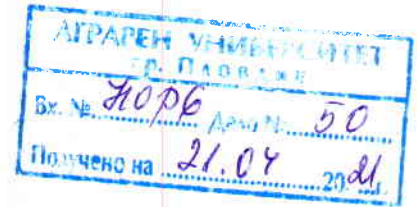


РЕЦЕНЗИЯ



върху дисертационен труд за получаване на образователната и научна степен "Доктор" по: област на висше образование **6. Аграрни науки и ветеринарна медицина**, професионално направление **6.2 Растителна защита**, научната специалност **Растителна защита**

Автор на дисертационния труд: КОСТАДИН КИРИЛОВ ТРАЯНОВ редовен докторант, към катедра „Ентомология” при Аграрен университет, гр. Пловдив

Тема на дисертационния труд: Растителни паразитни нематоди от род *Globodera* Skarbilovich, 1959 по картофите в България

Рецензент: Доц. д-р Винелина Панайотова Янкова-Михайлова, Институт по зеленчукови култури „Марица”-Пловдив, област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.2 Растителна защита, научната специалност Растителна защита

определена за член на научното жури със заповед № РД 16-211/05.03.2021 год. на Ректора на Аграрен Университет -Пловдив

1. Кратко представяне на кандидата.

Докторантът Костадин Кирилов Траянов е роден на 22.08.1990 г. в гр. Петрич. През 2009 г. завършва гимназия „Пейо Крачолов Яворов”, град Петрич, а през 2013 г. завършва Аграрен Университет - Пловдив с бакалаварска степен специалност Растителна защита. Придобива магистърска степен през 2015 г. в Аграрен Университет - Пловдив като Агроном - Plant medicine (международен курс по Растителна защита). През 2015 г. заема длъжност младши експерт в отдел „Растителна защита” към „Областна дирекция по безопасност на храните” гр. Пловдив, Българска агенция по безопасност на храните (БАБХ). От 2016 до 2020 г. е редовен докторант в катедра Ентомология към Аграрен Университет – Пловдив. От 2016 г. до сега работи като агроном по растителна защита (продавач-консултант) в агроаптека към фирма „ПАБИ-ФРУТ Петко Илинов” ЕТ с. Калековец. От 2018 г. до сега работи и като агроном по растителна защита към фирма „Рубус СЛ” ООД. Владее добре английски език, има основно ниво на руски език.

2. Актуалност на проблема.

Изследваният проблем в дисертацията на Костадин Траянов е свързан с установяване видовия състав и разпространението на цистообразуващите нематоди от род *Globodera* в картофени насаждения на основните производителни области в България, както и с проучване възможностите за

алтернативни средства за борба с тези паразити. Картофите са ценна продоволствена култура. Хранителното им значение се определя от богатото им съдържание на скорбяла и от наличието на много други ценни вещества, като протеини, аминокиселини, захари, витамини и други. Те доминират в света като четвърта по добив (след пшеницата, ориза и царевичката) хранителна култура. Проблемът с цистообразуващите нематоди при тях е известен на науката и производителите от много години, но все още остава нерешен. Картофените цистообразуващи нематоди са ендопаразити по корените на картофите, които са трудни за контрол, поради това, че формират цисти, съдържащи яйца и ларви, оставащи жизнеспособни в почвата повече от 15 години. Все още основният метод за борба срещу нематодите е химичният, но не винаги той е достатъчно ефикасен, а същевременно крие рискове от остатъчни количества и замърсяване на околната среда.

На базата на посоченото, считам, че изследваният проблем е интересен и актуален в насока търсене на алтернативни методи за контрол на цистообразуващите нематоди по картофите.

3. Цел, задачи, хипотези и методи на изследване.

Докторантът Костадин Траянов е формулирал ясно целта и задачите на дисертационния труд. Те са добре обособени и насочени към конкретната експериментална дейност.

Целта е да се установи видовия състав и разпространение на цистообразуващи нематоди от род *Globodera* в картофените насаждения на основните производствени области на територията на България, както и да се проучат възможностите за алтернативни средства за борба с тези паразити.

За реализиране на тази цел са поставени 4 задачи. Те отразяват основните етапи на изследването:

1. Проучване разпространението на цистообразуващите нематоди от род *Globodera* по картофите (КЦН).

2. Морфологична и молекулярна характеристика на установените видове КЦН.

3. Установяване на реакцията (устойчивост/чувствителност) на картофени сортове/линии към *Globodera pallida* и *Globodera rostochiensis*.

4. Селекция на ефективни агенти за биологичен контрол с КЦН:
а) Скриниране на растителни екстракти, като възможни агенти за биологична борба с КЦН от род *Globodera*

➤ Установяване факторите, определящи ефикасността на селектираните растителни екстракти (*Juglans regia*, *Ruta graveolens* и *Plantago major*) срещу яйца и ларви втора възраст (Л2) на *G. rostochiensis* и *G. pallida* – *in vitro*;

➤ Установяване на метаболитните им профили (налични вещества) на *J. regia*, *R. graveolens* и *P. major*, чрез газ хроматография – мас спектрометрия (ГХ-МС).

б) Скриниране на ризобактерии, като възможни агенти за контрол на *Globodera* spp.

➤ Проучване факторите, определящи ефикасността на селектерината ризобактерия *Serratia plymuthica* изолат 72 срещу яйца и Л2 на *G. pallida* – *in vitro*;

➤ *In vivo*, установяване ефикасността на *S. plymuthica* изолат 72 срещу инвазията, развитието и размножаването на *G. pallida* по картофите.

Целта на проучването е базирана на хипотеза, която предполага, че могат да бъдат установени алтернативни методи за контрол, като установяването на устойчиви/толерантни линии картофи и използването на микробиални продукти и растителни екстракти срещу цистообразуващите нематоди.

Материал и методи

Разделът Материали и методи включва ясно дефинирана и описана последователно методична постановка на проведените опити, която позволява поставените задачи да се изпълнят коректно и детайлно.

Научните изследвания в настоящия дисертационен труд са извършени през периода 2016-2019 година в катедра „Ентомология” и катедра „Генетика и селекция” към Аграрен университет – Пловдив, Институт по зеленчукови култури „Марица” – Пловдив, Институт по растителни генетични ресурси „К. Малков” – Садово, Централна лаборатория по карантинна на растенията – София, Институт по почвознание, агротехнологии и защита на растенията „Никола Пушкар” – София.

Извършените проучвания за установяване на картофените цистообразуващи нематоди в агроценозата на картофите обхващат четири основни картофопроизводствени области в нашата страна - Пазарджишка, Софийска, Смолянска и Бургаска, в които са включени 15 производствени района. При идентифицирането на видовете от род *Globodera* са изследвани цисти и ларви 2-ра възраст. Молекулярна характеристика на популациите е извършена посредством метода на полимеразната верижна реакция. За установяване на реакцията на растителни материали спрямо КЦН са скринирани тринадесет линии *S. tuberosum* - E 1809, E 606, E 1789, E 1096, E 1811, E 1210, E 68, E 292, E 330, Д 112, Д 348, Д 497, Д 344 и седем търговски сорта - Cronos, Sekin, Gandawa, Gawin, Owacij, Ivetta и Desiree (контрола). Използвани са стандартни нематологични методи за установяване ефикасността на бактериални изолати и растителни екстракти срещу ларви и цисти на *Globodera* spp. Тестови бактерии: *Pseudomonas chlororaphis* изолат 109А, *Pseudomonas chlororaphis* изолат Po4, *Bacillus amyloliquefaciens* изолат 162, *Bacillus pumilus* изолат 109, *Bacillus amyloliquefaciens* изолат 185, *Bacillus amyloliquefaciens* изолат 186, *Bacillus megaterium* изолат 95, *Bacillus megaterium* изолат 174, *Bacillus subtilis* изолат 132, *Bacillus subtilis* изолат 164, *Serratia plymuthica* изолат 201 и *Serratia plymuthica* изолат 72. Тестови растителни екстракти от напълно развити растения на: *Tanacetum vulgare*, *Artemisia vulgaris*, *Allium ursinum*, *Tagetes patula*, *Juglans regia*, *Salvia*

officinalis, *Ruta graveolens*, *Plantago major* представители на българската флора. Проведени са лабораторни опити „*in vitro*” и „*in vivo*”. Постановките на конкретните експерименти са подробно описани в дисертацията.

За статистическа обработка на данните са използвани програмни продукти, като Microsoft Excel и SPSS 13.0 for Windows.

4. Онагледеност и представяне на получените резултати.

Дисертацията е добре структурирана и нагледно представена. Дисертационният труд е написан на 128 страници и съдържа 24 таблици и 16 фигури. В списъка с цитирана литература са посочени 248 източника, от които 5 на кирилица и 243 на латиница. Дисертацията включва 8 основни раздела: Увод – 2 стр.; Литературен преглед – 24 стр.; Цел и задачи – 2 стр.; Материали и методи -16 стр.; Резултати и обсъждане – 52 стр.; Изводи - 3 стр.; Списък на пуликациите по дисертацията – 1 стр.; Литература – 23 стр. Дисертационният труд е написан стегнато, на добър научен стил, добре оформен и съдържа всички необходими раздели.

5. Обсъждане на резултатите и използвана литература.

Представеният Литературен преглед е актуален, свързан с темата на дисертацията. Докторантът е представил състоянието на проблема и аргументираната необходимост от провеждането на настоящото проучване, което показва добрата му информираност и е доказателство за придобитите теоретични познания в областта на нематологията по проучваната тема.

В раздел Резултати и обсъждане, който заема 41% от общия обем на дисертационния труд са обобщени и интерпретирани експерименталните данни, които са оформени в четири подраздела, съответстващи на поставените задачи.

Резултатите представени в подраздел 5.1. показват разпространението картофените цистообразуващи нематоди в агроценозата на картофите в нашата страна. Обследванията на площите с картофени насаждения в областите – Софийска, Пазарджишка, Смолянска и Бургаска, през периода 2017-2019 година потвърждават повсеместното разпространение на картофените цистообразуващи нематоди от род *Globodera*. Най-висока популационна плътност от изследваните райони е установена в с. Равногор (610 брой цисти/100 г почва), а най-ниска в с. Везенково (3.5 брой цисти/100 г почва). Морфологично установени и молекулярно доказани са два вида нематоди от род *Globodera* – *Globodera rostochiensis* (златиста картофена цистообразуваща нематода) и *Globodera pallida* (бледа картофена цистообразуваща нематода). Преобладаващ вид е *G. pallida*. Видът се среща в 86.6% от изследваните картофопроизводителни площи.

В подраздел 5.2. са разгледани резултатите от проведените скрининг тестове на картофени сортове и линии за установяване относителната устойчивост/чувствителност към *Globodera* spp. Резултатите показват, че четири сорта (Cronos, Sekin, Gawin, Ovacij) и седем линии (E 1789, E 606, E 1096, E 1809, Д 344, Д497, Д 348) *Solanum tuberosum* проявяват устойчивост

към *G. rostochiensis* (индекс на устойчивост 6-8). Два сорта (Gandawa и Ivetta) проявяват силна устойчивост (индекс на устойчивост 9) към *G. rostochiensis*. Два от тестваните сорта *Cronoss* и *Ivetta*, както и линия Е 1096, Е 1809 и Е 606 са с установена толерантност към *G. pallida* (индекс на устойчивост 4-5).

Резултатите в подраздел 5.3. отразяват проведените лабораторни опити *in vitro*. Установено е, че всички 8 тествани растителни екстракти проявяват нематоцидно действие срещу Л2 на *G. rostochiensis* и *G. pallida*, като с най-висока ефикасност са три от тях – *Juglans regia* 80.00 и 78.00%, *Ruta graveolens* 69.00 и 67.00% и *Plantago major* 47.00 и 42.00% съответно. Проведените *in vitro* експерименти при различни температури с растителните екстракти показват, че температурата не оказва съществено влияние на инхибиращия ефект върху цистите и токсичното им действие спрямо Л2 на *G. pallida*. ГХ-МС анализа на растителни екстракти от *J. regia*, *R. graveolens*, *P. major* с отчетена висока ефикасност срещу *G. pallida*, определя състава на част от съединенията (главно неполярни) в тях. Установено е, че тестваните дванадесет изолата ризобактерии, проявяват ларвицидно действие срещу *G. rostochiensis* и *G. pallida*. Най-голяма е ефикасността при *Serratia plymuthica* изолат 72. Най-висока степен на инхибиране на излюпването на ларви 2-ра възраст (Л2) при *G. pallida* (94.50 - 95.75 и 100.00%), бактериална суспензия (БС) и безклетъчен филтрат (БФ) на *S. plymuthica* изолат 72 причинява в концентрация, съответно $\times 10^8$ клетки/ml и 10.0% при експозиция 3 и 6 седмици. При същите дози *S. plymuthica* проявява най-добра ларвицидна ефикасност при експозиция 72 часа – съответно 86.75% и 86.50%. В интервала 19-24°C ефикасността на БС и БФ на *S. plymuthica* изолат 72 срещу Л2 на *G. pallida*, съответно в концентрации $\times 10^8$ клетки/ml и 5.0% при експозиция 72 часа, причиняват най-висока смъртност на Л2 и имат най-добре изразено инхибиращо действие върху излюпването на ларвите от цистите при експозиция 3 и 6 седмици. При 14°C ефикасността на БФ на *S. plymuthica* върху *G. pallida* е по-добре изразена.

В подраздел 5.4. са представени резултатите от проведените лабораторни опити *in vivo*. Установено е, че нематоцидното действие на *S. plymuthica* изолат 72 срещу инвазията на ларви 2-ра възраст по корените на картофените растения продължава до 14-я ден, а нематостатичното – до 21-я ден. Бактерията потиска развитието на женските екземпляри в корените и намалява плодовитостта на нематодите. Инвазионните ларви 2-ра възраст и ларви 3-та възраст са най-чувствителни на *S. plymuthica* изолат 72. Препоръчва се прилагането на *S. plymuthica* да става през периода на активната вегетация на растенията, като моментът на внасянето се съобразява с развитието на КЦН. Най-добри резултати могат да се очакват, ако апликирането на *S. plymuthica* стане не по-късно от настъпването на 3-та ларвна възраст. Еднократното внасяне на *S. plymuthica* ($\times 10^8$ клетки/ml) – БС в доза 20 ml/растение/БФ (5% разтвор с 20 ml/растение), предпазва корените от инвазията на КЦН през първите 24 дни и увеличава добива с около 1.9 пъти в сравнение с нетретирани растения. Установено е че, употребата на БС на *S. plymuthica* трябва да се ограничи до температури над 14°C. При по-

ниски температури, като алтернатива, може да се апликира БФ на *S. plymuthica*.

В края на дисертационния труд докторантът прави заключение и формулира 15 извода, които обобщават резултатите от проведената експериментална работа. Дисертационният труд съдържа научни резултати, които представляват принос в науката. Представеният дисертационен труд показва, че кандидатът притежава задълбочени теоретични знания, овладял е различни нематологични методи, което му дава възможност за провеждането на самостоятелни научни изследвания.

6. Приноси на дисертационния труд.

Въз основа на порведените изследвания, получените резултати и тяхното анализиране, и в резултат на направените изводи в дисертацията са обособени и посочени общо 11 приноса, разделени в две групи, които приемам изцяло.

➤ Оригинални приноси

1. Проучено е разпространението на картофените цистообразуващи нематоди (КЦН) от род *Globodera* в Софийска, Пазарджишка, Смолянска и Бургаска картофопроизводителни области на България. За периода 2017-2019 година, за всеки от установените 15 района заразени с тези паразити, са определени: *Globodera* spp. и популационната им плътност.

2. Създадена е генетична банка на разпространените в 4-те картофопроизводителни района в страната два вида КЦН: *Globodera rostochiensis* и *Globodera pallida*.

3. При идентифицирането на *G. rostochiensis* и *G. pallida* за първи път у нас е приложен метода на полимеразната верижна реакция (PCR), като са използвани ген-специфични праймери.

4. Проучени са растителни екстракти и изолати на ризобактерии като агенти за биологична борба срещу КЦН от род *Globodera*.

5. За първи път в страната са установени оптималните концентрации и температури, при които растителните екстракти *Juglans regia*, *Ruta graveolens* и *Plantago major* проявяват най-висока нематоцидна активност срещу *G. pallida*.

6. Определени са метаболитните профили на *J. regia*, *R. graveolens* и *P. major*, анализирани чрез газ хроматография – мас спектрометрия (ГХ-МС).

7. За първи път са установени оптималните параметри (концентрация и температура), при които ризобактерията *Serratia plymuthica* проявява най-висока ефикасност срещу *G. pallida*.

8. Установен е периодът на нематоцидното и превантивното действие на *S. plymuthica* срещу инвазията на ларви 2-ра възраст на *G. pallida* по корените на картофените растения.

9. Определено е действието на ризобактерията *S. plymuthica* върху развитието и размножаването на *G. pallida* в корените на растенията.

10. Апликирането на *S. plymuthica*, за борба с КЦН по зеленчуковите култури – картофи, да става през периода на активна вегетация, съобразено с развитието на ларви 2-ра възраст – не по-късно от настъпване на 3-та ларвна възраст на паразита.

➤ **С потвърдителен характер**

1. Изследванията върху морфологичните и морфометрични характеристики на идентифицираните два вида КЦН от род *Globodera* са с потвърдителен характер.

7. Критични бележки и въпроси.

Към дисертационния труд могат да се отправят някои критични бележки, въпроси и препоръки.

Критични бележки:

Дисертационният труд е написан прецизно, но въпреки това могат да се открият пропуски и грешки от технически характер. В раздел Литературен преглед, както и по-нататък в текста при изписване на пълното наименование на видовете (нематоди, растения) на латински е желателно да се посочи автора, след което може да се използва съкращение. Необходимо е при цитиране да се спазва изписването на авторите по приетия начин, има допуснати грешки на стр. 12 и 18. Не е желателно да се цитират материали, които са под печат или непубликувани. По отношение на текста, в някои изречения словоредът е доста разбъркан. Това предполагам, се дължи на превода на цитираната литература. На стр. 13-14, в т.2.3.2 Патотипов състав вероятно е допусната техническа грешка, написано е Kort et al. (1997), а годината всъщност е 1977. Дадено е, че Nijboer and Parlevliet (1990) класифицират патотиповете на *G. rostochiensis* в три групи, а са описани само две. В раздел Резултати и обсъждане, последният абзац от т. 5.1.1 относно разпространението на двата вида е направена грешка - *G. pallida* е установена в осем, а не в девет от насажденията самостоятелно. В текста е допусната техническа грешка на много места в изписването на вида *Juglans regia*. Дискусията може да се разшири и обвърже с проведените изследвания. Резултатите от проведения скрининг тест за чувствителност на различни картофени линии към *G. rostochiensis* (популация Копривщица) и *G. pallida* (популация Равногор) биха могли да се обособят като научно-приложни приноси с оглед на това, че са полезна информация за бъдещите селекционни програми. В раздел Литература посочените източници трябва да са изписани по един и същ начин съобразно приетите изисквания, като задължително се посочва годината на публикуване.

Въпроси:

Посочено е като принос създаването на генетична банка на разпространените в картофопроизводителните райони в страната два вида КЦН: *Globodera rostochiensis* и *Globodera pallida*, какво включва и къде се съхранява?

Препоръки:

Хубаво е бъдещата научната работа на докторанта да има повече приложен характер. От значение са фундаменталните проучвания, но те са базата за решаване на производствените проблеми.

Посочените критични бележки не намаляват стойността на представения дисертационен труд. Направените препоръки имат за цел да подобрят бъдещата научно-изследователска дейност на докторанта.

8. Публикувани статии и цитирания.

Представените 4 статии, свързани с дисертационния труд са публикувани в научни издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни (*Scopus, Web of Science*). Съгласно минималните наукометрични изисквания, посочени в Правилника за приложение на закона за развитие на академичния състав, посочените публикации напълно покриват необходимия брой точки (34,5). Докторантът е първи автор във всички публикации.

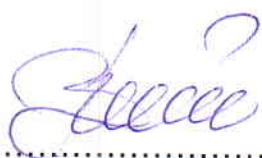
Представеният **автореферат** отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд. Той представя в синтезиран вид изследваните и разисквани проблеми. Включва направените изводи и приноси.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Въз основа на научените и приложени от докторанта различни методи на изследване, правилно изведените експерименти, направените обобщения и изводи считам, че представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на Аграрния университет за неговото приложение, което ми дава основание да го оценя **ПОЛОЖИТЕЛНО**.

Позволявам си да предложа на почитаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на **КОСТАДИН КИРИЛОВ ТРАЯНОВ**, редовен докторант към катедра **Ентомология** при Аграрен университет, гр. Пловдив, образователната и научна степен "**Доктор**" по научната специалност **Растителна защита**.

Дата: 16.04.2021 г.
гр. Пловдив

РЕЦЕНЗЕНТ: 
(Доц. д-р Винелина Янкова)