършена голяма по обем работа, която е нейно лично дело.

4. Онагледеност и представяне на получените резултати

Обемът и структурата на представения дисертационен труд отговарят на изискванията за ОНС „доктор“. Общият обем на разработката е 161 страници. Резултатите са представени в 86 таблици и 61 фигури. Те са онагледени с 25 цветни снимки с много високо качество и 5 климатограми. Графиките са цветни, много добре оформени и дават много добра представа за получените резултати. Те са обработени математически и са достатъчно информативни.

5. Обсъждане на резултатите и използваната литература

Разделът Резултати и обсъждане е представен на 101 страници. Той включва 12 подраздела. Преди това в отделен раздел подробно са описани методичната постановка на опитите, определяните показатели, използваните методи. Обсъждането на резултатите е по раздели. В края на дисертационния труд те са обобщени в 11 извода.

В подраздел I. „Разпространение и икономическо значение“ е проведен мониторинг за разпространението на гъбни болести по лавандулата в основните лавандулопроизводителни райони в страната. Обследвани са над 2100 дка насаждения. Идентифицирани са основните патогени за различните райони – *Phoma*, *Phomopsis*, *Phytophthora*, *Septoria*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Verticillium* и др. Според авторката до 9-10 годишна възраст на насажденията в тях се срещат предимно *Phomopsis* и в по-малка степен *Phoma*, *Phytophthora* и *Fusarium*. В стари насаждения, над 10 години, преобладават

Phytophthora и *Phomopsis*. Налице е инфекциозен фон, който осигурява перманентно развитие на гъбните патогени в лавандуловите посеви.

В подраздел II. „Симптомни/синдромни прояви на болестите” подробно са описани симптомите, които причиняват различните патогени. Те са подкрепени с данни, получени от други изследователи. Установени са пиковите моменти за всяко заболяване. За идентифициране на патогените в смесени инфекции са провеждани микроскопски наблюдения и изолиране върху селективни хранителни среди.

За изолиране и идентифициране на причинители на гъбни болести по лавандулата са събрани проби от болни растения и са направени изолации върху три хранителни среди – воден агар, картофено декстрозен агар и селективната PARP среда. Получени са над 170 изолата. Най-голям е броят на изолати от род *Phytophthora* – 70 бр., а най-малко на брой са изолатите от род *Alternaria* – 6. На получените изолати е определена родовата принадлежност и патогенността.

В подраздел IV. Морфологични и културални характеристики на *Phomopsis* е проучено развитието на три изолата от този патоген. Измерени са пикнидии и конидиоспори, перитеции и аскоспори на патогена. Въз основа на морфологичните особености и симптомните прояви е идентифициран видът *Phomopsis lavandulae*. Установено е влиянието на седем хранителни среди и различни температури на инкубиране върху растежа и развитието на мицелните колонии и формирането на плодни тела. Най-подходящи среди за растеж на мицела на този патоген са морковен и гахов агар, а най-подходяща среда за спорообразуване е грахов агар. Патогените от род *Phomopsis* се развиват в температурен интервал 4-37°C. Температурният оптимум за развитието на колонии и формиране на пикнидии е 25-30°C, за покълване на конидиите – 25°C. Най-кратък е инкубационният период – 8 дни при температура 30°C.

Проучени са морфологичните и културални характеристики на 3 изолата от род *Phoma*. Определен е видът на причинителя – *Phoma lavandulae*. Гъбите от този род се развиват най-добре върху КДА, ГА и МА. Най-благоприятно влияят върху спорообразуването МА, КДА и ГА. И при тази гъба температурният оптимум за растежа на колонии е 25-30°C. В този интервал е най-интензивно и спорообразуването. Най-къс е инкубационният период – 9 дни при температура 30°C.

При проучване влиянието на екологичните условия върху жизнения цикъл на *Phomopsis lavandulae* и *Phoma lavandulae* е установено, че за условията на нашата страна двете гъби се запазват като мицел, пикнидии и перитеции по растенията. Пикнидиите запазват фертилност през зимния период и при температури над 10-15°C и влажност над 75% причиняват нови заразявания по новия прераст.

След анализ на морфологичните особености на спорите и на плодните тела, както и на симптомните прояви по заразени растения е установено, че по лавандулата в България вреди и видът *Septoria lavandulae*. Тя се често се среща в смесена зараза с *Phomopsis* и *Phoma*.

Проучени са морфологичните и културални характеристики на 6 изолата от род *Phytophthora*. В резултат е установено, че изолати E2/31 и 69 принадлежат към вида *Phytophthora parasitica*; изолати E2/37 и Sh0/1 принадлежат към хибридната форма *Phytophthora x pelgrandis*; а изолати 87 и 59 – към вида *Phytophthora cambivora*. Най-добро влияние върху растежа на мицела и спорообразуването оказват: за изолат E2/31 – КДА; за изолат 69, E2/37 и 87 – ГА; за изолат Sh0/1 – V8 и за изолат 59 – КДА, МА и ГА. Оптималната температура за развитие на изолат 69 и E2/31 е в интервала 25-28°C, за

изолати E2/37 и Sh0/1 - 25-27⁰С, за изолати 87 и 59 – 22-25⁰С. Установен е температурният интервал (20-25⁰С), при който инкубационния период за патогените от р. *Phytophthora* е най-кратък (17-20 дни). Фитофторовите гъби се запазват като мицел, хламидоспори и ооспори в заразените растения.

За потвърждение на установената видова принадлежност и по-голяма точност докторантката провежда съвременни изследвания за молекулярно идентифициране на изолатите. Тези проучвания са изведени в лабораторията по Молекулярна биология на АУ Пловдив и в лабораторията по фитопатология в Институт по растителна защита в Будапеща. Получени са DNK секвенции, които са асемблирани чрез програмите Standel gar и CLC. Чрез програмата BLAST нуклеотидните секвенции са сравнени с базата данни на NCBI и са определени род и вид на патогените. Конструирана е дендрограма по метода Neighbor-Joining. В резултат род *Phytophthora* попада в отделна група, а проучваните изолати принадлежат към добре обособените групи на *Phytophthora cambivora*, *P. nicotianae*, *P. parasitica* и *P. hybrid*. Родовете *Phoma* и *Phomopsis* са близкородствени и са отделени в две групи. Докторантката установява, че структурата и положението на трите рода съответства на резултатите, установени при морфологичния анализ.

В подраздел X „Методи и средства за контрол на микозните причинители на болести по лавандулата” в лабораторни условия е проучена възприемчивостта на отглежданите в страната сортове лавандула към трите най-разпространени патогена - *Phoma*, *Phomopsis* и *Phytophthora*. В проучването са включени 5 сорта лавандула и 5 изолата на патогени – 3 принадлежащи към род *Phytophthora* и по един от род *Phoma* и *Phomopsis*. Към последните два патогена по-слабо чувствителен е сорт Хемус, а по-силно чувствителен и към двата патогена е сорт Севтополист. Сорт Хемус е по-слабо чувствителен и към трите изолата *Phytophthora*. При опити в полски условия е проследена в динамика реакцията на изпитваните сортове към трите патогена. Установен е пикът на развитие на всяко от трите заболявания. Установена е по-слаба чувствителност на сорт Хебър към изолата от род *Phomopsis* на база симптомните прояви по скелетните разклонения. По отношение на изолата от род *Phoma* с най-ниска степен на симптомни прояви е сорт Дружба. Развитието на болестта, след заразяване с *Phytophthora spp.* е най-ниско при сорт Хебър през цялата вегетация. Разликите при всички изследвани сортове между заразените и контролните растения са доказани.

В раздел XI. „Химични средства за контрол са представени резултати от опити in vitro и in vivo. Изпитани са 6 химични ПРЗ. In vitro е установена висока ефикасност на Дитан М-45, Топсин М 70 ВДГ, Витене Трипло Р и Тирам 80 ВГ върху растежа на мицела и върху кълняемостта на спорите на изолатите от *Phomopsis* и *Phoma*.

Срещу изолатите от *Phytophthora spp.* са изпитани 7 ПРЗ. Най-висока ефикасност е отчетена при Алиет флаш и Витене Трипло Р. Отчетени са разлики в ефикасността на изпитваните фунгициди към различните изолати.

При in vivo тестовете е установена висока ефикасност на Топсин М 70 ВДГ и Дитан М-45 при заразените с *Phomopsis* и *Phoma* растения. При заразените с *Phytophthora spp.* най-висока е ефикасността на Алиет флаш.

В последният раздел XII. Биологични средства за контрол са представени резултатите от действието на биологични екстракти 1 и 2 и Танин. Установена е най-висока ефикасност на Биологичен екстракт 2 срещу *Phomopsis*, *Phoma* и *Phytophthora* в лабораторни и полски условия.

Резултатите от тези изследвания имат особено значение за практиката, дължащо се на факта, че в проучването са включени само разпространените в страната сортове, че развитието на болестта е проследено в динамика, установените чувствителните фенофази на културата (от цъфтеж до втори прираст), установените ефикасни химични и биологични ПРЗ и регистрираните пикове за различните патогени ще помогнат за своевременно и качествено провеждане на борбата с тях.

Литературният обзор включва 289 заглавия, от които 25 на кирилица и останалите на латиница. Събраната богата литературна информация от докторант Катя Василева е оказала влияние върху точното формулиране на целта и задачите и върху правилния подход при решаването им. Направеният преглед на проблема за болестите, които вредят по лавандулата е задълбочен и аналитичен. Анализирани и систематизирани са резултатите от проучванията върху видовия състав на патогените, разпространението им, епидемиологичните фактори, които оказват влияние върху развитието им и възможностите за контрол. Авторката демонстрира много добра информираност за видовото разнообразие на гъбните патогени, географското им разпространение, за биологията им и повредите, които причиняват, за борбата с тях. Литературният обзор е много стегнат, но пълен и грамотно представен. Той обхваща продължителен период. По-голям брой от заглавията (около 60%) са до 2000 г., до 2010 г. са 31,14%, а 9,7% са след 2010 г. Има няколко публикации от 2014 и 2015 г.

6. Приноси в дисертационния труд

В резултат от всеобхватното проучване и получените резултати докторант Катя Василева формулира 5 научни и 3 приложни приноси.

Научни приноси

1. Проучено е видовото разнообразие на микозни фитопатогени в основни лавандулови агроценози на България. На основата на общоприети фитопатологични и съвременни молекулярни методи са открити, изолирани и идентифицирани видовете: *Phomopsis lavadulae*, *Phoma lavadulae*, *Septoria lavadulae*, *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora hybrid* и *Phytophthora cambivora*. Видът *Phytophthora cambivora* се съобщава за първи път като патоген по лавандулата. *Phytophthora hybrid* е нов патоген по културата за България.

2. Проведен е молекулярен ДНК анализ и е построена дендрограма, с която се потвърждават данните за морфологичната характеристика на определените фитопатогени. Молекулярните изследвания върху *Phomopsis lavadulae*, *Phoma lavadulae* и *Phytophthora cambivora*, нападащи лавандулата са нови за специализираната литература.

3. Проучено е влиянието на някои епидемиологични фактори, върху развитието и разпространението на патогените:

Phomopsis lavadulae се развива в температурния интервал от 4 до 37⁰С, като оптимални са температурите 15-30⁰С;

Phoma lavadulae – развитието протича в диапазон 2 до 37⁰С, с оптимум 25-30⁰С;

Phytophthora parasitica – интервал на развитие 5 - 34⁰С, с оптимум 25-28⁰С;

Phytophthora hybrid - развитието протича в границите от 5 до 35⁰С, с оптимум 25-27⁰С;

Phytophthora cambivora се развива в интервал от 4 до 32⁰С, с оптимум 22-25⁰С.

С тези изследвания се разширяват познанията върху епидемиологията.

4. Изследван е жизненият цикъл на проучваните патогени, при екологичните условия в лавандуловите ценози на България и при критичните фенофази от развитието на растенията.

5. Проучвания са проведени и върху реакцията на разпространените сортове лавандула, към икономически важни фитопатогени. Данните могат да се използват при селектирането на нови сортове лавандула.

Приложни приноси

6. Симптомните/синдромните прояви и морфологичните характеристики на патогените могат да се използват в службите по растителна защита, за идентифициране на отделните заболявания.

7. Епидемиологичните проучвания и разработените графични модели са научна база за развитието на прогнозата и сигнализацията и за определяне динамиката на развитие на болестите през вегетационния период и определяне на моментите за контрол.

8. Изпитаните методи и средства за борба – химични и биологични, предоставят възможност за алтернативен подход, за избор на средства при интегрирано и биологично производство.

7. Критични бележки и въпроси

По представената дисертация имам следните въпроси и забележки:

1. В литературния обзор има цитирани източници от 1905, 1906, 1913 – общо 26 източници до 1950 г. В оригинал ли са ползвани или са цитирани от други автори?

2. Препаратът Топсин М 70 ВДГ е регистриран за употреба в България в концентрация 0,1% до 0,12% при овощните. Каква е причината изпитваната концентрация да е 0,2%?

3. На стр. 38 в методиката – Защо опитът с фунгициди е заложен в 10 повторения?

4. На стр. 55 е посочено, че високото рН благоприятства развитието на патогените. Колко високо имате предвид? Известно е, че лавандулата не понася киселите почви.

На стр. 106, в текста след Таблица 60, е посочено, че температурите 20-25⁰С са благоприятни за развитие на инкубационните периоди. Може би докторантката има предвид, че при този температурен интервал инкубационният период е най-кратък.

На стр. 116, първи абзац е подходящ за раздел Материал и методи. В него е отбелязано, че опитът е изведен във фитотрон при температура 25⁰С и влажност 80%. В методиката е посочена влажност 70%. Може би е техническа грешка.

В подраздел XI. Химични средства за контрол са използвани термините ефикасност и ефективност, както и коефициент на ефикасност. В растителната защита е възприет и се използва само терминът ефикасност.

В текста има и някои правописни и технически грешки, но те са незначителен брой.

8. Публикувани статии и цитирания

Във връзка с дисертационния труд са публикувани три научни статии, от които една самостоятелна и две в съавторство. В тях докторантката е първи автор. Двете са на английски език и са отпечатани в сп. Agricultural Science and Technology и в Научни трудове на АУ, Пловдив, а третата е на български и е отпечатана в Научни трудове на Русенски университет. Отпечатана е и една научно-популярна статия в сп. Растителна защита.

Представеният автореферат отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Въз основа на усвоените и приложени от докторант Катя Костадинова Василева различни методи на изследване, методично правилно изведените експерименти, направените обобщения и изводи, считам, че представения дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на Аграрния Университет за неговото приложение, което ми дава основание да го оценя ПОЛОЖИТЕЛНО.

Предлагам и на почитаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на Катя Костадинова Василева образователната и научна степен „доктор” по научната специалност растителна защита (фитопатология).

Пловдив
30.08.2016 г.

РЕЦЕНЗЕНТ:
(проф. д-р Стойка Машева)